



**HIZLI ETKİLİ PDE-5 ENZİM İNHİBİTÖRÜ
AVANAFİLİN SIÇANLARDA ÇEKUM BAĞLAMA VE
DELME İLE İNDÜKLENEN SEPSİS MODELİNDE
AKCİĞER HASARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Rabia Nilüfer ERSOYOĞLU
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erol AKPINAR

Doktora Tezi-2022

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HIZLI ETKİLİ PDE-5 ENZİM İNHİBİTÖRÜ AVANAFİLİN
SIÇANLARDA ÇEKUM BAĞLAMA VE DELME İLE
İNDÜKLENEN SEPSİS MODELİNDE AKCİĞER HASARI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Rabia Nilüfer ERSOYOĞLU

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erol AKPINAR**

**ERZURUM
2022**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET.....	VI
ABSTRACT	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Sepsis.....	5
2.1.1. Sepsisin Tarihçesi.....	5
2.1.2. Sepsisin Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi.....	8
2.1.3. Konakçının Mikrobiyolojik Etkenleri Tanınması	9
2.1.3.1. Akut Faz Yanıtı	12
2.1.3.2. Koagülasyon Yolağı ve Kompleman Sistemi	13
2.1.3.3. Sepsiste Radikal Oluşumu ve İnflamatuvar Medyatörler	15
2.1.3.4. Sepsiste İmmunosupresyon	18
2.1.3.5. Organ Yetmezliği Gelişimi	19
2.2. Sepsisin Tedavisi.....	20
2.2.1. Sepsisin Deneysel Modelleri	21
2.2.1.1. Lipopolisakkarid Verilerek Oluşturulan Septik Şok Modelleri	23
2.2.1.2 Çekum Bağlama ve Delme Modeli	23
2.2.1.3. İntravenöz ve İntraperitonel Canlı Bakteri Uygulanması.....	24
2.2.1.4. Sepsis ve Akciğer Hasarı.....	24

2.3. Hücre içi sinyal yolları	24
2.3.1. Fosfodiesteraz sistemi	25
2.3.2. Fosfodiesteraz Sistemi ve İmmün Yanıt	27
2.4. Avanafil ve kullanım alanları	28
3. MATERYAL VE METOT	31
3.1. Materyal	31
3.1.1. Kimyasal Malzemeler ve Kitler	31
3.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	32
3.1.3. Deney Protokolü ve Süreçleri	32
3.2. Metot	33
3.2.1. Çekal Ligasyon ve Ponksiyon Tekniği	33
3.3. Dokularda Biyokimyasal Analizler	33
3.3.1. Akciğer Dokularına Ait SOD Aktivitesi Ölçümü	34
3.3.2. Akciğer Dokularına Ait GSH Düzeyi	35
3.3.3 Akciğer Dokularına Ait MDA Düzeyi	36
3.3.4 Akciğer Dokularına Ait TNF- α Düzeyi	37
3.3.5. Akciğer Dokularına Ait IL-1 β Düzeyi	38
3.3.6. Akciğer Dokularına Ait IL-6 Düzeyi	39
3.3.7. Akciğer Dokularına Ait PDE-5 Düzeyi	40
3.4. Serumda Biyokimyasal Analizler	41
3.4.1. Serum TNF- α Düzeylerinin Ölçümü	41
3.4.2. Serum IL-1 β Düzeylerinin Ölçümü	42
3.4.3. Serum IL-6 Düzeylerinin Ölçümü	44
3.4.4. Serum PDE-5 Düzeylerinin Ölçümü	45
3.5. Histolojik Analizler	46

3.6. İmmunohistokimyasal inceleme.....	46
3.7. İstatiksel Analizler.....	46
4. BULGULAR	48
4.1. Akciğer Dokusuna Ait Antioksidan Sonuçları.....	48
4.1.1. Akciğer Dokusuna Ait SOD Enzim Aktiviteleri.....	48
4.1.2. Akciğer Dokusuna Ait Total Glutasyon Düzeyleri	48
4.1.3. Akciğer Dokusuna Ait Malondialdehit Düzeyleri	49
4.2. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait TNF- α , IL-1 β , ve IL-6 Seviyeleri	51
4.2.1. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait TNF- α Seviyeleri	51
4.2.2. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait IL-1 β Seviyeleri	52
4.2.3. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait IL-6 Seviyeleri	54
4.3. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait PDE-5 Seviyeleri.....	56
4.4. Histopatolojik Bulgular	58
4.5. İmmunhistokimyasal Bulgular	60
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR.....	71
EKLER.....	98
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	98
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	99
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	100

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile her zaman yanımda olan danışmanım Sayın Prof. Dr. Erol AKPINAR'a şükranlarımı sunuyorum.

Bilgi birikimi ile bana her zaman yol gösteren Prof. Dr. Zekai HALICI'ya çok teşekkür ediyorum. Doktora sürecinde her çıkmaza girdiğimde bana moral ve motivasyon desteği veren ve bir tek cümlesi ile beni aydınlatan Prof. Dr. Elif ÇADIRCI'ya ne kadar teşekkür etsem az kalır. Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'na ve Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK'a ve Doç. Dr. Şaziye Sezin YÜCELİK'e müteşekkirim. Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda görevli Doç. Dr. Serkan YILDIRIM'a katkılarından dolayı teşekkürlerimi iletiyorum. Bu çalışmayı 2019/7397 proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne çok teşekkürler.

Doktorayı bırakmayı düşünürken beni motive eden, benimle bilgi ve deneyimlerini paylaşan değerli akrabamız Prof. Dr. Samet HAŞILOĞLU'na saygılarımı ve şükranlarımı sunuyorum.

Antalya Atatürk Devlet Hastanesi'nde görev yapmakta olan sorumlu eczacım Filiz Fatma Kanat ULUKAYA ile diğer eczacı arkadaşlarım ve tüm eczane ekibine bana verdikleri desteklerden dolayı teşekkürlerimi iletiyorum. Yine Antalya Atatürk Devlet Hastanesi'nde görevli Nüveyda KARAGÖZ ile Dr. Nazife ŞAHAN'a sonsuz teşekkürler.

Tezim sırasında, beni yalnız bırakmayan Arş Gör. Zerrin KUTLU, iyi ki varsınız. Deneylerimde bana yardımcı olan Amine Sena Aydın, Sena Civelek, Zeynep Çelik ve tüm asistan arkadaşlarıma çok teşekkürler.

Kuzenim Dr. Öğr. Üyesi Gökhan ERKAL'a öğrettiği istatistiksel bilgiler için çok teşekkürler. Bu zorlu süreçte yanımda olan halam ve kuzenlerime teşekkürlerimi sunuyorum. Bana her zaman sabırla destek olan eşimin ailesine, rahmetli anneannem

Galibe GENCER'e babam Muzaffer BARIN, annem Fatma Güler BARIN, abim Ensar Zafer BARIN'a ne kadar teşekkür etsem az kalır. Bana her an yardımcı olan annemin ve sevgili eşim Muhammed Burak ERSOYOĞLU'nun haklarını ödeyemem. En büyük teşekkürüm akıllı ve sevgi dolu kızım Zehra ERSOYOĞLU'na, iyi ki varsın. Hepiniz iyi ki varsınız.

Rabia Nilüfer ERSOYOĞLU



ÖZET

Hızlı Etkili PDE-5 Enzim İnhibitörü Avanafilin Sıçanlarda Çekum Bağlama ve Delme ile İndüklenen Sepsis Modelinde Akciğer Hasarı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Amaç: Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda çekum bağlama ve delme ile indüklenen sepsis modelinde hızlı etkili PDE-5 enzim inhibitörü Avanafilin akciğer hasarı üzerine etkilerinin incelenmesidir.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada, 60 adet Albino Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Sham operasyonlu kontrol grubu, Sham+100 mg/kg Avanafil, CLP, CLP+ 25 mg / Kg Avanafil, CLP+ 50 mg / Kg Avanafil, CLP+ 100 mg / Kg Avanafil olmak üzere randomize ve eşit 6 grup oluşturuldu (n=10). Sepsis gruplarında anestezi altında çekum delme ve bağlama (CLP) yöntemi ile polimikrobiyal sepsis yöntemi oluşturulurken, kontrol gruplarına sadece laparotomi yapıldı. Sepsis işleminden bir saat sonra ilaç uygulaması yapıldı. Avanafil, intraperitoneal (IP) 25 mg/kg, 50 mg/kg ve 100 mg/kg olacak şekilde uygulandı. Akciğer dokusunda superoksit dismutaz (SOD) enzim düzeyi, glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve fosfodiesteraz-5 (PDE-5) seviyeleri ile serumda IL-1 β , IL-6, TNF- α ve PDE-5 seviyeleri ölçüldü. Ayrıca histopatolojik ve immünohistokimyasal boyama yöntemleri ile akciğer dokuları incelendi.

Bulgular: Biyokimyasal ve histopatolojik bulgularımız sonuçları desteklemektedir. CLP ile indüklenen sepsis grubunda sağlıklı gruba göre akciğer dokusunda SOD ve GSH düşerken, MDA artmaktadır. CLP grubunda sağlıklı gruba göre, hem akciğer dokusu hem serum örneklerinde, TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve PDE-5 seviyeleri artmaktadır. CLP+AVA 100 mg/kg uygulanan sıçanların akciğer dokularında, hafif düzeyde TNF- α , IL-1 β ekspresyonları gözlemlenmiş olup, CLP grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark tespit edildi .

Sonuç: CLP ile indüklenen sepsis modelinde PDE-5 inhibitörü olan avanafil, NO-cGMP yolağını artırıp endotelial disfonksiyonu düzelterek akciğer hasarını azaltmaktadır.

Anahtar kelimeler: Akciğer, avanafil, CLP, sepsis, sıçan

ABSTRACT

Analysis Of The Effect Of Avanafil, A Fast-Effective Pde-5 Enzyme Inhibitor, On Lung Damage In The Sepsis Model Induced By Cecal Ligation And Puncture In Rats

Aim: The objective of this study is to analyse the effect of Avanafil, a fast-effective PDE-5 enzyme inhibitor, on lung damage in the sepsis model induced by cecal ligation and puncture in rats.

Material and Method: In this study, 60 Albino Wistar male rats were used. 6 randomized and equal groups (n= 10) were formed; Sham operation control group, Sham+100 mg/kg Avanafil, CLP, CLP+ 25 mg / Kg Avanafil, CLP+ 50 mg / Kg Avanafil and CLP+ 100 mg / Kg Avanafil. While polymicrobial sepsis method was developed with cecal ligation and puncture (CPL) method, under anaesthesia in sepsis groups, only laparotomy was used in control groups. The medicine was applied one hour after the sepsis procedure. Avanafil was applied in such a way as to be (IP) 25 mg/kg, 50 mg/kg and 100 mg/kg intraperitoneally. In lung tissue, superoxide dismutase (SOD) level, glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and phosphodiesterase-5 (PDE-5) levels were measured and IL-1 β , IL-6, TNF- α and PDE-5 levels were measured in serum. In addition, lung tissues were analyzed with histopathological and immunohistochemical staining methods.

Findings: Our biochemical and histopathological findings support the results. In the sepsis group induced by CLP, SOD and GSH decreased in lung tissue in the healthy group, while MDA increased. In CLP group, compared to the healthy group, TNF- α , IL-1 β , IL-6 and PDE-5 levels increased both in the lung tissue and serum samples. Low levels of TNF- α , IL-1 β expressions were observed in the lung tissues of rats to which CLP+AVA 100 mg/kg was applied, and a significant difference was determined when compared to the CLP group .

Result: In the sepsis model induced by CLP, Avanafil, a PDE-5 inhibitor, decreased the lung damage by increasing NO-cGMP pathway and regulating the endothelial dysfunction.

Key Words: Avanafil, CLP, lung, rat, sepsis

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ARDS	: Akut solunum sıkıntısı sendromu
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi
AVA	: Avanafil
cAMP	: Siklik adenosin monofosfat
CARS	: Kompensatuar antiinflamatuvar yanıt sendromu
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
CLP	: Çekum bağlama ve delme
CRP	: C reaktif protein
DIC	: Damar içi pıhtılaşma
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
GSH	: Glutasyon
IL-1β	: İnterlökin 1 beta
IL-6	: İnterlökin 6
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LBP	: Lipopolisakkarit bağlayan protein
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehit
MODS	: Multiple organ yetersizliği sendromu
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit
PDE-5	: Fosfodiesteraz-5
PMNL	: Polimorfonükleer lökositler

PTX3	: Pentraksin 3
ROS	: Reaktif oksijen türleri
sGC	: Siklik guanilat siklaz
SIRS	: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
SOD	: Süperoksit dismutaz
TLR	: Toll like reseptörler
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. C5a ve Septisemi	15
Şekil 2.2. NO/cGMP Yolağı.....	25
Şekil 3.1. SOD Standart Grafiği	34
Şekil 3.2. GSH Standart Grafiği	35
Şekil 3.3. MDA Standart Grafiği.....	36
Şekil 3.4. TNF- α Standart Grafiği	37
Şekil 3.5. IL-1 β Standart Grafiği	38
Şekil 3.6 . IL-6 Standart Grafiği	39
Şekil 3.7. PDE-5 Standart Grafiği	40
Şekil 3.8. TNF- α Standart Grafiği	42
Şekil 3.9. IL-1 β Standart Grafiği	43
Şekil 3.10. IL-6 Standart Grafiği	44
Şekil 3.11. PDE-5 Standart Grafiği	45
Şekil 4.1. Akciğer Dokularına Ait SOD Enzim Aktivitesi.....	48
Şekil 4.2. Akciğer Dokularına Ait GSH Düzeyleri	49
Şekil 4.3. Akciğer Dokularına Ait MDA Seviyeleri	50
Şekil 4.4. Akciğer Dokularına Ait TNF- α Seviyeleri.....	51
Şekil 4.5. Serum Örneklerinde TNF- α Seviyeleri	52
Şekil 4.6. Akciğer Dokularına Ait IL-1 β Seviyeleri.....	53
Şekil 4.7. Serum Örneklerine Ait IL-1 β Seviyeleri	53
Şekil 4.8. Akciğer Dokularına Ait IL-6 Seviyeleri.....	55
Şekil 4.9. Serum Örneklerine Ait IL-6 Seviyeleri	55
Şekil 4.10. Akciğerde Dokularına Ait PDE-5 Seviyeleri	56

