

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN SEPSİS
MODELİNDE VASKÜLER VE RENAL FONKSİYONLARA ETKİSİ

Dr. Habibullah Saltuk SONGÜR

Tıbbi Farmakoloji Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA
2024

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN SEPSİS
MODELİNDE VASKÜLER VE RENAL FONKSİYONLARA ETKİSİ

Dr. Habibullah Saltuk SONGÜR

Tıbbi Farmakoloji Programı
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Güray SOYDAN

ANKARA
2024

**ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN SEPSİS MODELİNDE
VASKÜLER VE RENAL FONKSİYONLARA ETKİSİ**

Habibullah Saltuk SONGÖR

Danışman: Doç. Dr. Güray SOYDAN

Bu tez çalışması 05.07.2024 tarihinde jürimiz tarafından “Tıbbi Farmakoloji Programı”nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Alper B. İSKİT* (imza)

(Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı)

Üye: *Prof. Dr. Mehmet Yıldırım SARA* (imza)

(Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı)

Üye: *Prof. Dr. Melih Ö. BABAOĞLU* (imza)

(Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı)

Üye: *Prof. Dr. Remzi ERDEM* (imza)

(Başkent Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı)

Üye: *Prof. Dr. Sevil İLHAN* (imza)

(Gazi Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı)

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

12 Temmuz 2024

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

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 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

16.07.2024

Habibullah Saltuk SONGÜR

i

ⁱ“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** 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 **danışmanın** 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 çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere 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 **danışmanın** 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 zgn olduğunu, Doç. Dr. Güray SOYDAN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr. Habibullah Saltuk SONGR

TEŞEKKÜR

Tıp-Bilim Doktoru Bütünleşik Programı sürecinde desteğini, bilgisini, zamanını hiçbir şekilde esirgemeyen saygıdeğer tez danışmanım Doç. Dr. Güray SOYDAN'a,

Programa ilk başladığım andan itibaren desteği, bilgisiyle ve tecrübeleriyle bana çok şey katan Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Alper İSKİT'e,

Bütün doktora sürecinde bilgi ve tecrübelerinden sürekli faydalandığım Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Melih Ö. BABAOĞLU, Prof. Dr. M. Yıldırım SARA ve Doç. Dr. A. Mert ERTUNÇ'a,

Deney sürecinde yer alıp emeklerini esirgemeyen Uzm. Dr. Sinan Alperen KAYA, Uzm. Dr. Yaşar Can ALTINIŞIK, Uzm. Dr. Esin ÖZÇELEBİ, Rukiye ABANOZ'a,

Doktora eğitimi sürecinde beraber vakit geçirdiğim, desteğini hep hissettiğim Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerine ve çalışanlarına,

Histopatolojik ve moleküler değerlendirme sürecinde bilgi ve tecrübesini paylaşan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Kemal KÖSEMEHMETOĞLU'na ve Temel Onkoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Füsün ÖZMEN'e,

Doktora süresince TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı ve 100/2000 YÖK Doktora Bursu destekleri için TÜBİTAK ve YÖK'e,

Hatırladığım ilk günden bu yana her zaman yanımda olan, her türlü desteği fedakarca gösteren, üzerimde emeği çok büyük olan annem, babam ve kardeşime,

Yaşadığım bütün mutluluk ve üzüntülerde yanımda olan, hiçbir desteğini esirgemeyen, motivasyonumu sürekli yüksek tutan sevgili eşim İrem'e,

Tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Dr. H. Saltuk SONGÜR

ÖZET

Songür, H.S., Alamandinin Lipopolisakkarit ile İndüklenmiş Sıçan Sepsis Modelinde Vasküler ve Renal Fonksiyonlara Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2024. Sepsis, çoklu sistem fonksiyon bozukluğuna ve organ hasarına yol açan kontrolsüz inflamasyon olarak tanımlanır. Sepsis kaynaklı akut böbrek hasarı, morbidite ve mortalitenin önemli bir sebebidir. Alamandin (ALA), renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminde yer alan ve sepsis üzerindeki fonksiyonel ve vasküler etkileri belirsizliğini koruyan yeni bir endojen peptittir. Sıçanlarda lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenmiş sepsis modelinde, LPS'den önce ve sonra verilen ALA'nın, LPS kaynaklı sistemik ve renal fonksiyon bozukluğu ve hasarı üzerine etkileri fonksiyonel, hemodinamik, vasküler, moleküler, biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme ile incelendi. 10 miligram/kilogram intraperitoneal LPS enjeksiyonu, Sprague-Dawley sıçanlarında 20 saatte hem karaciğer hem de böbrek hasarına, çeşitli organlarda kan akımında azalmaya ve böbrek fonksiyon bozukluğuna neden oldu. Sonuçlar, ALA tedavisinin sistemik ve renal inflamasyonu iyileştirdiğini, mortalite oranındaki artışı önlediğini, vasküler disfonksiyonu ve azalan kan akımlarını tersine çevirdiğini, renal indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve kaspaz gen ifadelerini düşürerek renal ve hepatik hasarı azalttığını gösterdi. Renal arter yatağında LPS ile oluşan değişikliklerde de ALA tedavi ajanı olarak etkili oldu. Ayrıca ALA ile ilişkili farklı reseptör gen ifadeleri, sepsis modelinde değişiklikler gösterdi ve ALA tedavisi bu değişiklikleri tersine çevirdi. Bu veriler, ALA'nın, bir sıçan sepsis modelinde gelişen akut böbrek hasarı ve sistemik değişiklikler üzerine, artmış iNOS gen ifadesini azaltması ve hemodinamik ve vasküler fonksiyonlar üzerindeki antiinflamatuvar, antipiroptotik ve antiapoptotik etkiler yoluyla düzeltici etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alamandin, sepsis, böbrek, arter, MrgD

Destekleyen Kurumlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Proje Numarası: THD-2022-20173; TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı; YÖK 100/2000 Doktora Bursu

ABSTRACT

Songür, H.S., Effects of Alamandine on Vascular and Renal Functions in Lipopolysaccharide-Induced Sepsis Model in Rats, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Medical Pharmacology Doctor of Philosophy (PhD) Thesis, Ankara, 2024. Sepsis is defined as uncontrolled inflammation leading to

multiple organ system failure and dysfunction. Acute kidney injury is an important cause of significant morbidity and mortality in sepsis. Alamandine (ALA) is a recently discovered endogenous peptide in the renin-angiotensin-aldosterone system and its effects on functional and vascular parameters in sepsis are unknown. In this study, ALA's effects, both as a pre-treatment and treatment agent in lipopolysaccharide (LPS)-induced rat sepsis model were investigated. Its effects on systemic and renal dysfunction were studied via functional, hemodynamic, vascular, molecular, biochemical and histopathological evaluations. 10 milligrams/kilogram intraperitoneal LPS injection in Sprague-Dawley rats led to liver and renal injury, reduced blood flow in several organ systems, and renal dysfunction in 20 hours. Results showed that ALA, as a treatment agent, could alleviate systemic and renal inflammation, prevent the increase of mortality, ameliorate the vascular dysfunction and the decrease of blood flow, decrease the renal inducible nitric oxide (iNOS) and caspase gene expression levels, and reduce the renal and hepatic injury. ALA was effective as a treatment agent on LPS-induced changes in the renal arterial bed. In addition, ALA-related receptor gene expressions showed differences with LPS in the kidney and ALA treatment reversed these. These results show that ALA exerts corrective effects on acute kidney injury and systemic changes in a sepsis model in rats, through reducing increased iNOS gene expression and anti-inflammatory, anti-pyrototic, and anti-apoptotic effects on hemodynamic and vascular functions.

Keywords: Alamandine, sepsis, kidney, artery, MrgD

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİL DİZİNİ	xiv
TABLO DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sepsis	3
2.1.1. Sepsis Tanımı ve Epidemiyolojisi	3
2.1.2. Sepsis Patofizyolojisi	3
2.1.3. Deney Hayvanlarında Sepsis Modelleri	5
2.2. Böbreklerin Temel Fizyolojisi	6
2.3. Sepsiste Böbrek Hasarı	8
2.4. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi	10
2.4.1. Alamandin ve MrgD Reseptörü	13
2.4.2. AT ₂ ve Mas Reseptörleri	15
2.5. Hipotez	16
2.6. Amaç	16

3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Deney Hayvanları	17
3.2. Etik Kurul İzni	17
3.3. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları	17
3.4. Fonksiyonel Değerlendirme	19
3.4.1. <i>In vivo</i> Kan Akımı Ölçümü	19
3.4.2. <i>Ex vivo</i> Değerlendirme	19
3.5. Histopatolojik Değerlendirme	22
3.6. <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA)	23
3.7. Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)	24
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	25
4. BULGULAR	27
4.1. Sistemik Etkiler ve Renal Fonksiyonlar Üzerine Etkilerin Değerlendirilmesi	27
4.1.1. Genel Değerlendirmeler	27
4.1.2. Böbrek Fonksiyon Değerlendirmeleri	30
4.1.3. İnflamatuar Sitokinlerin Değerlendirmesi	32
4.1.4. Kaspaz Enzimlerinin Moleküler Değerlendirmesi	37
4.1.5. <i>In vivo</i> Kan Akımı Ölçümü	39
4.1.6. Renal Histopatolojik Değerlendirme	45
4.1.7. Hepatik Histopatolojik Değerlendirme	47
4.2. İzole Perfüze Böbrek Çalışmaları	49
4.3. İzole Arter Çalışmaları	54
4.3.1. Aort	54
4.3.2. Renal Arter	59

4.3.3. Renal Arterin Birinci Dalı	65
4.3.4. Segmental Arter	70
4.3.5. Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Enzim İzofomlarının Moleküler Değerlendirmesi	75
4.3.6. ALA İlişkili Reseptörlerin Moleküler Değerlendirmesi	77
4.3.7. Endotel Disfonksiyonu Belirteçlerinin Moleküler Değerlendirmesi	80
5. TARTIŞMA	82
5.1. LPS'nin Sistemik ve Renal Etkilerinin Değerlendirilmesi	82
5.2. ALA'nın Sepsis Modelinde Sistemik ve Renal Etkilerinin Değerlendirilmesi	83
5.3. LPS ve ALA'nın Vasküler Etkilerinin Değerlendirilmesi	87
5.4. ALA'nın Etki Mekanizmalarının Değerlendirilmesi	92
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	96
7. KAYNAKLAR	98
8. EKLER	
EK-1: Etik Kurul İzin Belgesi	
EK-2: Etik Kurul Değişiklik Onayı	
EK-3: Dijital Makbuz	
EK-4: Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh	Asetilkolin
ALA	Alamandin
AngII	Anjiyotensin II
ANP	Atrial natriüretik peptit
BNP	Beyin natriüretik peptit
dk	Dakika
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
eNOS	Endotel nitrik oksit sentazı
IL-10	İnterlökin-10
IL-1β	İnterlökin-1 β
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p.	İntraperitoneal
i.v.	İntravenöz
LPS	Lipopolisakkarit
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MrgD	<i>Mas-related G-protein coupled receptor member D</i>
NFκB	Nükleer Faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz

PE	Fenilefrin
RAAS	Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
SF	Serum fizyolojik
SNP	Sodyum nitroprusiyat
TNF-α	Tümör nekroz faktörü α



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Renal vasküler anatomi	7
2.2. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemindeki bazı peptit ve reseptörler	12
2.3. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemindeki reseptörler ve etkileri	12
3.1. Yapılan enjeksiyon ve değerlendirmelerin zamansal dağılımı	18
3.2. Kan akımı ölçmek için kullanılan cihaz	19
4.1. Yüzdesel olarak mortalite oranları	27
4.2. Vücut kütle kaybı	28
4.3. İdrarda lökosit düzeyleri	29
4.4. Serum kreatinin konsantrasyonu	30
4.5. Üreter sıvı çıkışı	31
4.6. Serum TNF- α konsantrasyonu	32
4.7. Serum IL-1 β konsantrasyonu	33
4.8. Böbrek TNF- α gen ifadesi	34
4.9. Böbrek IL-1 β gen ifadesi	35
4.10. Böbrek IL-10 gen ifadesi	36
4.11. Böbrek kaspaz-1 gen ifadesi	37
4.12. Böbrek kaspaz-3 gen ifadesi	38
4.13. Superior mezenter arter kan akım hızı	39

4.14.	Vücut kütlesine göre standardize edilmiş superior mezenter arter kan akım hızı	40
4.15.	Renal arter kan akım hızı	41
4.16.	Vücut kütlesine göre standardize edilmiş renal arter kan akım hızı	42
4.17.	Portal ven kan akım hızı	43
4.18.	Vücut kütlesine göre standardize edilmiş portal ven kan akım hızı	44
4.19.	Böbrek dokusunda histopatolojik değerlendirme	45
4.20.	Histopatolojik böbrek hasarı	46
4.21.	Karaciğer dokusunda histopatolojik değerlendirme	47
4.22.	Histopatolojik karaciğer hasarı	48
4.23.	İzole perfüze böbrekte norepinefrin kasılma yanıtları	49
4.24.	İzole perfüze böbrekte asetilkolin gevşeme yanıtları	50
4.25.	İzole perfüze böbrekte anjiyotensin II kasılma yanıtları	51
4.26.	İzole perfüze böbrekte SNP gevşeme yanıtları	52
4.27.	Aortta fenilefrin kasılma yanıtları	54
4.28.	Aortta asetilkolin gevşeme yanıtları	55
4.29.	Aortta anjiyotensin II kasılma yanıtları	56
4.30.	Aortta SNP gevşeme yanıtları	57
4.31.	Renal arterde fenilefrin kasılma yanıtları	59
4.32.	Renal arterde asetilkolin gevşeme yanıtları	60

4.33.	Renal arterde anjiyotensin II kasılma yanıtları	61
4.34.	Renal arterde SNP gevşeme yanıtları	62
4.35.	Renal arterde elektriksel alan stimülasyon yanıtları	63
4.36.	Renal arterin birinci dalında fenilefrin kasılma yanıtları	65
4.37.	Renal arterin birinci dalında asetilkolin gevşeme yanıtları	66
4.38.	Renal arterin birinci dalında anjiyotensin II kasılma yanıtları	67
4.39.	Renal arterin birinci dalında SNP gevşeme yanıtları	68
4.40.	Segmental arterde fenilefrin kasılma yanıtları	70
4.41.	Segmental arterde asetilkolin gevşeme yanıtları	71
4.42.	Segmental arterde anjiyotensin II kasılma yanıtları	72
4.43.	Segmental arterde SNP gevşeme yanıtları	73
4.44.	Böbrek eNOS gen ifadesi	75
4.45.	Böbrek iNOS gen ifadesi	76
4.46.	Böbrek AT ₂ reseptör gen ifadesi	77
4.47.	Böbrek MrgD reseptör gen ifadesi	78
4.48.	Böbrek Mas reseptör gen ifadesi	79
4.49.	Böbrek pentraksin-3 gen ifadesi	80
4.50.	Böbrek endokan gen ifadesi	81

TABLO DİZİNİ

Tablo	Sayfa
3.1. Deney grupları ve enjeksiyonlar	18
3.2. Histopatolojik değişiklikler ve skorelama sistemleri	23
3.3. qRT-PCR çalışmasında değerlendirilen genler ve kullanılan primer dizileri	25
4.1. İzole perfüze böbrekteki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri	53
4.2. Aorttaki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri	58
4.3. Renal arterdeki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri	64
4.4. Renal arterin birinci dalındaki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri	69
4.5. Segmental arterdeki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri	74

1. GİRİŞ

Sepsis, çoklu organ yetmezliğiyle seyreden ve enfeksiyona karşı verilen kontrolsüz konak yanıtı olarak tanımlanmaktadır (1). Dünya çapında özellikle yoğun bakım ünitelerinde yüksek morbidite ve mortaliteye yol açan bir durumdur (2).

Sepsiste etkilenen ve tanı kriterlerinde de yer alan organlardan biri böbreklerdir (3). Böbrek hasarının sepsis morbidite ve mortalitesine katkısı yüksek olmakla birlikte bu organ hasarı için birçok farklı mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizmalardan biri de vasküler disfonksiyona ikincil gelişen hasardır (4).

Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) vücutta su, elektrolit ve kan basıncı düzenlenmesinde kritik önemi olan bir sistemdir. Çeşitli kardiyovasküler ve renal bozukluklarda başlangıçta kompensasyon mekanizmalarında rol almakla birlikte hastalık gelişiminde patofizyolojik mekanizmaların içinde de yer almaktadır (5). Bu yüzden bu sistemi hedefleyen çeşitli farmakolojik moleküller hem kardiyovasküler hem de renal hastalıklarda kullanıma sürülmüştür (6).

İki ayrı aksı bulunan RAAS'ın koruyucu aksında yer alan moleküllerden biri ise alamandindir (ALA) (7). Çeşitli hastalık modellerinde antifibrotik, antiinflamatuvar, antiapoptotik etkileri gösterilmiş olan alamandinin sepsiste de olumlu etkileri olabileceği düşünülmektedir (8, 9). Bu etkilere aracılık eden reseptörler arasında ise RAAS'taki diğer moleküllerin de etkilerine aracılık eden AT₂, Mas ve alamandine spesifik olan MrgD (*Mas-related G-protein coupled receptor member D*) reseptörleri gösterilmiştir (7).

Literatür bilgileri göz önüne alındığında lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenmiş sepsis modelinin çalışıldığı birçok araştırma olmasına rağmen, sistemik-renal, apoptoz-piroptoz karşılaştırmalarının yapıldığı, renal arter yatağı da dahil olmak üzere farklı arter segmentlerinin sepsis varlığında fonksiyonel olarak incelendiği, ek olarak ALA tedavisinin sepsis üzerindeki etkilerinin bu bağlamda değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. ALA'nın fare sepsis modellerindeki ve farklı hastalık modellerindeki antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkileri, sıçan sepsis modelinde

bozulan kardiyorenovasküler parametreler, vasküler disfonksiyon ve çoklu organ hasarı üzerine olumlu etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca ALA'nın ön tedavi veya tedavi amacıyla farklı modellerde uygulanmasıyla ayrı ayrı etkinliği gösterilmiş olsa da her iki tedavi karşılaştırmalı olarak değerlendirilmemiş, sepsiste de LPS sonrasında verilerek etkileri araştırılmamıştır.

Bu çalışmada alamandin tedavisinin LPS ile indüklenen sıçan sepsis modelinde, akut böbrek hasarında renal ve fizyolojik fonksiyonlara etkisinin fonksiyonel, histopatolojik, biyokimyasal ve moleküler olarak değerlendirilerek gösterilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

2.1.1. Sepsis Tanımı ve Epidemiyolojisi

Sepsis, enfeksiyona karşı verilen kontrolsüz konak yanıtıdır. Enfeksiyona ek olarak gelişen organ fonksiyon bozuklukları olması (SOFA skorunda 2 veya daha fazla artış olması) kriter olarak kullanılır (1). Her yıl çok yüksek miktarlarda sağlık harcamalarına yol açmaktadır (10). Özellikle yoğun bakım hastalarında önemli mortalite nedenlerinden biridir. Mortalite oranı sepsiste %17, şiddetli sepsiste ise %26'dır (2). 1990 yılından 2017 yılına kadar sepsis insidansı %37, sepsis mortalitesi %52,8 azalmış ve buna ek olarak 2017 yılında dünya çapındaki ölümlerin %19,7'sinin sepsis ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (11). Hastanede kazanılmış sepsis için mortalite oranları çok daha fazla olabilmektedir (12). Kardiyak yoğun bakım üniteleri dışındaki yoğun bakım ünitelerindeki en sık mortalite sebebidir (13).

2.1.2. Sepsis Patofizyolojisi

Sepsis patofizyolojisi karmaşık bir süreç olup birçok faktör bunda rol oynamaktadır. Başlangıçta enfeksiyona yol açan mikroorganizmaya ve hasar görmüş hücrelere ait moleküllerin Toll-benzeri reseptörler gibi kalıp tanıma (*pattern recognition*) reseptörleri tarafından tanınması hücre içi yolları başlatmaktadır (14, 15). Nükleer Faktör kappa B (NFκB) gibi transkripsiyon faktörleri tarafından gen düzeyindeki değişiklikler üzerinden inflamatuvar yollar aktive olur ve tümör nekroz faktörü-α (TNF-α), interlökin-1β (IL-1β) gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışı gözlenir (16). Buna ikincil olarak artmış vasküler permeabilite ve ödem ile bozulmuş hemodinamik durum gözlenir (17). İnflamatuvar sitokin artışı aynı zamanda akut faz proteinleri aracılığıyla da bu etkileri gösterir (18). Aynı zamanda sempatik ve parasempatik sistem disfonksiyonu ve hormonal değişiklikler de görülür (19). Bu sebeplerden dolayı sepsis sadece enfeksiyonun başladığı organla sınırlı kalmayan, sistemik organ disfonksiyonuna yol açan bir durumdur. Fonksiyonu bozulan önemli organlardan biri olan karaciğerde iskemi ve inflamasyona bağlı olarak fokal hücre nekroz alanları, Kupffer hücre hiperplazisi, portal alanda inflamasyon, venöz

konjesyon ve kolestaz gözlenmektedir (20). Renal fonksiyonların bozulması da sepsis morbidite ve mortalite nedenleri içinde önemli sebeplerden biridir (21).

Sepsis sürecinde solunum sistemi, karaciğer, kardiyovasküler sistem, merkezi sinir sistemi, böbrekler ve koagülasyon sistemleri etkilenecek normal işleyiş bozulmakta, çoklu organ yetmezliği ortaya çıkmaktadır. Sepsis kriterlerinde kullanılan SOFA skorlamasında böbrek fonksiyonlarının bozulması yer almakla birlikte sepsisin kendisi akut böbrek hasarına yol açan önemli nedenlerden birisidir. Akut böbrek yetmezliğine en sık yol açan durum ise septik şoktur (3). Tedavisinde, sorumlu enfeksiyonun kontrolü, sıvı resüsitasyonu, kan basıncının düşmesinin engellenmesi önemlidir (22).

Sepsiste organ hasarı gelişmesinde mikrovasküler regülasyonda bozulma ve endotel disfonksiyonunun da önemli bir etkisi vardır. Bu vasküler fonksiyon bozukluğu sepsisten etkilenen bütün organlarda meydana gelmektedir (23). Bu bozulma sadece sistemik dolaşımda değil, mikrodolaşımda da kendini göstermektedir (24). Organ kan akımlarında farklı bölgelerde artma veya azalma görülebilmekte, kan dağılımında bir disfonksiyon oluşabilmektedir (25). Bunlara ek olarak trombotik yatkınlık da kan akımlarını etkileyen bir faktör olarak öne çıkmaktadır (26). Bu vasküler ve dolaşıma bağlı disfonksiyon sonucunda sepsis ilişkili akut böbrek hasarında renal perfüzyonda ve renal vasküler dirençte değişiklikler meydana gelmekte, bu durum da hasarın önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (4). Çeşitli çalışmalarda vazokonstriktör ve vazodilatör cevapların sepsiste değişmesi, bu değişikliklerin sepsis ile ilişkili akut böbrek hasarında daha farklı gerçekleşmesi, vazokonstriktör moleküllerin reseptör ekspresyonlarında görülen değişim akut böbrek hasarında vasküler disfonksiyonun önemini ortaya koymaktadır (27-29).

Sepsis başlangıçta bir hiperdinamik faz ve bunu takip eden bir hipodinamik faz olmak üzere hemodinamik olarak ikiye ayrılmaktadır. Hiperdinamik fazda artmış kardiyak debi, kan akımı, doku perfüzyonu ve azalmış periferik vasküler direnç görülmekteyken, hipodinamik faz ise azalmış hemodinamik parametrelerle karakterizedir (30). Hiperdinamik fazdaki artmış kan akımının sebebi endotel nitrik

oksit sentazı (eNOS) üzerinden artmış olan nitrik oksit (NO) sentezidir (31). Hipodinamik fazda ise artmış indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), peroksinitrit oluşumuna ve eNOS etkilerinin azalmasına, bunlara ikincil olarak da çeşitli sistemlerde vazodilatasyon ve azalmış kan akımına sebep olmaktadır (32).

2.1.3. Deney Hayvanlarında Sepsis Modelleri

Enfeksiyon ve buna karşı gelişen immün yanıt, bu yanıtın patofizyolojik gelişimi ve sistemik mekanizmalar üzerinde etkili olabilecek tedavi yöntemlerinin araştırılması amacıyla deney hayvanları üzerinde zamanla farklı sepsis modelleri geliştirilmiştir (33).

Lokalize bir odağı bulunan sepsis modelleri arasında pnömoni ve peritonit modelleri bulunmaktadır. Pnömoni modelleri trakeaya bakteri sunularak oluşturulmaktadır. Peritonit modelleri ise çekal ligasyon-ponksiyon veya çıkan kolon stent peritoniti yöntemleri ile oluşturulmaktadır (34). Çekal ligasyon-ponksiyon yönteminde ileoçekal valvin distalinde çekum bağlanarak ponksiyon uygulanmakta ve ardından yöntemle göre değişiklik gösterebilmekle birlikte çekal materyalin masaj uygulanarak abdominal kaviteye geçişi sağlanabilmektedir. Çıkan kolon stent peritoniti modelinde ise kolona stent yerleştirilerek benzer bir mekanizmayla kolon içindeki materyalin sürekli olarak abdominal kaviteye geçişi sağlanabilmekte, isteğe bağlı olarak stent çekilebilmektedir. Bu modellerin avantajı insanlardakine benzer bir şekilde lokalize bir odaktan sepsisin başlangıcının görülebilmesi, sepsisin hipodinamik ve hiperdinamik fazlarının daha iyi bir şekilde gözlenebilmesidir. Dezavantajları ise farklı zamanlarda ve farklı araştırmacıların uygulamasıyla değişiklik gösterebilmesi, standart bir cerrahi işlemin uygulanmasının zorluğu; apse formasyonu, bağırsaklarda nekroz, cerrahi işlem gibi insanlarda her sepsis vakasında görülmeyen ve sonucu etkileyebilecek faktörlerin varlığıdır (35).

Sistemik olarak deney hayvanına endotoksin veya bakteri verilmesi bu model mekanizmalarından birini oluşturmaktadır. Bu şekilde oluşturulan sepsis modelleri gelişen immün yanıtı, sistemik inflamasyon parametrelerini ve proinflamatuvar

sitokinleri çalışmak için uygun modellerdir. Aynı zamanda standart bir model oluşturmak açısından değerlendirildiğinde, hem zamana bağlı hem de araştırmacılar arasında görülen varyasyon daha az olmaktadır. Dezavantajları ise gelişen yanıtta lokalize bir enfeksiyon odağı bulunmaması, dolayısıyla bir odaktan yayılan enfeksiyon olmamasıdır. Bir diğer dezavantajları ise çeşitli türlerde, sunulan ajana karşı gelişen immün yanıtın da çeşitlilik göstermesidir (36, 37).

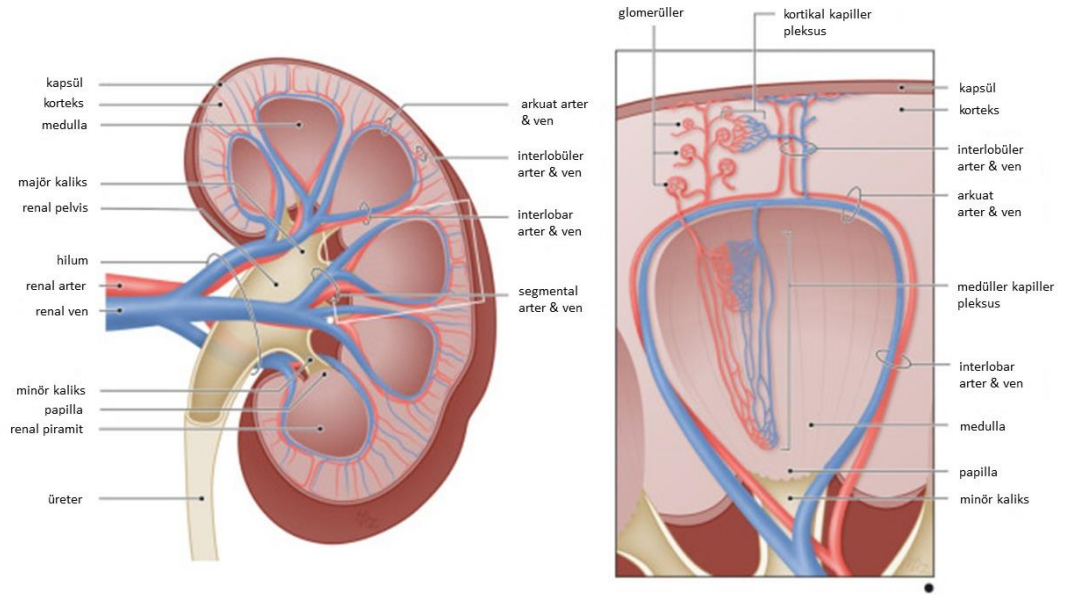
Bu modellerde kullanılan endotoksin olan LPS'nin farklı suşları bulunmaktadır. LPS'nin bu amaçla en çok kullanılan serotipleri O55:B5, O111:B4, O127:B8 ve O128:B12'dir. Farklı serotiplerin oluşturduğu etkiler ve inflamatuvar yanıtlar da birbirinden farklı olabilmektedir (38). Ek olarak verilen LPS dozu ve değerlendirmeye kadar geçen süre değiştirilerek farklı yanıtlar almak mümkündür. Daha düşük dozlarda LPS hiperdinamik fazı çalışmak için daha uygunken, yüksek dozlar mortalite ve hipodinamik faz çalışmalarında öne çıkmaktadır (39). Aynı zamanda renal hasar değerlendirilmesinde akut renal hasar için ilk 24 saat içindeki değerlendirmeler kullanılmaktadır (40).

2.2. Böbreklerin Temel Fizyolojisi

Böbrekler hem insanlar hem de sıçanlar gibi omurgalı canlılar için son derece hayati organlardır. İnsan vücudunda böbrekler günde yaklaşık 180 litre kan akımı alır ve idrarla dışarı atılması gereken maddeleri filtreler. Aynı zamanda bir o kadar hayati olan su, elektrolit ve pH dengesini korurlar. Böbrek fonksiyonlarının bozulması durumunda bu denge bozularak atık maddeler vücutta birikmeye başlar ve kaçınılmaz olarak yaşamın son bulmasına neden olur. Böbreklere kan aorttan dallanan renal arterler sayesinde gelir ve önce segmental arterlere, daha sonra sırasıyla interlobar ve arkuat arterlere ayrılır (Şekil 2.1). Çeşitli çalışmalarda farklı arter segmentlerinde ve aynı arter segmentinin farklı bölgelerindeki vazokonstriktör ve vazodilatör farmakolojik profilin birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir (41). Böbreklerin hemodinamik açıdan önemli bir direnç bölgesi olduğu da düşünüldüğünde, renal arter yatağındaki farklı arter segmentlerinin bu dirençte katkısı olduğu söylenebilir.

Glomerüllerde filtrasyon işlemi gerçekleşir. Böbreğe gelen kan, filtrelenmesi sonucunda filtrat halini alır ve idrar olarak atılana dek çeşitli düzenlemelerden geçer. Reabsorpsiyonla filtrattaki bazı maddeler geri emilirken, sekresyonla kandan filtrata madde geçişi olur. Bu sayede filtrat son aşaması olan idrar halini alır ve vücuttan atılır.

Böbrekler bütün abdominal organlar içinde adrenal bezlerden sonra en çok innervasyonu olan organlardır (42). Renal sempatik innervasyon, renal plexus çölyak ganglion, inferior ve posterior renal ganglion, superior mezenterik ganglion ve torasik splanknik sinirler tarafından oluşturulur (43). Renal arterden başlayarak en son dallara kadar bütün arterlerde de bu sempatik innervasyon devam etmektedir (44). Arterleri innerve eden sinir uçlarından efferent stimülasyon sonucu primer olarak saliverilen nörotransmitter norepinefrindir, bu durum da vazokonstriksiyona sebep olur. Afferent sinir uçlarında ise birincil nörotransmitterler substans P ve kalsitonin geni ile ilişkili peptittir (45).



Şekil 2.1. Renal vasküler anatomi (Apelt ve ark. (46)'ndan uyarlanmıştır).

2.3. Sepsiste Böbrek Hasarı

Akut böbrek hasarı böbrek fonksiyonlarında hızlı bir azalmayla karakterize ciddi bir durumdur (47). Sepsis bunun önemli nedenlerinden biridir. Akut böbrek hasarında kronik böbrek hastalığı ve kardiyovasküler hastalık gelişme riski artmaktadır. İnflamasyon ve tübüler epitel hücre ölümü akut böbrek hasarının tipik özellikleridir. Hasar görmüş tübüler epitel hücreleri, inflamatuvar hücrelerin kemotaksisine ve aktivasyonuna katkıda bulunan ve daha şiddetli bir inflamatuvar yanıtı neden olan biyoaktif faktörleri ve kemokinleri sentezleyip serbest bırakır (47). Sonuç olarak bu durum tübüler epitel hücrelerinin onarım ve çoğalmasının zayıflamasına yol açarak tübüler epitel hücrelerin apoptoz, piroptoz ve nekrozuya sonuçlanır (47).

Sepsis durumunda böbrek hasarına neden olan faktörlerden önemli biri ise sempatik stimülasyondur. Serebral nükleusların inflamatuvar sitokinlerle uyarılması sonucunda periferik sempatik uyarım artmakta, bu artış da inflamatuvar yanıtı baskılamaktadır. Sepsisin proinflamatuvar nitelikleriyle yetersiz immün yanıt arasında dengesizlik meydana gelmektedir (48, 49). Böbrek hasarında bu şekilde artmış sempatik uyarımın bulunması ise, renal arter ve dallarının sempatik innervasyon yoğunluğu düşünüldüğünde, sepsiste renal vasküler disfonksiyon için önemli bir mekanizma oluşturmaktadır. Ayrıca böbrek hasarı santral mekanizmalar aracılığıyla sempatik uyarımı artırmakta, bunun sonucunda bir döngü oluşmaktadır.

Sepsiste böbrek hasarına yol açan bir diğer faktör de endotel hasarı ve neden olduğu hemodinamik disfonksiyondur. Endotel fonksiyonları kan akımı regülasyonunu ve koagülasyon homeostazını sağlamakta ve iskemiye engellemektedir. Sepsis durumunda oluşan endotel disfonksiyonunun, sepsisin oluşturduğu hasarı artırdığı bilinmektedir (50). Aynı zamanda eNOS azalmasına bağlı olarak asetilkolin yanıtlarındaki bozulmanın da endotel hasarı sebebiyle olduğu gösterilmiştir (51).

Hem endotel hasarı hem de vasküler inflamasyonun oluşmasında rolü olan moleküllerden biri pentraksin-3'tür (52, 53). Kısa ve uzun zincirli olarak ikiye ayrılan pentraksin ailesinin uzun zincirli moleküllerinden biridir (54). Pentraksinlerden biri olan C-reaktif protein gibi sadece karaciğerde değil, vücutta yaygın olarak birçok dokuda üretilebilir (55). Artmış iNOS ve matriks metalloproteinazların, azalmış eNOS üzerinden endotel fonksiyon bozukluğunda, anjiojenez inhibisyonunda, oksidatif hasar ve inflamasyonda rolü vardır (56-58). Yine endotel hasarı ve vasküler inflamasyon belirteçlerinden bir diğeri ise vasküler endotel kaynaklı bir proteoglikan olan endokandır (59). Özellikle inflamasyonun görüldüğü endotelde üretilen endokan, vasküler permeabiliteyi ve lökosit adezyonunu artırmaktadır (60). Çeşitli kanserler, sistemik inflamasyon ve kardiyovasküler hastalıklarla, ayrıca bu hastalıklarda kötü prognozla ilişkisi gösterilmiştir (61).

Farklı mekanizmalarla oluşan hasarın yol açtığı bu durum, histopatolojiye ise glomerüler konjesyon, inflamasyon ve tübüler hasar olarak yansımaktadır (62). Ayrıca aktin iskeletinde bozulma, perivasküler matriks yıkımı, endotel hücre bağlantılarında bozulmaya ikincil olarak endotel permeabilite artışı da intravasküler alan ile interselüler alan arasındaki dengenin bozulmasına sebep olmaktadır (50).

Sepsiste böbrek kan akımında meydana gelen bozulma da renal hasara yol açan nedenlerden biridir. Kan akımındaki bozulma hem makrovasküler bozulma hem de bundan bağımsız mikrovasküler bozulma olarak gerçekleşmektedir (63). Oluşan mikrovasküler disfonksiyon hem hastalarda hem de deney hayvanlarında çeşitli organ sistemlerinde gösterilmiştir (64). Bu hemodinamik bozulmanın nedeni olarak endotel disfonksiyonu ve otonom fonksiyon bozukluğu, glikokaliks yapıda bozulma, koagülasyon yollarındaki uygunsuz aktivasyon, lökosit birikimi ve mikrotrombüslere ikincil olarak gelişen akım yavaşlaması öne sürülmüştür (65). Bu mekanizmaların oluşturduğu hasar hemodinamik otoregülasyon kaybına sebep olmaktadır. Ayrıca bu hasarın her bölgede aynı olmaması yama tarzında renal iskemiyeye neden olmaktadır (66). Bu bozulma organ disfonksiyonlarına neden olan başlıca nedenlerden biri olarak öne sürülmüştür (67).

Apoptoz, ilk olarak 1972’de kullanılmış ve programlanmış hücre ölümünü ifade eden bir terimdir (68). Fizyolojik süreçte ve hücre döngüsünde önemli bir yeri olmasının yanında sepsis patofizyolojisinde de immün hücre apoptozu, immünsüpresyon ve olması gerekenden daha az inflamatuvar yanıt gibi durumlarda rolü vardır (69, 70). İntrensek ve ekstrensek olmak üzere iki farklı yolak sonucunda oluşabilir ve bu yolaklar kaspaz-3 gibi kaspazları kullanan ortak bir yolda buluşarak etkilerini gösterirler. Sepsis ile ilişkili akut böbrek hasarında da apoptozun yeri bulunmakla birlikte hücre ölümlerinden tek başına sorumlu tutulmamaktadır (71). Piroptoz ise ilk vurgulanması 1986’ya dayanan, apoptozun aksine proinflamatuvar nitelikte bir programlanmış hücre ölümü tipidir (72). İnflamazom ile tetiklenmiş piroptoz, sepsiste hem hücre ölümüne yol açmakta hem de inflamasyon ortamı oluşturmaktadır (73). Birçok çalışmada, akut böbrek hasarında gelişen tübüler hücre ölümünün ana nedeninin piroptoz olduğunu gösterilmiştir (47). Kaspaz-1 piroptozda görevli ve inflamatuvar sitokinlerin oluşmasında da rolü olan bir kaspazdır. Yine sepsis ile ilişkili akut böbrek hasarında piroptoz bu etkisiyle önemli bir rol oynamaktadır (74).

2.4. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi

Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi vücutta elektrolit dengesini ve kan basıncını kontrol eden sistemlerden biridir. Hastalık durumlarında normal işleyişinden çıkarak dengeyi sağlama görevi vardır, bazen de bu sistemdeki moleküllerden birinin fazla ya da az olması hastalık durumuna sebep olur. Sistemin ilk sırasında yer alan renin, böbrekte granüler hücrelerin sentezlediği bir moleküldür (5). Renin, karaciğerde sentezlenen anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e çeviren enzimdir (75). Anjiyotensin I ise akciğer ve böbrekler başta olmak üzere endotel zarında anjiyotensin dönüştürücü enzim tarafından anjiyotensin II (AngII)'ye çevrilir (76). Adrenal kortekste ise anjiyotensin II, aldosteron sekresyonunu AT₁ reseptörü üzerinden uyarır (77). Anjiyotensin II aynı zamanda hipotalamusta AT₁ reseptörleri üzerinden etki göstererek susamayı uyarır, ayrıca damar düz kası üzerinde vazokonstriktör etkisi vardır (78, 79). Aldosteron böbrek tübüllerinde sodyum ve

bikarbonat geri emilimini, potasyum ve proton sekresyonunu uyararak elektrolit ve pH dengesini sağlamada önemli rol oynar.

Özellikle kardiyovasküler sistem hastalıkları başta olmak üzere çeşitli hastalıklarda RAAS rol oynamaktadır. Erken dönemde kompensasyon mekanizması olarak işlev gören bu sistem bir süre sonra hastalık patogenezinde rol oynamaya başlamaktadır. Bunların arasında hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi hastalıklar bulunmaktadır (6). Proinflamatuvar ve fibrotik etkileri ile kardiyak ve vasküler hasara neden olmaktadır (80). Vasküler hasara neden olan etkileri arasında reaktif oksijen türlerinde artış, endotelde NO azalması ve endotel disfonksiyonu sayılabilir (81). Böbreklerde ise reaktif oksijen türlerinde artışa, hipertrofiye ve inflamasyona neden olmaktadır (82). Aynı zamanda lokal olarak aktive olmasıyla da renal parankim hasarına neden olmaktadır (83).

Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi aynı zamanda tedavilerdeki rolü açısından da önemli bir sistemdir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokörleri, aldosteron reseptör antagonistleri bu tedavilerde kullanılan ilaçların en çok bilinenleridir. Bu ilaçlar hipertansiyon, kalp yetmezliği, miyokard enfarktüsü gibi kardiyovasküler hastalıkların yanında nefropati durumlarında, diüretik etkinin istendiği durumlarda kullanılırlar.

RAAS'ta ayrıca prorenin, anjiyotensin III, anjiyotensin IV, anjiyotensin A, anjiyotensin (1-7), alamandin gibi moleküller de bulunur (Şekil 2.2). Bu moleküllerin sentezinde anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 ve spesifik dekarboksilazlar rol oynar (Şekil 2.3). Daha yakın zamanda keşfedilmiş olan bu moleküller tedavi potansiyelleri açısından da önem arz etmektedir (84).

2.4.1. Alamandin ve MrgD Reseptörü

Alamandin endojen olarak vücutta bulunan, anjiyotensin A'nın ACE2 ile reaksiyonu veya anjiyotensin (1-7)'nin dekarboksilasyonu sonucu oluşan 7 aminoasitli bir peptittir. Ang (1-7)'den tek farkı N-terminusundaki aminoasitin aspartat değil, alanin olmasıdır. İnsan kan örneklerinde fizyolojik olarak bulunmakta, nefropatik hastalarda daha yüksek miktarlarda görülmektedir. Ang (1-7)'nin de bağlandığı Mas reseptörüne de afinite göstermekle birlikte, MrgD reseptörüne bağlanmakta ve etkisini göstermektedir (7).

MrgD reseptörü hayvanlarda ve insanlarda bulunduğu gösterilmiş olan, G proteini ile kenetli bir *orphan* reseptördür (87). İlk olarak nöronlarda varlığı gösterilmiştir (88). Ağrı ve kaşıntı duyularında rolü vardır (87, 89). Çeşitli çalışmalarda farklı dokularda G proteininin G_s , G_i ve G_q alt birimleri ile kenetli olduğu gösterilmiştir (90-92). Vasküler, kardiyovasküler, nöronal, renal gibi birçok farklı sistem ve dokuda varlığı çalışılmış, birçoğunda ALA'nın etkilerine aracılık ettiği gösterilmiştir (93).

ALA vasküler etkiler olarak organ banyosunda aort üzerinde endotel-bağımlı, nitrik oksit (NO) üzerinden vazodilatasyon yapar (7). ALA'nın çeşitli sıçan arter örneklerinde asetilkolinle (ACh) oluşturulmuş vazodilatasyonu artırdığı, ateroskleroz modellerinde ise aterosklerotik plakta, vasküler düz kasta ve endotelde MrgD reseptörlerinin bulunduğu, aterosklerotik arter örnekleri üzerinde ACh'yle oluşturulmuş vazodilatasyonu artırmadığı gösterilmiştir (94). *In vivo* olarak intravenöz (i.v.) 75 µg/kg ve subkütan 50 µg/kg/gün infüzyonunda ise hipertansif sıçanlarda kalp hızında değişiklik yapmadan ortalama kan basıncında düşüşe yol açtığı gösterilmiştir (95, 96). Farelerde aortik ve kardiyak fibrozis modellerinde oral olarak 30 µg/kg/gün verildiğinde anti-fibrotik ve anti-inflamatuar etkileri olduğu bilinmektedir (97, 98).

ALA'nın kardiyak etkilerine bakıldığında, *in vivo* 0,1 mg/kg intraperitoneal (i.p.) olarak verildiğinde ve *in vitro* olarak Langendorff preparatında iskemi-reperfüzyon hasarını MrgD reseptörü üzerinden azalttığı, iskemi sonrası kardiyak fonksiyonları düzelttiği, enfarkt alanını küçülttüğü, koroner akımı artırdığı, apoptotik protein

düzeylerini azalttığı, antioksidan protein düzeyini artırdığı gösterilmiştir (99, 100). Hipertansif sıçanlarda ise ALA'nın kardiyak disfonksiyonu düzelttiği, hipertrofiyi azalttığı, atrial natriüretik peptit (ANP) ve beyin natriüretik peptit (BNP) seviyelerini düşürdüğü görülmüştür; ayrıca hipertansif sıçanlarda MrgD düzeylerinin de arttığı gösterilmiştir (95, 96, 101). Kardiyomiyosit hücre kültüründe ise ALA, hipertrofiyi MrgD reseptörü üzerinden azaltmaktadır (102). Subkütan olarak 600 µg/kg/gün verildiğinde ise adriamisinle oluşturulmuş kardiyotoksisiteyi engellemekte, artmış oksidatif stres belirteçlerini, inflamatuvar sitokin düzeylerini azaltmaktadır (103).

Renal etkileri için, interlobar arterlerin anjiyotensin reseptör blokörü ile inkübasyonunda alamandinin vazodilatasyon yaptığı gösterilmiştir (104). Subkütan olarak 600 µg/kg/gün verildiğinde adriamisinle oluşturulmuş nefrotoksisiteyi azalttığı, böbrek fonksiyonunu gösteren parametreleri düzelttiği, oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (105). Sıçanlarda *in vivo* renal iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmakta, renal fonksiyonu gösteren parametreleri düzeltmekte, *in vitro* hipoksi-reoksijenizasyon hasarını oksidatif stresi düşürerek azaltmakta, antiapoptotik ve antiinflamatuvar etki göstermektedir (106). Bunlara ek olarak sıçanlarda yüksek tuzla indüklenmiş hipertansiyon modelinde 500 µg/kg/gün i.p. verildiğinde renal fibrozis, renal disfonksiyon ve renal apoptozu azalttığı gösterilmiştir (107).

Sepsis modellerinde alamandin uygulanan çalışmalarda, farelerde model oluşturulmadan önce i.v. verilen 1 µM/kg alamandin, LPS'nin yol açtığı inflamatuvar sitokin artışını, kardiyak fonksiyon bozulmasını engellemiş, antiapoptotik etki göstermiş, LPS'nin yol açtığı ortalama kan basıncı düşüşünü engellememiştir (8). Yine farelerde model oluşturulmadan önce i.v. verilen 1 µM/kg alamandin böbrek hasarını azaltmış, insan proksimal tübül epitelinde de böbrek hasarını azaltmış, inflamatuvar sitokin artışını engellemiş ve antiapoptotik etki göstermiştir. Hücre kültüründe septik hasarda rol oynayan PI3K/Akt, MAPK (Mitojenle aktive olan protein kinaz) ve FoxO1 yolları üzerinden bu etkilerini gerçekleştirmiştir. Ayrıca sepsiste böbrek hücrelerindeki MrgD ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (9).

İlk olarak 2013'te keşfedilen ALA, günümüze kadar birçok farklı formda, dozda ve farklı yollarla deney hayvanlarına uygulanmıştır. Peptit yapılı olduğundan dolayı direkt oral yolla verilemeyen ALA, β -hidroksipropil siklodekstrin ile birleştirilerek oral yoldan, ozmotik pompa içinde subkütan olarak, intraperitoneal yolla, intravenöz yolla verilmiştir (7, 95, 108, 109). Aynı zamanda mikrogramdan miligrama değişen dozlarda ve farklı sürelerde uygulamaları olmuştur. Birkaç haftalık uygulama örneklerinin yanında sepsis modelinde olduğu gibi tek doz uygulandığında da etkilerini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (8, 110).

2.4.2. AT₂ ve Mas Reseptörleri

Anjiyotensin II'nin etkilerini gösterdiği AT₁ reseptöründen farklı olarak AT₂ reseptörü ise genel olarak AT₁ reseptörüne zıt etkiler göstermektedir (85). Antiinflamatuvar, antiproliferatif, antifibrotik, antihipertansif etkileri bulunan bu reseptörün keşfiyle renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin koruyucu kolu da keşfedilmiştir. Daha sonra yine bu kolda yer alan anjiyotensin III'ün de etkilerine AT₂ reseptörünün aracılık ettiği görülmüştür.

AT₂ reseptörünün ve çeşitli agonistlerinin etkileri başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere renal, nörolojik ve otoimmün hastalıklarda da araştırılmış, hastalık durumlarında arttığı gözlenmiştir (111). Bunlara ek olarak nöropatik ağrı da analjezik yollarlarda etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (112).

RAAS'ın koruyucu kolunda yer alan reseptörlerden biri olan Mas reseptörü, ilk olarak insan epidermoid karsinom hücre kültürü DNA'sından Mas geninin protoonkogen olarak izole edilmesiyle keşfedilmiş, daha sonra RAAS'ın bir parçası olduğu bulunmuştur (113, 114). Sonrasında ise anjiyotensin (1-7) ile ilişkisi keşfedilmiş, bu peptidin etkilerine aracılık ettiği bulunmuştur (114).

Çoğunlukla AT₁ reseptörüne zıt etkilere aracılık eden Mas reseptörünün kardiyoprotektif, vazodilatör ve olumlu metabolik etkileri gösterilmiştir (115). Anjiyotensin (1-7)'nin etkilerinin birçoğuna Mas reseptörü aracılık etse de bu

etkilerde Mas reseptörü haricindeki reseptörlerin de payı olduğu öne sürülmüştür (116).

2.5. Hipotez

Alamandin tedavisinin LPS ile indüklenen sıçan sepsis modelinde, bozulan kardiyorenovasküler parametreler, inflamatuvar yanıtlar, arter fonksiyonları, moleküler ve patolojik değişiklikler üzerine düzeltici etkileri vardır.

2.6. Amaç

Bu çalışmanın amacı, verilen bilgiler ışığında bu çalışmada LPS ile indüklenen Sprague-Dawley sıçan sepsis modelinde alamandin tedavisi ve ön tedavisinin sistemik ve lokal etkileri *in vivo* ve *ex vivo* yöntemlerle araştırmaktır. Bu araştırma sırasında farklı kardiyovasküler ve renal parametreler için fonksiyonel, biyokimyasal ve gözlemsel yöntemler ile karaciğer ve böbrek için histopatolojik ve böbrek için moleküler yöntemler kullanılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Kullanılan hayvanlar Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Hayvanların deney süreci boyunca uygun koşullarda barınması sağlanmıştır. 22-24°C'de, %50-60 nem aralığında, 12 saat gece, 12 saat gündüz olacak şekilde periyotlar sağlanarak, yem ve su ihtiyaçları *ad libitum* karşılandı. Vücut kütleleri 250-300 gram arasında değişen, standart laboratuvar yemi ile beslenen 76 adet 8-10 haftalık Sprague-Dawley soyu erkek sıçan kullanıldı. Dişi hayvanlarda menstrüel siklus sebebiyle hormon düzeylerinde görülebilecek farklılıklardan dolayı oluşacak ek değişkenler deneylerin doğru yorumlanmasını değiştirebileceği için erkek sıçanlar tercih edildi. Grup başına düşen hayvan sayısını belirlemek için G-Power 3.1 (117) yazılımıyla analiz yapıldı. Literatürde benzer modellerdeki grup başına düşen hayvan sayısı ve %20-30 mortalite oranı hesaba katıldı. Sıçanlar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda barındırıldı. Sıçanlar yeni yerlerine geldikten sonra en az 5 gün yeni ortamlarına alışmaları için bir işlem yapılmadı.

3.2. Etik Kurul İzni

Yapılan çalışmalar için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2021/80 kayıt numaralı dosyası için 28.12.2021 tarihinde yapılan toplantısında alınan 52338575-159 sayılı, 2021/10-08 numaralı kararı ile etik kurul izni alınmış, 24.05.2022 tarihinde yapılan toplantısında alınan 52338575-72 sayılı, 2022/05-09 numaralı kararı ile yapılan değişiklik başvurusu kabul edilmiştir.

3.3. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları

Sıçanlar öncelikle deney protokolü için 5 gruba ayrıldı. Sepsis modeli için i.p. 10 mg/kg LPS uygulaması yapıldı. Ön tedavi (Pre) grupları için LPS'den 1 saat önce, tedavi (Post) grupları için LPS'den 1 saat sonra i.v. 500 µg/kg alamandin enjeksiyonu yapıldı. ALA grubu için ise serum fizyolojik (SF) enjeksiyonundan 1 saat önce alamandin enjeksiyonu yapıldı. Ait olduğu gruba göre LPS vehikülü olarak çözücüsü

SF i.p. yolla, ALA vehikülü olarak da çözücüsü SF i.v. yolla verildi. İlk enjeksiyon sonrasında hayvanlar aç bırakıldı ve sadece su içmelerine izin verildi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney grupları ve enjeksiyonlar

Deney Grupları	İntravenöz Enjeksiyon	İntraperitoneal Enjeksiyon
Kontrol (n=15)	SF	SF
Lipopolisakkarit (LPS; n=18)	SF	LPS
Alamandin (ALA; n=13)	ALA	SF
Ön Tedavi (Pre; n=17)	ALA	LPS
Tedavi (Post; n=13)	ALA	LPS

LPS enjeksiyonundan 19,5 saat sonra sıçanlara anestezi amacıyla kloral hidrat (400 mg/kg, i.p.) verildi. Hayvanların anestezi durumu patilerinde sıkıştırmaya verdikleri refleks çekme yanıtına bakılarak incelendi. Abdominal insizyon yapılan hayvanlarda önce *in vivo* incelemeler, ardından dokuları çıkarılarak *ex vivo* incelemeler yapıldı. Hayvan vücut kütleleri ilk enjeksiyon (alamandin, LPS veya SF) sonrası ve kloral hidrat enjeksiyonu öncesinde ölçülerek kaydedildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Yapılan enjeksiyon ve değerlendirmelerin zamansal dağılımı

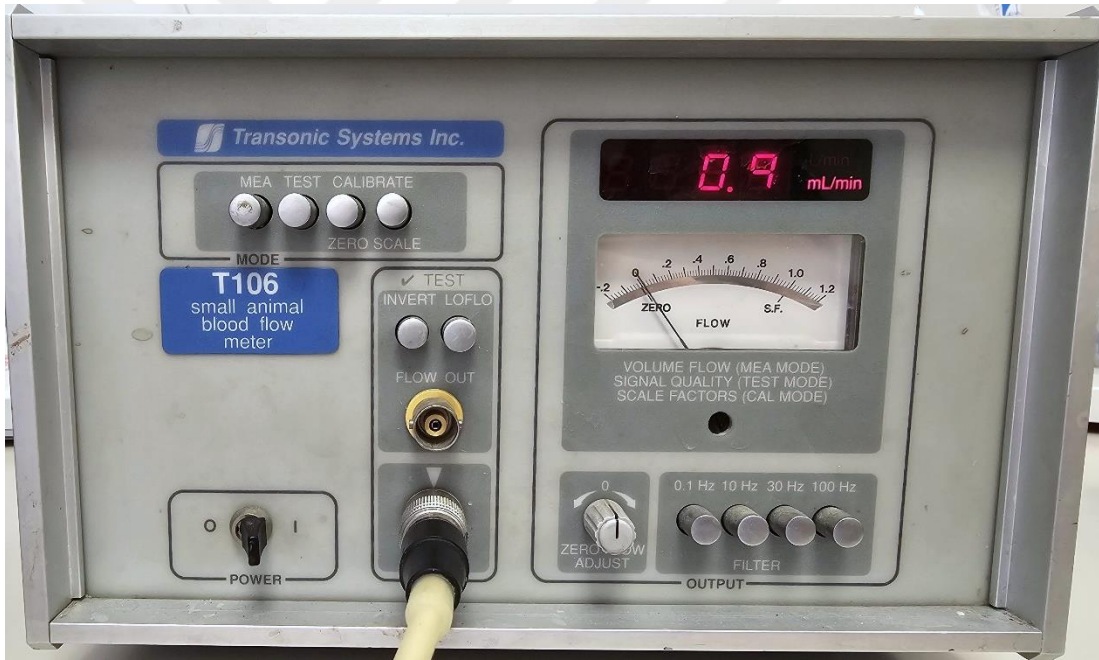
Bu çalışmada yapılan deneylerde, alamandin (ALA, SML1374; Sigma-Aldrich, St. Louis MO, ABD), Escherichia coli O55:B5 serotipinde lipopolisakkarit (LPS, L2880; Sigma-Aldrich, St. Louis MO, ABD), kloral hidrat (MERCK KGaA, Darmstadt, Almanya), fenilefrin (PE, P6126; Sigma-Aldrich, St. Louis MO, ABD), asetilkolin klorür (ACh, A6625; Sigma-Aldrich, St. Louis MO, ABD), anjiyotensin II (AngII, 176804; Calbiochem-Behring), sodyum nitroprusiyat (SNP, PHR1423; Sigma-Aldrich, St. Louis MO, ABD),

norepinefrin (NE, A7381; Sigma-Aldrich, St. Louis MO, ABD) kullanıldı. Kloral hidrat, ALA ve LPS fizyolojik salin solüsyonunda (%0,9 NaCl), diğer ilaçlar distile suda çözüldü.

3.4. Fonksiyonel Değerlendirme

3.4.1. *In vivo* Kan Akımı Ölçümü

Anestezi sonrası abdominal insizyon yapılan hayvanlarda bağırsaklar hayvanın sağ tarafına doğru ekarte edildi. Abdominal aort, sol renal arter, superior mezenter arter ve portal ven izole edildi, perivasküler bağ doku vasküler yapılara zarar vermeyecek şekilde temizlendi. Bu damarlardaki kan akımı Doppler prob aracılığıyla kan akımı ölçer (T106 Small Animal Blood Flow Meter; Transonic Systems, ABD) ile noninvaziv olarak ölçüldü (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kan akımı ölçmek için kullanılan cihaz.

3.4.2. *Ex vivo* Değerlendirme

Organ Banyosu ve İzole Torasik Aort

Torasik kavite açılarak torasik aort izole edildi. Soğuk Krebs-Henseleit solüsyonu içeren petri kabına alındı. Bir segmenti ayrılarak içinden iki adet çelik tel

geçirildi. Hazırlanan preparat 37 °C sıcaklıkta, %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan 10 mL Krebs-Henseleit solüsyonu içeren organ banyosuna asıldı. Bazal gerimin sabitlenmesi için beklenen dokuya yüksek K⁺ içeren Krebs-Henseleit solüsyonu (80 mM K⁺; NaCl: 42,7 mM, KCl: 80 mM, NaHCO₃: 25 mM, MgSO₄: 1,2 mM, KH₂PO₄: 1,2 mM, CaCl₂: 2,5 mM, glukoz: 11 mM) verilerek deney protokolüne başlandı. Vazokonstriktör ajan olarak fenilefrin (10⁻⁹ – 10^{-4,5} M), anjiyotensin II (10⁻¹¹ – 10^{-6,5} M); vazodilatör ajan olarak asetilkolin (10⁻⁹ – 10^{-4,5} M) ve sodyum nitroprusiyat (10⁻⁹ – 10⁻³ M) kullanılarak kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edildi. İzometrik kasılma ve gevşeme yanıtları kuvvet transduseri ile mN olarak ölçüldü ve veri kazanım ünitesi (MP150, Biopac Systems, ABD) aracılığıyla dijital olarak kaydedildi.

İzole Perfüze Böbrek ve Üreter Sıvı Çıkışı

Abdominal aort, sol renal arter ve ven, sol böbrek ve üreter çevre dokulardan izole edildi. Abdominal aort proksimali klemp yardımıyla sıkıştırılarak kan akımı durduruldu. Aort üzerinde, sol renal arter çıkışının proksimalinde kesi oluşturuldu. Bu kesiden 22G kanül yardımıyla geçilerek sol renal artere girildi. Kanül ve arteri birlikte tutacak şekilde ip yardımıyla düğüm atıldı. Sol böbrek Krebs-Henseleit solüsyonu (NaCl: 118 mM, KCl: 4,7 mM, NaHCO₃: 25 mM, MgSO₄: 1,2 mM, KH₂PO₄: 1,2 mM, CaCl₂: 2,5 mM, glukoz: 11 mM) ile perfüze edildi. Sol üreter distal kısmından, mesaneye yakın olacak şekilde kesildi. İzole edilen böbrek, üreteriyle birlikte hızlı bir şekilde perfüzyon sistemine bağlandı. Bu sistemde renal arter üzerinden böbrek sabit bir akımda (7 ml/dk) peristaltik pompa (MP-3 akım pompası, Eyela, Japonya) aracılığıyla perfüze edildi. Perfüzyon için 37 °C sıcaklıkta, %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılmış Krebs-Henseleit solüsyonu kullanıldı. Perfüzyon basıncı sürekli olarak mmHg olarak basınç transduseri ile ölçüldü ve veri kazanım ünitesi (MP150, Biopac Systems, ABD) aracılığıyla dijital olarak kaydedildi.

30 dakika (dk) boyunca perfüzyon basıncının sabitlenmesi beklendi. Böbrekten ayrılmadan izole edilmiş olan üreter, zarar verilmeden bir beher içine alınarak, üreter sıvı çıkışının ayrı bir yere akışı sağlandı. Üreterden çıkan perfüzyon

solüsyonu miktarı 30 dk boyunca toplandı. Beher içine toplanmış olan üreter sıvı çıkışı mezür yardımıyla ölçüldü.

Kanül girişine bağlı silikon tüp aracılığıyla 0,1 mL hacimdeki ilaç dozları bolus enjeksiyon ile verilerek ve ön kasılma için perfüzyon sıvısına belirlenen konsantrasyonlarda eklenen ilaçlar yardımıyla doz-yanıt eğrileri elde edildi. Kasıcı ajan olarak fenilefrin (10 µg/0,1 mL), norepinefrin (0,003 – 10 µg/0,1 mL) ve anjiyotensin II (0,1 µg/0,1 mL), gevşetici ajan olarak asetilkolin (0,001 – 100 µg/0,1 mL) ve sodyum nitroprusiyat (0,01 - 100 µg/0,1 mL) kullanıldı. Gevşeme yanıtları öncesinde ön kasılma 3×10^{-6} M fenilefrin içeren perfüzyon sıvısı ile sağlandı. Norepinefrin ve anjiyotensin II yanıtları, fenilefrin yanıtlarına oranlanarak analiz edildi.

Miyograf ve İzole Renal Arter ve Dalları

Sağ böbrek çevre dokulardan temizlenerek soğuk fizyolojik tuz solüsyonu (PSS, *physiological salt solution*) (PSS; NaCl: 118 mM, KCl: 4,6 mM, NaHCO₃: 25 mM, MgSO₄: 1,2 mM, KH₂PO₄: 1,2 mM, CaCl₂: 1,2 mM, glukoz: 10 mM, EDTA: 0,025 mM) içeren petri kabına aktarıldı. Koronal kesi ile ikiye ayrılan böbrek dokusunda renal arter, renal arterin dalı ve segmental arterler izole edildi. Bu arter segmentleri 2 mm'lik daha küçük parçalara ayrıldıktan sonra içlerinden renal arter ve dalları için 40 µm, segmental arter için 25 µm kalınlığında teller geçirilerek banyo sistemlerine takıldı. Banyolar ise miyograf (Myograph 610M, Danish Myo-Technology, Aarhus, Danimarka) sistemine bağlandı. Miyograftan gelen veriler veri kazanım ünitesi (Powerlab, AD Instruments, Avustralya) aracılığıyla mN/mm biriminde dijital olarak kaydedildi. Banyolara 5 ml, 37 °C sıcaklıkta, %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan PSS eklendi. 20 dakika boyunca dinlendirilen dokulara, artan gerim değerleri uygulanması yoluyla normalizasyon işlemi yapılarak çalışmanın sürdürüleceği ideal arter çapları ve bazal gerim değerleri belirlendi. Normalizasyon işlemi veri kazanım ünitesi ve miyograf cihazı ile uyumlu bir yazılım aracılığıyla (Powerlab, AD Instruments, Avustralya) yapıldı. Dokular normalizasyon sonrası 40 dakika daha dinlendirildi.

Deney protokolüne yüksek K^+ içeren PSS (NaCl: 42,6 mM, KCl: 80 mM, $NaHCO_3$: 25 mM, $MgSO_4$: 1,2 mM, KH_2PO_4 : 1,2 mM, $CaCl_2$: 1,2 mM, glukoz: 10 mM, EDTA: 0,025 mM) verilerek başlandı. Elektriksel alan stimülasyonu (EAS) ile oluşan izometrik gerim değişikliği yanıtları elektrik alan stimülatörü (S48, Grass Instruments, ABD) ve sabit akım ünitesi (A385, World Precision Instruments, ABD) kullanılarak 8 miliamper akım, 10 saniye toplam süre, 1 milisaniye tek bir uyarı süresinde uyarılarla artan frekanslarda (1 - 32 Hz) incelendi. Vazokonstriktör ajan olarak fenilefrin (10^{-9} – $10^{-4,5}$ M), anjiyotensin II (10^{-11} – $10^{-6,5}$ M), prostaglandin $F2\alpha$ (10^{-10} – $10^{-5,5}$ M); vazodilatör ajan olarak asetilkolin (10^{-9} – $10^{-4,5}$ M) ve sodyum nitroprusiyat (10^{-9} – $10^{-4,5}$ M) kullanılarak konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edildi.

İdrar Örneklerinin Değerlendirilmesi

Doku toplama prosedürleri uygulanmadan önce abdominal kavitede mesane görülebilir hale getirildi. Steril enjektör yardımıyla mesaneden idrar örneği toplandı. Toplanan örnekler zaman geçirilmeden idrar çubuklarıyla (Mission Expert, ACON Laboratories, CA, ABD) kolorimetrik olarak granülosit esteraz aktivitesi aracılığıyla lökosit varlığı için değerlendirildi. İdrar çubuğunda görülen rengin, ürün için daha önce belirlenen aralıklardan hangisine karşılık geldiği belirlendi.

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Sağ böbrek koronal kesiti ve karaciğer segmenti %10 formolde en az 24 saat bekletildi. Sonrasında kasetlerde takibe alınarak parafin bloklama yapıldı. 4 μ m kalınlığında kesitler alındı. Kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Değerlendirmeler kör bir şekilde yapıldı. Değerlendirmede benzer çalışmalarda kullanılan skarlama sistemleri modifiye edilerek kullanıldı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Histopatolojik Değişiklikler ve Skorlama Sistemleri

Histopatolojik Değişiklikler ve Skorlama Sistemleri
Renal
0: Normal 1: Hafif derecede şişmiş tübül epiteli, glomerüler konjesyon 2: Orta derecede/fokal tübüler epiteliyal nekroz ve dejenerasyon 3: Şiddetli/diffüz tübüler epiteliyal nekroz ve tübüler yapıların bozulması
Hepatik
0: Normal 1: Hepatositlerde hafif derecede şişme (sitoplazmik vakuolizasyon), minimal sinüzoidal konjesyon 2: Hepatositlerde belirgin derecede şişme (sitoplazmik vakuolizasyon), şiddetli sinüzoidal konjesyon 3: + Belirgin portal inflamasyon 4: Nekrobiyotik odakların varlığı, fokal/masif nekroz

3.6. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

İnferior vena cava'dan steril enjektör yardımıyla toplanan kan örnekleri, pıhtılaşma aktivatörü jel içeren sarı kapaklı biyokimya tüplerine hızlı bir şekilde aktarıldı. 1 saat boyunca tüpte bekletildikten sonra 3000 G'de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant toplanarak mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve değerlendirme yapılarına kadar -80 °C sıcaklıkta bekletildi. Serum TNF- α ve IL-1 β konsantrasyonları ELISA kitleri (Nepenthe, Kocaeli, Türkiye) ile her kitin kendi protokolünün gerektirdiği şekilde uygulandı. Serum kreatinin düzeyleri ise kolorimetrik yöntem kullanan bir kit (Cayman Chemical, Michigan, ABD) ile ölçüldü. Örnekler seyreltilmeden, duplike olarak çalışıldı.

3.7. Kantitatif Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR)

Sol böbrekler çıkarılıp homojenize edildikten sonra TNF- α , IL-1 β , interlökin-10 (IL-10), Kaspaz 1, Kaspaz 3, eNOS, iNOS, pentraksin-3, endokan, AT₂, Mas, MrgD ve GAPDH gen ifadelerini yansıtan mRNA seviyeleri qRT-PCR ile ölçüldü (Tablo 3.3). GAPDH *housekeeping* gen olarak kullanıldı. Böbrek kesitleri homojenizasyon aşamasına kadar -20 °C'de RNA stabilizasyon solüsyonu (RNAlater, Qiagen, Hilden, Almanya) içerisinde saklandı. Total RNA ekstraksiyonu RNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Almanya) ile gerçekleştirildi. RNA konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop 1000 spektrofotometre (Thermo, DE, ABD) ile ölçüldü. *Reverse transcriptase* PCR (RT-PCR) yöntemi ile 1 μ g RNA'dan QuantiTect Reverse Transcription Kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak üreticinin yönergeleri doğrultusunda cDNA sentezlendi. Sonrasında qPCR prosedürü kit (QuantiNova SYBR Green PCR Kit, Qiagen, Hilden, Almanya) yardımıyla yürütüldü. Reaksiyon, 10 μ l SYBR Green, 4 μ L primer oligonükleotidleri, 4 μ L RNAaz içermeyen su ve 2 μ L cDNA içeren solüsyonda 95 °C'de 10 saniye, 60 °C'de 20 saniye şeklinde siklüslerle yürütüldü. Bu siklüsler için Corbett 6000 (Rotor-Gene, CA, ABD) cihazı kullanıldı. Gen ifade seviyelerinin hesaplanmasında hedef örnekteki ve kontrol örneğindeki qPCR eşik siklus (CT) sayıları kullanılarak $2^{-(\Delta CT_{\text{örnek}} - \Delta CT_{\text{kontrol}})}$ formülü uygulandı (118, 119). Bu formüldeki ΔCT örnek veya kontroldeki hedef gen ile GAPDH geninin CT değerleri arasındaki farkı ifade etmekteydi. qPCR prosedürü her örnek için duplike olarak çalışıldı ve analizde duplike dokulardaki CT değerlerinin ortalaması kullanıldı. Prosedürü yürüten araştırmacılar çalışma sırasında körlendi.