Şekil 4.11. Serumda Örneklerine Ait PDE-5 Seviyeleri	57
Şekil 4.12. Akciğer Dokusunun İmmünohistokimya Kontrol grup, AVA Grup, CLP Grup, CLP+AVA25, CLP+AVA50 grup, CLP+AVA100 Grup Boyama Sonuçları	59
Şekil 4.13. Akciğer Dokusunun İmmünohistokimya Kontrol grup, AVA Grup, CLP Grup, CLP+AVA25, CLP+AVA50 grup, CLP+AVA100 Grup Boyama Sonuçları (IL-1 β ekspresyonu)	62
Şekil 4.14. Akciğer Dokusunun İmmünohistokimya Kontrol grup, AVA Grup, CLP Grup, CLP+AVA25, CLP+AVA50 grup, CLP+AVA100 Grup Boyama Sonuçları (TNF- α ekspresyonu).....	63

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. SOFA Skoru.....	7
Tablo 2.2. Sepsisin Deneysel Modellerinin Karşılaştırmalı Özellikleri	22
Tablo 3.1. Kimyasal Maddeler ve Kitlerin Firmaları.....	31
Tablo 3.2. Tez Kapsamında Yapılan Biyokimyasal Analizler Esnasında Kullanılan Alet ve Cihazlar	32
Tablo 3.3. Deney Grupları	33
Tablo 4.1. Akciğer Dokularında Histopatolojik ve İmmunhistokimyasal Bulguların Skorlanması.....	61

1. GİRİŞ

Multipl organ yetmezliğine ve şoka neden olan sepsis, enfeksiyona uyumsuz konakçı tepkisi ile karakterize, mortalite oranı çok yüksek ciddi bir tıbbi durumdur.¹⁻³ Sepsisin meydana geliş şekli çoğu zaman nonenfeksiyöz olgular ya da farklı enfeksiyöz mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır.⁴ Bu durum enfeksiyona karşı aşırı immünolojik yanıt oluşturmakta, sonuçta sepsis tüm sistem ve organlara zarar verebilmektedir. Ortalama yaşam süresinin artışına bağlı olarak yaşlı nüfusun artması ve teknolojinin gelişmesi invaziv girişimlerin artmasına, immünoşüpresif tedavilerin çoğalmasına neden olmuş, tüm dünyada sepsis insidansını artırmıştır.^{5,6}

Kuzey Amerika ve Avrupa'daki yoğun bakım ünitelerinde sepsis en yaygın ölüm nedenleri arasında yer almakta ; sepsis kaynaklı ölüm oranlarının Avrupa'da % 41, ABD'de % 28.3 olduğu bildirilmektedir.⁷⁻⁹ TÜİK veri tabanından 2009-2016 yılları arasında alınan ölüm oranları verilerine göre Türkiye'de sepsise bağlı ölümler enfeksiyon kökenli ölümlerin %60'ını oluşturmaktadır.¹⁰

Sepsiste, sadece enfeksiyon ile değil aynı zamanda aşırı immünolojik yanıt ve organ hasarı ile mücadele edilmektedir. Ateş, idrar miktarında azalma, bilinç bulanıklığı şeklinde klinik bulgulara rastlanmaktadır. Teşhis ve tedavide gecikilirse hipotansiyon, böbrek ve solunum yetmezliği, koagülasyon bozuklukları görülmektedir³. Üriner sistem enfeksiyonu, pnömoni veya bakteremi sepsise neden olmaktadır.³ Sepsise neden olan gram negatif bakteriler E.coli, Klebsiella pneumonia ve Pseudomonas aeruginosa iken gram pozitif bakteriler S.aureus, koagülaz negatif stafilocoklar, enterokoklar ve streptokoklardır.^{4,6,11,12}

Sepsisin patogeneğinde koagülasyon, bozulmuş fibrinoliz ve inflamasyon bulunmaktadır.¹³ Enfeksiyona karşı doğal bağışıklık sisteminin düzensiz ve sistemik yanıtı ile karakterize ilerleyen sepsis büyük miktarda sitokin salınımına neden olur.¹⁴

Enfeksiyona normal yanıt, doğal bağışıklık hücresi olan makrofajlar, bakteriyel bileşenleri tanıdığı ve bağladığında başlamaktadır. Bu bağlanma nükleer faktör-kappa B (NF-kB) ve çeşitli sitokinlerin salgılanmasına neden olmaktadır.¹⁵

Sepsis nedeniyle görülen yapısal değişiklikler, pek çok organda patolojik değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olur. Sepsisli olguların yaklaşık yarısında akciğer hasar almakta, ölümlerin büyük bir kısmı bu hasara bağlı gelişmektedir.¹⁶⁻¹⁸ Sepsise bağlı akut akciğer hasarı ve/veya akut solunum yetmezliği endotoksinin inflamatuvar mediatörlerinin aktivasyonu ve salınımı ile ortaya çıkar.^{19, 20} Endotoksemi ve sepsis, antioksidan kapasitenin azalması ile ilişkilidir. Bu ilişki akut inflamatuvar yanıtların üretilmesinde önemli rol oynayan pek çok proinflamatuvar sitokin ve mediatörlerin indüklenmesinde etkili olduğu varsayılan reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açar.²¹

Sepsis ile ortaya çıkan hasarın ortadan kaldırılması ile beraber aynı zamanda diğer etkilerini azaltacak yaklaşımlar önem arz etmektedir. Mevcut literatür özellikle fosfodiesteraz inhibitörleri üzerinde yoğunlaşmaktadır²². İlk jenerasyon olan sildenafil vardenafil ve tadalafilen sonra FDA tarafından onaylanan ikinci jenerasyon avanafil 2013 yılında EMA tarafından erektil disfonksiyon için onaylanmış bir fosfodiesteraz-5 inhibitörüdür.

Avanafil (AVA), diğer PDE-5 inhibitörlerine göre PDE-5 izoenzimi için yüksek seçiciliği açısından geliştirilmiştir²³. Yapılan son çalışmalar, PDE-5 inhibitörlerinin kronik uygulamasının vasküler düz kas yapısını koruduğunu ve peniste fibrotik değişiklikleri azalttığını göstermektedir. Bu ajan, erektil disfonksiyonlu erkeklerin tedavisinde kullanıldığında mükemmel tolere edilebilirlik ve az yan etki ile olumlu bir farmakokinetik ve farmakodinamik profil sergiler. Ayrıca, avanafil 15 dakika gibi kısa bir sürede daha hızlı bir hareket başlangıcına sahiptir.²⁴ Bu durum, sildenafil, vardenafil

ve tadalafil gibi diğer PDE-5 inhibitörlerine göre avanafil bir avantaj sağlayabilir ²⁵. Avanafil daha hızlı ve daha kısa etki sürelidir.²⁶

Fosfodiesteraz 5 inhibitörleri (PDE-5), cGMP düzeylerini artırır ve bu durum da NO konsantrasyonunun artması ile sonuçlanır. Bu grup ilaçlar, erektil disfonksiyon ve pulmoner hipertansiyonda kullanılmaktadır. ²⁷ NO düz kasta guanilat siklazin aktivasyonu ile arteriyoller tonüsü düşürür, trombosit agregasyonunu ve trombüs oluşumunu azaltır ve endotel yüzeyi ile lökositler arasındaki adeziv etkileşimi minimum düzeye indirir. Fakat iskemik dokunun reperfüzyonunu takip eden dakikalar içerisinde NO ile süperoksit arasındaki denge süperoksit lehine bozulur. Bu bozulan denge adezyona uygun lökosit oluşumuna ve eNOS aracılığıyla oluşan NO sentezinde azalmaya yol açar. Sonuç olarak NO'nun yeterli miktarda olmamasından dolayı asetilkolin gibi endojen vazodilatör maddelerin endotele-bağımlı NO aracılı vazodilatasyonunda azalma meydana gelir. cGMP, trombosit agregasyonu ve düz kas gevşemesi gibi bir çok fizyolojik durumda sinyal transdüksiyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Guanilat siklaz aracılığıyla üretilen cGMP, PDE'ler ile 5-GMPye yıkılır. Bu denge ile vasküler düz kas hücrelerindeki cGMP konsantrasyonu düzenlenmektedir.²⁸

Mulhall ve ark.²⁹, prostatektomi sonrası erektil disfonksiyonlu erişkin erkeklerin tedavisinde 100 ve 200mg dozda avanafil kullanımının güvenli ve etkin olduğunu savunmuşlardır. Huyut ve ark.³⁰ çalışmasında, glukokortikoid ile indüklenen osteoporoz sıçan modelinde tedavi amaçlı kullanılan avanafil dozunun 10mg/kg olduğu gösterilmiştir. Preklinik güvenlik datalarında gebe ratlarda, 300 mg / kg / gün'e kadar olan dozlarda teratojenite, embriyotoksisite veya fetotoksisite kanıtına rastlanmamıştır. Ancak tavşanlar ile yapılan bir çalışmada, 240 mg / kg / gün dozu ile maternal toksisite gözlenmiştir.

Buradan hareketle bu tez çalışmasında hızlı etkili PDE-5 enzim inhibitörü Avanafilin sıçanlarda çekum bağlama ve delme ile indüklenen sepsis modelinde akciğer hasarı üzerine etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesidir.

Sıçanlarda, PDE-5 enzim inhibitörü olan avanafilin CLP ile indüklenen sepsis modelinde akciğer hasarına karşı oksidatif stresi azaltarak sepsisteki koruyucu etkilerini görmeyi amaçlıyoruz. Avanafil tedavisi ile CLP indüklenmiş sıçan modelinde oksijen aktivitesinin aşırı üretilmesine bağlı olarak akciğer hasarının önleneceğini öngörmekteyiz. Çalışmamızda avanafil seçmemizin sebebi, aynı sınıfa ait ilaçlardan daha hızlı etkili ve daha seçici olan yeni bir fosfodiesteraz-5 inhibitör olmasıdır. Avanafil, hızla emilir ve çoklu dozların ardından birikmez. Tmax a ulaşma süresi 30-45 dakika gibi kısa bir süredir. Septik sıçanlarda, lipid peroksidaz (LPO) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivasyonunu azaltacağını beklemekteyiz. Çalışmamızda avanafilin, aynı zamanda tümör nekrozis faktör (TNF- α) seviyesini düşüreceğini öngörmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

Sepsis enfeksiyon varlığında doğal bağışıklık sisteminin aşırı immün yanıt vermesi ile kendini gösteren, birçok organı etkileyen ve ölüm oranı yüksek yaygın inflamatuvar bir hastalıktır.^{31, 32} Dünya genelinde 48,9 milyon vakanın ve 11 milyon ölümün sepsis ilişkili olduğu ve bunun tüm küresel ölümlerin neredeyse %20'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir.³³ Ciddi sepsisten her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde 200,000, Avrupa'da ise 150,000'den fazla kişinin öldüğü tahmin edilmektedir.³⁴ Yapılan çalışmalarda, ABD'de hastanedeki ölümlerin yaklaşık yarısının sepsis kaynaklı olduğu tespit edilmiştir.³⁵ TÜİK istatistiklerinden 2009-2016 yılları arasında alınan ölüm oranları verilerine göre Türkiye'de sepsise bağlı ölümler enfeksiyon kökenli ölümlerin %60'ını oluşturmaktadır.¹⁰

2.1.1. Sepsisin Tarihçesi

Sepsis, Yunanca'da "ayrışma" veya "çürüme" kelimelerinden türemiş ve ilk defa 2700 yıl önce Homer'ın şiirleri ile Hipokrat ve Galen'in eserlerinde kullanılmıştır³⁶. Antik Yunanlılarda Hipokrat döneminden (MÖ 460-370) beri sepsis, vücudun çürümesine neden olan bir durum olarak bilinir. İbn-i Sina da (MS 980–1037) bahsi geçen duruma ateşin eşlik ettiğini bildirmiştir.³⁷ Hieronymus Fracastorius 1546 yılında enfeksiyonların, küçük partiküllerle ya da sporlarla taşındığını ve bu durumun epidemik hastalıklara sebep olabileceği teorisini savunmuştur. 1600 lü yıllarda Anton van Leeuwenhoek ve Robert Hooke mikroskop sayesinde bu teoriyi desteklemiş ve geliştirmiştir.³⁸ 1841 yılında ise Ignaz Philipp Semmelweiss, otopsi incelemesi sonrası ellerini yıkamayan hekim ve tıp öğrencilerinin, doğum yaptırdıkları kadınlara bazı mikroorganizmaları bulaştırıp puerperal sepsise neden olduklarını bildirmiştir.³⁹ 1822-1895 yılları arasında Louis Pasteur çürümenin yani sepsisin gelişmesi için mikroorganizmalara ihtiyaç olduğunu

kanıtlamıştır.³⁹ Joseph Lister⁴⁰ ise ameliyat sonrası görülen sepsise açık yarayla temas eden steril olmayan cerrahi aletlerin neden olduğunu ve açık yarayla temas eden her şeyin karbonik asit ile sterilize edilmesi gerektiğini savunmuştur. 1900 lü yıllardan itibaren tıp teknolojisindeki yenilikler ve antibiyotiklerin keşfi gibi gelişmeler sayesinde hastalıkların teşhis ve tedavisi kolaylaşmış ve sepsis gibi ciddi sonuçlar doğuran hastalıkların görülme sıklığı azalmıştır. 1991'de Roger Bone ve ark.⁴¹ sepsis üzerinde çalışmış, sepsisi; enfeksiyona düzensiz konak yanıtından kaynaklanan yaşamı tehdit eden organ fonksiyon bozukluğu olarak tanımlamıştır.

Sepsis, enfeksiyonlara karşı konağın aşırı ve düzensiz yanıtı ile meydana gelen tüm organ sistemlerini etkileyen heterojen klinik bir tablodur.⁴²⁻⁴⁴ Sepsise etken olan mikroorganizma genelde hastanın kendi florasından kaynaklanmaktadır.⁴⁵

Öncelikle endotel disfonksiyonuna neden olan sepsis daha sonra kardiyovasküler sistemin fonksiyonlarını ve hücre içi homeostazı bozar. Hücre hipoksisi ve apoptozis organ disfonksiyonunun ve ölümün nedenidir.

1992'de Amerikan Göğüs Hekimleri Koleji ve Yoğun Bakım Tıp Derneği sponsorluğunda Roger Bone ve ark.^{46, 47} tarafından bir konsensüs konferansı düzenlenmiş ve ilk kez sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) teriminden bahsedilmiştir.

Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) : Enfeksiyon dışında yanık, travma, pankreatit vb. durumlarda görülen sendromdur.⁴⁸ Uzun seneler sepsis tanısında kullanılmış olan SIRS kriterlerinin günümüzde tanıda güvenilir olmadığı tespit edilmiş, yerini SOFA skoruna bırakmıştır.^{41, 49, 50}

Tablo 2.1. SOFA Skoru

SOFA puanı	0	1	2	3	4
Solunum (PA02/FiO2)	>400	301-400	201-300	101-200	<100 Solunum desteği var
Koagülasyon (trombosit sayısı* 103/mm3)>	>150	101-150	51-100	21-50	<20
Karaciğer (bilirubin mg/dl)	<1,2	1,2-1,9	2-5,9	6-11,9	>12
Kardiyovasküler (hipotansiyon mmhg, ilaçlar qg/kg/dk)	OAB>70	OAB<70	Dopamin<5 veya dobutamin herhangi bir doz	Dopamin>5 veya epinefrin <0,1 veya norepinefrin <0,1	Dopamin>15 veya epinefrin >0,1 veya norepinefrin>0,1
Böbrek (kreatinin mg/dl veya idrar volümü) ml/gün	<1,2	1,2-1,9	2-3,4	3,5-4,5 veya <500ml/gün	>5 veya <200 ml/gün

Sepsis: Enfeksiyon varlığında doğal bağışıklık sisteminin aşırı immün yanıt vermesi ile kendini gösteren, birçok organı etkileyen ve ölüm oranı yüksek inflamatuvar bir hastalıktır.^{31, 32} 2016 yılında sepsisin (Sepsis-3) yeni bir tanımı yapılmıştır.⁴⁹ Sepsis, artık enfeksiyona karşı disregüle konak yanıtına bağlı organ disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır.⁴¹ Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2017 yılında sepsisi küresel bir sağlık sorunu olarak kabul etmiştir.^{51, 52}

Septik Şok: 2016 yılında yapılan güncel tanıma göre; vazopressörlerin (ortalama arteriyel basıncı) MAP $\geq$ 65 mm Hg olmasını sağlayan; yeterli sıvı tedavisine rağmen serum laktat seviyesi> 2 mmol / L ve hipotansiyonu olan klinik bir tablodur.^{41, 51-54}

Multiple Organ Yetersizliği Sendromu (MODS): Homeostazın müdahale olmadan sağlanamadığı akut vakalarda iki veya daha fazla organ ya da organ sisteminde oluşan fizyolojik fonksiyon bozukluğudur.⁵³⁻⁵⁵

Mortalite oranını artıran ise sepsis esnasında vital organlarda meydana gelen yetmezliklerdir.²

Dünya genelinde sepsis ile ilgili güncel kanıtlar ve tartışmaları bildiren Sepsiste Sağkalım Kampanyası rehberi en son 2018 yılında güncellenmiştir.^{51, 52, 56}

2.1.2. Sepsisin Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi

Dünya genelinde sepsis kaynaklı vakaların sıklığında kademeli bir artış yaşanmaktadır. Yaşlı nüfusun artması, kronik hastalıkların yaşam döngülerindeki genişleme, immünosupresif ilaçların ve tanı/tedavi amaçlı invaziv prosedürlerin ortak kullanımı özellikle hastane kaynaklı sepsis sıklığını artırmaktadır. Hastane kaynaklı sepsis, yatak kapasitesinin fazla ve invaziv işlemlerin yoğun uygulandığı hastanelerde daha sık görülmektedir.⁵⁷

Sepsis; bakteri, virüs, mantar veya parazit enfeksiyonlarından kaynaklanmaktadır.⁵⁸

Toplum kaynaklı sepsiste en sık karşılaşılan mikroorganizmalar, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumonia* ve *Staphylococcus aureus*'tur.⁵⁹ 1950lerden itibaren antibiyotiklerin kullanıma girmesi sonucu, gram-pozitif bakterilerin neden olduğu hastalıklar tedavi edilebilir hale gelmiştir. 1960-1980'li yıllarda sepsis olgularının %50'sinden fazlasında gram negatif bakteriler etken olarak görülmüştür.⁶⁰ Gram-negatif sepsiste etkenler; *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* iken, gram-pozitif sepsiste etkenler; *S. aureus*, koagülaz negatif stafilocoklar, enterokoklar ve streptokoklardır.⁶ Mikroorganizmaların sepsis gelişimi için kana geçmeleri gerekmez. Sinyal ürünlerinin ve patojenin toksinlerinin lokal veya sistemik olarak dolaşıma geçmesi sepsisi başlatabilir.⁶¹

Sepsis, kritik hastalardaki en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir.⁶² Sepsis, ABD'de 2011 yılında toplam hastane maliyetinin yaklaşık % 5.2'sini kapsayan pahalı bir sağlık sorunudur.⁶³ 2013 yılında ABD'de hastanede yatan sepsisli hastaların sayısı yaklaşık 1.3 milyondur.⁶⁴

Avrupa, Avustralya ve Yeni Zelanda Yoğun Bakım Ünitelerinde de birçok çalışma yapılmıştır ve yoğun bakım sepsisinin yaygınlığının% 5.1 ile% 30 arasında bir aralıkta olduğu bildirilmiştir. ⁶⁵⁻⁶⁷ Almanya'da, 2007-2013 yılları arasında hastanede tedavi edilen sepsis vakaları ile ilgili yapılan bir çalışmada şiddetli sepsis hastalarının oranının % 27'den% 41'e yükseldiği gözlemlenmiştir. ⁶⁸

ABD ve Avrupa'da ağır sepsis ve septik şok yaşayan hastaların bakım modellerini ve sonuçlarını karşılaştırmak için Sepsiste Sağkalım Kampanyası'ndan (SSC) elde edilen veriler kullanılmıştır. ⁵¹ 2012 verilerine göre sepsisteki ölüm oranları, Avrupa'da yaklaşık %41 iken, ABD'de yaklaşık %28 idi. ⁶⁹ Avustralya ve Yeni Zelanda'da 101.064 kritik hastayı içeren çok merkezli bir çalışma, sepsisteki mortalite oranının 2000 ile 2012 yılları arasında %35'den %19'a düştüğünü göstermiştir. ⁶²

6 milyon kişiye kadar yapılan çok büyük epidemiyolojik çalışmalar, Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yaklaşık 750.000 sepsis vakasının 383.000 inin yoğun bakıma alındığını bildirmiştir. ⁷⁰

2.1.3. Konakçının Mikrobiyolojik Etkenleri Tanınması

Lipopolisakkarit (LPS, endotoksin), Gram-negatif bakterilerin dış zarının ana bileşenidir. LPS bağlayıcı protein (LBP), Gram-negatif bakteri duvarlarının LPS'sine bağlanarak LPS-LBP kompleksi oluşturmaktadır. ^{71, 72} LPS plazmadaki LBP'ye bağlanır ve hücre yüzeyi reseptörü CD14'e teslim edilir. Daha sonra, LPS transmembran sinyal reseptör toll-like reseptör 4 (TLR4) ve aksesuar proteini MD2'ye aktarılır. ⁷³ Konakçı hücrelerinde LBP ve CD14 opsonik reseptörün varlığında LPS septik süreci başlatabilir. CD14 hücre membranında mCD14, dolaşımda sCD14 olarak bulunmaktadır. ⁷⁴

TLR bulunması ile LPS-bağlayıcı protein yapısının hücrelere nasıl girdiği bulunmuştur. ^{75, 76} Nötrofiller, patojenleri fagositlemek ve elimine etmek için TLR

kullanır. ⁷⁷ TLR-4, LPS reseptörüdür. Gram negatif bakterileri tanır. TLR-2 gram-pozitif hücre duvar yapılarını tanır. ⁷⁸

Sepsisin Patofizyolojisi

Enfeksiyona normal yanıt, doğal bağışıklık hücresi olan makrofajlar, bakteriyel bileşenleri tanıdığı ve bağladığında başlamaktadır. Mikrobiyal bileşenlerin bağışıklık hücreleri tarafından bağlanması sonucu sitozolik nükleer faktör-kappa B (NF-kB) aktive olmaktadır. NFkB çekirdekte yer değiştirmekte ve inflamatuvar yanıtta yer alan büyük bir gen grubunun transkripsiyonunu aktive etmek için transkripsiyon bölgesine bağlanmaktadır.

Polimorfonükleer lökositler (PMNL) aynı zamanda adezyon moleküllerini eksprese etmek için aktive edilmekte ve doku hasarı bölgesine hareket etmektedir. Bu olaylar, makrofajlar tarafından salgılanan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar araçlar tarafından düzenlenmektedir.⁷⁹ Proinflamatuvar sitokinler, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve interlekin-1 (IL-1) dir. TNF- α ve IL-1 ateş, hipotansiyon, lökositoz, pıhtılaşma aktivasyonu ve fibrinolize neden olmaktadır. TNF- α ve IL-1 salınımını engelleyen sitokinler, antiinflamatuvar olarak kabul edilmektedir. Bunlar arasında IL-10 bulunmaktadır. Sepsisin sistemik etkileri arasında doku iskemisi, değişmiş apoptoz oranı, mitokondriyal disfonksiyon ve immünosupresyon bulunmaktadır. Sepsis, mikrosirkülasyonun bozulmasına ve sitotoksositeye yol açmaktadır. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin dengesi, inflamatuvar yanıtı düzenleyip doku onarımı ile sonuçlanmaktadır.⁸⁰ Sepsis, proinflamatuvar sitokinlerin salınamaması ve inhibitör reseptör ve ligandların ekspresyonunun artması nedeniyle immünosupresyonun takip ettiği bir sitokin fırtınasıdır.⁸¹

Kardiyovasküler sistemde vazoaktif mediatörlerin (prostasiklin, nitrik oksit) salınımı, vazodilatasyona neden olurken vazopressin salınımını ve intravasküler sıvının

yeniden dağılımını bozarak hipotansiyona neden olmaktadır. Pıhtılaşma bozuklukları ve endotel disfonksiyonu da doku ödemeine katkıda bulunmaktadır.⁸² Solunum sistemindeki endotel hasar, kan akışını bozmakta ve mikrovasküler geçirgenliği artırmaktadır. Bu durum pulmoner ödem ve sonrasında akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ile sonuçlanmaktadır.⁸³ Karaciğer, bakteri ve toksinlere karşı ilk savunma hattıdır. Bağırsak bariyeri disfonksiyonu ile bakteri ve endotoksinlerin sistemik dolaşıma katılması septik yanıtı uzatmaktadır. Sepsise sıklıkla hipoperfüzyon veya hipoksemiye bağlı akut böbrek yetmezliği eşlik etmektedir. Merkezi sinir sistemi komplikasyonları da yaygındır. Ensefalopati en sık görülen komplikasyondur. Kan-beyin bariyeri işlevini kaybetmektedir.⁸⁴

Yaş, cinsiyet, ırk, kronik hastalıklar, mevsimler, enfeksiyon kaynağı, yoksulluk, yetersiz beslenme gibi faktörler sepsisi etkileyen faktörlerdir.⁸⁵

Sepsiste SIRS (sistemik inflamatuvar yanıt sendromu) ve CARS (kompensatuar antiinflamatuvar yanıt sendromu) aşamaları bulunmaktadır. SIRS'ta hiperinflamatuvar bir faz görülmektedir. Bu durum ya düzelir ya şiddetli sepsise ilerler. CARS durumunda lenfosit apoptozisi görülür. Septik hastalarda bağışıklık baskılanmasının önemli bir nedeni lenfosit apoptozisidir.⁵⁶ CARS aşamasında immunosupresyon ve çoklu organ fonksiyon bozukluğu vardır. Genellikle ölümle sonuçlanmaktadır.⁸⁶

Sepsisin erken döneminde aşırı hızlı bir bağışıklık reaksiyonu görülmektedir. Ancak bu durum hızla değişir. Önce immün mekanizmalarda bozukluk görülür, sonrasında konak ikincil enfeksiyonlara duyarlı hale gelir.⁸⁷

Endotelyum

Endotelyum, vazomotor kontrol, hemostaz ve immünolojik fonksiyonu düzenleyen endokrin bir organdır. Ayrıca ozmotik denge ve çözünen madde taşınması için vasküler bir bariyerdir. Hemostazda endotel, pıhtılaşma ve fibrinolizi düzenler.^{88 89}

Normal koşullar altında hücreler, hücresele solunum sırasında serbest oksijen türleri (ROS) üretmektedir. Ancak, ROS'un aşırı üretimi oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir dengesizliğe yol açmakta ve bu durum da oksidatif stresle sonuçlanmaktadır.⁹⁰ Bu serbest radikallerin birikmesi hücre ve doku hasarına yol açmaktadır. Septik şokun ilk saatlerinde endotel disfonksiyonu görölmektedir.^{91 92}

Sepsisli hastalarda adezyon moleküllerinin seviyesi artmaktadır⁹³. Vasküler geçirgenliğin artması ödeme neden olmaktadır. Sıvı sızıntısı hipovolemi ve hipotansiyon ile sonuçlanmaktadır.⁹⁴ Sepsiste NO üretimi hipotansiyona neden olmaktadır. Vazodilatasyon sonucu kan akımı azalmakta ve kan basıncı düşmektedir.⁹⁵

2.1.3.1. Akut Faz Yanıtı

Konakçıda ateş, nötrofili, kas katabolizması, artmış glukoneogenez, lipid metabolizmasındaki değişiklikler görölmektedir. Kompleman ve koagölasyon sistemleri aktive olmuştur.⁹⁶

Enfeksiyona normal yanıt, doğal bağışıklık hücreleri, özellikle makrofajlar, bakteriyel bileşenleri tanıdığında ve bağladığında başlar. Mikrobiyal bileşenlerin bağışıklık hücreleri tarafından bağlanması, belirli mekanizmaları harekete geçirir. Bunlardan biri sitozolik nükleer faktör-kappa B'yi (NF-kB) aktive ederek bir sinyal yolunu tetiklemektir. Aktive edilmiş NF kB çekirdekte yer değiştirir ve inflamatuvar yanıtta yer alan büyük bir gen grubunun transkripsiyonunu aktive etmek için transkripsiyon bağlanma bölgelerine bağlanır. Hem pro-inflamatuvar hem de antiinflamatuvar mediatörlerin salınımı gerçekleşir.^{51, 97} TNF α , interlökin 1, interlökin 2, interlökin 6, interlökin 8 gibi sitokinler, endotelial hücre adezyonuna neden olur, kompleman ve pıhtılaşma kaskadlarını aktive eder ve mikro trombüs oluşumuna yol açabilir.⁹⁸ IL-8 'in aktivasyonu ile hem bağışıklık hücrelerinde hem de vasküler dokuda önce indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS), daha sonrasında nitrik oksit (NO) üretilir.⁹⁹

Akut Faz Proteinleri; Enfeksiyona sekonder inflamatuvar cevabın parçası olarak karaciğer tarafından üretilmektedir.¹⁰⁰ Bunlar arasında C-Reaktif protein (CRP), fibrinojen, fibronektin, laktoferrin, haptoglobulin, prokalsitonin (PCT), Serum Amiloid A (SAA), C3 bulunmaktadır.¹⁰⁰