Tablo 3.3. qRT-PCR çalışmasında değerlendirilen genler ve kullanılan primer dizileri

Gen	Primer Tipi	Primer Dizisi (5'-3')	NCBI Referans Dizisi	Ürün Uzunluğu (baz çifti)
AT ₂	Forward	CAATCTGGCTGTGGCTGACTT	>NM_012494.4	101
	Reverse	TGCACATCACAGGTCCAAAGA		
Mas	Forward	CAGAGCTGGGTTTACCTGGA	>NM_012757.2	132
	Reverse	ATGGCTTTCTCCTCAGCAAA		
MrgD	Forward	CACTGGCCCTCCTGATGAA	>NM_001001506.2	58
	Reverse	GGATGCCAGAATTGAACACAGA		
TNF- α	Forward	GCCACCACGCTCTTCTGTC	>NM_012675.3	149
	Reverse	GCTACGGGCTTGCTACTCG		
IL-1 β	Forward	CACCTCTCAAGCAGAGCACAG	>NM_031512.2	79
	Reverse	GGGTTCCATGGTGAAGTCAAC		
IL-10	Forward	GCTCTTACTGGCTGGAGTGAA	>NM_012854.2	105
	Reverse	CTCAGCTCTCGGAGCATGTG		
eNOS	Forward	GATCCTAACTTGCCTTGCATCCT	>NM_021838.2	80
	Reverse	TGTAATCGGTCTTGCCAGAATCC		
iNOS	Forward	AGGTGTTTACGCGTGCTCCAC	>NM_012611.3	114
	Reverse	AGTTCAGCTTGGCGGCCACC		
Kaspaz-1	Forward	TGCCTGGTCTTGTGACTTGGAG	>NM_012762.3	133
	Reverse	ATGTCCTGGGAAGAGGTAGAAACG		
Kaspaz-3	Forward	AATTCAAGGGACGGGTCATG	>NM_012922.2	67
	Reverse	GCTTGTGCGCGTACAGTTTC		
Pentraksin-3	Forward	CATGCGACTGCCGCCAGGA	>NM_001109536.3	100
	Reverse	TCGTCGGTGGCCTGTAACA		
Endokan	Forward	ATTGCCAGTCGGGCATATGTGA	>NM_022604.2	149
	Reverse	TTCTCTCACAGCGTTGCCAT		
GAPDH	Forward	GGCAAGTTCAACGGCACAG	>NM_017008.4	142
	Reverse	CGCCAGTAGACTCCACGAC		

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Doz-yanıt ve konsantrasyon-yanıt eğrilerinin istatistiksel olarak karşılaştırması için çift yönlü varyans analizi ve post-hoc Dunnett testi; diğer veri gruplarındaki karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. İdrarda lökosit ve patolojik değerlendirmelerin karşılaştırmaları için ordinal kategorik veri türüne uygun olarak parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi kullanıldı. 20 saat sonundaki mortalite oranlarının karşılaştırması için *Fisher's exact*

testi kullanıldı (120-122). Tüm istatistiksel analizler için Prism 9.0 (GraphPad, San Diego, CA, ABD) yazılımı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için *P* değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı olarak kabul edildi. Veriler aritmetik ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası olarak ifade edildi.

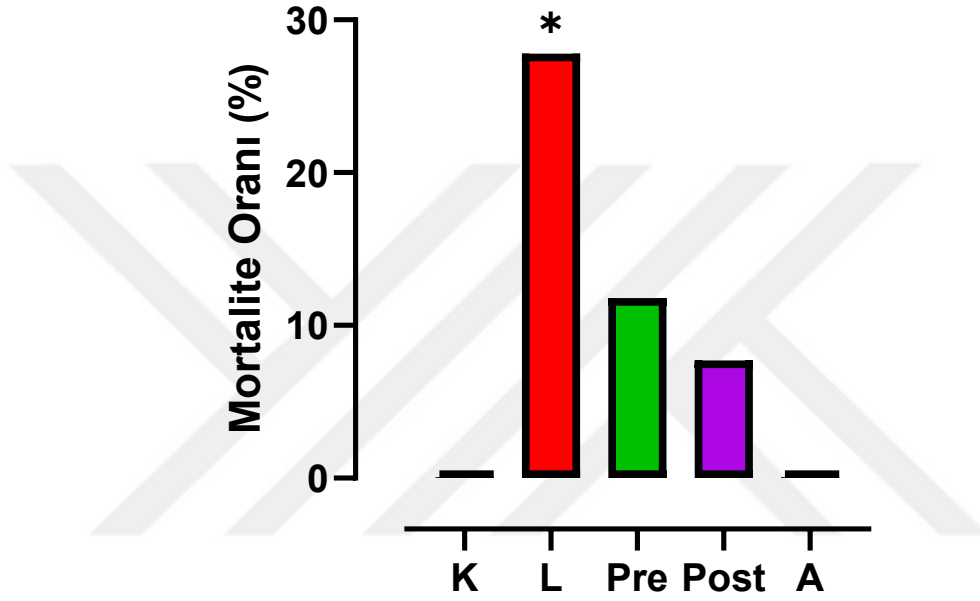


4. BULGULAR

4.1. Sistemik Etkiler ve Renal Fonksiyonlar Üzerine Etkilerin Değerlendirilmesi

4.1.1. Genel Değerlendirmeler

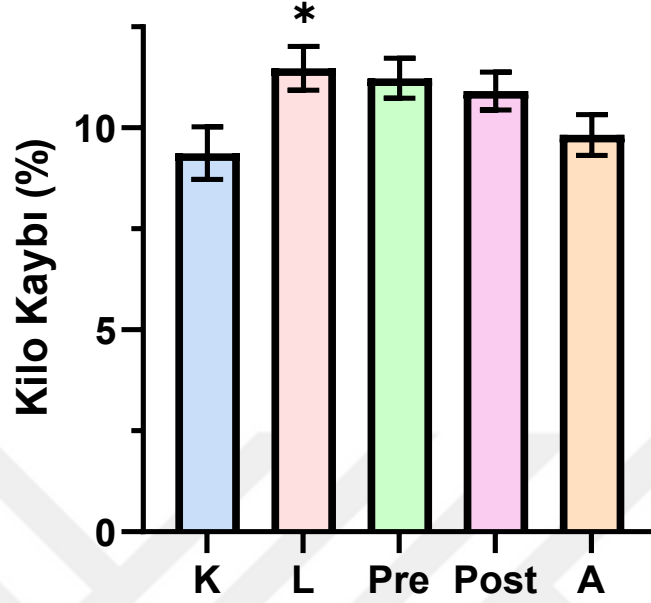
LPS Enjeksiyonu Sonrası 20 Saat Sonundaki Mortalite Oranı



Şekil 4.1. Yüzdesel olarak mortalite oranları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının mortalite üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre, n=13-18.

LPS verildikten 20 saat sonra değerlendirilen mortalite oranlarında LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptandı ($P = 0,049$). Pre ve Post gruplarında ise ne kontrol ne de LPS grubuna göre anlamlı bir değişim saptanmadı (Şekil 4.1; kontrol: %0, LPS: %27,8, Pre: %11,8, Post: %7,7, ALA: %0). Bu sonuçlar hem ALA ön tedavisinin hem de ALA tedavisinin mortalite oranındaki artışı önlediğini göstermektedir.

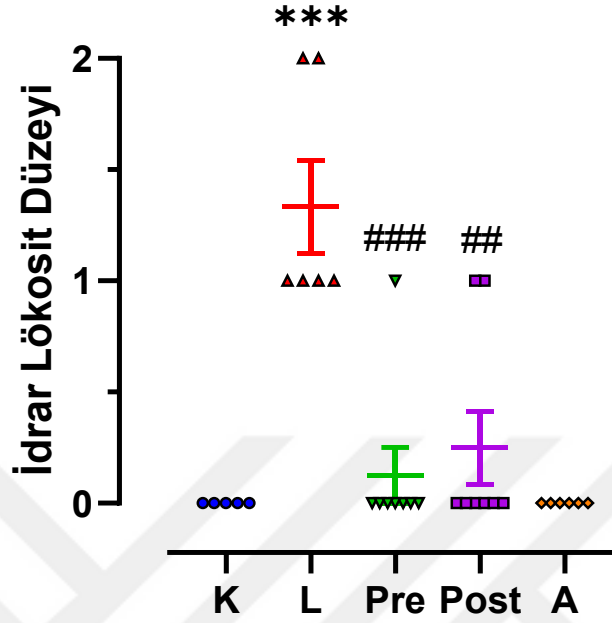
Vücut Kütlesi Kaybı



Şekil 4.2. Vücut kütle kaybı. LPS ve alamandin uygulamalarının LPS/SF enjeksiyonundan anesteziye kadar geçen 20 saatlik sürede meydana gelen ağırlık değişimleri üzerine olan etkileri değerlendirildi. Anestezi sırasında ölçülen vücut ağırlığındaki azalma LPS/SF enjeksiyonu sırasında ölçülen vücut ağırlığına yüzde olarak oranlanarak ifade edildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre, $n=12-15$.

20 saat sonundaki vücut kütlesi kaybı gruplar arası karşılaştırıldığında, LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($P = 0,028$). Diğer gruplarla kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil 4.2; kontrol: $9,37\% \pm 0,66$, LPS: $11,48\% \pm 0,54$, Pre: $11,23\% \pm 0,5$, Post: $10,91\% \pm 0,47$, ALA: $9,83\% \pm 0,51$). Bu sonuçlar hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisinin LPS'nin 19 saat içerisinde yol açtığı kütle kaybını önlediğini göstermektedir.

İdrar Lökosit Ölçümü

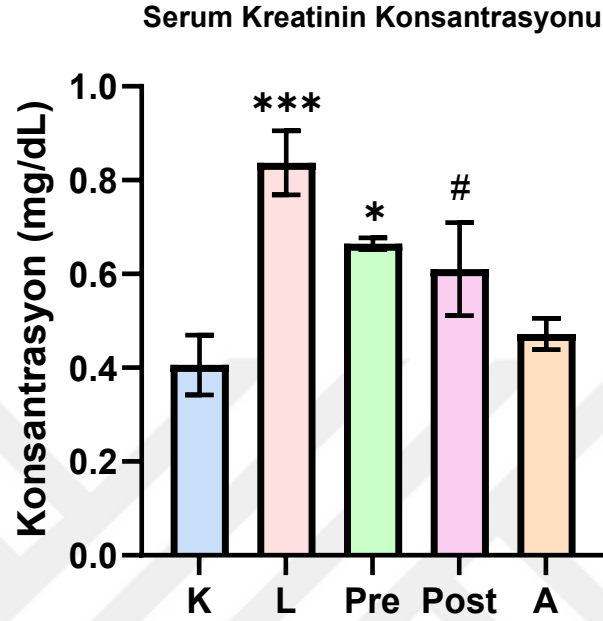


Şekil 4.3. İdrarda lökosit düzeyleri. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının idrarda lökosit düzeyleri üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$ kontrole göre; ## $P < 0,01$, ### $P < 0,001$ LPS'ye göre, $n=5-8$.

İdrar lökositinde LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görüldü ($P < 0,001$). Hem Pre ($P < 0,001$) hem de Post ($P = 0,005$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 4.3; kontrol: 0 ± 0 , LPS: $1,33 \pm 0,21$, Pre: $0,13 \pm 0,13$, Post: $0,25 \pm 0,16$, ALA: 0 ± 0). Bu bulgular hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisinin LPS'nin yol açtığı idrarda lökosit artışını düşürerek kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

4.1.2. Böbrek Fonksiyon Değerlendirmeleri

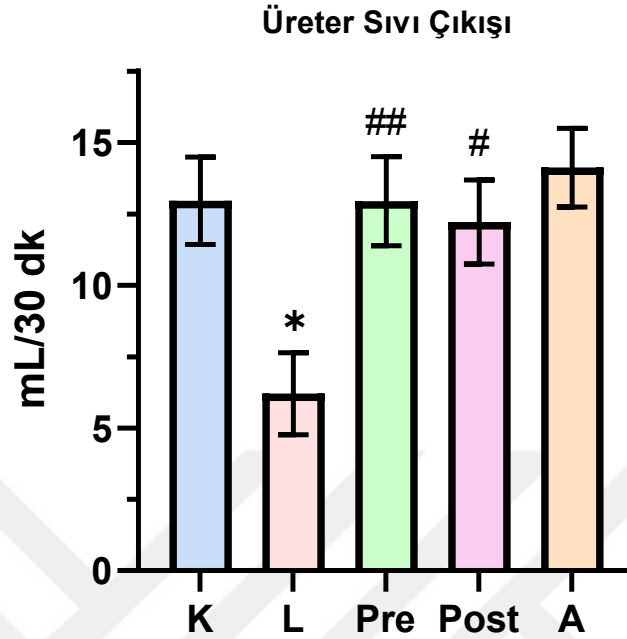
Kreatinin Konsantrasyonu Ölçümü



Şekil 4.4. Serum kreatinin konsantrasyonu. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının serum kreatinin seviyeleri üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, n=5-6.

Böbrek fonksiyonunun bir göstergesi olarak ölçülen serum kreatinin konsantrasyonunun, LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı izlendi ($P < 0,001$). Pre grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış mevcut ($P = 0,04$) iken Post grubunda LPS grubuna göre anlamlı bir azalma izlendi ($P = 0,039$; Şekil 4.4; kontrol: $0,41 \pm 0,06$ mg/dL, LPS: $0,84 \pm 0,07$ mg/dL, Pre: $0,66 \pm 0,01$ mg/dL, Post: $0,61 \pm 0,1$ mg/dL, ALA: $0,47 \pm 0,33$ mg/dL). Bu sonuçlar ALA tedavisinin LPS'nin neden olduğu artmış serum kreatinin düzeylerini düşürerek kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

Üreter Sıvı Çıkışı

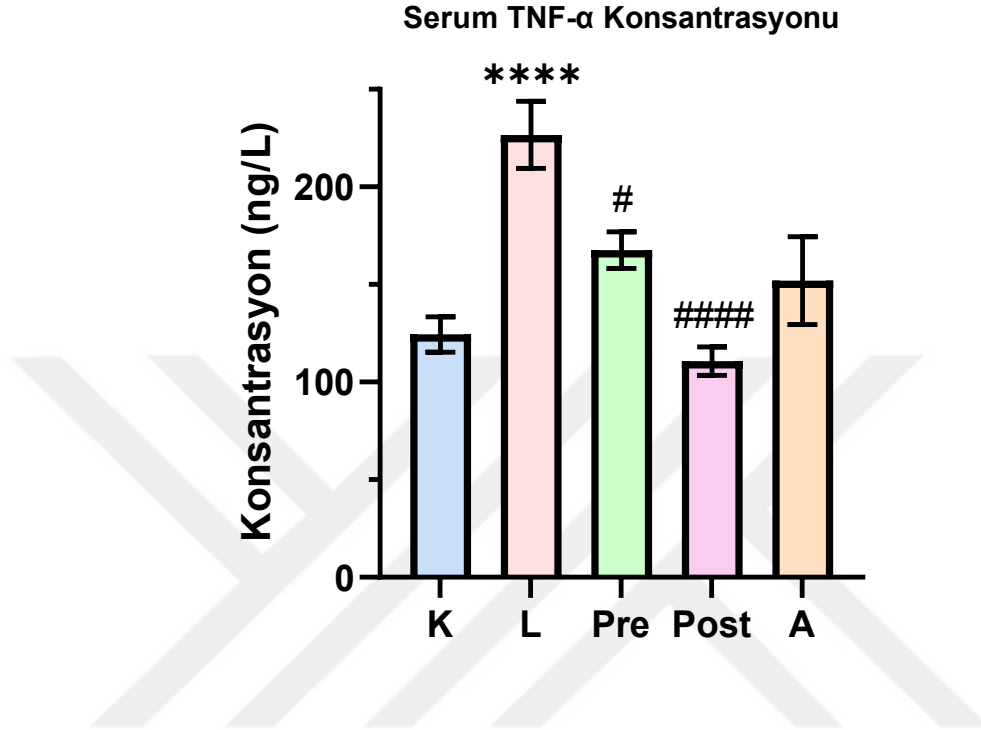


Şekil 4.5. Üreter sıvı çıkışı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole perfüze böbrekte üreter sıvı çıkışı üzerine olan etkileri değerlendirildi. İzole perfüze böbrekte 7 mL/dk sabit perfüzyon akımı altında, 30 dakikalık süredeki toplam üreter sıvı çıkışı değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$ LPS'ye göre, $n=6-8$.

Bir diğer böbrek fonksiyonu göstergesi olan, 7 mL/dk sabit perfüzyon akımı altında 30 dakikadaki toplam üreter sıvı çıkışı gruplar arasında karşılaştırıldığında LPS grubunda anlamlı bir azalma izlendi ($P = 0,011$). Hem Pre ($P = 0,009$) hem de Post ($P = 0,042$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış izlendi (Şekil 4.5; kontrol: $12,96 \pm 1,53$ mL, LPS: $6,2 \pm 1,43$ mL, Pre: $12,94 \pm 1,56$ mL, Post: $12,22 \pm 1,47$ mL, ALA: $14,12 \pm 1,38$ mL). Bu sonuçlar hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisinin LPS'nin yol açtığı azalmış üreter sıvı çıkışı seviyelerini artırarak kontrol düzeyine getirdiğini göstermektedir.

4.1.3. İnflamatuvar Sitokinlerin Değerlendirilmesi

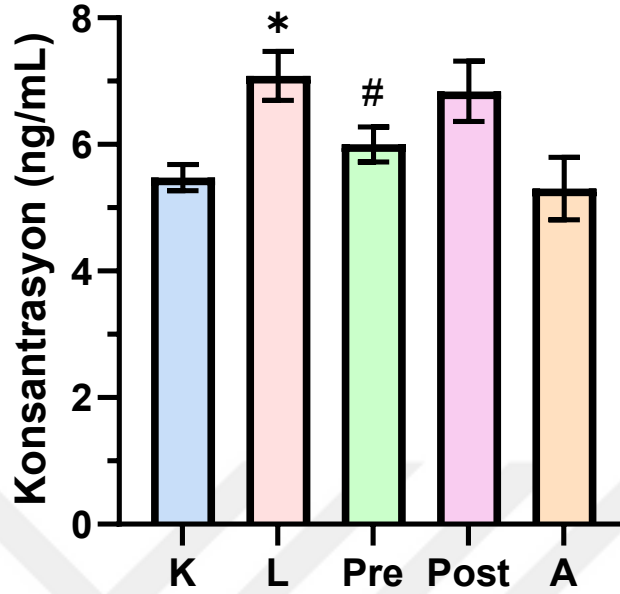
Serum İnflamatuvar Sitokinlerinin Biyokimyasal Ölçümü



Şekil 4.6. Serum TNF- α konsantrasyonu. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının serum TNF- α seviyeleri üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. **** $P < 0,0001$ kontrole göre; # $P < 0,05$, #### $P < 0,0001$ LPS'ye göre, $n=6-7$.

Proinflamatuvar sitokinlerden biri olan TNF- α 'nın serum konsantrasyonlarında LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış izlendi ($P < 0,001$). Hem Pre ($P = 0,024$) hem de Post ($P < 0,001$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 4.6; kontrol: $124,4 \pm 9,05$ ng/L, LPS: $226,6 \pm 17,17$ ng/L, Pre: $167,5 \pm 9,38$ ng/L, Post: $110,8 \pm 7,29$ ng/L, ALA: $152,0 \pm 22,48$ ng/L). Bu veriler hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisinin, LPS'nin yol açtığı yükselmiş serum TNF- α seviyelerini düşürerek kontrol düzeylerine getirdiğini göstermektedir.

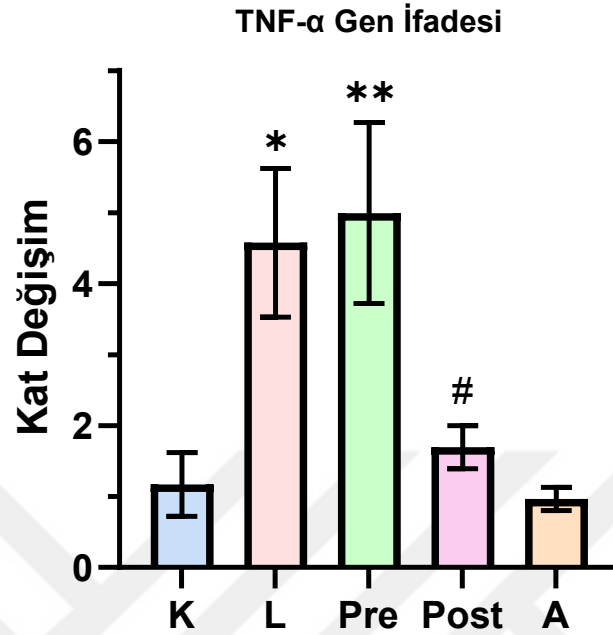
Serum IL-1 β Konsantrasyonu



Şekil 4.7. Serum IL-1 β konsantrasyonu. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının serum IL-1 β seviyeleri üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6$.

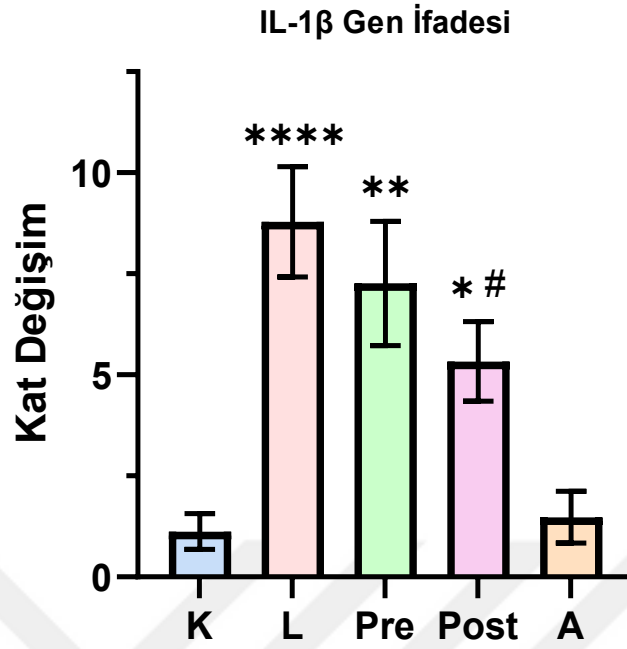
Bir diğer proinflatuar sitokin olan IL-1 β 'nın serum konsantrasyonlarında LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış izlendi ($P = 0,024$). Pre ($P = 0,046$) grubunda LPS grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü ancak Post grubunda ne kontrol ne de LPS grubuna göre anlamlı bir değişim görülmedi (Şekil 4.7; kontrol: $5,48 \text{ ng/mL} \pm 0,21$, LPS: $7,08 \text{ ng/mL} \pm 0,39$, Pre: $6,0 \pm 0,28 \text{ ng/mL}$, Post: $6,84 \pm 0,48 \text{ ng/mL}$, ALA: $5,30 \pm 0,49 \text{ ng/mL}$). Bu sonuçlar ALA ön tedavisinin, LPS'nin yol açtığı artmış serum IL-1 β seviyelerini düşürerek kontrol düzeyine getirdiğini, ALA tedavisinin ise LPS'nin yol açtığı serum IL-1 β konsantrasyonu artışını engellediğini göstermektedir.

İnflamatuvar Sitokinlerin Böbrekteki Gen İfadelerinin Ölçümü



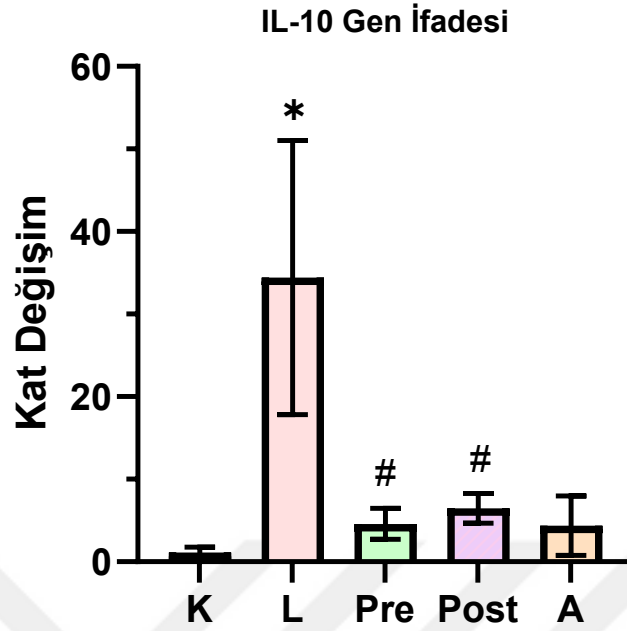
Şekil 4.8. Böbrek TNF- α gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki TNF- α gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6$.

Böbrek dokusundaki TNF- α gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,017$). Pre ($P = 0,035$) grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,007$). Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P = 0,049$; Şekil 4.8; kontrol: $1,17 \pm 0,45$, LPS: $4,57 \pm 1,05$ kat artış, Pre: $4,99 \pm 1,27$ kat artış, Post: $1,69 \pm 0,3$ kat artış, ALA: $0,97 \pm 0,16$). Bu sonuçlar ALA tedavisinin, LPS'nin yol açtığı artan renal TNF- α gen ifadesi seviyelerini düşürerek kontrol düzeylerine getirdiğini göstermektedir.



Şekil 4.9. Böbrek IL-1 β gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki IL-1 β gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, n=5-6.

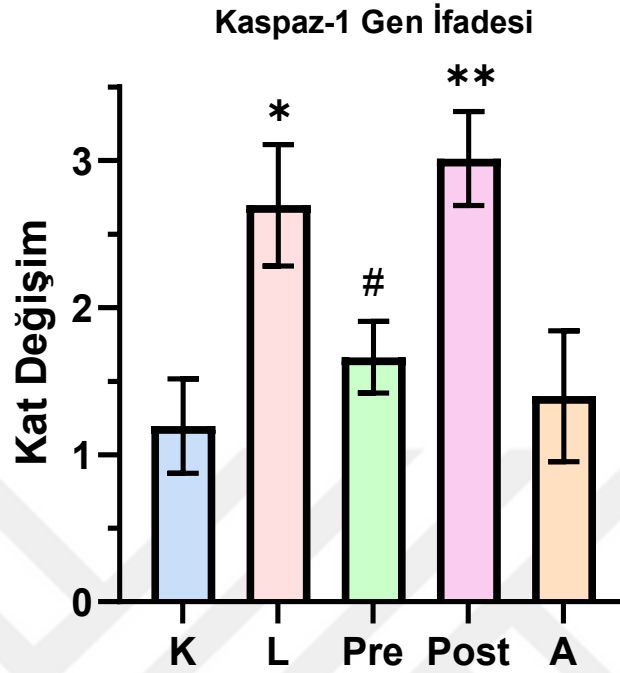
Böbrek dokusundaki IL-1 β gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P < 0,001$). Pre ($P = 0,002$) grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,007$). Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü ($P = 0,049$; Şekil 4.9; kontrol: $1,12 \pm 0,44$ kat artış, LPS: $8,79 \pm 1,37$ kat artış, Pre: $7,26 \pm 1,54$ kat artış, Post: $5,33 \pm 0,98$ kat artış, ALA: $1,48 \pm 0,64$ kat artış). Bu sonuçlar ALA tedavisinin LPS'nin yol açtığı artan renal IL-1 β gen ifadesi seviyelerini düşürdüğünü göstermektedir.



Şekil 4.10. Böbrek IL-10 gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki IL-10 gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=5-6$.

Böbrek dokusundaki IL-10 gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,032$). Pre ($P = 0,028$) ve Post ($P = 0,041$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 4.10; kontrol: $1,13 \pm 0,63$ kat artış, LPS: $34,42 \pm 16,61$ kat artış, Pre: $4,59 \pm 1,86$ kat artış, Post: $6,48 \pm 1,78$ kat artış, ALA: $4,37 \pm 3,60$ kat artış). Bu sonuçlar hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisinin, LPS'nin yol açtığı artan renal IL-10 gen ifadesi seviyelerini düşürerek kontrol düzeylerine getirdiğini göstermektedir.

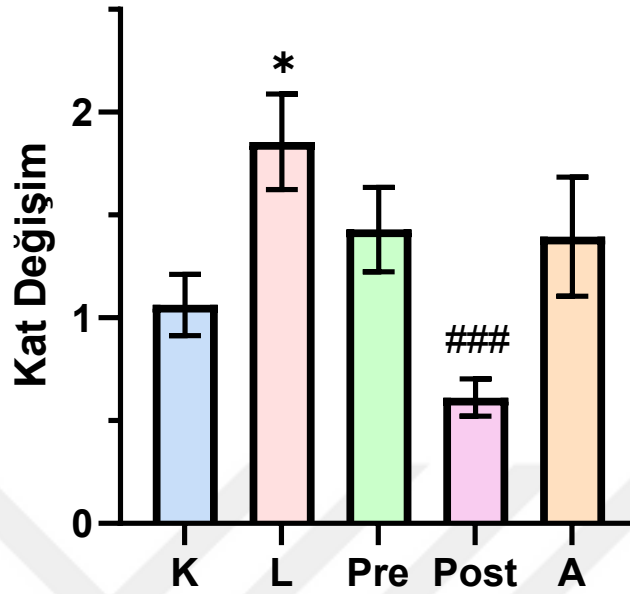
4.1.4. Kaspaz Enzimlerinin Moleküler Değerlendirmesi



Şekil 4.11. Böbrek kaspaz-1 gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki kaspaz-1 gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=5-7$.

Piroptoz göstergesi olarak böbrek dokusundaki kaspaz-1 gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,019$). Post grubunda da benzer bir şekilde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,004$). Pre grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma görüldü ($P = 0,037$; Şekil 4.11; kontrol: $1,20 \pm 0,32$ kat artış, LPS: $2,7 \pm 0,41$ kat artış, Pre: $1,66 \pm 0,24$ kat artış, Post: $3,01 \pm 0,32$ kat artış, ALA: $1,40 \pm 0,44$ kat artış). Bu sonuçlar ALA ön tedavisinin, LPS'nin yol açtığı artmış renal kaspaz-1 gen ifadesi seviyelerini düşürerek kontrol düzeylerine getirdiğini göstermektedir.

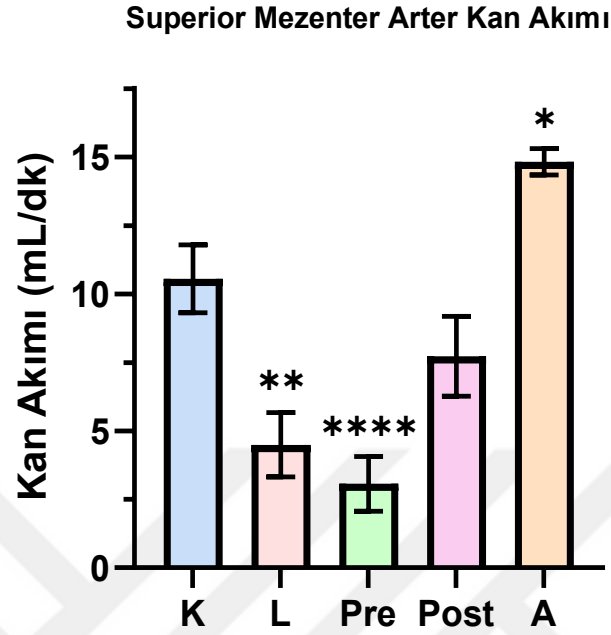
Kaspaz-3 Gen İfadesi



Şekil 4.12. Böbrek kaspaz-3 gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki kaspaz-3 gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; ### $P < 0,001$ LPS'ye göre, $n=6-7$.

Apoptoz göstergesi olarak böbrek dokusundaki kaspaz-3 gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,03$). Pre grubunda ne kontrol ne de LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlenmedi. Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P < 0,001$; Şekil 4.12; kontrol: $1,06 \pm 0,15$ kat artış, LPS: $1,86 \pm 0,23$ kat artış, Pre: $1,43 \pm 0,21$ kat artış, Post: $0,61 \pm 0,091$ kat artış, ALA: $1,40 \pm 0,29$ kat artış). Bu sonuçlar ALA ön tedavisinin LPS sonucunda artan kaspaz-3 gen ifadesi seviyelerinin yükselmesini önlediğini, ALA tedavisinin ise artmış renal kaspaz-3 gen ifadesi seviyelerini düşürerek kontrol düzeylerine getirdiğini göstermektedir.

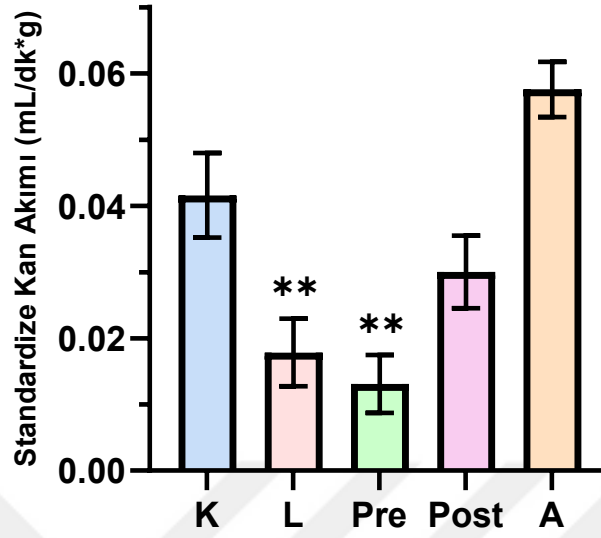
4.1.5. *In vivo* Kan Akımı Ölçümü



Şekil 4.13. Superior mezenter arter kan akım hızı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole edilen superior mezenter arterdeki kan akımı üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre, $n=6-8$.

Superior mezenter arter kan akım hızında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($P = 0,002$). Aynı şekilde Pre grubunda da anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($P < 0,001$). Post grubunda ise kontrol veya LPS gruplarına göre anlamlı bir değişim olmadığı bulundu. ALA grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görüldü ($P = 0,031$; Şekil 4.13; kontrol: $10,55 \pm 1,24$ mL/dk, LPS: $4,49 \pm 1,18$ mL/dk, Pre: $3,06 \pm 0,99$ mL/dk, Post: $7,72 \pm 1,46$ mL/dk, ALA: $14,83 \pm 0,48$ mL/dk). Bu bulgulara göre ALA tedavisi, LPS'nin yol açtığı superior mezenter arter kan akımındaki azalmayı önlemektedir. Bununla birlikte ALA uygulaması 20 saat sonunda kontrole göre superior mezenter arter kan akımını artırmaktadır.

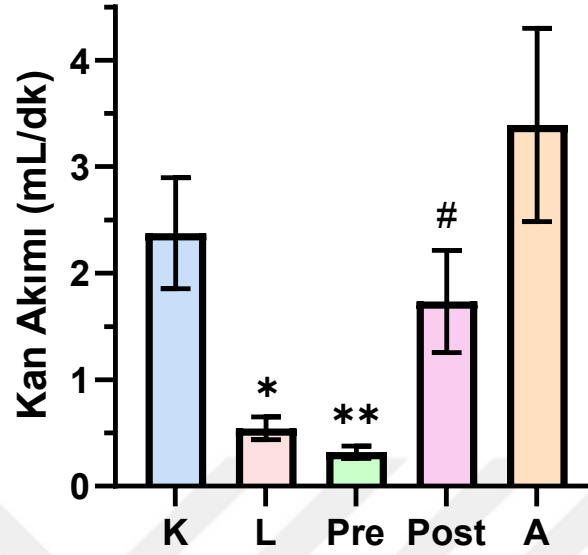
Standardize Superior Mezenter Arter Kan Akımı



Şekil 4.14. Vücut kütlesine göre standardize edilmiş superior mezenter arter kan akım hızı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole edilen superior mezenter arterdeki kan akımı üzerine olan etkileri değerlendirildi. Elde edilen kan akım hızı vücut kütlesine oranlanarak ifade edildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. ** $P < 0,01$ kontrole göre, $n=6-8$.

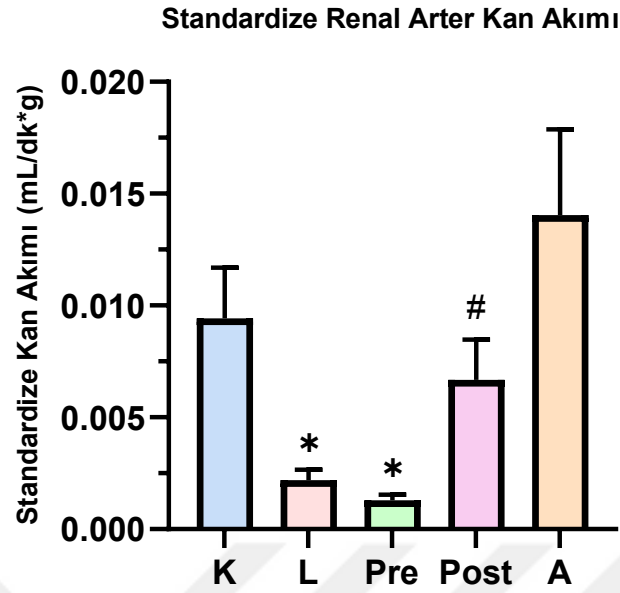
Superior mezenter arter kan akım hızı vücut kütlesine oranlandığında LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma izlendi ($P = 0,009$). Aynı şekilde Pre grubunda da anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($P = 0,001$). Post grubunda ise kontrol veya LPS gruplarına göre anlamlı bir değişim olmadığı bulundu (Şekil 4.14; kontrol: $0,042 \pm 0,006$ mL/dk*g, LPS: $0,018 \pm 0,005$ mL/dk*g, Pre: $0,013 \pm 0,004$ mL/dk*g, Post: $0,030 \pm 0,005$ mL/dk*g, ALA: $0,058 \pm 0,004$ mL/dk*g). Bu bulgulara göre ALA tedavisi, LPS'nin yol açtığı standardize superior mezenter arter kan akımındaki azalmayı önlemektedir.

Renal Arter Kan Akımı



Şekil 4.15. Renal arter kan akım hızı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole edilen renal arterdeki kan akımı üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6-8$.

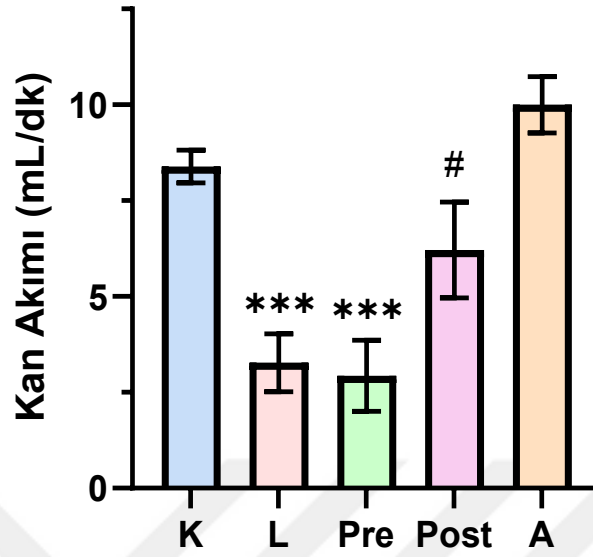
Renal arter kan akım hızında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($P = 0,03$). Aynı şekilde Pre grubunda da anlamlı bir azalma olduğu izlendi ($P = 0,01$). Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış görüldü ($P = 0,024$; Şekil 4.15; kontrol: $2,38 \pm 0,52$ mL/dk, LPS: $0,54 \pm 0,11$ mL/dk, Pre: $0,32 \pm 0,06$ mL/dk, Post: $1,73 \pm 0,48$ mL/dk, ALA: $3,39 \pm 0,91$ mL/dk). Bu sonuçlar ALA tedavisinin LPS'nin yol açtığı azalmış renal arter kan akımını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.



Şekil 4.16. Vücut kütlesine göre standardize edilmiş renal arter kan akım hızı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole edilen renal arterdeki kan akımı üzerine olan etkileri değerlendirildi. Elde edilen kan akım hızı vücut kütlesine oranlanarak ifade edildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6-8$.

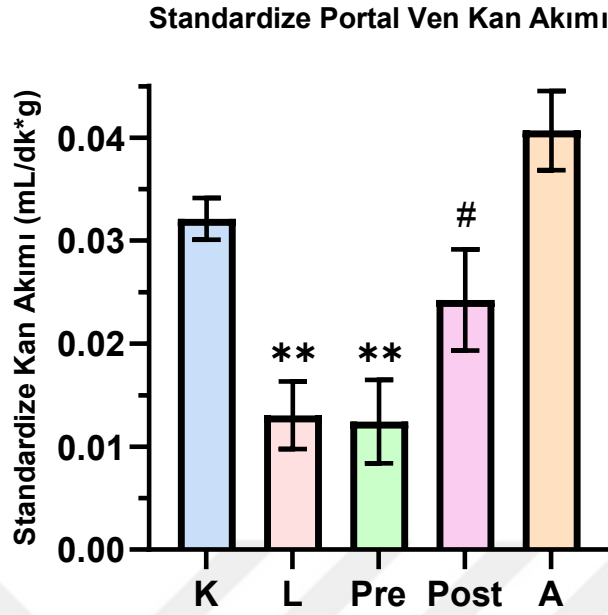
Renal arter kan akım hızları vücut kütlesine oranlandığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($P = 0,044$). Aynı şekilde Pre grubunda da anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($P = 0,016$). Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış görüldü ($P = 0,026$; Şekil 4.16; kontrol: $0,009 \pm 0,002$ mL/dk*g, LPS: $0,002 \pm 0,0005$ mL/dk*g, Pre: $0,001 \pm 0,0002$ mL/dk*g, Post: $0,007 \pm 0,002$ mL/dk*g, ALA: $0,014 \pm 0,004$ mL/dk*g). Bu sonuçlar ALA tedavisinin, LPS'nin yol açtığı azalmış standardize renal arter kan akımını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

Portal Ven Kan Akımı



Şekil 4.17. Portal ven kan akım hızı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole edilen portal vendeki kan akımı üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6-8$.

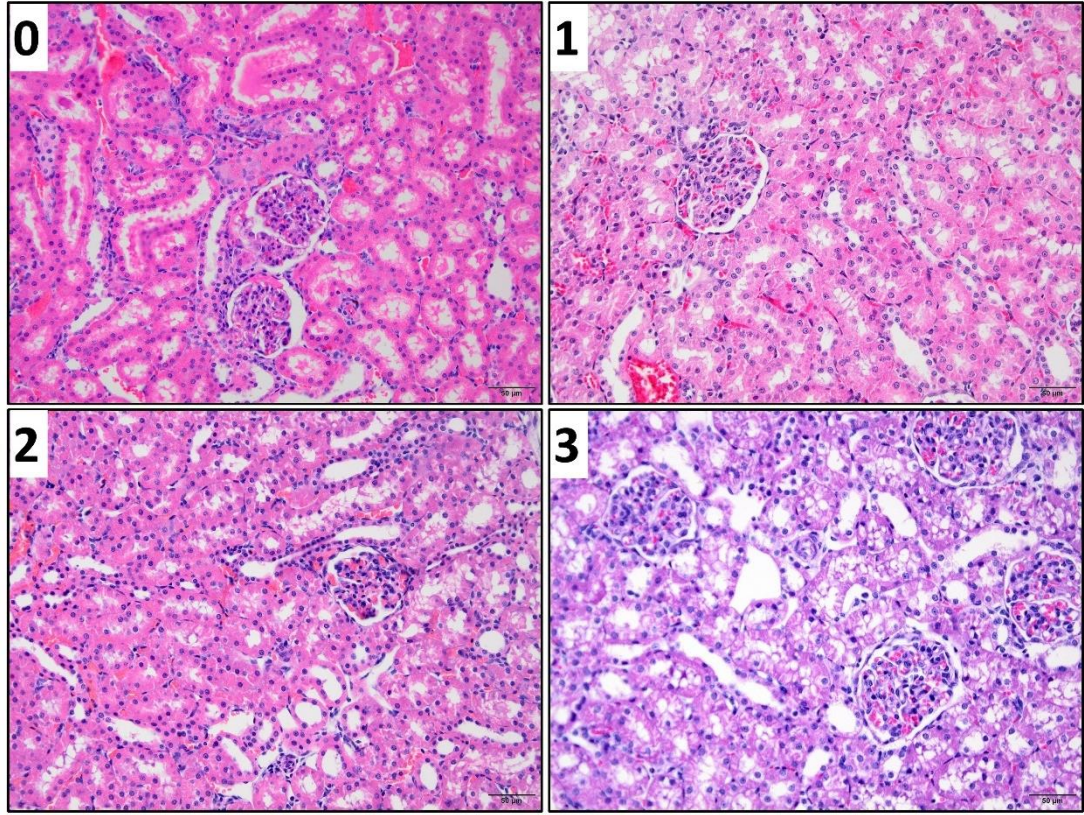
Portal ven kan akım hızında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($P < 0,001$). Aynı şekilde Pre grubunda da anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($P < 0,001$). Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış görüldü ($P = 0,045$; Şekil 4.17; kontrol: $8,39 \pm 0,43$ mL/dk, LPS: $3,27 \pm 0,76$ mL/dk, Pre: $2,93 \pm 0,93$ mL/dk, Post: $6,22 \pm 1,25$ mL/dk, ALA: $10,00 \pm 0,73$ mL/dk). Bu sonuçlar ALA tedavisinin LPS'nin yol açtığı azalmış portal ven kan akımını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.



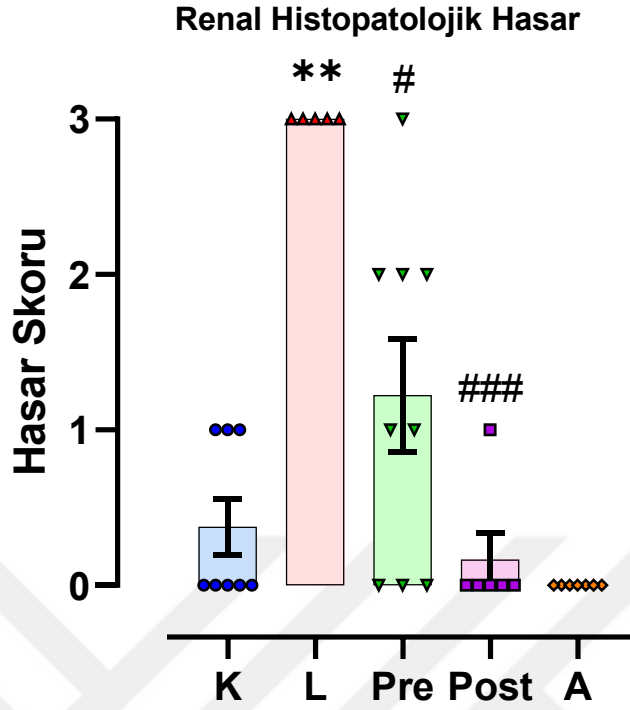
Şekil 4.18. Vücut kütlesine göre standardize edilmiş portal ven kan akım hızı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole edilen portal vendeki kan akımı üzerine olan etkileri değerlendirildi. Elde edilen kan akım hızı vücut kütlesine oranlanarak ifade edildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. ** $P < 0,01$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6-8$.

Portal ven kan akım hızları vücut kütlesine oranlandığında LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma izlendi ($P = 0,002$). Aynı şekilde Pre grubunda da anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($P = 0,001$). Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış görüldü ($P = 0,045$; Şekil 4.18; kontrol: $0,032 \pm 0,002$ mL/dk*g, LPS: $0,013 \pm 0,003$ mL/dk*g, Pre: $0,012 \pm 0,004$ mL/dk*g, Post: $0,024 \pm 0,005$ mL/dk*g, ALA: $0,041 \pm 0,004$ mL/dk*g). Bu sonuçlar ALA tedavisinin LPS'nin yol açtığı azalmış standardize portal ven kan akımını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

4.1.6. Renal Histopatolojik Değerlendirme



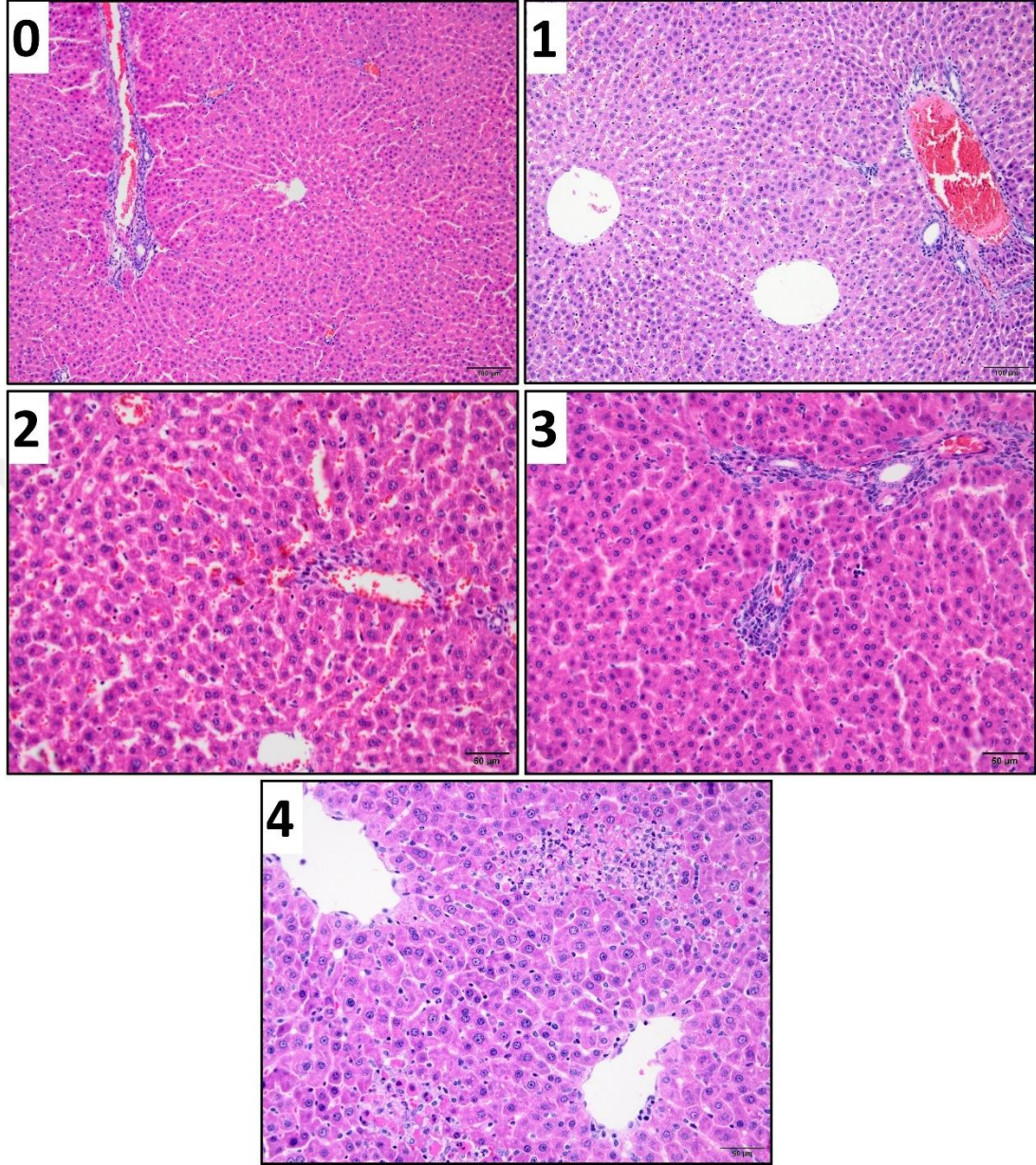
Şekil 4.19. Böbrek dokusunda histopatolojik değerlendirme. Sıçanların böbreklerinden hazırlanan ve hematoksisilen-eozin ile boyanan kesitlerin ışık mikroskopunda görülen, histopatolojik renal hasarın semi-kantitatif değerlendirilmesi için yapılan skorum örneği. 0: Normal; 1: Hafif derecede şişmiş tübül epiteli, glomerüler konjesyon; 2: Orta derecede/fokal tübüler epiteliyal nekroz ve dejenerasyon; 3: Şiddetli/diffüz tübüler epiteliyal nekroz ve tübüler yapıların bozulması.



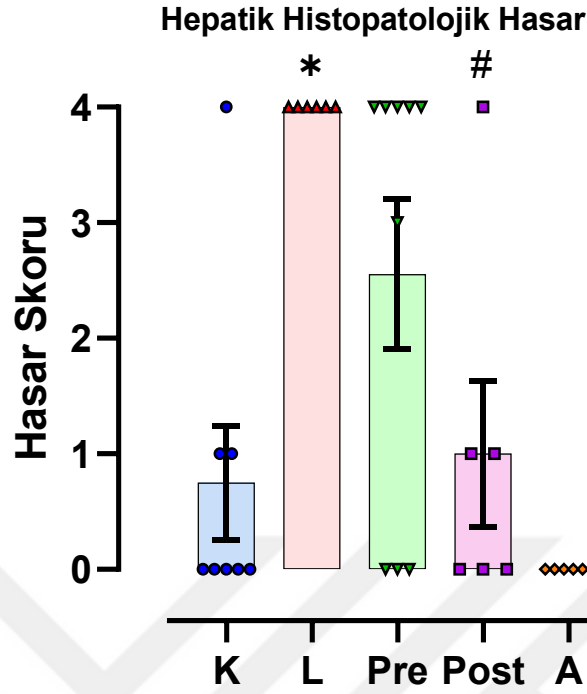
Şekil 4.20. Histopatolojik böbrek hasarı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrekte oluşturduğu histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkileri değerlendirildi. Sıçan böbrek dokusu semi-kantitatif skorlama yöntemiyle histopatolojik olarak değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. ** $P < 0,01$ kontrole göre; # $P < 0,05$, ### $P < 0,001$ LPS'ye göre, $n=5-9$.

Histopatolojik olarak renal hasar skorları karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü ($P = 0,004$). Hem Pre ($P = 0,035$) hem de Post ($P < 0,001$) gruplarında bu skorun LPS grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.19, Şekil 4.20; kontrol: $0,38 \pm 0,18$, LPS: 3 ± 0 , Pre: $1,22 \pm 0,36$, Post: $0,17 \pm 0,17$, ALA: 0 ± 0). Bu sonuçlar hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisinin LPS'nin yol açtığı renal hasarı azaltarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

4.1.7. Hepatik Histopatolojik Değerlendirme



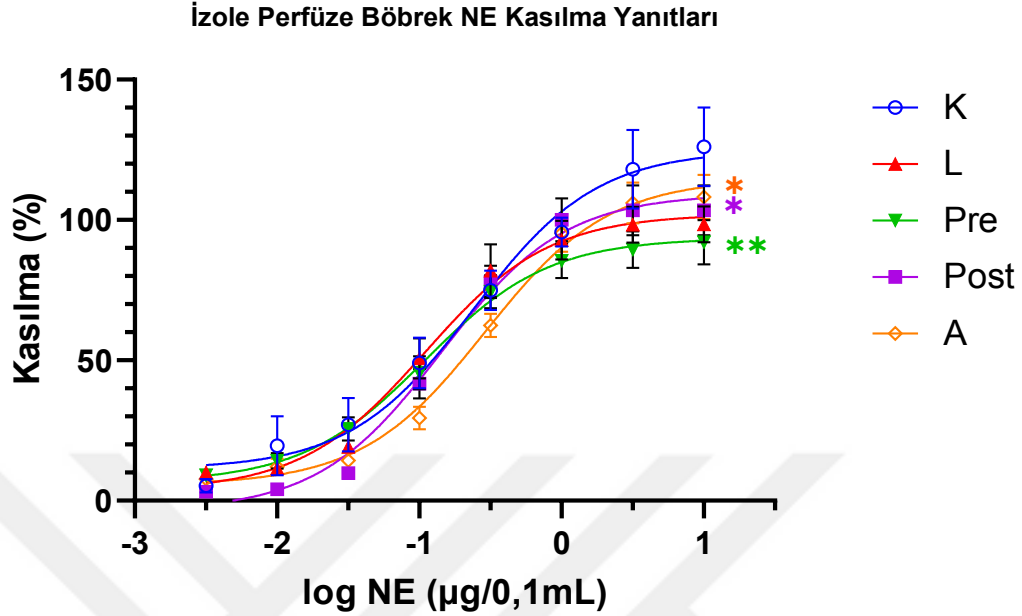
Şekil 4.21. Karaciğer dokusunda histopatolojik değerlendirme. Sıçanların karaciğerlerinden hazırlanan ve hematoxilen-eozin ile boyanan kesitlerin ışık mikroskopunda görülen, histopatolojik karaciğer hasarının semi-kantitatif değerlendirilmesi için yapılan skorelama örneği. 0: Normal; 1: Hepatositlerde hafif derecede şişme/sitoplazmik vakuolizasyon, minimal sinüzoidal konjesyon; 2: Hepatositlerde belirgin derecede şişme/sitoplazmik vakuolizasyon, şiddetli sinüzoidal konjesyon; 3: + Belirgin portal inflamasyon; 4: Nekrobiyotik odakların varlığı, fokal/masif nekroz.



Şekil 4.22. Histopatolojik karaciğer hasarı. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının karaciğerde oluşturduğu histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkileri değerlendirildi. Sıçan karaciğer dokusu semi-kantitatif skorlama yöntemiyle histopatolojik olarak değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6-9$.

Histopatolojik olarak hepatik hasar skorları karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,013$). Pre grubu ne kontrol ne de LPS grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermezken Post ($P = 0,023$) grubunda bu skorun LPS grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.21, Şekil 4.22; kontrol: $0,75 \pm 0,49$, LPS: 4 ± 0 , Pre: $2,56 \pm 0,65$, Post: $1 \pm 0,63$, ALA: 0 ± 0). Bu sonuçlar ALA ön tedavisinin LPS'nin yol açtığı hepatik hasardaki artışı önlediğini, ALA tedavisinin ise oluşan hepatik hasarı azaltarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

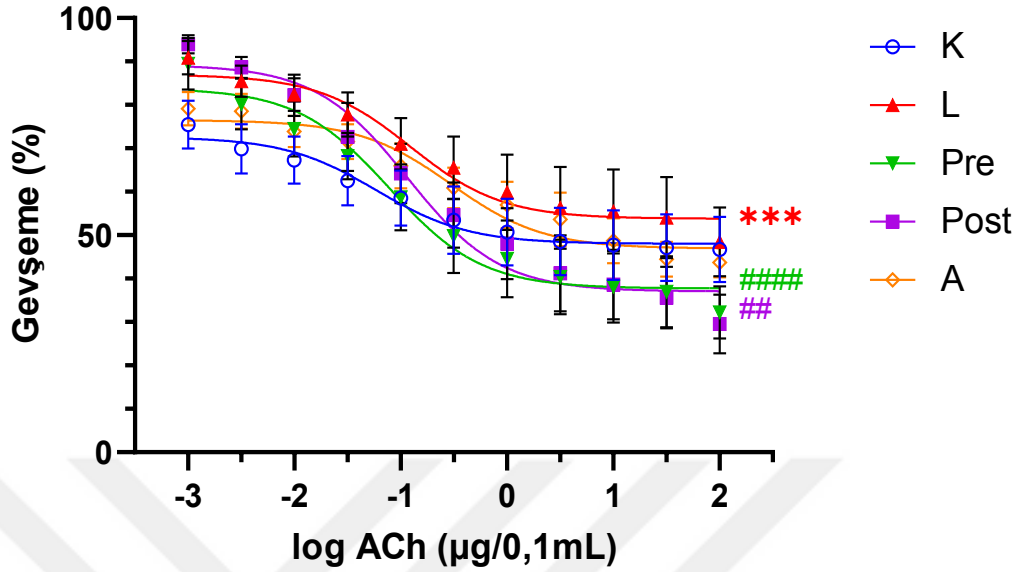
4.2. İzole Perfüze Böbrek Çalışmaları



Şekil 4.23. İzole perfüze böbrekte norepinefrin kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole böbrek damar yatağında norepinefrin kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler izole perfüze böbrek sisteminde değerlendirildi. Yanıtlar 10 µg/0,1 mL fenilefrin kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ kontrole göre, $n=6-8$.

İzole perfüze böbrek sisteminde norepinefrin kasılma yanıtlarında ALA ($P = 0,018$), Pre ($P = 0,009$) ve Post ($P = 0,04$) gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.23). Bu sonuçlara göre hem LPS olmadan ALA verilmesi hem de LPS varlığında ALA verilmesi izole perfüze böbrek sisteminde norepinefrin kasılma yanıtlarını azalttığı için ALA uygulamasının izole böbrek damar yatağında norepinefrin kasılma yanıtlarını azalttığı anlaşılmaktadır.

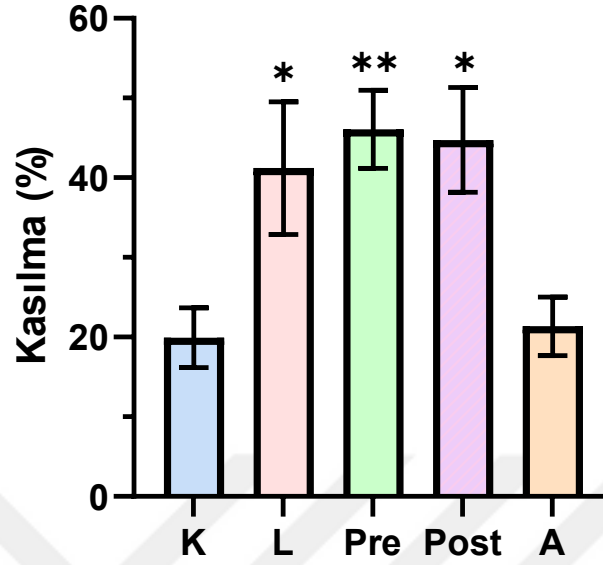
İzole Perfüze Böbrek ACh Gevşeme Yanıtları



Şekil 4.24. İzole perfüze böbrekte asetilkolin gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole böbrek damar yatağında asetilkolin gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler izole perfüze böbrek sisteminde değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$ kontrole göre; ## $P < 0,01$, #### $P < 0,0001$ LPS'ye göre, $n=6-7$.

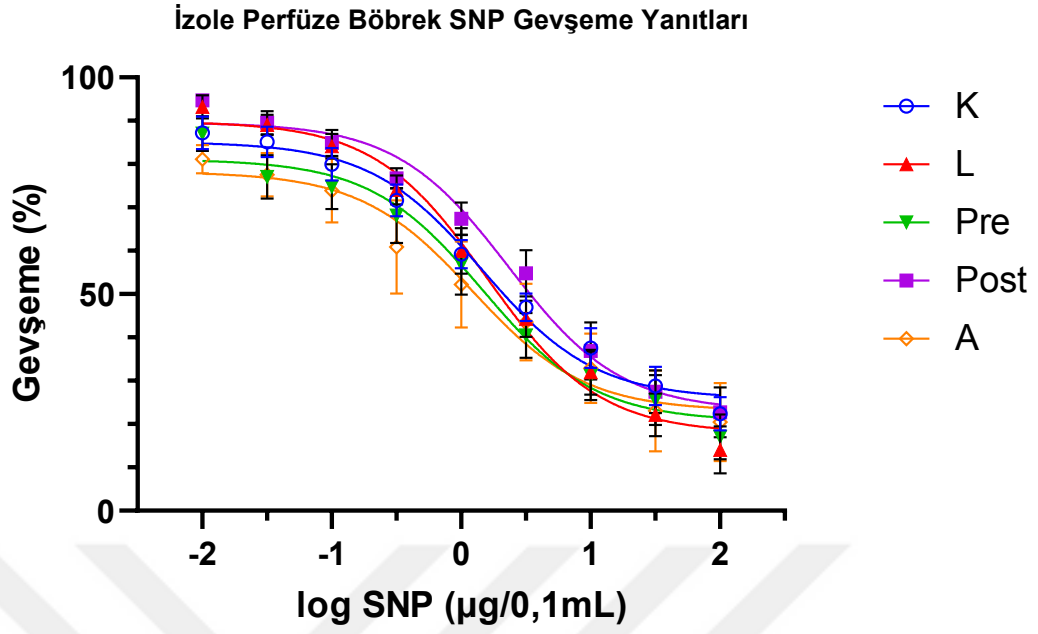
İzole perfüze böbrek sisteminde asetilkolin gevşeme yanıtlarında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P < 0,001$). Pre ($P < 0,001$) ve Post ($P = 0,009$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 4.24). Bu sonuçlar izole böbrek damar yatağında hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisinin, LPS'nin yol açtığı azalmış ACh gevşeme yanıtlarını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

İzole Perfüze Böbrek AngII Kasılma Yanıtları



Şekil 4.25. İzole perfüze böbrekte anjiyotensin II kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole böbrek damar yatağında anjiyotensin II (0,1 µg/ 0,1 mL) kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler izole perfüze böbrek sisteminde değerlendirildi. Yanıtlar 10 µg/0,1 mL fenilefrin kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ kontrole göre, $n=6-7$.

İzole perfüze böbrek sisteminde anjiyotensin II (0,1 µg/ 0,1 mL) kasılma yanıtlarında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,039$). Benzer bir şekilde Pre ($P = 0,006$) ve Post ($P = 0,014$) gruplarında da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 4.25; kontrol: $19,92 \pm 3,75$, LPS: $41,22 \pm 8,32$, Pre: $46,09 \pm 4,90$, Post: $44,74 \pm 6,59$, ALA: $21,35 \pm 3,66$). Bu sonuçlar izole perfüze böbrekte ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS'nin yol açtığı artan AngII kasılma yanıtlarını önleyemediğini göstermektedir.



Şekil 4.26. İzole perfüze böbrekte SNP gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının izole böbrek damar yatağında SNP gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler izole perfüze böbrek sisteminde değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin (3×10^{-6} M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin, n=5-8.

İzole perfüze böbrek sisteminde SNP gevşeme yanıtlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmadı (Şekil 4.26).

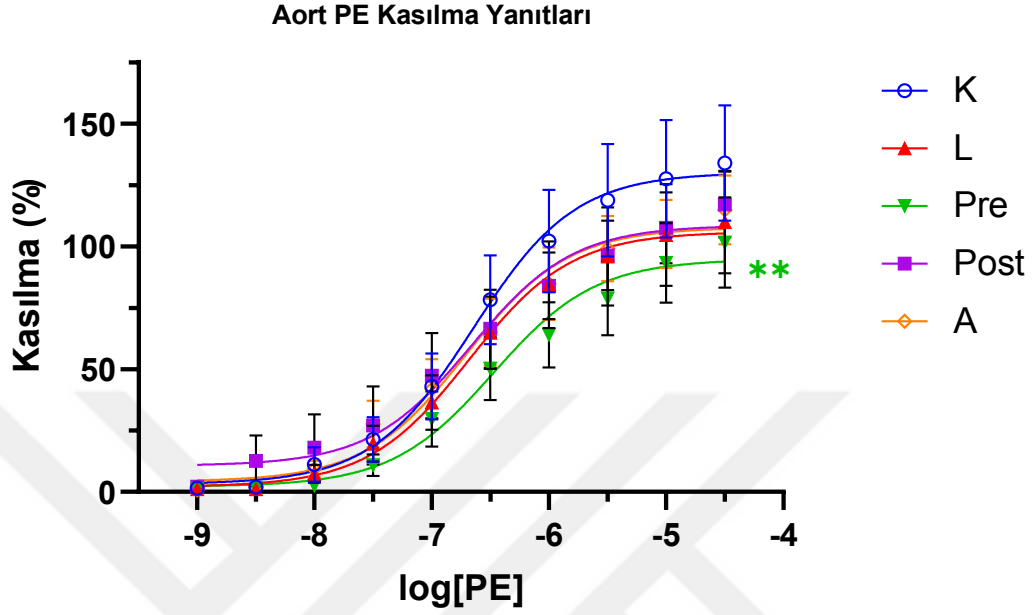
Tablo 4.1. İzole perfüze böbrekteki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri

	NE		ACh	
	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}
K	$0,62 \pm 0,16$	$126,04 \pm 13,99$	$1,23 \pm 0,43$	$53,27 \pm 7,51$
L	$0,96 \pm 0,11$	$98,46 \pm 6,40$	$0,96 \pm 0,28$	$56,76 \pm 7,32$
Pre	$0,96 \pm 0,12$	$92,11 \pm 7,91$	$1,11 \pm 0,25$	$67,76 \pm 6,03$
Post	$0,85 \pm 0,10$	$103,46 \pm 8,86$	$0,93 \pm 0,20$	$70,46 \pm 6,71$
A	$0,54 \pm 0,09$	$108,23 \pm 7,96$	$0,53 \pm 0,24$	$56,29 \pm 3,45$

İzole perfüze böbrekte NE ve ACh yanıtlarının pD_2 ve E_{max} değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.1).

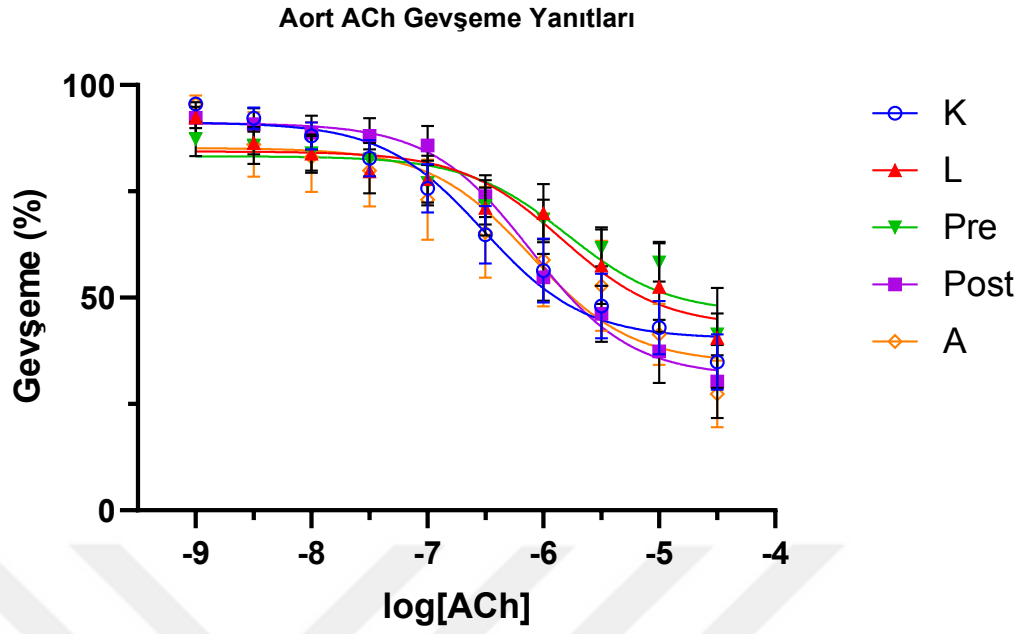
4.3. İzole Arter Çalışmaları

4.3.1. Aort



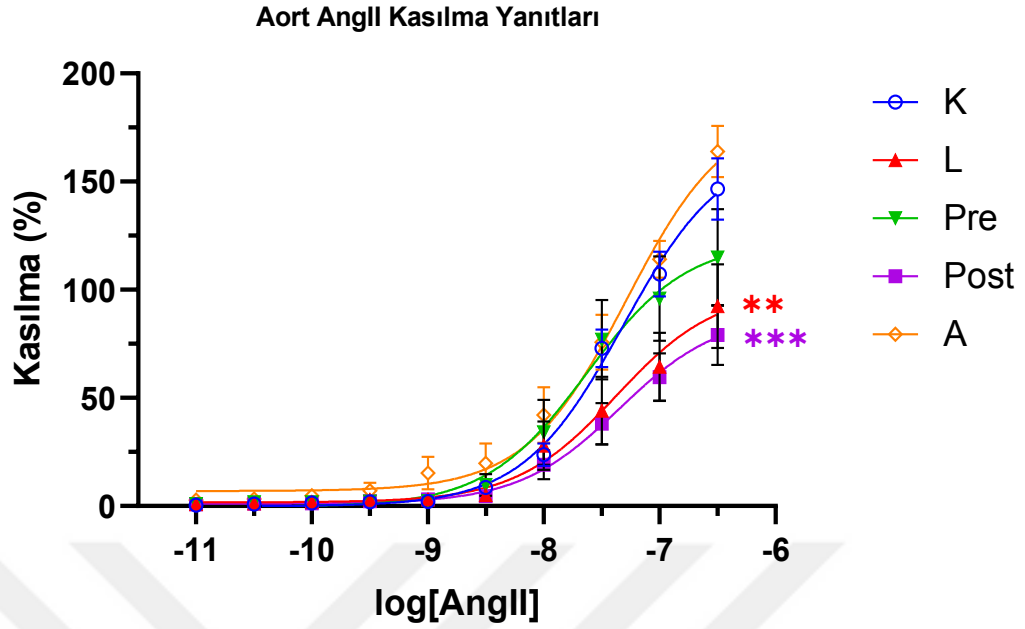
Şekil 4.27. Aortta fenilefrin kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının aortta fenilefrin kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler organ banyosunda değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. ** $P < 0,01$ kontrole göre, $n=6-8$.