Antibakteriyel immünitede CRP ve SAA görev yapmaktadır.¹⁰¹ SAA, hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar süreçlere aracılık etmektedir.¹⁰² Kısa pentraksin CRP, IL-6 inflamatuvar sinyallere yanıt olarak karaciğerde üretilir. Sepsis, enfeksiyona karşı şiddetli, sistemik, proinflamatuvar bir yanıttır ve sonrasında anerji, lenfopeni ve sekonder enfeksiyonlarla karakterize bir immünosupresyon fazı görülmektedir.⁹⁸ TNF α , IL-6 ve CRP, şiddetli sepsis ve septik şokun sistemik sonuçlarında rol oynayan en önemli moleküllerdir.¹⁰⁴

2.1.3.2. Koagülasyon Yolağı ve Kompleman Sistemi

Sepsis sırasında vücutta pıhtılaşma aktivasyonu görülürken aynı zamanda antikoagülan mekanizmalar ve fibrinoliz inhibe olmaktadır.¹⁰⁵ İstilacı mikroorganizmalar ve aşırı inflamatuvar yanıt sonucu pıhtılaşma ve damar içi pıhtılaşma (DIC) görülebilir.¹⁰⁶ Bu durum da mikrovasküler tromboza ve organ işlev bozukluğuna neden olabilmektedir.^{37, 107}

Bir enflamatuar yanıt başlayınca, sitokinler ve kemokinler endotel hücrelerini (EC'ler) aktive edebilmektedir.¹⁰⁵ Sepsiste endotel disfonksiyonunun önemli bir özelliği, vasküler geçirgenliğin artmasıdır ve ödemle sonuçlanmaktadır. Artan geçirgenlik sonucu görülen sıvı sızıntısı, sepsis sendromunun önemli belirtileri olan hipovolemi ve hipotansiyona katkıda bulunur.¹⁰⁸

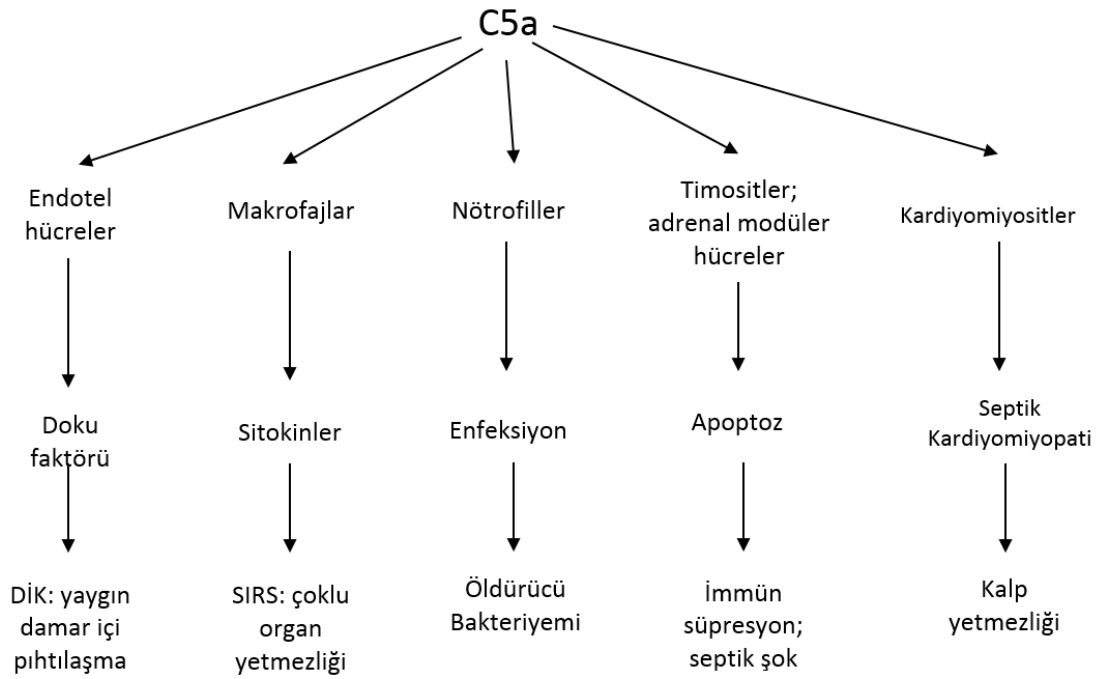
Sepsiste, plazminojen aktivatör inhibitör tip 1'in artması sonucu aşırı fibrin artışı görülmektedir. Meydana gelen bu hemostatik tıkaçlar ile doku perfüzyonu bozulmakta ve organ yetmezliği görülmektedir.⁵⁶

IL-1 ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinler koagölasyonu tetiklemektedir. IL-10 ise doku faktör salınımını inhibe ederek koagölasyonu düzenlemektedir.^{3, 56}

Kompleman sistemi fagositoz için istilacı patojenleri işaretlemekte ve enfeksiyona cevap olarak oluşan inflamatuvar olayları koordine etmektedir. C3a ve C5a, inflamatuvar etkiden sorumlu olan anafilotoksinlerdir.

C5a aracılı proinflamatuvar sitokin salınımı ile sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna (SIRS) neden olan çoklu organ yetmezliği görülebilmektedir. Sepsisin ileri döneminde nötrofil disfonksiyonu ile fırsatçı enfeksiyonlara karşı konağın bağışıklığı zayıflamış olmaktadır.¹⁰⁹

Ayrıca, C5a, timositlerin, lenfositlerin ve adrenal medüller hücrelerinin apoptozuna neden olmaktadır. Bu durum, immunosupresyon ve septik şok ile sonuçlanmaktadır. C5a, kalp yetmezliğine neden olan septik kardiomyopatide de etkilidir.¹¹⁰



Şekil 2.1. C5a ve Septisemi

2.1.3.3. Sepsiste Radikal Oluşumu ve İnflamatuvar Medyatörler

Sitokinler, hücreler arası haberleşmeyi sağlayan glikoprotein ya da protein yapısındaki moleküllerdir.³¹ Biyolojik aktiviteye ve düşük moleküler ağırlığına sahip hücreler tarafından üretilmektedir. Sepsiste immünite ve inflamasyonun düzenlenmesine katkıda bulunan iki tür sitokin vardır. Bunlar, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerdir¹¹¹. Sitokinler ayrıca sepsisin erken uyarı, tanı ve prognostik değerlendirmesi için biyolojik belirteçler olarak ve sepsisin önlenmesi ve tedavisi için terapötik hedefler olarak kullanılır.¹¹²

Sepsis ve enfeksiyon sırasında sitokin seviyeleri değişmektedir. Sitokinler, enflamasyonun başlangıcında lökositin endotelyuma bağlanması için endotelial hücrelerdeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indüklemektedir.¹¹³

CLP ile sepsis oluşturduğumuz bu çalışmamızda serumda TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve PDE-5 ile akciğer dokusunda SOD, GSH, MDA, TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve PDE-5 parametrelerini inceledik.¹¹⁴

Malondialdehit (MDA): Reperfüzyon hasarı ile ilişkili serbest radikal oluşumu ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunu gösteren bir belirteçtir. Hücre zarından iyon alışverişine etki edip, enzim aktivesinde değişimler yaparak olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. Mutajenik ve karsinojenik özellikler göstermektedir.¹¹⁵

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi: SOD, süperoksit anyonunun hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştüğü reaksiyonu katalizler.³² SOD enzimi, organizmayı süperoksit radikale karşı korumaktadır.⁶⁰ Bu enzim, süperoksit radikallerinin hücresel alandan hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasında görevli glikoprotein yapısındadır. Oksijen tüketiminin fazla olduğu dokularda SOD aktivitesinin de yüksek olduğu gözlenmektedir.¹¹⁶ LPS ile yapılan sepsiste SOD'un kullanımı artmaktadır. Bu kullanım geri dönüşümsüz inhibisyona neden olmaktadır.³²

GSH: Serbest radikalleri, diğer reaktif oksijen bileşiklerini ve hidrojen peroksiti inhibe etmektedir.¹¹⁷ MDA ile pozitif korelasyon gösterdiği bilinmektedir.¹⁰⁰ Antioksidan enzimlerde substrat görevi görmekte ve serbest radikaller tarafından oluşturulan hasara karşı savunma yapmaktadır. Proteinlerdeki –SH gruplarının indirgenmiş halde kalmasını sağlayarak bu grupları oksidasyona karşı korumaktadır.¹¹⁸ Sepsisin ilk saatlerinde GSH seviyeleri korunurken bir süre sonra glutatyon depoları boşalmaktadır.¹¹⁹

TNF- α : Lipopolisakkaritler, konakçı ile etkileşime geçince monosit ve makrofajlardan sitokin üretimi gerçekleştirilmektedir.¹⁰⁰ Pro-inflamatuvar sitokinlerden ilk olarak TNF- α salgılanmaktadır. TNF- α , gram negatif bakteri ve diğer enfeksiyon etkenlerine karşı oluşan akut inflamatuvar cevabın esas mediyatörüdür ve ciddi enfeksiyonların bir çok sistemik komplikasyonundan sorumludur. Ayrıca, septik şok, inflamatuvar bağırsak hastalığı, ankilozan spondilit, romatoid artrit, psöriyaz, ateroskleroz, miyokart infarktüsü, kalp yetmezliği, diyabet, kronik bronşit, kronik

obstrüktif pulmoner hastalık, astım, renal transplant reddi ve glomerülonefrit gibi pek çok hastalığın patojenezinde önemli rol oynadığı bilinmektedir.

TNF- α , hepatositlere etki ederek serum amiloid A ve P proteini, kompleman faktör 3, C-reaktif protein gibi ateş ve inflamasyonda önemli rol oynayan akut faz proteinlerinin sentezini artırır.¹²⁰

IL-1: Sitokin ailesinin bir üyesi olup ana fonksiyonu enfeksiyon ve diğer inflamatuvar uyaranlara karşı konak yanıtının mediyatörüdür. IL1 α ve IL-1 β olmak üzere iki tipi vardır. Nötrofil, lenfosit ve endotel aktivasyonunda ve endotelyal hücrelerde lökosit adhezyonunu düzenleyen yüzey moleküllerinin ekspresyonunda görevlidir. Endojen pirojen olarak isimlendirilen en güçlü inflamatuvar sitokindir.¹²¹

Düşük konsantrasyonlarda, lokal inflamasyonun mediyatörü iken yüksek konsantrasyonlarda, dolaşıma geçerek endokrin etkileri başlatmaktadır.⁵⁶ Enfeksiyonda serumda çok erken ortaya çıkan bir belirteçtir ve üzerinde en çok çalışılmış sitokinlerden biridir. IL-6, CRP gibi akut faz reaktanlarının sentezi için hepatositleri uyarır. TNF- α ve IL-1B gibi pro-inflamatuvar sitokinler sepsiste en önemli sitokinlerdir. İmmun cevabı uyarmakta ve endotel hasarına neden olmaktadır.

IL-6: Akut faz proteinlerinin aktivasyonu, ateşin başlatılması, kompleman ve koagülasyon sistemi aktivasyonu gibi geniş bir bağışıklık yelpazesine sahiptir.⁵⁶ Septik süreçte IL-6'nın rol oynayabileceğini öne süren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bazı çalışmalarda IL-6 ve TNF- α 'nın akut faz cevabının oluşması ve ardından sepsis benzeri semptomların ortaya çıkmasını sağladıkları gösterilmiştir.¹⁰⁰

Nitrik oksit: Memelilerde vazodilatasyon, düz kas gevşemesi, nörotransmisyon ve immün sistem yanıtı gibi çeşitli fizyolojik mekanizmalarda görevli hücrelerel sinyal moleküldür.²⁷ L-argininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile L-sitrüline oksidasyonu sonucu üretilmektedir. 3 çeşit NOS bulunmaktadır. nNOS, sinir sisteminde bulunur ve

nöronal sinyalleme için gereklidir. eNOS, endotelde bulur, vazodilatasyon ve kan basıncı için gereklidir. iNOS, pro-inflamatuvar sitokinler veya bakteriyel lipopolisakkarid (LPS) tarafından indüklendiğinde ekspere edilir. NO üretimi, inflamatuvar yanıt ve doğuştan gelen bağışıklık için son derece önemlidir. Patojenlere karşı savunmada etkilidir. Aşırı eksprese edilmiş iNOS, sepsis, kanser, nöropatik ağrılara neden olmaktadır.¹²²

Sepsiste, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS), bir dizi lipid peroksidasyonu reaksiyonlarını uyarmaktadır.¹²³ ROS üretim hızındaki dengesizlik, oksidatif strese ve bunun sonucunda serbest radikallerin üretimine yol açmaktadır. Sepsiste aşırı ROS üretimi kontrol edilememekte, dokulara hasar vermekte ve oksidatif strese neden olmaktadır.^{124, 125} ROS'un vücutta meydana getirdiği hasarları önlemede görev yapan savunma sistemlerine antioksidanlar denilmektedir.¹²⁶ Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu engellemektedir.¹²⁶ Enzimatik antioksidanlar, SOD, CAT ve GPx iken; enzimatik olmayan antioksidanlar, A,C,E vitaminleri, koenzim Q10, selenyum ve çinko mineralleri ile bilirubin ve melatoninidir.¹²⁷

Endotel NO, kan basıncı, kan akımı ve vasküler tonusun fizyolojik olarak düzenlenmesinde görev almakla birlikte, oksidatif stres altında NO'nun apoptozisi, mutagenезisi, sitotoksitesiteyi ve DNA hasarını artırıcı etkisi bulunmaktadır.^{128,129} Tümör nekroz faktörü (TNF- α), ROS üretimine aracılık ederek sarkopeniye neden olmaktadır.¹³⁰ Sepsisli hastalarda çoğunlukla hiperglisemi görülmektedir. İnsülin rezistansı gelişmektedir.¹³¹⁻¹³³

2.1.3.4. Sepsiste İmmunosupresyon

Sepsis, düzensiz konak tepkisi ile karakterize hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar mekanizmaların birlikte ortaya çıktığı bir durumdur. Hastaların çoğunda derin immünosupresyon belirtileri görülmektedir.^{134, 135} Bu immünosupresif aşamada

görülen ölümler, birincil enfeksiyonun kontrol edilememesinden ya da fırsatçı patojenlerin ikincil hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olmasından kaynaklanmaktadır.^{136, 137}

Sepsis durumunun, hiperinflamatuvar ya da immunosupresif fazının hangi aşamasında olduğu kişiye özgü etkili terapötik yaklaşım açısından çok önemlidir.¹³⁶ Sepsis kaynaklı immünosupresyonda CD4, CD8 T hücreleri, B hücreleri ve dendritik hücrelerde apoptozis artmaktadır.^{134, 135} LPS enjeksiyonu sonrası inflamatuvar sitokin üretimi gerçekleşmektedir. Ancak sonraki temasta miyeloid hücrelerin birçoğu LPS'ye yanıt verme yeteneğini kaybetmiştir.¹³⁵ Çünkü sepsiste monositler, endotoksine ve diğer TLR agonistlerine yanıt olarak pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezlenme kapasitesini azaltmaktadır.¹³⁸ Bu duruma endotoksin toleransı denmektedir.^{135, 138} Bu patofizyolojik durum antiinflamatuvar sitokin sentezi, monosit, makrofaj ve nötrofil inhibisyonu ile ilişkilidir.^{139, 140}