Aortta fenilefrin ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) kasılma yanıtlarında Pre grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi ($P = 0,002$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir değişiklik izlenmedi (Şekil 4.27). Bu bulgular LPS varlığında, aortta ALA ön tedavisinin fenilefrin kasılma yanıtlarını azalttığını göstermektedir.



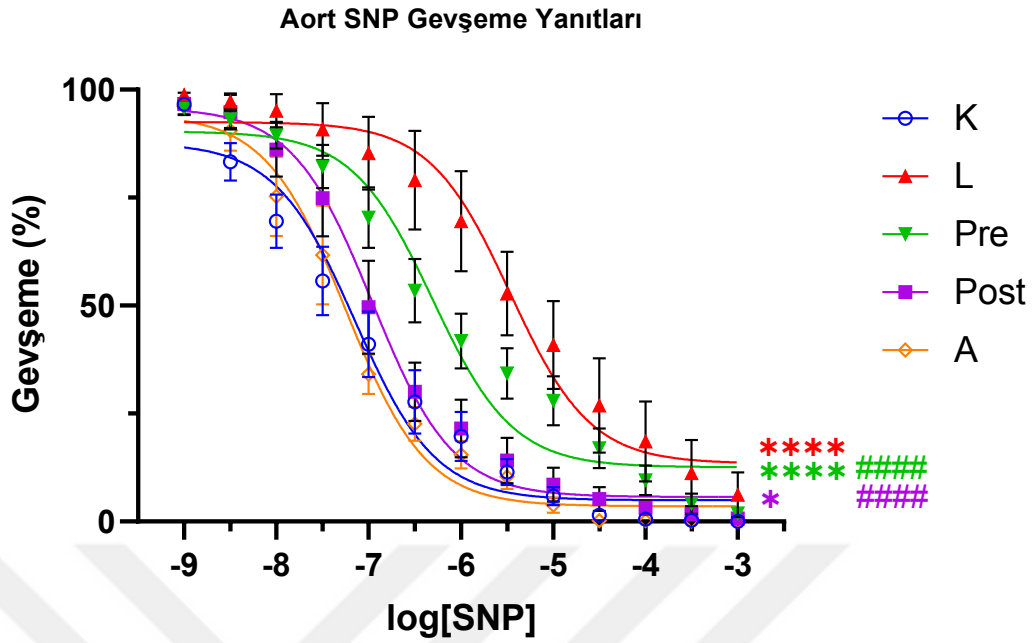
Şekil 4.28. Aortta asetilkolin gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının aortta asetilkolin gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler organ banyosunda değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin, n=6-8.

Aortta asetilkolin ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) gevşeme yanıtları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.28).



Şekil 4.29. Aortta anjiyotensin II kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının aortta anjiyotensin II kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler organ banyosunda değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ kontrole göre, $n=6-8$.

Aortta anjiyotensin II ($10^{-11} - 3 \times 10^{-7}$ M) kasılma yanıtlarında LPS ($P = 0,009$) ve Post ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Diğer gruplar arasında anlamlı bir değişiklik izlenmedi (Şekil 4.29). Bu veriler aortta ALA ön tedavisinin, LPS'nin AngII kasılma yanıtlarını azaltmasını önlediğini göstermektedir.



Şekil 4.30. Aortta SNP gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının aortta SNP gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler organ banyosunda değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; ##### $P < 0,0001$ LPS'ye göre, $n=6-8$.

Aortta SNP ($10^{-9} - 10^{-3}$ M) gevşeme yanıtlarında LPS ($P < 0,001$), Pre ($P < 0,001$) ve Post ($P = 0,032$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Pre ($P < 0,001$) ve Post ($P < 0,001$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış görüldü (Şekil 4.30). Bu sonuçlar hem ALA ön tedavisinin hem de ALA tedavisinin, LPS ile azalan SNP gevşeme yanıtlarını artırdığını göstermektedir.

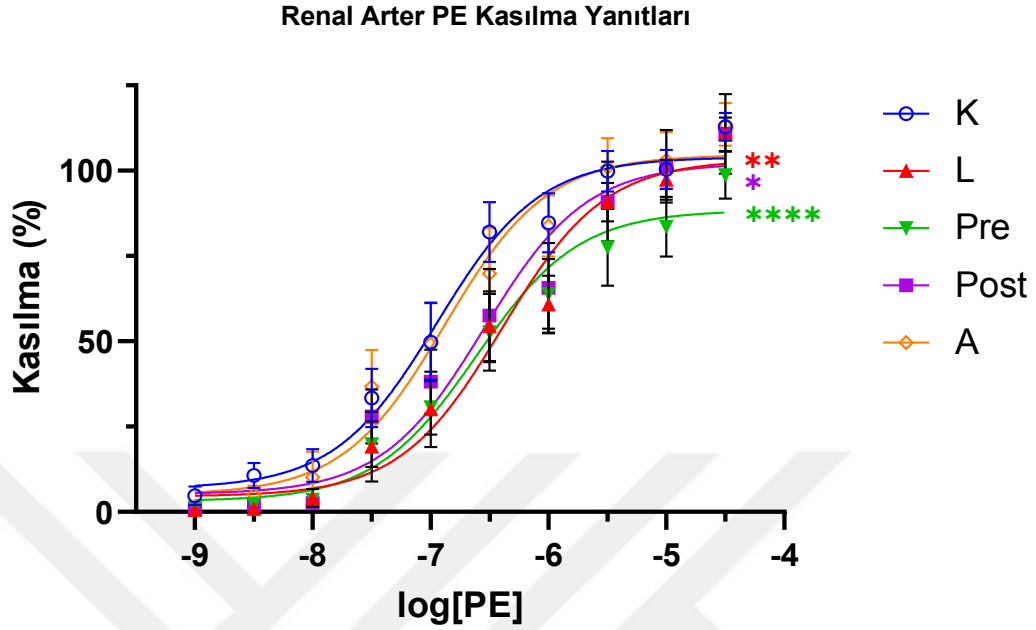
Tablo 4.2. Aorttaki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri

	PE		ACh		AngII		SNP	
	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}
K	6,65 ± 0,20	133,95 ± 23,54	6,52 ± 0,18	65,13 ± 6,55	7,32 ± 0,09	146,55 ± 14,24	7,15 ± 0,09	99,98 ± 0,03
L	6,68 ± 0,21	109,86 ± 20,93	5,84 ± 0,31	59,46 ± 11,78	7,37 ± 0,21	92,41 ± 19,28	5,47 ± 0,15****	93,83 ± 5,23
Pre	6,47 ± 0,20	101,52 ± 18,49	5,80 ± 0,23	58,60 ± 4,91	7,63 ± 0,18	114,93 ± 22,40	6,31 ± 0,10**** ####	98,14 ± 1,32
Post	6,66 ± 0,22	117,02 ± 13,45	6,11 ± 0,15	69,72 ± 8,57	7,35 ± 0,16	79,13 ± 13,87*	6,96 ± 0,09####	99,33 ± 0,42
A	6,707 ± 0,167	114,844 ± 13,964	6,109 ± 0,287	72,649 ± 7,865	7,286 ± 0,106	163,862 ± 11,876	7,25 ± 0,08	99,98 ± 0,02

* $P < 0,05$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; ##### $P < 0,0001$ LPS'ye göre.

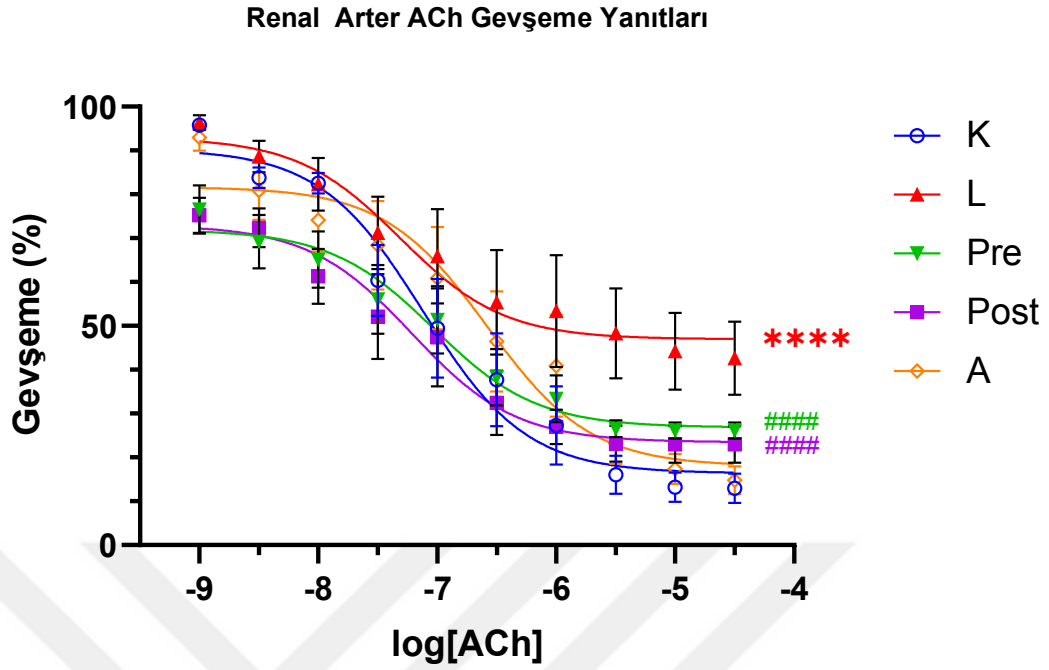
Aortta vazoaktif ajanlara verilen konsantrasyona bağımlı izometrik gerim değişikliği yanıtları üzerinden pD_2 ve E_{max} değerleri incelendiğinde AngII'ye ait E_{max} değerlerinde, Post grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($P = 0.028$). Ek olarak SNP'ye ait pD_2 değerlerinde, LPS ($P < 0,0001$) ve Pre ($P < 0,0001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu. Pre ($P < 0,0001$) ve Post ($P < 0,0001$) gruplarında ise LPS'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü (Tablo 4.2).

4.3.2. Renal Arter



Şekil 4.31. Renal arterde fenilefrin kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterde fenilefrin kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre, $n=6-9$.

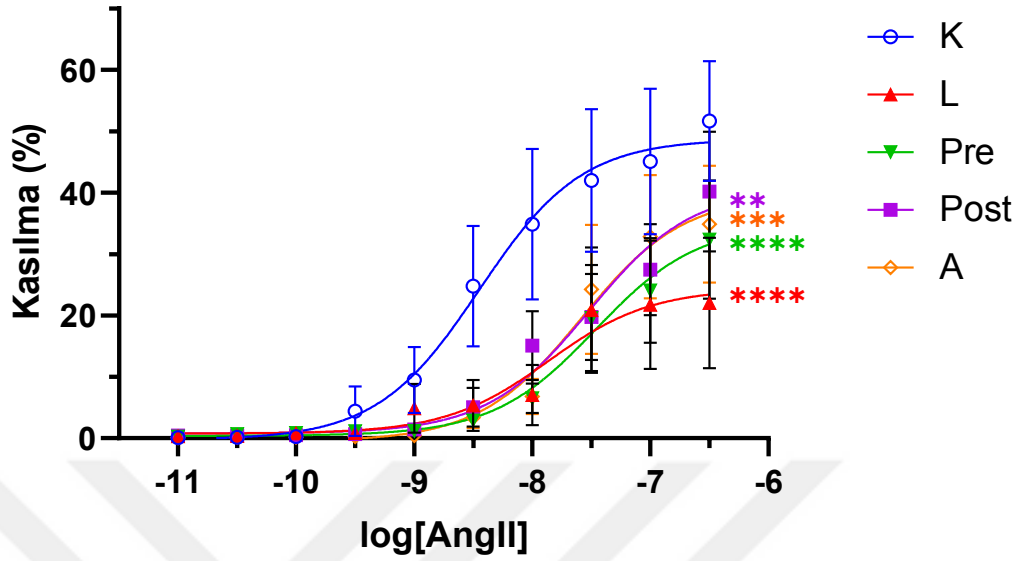
Renal arter fenilefrin ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) kasılma yanıtlarında LPS ($P = 0,003$), Pre ($P < 0,001$) ve Post ($P = 0,046$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.31). Bu veriler renal arterde ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS ile azalan fenilefrin kasılma yanıtları üzerine etkili olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.32. Renal arterde asetilkolin gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterde asetilkolin gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. **** $P < 0,0001$ kontrole göre; #### $P < 0,0001$ LPS'ye göre, $n=6-8$.

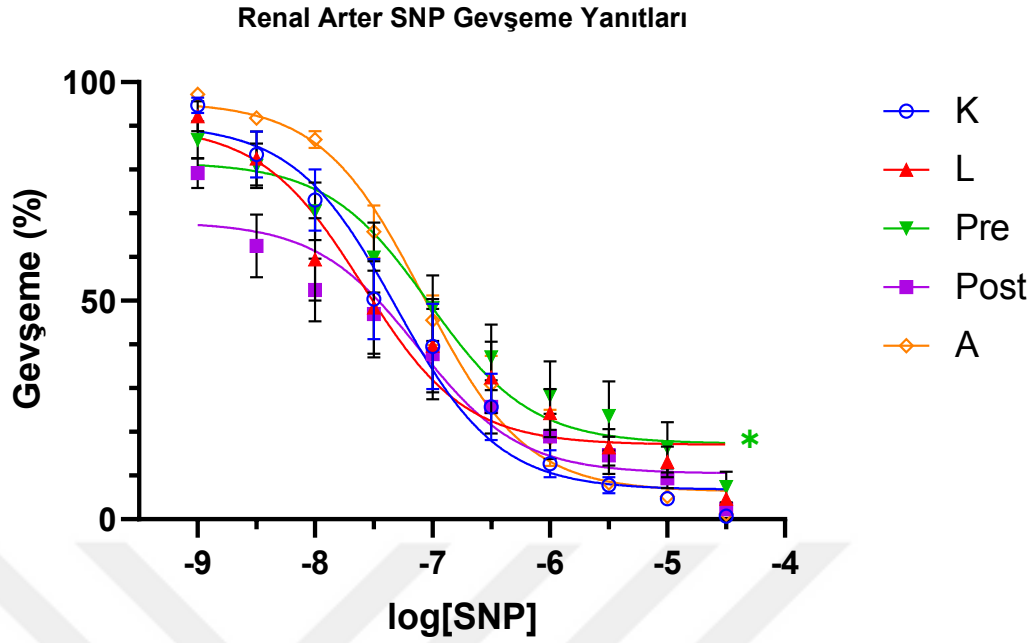
Renal arter asetilkolin ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) gevşeme yanıtlarında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P < 0,001$). Pre ($P < 0,001$) ve Post ($P < 0,001$) gruplarında LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 4.32). Bu sonuçlar renal arterde ALA ön tedavisinin, LPS ile azalan ACh gevşeme yanıtlarını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

Renal Arter AngII Kasılma Yanıtları



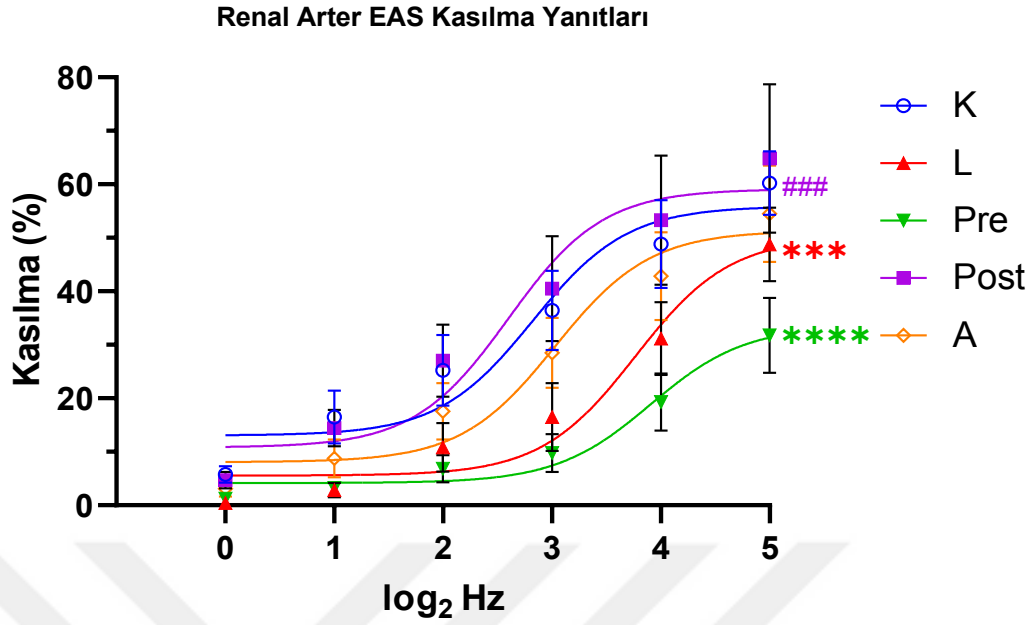
Şekil 4.33. Renal arterde anjiyotensin II kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterde anjiyotensin II kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografıta değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre, $n=6-9$.

Renal arter anjiyotensin II ($10^{-11} - 3 \times 10^{-7}$ M) kasılma yanıtlarında LPS ($P < 0,001$), Pre ($P < 0,001$), Post ($P = 0,002$) ve ALA ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.33). Bu bulgular renal arterde ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS ile azalan AngII kasılma yanıtları üzerine etkili olmadığını göstermektedir. Ayrıca LPS'den bağımsız olarak, ALA uygulaması da AngII kasılma yanıtlarında azalmaya neden olmuştur.



Şekil 4.34. Renal arterde SNP gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterde SNP gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre, $n=6-9$.

Renal arter SNP ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) gevşeme yanıtlarında Pre grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P = 0,042$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.34). Bu veriler renal arterde ALA ön tedavisinin, LPS varlığında SNP gevşeme yanıtlarını azalttığını göstermektedir.



Şekil 4.35. Renal arterde elektriksel alan stimülasyon yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterde oluşturduğu elektriksel alan stimülasyon (8 mA, 10 saniye boyunca, 1 milisaniyelik uyarılar) yanıtları üzerine olan etkileri miyografta değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; ### $P < 0,001$ LPS'ye göre, n=6-9.

Renal arter EAS (1-32 Hz) kasılma yanıtlarında LPS ($P < 0,001$) ve Pre ($P < 0,0001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P < 0,001$; Şekil 4.35). Bu sonuçlar renal arterde ALA tedavisinin, LPS ile azalan EAS kasılma yanıtlarını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

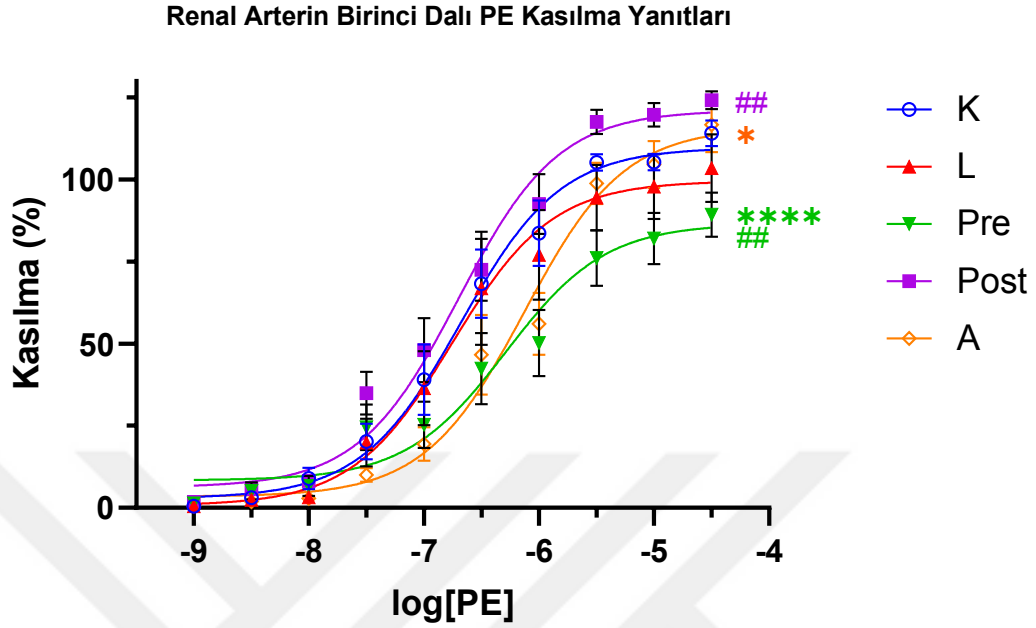
Tablo 4.3. Renal arterdeki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri

	PE		ACh		AngII		SNP	
	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}
K	6,95 ± 0,12	112,86 ± 4,10	7,12 ± 0,15	87,07 ± 3,39	8,45 ± 0,26	51,67 ± 9,78	7,31 ± 0,12	99,33 ± 0,33
L	6,39 ± 0,12*	110,71 ± 4,98	7,31 ± 0,32	57,35 ± 8,32***	7,86 ± 0,45	22,01 ± 10,64	7,59 ± 0,18	95,26 ± 1,32
Pre	6,61 ± 0,15	98,73 ± 6,88	7,03 ± 0,20	73,85 ± 1,83#	7,47 ± 0,29	32,35 ± 9,64	7,03 ± 0,17	92,60 ± 3,48
Post	6,55 ± 0,16	110,79 ± 11,64	7,21 ± 0,21	77,06 ± 4,15#	7,52 ± 0,24	40,17 ± 9,72	7,12 ± 0,19	97,70 ± 0,74
A	6,88 ± 0,14	113,63 ± 6,27	6,58 ± 0,21	85,24 ± 3,19	7,58 ± 0,26	34,88 ± 9,55	7,08 ± 0,08	98,80 ± 0,43

*** $P < 0,001$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre.

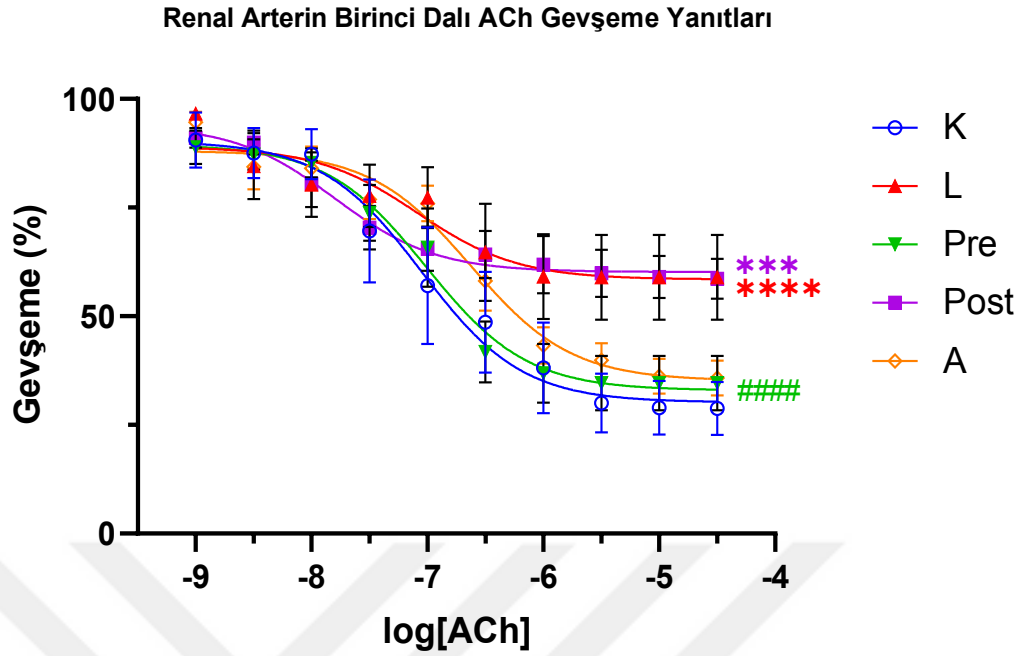
Renal arterde vazoaktif ajanlara verilen konsantrasyona bağımlı izometrik gerim değişikliği yanıtları üzerinden pD_2 ve E_{max} değerleri incelendiğinde ACh'ye ait E_{max} değerlerinde, LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü ($P < 0,001$). Pre ($P = 0,048$) ve Post ($P = 0,025$) gruplarında ise ACh'ye ait E_{max} değerlerinde LPS'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü (Tablo 4.3).

4.3.3. Renal Arterin Birinci Dalı



Şekil 4.36. Renal arterin birinci dalında fenilefrin kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterin birinci dalında fenilefrin kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; ## $P < 0,01$ LPS'ye göre, $n=6-9$.

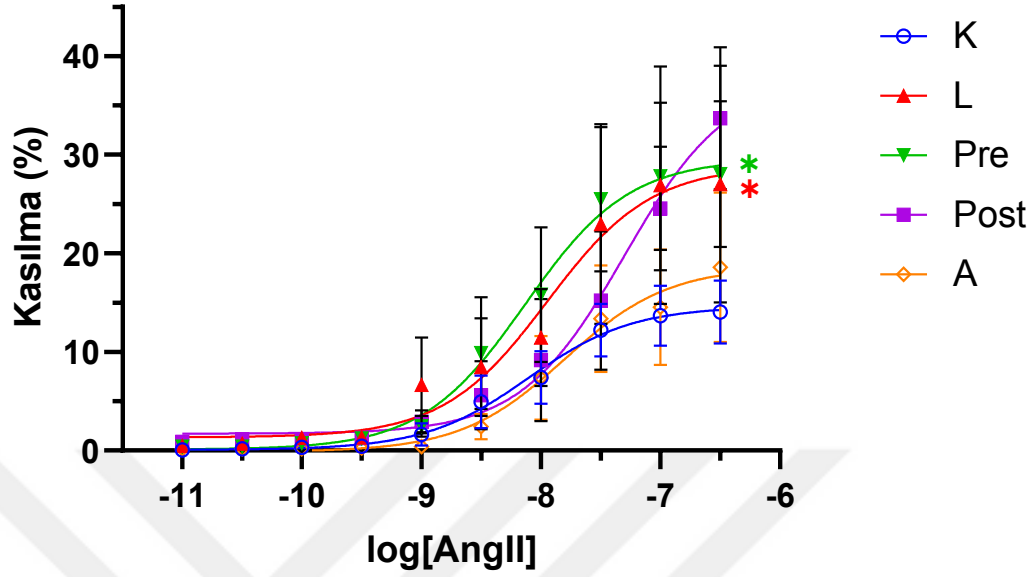
Renal arterin birinci dalında fenilefrin ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) kasılma yanıtlarında Pre ($P < 0,001$) ve ALA ($P = 0,027$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi. Pre ($P = 0,007$) grubunda LPS grubuna göre anlamlı bir azalma, Post ($P = 0,002$) grubunda ise anlamlı bir artış izlendi (Şekil 4.36). Bu bulgular renal arterin birinci dalında LPS varlığında ALA ön tedavisinin ve LPS'ten bağımsız olarak ALA uygulamasının fenilefrin kasılma yanıtlarını azalttığını göstermektedir.



Şekil 4.37. Renal arterin birinci dalında asetilkolin gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterin birinci dalında asetilkolin gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografa değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; ##### $P < 0,0001$ LPS'ye göre, n=6-9.

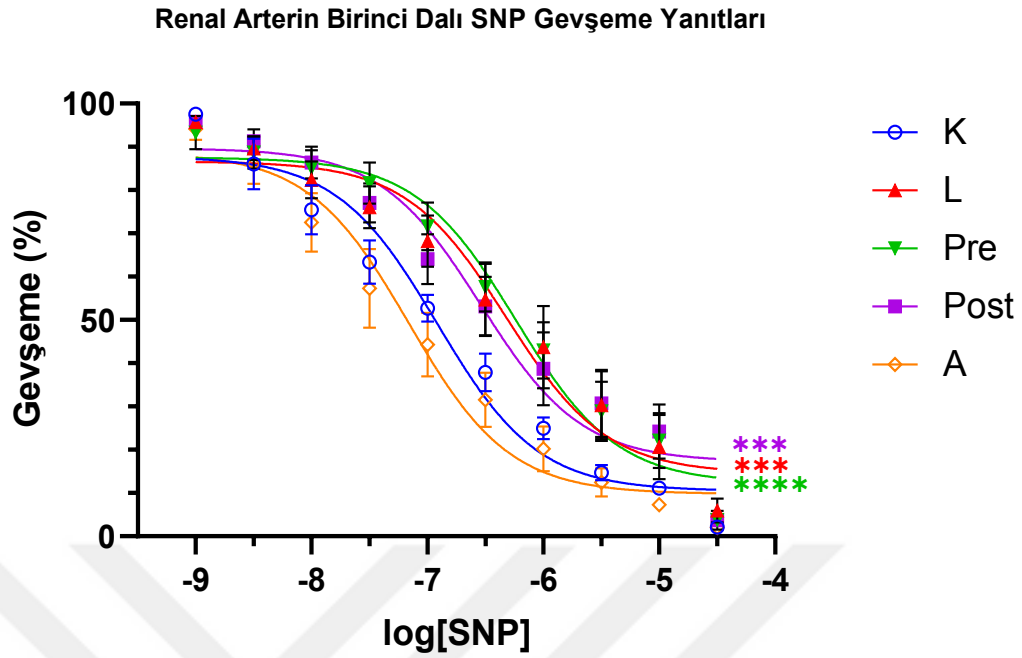
Renal arterin birinci dalında asetilkolin ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) gevşeme yanıtları incelendiğinde LPS ($P < 0,001$) ve Post ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, Pre ($P < 0,001$) grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 4.37). Bu sonuçlar renal arterin birinci dalında ALA ön tedavisinin, LPS ile azalan ACh gevşeme yanıtlarını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

Renal Arterin Birinci Dalı AngII Kasılma Yanıtları



Şekil 4.38. Renal arterin birinci dalında anjiyotensin II kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterin birinci dalında anjiyotensin II kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre, $n=6-9$.

Renal arterin birinci dalında anjiyotensin II (10^{-11} – 3×10^{-7} M) kasılma yanıtlarında LPS ($P = 0,049$) ve Pre gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($P = 0,018$; Şekil 4.38). Bu bulgular renal arterin birinci dalında ALA tedavisinin, LPS'nin AngII kasılma yanıtlarını artırmasını önlediğini göstermektedir.



Şekil 4.39. Renal arterin birinci dalında SNP gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının renal arterin birinci dalında SNP gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre, $n=6-9$.

Renal arterin birinci dalında SNP ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) gevşeme yanıtlarında LPS ($P < 0,001$), Pre ($P < 0,001$) ve Post ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 4.39). Bu veriler renal arterin birinci dalında ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS ile azalan SNP gevşeme yanıtları üzerine etkili olmadığını göstermektedir.

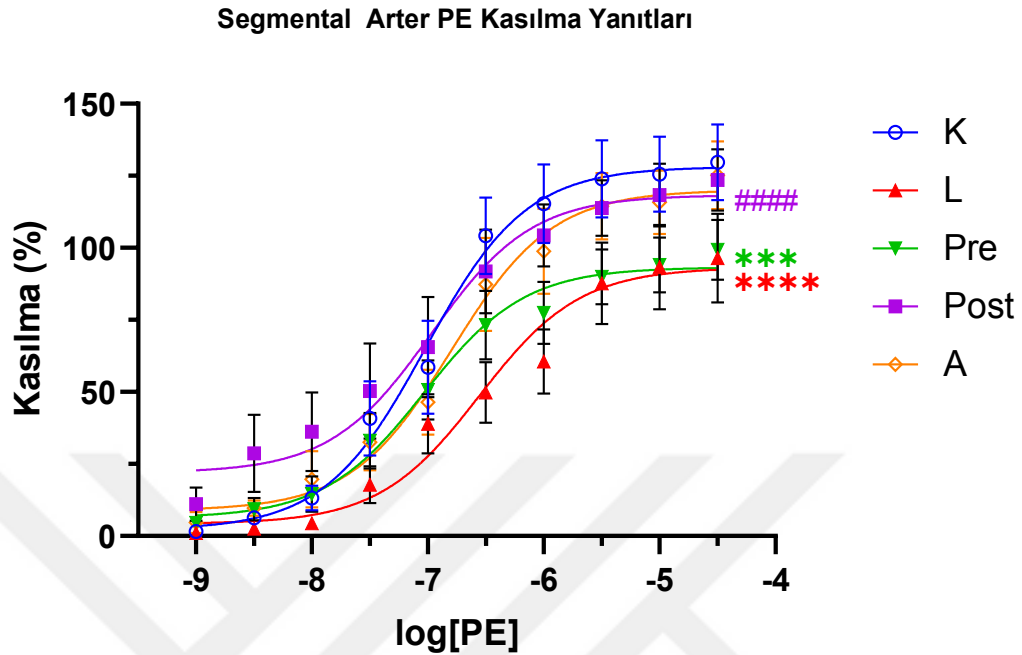
Tablo 4.4. Renal arterin birinci dalındaki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri

	PE		ACh		AngII		SNP	
	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}
K	6,68 ± 0,09	114,11 ± 3,90	7,05 ± 0,23	71,18 ± 6,12	8,11 ± 0,23	14,04 ± 3,17	6,92 ± 0,09	97,84 ± 0,72
L	6,76 ± 0,16	103,56 ± 10,35	7,08 ± 0,45	32,65 ± 5,72***	7,95 ± 0,42	27,01 ± 12,01	6,32 ± 0,12**	94,03 ± 2,77
Pre	6,29 ± 0,15[#]	89,32 ± 6,69	7,01 ± 0,17	65,40 ± 6,27###	8,13 ± 0,28	28,02 ± 7,41	6,24 ± 0,12***	96,20 ± 0,96
Post	6,70 ± 0,09	124,19 ± 2,70	7,80 ± 0,26	41,41 ± 4,62**	7,30 ± 0,26	33,69 ± 7,20	6,54 ± 0,13	96,26 ± 2,15
A	6,13 ± 0,10*	116,74 ± 8,37	6,63 ± 0,14	64,20 ± 4,05	7,80 ± 0,35	18,56 ± 7,59	7,16 ± 0,12	97,93 ± 0,48

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ kontrole göre; [#] $P < 0,05$, ^{###} $P < 0,001$ LPS'ye göre.