Tümör nekroz faktörü (TNF), IL-1 α , IL-6 ve IL-12 gibi pro-inflamatuvar sitokin salınımı azalırken IL-1 reseptör antagonisti (IL-1RA) ve IL-10 gibi anti-inflamatuvar araçların salınımı ya değişmemiş ya da artmıştır.^{135, 141} Yapılan çalışmalarda hastalarda lenfosit apoptozisi sonucu lenfopeniye rastlanmaktadır.¹³⁵

2.1.3.5. Organ Yetmezliği Gelişimi

Sepsisli hastaların çoğunda çoklu organ yetmezliği görülmektedir. Klinikte, kardiyovasküler, solunum, renal, nörolojik, hematolojik ve hepatik sistemler daha kolay izlenmekte iken gastrointestinal sistem daha zor takip edilebilmektedir.¹⁴²

Aşırı fibrin birikimine bağlı mikrovasküler oklüzyon, PAF ve histamin gibi vazoaktif ajanların mikrovasküler homeostazı bozması ve doku eksüdası birikimi ile oksijenlenmenin bozulması çoklu organ yetmezliğinin nedenleri arasındadır.¹³²

Nitrik oksit ile vazodilatasyon ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımı artmakta; solunum zinciri bozularak mitokondriyal solunum inhibe olmaktadır.¹⁴³⁻¹⁴⁵ Sepsis, akut solunum sıkıntısı sendromunun (ARDS) en yaygın nedenidir.¹⁴⁶

İndüklenebilir nitrik oksit sentazın (iNOS) aşırı ekspresyonunun endotel disfonksiyona neden olduğu düşünülmektedir.¹⁴⁷ Aşırı nitrik oksit (NO) üretimi, vazokonstriktörleri inhibe eder, düz kas hücrelerinin gevşemesini ve hipotansiyonun devamını sağlamaktadır.¹⁴⁸

Mikrovasküler disfonksiyonun gelişiminde glikokaliks yapısının bozulması ve endotel disfonksiyonu rol oynamaktadır. Glikokaliks, endotel yüzeyini kaplayan, kırmızı kan hücrelerinin akışını kolaylaştıran, lökositlerin ve trombositlerin endotele yapışmasını düzenleyen bir glikozaminoglikan tabakasıdır.¹⁴² Sepsis sırasında endotelyum ile lökosit ve trombositler arasındaki denge bozulmaktadır. Endotelyuma yapışmalar meydana gelebilmekte ya da pıhtılaşmanın aktivasyonu ile mikrotrombin oluşabilmektedir.^{149, 150}

2.2. Sepsisin Tedavisi

Günümüzde sepsisi tamamen tedavi eden ilaç yoktur, ancak destekleyici tedavi uygulanmaktadır¹⁵¹. Antibiyotik tedavisi, mekanik ventilasyon, sıvı resüsitasyonundaki olumlu gelişmelere rağmen sepsis, yoğun bakım ünitesinde yüksek mortaliteye neden olmaktadır.^{151, 152}

Sepsis başladıktan kısa bir süre sonra IL-1 reseptör blokajı veya TNF- α inhibisyonu ile antiinflamatuvar tedavinin uygulanmasında fayda vardır.^{135, 153, 154}

Çocuklarda görülen sepsis ve septik şok vakaları incelendiğinde tedaviye erken başlamanın çok önemli olduğu görülmüştür. Kültür antibiyogramı yapılarak uygun antibiyotiğin seçilmesi önemlidir.

Septik şok, sıvı resüsitasyonuna rağmen devam eden kardiyovasküler disfonksiyonlu sepsis anlamına gelmektedir. Yeterli sıvı verilmesi sonucu stabilizasyon

sağlanmazsa vazoaktif ajanlar verilmelidir. Dopamin, epinefrin veya norepinefrin infüzyonları ilk seçenek olarak önerilmektedir. Kortizon, adrenal yetmezliği olduğundan şüphelenilen veya bilinen hastalara verilebilir.¹⁵⁵

Anaerobik metabolizma, septik şokun patofizyolojisinde çok önemlidir. Laktat, hipoperfüzyonun değerli bir göstergesidir. Hiperlaktatemi, zayıf doku perfüzyonunu yansıttığı için ciddi bir sepsis belirtecidir. Sepsis tedavisinde amaç, etkin doku perfüzyonunu sağlamak ve mitokondrilere oksijeni ulaştırmaktır.¹⁵¹

2.2.1. Sepsisin Deneysel Modelleri

Deneysel sepsisi indüklemek için yaygın olarak üç tip model kullanılmaktadır: Toksik bir maddenin enjeksiyonu (lipopolisakkarit), canlı patojenlerin enjeksiyonu ve bariyer doku bütünlüğünün bozulması (bağırsak perforasyonu, yara sepsis modelleri, vb.)¹⁵⁶. İlk iki grup genelde cerrahi olmayan modelleri içerirken, üçüncü grupta cerrahi gereklidir.¹⁵⁷ İndüklenmiş sepsisin en yaygın deneysel fare modelleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.¹⁵⁷

Tablo 2.2. Sepsisin Deneysel Modellerinin Karşılaştırmalı Özellikleri

Sistemik LPS yönetimi ^{158, 159} Sepsis indüklemek için toksik ajanlar verilir (cerrahi olmayan yöntemler)	
Avantajları	Sınırlamalar
• Modelin elde edilmesi kolay, kontrol edilebilir, standartlaştırılmış ve tekrarlanabilir. • Sepsis gelişimi, LPS miktarı veya biyolojik aktivitesi değiştirilerek düzenlenir.	• Sepsisin hemodinamik, immünolojik ve metabolik özelliklerin modellenmesi zayıftır. • Polimikrobiyal sepsis yeniden üretilmez. • Kısa süreli bir bağışıklık tepkisi genellikle LPS tarafından tetiklenir.
Vücuda giren bakteriler ^{160 161 162} Canlı patojenler, sepsisi indüklemek için uygulanır (çoğunlukla cerrahi olmayan yöntemlerle)	
Avantajları	Sınırlamalar
• Modelin elde edilmesi kolaydır, tekrarlanabilir ve düşük invazivdir. • Modelde, belirli bir bakteri türüne karşı bağışıklık tepkisi incelenmektedir. • Klinik olarak ilgili patojenik bakteri suşlarının kullanılması mümkündür. • Sepsis gelişimi, bakteri sayısı ve bileşimi değiştirilerek düzenlenir.	• Sepsisin hemodinamik, immünolojik ve metabolik özellikleri zayıf bir şekilde modellenmiştir. • Endotoksemi, bakteri büyük miktarlarda uygulandığında gelişir. • Bazı bakteriler, düşük kalıcılık potansiyelleri nedeniyle sepsise neden olmazlar. • Bir bakteri suşu yaygın olarak kullanılırken, sepsis genellikle polimikrobiyaldir.
Çekal ligasyon ve ponksiyon (CLP) ^{160 163} Sepsisi tetiklemek için bariyer dokusunun bütünlüğü bozulur (cerrahi yöntemler)	
Avantajları	Sınırlamalar
• Model, doku iskemisi ile polimikrobiyal peritonit gelişimini taklit eder. • Hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar immün yanıtlar aktive edilir. • Sepsis gelişimi, delinme çapı veya ligasyon yeri uzunluğunun değiştirilmesi ve nekrotik bağırsak bölgesinin diseksiyonu ile düzenlenir.	• Yeniden üretebilirlik zayıftır çünkü standardizasyonun başarılması zordur. • Dokular ameliyatla yaralanır. • Delinme bölgesinin etrafında bir apse oluşur.

2.2.1.1. Lipopolisakkarid Verilerek Oluşturulan Septik Şok Modelleri

Endotoksin veya LPS, Gram negatif bakteri hücre duvarının temel bileşenidir.¹⁶⁴ LPS, inflamatuvar mediyatörlerin salınmasını uyarır ve sepsis süreci başlar. LPS, liyofilize formda saklanabilen stabil bir bileşik olduğu için uzun süre kullanılabilir. ^{165, 166} Bolus veya infüzyon olarak uygulanabilir.¹⁶⁵

Sepsiste en sık görülen mikroorganizmalar Escherichia coli. (%22), Streptococcus pneumonia (%16) ve Staphylococcus aureus (%12) olarak saptanmıştır.¹²

Sıçanlarda yüksek intravenöz LPS dozu, ani bir kardiyovasküler kollaps ve ölümle sonuçlanırken ¹⁶⁷, daha düşük bir doz, kalp debisinde erken bir artışla hiperdinamik bir yanıtı neden olur. ¹⁶⁸ Köpeklerde endotoksin uygulaması (2 mg / kg), arteriyel basınçta, kalp debisinde, hepatik kan akımında ani bir düşüş ve sistemik vasküler direnç ile şiddetli bir hipodinamik durumu tetikler. ¹⁶⁹

2.2.1.2 Çekum Bağlama ve Delme Modeli

CLP modelinin temel avantajı basitliği ve ucuzluğudur. Çünkü kolay bir cerrahi prosedür ile sepsis oluşturulmaktadır. ¹⁷⁰ Çekum orta kısmından ipek bir sütür ile sıkıca bağlandıktan sonra 21 gauge iğne yardımıyla çekumdan iki delik delinir. ¹⁶⁵ Bu method, perfore apandisit veya divertikülite benzeyen klinik tablo oluşturmakta ve insanda peritonite neden olan travmatik hasarı taklit etmektedir.^{170, 171} Diğer modellerle karşılaştırıldığında CLP, insan sepsisinin karmaşıklığını daha iyi göstermektedir. Bununla birlikte, insan sepsisinde çoğu terapötik müdahale etkisizdir. CLP yöntemi ile polimikrobiyal sepsis oluşmaktadır. İğne ucu büyüklüğünün değişmesi, çekum bağlama yerinin değişmesi veya delme sayısının değişmesi deneysel prosedürdeki farklılıklara neden olmaktadır.¹⁶⁴ Tüm bunlar, CLP indüklenmesi ile yapılan sepsisin dezavantajları arasındadır. ¹⁷¹

2.2.1.3. İntravenöz ve İntraperitonel Canlı Bakteri Uygulanması

Literatürde intravenöz *Escherichia coli* verilerek oluşturulan modeller bulunmaktadır. Tek bakteri modeli, insan sepsisinde bulunan bulaşıcı ajanların çeşitliliğini göstermemektedir. İnsanlar, kısa sürede bu kadar fazla bakteri ile karşılaşmamaktadır. Bakterilerle sürekli olarak meydan okuyan bir septik odağa sahiptirler.¹⁷¹

2.2.1.4. Sepsis ve Akciğer Hasarı

Sepsiste lipopolisakkaritler, IL-1 ve TNF- α gibi mediatörlerin salınmasına neden olmaktadır. IL-1, araşidonik asit metabolizmasını indükleyerek kompleman sistemi aktive etmektedir. Sonrasında TNF- α indüklenerek PAF sentezi gerçekleşmektedir. Bu durum akciğer hasarı ile sonuçlanmaktadır.¹⁷²

Kontrol edilemeyen inflamasyon, antioksidan sistemin yetersiz oluşu, koagülasyon sisteminin bozukluğu, hipoksi, aşırı immünolojik yanıt akciğer dokusunda harabiyete sebep olmaktadır.¹⁷²

Solunum sistemindeki endotel hasar, kan akışını bozmakta ve mikrovasküler geçirgenliği artırmaktadır. Bu durum pulmoner ödem ve sonrasında akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ile sonuçlanmaktadır.⁸³

Geniş alveolar alana ve zengin damar ağına sahip olan akciğerler, sepsiste görülen endotel hasarından en çok etkilenen organlardır.^{114, 173} Mitokondriyal ve reseptör aracılı yollar akciğerlerde apoptozise neden olmaktadır.^{114, 174} Sepsiste organ disfonksiyonları ya da ölümden sorumlu olan durumlar hücre hipoksisi ve apoptozdur.³²

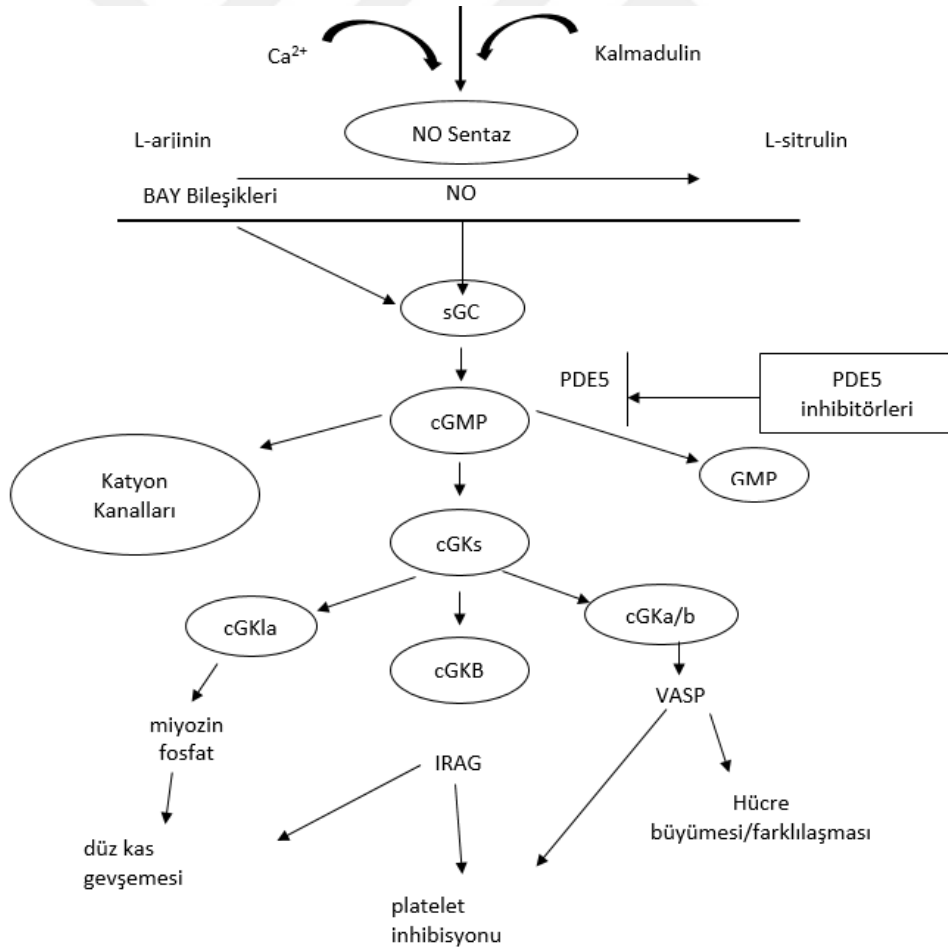
2.3. Hücre içi sinyal yolları

Hücre içi haberleşmede iki önemli öge bulunmaktadır. Bunlar cAMP ve cGMP'dir. Bu maddelerin sentezinden adenilat siklaz enzimi sorumlu iken yıkımından PDE ailesi sorumludur.¹⁷⁵

PDE-5 denildiğinde ilk akla gelen NO/cGMP yolağıdır. PDE-5 aktivitesinin artması cGMP'yi azaltarak NO miktarını düşürür. PDE-5 inhibisyonu ise NO üretimini artırarak vasküler yapılarda düz kas hücrelerini gevşeterek kan akımının yükselmesine neden olacaktır.¹⁷⁶ NO, böbreklerde glomerüler filtrasyon, renal kan akımı vb. fonksiyonların düzenlenmesinde mediyatör olarak görev yapmaktadır. Solunum yollarını düzenlemekte, patofizyolojik durumlarda ise, proinflamatuvar ve immün modülatördür.