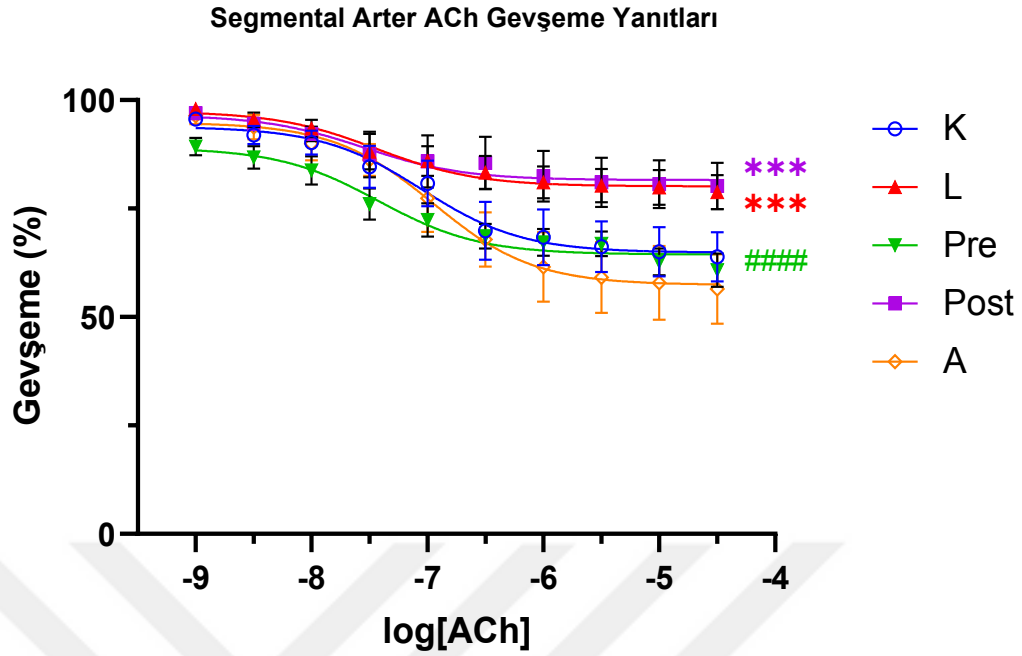
Renal arterin birinci dalında vazoaaktif ajanlara verilen konsantrasyona bağımlı izometrik gerim değişikliği yanıtları üzerinden pD_2 ve E_{max} değerleri incelendiğinde PE'e ait pD_2 değerlerinde, ALA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü ($P = 0,019$). Pre grubunda ise PE'e ait pD_2 değerlerinde, LPS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($P = 0,040$). ACh'ye ait E_{max} değerlerinde, LPS ($P < 0,001$) ve Post ($P = 0,005$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu. Pre grubunda ise ACh'ye ait E_{max} değerlerinde, LPS'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($P < 0,001$). Ayrıca SNP'ye ait pD_2 değerlerinde, LPS ($P = 0,006$) ve Pre ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü (Tablo 4.4).

4.3.4. Segmental Arter



Şekil 4.40. Segmental arterde fenilefrin kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının segmental arterde fenilefrin kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; ##### $P < 0,0001$ LPS'ye göre, $n=6-9$.

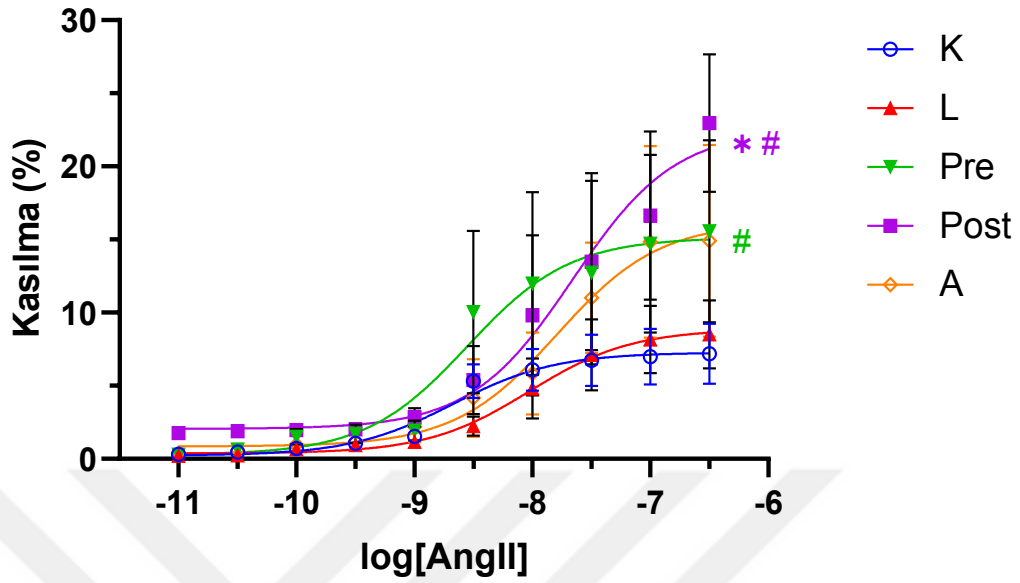
Segmental arterde fenilefrin ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) kasılma yanıtlarında LPS ($P < 0,001$) ve Pre ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Post grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P < 0,001$; Şekil 4.40). Bu bulgular segmental arterde ALA tedavisinin, LPS ile azalan fenilefrin kasılma yanıtlarını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.



Şekil 4.41. Segmental arterde asetilkolin gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının segmental arterde asetilkolin gevşeme yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin (10^{-7} – 10^{-6} M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. *** $P < 0,001$ kontrole göre; #### $P < 0,0001$ LPS'ye göre, $n=6-9$.

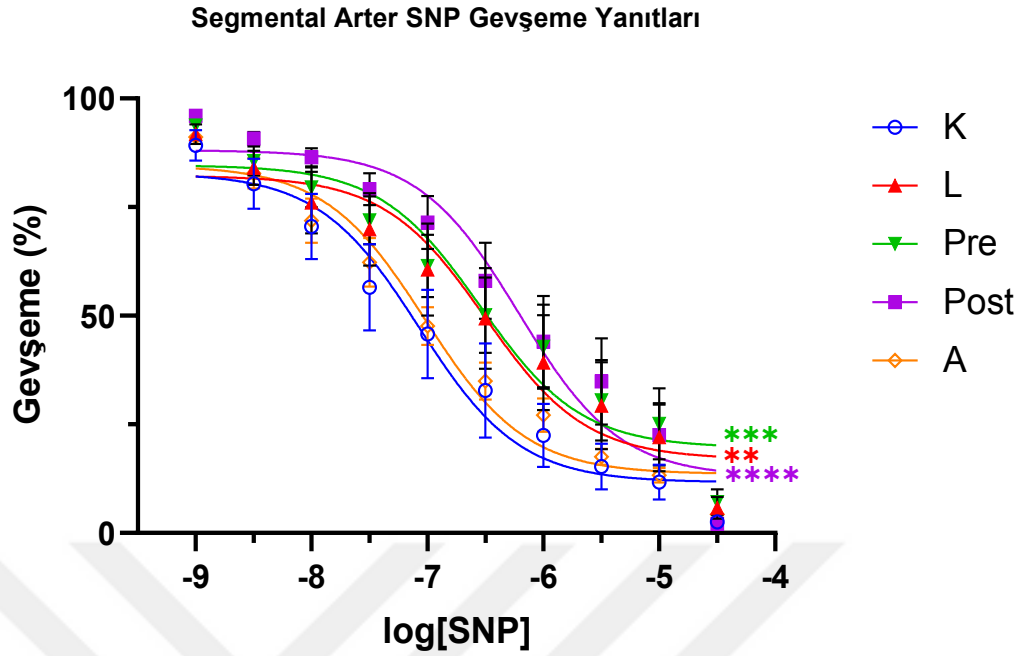
Segmental arterde asetilkolin (10^{-9} – 3×10^{-5} M) gevşeme yanıtları incelendiğinde LPS ($P < 0,001$) ve Post ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Pre grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P < 0,001$; Şekil 4.41). Bu sonuçlar segmental arterde ALA ön tedavisinin, LPS ile azalan ACh gevşeme yanıtlarını artırarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

Segmental Arter AngII Kasılma Yanıtları



Şekil 4.42. Segmental arterde anjiyotensin II kasılma yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının segmental arterde anjiyotensin II kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Yanıtlar 80 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=6-9$.

Segmental arterde anjiyotensin II ($10^{-11} - 3 \times 10^{-7}$ M) kasılma yanıtlarında Post grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,032$). Hem Pre ($P < 0,031$) hem de Post ($P = 0,016$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Şekil 4.42). Bu bulgular segmental arterde ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS varlığında AngII kasılma yanıtlarını artırdığını göstermektedir.



Şekil 4.43. Segmental arterde SNP gevşeme yanıtları. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının segmental arterde anjiyotensin II kasılma yanıtları üzerine oluşturduğu etkiler miyografta değerlendirildi. Gevşemeler submaksimum fenilefrin ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre, $n=6-9$.

Segmental arterde SNP ($10^{-9} - 3 \times 10^{-5}$ M) gevşeme yanıtları incelendiğinde LPS ($P = 0,004$), Pre ($P < 0,001$) ve Post ($P < 0,001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.43). Bu sonuçlar segmental arterde ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS ile azalan SNP gevşeme yanıtları üzerine etkili olmadığını göstermektedir.

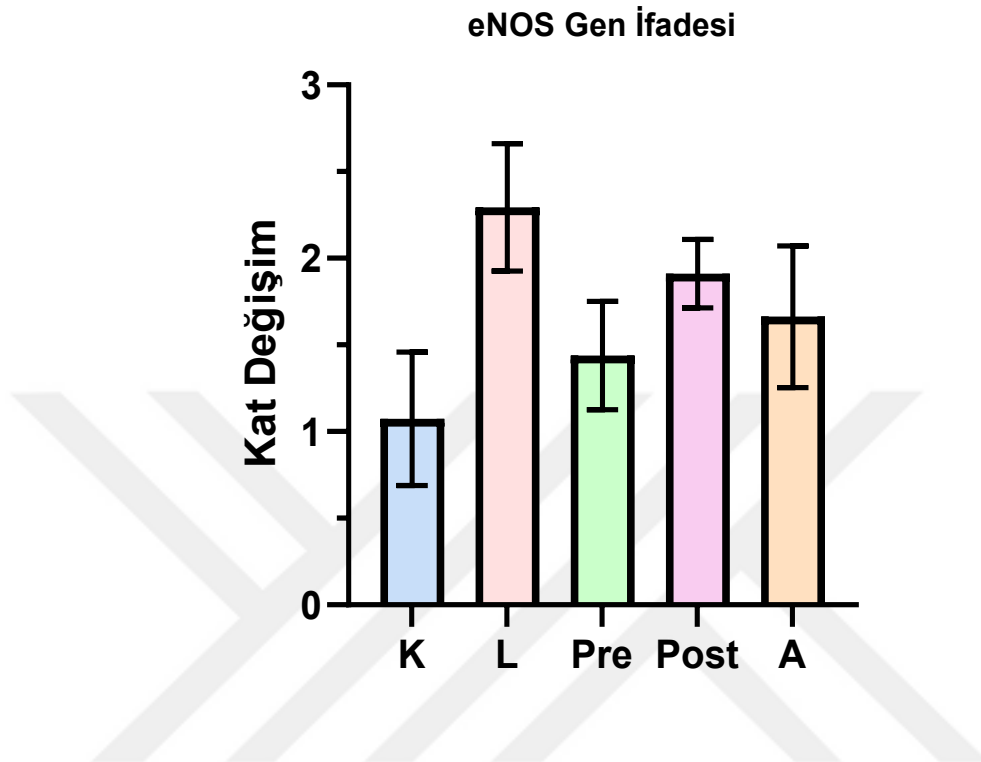
Tablo 4.5. Segmental arterdeki kasılma ve gevşeme yanıtlarına ait pD_2 ve E_{max} değerleri

	PE		ACh		AngII		SNP	
	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}	pD_2	E_{max}
K	7,02 ± 0,15	129,75 ± 13,13	7,05 ± 0,27	36,14 ± 5,66	8,68 ± 0,27	7,20 ± 2,06	7,07 ± 0,17	97,50 ± 0,73
L	6,56 ± 0,18	96,41 ± 15,44	7,44 ± 0,32	21,24 ± 3,98	8,03 ± 0,28	8,51 ± 2,34	6,50 ± 0,21	94,22 ± 2,48
Pre	7,03 ± 0,17	99,37 ± 10,42	7,42 ± 0,22	39,22 ± 3,80[#]	8,55 ± 0,46	15,56 ± 6,23	6,54 ± 0,17	92,91 ± 2,94
Post	6,97 ± 0,21	123,62 ± 10,67	7,55 ± 0,53	19,81 ± 5,39	7,66 ± 0,32	22,96 ± 4,71	6,21 ± 0,15^{**}	97,91 ± 0,87
A	6,80 ± 0,16	125,19 ± 11,79	6,95 ± 0,27	43,56 ± 8,03	7,79 ± 0,39	14,92 ± 6,55	7,02 ± 0,09	95,69 ± 0,86

^{**} $P < 0,01$ kontrole göre; [#] $P < 0,05$ LPS'ye göre.

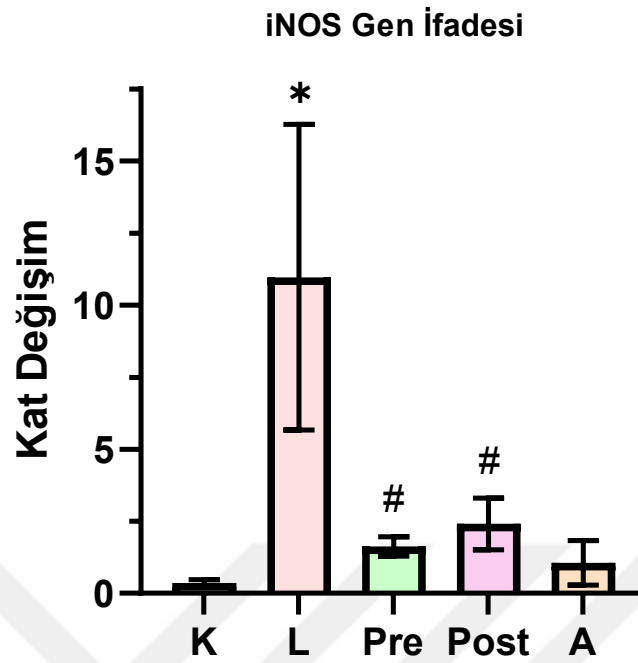
Segmental arterde vazoaaktif ajanlara verilen konsantrasyona bağımlı izometrik gerim değişikliği yanıtları üzerinden pD_2 ve E_{max} değerleri incelendiğinde ACh'ye ait E_{max} değerlerinde, Pre grubunda LPS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulundu ($P = 0,041$). Ayrıca SNP'ye ait pD_2 değerlerinde, Post grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($P = 0,005$; Tablo 4.5).

4.3.5. Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Enzim İzoformlarının Moleküler Değerlendirmesi



Şekil 4.44. Böbrek eNOS gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki eNOS gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin, n=6.

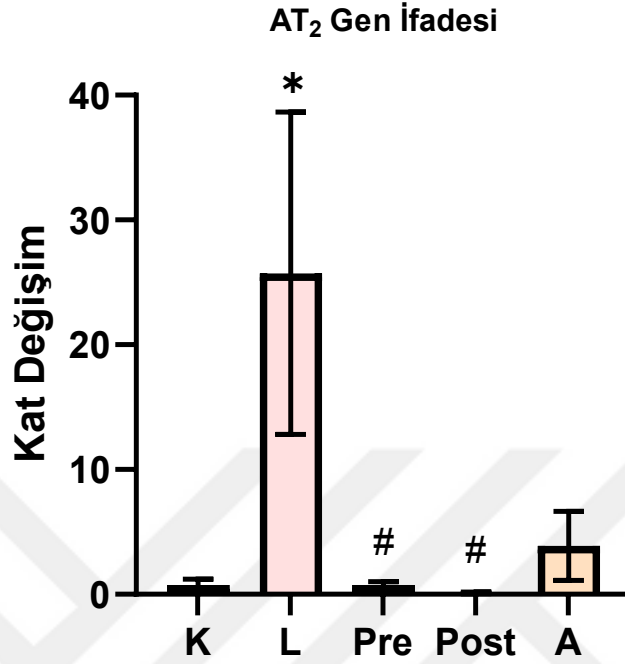
Böbrek dokusundaki eNOS gen ifadeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik izlenmedi (Şekil 4.44; kontrol: $1,07 \pm 0,38$ kat artış, LPS: $2,29 \pm 0,37$ kat artış, Pre: $1,44 \pm 0,31$ kat artış, Post: $1,91 \pm 0,20$ kat artış, ALA: $1,66 \pm 0,41$ kat artış).



Şekil 4.45. Böbrek iNOS gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki iNOS gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=5-6$.

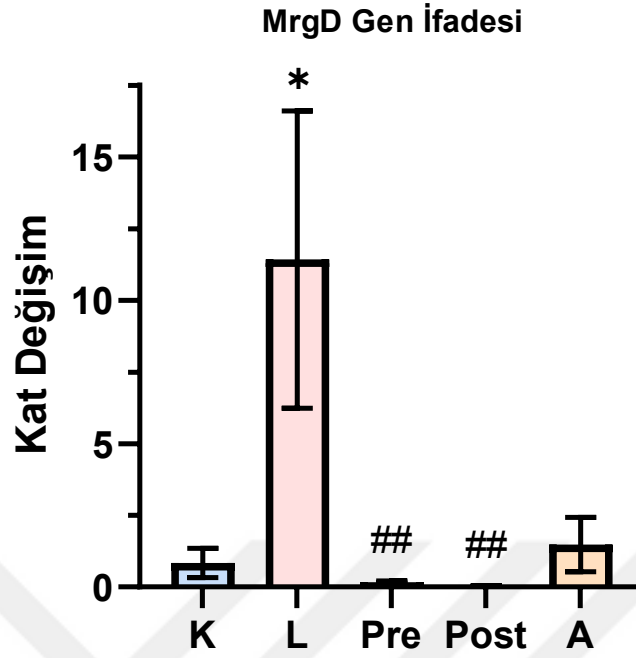
Böbrek dokusundaki iNOS gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,031$). Pre ($P = 0,031$) ve Post ($P = 0,05$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.45; kontrol: $0,36 \pm 0,11$ kat artış, LPS: $10,96 \pm 5,3$ kat artış, Pre: $1,62 \pm 0,33$ kat artış, Post: $2,41 \pm 0,9$ kat artış, ALA: $1,06 \pm 0,77$ kat artış). Bu sonuçlar ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS ile artan renal iNOS gen ifadesi düzeylerini azaltarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.

4.3.6. ALA İlişkili Reseptörlerin Moleküler Değerlendirmesi



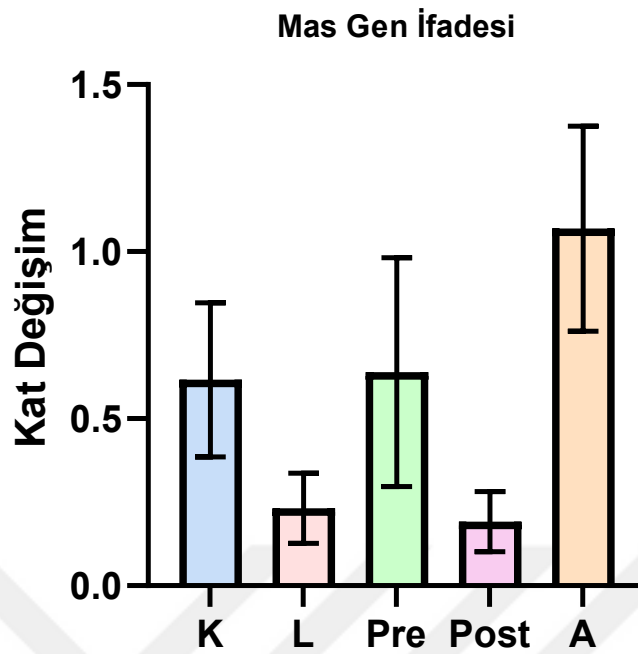
Şekil 4.46. Böbrek AT₂ reseptör gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki AT₂ reseptör gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, n=5-6.

Böbrek dokusundaki AT₂ reseptör gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,043$). Pre ($P = 0,045$) ve Post ($P = 0,029$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.46; kontrol: $0,76 \pm 0,47$ kat artış, LPS: $25,73 \pm 12,91$ kat artış, Pre: $0,76 \pm 0,25$ kat artış, Post: $0,13 \pm 0,07$ kat artış, ALA: $3,89 \pm 2,76$ kat artış). Bu veriler ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS ile artan renal AT₂ reseptör gen ifadesi düzeylerini azaltarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.



Şekil 4.47. Böbrek MrgD reseptör gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki MrgD reseptör gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; ## $P < 0,01$ LPS'ye göre, $n=5-6$.

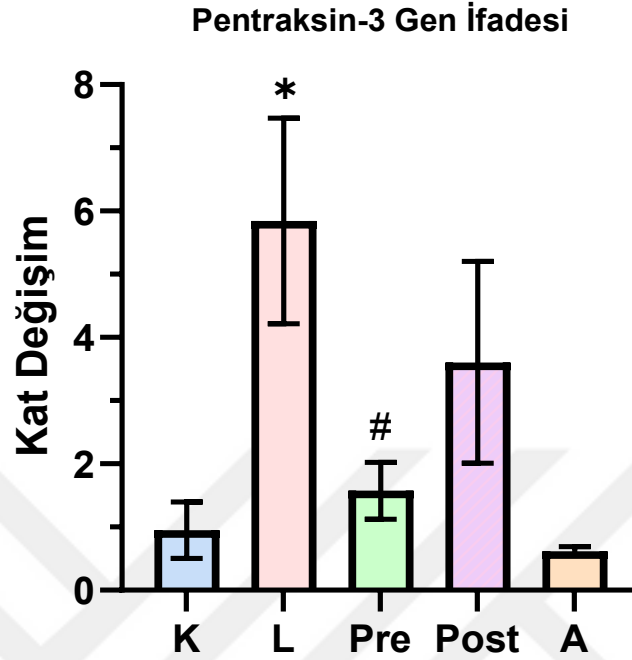
Böbrek dokusundaki MrgD gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,014$). Pre ($P = 0,009$) ve Post ($P = 0,005$) gruplarında ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 4.47; kontrol: $0,84 \pm 0,51$ kat artış, LPS: $11,42 \pm 5,18$ kat artış, Pre: $0,17 \pm 0,04$ kat artış, Post: $0,04 \pm 0,01$ kat artış, ALA: $1,48 \pm 0,95$ kat artış). Bu sonuçlar ALA ön tedavisi ve ALA tedavisinin, LPS ile artan renal MrgD gen ifadesi düzeylerini azaltarak kontrol seviyelerine getirdiğini göstermektedir.



Şekil 4.48. Böbrek Mas reseptör gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki Mas reseptör gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin, n=6.

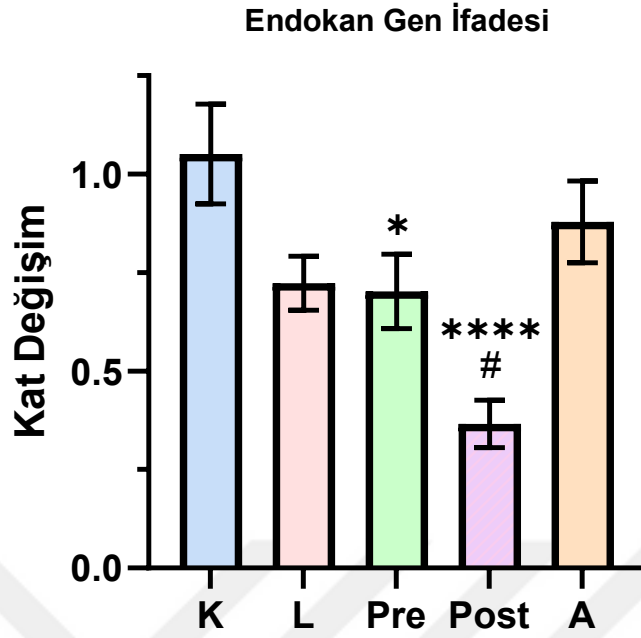
Böbrek dokusundaki Mas gen ifadeleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik izlenmedi (Şekil 4.48; kontrol: $0,62 \pm 0,23$ kat artış, LPS: $0,23 \pm 0,11$ kat artış, Pre: $0,64 \pm 0,34$ kat artış, Post: $0,19 \pm 0,09$ kat artış, ALA: $1,07 \pm 0,31$ kat artış).

4.3.7. Endotel Disfonksiyonu Belirteçlerinin Moleküler Değerlendirmesi



Şekil 4.49. Böbrek pentraksin-3 gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki pentraksin-3 gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=5-7$.

Endotel disfonksiyonunun göstergesi olarak böbrek dokusundaki pentraksin-3 gen ifadeleri karşılaştırıldığında LPS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P = 0,013$). Pre grubunda ise LPS grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P = 0,034$; Şekil 4.49; kontrol: $0,95 \pm 0,45$ kat artış, LPS: $5,84 \pm 1,63$ kat artış, Pre: $1,58 \pm 0,45$ kat artış, Post: $3,61 \pm 1,60$ kat artış, ALA: $0,62 \pm 0,72$ kat artış). Bu sonuçlar ALA ön tedavisinin, LPS'nin yol açtığı artmış renal pentraksin-3 gen ifadesi düzeylerini azaltarak kontrol seviyelerine getirdiğini; ALA tedavisinin ise LPS'nin yol açtığı bu artışı önlediğini göstermektedir.



Şekil 4.50. Böbrek endokan gen ifadesi. LPS/SF verildikten 20 saat sonra LPS ve alamandin uygulamalarının böbrek dokusundaki endokan gen ifadesi üzerine olan etkileri değerlendirildi. K: Kontrol, L: LPS, Pre: Alamandin ön tedavisi, Post: Alamandin tedavisi, A: Alamandin. * $P < 0,05$, **** $P < 0,0001$ kontrole göre; # $P < 0,05$ LPS'ye göre, $n=5-7$.

Endotel disfonksiyonunun göstergesi olarak böbrek dokusundaki endokan gen ifadeleri karşılaştırıldığında Pre ($P = 0,048$) ve Post ($P < 0,0001$) gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Post grubunda ek olarak LPS grubuna göre de anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P = 0,05$; Şekil 4.50; kontrol: $1,05 \pm 0,13$ kat artış, LPS: $0,72 \pm 0,07$ kat artış, Pre: $0,70 \pm 0,09$ kat artış, Post: $0,37 \pm 0,06$ kat artış, ALA: $0,88 \pm 0,10$ kat artış). Bu sonuçlar ALA ön tedavisinin ve ALA tedavisinin, LPS varlığında renal endokan gen ifadesi seviyelerini azalttığını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında 10 mg/kg LPS'nin 20 saat sonunda renal hasarı oluşturmada başarılı olduğu, ALA'nın bu modelde hem sistemik hem de böbrek üzerinde lokal olarak olumlu etkileri olduğu, yine bu modelde gelişen endotel disfonksiyonu üzerine faydalı etkileri olduğu gösterildi. ALA'nın LPS ile indüklenmiş sepsis modeli üzerindeki bazı etkileri daha önce çalışılmış olsa da (8, 9), bu çalışma ALA'nın hem sistemik hem de lokal etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi, LPS ile indüklenmiş sıçan sepsis modelinde endotel disfonksiyonunu farklı izole arter segmentlerinde ve böbrek damar yatağında göstermesi açısından bir ilk niteliği taşımaktadır. Ek olarak bu çalışmada ALA'nın bir sepsis modelinde piroptoz ve apoptoz ile birlikte sepsis mortalitesi üzerine etkileri de ilk defa çalışıldı. Bu sonuçlar ALA'nın LPS ile indüklenmiş sıçan sepsis modelinde terapötik olarak etkili olduğunu göstermektedir.

5.1. LPS'nin Sistemik ve Renal Etkilerinin Değerlendirilmesi

LPS'nin toll-benzeri reseptör 4'e bağlanarak TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin saliverilmesine yol açtığı (123), bu sitokinlerin de böbrek hasarı, apoptoz ve piroptoz üzerinde rolü olduğu bilinmektedir (124). Bu çalışmada, 10 mg/kg LPS enjeksiyonunun 20 saat sonunda sistemik olarak inflamatuvar sitokin artışına, kilo kaybına, endotel ve renal disfonksiyona yol açtığı, 10 mg/kg-20 saat LPS modelinin septik sistemik ve renal hasarı çalışmak için geçerli bir model olduğu gösterildi. LPS enjeksiyonunu takiben 20 saat sonunda hipotansiyon olduğunu gösteren çalışmalar doğrultusunda, bu çalışmadaki modelin de sepsisin hipodinamik fazı olduğunu söylemek mümkündür (125, 126). Ek olarak, bu çalışmada elde edilen, inflamatuvar, apoptotik ve piroptotik süreçleri gösteren moleküler değerlendirmeler, hasar ve nekrozu gösteren histopatolojik değerlendirmeler de bu sonucu desteklemektedir.

Sepsiste görülen inflamatuvar durumla birlikte bozulmuş hemodinami, sistemik ve lokal hasara yol açan ana faktörlerden biridir (17). Bu çoklu organ hasarıyla birlikte

sepsis, yüksek mortalite oranlarına yol açmaktadır (11). Bu çalışmada da literatürle uyumlu olarak, LPS'nin sistemik inflamatuvar belirteçler olan TNF- α ve IL-1 β 'yı artırdığı, çoklu sistemlerde kan akımını azalttığı gösterildi. Bu değişikliklere ikincil olarak da üriner lökosit seviyesini artırdığı gösterildi. Lökosit seviyesindeki artışın hem sistemik hem de renal inflamatuvar durumu yansıttığı düşünülebilir. Bu çalışmada LPS'nin bu durumların bir sonucu olarak mortalite oranını artırdığı gösterildi.

Böbrek fonksiyonları açısından bakıldığında, sepsisin yol açtığı renal hasar sonucunda akut böbrek hasarı gelişmekte, oligüri görülmekte ve kreatinin seviyesi yükselmektedir (127). Bu çalışmadaki LPS ile izole perfüze böbrek sisteminde üreter sıvı çıkışının azalması ve serum kreatinin seviyelerinin yükselmesi literatürle uyumlu niteliktedir. Bu noktadan yola çıkarak sıçan sepsis modelinde de klinik sepsis durumlarına uyan bir akut böbrek hasarı görüldüğü söylenebilir.

Septik hasardaki temel mekanizmalardan biri de mikrovasküler dolaşımdaki regülasyon bozukluğu ve bunun yol açtığı son organ hasarıdır (128, 129). Bu bozukluk, endotel disfonksiyonuna ikincil gelişen bozulmuş vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon yanıtları sebebiyle olmaktadır (130). LPS, iNOS aracılı hasar ve azalmış NO duyarlılığına ikincil olarak azalmış gevşeme yanıtlarına sebep olmaktadır (131). Bu çalışmada hem renal arter yatağı hem de renal arter ve dallarında LPS'nin bu etkisi gösterildi. Artmış renal iNOS gen ifade seviyeleri de bu bozukluğun nedeni olabilecek bir mekanizmadır. Literatürde de iNOS'un sepsisteki azalmış gevşeme yanıtlarına sebep olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (132). Bu çalışmada da literatürle uyumlu sonuçlar bulundu.

5.2. ALA'nın Sepsis Modelinde Sistemik ve Renal Etkilerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada sepsiste görülen değişikliklere karşılık ALA, antiinflamatuvar etkisini hem serum TNF- α ve IL-1 β konsantrasyonlarını hem de renal TNF- α ve IL-1 β gen ifadelerini düşürerek gösterdi. Ayrıca bu çalışmada ALA'nın, sepsisin neden olduğu inflamatuvar böbrek hasarının bir göstergesi olarak artan idrar lökosit

düzeylerini de azalttığı gösterildi. Bu inflamatuvar ortam, iskemik kalan organ sistemleri ve çeşitli organ hasarlarının sonucu olarak da mortalite artışı görüldü. ALA'nın tüm bu durumlar üzerine olan olumlu ve düzeltici etkileri sonucunda da mortalite artışını engellediği görüldü. Bu çalışma aynı zamanda ALA'nın idrar lökosit, sepsiste çeşitli organ hasarları ve mortalite üzerine etkilerinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Organ hasarını engellemesinin göstergelerinden biri olarak, sepsisin yaygın bulgularından olan hepatik hasarı da azaltmaktadır. ALA, histopatolojik hepatik hasar özelinde, çalışmada kullanılan patolojik skorlama sisteminin de bir parçası olan ve septik hayvanlarda görülen nekrobiyotik odak oluşumunu azalttı. Bu bulgular da ALA tedavisinin nekrozu azalttığını ve LPS ilişkili karaciğer hasarını etkin bir şekilde düzeltebildiğini göstermektedir.

Böbrek hasarı ve fonksiyonları açısından değerlendirildiğinde, hipotezi de destekler nitelikte, ALA'nın böbrek hasarını azalttığı, kreatinin seviyelerini düşürdüğü ve idrar çıkışını iyileştirdiği gösterildi. Böbreğin filtrasyon, sekresyon ve geri emilim fonksiyonlarının toplamını gösteren bu veriler ALA'nın böbrek fonksiyonlarını, çeşitli yollarla sonucu oluşan böbrek hasarını engelleyerek düzelttiğini göstermektedir. Yine bu çalışma bir sepsis modelinde izole perfüze böbrekte üreter sıvı çıkışının ve ek olarak da ALA'nın bunun üzerine etkisinin değerlendirildiği ilk çalışma olma niteliğindedir. Ayrıca ALA tedavisi, artmış renal TNF- α ve IL-1 β gen ifadelerini azaltarak böbrekteki lokal inflamatuvar ortamı iyileştirmektedir. Çalışmada LPS'nin yol açtığı hasara aracılık ettiği gösterilen diğer mekanizmalar ise piroptoz ve apoptozdur. ALA bu *in vivo* mekanizmalar üzerinde de olumlu etkiye sahiptir. Yani ALA antiinflamatuvar, antipiroptotik ve antiapoptotik etkilere sahiptir ve bu etkiler üzerinden septik akut böbrek hasarını azaltmaktadır. ALA bu lokal etkilerini böbreklerde bulunduğu da bilinen AT₂, Mas ve MrgD reseptörleri üzerinden gerçekleştiriyor olabilir. Bu çalışma kapsamında ayrıca ALA'nın böbreklerdeki yaygın nekroz ve tübüler bozulma üzerine olumlu etkilerinin olduğu, bu mekanizmanın da böbrek hasarı üzerindeki olumlu etkilerine katkı sağladığı gösterildi. Son olarak LPS ile azalan üreter sıvı çıkışının artışı, iyileşmiş glomerüler ve tübüler fonksiyonların bir

göstergesi olduğundan, ALA'nın böbrek hasarı üzerindeki olumlu etkilerini desteklemektedir.

Hücre hasar mekanizmalarından biri olan apoptoz, inflamasyonu tetiklemeyen programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır. Aktive olan kaspazlar üzerinden hücre ölümüne yol açan intrinsek ve ekstrinsek yollardan oluşur. Bu yolların başlatıcı ve yürütücü kaspazları kaspaz-3 üzerinde buluşmakta, devamında hücre ölümüne yol açan çeşitli enzimler tetiklenmektedir (133). Bir diğer hücre hasar mekanizması olan piroptoz ise inflamasyonu tetikleyen programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanmıştır (134). Piroptozdaki kritik öneme sahip olan kaspaz ise kaspaz-1'dir. Kaspaz-1, IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinlerin ön yapılarını aktive ederek membran üzerinde por oluşumuna, hücre içeriğinin ekstraselüler alana çıkışına ve inflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine yol açmaktadır (135). Bu sebeple de IL-1 β , inflamasyon ve piroptoz arasında bir köprü olarak düşünülebilmektedir. Bunlardan yola çıkarak hem apoptoz hem de piroptozun sepsisteki böbrek hasarında rol oynadığı gösterilmiştir (136, 137). Önceki çalışmalarda da ALA'nın farelerde septik hasar üzerinde antiapoptotik etkisi olduğu gösterilmiştir (8, 9). Bu çalışmadaki azalmış renal kaspaz-3 gen ifadesi seviyeleri de halihazırda yapılmış çalışmalarla ALA'nın antiapoptotik etkileri konusunda uyum göstermektedir. Bu çalışma ayrıca ALA ön tedavisinin renal kaspaz-1 gen ifadesi seviyelerini düşürerek gösterdiği antipiroptotik etkisini de ortaya koydu. Buna karşılık, LPS sonrası verilen ALA tedavisi ise inflamazom kompleksinin aktive olmasından dolayı piroptozu olumlu etkide bulunmamış olabilir. Renal kaspaz-1 gen ifadeleri yine bu çalışmada bulunan serum IL-1 β seviyeleriyle uyumluluk göstermektedir. ALA ön tedavisinin düşürdüğü kaspaz-1 gen ifadesi, pro-IL-1 β 'nın IL-1 β 'ya dönüşümünün de daha az olacağını öngörmektedir. Buna karşın, renal IL-1 β gen ifadesinin ALA ön tedavisiyle düşmemiş olması, renal IL-1 β gen ifadesinin serum IL-1 β seviyelerini yansıtmadığını, sentezi sonrası bu sitokinin ön yapılarının aktive olmasının serum seviyelerini daha iyi yansıttığını göstermektedir. İleri çalışmalar ALA ön tedavisinin piroptozu engelleme mekanizmalarını, kaspaz protein ekspresyonlarını ve TUNEL çalışması üzerinden ALA'nın antiapoptotik etkilerini göstermede yardımcı olabilir.