2.3.1. Fosfodiesteraz sistemi

Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz (NOS) enzim ailesi tarafından L-arginin'den endojen olarak üretilen iki atomlu serbest radikal bir gazdır.¹⁷⁷ NO, çözünür guanilat siklazı (sGC) aktive ederek cGMP sentezini artırmaktadır.²⁷



Şekil 2.2. NO/cGMP Yolağı

L-argininden NOS aracılığı ile L-sitrülin ve NO meydana gelmektedir.⁶⁰ 3 NOS izoformu tanımlanmıştır. Nöronal NOS (nNOS) , indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotelial NOS (eNOS)

Sitoplazma içi artmış ikinci haberci molekül c-AMP, hücre içinde protein kinaz enzimini uyarır, sitoplazmada kalsiyum seviyesi düşer ve düz kas gevşemesi sağlanır.¹⁷⁸

cGMP, hücre büyümesi ve farklılaşması, düz kas gevşemesi, sekresyon, iyon taşınması, endotelial geçirgenlik ve gen transkripsiyonu üzerinde farklı etkilere neden olan hücre içi proteinleri aktive etmektedir.¹⁷⁹ cGMP'nin etkileri, PDE-5 tarafından sonlandırılmaktadır¹⁸⁰. PDE-5 inhibitörlerinin etkilerinin önemli ölçüde NO / Protein kinaz G (PKG) / cGMP yolağının aktivitesine bağlı olduğu belirtilmiştir.¹⁸¹

PDE-5 izoenzimleri hem hayvanlarda hem de insanda çok çeşitli dokularda tespit edilmiştir. Örneğin, korpus kavernozumun düz kas hücrelerinde, vasküler ve iç organ düz kaslarında, iskelet kasında, trombositlerde, böbrek, akciğer, omurilik, beyincik, pankreas, prostat, üretra ve mesanede bulunmaktadır.¹⁸²⁻¹⁸⁴

Fosfodiesterazlar (PDE'ler), 11 izoenzimden oluşan bir enzim ailesidir.^{185, 186} PDE-5, penis ve akciğerlerdeki vasküler düz kas fonksiyonlarını düzenlemekte, trombositlerde pıhtılaşma mekanizmasına katkı sağlamakta ve beyinde cGMP aktivasyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır.¹⁸⁷ PDE-5, hem pulmoner damarların hem de hava yollarının düz kaslarında bulunmaktadır.¹⁸⁸ PDE-5 inhibitörlerinin KOAH'ta kullanımı ile ilgili çalışmalara rastlanmıştır.¹⁸⁹

PDE-5 inhibitörleri, vasküler yapılarda cGMP yıkımını azaltarak düz kas hücrelerini gevşetmekte ve bunun sonucunda kan akımını artırmaktadır. PDE-5 inhibisyonu ile vazodilatasyon yapan cGMP miktarı artmakta ve pulmoner arter basıncı düşmektedir. Bu nedenle PDE-5 inhibitörleri pulmoner hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır.^{188, 190-192}

2.3.2. Fosfodiesteraz Sistemi ve İmmün Yanıt

PDE-5 in inhibisyonu, cGMP'ye bağı protein kinazı aktive eden cGMP'nin hücre içi birikimine ve ardından spesifik substrat proteinlerinin fosforilasyonuna neden olmaktadır. İkinci bir haberci olarak cGMP; sinyal iletiminde, düz kas gevşemesi, platelet inhibisyonu ve hücre büyümesi düzenlenmesinde rol oynamaktadır.¹⁹³ NO'in çözünebilir guanilat siklaz (sGC) aktivasyonu ile cGMP meydana gelmekte ve protein kinaz G (PKG)'nin aktivasyonu ile düz kas gevşemesi görülmektedir.¹⁹⁴

Hem nNOS hem de eNOS, kardiyovasküler sistemde yapısal olarak bulunmaktadır. eNOS çoğunlukla koroner vasküler ve endokardiyal endotelial hücrelerde bulunurken, nNOS ağırlıklı olarak sarkoplazmik retikulumda lokalizedir.

Sepsisli hastalarda, immün ve inflamatuvar yanıtta değişiklikler görülmektedir. Nötrofillerin sayısı azalmakta ve fagositik yetenekleri inhibe olmaktadır.¹⁹⁵ Nötrofil fonksiyonlarında anormallikler görülmüştür. Monositlerin ise kemotaksis özellikleri bozulmaktadır.¹⁹⁶

2.4 Fosfodiesteraz inhibitörleri ve kullanım alanları

PDE-5 inhibitörleri, cGMP yıkımını engelleyip protein kinaz G enzimi ile düz kasları gevşetmektedir. NO, hücre içi cGMP seviyelerini artırarak düz kas gevşemesi yapar ve bu seviyeler, sildenafil tarafından PDE-5'in inhibisyonu ile korunur.¹⁹⁷⁻¹⁹⁹

Sepsis ve endotoksemi, ROS üretilmesine yol açmaktadır.²⁰⁰ Bu durum, oksidan-antioksidan dengesizliği ile sonuçlanabilmektedir.²⁰¹ Endotel hasarı, kemotaktik faktörlerin oluşumu, nötrofil takviyesi, sitokin salınımı ve mitokondriyal hasar ROS'un proinflamatuvar etkileri arasında yer almaktadır.²⁰² Böbrek ve akciğerlerde organ disfonksiyonu görülebilmektedir.²⁰³

Sildenafil, seksüel disfonksiyonun tedavisi için seçici ve güçlü bir fosfodiesteraz (PDE-5) inhibitörüdür.^{204, 205} cGMP metabolizmasının inhibisyonu, nitrik oksit (NO)

aracılığı ile insan korpus kavernozumunu besleyen düz kasların gevşemesinin artmasıyla sonuçlanmaktadır. PDE-5'in inhibisyonu ile sıklık AMP ve GMP konsantrasyonu artmaktadır. Birçok çalışmada, PDE-5 inhibitörleri ile, düz kas gevşemesi, hücre proliferasyonu ve doku perfüzyonunun ilişkili olduğu görülmüştür.²⁰⁶

PDE-5 inhibisyonu ile pulmoner vasküler düz kaslar gevşemektedir.²⁰⁷ Yapılan bir çalışmada, sildenafilin oksidatif stresi azalttığı görülmüştür.²⁰⁸ Sildenafil ile ilgili yapılan bir başka çalışmada sildenafilin CLP ile indüklenen sepsiste TNF- α düzeyini düşürerek akciğer ve böbrek hasarında koruyucu etkiler gösterdiği biyokimyasal ve histopatolojik çalışmalarla gösterilmiştir.²¹

2.4. Avanafil ve kullanım alanları

Hücre içi haberleşmede iki önemli öge bulunmaktadır. Bunlar cAMP ve cGMP'dir. Bu maddelerin sentezinden adenilat siklaz, guanilat siklaz enzimleri sorumlu iken yıkımından PDE enzimleri sorumludur.¹⁷⁵

PDE-5 denildiğinde ilk akla gelen NO/cGMP yolağıdır. PDE-5 aktivitesinin artması cGMP'yi azaltarak NO miktarını düşürecektir. PDE-5 inhibisyonu ise NO üretimi artırarak kan akımının yükselmesine neden olacaktır.¹⁷⁶

Fosfodiesteraz 5 inhibitörleri (PDE-5), cGMP düzeylerini artırır ve bu durum NO konsantrasyonunun artması ile sonuçlanır. NO, düz kasta guanilat siklazın aktivasyonu ile arteriyoler tonüsü düşürür, trombosit agregasyonunu, trombüs oluşumunu azaltır ve endotel yüzeyi ile lökositler arasındaki adheziv etkileşimi minimum düzeye indirir.

PDE-5'in fosforilasyonu, cGMP afinitesini arttırmaktadır. cGMP / PKG yolağında düzenleyici inhibisyon ile cGMP seviyelerini normale dönmektedir.²⁰⁹ PKG aktivasyonu, endotelial geçirgenlik, vasküler düz kasta vazorelaksasyon, hücre farklılaşması ve çoğalması gibi fizyolojik fonksiyonları düzenleyen hücre içi proteinleri fosforile

etmektedir¹⁷⁹. Bu yüzden PDE-5 inhibitörlerin kardiovasküler sistem üzerine olan etkilerini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır.²¹⁰

Avanafil, PDE-5'in seçici, güçlü ve hızlı etkili bir inhibitörüdür²³. FDA tarafından onaylanan birinci jenerasyon olan sildenafil, vardenafil ve tadalafilen sonra ikinci jenerasyon olarak avanafil bulunmaktadır. Avanafil ilk jenerasyon PDE-5 inhibitörlerinden çok daha farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir. Bu özelliklerden dolayı çok daha güvenli ve klinik olarak daha etkili olması beklenmektedir.^{211, 212} Yapılan son çalışmalar, PDE-5 inhibitörlerinin kronik uygulamasının endotel fonksiyonunu iyileştirdiğini, vasküler düz kas yapısını koruduğunu ve peniste fibrotik değişiklikleri azalttığını göstermektedir. Bu ajan, erektil disfonksiyonlu erkeklerin tedavisinde kullanıldığında mükemmel tolere edilebilirlik ve az yan etki ile olumlu bir farmakokinetik ve farmakodinamik profil sergilemektedir. Ayrıca, avanafil 15 dakika gibi kısa bir sürede daha hızlı bir hareket başlangıcına sahiptir.²¹³ Bu durum, sildenafil, vardenafil ve tadalafil gibi diğer PDE-5 inhibitörlerine göre avanafille bir avantaj sağlayabilir.²⁵ Avanafil daha hızlı ve daha kısa etki sürelidir.²⁶ Bu grup ilaçlar, erektil disfonksiyon ve pulmoner hipertansiyonda kullanılmaktadır. Literatürde, prostatektomi sonrası erektil disfonksiyonlu erişkin erkeklerin tedavisinde 100 ve 200 mg avanafil kullanımının güvenli ve etkili olduğu görülmüştür²⁹. European Medicines Agency (EMA) ye göre avanafilin farmakokinetik özelliklerine bakıldığında yaklaşık 6-17 saatlik bir terminal yarı ömre sahip olduğu görülmüştür. Preklinik güvenlik datalarında gebe ratlarda, 300 mg / kg / gün'e kadar olan dozlarda teratojenite, embriyotoksisite veya fetotoksisite kanıtına rastlanmamıştır. Ancak tavşanlar ile yapılan bir çalışmada, 240 mg / kg / gün dozu ile maternal toksisite gözlenmiştir.

Çalışmamızda, avanafilin sıçanlarda çekum bağlama ve delme (CLP) ile indüklenen sepsis modelinde akciğer hasarı üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

CLP'ye karşı oksidatif stresi azaltarak sepsiste koruyucu etkilerini görmeyi planladık. Avanafilin, CLP ile indüklenmiş sepsis modelinde TNF- α düzeyini düşürerek akciğer hasarını önlemede koruyucu bir ajan olabileceği hipotezinde bulunduk. Avanafilin özellikle farklı kimyasal ve fiziksel özelliklerden dolayı sepsiste diğer PDE-5 inhibitörlerinden daha hızlı ve etkin olacağını umut etmekteyiz.



3. MATERYAL VE METOT

Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenen 2019/7397 nolu ‘Hızlı etkili PDE-5 enzim inhibitörü Avanafil’in sıçanlarda çekum bağlama ve delme ile indüklenen sepsis modelinde akciğer hasarı üzerine etkilerinin incelenmesi’ adlı çalışmanın, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun E.1900138319 sayılı ve 83 nolu kararı (Ek-2) ve Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün 1900146918 sayılı 2019/20 Yönetim Kurulu Gündemi konulu karar metni ile etik kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir (Ek-2).

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal Malzemeler ve Kitler

Çalışılan çözücüler ve kimyasal maddeler yüksek saflıkta piyasada bulunmaktadır.

Tablo 3.1. Kimyasal Maddeler ve Kitlerin Firmaları

Kimyasal Malzemeler ve Kitler	Firma
Avanafil	Bldpharm®CHINA
Formaldehit solüsyonu %37	Isolab Chemicals® GERMANY
Rat PDE-5 Elisa Kiti	Sunlong Biotech® CHINA
Rat GSH Elisa Kiti	Sunred Biotech® CHINA
Rat IL-1 β Elisa Kiti	Sunred Biotech® CHINA
Rat IL-6 Elisa Kiti	Sunred Biotech® CHINA
Rat MDA Elisa Kiti	Sunred Biotech® CHINA
Rat SOD Elisa Kiti	Sunred Biotech® CHINA
Rat TNF-alfa Elisa Kiti	Sunred Biotech® CHINA
Ketax enjeksiyonluk çözelti	Vem İlaç® Tekirdağ, TÜRKİYE
Rompun enjeksiyonluk çözelti	Bayer Healthcare® USA
Etanol ($\geq$ % 99.5)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA

3.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Tez kapsamında yapılan biyokimyasal analizler esnasında kullanılan alet ve cihazlar Tablo 3.2’de sunulmuştur.