Hasar mekanizması açısından değerlendirildiğinde, önceki mekanizmalara ek olarak bu çalışmada elde edilen bulgular ALA'nın etkili bir şekilde bozulan gevşeme yanıtlarını düzelttiğini ve artmış iNOS gen ifadesini düşürdüğünü göstermekte, bu da sepsis tedavisindeki potansiyelini ortaya koymaktadır. Her ne kadar renal eNOS gen ifadesi seviyeleri ne LPS ile ne de ALA tedavisiyle değişmemiş olsa da, translasyon sonrası mekanizmaların varlığı da göz önüne alınarak NOS gen ifadesi seviyeleri toplam NO miktarını yansıtmayabilir. Bu bulgular, önceki çalışmalarda gösterilen iNOS aracılı gevşeme bozukluğu ve toplam endotel NO seviyesi düşmesiyle uyumludur (138).

Kan akımlarının ve hemodinaminin değerlendirilmesinde sepsis, eNOS ve iNOS'un patofizyolojisinde rol oynadığı hiperdinamik faz ve bunu takip eden bir hipodinamik faz olmak üzere hemodinamik olarak ikiye ayrılmaktadır (30). Çeşitli çalışmalarda LPS'nin azalmış eNOS ve artmış iNOS seviyelerine yol açtığı da gösterilmiştir (139, 140). Bunlara ek olarak eNOS'a immünreaktif hücrelerde MrgD reseptörü bulunduğu ve bunun eNOS üzerindeki alamandin etkileriyle ilişkili olabileceği gösterilmiştir (94). Bu çalışmada da çeşitli vasküler sistemlerde azalmış kan akımı gösterilmiş olup bu modelin sepsisin hipodinamik fazında olduğu doğrulandı. Renal kan akımı (RKA), renal vasküler direnç üzerinden $RKA = \frac{\text{Renal kan basıncı}}{\text{Renal vasküler direnç}}$ formülü gereğince kontrol edilmektedir. Fizyolojik olarak da kan basıncının değiştiği durumlarda bile renal vasküler direnç üzerinden RKA'nın sabit tutulduğu bir aralık bulunmaktadır (141). Bu çalışma kapsamında elde edilen bulgular da önceki çalışmalarda gösterilen hipotansiyon ve artmış vasküler direnç ile birlikte (142, 143) LPS ile indüklenmiş sepsis modelinde bu regülasyonun bozulduğunu göstermektedir. Bu çalışmada da ALA ön tedavisi bu fizyolojik regülasyon aralığı üzerine etki etmiyorken LPS'nin etkisi başladığında regülasyonun bozulduğu gösterildi. Bunun aksine LPS sonrasında verilen ALA tedavisi ise, LPS'nin bozmuş olduğu regülasyonu düzeltici etkide bulunmaktadır. Bu düzeltici etkiyi ise kan basıncını artırarak değil, daha önce de gösterildiği gibi vasküler direnci azaltarak oluşturmaktadır (8). Bu çalışmanın bulguları da bunu destekler nitelikte olup, ALA tedavisinin azalmış olan renal arter yatağı gevşeme yanıtlarını düzelttiğini

göstermektedir. Bu da vasküler direnci düşürmenin, azalan kan akımlarını tedavi etmede etkili bir yaklaşım olduğunu ortaya koymaktadır.

5.3. LPS ve ALA'nın Vasküler Etkilerinin Değerlendirilmesi

LPS *in vivo* uygulandığında mezenter arter fenilefrin yanıtlarını düşürebilmektedir (144). Daha distale gidildiğinde mezenter arteriol seviyesinde de yine fenilefrin yanıtlarını düşürmektedir (145). Aort preparatlarında da benzer sonuçlar elde edilmiş, bu azalmadan LPS'nin yol açtığı NO ve prostasiklin artışının sorumlu olduğu öne sürülmüştür (146, 147). Bazı çalışmalarda LPS'nin, α_1 adrenerjik reseptör gen ifadesi ve protein ifadesi düzeylerinde azalmaya yol açtığı, ek olarak reseptör sonrası sinyal iletiminde bozulmaya yol açtığı bulunmuştur (148, 149). Başka bir çalışmada ise LPS'nin hücre içi kalsiyum ile ilişkili mekanizmaları bozduğu, myofilamentlerin kalsiyuma duyarlılığında azalmaya yol açtığı ve bunlara ek olarak artmış NOS aktivitesiyle damarlarda hiporeaktiviteye sebep olduğu gösterilmiştir (150). İzole perfüze böbrekte ise LPS varlığında fenilefrin kasılma yanıtlarında bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (151, 152). Renal arter ve distal segmentlerinde ise bu yanıtlar daha önce LPS varlığında çalışılmamıştır. Bu çalışmada bu segmentlerin yanıtları ilk kez değerlendirildi. Aortta ve izole perfüze böbrek sisteminde fenilefrin yanıtları LPS varlığında değişmedi, renal arterde ve segmental arterde ise azaldığı görüldü. Renal arterin birinci dalında da yine LPS varlığında fenilefrin kasılma yanıtlarında bir değişiklik olmadı. Aort için elde edilen yanıtlar literatür ile farklılık göstermekle birlikte izole perfüze böbrek fenilefrin yanıtları önceki çalışmalarla uyumlu bulundu. Önceden de belirtildiği gibi hemodinamik açıdan sepsisin hiperdinamik ve hipodinamik olarak iki faza ayrılmasından dolayı, aortta görülen farklılıklar, kullanılan LPS dozlarından ve LPS uygulamasından incelemeye kadar geçen süredeki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Hiperdinamik fazda görülen azalmış periferik vasküler direnç, literatürdeki LPS varlığında görülen azalmış fenilefrin kasılma yanıtlarını açıklamaktadır. Bu çalışmada hipodinamik fazın çalışılmış olması, azalan fenilefrin yanıtlarının tekrardan normale döndüğü bir fazın çalışıldığının göstergesi olabilir. Ek olarak çalışmalarda farklı aort segmentlerinde vazokonstriktör

yanıtların farklı olabildiği gösterildiğinden (153), kullanılan aort segmentleri arasındaki farklılıktan da kaynaklanıyor olabilir. Bir başka neden ise farklı arter segmentlerinde α_1 reseptör gen ve protein ifadelerindeki değişim kaynaklı olabilir. Renal arter ve segmental arterde LPS etkisiyle fenilefrin kasılma yanıtlarının azalmasına rağmen izole perfüze böbrekte değişiklik olmaması, renal arter yatağının kümülatif cevabında bu iki arter haricinde başka arter segmentlerinin daha çok etki edebileceğini göstermektedir. Renal arterin birinci dalında fenilefrin cevaplarının değişmemesi, bu segmentin α_1 adrenerejik reseptör aracılı kasılma yanıtlarında renal arter yatağı cevabını daha iyi yansıttığını düşündürmektedir. Her bir arter segmentinde izole olarak reseptör dağılımının gerek gen gerekse protein ifadesi yönünden çalışılması oluşan farkı daha iyi açıklamaya yardımcı olabilir.

Fenilefrin kasılma yanıtları incelendiğinde ALA içeren gruplarda, özellikle ön tedavi grubunda kasılma yanıtlarının azaldığı, hatta bazı arter segmentlerinde LPS grubuna kıyasla daha düşük kasılma yanıtları bulunduğu göze çarpmaktadır. Tedavi ve ALA gruplarında ise aynı azalma her arter segmentinde gözlenmediği, yani tedavi grubunda LPS'nin yol açtığı değişikliklerin kontrol grubu seviyelerine döndüğü görüldü. Bu noktadan yola çıkarak kan akımlarındaki düşüşte ön tedavinin başarısız olmasına karşın tedavinin kan akımlarını yükselttiği de düşünülürse kan akımlarına vazokonstriktör cevaplarındaki bozulmanın yol açtığı, ALA tedavisinin ise bu cevaplarda düzelmeye yol açarak kan akımlarını artırdığı söylenebilir. LPS'ye kıyasla ALA'nın önce veya sonra verilmesi arasında oluşan fark ise tedavinin antiinflamatuvar etki yönünden ön tedaviye kıyasla daha güçlü etkisi olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu fark ayrıca MrgD reseptörlerinin çeşitli dokulardaki G protein kenetlenmesinin birbirinden farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Çeşitli çalışmalarda MrgD reseptörünün G_q , G_s ve G_i ile kenetli olduğu gösterilmiştir (93). Bu da LPS öncesi ve sonrası verilen ALA'nın farklı ikincil yolaklar üzerinden etki etmesini mümkün hale getirmektedir. LPS verildiğinde oluşan ve bu çalışmada da gösterilen renal MrgD reseptör gen ifadesi artışı bazı dokulardaki MrgD reseptörlerinde daha çok gerçekleşiyor ve bu durum da bu üç farklı G proteini ile ilişkili yolağı farklı etkiliyor olabilir. Bu mekanizmaların aydınlatılmasında LPS ile farklı dokulardaki MrgD

reseptörlerinin değişiminin ayrıca çalışılmasına ve bu MrgD reseptörlerinin çeşitli dokulardaki ikincil yollarının aydınlatılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Son olarak bu kasılmaların *ex vivo* ortamda, *in vivo* düzenleyici mekanizmaların ortadan kalktığı bir durumda çalışılıyor olması da vurgulanmayı hak etmektedir. Bu yüzden kasılma yanıtlarındaki değişimlerin direkt olarak *in vivo* durumu yansıtmayabileceği, daha çok vazokonstriktör ajanlara karşı duyarlılığı, reseptör yoğunluğunu ve ikincil yollarda gelişen duyarlılığı yansıttığı düşünülmelidir. Ek olarak renal arterde LPS grubunda pD₂ değerinde düşüş olmasına rağmen tedavi gruplarının bu düşüşü engellemiş olması da vurgulanması gereken bir noktadır. Her ne kadar ALA tedavisi ve ön tedavisi renal arterde PE kasılma yanıtlarının azalmasını önlememiş olsa da PE'nin potent kalmasını sağladığı görüldü. LPS'nin potensi azaltması, reseptörün ikincil yolağında meydana gelen bir değişikliğe veya reseptör duyarlılığına bağlı gelişmiş olabilir. Renal arterin birinci dalında ise ALA ve Pre gruplarında pD₂ değerlerindeki düşüş, yine bu iki grupta reseptör duyarlılığının ve ikincil yollardaki değişikliklerin göstergesi olabilir. Gösterdikleri farklı etkiler MrgD reseptörünün farklı ikincil yollarla kenetli olması durumundan kaynaklanmış olabilir. Bu mekanizmaların aydınlatılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

AngII yanıtları incelendiğinde bu çalışmada aort ve renal arterde LPS varlığında AngII kasılma yanıtları azalırken izole perfüze böbrek ve renal arterin birinci dalında bu yanıtların arttığı görüldü. Renal parankim içinde yer alan arterlerde bu şekilde bir fark çıkıyor olması, çevresel bir etkinin buna yol açabileceğini düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalarda inflamasyon ve oksidatif strese bağlı olarak AngII yanıtlarındaki artışın gösterilmiş olması da renal parankim kaynaklı bir artışı doğrulamaktadır (154). Ek olarak IL-1β'nin AngII kasılma yanıtlarını artırdığı da gösterilmiştir. Bu da benzer bir argümanı doğrulamaktadır (155). Yine izole perfüze böbrekteki AngII kasılma yanıtlarının renal arterin birinci dalına benzer nitelikte olması, bu segmentin AT₁ reseptör aracılı yanıtları için de renal arter yatağını daha iyi yansıttığını göstermektedir. Hem α₁ hem de AT₁ reseptörleri için bu şekilde bir benzerlik bulunması, vazokonstriktör yanıtlarında bu segmentin renal arter yatağını çalışmak için de uygun olduğunu gösterir niteliktedir. α₁ ve AT₁ reseptörlerinin *in vivo*

koşullarda da endojen agonistleri bulunduğu için, LPS sonrası bu iki reseptörü uyaran fenilefrin ve AngII kasılma yanıtlarındaki bozulma aynı zamanda mikrovasküler dolaşım bozukluğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. ALA ile tedavi yaklaşımının bu kasılma yanıtlarında yol açtığı düzelmeler, ALA'nın mikrovasküler hemodinamik düzenlenmesine katkı sağladığını, bu düzenlemede ortaya çıkan fonksiyon bozukluklarını düzelttiğini göstermektedir. Ek olarak aortta ALA tedavisinin E_{max} değerini düşürmesine rağmen diğer arterlerde pD_2 ve E_{max} değerlerinde değişiklik olmaması, LPS sonrası verilen ALA'nın, AngII'nin kasıcı etkilerine aracılık eden AT_1 reseptörünün aorttaki miktarını azaltmış olabileceğini düşündürmektedir.

LPS uygulandığında renal ve mezenterik yataklarda ACh gevşeme yanıtlarının azaldığını ancak SNP gevşeme yanıtlarının etkilenmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (156). Yine LPS uygulanmış deney hayvanlarına ait aort preparatlarında ACh gevşeme yanıtlarının azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (157, 158). Bunların aksine LPS uygulandığında ACh gevşeme yanıtlarının, artmış NO üretimi dolayısıyla arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (159). Artmış ACh gevşeme yanıtına sebep olan NO artışı kaynağının eNOS artışı olduğu belirtilmiştir (160). Bu çalışmada ise aort preparatında ACh gevşeme yanıtlarının LPS uygulandığında değişmediği gösterildi. Ek olarak, E_{max} ve pD_2 değerlerine bakıldığında daha fazla örneklem sayısı ile aortta ACh gevşeme yanıtlarının azalabileceği düşünülmektedir. Renal arterde azalan ACh gevşeme yanıtları ise önceki çalışmalarla uyumlu bulundu (138). Farklı saat aralıklarında değişken yanıtlar gösteren çalışmalar da mevcuttur (161). Daha distal dallarda ise bu ilişkiyi araştıran çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu çalışmada hem renal arter ve distal segmentlerinde hem de böbrek damar yatağının bütüncül olarak değerlendirildiği izole perfüze böbrek sisteminde ACh gevşeme yanıtlarının LPS varlığında azaldığı bulundu.

ALA'nın gevşeme yanıtları üzerindeki direkt etkileri ve inkübasyonla indirekt etkileri araştırılmış olsa da (7, 92) sepsisteki ACh yanıtları üzerine etkisi çalışılmamıştır. ALA tedavilerinin ACh gevşeme yanıtları üzerindeki etkisi araştırıldığında izole renal arter ve izole perfüze böbrek sisteminde hem ön tedavi

hem de tedavi azalan yanıtları düzeltmede başarıyla renal arterin birinci dalı ve segmental arterde ise sadece ön tedavi LPS varlığında azalan yanıtları düzeltti. İki tedavi yaklaşımı arasındaki fark, ALA'nın etkilerine öncülük eden MrgD reseptörünün farklı G proteini ile kenetli tiplerinin LPS verilmesi sonrası dokularda değişiyor olması olabilir. Ek olarak her ne kadar ön tedavi ve tedavi arasında renal eNOS ve iNOS gen ifadeleri açısından fark olmasa da gen ifadelerinin total NO seviyelerini yansıtmayabileceği, bu iki tedavi yaklaşımı arasındaki farkın total NO seviyelerinden kaynaklanabileceği düşünülebilir. eNOS, iNOS protein ifadeleri ve total NO seviyelerinin araştırılması bu farkın aydınlatılmasında katkı sağlayabilir. Son olarak renal arter ve renal arterin birinci dalında ACh gevşeme yanıtlarındaki E_{max} değerlerinin LPS ile azalmış, ALA ön tedavisiyle tekrar artmış olması da maksimum gevşeme potansiyelini ALA ön tedavisinin artırdığını göstermektedir. Bu veri de LPS'nin toplam muskarinik reseptör sayısı, toplam NO miktarı veya toplam çözünbilir guanilat siklazı azaltmış olabileceğini düşündürmektedir.

LPS ile yapılmış çalışmalarda LPS'nin SNP gevşeme yanıtlarını iNOS üzerinden azalttığı, çözünbilir guanilat siklaz yanıtsızlığı olduğu gösterilmiştir (162, 163). Ayrıca bu etkilerin farklı damar sistemlerinde farklı mekanizmalar üzerinden olduğu da bilinmektedir (164). Ek olarak da tekrarlanan düşük doz LPS'nin tek seferde verilmiş düşük doz LPS'nin aksine SNP yanıtlarında azalmaya yol açtığı, devam eden NO maruziyetinin eNOS artışı ve çözünbilir guanilat siklaz protein ifadesi seviyelerinin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (160). Bu çalışmada da aort, renal arterin dalı ve segmental arter preparatlarında SNP cevaplarında LPS uygulaması sonrasında azalma olduğu görüldü. Bu yanıtlar LPS varlığında artan renal iNOS gen ifadesi ve literatürle uyumlu niteliktedir. İzole perfüze böbrek ve izole renal arterde ise LPS uygulaması sonrasında SNP gevşeme cevaplarında değişim olmadığı görüldü. İzole perfüze böbrekte SNP gevşeme yanıtlarında değişim olmaması renal arter yatağında LPS etkilerinin araştırıldığı çalışmalarla uyumludur (156). Bu preparatlarda LPS ile farklı yanıtlar alınmış olması, guanilat siklaz aktivitelerindeki farklılıkla açıklanabilir ancak guanilat siklaz, NOS proteinleri ve NO seviyelerinin ölçülmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmadan önce ALA tedavisinin sepsisteki SNP yanıtları üzerine etkisi çalışılmamıştır, bu çalışma bu açıdan da bir ilk niteliği taşımaktadır. ALA bozulan SNP yanıtlarını sadece aortta düzeltebilmekte, diğer preparatlarda bu etkiyi gösterememektedir. Aort üzerindeki düzeltici etkisi iNOS gen ifadelerinde oluşturduğu düşüşle açıklanabilirken diğer dokular için bu açıklama yapılamamaktadır. Her ne kadar renal iNOS gen ifadelerini düşürmüş olsa da her arter segmentinde iNOS gen ifadesi ve protein düzeylerinin ayrıca çalışılması bu farkı açıklamaya yardımcı olabilir. Son olarak aortta LPS'nin oluşturduğu SNP pD₂ değerindeki azalmayı hem ALA ön tedavisinin hem de ALA tedavisinin artırıyor olması, aortta tedavi gruplarının SNP gevşeme yanıtlarındaki artışta NO duyarlılığında artışın tedavi edici mekanizma olabileceğini düşündürmektedir. Renal arterin birinci dalında ise LPS'nin pD₂ değerini azaltmasına rağmen tedavi gruplarında artış görülmemesi ve tedavi gruplarının azalan SNP gevşeme yanıtlarını artıramaması da bu düşünceyle uyumludur.

Renal arter ve dalı üzerine yapılan sınırlı sayıdaki sıçan çalışmasında bu arterlerde EAS ile kasılma yanıtları, ön kasılma ve guanetidin varlığında ise gevşeme yanıtları görülmüştür (41, 165). Bu çalışma kapsamında EAS ile elde edilen yanıtlar da innervasyon ve salıverilen nörotransmitterler açısından vazokonstriktörlerin baskın olduğunu gösteren halihazırda mevcut olan çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. EAS ile oluşan vazokonstriktör yanıtların izole renal arterde LPS sonrası azalma gösterdiği görüldü. Fenilefrin kasılma yanıtlarıyla da uyumlu olan bu bulgu, hem literatürle uyumlu şekilde bu yanıtın α_1 adrenoseptör kaynaklı olabileceğini hem de bu yanıtaki azalmanın nörovasküler kavşak sonrası mekanizmalar kaynaklı olduğunu düşündürmektedir.

5.4. ALA'nın Etki Mekanizmalarının Değerlendirilmesi

Lokal olarak aktive olmuş RAAS böbrekte artmış iNOS seviyelerine ve böbrek hasarına yol açabilmektedir (166). Vazokonstriktif, fibrotik ve hipertansif etkileriyle bilinen anjiyotensin II/AT₁ reseptör aksı (79) ve ALA'nın da etkilerini gösterdiği MrgD reseptörünü içeren, AT₂, Mas reseptörleri ve çeşitli peptitleriyle ikinci bir aks olmak

üzere iki ana kolu vardır (84). ALA ikinci aksta yer alan reseptörler üzerinden etkilerini göstermekle birlikte MrgD reseptörünün en özgül reseptörü olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (102, 167-170). AT₂ reseptörü sepsiste antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkiler göstermekte ve iNOS aracılı hasarı engellemektedir (171-173). Ayrıca artmış eNOS seviyeleriyle de ilişkilidir. Ek olarak AT₂ reseptör agonisti verilen deney hayvanlarında plazma ve renal IL-10 seviyelerinin arttığı, bu seviyelerin LPS verildiğinde de arttığı gösterilmiştir. Ek olarak aynı çalışmada, LPS verilen deney hayvanlarına AT₂ reseptör agonisti verildiğinde bu artışın daha da fazla olduğu gösterilmiştir (174). Diğer çalışmalarda da LPS sonrasında IL-10 seviyelerindeki artış gösterilmiştir (175-177). Bu bulgular IL-10 üretiminde AT₂ reseptörünün önemini gösterir niteliktedir. Bu tez kapsamında yürütülen deneylerde de LPS gruplarında renal AT₂ ve IL-10 gen ifadelerinin arttığı, hem ALA ön tedavisi hem de ALA tedavisiyle AT₂ ve IL-10 gen ifadelerinin düşerek kontrol seviyelerine geldiği gösterildi. Halihazırda var olan bilgilerle birlikte değerlendirildiğinde ALA verilmesiyle IL-10 gen ifadelerindeki düşüşün AT₂ gen ifadesi düşüşüne bağlı olabileceği söylenebilir. Bir diğer reseptör olan Mas reseptörünün de antifibrotik, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkileri bulunmakla birlikte (178-181), sepsisteki ifade seviyeleri tartışmalıdır (182-185). Diğer yandan MrgD reseptörünün gen ifadesi sepsiste artmaktadır (9). Bu reseptör ALA'nın antiaapoptotik, antifibrotik ve antiinflamatuvar etkilerine aracılık etmektedir (107, 110, 186). Bu çalışmadaki bulgular da renal MrgD ve AT₂ reseptör gen ifadelerinin LPS'ye yanıt olarak, bu reseptörün çeşitli hastalık modellerindeki faydalı etkileri göz önüne alındığında koruyucu bir mekanizma olarak arttığı düşüncesini desteklemektedir (110, 172, 178, 186). Bu reseptör gen ifadesi artışı, ALA'nın bağlanması, reseptör aktivasyonu ve sinyal iletimi sebebiyle engelleniyor olabilir. Bu da ALA'nın bu reseptörlere bağlandığının indirekt bir göstergesi olabileceğini göstermektedir. Kan akımlarında ve bazı diğer değerlendirmelerde ALA tedavisinin etkiliyken ALA ön tedavisinin etkisiz olması da LPS ile artan AT₂ ve MrgD reseptörlerine ALA'nın bağlanmasıyla etkinin de artmış olması olabilir. Mas reseptörü gen ifade seviyelerinde diğer iki reseptörün aksine LPS ile değişiklik olmaması, ALA tedavisiyle de bir değişiklik olmamasını da açıklar

niteliktedir. MrgD antagonistinin *in vivo* olarak verilememesi, ALA'nın etkilerinin *in vivo* doğrulanmasını da kısıtlayan bir durum oluşturmıştır.

Farklı vasküler fonksiyonel yanıtların görülmesi üzerine çalışılan ve vasküler inflamasyona ek olarak endotel disfonksiyonu belirteci olan renal pentraksin-3 gen ifadesi seviyelerinde literatürle uyumlu olarak LPS sonrasında artış görüldü (187). ALA ön tedavisi sonrası ise artmış olan bu seviyenin azaldığı, ALA tedavisinin ise aynı etkinlikte bir azalma sağlayamadığı bulundu. Renal parankim içerisinde yer alan arter dallarında (renal arterin birinci dalı ve segmental arter) LPS sonrasında azalan ACh gevşeme yanıtlarının ALA ön tedavisiyle düzelmesi ancak ALA tedavisiyle düzelmemesi de aynı bulguyla uyumlu niteliktedir. Aort ve renal arter içinse benzer bir yorum, renal parankim dışında kalan bu arterlerde pentraksin-3 gen ifadesi seviyeleri çalışılmadığı için mümkün olmamaktadır. Tüm bunlara ek olarak diğer vasküler yanıtlarda, renal fonksiyon çalışmalarında LPS'nin oluşturduğu bozulmalarda pentraksin-3'ün rolü olabileceği söylenebilir. Yine ALA ön tedavisinin pentraksin-3 gen ifadesini düşürmesi, ALA tedavisinin ise LPS'nin yol açtığı artışı önlemesi ALA'nın olumlu etkilerine aracılık ediyor olabilir. Bir başka belirteç olan endokanın plazma seviyelerinin ise LPS sonrası arttığını ve değişmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (188, 189). Bu çalışmada ise LPS sonrasında renal endokan gen ifadesi seviyeleri değişmediği görüldü. ALA'nın endokan seviyeleri üzerindeki etkilerinin ve LPS'nin renal endokan gen ifadesi üzerindeki etkilerinin ilk kez araştırıldığı bu çalışmada hem ALA ön tedavisinin hem de ALA tedavisinin kontrol grubuna göre renal endokan gen ifadesinde azalmaya neden olduğu, ayrıca ALA tedavisinin, LPS'ye göre de azalmaya sebep olduğu görüldü. LPS'de endokan gen ifadesi değişmezken ALA varlığında gen ifadesinin azalması, LPS'nin neden olduğu diğer değişikliklerin ALA'nın etkilerini tetikliyor olmasından kaynaklanabilir. Hem pentraksin-3 hem de endokan gen ifadelerindeki değişimler, ALA'nın daha önce farklı şekillerde gösterilmiş olan anti-inflamatuvar etkilerini de desteklemekle birlikte, ALA'nın endotel disfonksiyonu, oksidatif stres ve inflamasyon üzerindeki etkileri için yeni bir mekanizma da sunmaktadır. Sitokinlere kıyasla daha yeni olan bu moleküllerin sepsisteki rolü ve ALA'nın etkileriyle ilişkisinin farklı yollarla araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Her ne kadar bu çalışmada LPS, sepsis ile ilişkili sistemik ve lokal değişiklikleri göstermek için kullanılmış olsa da; her hastalık modelinin kısıtlılıkları olduğu gibi, LPS bir mikroorganizma değil, endotoksin olması sebebiyle klinik sepsis durumunu birebir yansıtmakta eksik kalmaktadır. Ek olarak TUNEL boyaması ve kaspaz protein seviyelerinin *western blot* ile değerlendirilmesi aracılığıyla ALA'nın antiapoptotik etkilerinin daha etkin bir şekilde gösterilebilecek olması da bu çalışmanın kısıtlılıklarından bir diğeridir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında ALA'nın LPS ile indüklenmiş sıçan sepsis modelinde oluşturduğu renal ve sistemik etkiler değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme genel parametreler; sistemik arterler, izole böbrek damar yatağı ve bu yataktaki farklı izole arter segmentleri içeren fonksiyonel incelemeler; biyokimyasal, histopatolojik ve moleküler incelemelerle yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında hem LPS'nin birçok arter segmentindeki neden olduğu değişiklikler hem de ALA'nın bu değişiklikler üzerine etkisi ilk kez çalışılmıştır. Bu çalışma kapsamında ulaşılan sonuç ve öneriler aşağıdaki gibidir:

- ALA uygulaması, LPS ile oluşan mortalite artışını engellemektedir.
- ALA uygulaması, LPS ile oluşan kilo kaybı ve idrar lökosit düzeylerindeki artışı düzeltmektedir.
- ALA uygulaması, LPS ile birçok farklı arter segmenti ve damar yatağında bozulan vazokonstriktör ve vazodilatör yanıtlar üzerinde, olumlu ve düzeltici etkiler göstermektedir.
- ALA uygulaması, LPS'nin yol açtığı renal ve hepatik histopatolojik hasarı düzeltmektedir.
- ALA uygulaması, LPS artmış serum inflamatuvar sitokin ve kreatinin seviyelerini düşürmektedir.
- ALA uygulaması, LPS ile renal dokuda değişen inflamatuvar sitokinler, apoptoz ve piroptoz belirteçleri, NOS izoenzimleri, endotel disfonksiyon belirteçleri ve reseptör gen ifadeleri üzerindeki olumlu ve düzeltici etkileri ile, sepsis modelinde farklı mekanizmalar üzerinden tedavi edici etkiler göstermektedir.
- Sonraki yapılacak çalışmalarda gen ifadelerine ek olarak protein ifadelerinin de çalışılması, reseptörlerin ve diğer belirteçlerin renal doku haricinde çeşitli arter segmentlerindeki gen ve protein ifadelerinin ayrı ayrı çalışılması faydalı olacaktır. Bununla birlikte tekrarlayan dozlarda alamandin uygulamasının, özellikle sepsisin uzun vadede gösterdiği değişiklikler üzerine olası etkilerinin de incelenmesi ileri çalışmalar için önerilebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada bir sıçan sepsis modelinde gelişen akut böbrek hasarı ve sistemik değişiklikler üzerine, alamandinin farklı mekanizmalar ile düzeltici ve terapötik olarak etkili olduğu gösterilmiştir. Yapılacak olan ileri preklinik ve klinik çalışmalarda alamandin sepsis tedavisinde aday bir molekül olarak değerlendirilebilir.



7. KAYNAKLAR

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-10.
2. 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.
3. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*. 2005;294(7):813-8.
4. Bougle A, Duranteau J. Pathophysiology of sepsis-induced acute kidney injury: the role of global renal blood flow and renal vascular resistance. *Contrib Nephrol*. 2011;174:89-97.
5. Kopp U. Neural control of renin secretion rate. Neural control of renal function Chapter 5: Morgan & Claypool Life Sciences, San Rafael (CA); 2011.
6. Vargas RA, Varela Millan JM, Fajardo Bonilla E. Renin-angiotensin system: Basic and clinical aspects-A general perspective. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2022;69(1):52-62.
7. Lautner RQ, Villela DC, Fraga-Silva RA, Silva N, Verano-Braga T, Costa-Fraga F, et al. Discovery and characterization of alamandine: a novel component of the renin-angiotensin system. *Circ Res*. 2013;112(8):1104-11.
8. Li P, Chen XR, Xu F, Liu C, Li C, Liu H, et al. Alamandine attenuates sepsis-associated cardiac dysfunction via inhibiting MAPKs signaling pathways. *Life Sci*. 2018;206:106-16.
9. Hu W, Gao W, Miao J, Xu Z, Sun L. Alamandine, a derivative of angiotensin-(1-7), alleviates sepsis-associated renal inflammation and apoptosis by inhibiting the PI3K/Ak and MAPK pathways. *Peptides*. 2021;146:170627.
10. Tiru B, DiNino EK, Orenstein A, Mailloux PT, Pesaturo A, Gupta A, et al. The Economic and Humanistic Burden of Severe Sepsis. *Pharmacoeconomics*. 2015;33(9):925-37.
11. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020;395(10219):200-11.
12. Markwart R, Saito H, Harder T, Tomczyk S, Cassini A, Fleischmann-Struzek C, et al. Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2020;46(8):1536-51.
13. 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.
14. Savva A, Roger T. Targeting toll-like receptors: promising therapeutic strategies for the management of sepsis-associated pathology and infectious diseases. *Front Immunol*. 2013;4:387.
15. Denning NL, Aziz M, Gurien SD, Wang P. DAMPs and NETs in Sepsis. *Front Immunol*. 2019;10:2536.

16. Hayden MS, Ghosh S. NF-kappaB in immunobiology. *Cell Res.* 2011;21(2):223-44.
17. Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth.* 1996;77(1):110-7.
18. Strnad P, Tacke F, Koch A, Trautwein C. Liver - guardian, modifier and target of sepsis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(1):55-66.
19. Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Clin Invest.* 2007;117(2):289-96.
20. Banks JG, Foulis AK, Ledingham IM, Macsween RN. Liver function in septic shock. *J Clin Pathol.* 1982;35(11):1249-52.
21. Bagshaw SM, Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: clinical characteristics and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(3):431-9.
22. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ.* 2016;353:i1585.
23. Opal SM, van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *J Intern Med.* 2015;277(3):277-93.
24. De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent JL. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence.* 2014;5(1):73-9.
25. Elbers PW, Ince C. Mechanisms of critical illness--classifying microcirculatory flow abnormalities in distributive shock. *Crit Care.* 2006;10(4):221.
26. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med.* 1999;27(7):1230-51.
27. Boffa JJ, Arendshorst WJ. Maintenance of renal vascular reactivity contributes to acute renal failure during endotoxemic shock. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(1):117-24.
28. Matejovic M, Valesova L, Benes J, Sykora R, Hrstka R, Chvojka J. Molecular differences in susceptibility of the kidney to sepsis-induced kidney injury. *BMC Nephrol.* 2017;18(1):183.
29. Leisman DE, Fernandes TD, Bijol V, Abraham MN, Lehman JR, Taylor MD, et al. Impaired angiotensin II type 1 receptor signaling contributes to sepsis-induced acute kidney injury. *Kidney Int.* 2021;99(1):148-60.
30. Wang P, Chaudry IH. Mechanism of hepatocellular dysfunction during hyperdynamic sepsis. *Am J Physiol.* 1996;270(5 Pt 2):R927-38.
31. Ishikawa K, Calzavacca P, Bellomo R, Bailey M, May CN. Effect of selective inhibition of renal inducible nitric oxide synthase on renal blood flow and function in experimental hyperdynamic sepsis. *Crit Care Med.* 2012;40(8):2368-75.
32. Hauser B, Bracht H, Matejovic M, Radermacher P, Venkatesh B. Nitric oxide synthase inhibition in sepsis? Lessons learned from large-animal studies. *Anesth Analg.* 2005;101(2):488-98.
33. van der Poll T. Preclinical sepsis models. *Surg Infect (Larchmt).* 2012;13(5):287-92.

34. Knapp S, Schultz MJ, van der Poll T. Pneumonia models and innate immunity to respiratory bacterial pathogens. *Shock*. 2005;24 Suppl 1:12-8.
35. Maier S, Traeger T, Entleutner M, Westerholt A, Kleist B, Huser N, et al. Cecal ligation and puncture versus colon ascendens stent peritonitis: two distinct animal models for polymicrobial sepsis. *Shock*. 2004;21(6):505-11.
36. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res*. 1990;49(2):186-96.
37. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P. Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock*. 2008;30 Suppl 1:53-9.
38. Migale R, Herbert BR, Lee YS, Sykes L, Waddington SN, Peebles D, et al. Specific Lipopolysaccharide Serotypes Induce Differential Maternal and Neonatal Inflammatory Responses in a Murine Model of Preterm Labor. *Am J Pathol*. 2015;185(9):2390-401.
39. Ozcelebi E, İSKİT A. Experimental Animal Models of Sepsis and Septic Shock. *Journal of Critical and Intensive Care*. 2023;14(3).
40. Li X, Li Y, Shen K, Li H, Bai J. The protective effect of ticagrelor on renal function in a mouse model of sepsis-induced acute kidney injury. *Platelets*. 2019;30(2):199-205.
41. Tarasova O, Sjoblom-Widfeldt N, Nilsson H. Transmitter characteristics of cutaneous, renal and skeletal muscle small arteries in the rat. *Acta Physiol Scand*. 2003;177(2):157-66.
42. Norvell JE. The aorticorenal ganglion and its role in renal innervation. *J Comp Neurol*. 1968;133(1):101-11.
43. Mompeo B, Maranillo E, Garcia-Touchard A, Larkin T, Sanudo J. The gross anatomy of the renal sympathetic nerves revisited. *Clin Anat*. 2016;29(5):660-4.
44. Barajas L, Liu L, Powers K. Anatomy of the renal innervation: intrarenal aspects and ganglia of origin. *Can J Physiol Pharmacol*. 1992;70(5):735-49.
45. Liu L, Barajas L. The rat renal nerves during development. *Anat Embryol (Berl)*. 1993;188(4):345-61.
46. Apelt K, Bijkerk R, Lebrin F, Rabelink TJ. Imaging the Renal Microcirculation in Cell Therapy. *Cells*. 2021;10(5).
47. Xiong J, Zhao J. Pyroptosis: The Determinator of Cell Death and Fate in Acute Kidney Injury. *Kidney Dis (Basel)*. 2024;10(2):118-31.
48. Winklewski PJ, Radkowski M, Demkow U. Neuroinflammatory mechanisms of hypertension: potential therapeutic implications. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2016;25(5):410-6.
49. van der Poll T, Jansen J, Endert E, Sauerwein HP, van Deventer SJ. Noradrenaline inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor and interleukin 6 production in human whole blood. *Infect Immun*. 1994;62(5):2046-50.
50. Sutton TA, Mang HE, Campos SB, Sandoval RM, Yoder MC, Molitoris BA. Injury of the renal microvascular endothelium alters barrier function after ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003;285(2):F191-8.
51. Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. NO bioavailability, endothelial dysfunction, and acute renal failure: new insights into pathophysiology. *Semin Nephrol*. 2004;24(4):316-23.

52. Padoan R, Gatto M, Ghirardello A, Tonello M, Franco C, Felicetti M, et al. IgG anti-Pentraxin 3 antibodies are a novel biomarker of ANCA-associated vasculitis and better identify patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *J Autoimmun.* 2021;124:102725.
53. Ye X, Wang Z, Lei W, Shen M, Tang J, Xu X, et al. Pentraxin 3: A promising therapeutic target for cardiovascular diseases. *Ageing Res Rev.* 2024;93:102163.
54. Lu J, Marnell LL, Marjon KD, Mold C, Du Clos TW, Sun PD. Structural recognition and functional activation of FcγR by innate pentraxins. *Nature.* 2008;456(7224):989-92.
55. Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:337-66.
56. Rusnati M, Camozzi M, Moroni E, Bottazzi B, Peri G, Indraccolo S, et al. Selective recognition of fibroblast growth factor-2 by the long pentraxin PTX3 inhibits angiogenesis. *Blood.* 2004;104(1):92-9.
57. Carrizzo A, Lenzi P, Procaccini C, Damato A, Biagioni F, Ambrosio M, et al. Pentraxin 3 Induces Vascular Endothelial Dysfunction Through a P-selectin/Matrix Metalloproteinase-1 Pathway. *Circulation.* 2015;131(17):1495-505; discussion 505.
58. dell'Oglio MP, Simone S, Ciccone M, Corciulo R, Gesualdo M, Zito A, et al. Neutrophil-dependent pentraxin-3 and reactive oxygen species production modulate endothelial dysfunction in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2017;32(9):1540-9.
59. Sarrazin S, Adam E, Lyon M, Depontieu F, Motte V, Landolfi C, et al. Endocan or endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1): a potential novel endothelial cell marker and a new target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1765(1):25-37.
60. Lee HG, Choi HY, Bae JS. Endocan as a potential diagnostic or prognostic biomarker for chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014;86(6):1079-81.
61. Kali A, Shetty KS. Endocan: a novel circulating proteoglycan. *Indian J Pharmacol.* 2014;46(6):579-83.
62. Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int.* 2004;66(2):496-9.
63. Manrique-Caballero CL, Del Rio-Pertuz G, Gomez H. Sepsis-Associated Acute Kidney Injury. *Crit Care Clin.* 2021;37(2):279-301.
64. Seely KA, Holthoff JH, Burns ST, Wang Z, Thakali KM, Gokden N, et al. Hemodynamic changes in the kidney in a pediatric rat model of sepsis-induced acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011;301(1):F209-17.
65. Verma SK, Molitoris BA. Renal endothelial injury and microvascular dysfunction in acute kidney injury. *Semin Nephrol.* 2015;35(1):96-107.
66. Dyson A, Bezemer R, Legrand M, Balestra G, Singer M, Ince C. Microvascular and interstitial oxygen tension in the renal cortex and medulla studied in a 4-h rat model of LPS-induced endotoxemia. *Shock.* 2011;36(1):83-9.
67. Post EH, Kellum JA, Bellomo R, Vincent JL. Renal perfusion in sepsis: from macro- to microcirculation. *Kidney Int.* 2017;91(1):45-60.

68. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972;26(4):239-57.
69. Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, Sellins KS. Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol*. 1992;10:267-93.
70. Ayala A, Perl M, Venet F, Lomas-Neira J, Swan R, Chung CS. Apoptosis in sepsis: mechanisms, clinical impact and potential therapeutic targets. *Curr Pharm Des*. 2008;14(19):1853-9.
71. Jacobs R, Honore PM, Joannes-Boyau O, Boer W, De Regt J, De Waele E, et al. Septic acute kidney injury: the culprit is inflammatory apoptosis rather than ischemic necrosis. *Blood Purif*. 2011;32(4):262-5.
72. Friedlander AM. Macrophages are sensitive to anthrax lethal toxin through an acid-dependent process. *J Biol Chem*. 1986;261(16):7123-6.
73. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*. 2015;21(7):677-87.
74. Xia W, Li Y, Wu M, Jin Q, Wang Q, Li S, et al. Gasdermin E deficiency attenuates acute kidney injury by inhibiting pyroptosis and inflammation. *Cell Death Dis*. 2021;12(2):139.
75. Verdecchia P, Angeli F, Mazzotta G, Gentile G, Reboldi G. The renin angiotensin system in the development of cardiovascular disease: role of aliskiren in risk reduction. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(5):971-81.
76. Davis GK, Roberts DH. Molecular genetics of the renin-angiotensin system: implications for angiotensin II receptor blockade. *Pharmacol Ther*. 1997;75(1):43-50.
77. Balla T, Baukal AJ, Eng S, Catt KJ. Angiotensin II receptor subtypes and biological responses in the adrenal cortex and medulla. *Mol Pharmacol*. 1991;40(3):401-6.
78. Sakai RR, Ma LY, He PF, Fluharty SJ. Intracerebroventricular administration of angiotensin type 1 (AT1) receptor antisense oligonucleotides attenuate thirst in the rat. *Regul Pept*. 1995;59(2):183-92.
79. Berk BC, Corson MA. Angiotensin II signal transduction in vascular smooth muscle: role of tyrosine kinases. *Circ Res*. 1997;80(5):607-16.
80. Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, Coffman TM, Kawai T, Rizzo V, et al. Angiotensin II Signal Transduction: An Update on Mechanisms of Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev*. 2018;98(3):1627-738.
81. Phipps JA, Dixon MA, Jobling AI, Wang AY, Greferath U, Vessey KA, et al. The renin-angiotensin system and the retinal neurovascular unit: A role in vascular regulation and disease. *Exp Eye Res*. 2019;187:107753.
82. Kobori H, Nangaku M, Navar LG, Nishiyama A. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. *Pharmacol Rev*. 2007;59(3):251-87.
83. Sansoe G, Aragno M, Wong F. Pathways of hepatic and renal damage through non-classical activation of the renin-angiotensin system in chronic liver disease. *Liver Int*. 2020;40(1):18-31.

84. Chappell MC. Emerging evidence for a functional angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin-(1-7)-MAS receptor axis: more than regulation of blood pressure? *Hypertension*. 2007;50(4):596-9.
85. Bader M, Steckelings UM, Alenina N, Santos RAS, Ferrario CM. Alternative Renin-Angiotensin System. *Hypertension*. 2024;81(5):964-76.
86. Chen H, Peng J, Wang T, Wen J, Chen S, Huang Y, et al. Counter-regulatory renin-angiotensin system in hypertension: Review and update in the era of COVID-19 pandemic. *Biochem Pharmacol*. 2023;208:115370.
87. Zylka MJ, Dong X, Southwell AL, Anderson DJ. Atypical expansion in mice of the sensory neuron-specific Mrg G protein-coupled receptor family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(17):10043-8.
88. Parmentier M, Libert F, Maenhaut C, Lefort A, Gerard C, Perret J, et al. Molecular cloning of the thyrotropin receptor. *Science*. 1989;246(4937):1620-2.
89. Liu Q, Sikand P, Ma C, Tang Z, Han L, Li Z, et al. Mechanisms of itch evoked by beta-alanine. *J Neurosci*. 2012;32(42):14532-7.
90. Milasta S, Pediani J, Appelbe S, Trim S, Wyatt M, Cox P, et al. Interactions between the Mas-related receptors MrgD and MrgE alter signalling and trafficking of MrgD. *Mol Pharmacol*. 2006;69(2):479-91.
91. Tetzner A, Gebolys K, Meinert C, Klein S, Uhlich A, Trebicka J, et al. G-Protein-Coupled Receptor MrgD Is a Receptor for Angiotensin-(1-7) Involving Adenylyl Cyclase, cAMP, and Phosphokinase A. *Hypertension*. 2016;68(1):185-94.
92. Qaradakhli T, Matsoukas MT, Hayes A, Rybalka E, Caprnda M, Rimarova K, et al. Alamandine reverses hyperhomocysteinemia-induced vascular dysfunction via PKA-dependent mechanisms. *Cardiovasc Ther*. 2017;35(6).
93. Schleifenbaum J. Alamandine and Its Receptor MrgD Pair Up to Join the Protective Arm of the Renin-Angiotensin System. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:107.
94. Habiakare B, Alsaadon H, Mathai ML, Hayes A, Zulli A. Reduction of angiotensin A and alamandine vasoactivity in the rabbit model of atherogenesis: differential effects of alamandine and Ang(1-7). *Int J Exp Pathol*. 2014;95(4):290-5.
95. Soltani Hekmat A, Javanmardi K, Kouhpayeh A, Baharamali E, Farjam M. Differences in Cardiovascular Responses to Alamandine in Two-Kidney, One Clip Hypertensive and Normotensive Rats. *Circ J*. 2017;81(3):405-12.
96. Liu C, Yang CX, Chen XR, Liu BX, Li Y, Wang XZ, et al. Alamandine attenuates hypertension and cardiac hypertrophy in hypertensive rats. *Amino Acids*. 2018;50(8):1071-81.
97. de Souza-Neto FP, Silva MME, Santuchi MC, de Alcantara-Leonidio TC, Motta-Santos D, Oliveira AC, et al. Alamandine attenuates arterial remodelling induced by transverse aortic constriction in mice. *Clin Sci (Lond)*. 2019;133(5):629-43.
98. Silva MM, de Souza-Neto FP, Jesus ICG, Goncalves GK, Santuchi MC, Sanches BL, et al. Alamandine improves cardiac remodeling induced by transverse aortic constriction in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2021;320(1):H352-H63.
99. Park BM, Phuong HTA, Yu L, Kim SH. Alamandine Protects the Heart Against Reperfusion Injury via the MrgD Receptor. *Circ J*. 2018;82(10):2584-93.

100. Song XD, Feng JP, Yang RX. Alamandine protects rat from myocardial ischemia-reperfusion injury by activating JNK and inhibiting NF-kappaB. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019;23(15):6718-26.
101. Hekmat AS, Zare N, Moravej A, Meshkibaf MH, Javanmardi K. Effect of Prolonged Infusion of Alamandine on Cardiovascular Parameters and Cardiac ACE2 Expression in a Rat Model of Renovascular Hypertension. *Biol Pharm Bull*. 2019;42(6):960-7.
102. Jesus ICG, Scalzo S, Alves F, Marques K, Rocha-Resende C, Bader M, et al. Alamandine acts via MrgD to induce AMPK/NO activation against ANG II hypertrophy in cardiomyocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2018;314(6):C702-C11.
103. Hekmat AS, Navabi Z, Alipanah H, Javanmardi K. Alamandine significantly reduces doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2021;9603271211010896.
104. Michalatou M, Androutsou ME, Antonopoulos M, Vlahakos DV, Agelis G, Zulli A, et al. Transdermal Delivery of AT1 Receptor Antagonists Reduce Blood Pressure and Reveal a Vasodilatory Effect on Kidney Blood Vessels. *Curr Mol Pharmacol*. 2018;11(3):226-36.
105. Soltani Hekmat A, Chenari A, Alipanah H, Javanmardi K. Protective effect of alamandine on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2021;22(1):31.
106. Zhu J, Qiu JG, Xu WT, Ma HX, Jiang K. Alamandine protects against renal ischaemia-reperfusion injury in rats via inhibiting oxidative stress. *J Pharm Pharmacol*. 2021.
107. Gong J, Luo M, Yong Y, Zhong S, Li P. Alamandine alleviates hypertension and renal damage via oxidative-stress attenuation in Dahl rats. *Cell Death Discov*. 2022;8(1):22.
108. Da Silva AR, Lenglet S, Carbone F, Burger F, Roth A, Liberale L, et al. Alamandine abrogates neutrophil degranulation in atherosclerotic mice. *Eur J Clin Invest*. 2017;47(2):117-28.
109. Uchiyama T, Okajima F, Mogi C, Tobo A, Tomono S, Sato K. Alamandine reduces leptin expression through the c-Src/p38 MAP kinase pathway in adipose tissue. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178769.
110. Tanriverdi LH, Ozhan O, Ulu A, Yildiz A, Ates B, Vardi N, et al. Activation of the Mas receptors by AVE0991 and MrgD receptor using alamandine to limit the deleterious effects of Ang II-induced hypertension. *Fundam Clin Pharmacol*. 2023;37(1):60-74.
111. Steckelings UM, Widdop RE, Sturrock ED, Lubbe L, Hussain T, Kaschina E, et al. The Angiotensin AT(2) Receptor: From a Binding Site to a Novel Therapeutic Target. *Pharmacol Rev*. 2022;74(4):1051-135.
112. Peluso AA, Souza-Silva IM, Villela DC, Hansen PBL, Hallberg A, Bader M, et al. Functional assay for assessment of agonistic or antagonistic activity of angiotensin AT(2) receptor ligands reveals that EMA401 and PD123319 have agonistic properties. *Biochem Pharmacol*. 2023;216:115793.
113. Young D, Waitches G, Birchmeier C, Fasano O, Wigler M. Isolation and characterization of a new cellular oncogene encoding a protein with multiple potential transmembrane domains. *Cell*. 1986;45(5):711-9.
114. Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DM, Machado RP, de Buhr I, et al. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(14):8258-63.

115. Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, Motta-Santos D, Alenina N, Bader M, et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1-7). *Physiol Rev*. 2018;98(1):505-53.
116. Bader M, Alenina N, Young D, Santos RAS, Touyz RM. The Meaning of Mas. *Hypertension*. 2018;72(5):1072-5.
117. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007;39(2):175-91.
118. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(9):e45.
119. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8.
120. Iskit AB, Guc MO. The timing of endothelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock. *Eur J Pharmacol*. 2001;414(2-3):281-7.
121. Wynn JL, Wilson CS, Hawiger J, Scumpia PO, Marshall AF, Liu JH, et al. Targeting IL-17A attenuates neonatal sepsis mortality induced by IL-18. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(19):E2627-35.
122. Zhang R, Hess DT, Reynolds JD, Stamler JS. Hemoglobin S-nitrosylation plays an essential role in cardioprotection. *J Clin Invest*. 2016;126(12):4654-8.
123. Poltorak A, Smirnova I, He X, Liu MY, Van Huffel C, McNally O, et al. Genetic and physical mapping of the Lps locus: identification of the toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region. *Blood Cells Mol Dis*. 1998;24(3):340-55.
124. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol*. 2018;233(9):6425-40.
125. Xu H, Wang Y, Garver H, Galligan JJ, Fink GD. Vascular BK channel deficiency exacerbates organ damage and mortality in endotoxemic mice. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2012;59(3):207-14.
126. Tseng TL, Chen MF, Liu CH, Pang CY, Hsu YH, Lee TJ. Induction of endothelium-dependent constriction of mesenteric arteries in endotoxemic hypotensive shock. *Br J Pharmacol*. 2016;173(7):1179-95.
127. Tiwari MM, Brock RW, Megyesi JK, Kaushal GP, Mayeux PR. Disruption of renal peritubular blood flow in lipopolysaccharide-induced renal failure: role of nitric oxide and caspases. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289(6):F1324-32.
128. Krejci V, Hildebrand L, Banic A, Erni D, Wheatley AM, Sigurdsson GH. Continuous measurements of microcirculatory blood flow in gastrointestinal organs during acute haemorrhage. *Br J Anaesth*. 2000;84(4):468-75.
129. Sakr Y, Dubois MJ, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. *Crit Care Med*. 2004;32(9):1825-31.
130. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascon GA, et al. The Endothelium in Sepsis. *Shock*. 2016;45(3):259-70.

131. Mathewson AM, Wadsworth RM. Induction of iNOS restricts functional activity of both eNOS and nNOS in pig cerebral artery. *Nitric Oxide*. 2004;11(4):331-9.
132. Kessler P, Bauersachs J, Busse R, Schini-Kerth VB. Inhibition of inducible nitric oxide synthase restores endothelium-dependent relaxations in proinflammatory mediator-induced blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(9):1746-55.
133. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*. 2007;35(4):495-516.
134. Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun*. 2005;73(4):1907-16.
135. Hersh D, Monack DM, Smith MR, Ghori N, Falkow S, Zychlinsky A. The Salmonella invasin SipB induces macrophage apoptosis by binding to caspase-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(5):2396-401.
136. Huang G, Bao J, Shao X, Zhou W, Wu B, Ni Z, et al. Inhibiting pannexin-1 alleviates sepsis-induced acute kidney injury via decreasing NLRP3 inflammasome activation and cell apoptosis. *Life Sci*. 2020;254:117791.
137. Sun J, Ge X, Wang Y, Niu L, Tang L, Pan S. USF2 knockdown downregulates THBS1 to inhibit the TGF-beta signaling pathway and reduce pyroptosis in sepsis-induced acute kidney injury. *Pharmacol Res*. 2022;176:105962.
138. Piepot HA, Boer C, Groeneveld AB, Van Lambalgen AA, Sipkema P. Lipopolysaccharide impairs endothelial nitric oxide synthesis in rat renal arteries. *Kidney Int*. 2000;57(6):2502-10.
139. Merkel SM, Kamoun W, Karaa A, Korneszczyk K, Schrum LW, Clemens MG. LPS inhibits endothelin-1-mediated eNOS translocation to the cell membrane in sinusoidal endothelial cells. *Microcirculation*. 2005;12(5):433-42.
140. Shimokawa T, Yoneda K, Yamagata M, Hayashi K, Tomita S. Yohimbine ameliorates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in rats. *Eur J Pharmacol*. 2020;871:172917.
141. Persson PB. Renal blood flow autoregulation in blood pressure control. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2002;11(1):67-72.
142. Krysztopik RJ, Matheson PJ, Spain DA, Garrison RN, Wilson MA. Lazaroid and pentoxifylline suppress sepsis-induced increases in renal vascular resistance via altered arachidonic acid metabolism. *J Surg Res*. 2000;93(1):75-81.
143. Langenberg C, Bellomo R, May CN, Egi M, Wan L, Morgera S. Renal vascular resistance in sepsis. *Nephron Physiol*. 2006;104(1):p1-11.
144. Chuaiphichai S, Starr A, Nandi M, Channon KM, McNeill E. Endothelial cell tetrahydrobiopterin deficiency attenuates LPS-induced vascular dysfunction and hypotension. *Vascul Pharmacol*. 2016;77:69-79.
145. Hall E, Brookes ZL. Angiotensin-1 increases arteriolar vasoconstriction to phenylephrine during sepsis. *Regul Pept*. 2005;131(1-3):34-7.
146. Ozturk OH, Cetin A, Ozdem SS, Uysal N, Kayisli UA, Senturk UK, et al. Plasma levels of nitrites, PGF1alpha, and nitrotyrosine in LPS-treated rats: functional and histochemical implications in aorta. *J Physiol Biochem*. 2006;62(1):27-34.

147. Ugurel SS, Kuscü N, Ozenci CC, Dalaklioglu S, Tasatargil A. Resveratrol Prevented Lipopolysaccharide-Induced Endothelial Dysfunction in Rat Thoracic Aorta Through Increased eNOS Expression. *Balkan Med J.* 2016;33(2):138-43.
148. Carcillo JA, Litten RZ, Suba EA, Roth BL. Alterations in rat aortic alpha 1-adrenoceptors and alpha 1-adrenergic stimulated phosphoinositide hydrolysis in intraperitoneal sepsis. *Circ Shock.* 1988;26(3):331-9.
149. Kandasamy K, Choudhury S, Singh V, Addison MP, Darzi SA, Kasa JK, et al. Erythropoietin Reverses Sepsis-Induced Vasoplegia to Norepinephrine Through Preservation of alpha1D-Adrenoceptor mRNA Expression and Inhibition of GRK2-Mediated Desensitization in Mouse Aorta. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2016;21(1):100-13.
150. Martinez MC, Muller B, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Alteration by lipopolysaccharide of the relationship between intracellular calcium levels and contraction in rat mesenteric artery. *Br J Pharmacol.* 1996;118(5):1218-22.
151. Morgaan HA, Sallam MY, El-Gowelli HM, El-Gowilly SM, El-Mas MM. The renin-angiotensin system modulates endotoxic postconditioning of exacerbated renal vasoconstriction in preeclamptic offspring. *Sci Rep.* 2023;13(1):881.
152. Li T, Croce K, Winkquist RJ. Regional differences in the effects of septic shock on vascular reactivity in the rabbit. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;261(3):959-63.
153. Zhou Y, Dirksen WP, Babu GJ, Periasamy M. Differential vasoconstrictions induced by angiotensin II: role of AT1 and AT2 receptors in isolated C57BL/6J mouse blood vessels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(6):H2797-803.
154. Dinh QN, Drummond GR, Kemp-Harper BK, Diep H, De Silva TM, Kim HA, et al. Pressor response to angiotensin II is enhanced in aged mice and associated with inflammation, vasoconstriction and oxidative stress. *Aging (Albany NY).* 2017;9(6):1595-606.
155. Vicaute E, Rasetti C, Baudry N. Effects of tumor necrosis factor and interleukin-1 on the constriction induced by angiotensin II in rat aorta. *J Appl Physiol (1985).* 1996;80(6):1891-7.
156. Peters TS, Lewis SJ. Lipopolysaccharide inhibits acetylcholine- and nitric oxide-mediated vasodilation in vivo. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996;279(2):918-25.
157. Suda K, Eom J, Jaw JE, Mui T, Bai N, Or C, et al. Endotoxin-induced cardiovascular dysfunction in mice: effect of simvastatin. *J Appl Physiol (1985).* 2011;111(4):1118-24.
158. Saito T, Yamamoto Y, Feng GG, Kazaoka Y, Fujiwara Y, Kinoshita H. Lidocaine Prevents Oxidative Stress-Induced Endothelial Dysfunction of the Systemic Artery in Rats With Intermittent Periodontal Inflammation. *Anesth Analg.* 2017;124(6):2054-62.
159. Corbacho AM, Eiserich JP, Zuniga LA, Valacchi G, Villablanca AC. Compromised aortic vasoreactivity in male estrogen receptor-alpha-deficient mice during acute lipopolysaccharide-induced inflammation. *Endocrinology.* 2007;148(3):1403-11.
160. Kagota S, Yamaguchi Y, Nakamura K, Shinozuka K, Kunitomo M. Sustaining excessive nitric oxide upregulates protein expression of nitric oxide synthase via soluble guanylyl cyclase: an in vivo study in rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2004;44(1):42-9.

161. Waller J, Gardiner SM, Bennett T. Regional haemodynamic responses to acetylcholine, methoxamine, salbutamol and bradykinin during lipopolysaccharide infusion in conscious rats. *Br J Pharmacol*. 1994;112(4):1057-64.
162. Papapetropoulos A, Abou-Mohamed G, Marczin N, Murad F, Caldwell RW, Catravas JD. Downregulation of nitrovasodilator-induced cyclic GMP accumulation in cells exposed to endotoxin or interleukin-1 beta. *Br J Pharmacol*. 1996;118(6):1359-66.
163. Strunk V, Hahnenkamp K, Schneuing M, Fischer LG, Rich GF. Selective iNOS inhibition prevents hypotension in septic rats while preserving endothelium-dependent vasodilation. *Anesth Analg*. 2001;92(3):681-7.
164. El-Awady MS, Smirnov SV, Watson ML. Desensitization of the soluble guanylyl cyclase/cGMP pathway by lipopolysaccharide in rat isolated pulmonary artery but not aorta. *Br J Pharmacol*. 2008;155(8):1164-73.
165. Wang Y, Bukoski RD. Distribution of the perivascular nerve Ca²⁺ receptor in rat arteries. *Br J Pharmacol*. 1998;125(7):1397-404.
166. Kashiwagi M, Shinozaki M, Hirakata H, Tamaki K, Hirano T, Tokumoto M, et al. Locally activated renin-angiotensin system associated with TGF-beta1 as a major factor for renal injury induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase in rats. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11(4):616-24.
167. Soares ER, Barbosa CM, Campagnole-Santos MJ, Santos RAS, Alzamora AC. Hypotensive effect induced by microinjection of Alamandine, a derivative of angiotensin-(1-7), into caudal ventrolateral medulla of 2K1C hypertensive rats. *Peptides*. 2017;96:67-75.
168. Shen YH, Chen XR, Yang CX, Liu BX, Li P. Alamandine injected into the paraventricular nucleus increases blood pressure and sympathetic activation in spontaneously hypertensive rats. *Peptides*. 2018;103:98-102.
169. Tetzner A, Naughton M, Gebolys K, Eichhorst J, Sala E, Villacanas O, et al. Decarboxylation of Ang-(1-7) to Ala(1)-Ang-(1-7) leads to significant changes in pharmacodynamics. *Eur J Pharmacol*. 2018;833:116-23.
170. Almeida-Santos AF, de Melo LA, Goncalves SCA, Oliveira Amaral LB, Santos RAS, Campagnole-Santos MJ, et al. Alamandine through MrgD receptor induces antidepressant-like effect in transgenic rats with low brain angiotensinogen. *Horm Behav*. 2021;127:104880.
171. Schwobel J, Fischer T, Lanz B, Mohaupt M. Angiotensin II receptor subtypes determine induced NO production in rat glomerular mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;279(6):F1092-100.
172. Dhande I, Ma W, Hussain T. Angiotensin AT2 receptor stimulation is anti-inflammatory in lipopolysaccharide-activated THP-1 macrophages via increased interleukin-10 production. *Hypertens Res*. 2015;38(1):21-9.
173. Isaksson R, Casselbrant A, Elebring E, Hallberg M, Larhed M, Fandriks L. Direct stimulation of angiotensin II type 2 receptor reduces nitric oxide production in lipopolysaccharide treated mouse macrophages. *Eur J Pharmacol*. 2020;868:172855.
174. Fatima N, Patel S, Hussain T. Angiotensin AT2 Receptor is Anti-inflammatory and Reno-Protective in Lipopolysaccharide Mice Model: Role of IL-10. *Front Pharmacol*. 2021;12:600163.

175. Jatta K, Wagsater D, Norgren L, Stenberg B, Sirsjo A. Lipopolysaccharide-induced cytokine and chemokine expression in human carotid lesions. *J Vasc Res.* 2005;42(3):266-71.
176. Pengal RA, Ganesan LP, Wei G, Fang H, Ostrowski MC, Tridandapani S. Lipopolysaccharide-induced production of interleukin-10 is promoted by the serine/threonine kinase Akt. *Mol Immunol.* 2006;43(10):1557-64.
177. Zager RA, Johnson AC, Lund S. 'Endotoxin tolerance': TNF-alpha hyper-reactivity and tubular cytoresistance in a renal cholesterol loading state. *Kidney Int.* 2007;71(6):496-503.
178. Chen Q, Yang Y, Huang Y, Pan C, Liu L, Qiu H. Angiotensin-(1-7) attenuates lung fibrosis by way of Mas receptor in acute lung injury. *J Surg Res.* 2013;185(2):740-7.
179. Ma X, Xu D, Ai Y, Zhao S, Zhang L, Ming G, et al. Angiotensin-(1-7)/Mas Signaling Inhibits Lipopolysaccharide-Induced ADAM17 Shedding Activity and Apoptosis in Alveolar Epithelial Cells. *Pharmacology.* 2016;97(1-2):63-71.
180. Jiang M, Huang W, Wang Z, Ren F, Luo L, Zhou J, et al. Anti-inflammatory effects of Ang-(1-7) via TLR4-mediated inhibition of the JNK/FoxO1 pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. *Dev Comp Immunol.* 2019;92:291-8.
181. Huang W, Cao Y, Liu Y, Ping F, Shang J, Zhang Z, et al. Activating Mas receptor protects human pulmonary microvascular endothelial cells against LPS-induced apoptosis via the NF-kB p65/P53 feedback pathways. *J Cell Physiol.* 2019;234(8):12865-75.
182. Souza LL, Costa-Neto CM. Angiotensin-(1-7) decreases LPS-induced inflammatory response in macrophages. *J Cell Physiol.* 2012;227(5):2117-22.
183. Cao Y, Liu Y, Shang J, Yuan Z, Ping F, Yao S, et al. Ang-(1-7) treatment attenuates lipopolysaccharide-induced early pulmonary fibrosis. *Lab Invest.* 2019;99(12):1770-83.
184. Nath KA, Singh RD, Grande JP, Garovic VD, Croatt AJ, Ackerman AW, et al. Expression of ACE2 in the Intact and Acutely Injured Kidney. *Kidney360.* 2021;2(7):1095-106.
185. Xu H, An X, Tian J, Fu M, Wang Q, Li C, et al. Angiotensin-(1-7) protects against sepsis-associated left ventricular dysfunction induced by lipopolysaccharide. *Peptides.* 2021;144:170612.
186. Zhao K, Xu T, Mao Y, Wu X, Hua D, Sheng Y, et al. Alamandine alleviated heart failure and fibrosis in myocardial infarction mice. *Biol Direct.* 2022;17(1):25.
187. Leira Y, Iglesias-Rey R, Gomez-Lado N, Aguiar P, Sobrino T, D'Aiuto F, et al. Periodontitis and vascular inflammatory biomarkers: an experimental in vivo study in rats. *Odontology.* 2020;108(2):202-12.
188. Alkharfy KM, Ahmad A, Jan BL, Raish M. Thymoquinone reduces mortality and suppresses early acute inflammatory markers of sepsis in a mouse model. *Biomed Pharmacother.* 2018;98:801-5.
189. Suraj J, Kurpinska A, Sternak M, Smolik M, Niedzielska-Andres E, Zakrzewska A, et al. Quantitative measurement of selected protein biomarkers of endothelial dysfunction in plasma by micro-liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on stable isotope dilution method. *Talanta.* 2019;194:1005-16.

8. EKLER

EK-1: Etik Kurul İzin Belgesi



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575 - 153

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 28.12.2021 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2021/10
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2021/80
KARAR NUMARASI	: 2021/10- 08
ONAY BİTİŞ TARİHİ	: 28.12.2026
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Doç. Dr. Güray SOYDAN
HAYVAN DENEYLERİNDE	: Habibullah Saltuk SONGÜR (Doktora Tezi), Doç.
GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR	: Dr. Güray SOYDAN, Dr. Sinan Alperen KAYA, Dr. Yaşar Can ALTINIŞIK
DİĞER YARDIMCI	:
ARAŞTIRMACILAR	:
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve	: 104 Adet Sprague Dawley Sıçan (10-12 Haftalık),
SAYISI	: 44 Adet BALB/C Fare (8-10 Haftalık)

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Güray SOYDAN'ın araştırma yürütücüsü olduğu 2021/80 kayıt numaralı "*Alamandinin Lipopolisakkarit ile İndüklenmiş Sıçan Sepsis Modelinde Fizyolojik ve Renal Fonksiyonlara Etkisi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir. Kurul üyesi Doç. Dr. Güray SOYDAN çıkar çatışması nedeniyle tartışma ve oylamaya katılmamıştır.

Araştırma yürütücüsü en geç, onay bitiş tarihinden sonraki 1 ay içerisinde proje sonuç raporunu Kurulumuza teslim etmekle yükümlüdür.

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Etik Kurul Başkanı

EK-2: Etik Kurul Değişiklik Onayı

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
 Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575 - 72

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 24.05.2022 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2022/05
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2021/80 (ONAY TARİHİ: 28.12.2021)
KARAR NUMARASI	: 2022/05- 09
ONAY BİTİŞ TARİHİ	: 28.12.2026
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Doç. Dr. Güray SOYDAN
HAYVAN DENEYLERİNDE	: Habibullah Saltuk SONGÜR (Doktora Tezi), Doç.
GÖREVLİ ARAŞTIRMACILAR	: Dr. Güray SOYDAN, Dr. Sinan Alperen KAYA, Dr. Yaşar Can ALTINIŞIK
DİĞER YARDIMCI	: Doç. Dr. Füsün ÖZMEN, Doç. Dr. Kemal
ARAŞTIRMACILAR	: KÖSEMEHMETOĞLU
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve	: <i>104 Adet Sprague Dawley Sıçan (10-12 Haftalık),</i>
SAYISI	: <i>44 Adet BALB/C Fare (8-10 Haftalık)</i>

Kurulumuzun 28.12.2021 tarihli toplantısında 2021/80 dosya kayıt numarasıyla onaylanmış olan Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Güray SOYDAN'ın araştırma yürütücüsü olduğu "*Alamandinin Lipopolisakkarit ile İndüklenmiş Sıçan Sepsis Modelinde Fizyolojik ve Renal Fonksiyonlara Etkisi*" isimli proje için verilen 09.05.2022 tarihli araştırmacı revizyonu ve protokol revizyonu konulu dilekçe Kurulumuzun 24.05.2022 tarihli toplantısında görüşülmüş ve uygun bulunmuştur. Proje ekibine Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Füsün ÖZMEN ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Kemal KÖSEMEHMETOĞLU yardımcı araştırmacı olarak dahil edilmiş ve kayıtlarımıza eklenmiştir. Kurul Üyesi Doç. Dr. Güray SOYDAN çıkar çatışması nedeniyle tartışma ve oylamaya katılmamıştır.

Araştırma yürütücüsü en geç, onay bitiş tarihinden sonraki 1 ay içerisinde proje sonuç raporunu Kurulumuza teslim etmekle yükümlüdür.

Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Etik Kurul Başkanı

EK-3: Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

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

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Habibullah Saltuk Songür
 Ödev başlığı: ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN ...
 Gönderi Başlığı: ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN ...
 Dosya adı: Tez_H._Saltuk_Songür_Yüklenecek.pdf
 Dosya boyutu: 2.23M
 Sayfa sayısı: 101
 Kelime sayısı: 19,026
 Karakter sayısı: 114,836
 Gönderim Tarihi: 12-Tem-2024 11:34ÖÖ (UTC+0300)
 Gönderim Numarası: 2415627387

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN SEPSİS
MODELİNDE VASKÜLER VE RENAL FONKSİYONLARA ETKESİ

Dr. Habibullah Saltuk SONGÜR

Tıbbi Farmakoloji Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA
2024

EK-4: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

TEZİN TAM BAŞLIĞI: ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN SEPSİS MODELİNDE VASKÜLER VE RENAL FONKSİYONLARA ETKİSİ

ÖĞRENCİNİN ADI SOYADI: Habibullah Saltuk Songür

DOSYANIN TOPLAM SAYFA SAYISI: 101

ALAMANDİNİN LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN SEPSİS MODELİNDE VASKÜLER VE RENAL FONKSİYONLARA ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 13	% 11	% 10	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	openaccess.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	% 2
2	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% 2
3	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	H. Saltuk Songür, Sinan Alperen Kaya, Yaşar Can Altınışik, Rukiye Abanoz et al. "Alamandine treatment prevents LPS-induced acute renal and systemic dysfunction with multi-organ injury in rats via inhibiting iNOS expression", European Journal of Pharmacology, 2023 Yayın	% 1
5	openaccess.firat.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	openaccess.ogu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Habibullah Saltuk SONGÜR