Tablo 3.2. Tez Kapsamında Yapılan Biyokimyasal Analizler Esnasında Kullanılan Alet ve Cihazlar

Adı/Modeli	Firma
Buzdolabı (+4 °C ve -20 °C)	Vestel®, Türkiye
Derin dondurucu (-80 °C)	GLACIER®,
Hassas terazi	Shimadzu®, Japonya
Etüv	NuAire®, Amerika
Kültür kabı (75 cm ²)	Gibco®, İngiltere
pH metre	Schott CG 842®, Filipinler
Pipet seti	Eppendorf®, Almanya
Santrifüj	Hettich UNIVERSAL 32R®, İngiltere
TissueLyser II	QIAGEN®, Almanya

3.1.3. Deney Protokolü ve Süreçleri

Çalışmamızda, Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi’nden (ATADEM) temini sağlanan ağırlıkları 220-250 gram arasında değişebilen toplam 60 adet Albino Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Denekler, 22°C oda sıcaklığında 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlıkta kalacak şekilde musluk suyu ve pellet yem ile beslendi. Bir hafta sonra denekler, her grupta 6 adet sıçan olacak biçimde randomize bir şekilde gruplara ayrıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.3. Deney Grupları

Gruplar	Hayvan sayısı	İlaç ve dozları
Grup 1	10	Sham operasyonlu kontrol grubu
Grup 2	10	Sham+100 mg/kg Avanafil
Grup 3	10	CLP
Grup 4	10	CLP+ 25 mg / Kg Avanafil
Grup 5	10	CLP+ 50 mg / Kg Avanafil
Grup 6	10	CLP+ 100 mg / Kg Avanafil

Avanafil (Bldpharm, CAT No: BD289977, China), farklı dozları (25 mg/kg, 50 mg/kg ve 100 mg/kg) suda çözünerek hazırlandı ve AVA gruplarına oral yolla uygulandı.

3.2. Metot

3.2.1. Çekal Ligasyon ve Ponksiyon Tekniği

Sıçanlara ketamin (20 mg/kg)/ ksilazin (10 mg/kg) kombinasyonundan intraperitoneal verildi. Sıçanların karın bölgeleri traş edildi ve peritonu açmak için laparotomi yapıldı. Çekum orta kısmından 4/0 ipek bir sütür ile sıkıca bağlandıktan sonra 21 gauge iğne yardımıyla çekumdan iki delik delindi. Anestezi altında, çekal ligasyon ponksiyonu ile sepsis indüklenirken, kontrol gruplarına sadece laparotomi yapıldı. Daha sonra çekum periton boşluğuna yerleştirilerek ipek sütür ile kapatıldı. Tüm sıçanlara cerrahi işlem esnasında salin verildi ve sepsis işleminden bir saat sonra ilaç uygulaması yapıldı. Avanafil, IP 25 mg/kg, 50 mg/kg ve 100 mg/kg olacak şekilde uygulandı. Cerrahi işlemden sonra sıçanlara yem ve su verildi. Tüm sıçanlara 16 saat sonra ketamin/ksilazin kombinasyonunun ip uygulanmasıyla sakrifiye edilerek akciğer dokuları alındı ve -80°C’de muhafaza edildi.

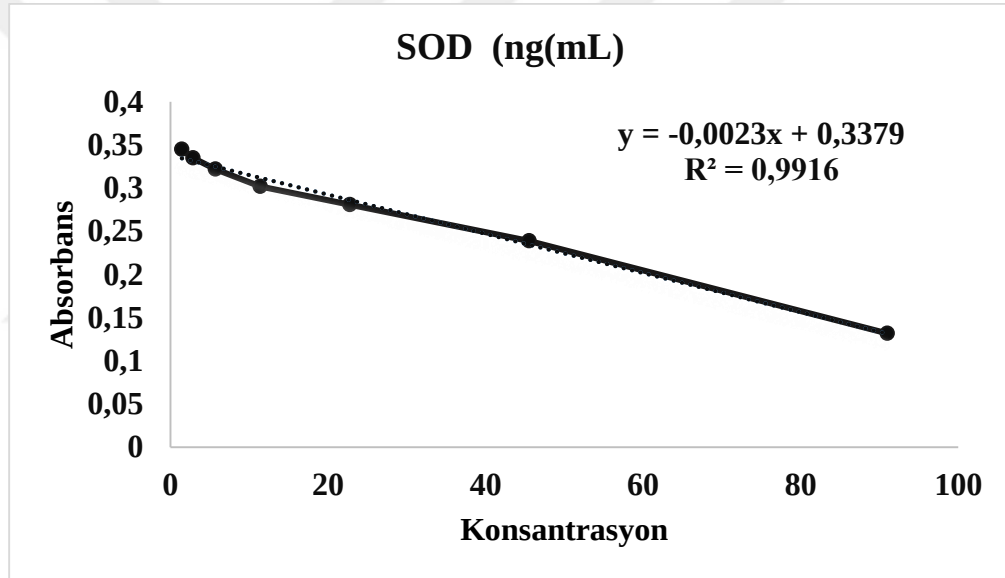
3.3. Dokularda Biyokimyasal Analizler

Sıçanlardan alınan akciğer dokuları öğütüldü. Tüm doku örneklerinden 50 mg tartılarak 1 mL fosfat tamponu (100 Mm, pH 7.0) içerisinde TissueLyser II (Qiagen,

HILden, Almanya) kullanılarak homojenize edildi. Tüm örnekler daha sonra santrifüj edilerek süpernatant kısımlarında süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), TNF- α , IL-1 β , IL-6, fosfodiesteraz 5 (PDE-5) seviyeleri, üç tekrar olacak şekilde ELISA yöntemiyle ölçüldü.

3.3.1. Akciğer Dokularına Ait SOD Aktivitesi Ölçümü

Doku SOD düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0169) kitiyle ölçüldü. Doku SOD düzeyi ölçümü için Rat SOD monoclonal antibody (monoklonal antikor) ile kaplı plate (plaka) kullanıldı. 4-64 ng/ml (4; 8; 16; 32; 64 ng/ml) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



Şekil 3.1. SOD Standart Grafiği

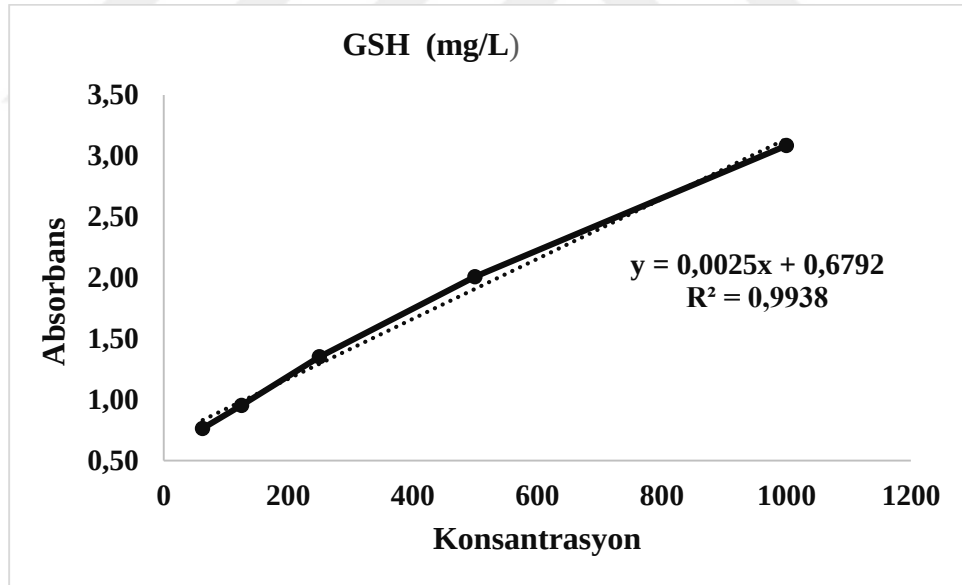
Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 μ L Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonunu eklendi. Kör kuyucuğuna her birinden 50 μ L olmak üzere Kromojen A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40 μ L numune, 50 μ L Streptavidin HRP ve 10 μ L SOD antibody eklendi.

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C

de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playttteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.2) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.3.2. Akciğer Dokularına Ait GSH Düzeyi

Doku GSH düzeyi ölçümü için Rat GSH monoclonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. 62,5-1000 mg/L (62,5; 125; 250; 500; 1000 mg/L) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



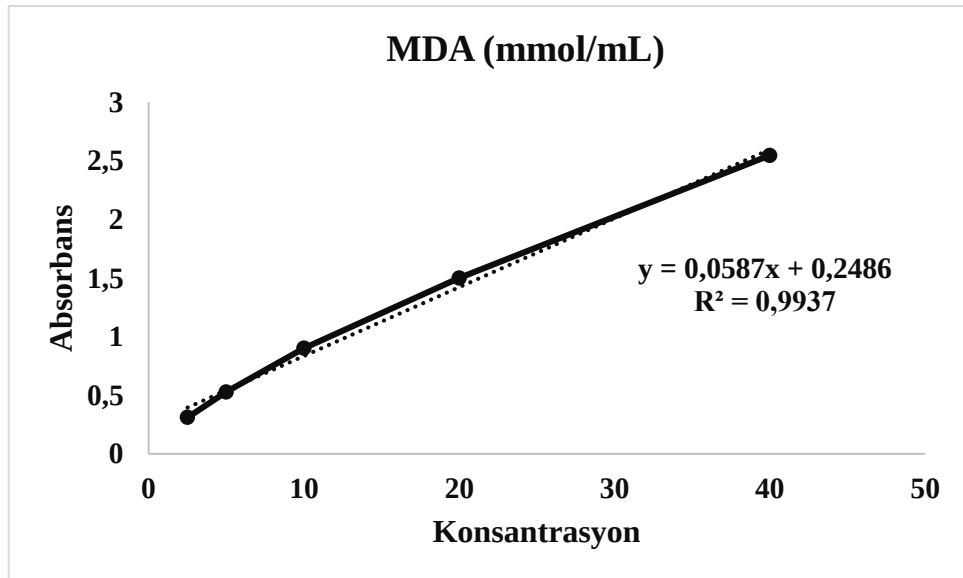
Şekil 3.2. GSH Standart Grafiği

Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 µL Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonu eklendi. Kör kuyucuğuna herbirinden 50 µL olmak üzere Kromojen A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40µL numune, 10µL GSH antibody ve 50µL Streptavidin HRP eklendi.

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playtteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.1) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.3.3 Akciğer Dokularına Ait MDA Düzeyi

Doku MDA düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0157) kitiyle ölçüldü. Doku MDA düzeyi ölçümü için Rat MDA monoclonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. 2,5-40 nmol/ml (2,5; 5; 10; 20; 40 nmol/ml) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



Şekil 3.3. MDA Standart Grafiği

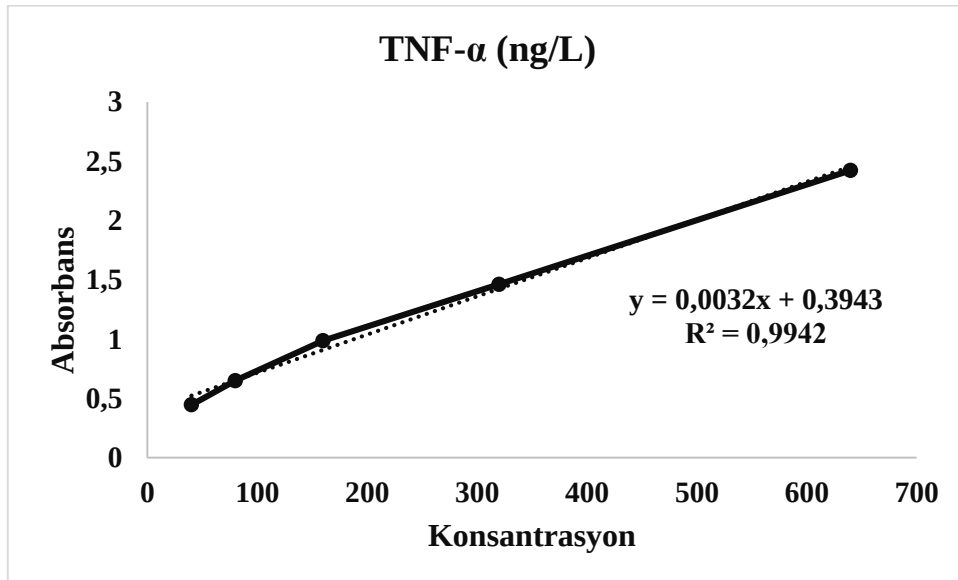
Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 µL Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonu eklendi. Kör kuyucuğuna herbirinden 50 µL olmak üzere Kromojen

A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40µL numune, 10µL MDA antibody ve 50µL Streptavidin HRP eklendi.

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playttteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.1) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.3.4 Akciğer Dokularına Ait TNF-α Düzeyi

Doku TNF-α düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0765) kitiyle ölçüldü. Doku TNF-α düzeyi ölçümü için Rat TNF-α monoclonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. 40-640 ng/L (40; 80; 160; 320; 640 ng/L) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



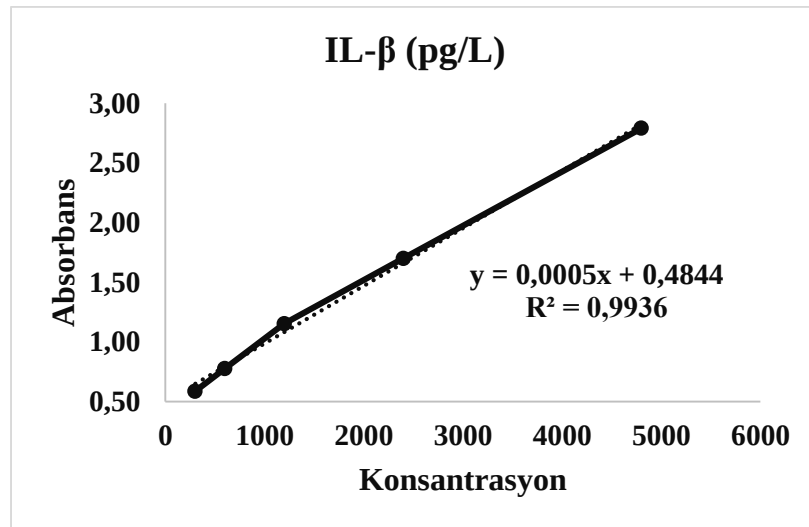
Şekil 3.4. TNF-α Standart Grafiği

Standart kuyucuklarına 50 µL standart solüsyonu ve 50 µL Streptavidin-HRP solüsyonundan eklendi. Kör kuyucuğuna 50 µL Kromojen A, 50 µL Kromojen B ve 50 µL Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40 µL numune, 10 µL GSH antibody ve 50 µL Streptavidin HRP eklendi.

Standart, kontrol ve numuneler iki tekrar olacak şekilde çalışıldı. Plate birkaç saniye hafifçe çalkalandıktan sonra üzeri kaplayıcı membranla kapatılarak 37 °C'de 60 dk inkübe edilerek 3 kez yıkama işlemi yapıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µL Kromojen A, 50 µL Kromojen B solüsyonundan eklendi ve hafifçe çalkalandıktan sonra 37 °C de karanlık ortamda 10 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra tüm kuyucuklara 50 µL Stop solüsyonu eklendi. 15 dk içerisinde numunelerin ve standartların 450 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen standart grafiğe ve seyreltme faktörüne göre (Şekil 3.4) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı .

3.3.5. Akciğer Dokularına Ait IL-1β Düzeyi

Doku IL-1β düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0120) kitiyle ölçüldü. Doku IL-1β düzeyi ölçümü için Rat IL-1β monoclonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. Konsantrasyonları 300-4800 pg/L (300; 600; 1200; 2400; 4800 pg/L) arasında değişen standartlar hazırlandı.



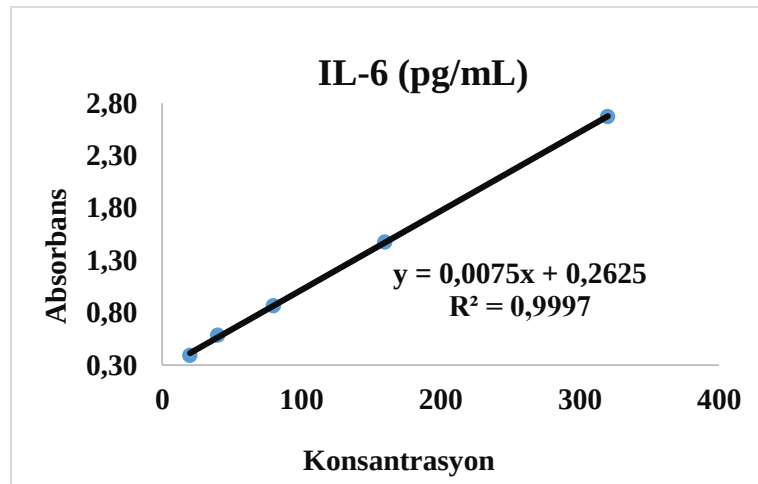
Şekil 3.5. IL-1β Standart Grafiği

Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 µL Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonu eklendi. Kör kuyucuğuna herbirinden 50 µL olmak üzere Kromojen A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40µL numune, 10µL TNF-α antibody ve 50µL Streptavidin HRP eklendi.

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playttteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.6) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.3.6. Akciğer Dokularına Ait IL-6 Düzeyi

Doku IL-6 düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0136) kitiyle ölçüldü. Doku IL-6 düzeyi ölçümü için Rat IL-6 monoclonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. 20-320 pg/ml (20; 40; 80; 160; 320 pg/ml) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



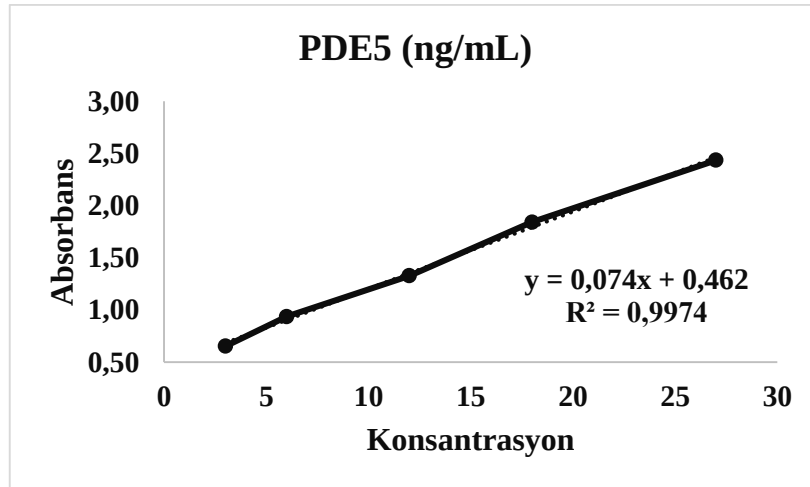
Şekil 3.6 . IL-6 Standart Grafiği

Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 µL Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonu eklendi. Kör kuyucuğuna herbirinden 50 µL olmak üzere Kromojen A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40µL numune, 10µL IL-6 antibody ve 50µL Streptavidin HRP eklendi.

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playttteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.4) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.3.7. Akciğer Dokularına Ait PDE-5 Düzeyi

Doku PDE-5 düzeyi SunLong (Cat No:SL1135Ra) kitiyle ölçüldü. Doku PDE-5 düzeyi ölçümü için Rat PDE antibody ile kaplı plate kullanıldı. 1,5-18 ng/ml (1,5; 3; 6; 12;18 ng/ml) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



Şekil 3.7. PDE-5 Standart Grafiği

Numune kuyucuğuna 40 µL Sample dilution buffer ve 10 µL numune pipetlendi (dilüsyon faktörü 5). Kör kuyucuğa 50 µL Kromojen A, 50 µL Kromojen B ve 50 µL Stop solüsyonu eklendi.

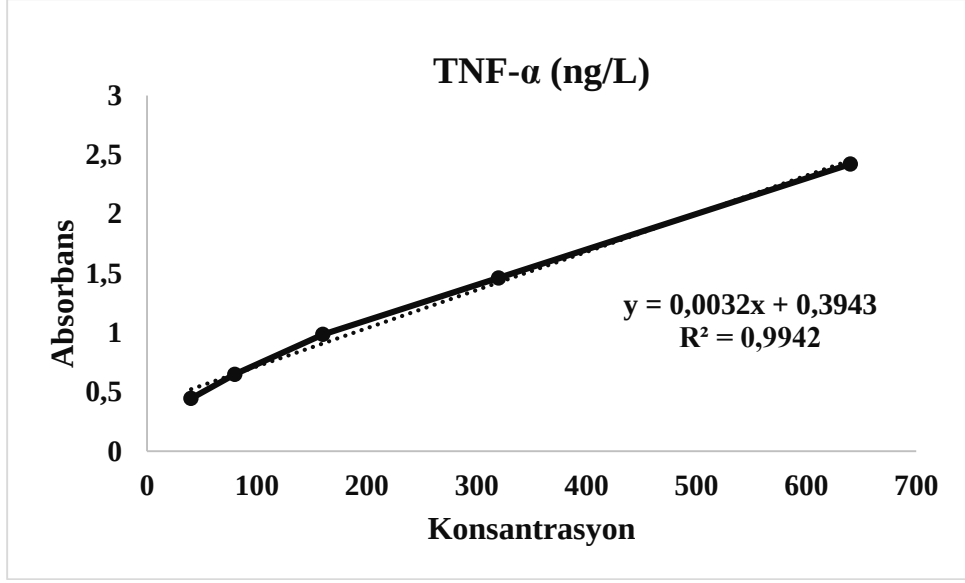
Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 5 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playtteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.7) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.4. Serumda Biyokimyasal Analizler

Serum örnekleri için 20 dakika 3000 rpm'de santrifüj yapıldı. Supernatant kısımlarında TNF- α , IL-1 β , IL-6, fosfodiesteraz 5 (PDE-5) seviyeleri, üç tekrar olacak şekilde ELISA yöntemiyle ölçüldü.

3.4.1. Serum TNF- α Düzeylerinin Ölçümü

Serum TNF- α düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0765) kitiyle ölçüldü. Serum TNF- α düzeyi ölçümü için Rat TNF- α monoclonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. 40-640 ng/L (40; 80; 160; 320; 640 ng/L) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



Şekil 3.8. TNF- α Standart Grafiği

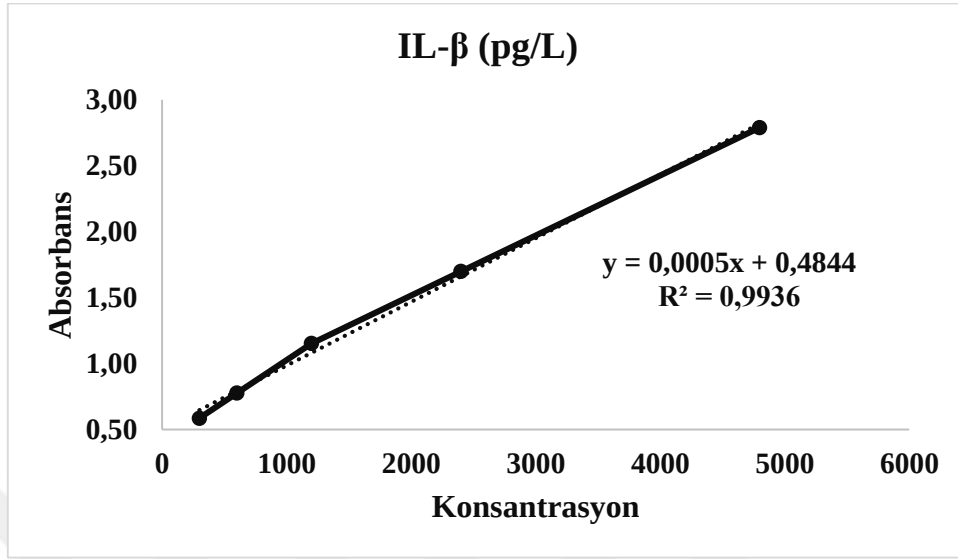
Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 μ L Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonu eklendi. Kör kuyucuğuna herbirinden 50 μ L olmak üzere Kromojen A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40 μ L numune, 10 μ L TNF- α antibody ve 50 μ L Streptavidin HRP eklendi.

Standart, kontrol ve numuneler üç tekrar olacak şekilde çalışıldı. Plate birkaç saniye hafifçe çalkalanıp üzeri kaplayıcı membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C’de inkübe edildi. 3 kez yıkama işlemi yapıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 50 μ L Kromojen A, 50 μ L Kromojen B solüsyonundan eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra tüm kuyucuklara 50 μ L Stop solüsyonu eklendi. Standartların ve numunelerin 450 nm’de absorbansları 15 dakika içerisinde ölçüldü. Elde edilen standart grafiğe ve seyreltme faktörüne göre (Şekil 3.8) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.4.2. Serum IL-1 β Düzeylerinin Ölçümü

Serum IL-1 β düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0120) kitiyle ölçüldü. Serum IL-1 β düzeyi ölçümü için Rat IL-1 β monoclonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. 300-4800

pg/L (300; 600; 1200; 2400; 4800 pg/L) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



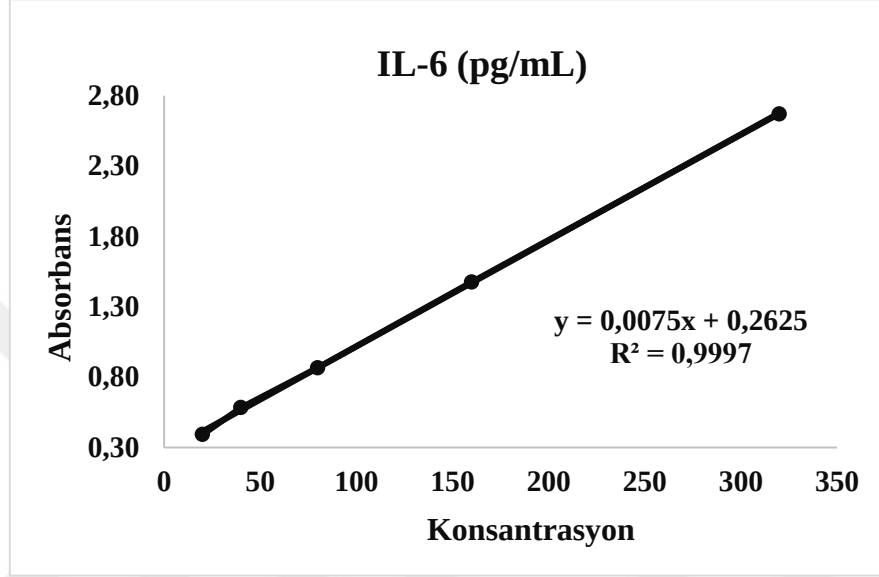
Şekil 3.9. IL-1β Standart Grafiği

Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 µL Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonu eklendi. Kör kuyucuğuna herbirinden 50 µL olmak üzere Kromojen A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40µL numune, 10µL IL-1β antibody ve 50µL Streptavidin HRP eklendi.

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama işlemleri yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playttteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.9) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.4.3. Serum IL-6 Düzeylerinin Ölçümü

Serum IL-1 β düzeyi SunRed (Cat No: 201-11-0120) kitiyle ölçüldü. Serum IL-1 β düzeyi ölçümü için Rat IL-1 β monoklonal antibody ile kaplı plate kullanıldı. 300-4800 pg/L (300; 600; 1200; 2400; 4800 pg/L) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



Şekil 3.10. IL-6 Standart Grafiği

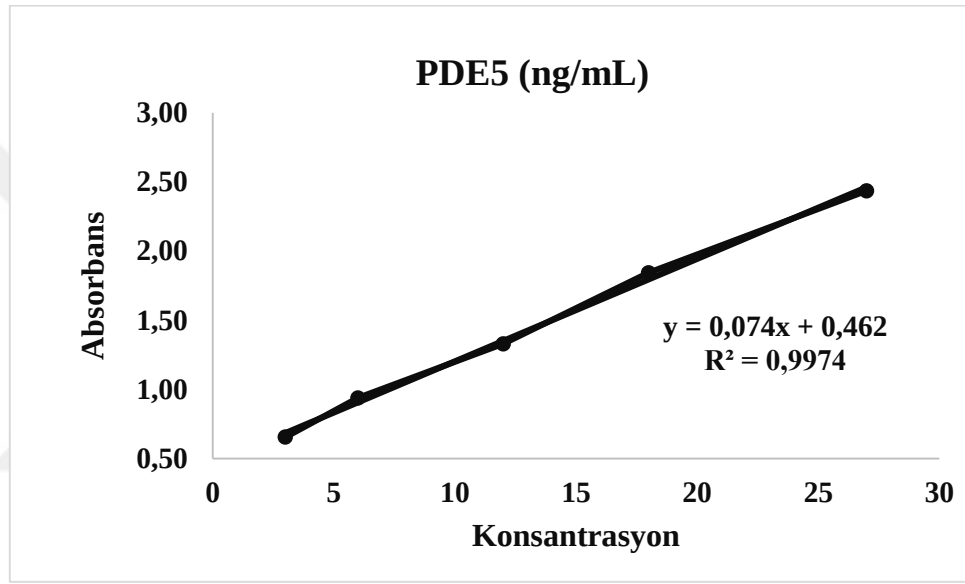
Kit içeriğinde bulunan standart kuyularına 50 μ L Streptavidin-HRP solüsyonu ve standart solüsyonu eklendi. Kör kuyucuğuna herbirinden 50 μ L olmak üzere Kromojen A, Kromojen B ve Stop solüsyonu eklendi. Numune kuyucuklarına, 40 μ L numune, 10 μ L IL-1 β antibody ve 50 μ L Streptavidin HRP eklendi.

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 μ L eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playttteki tüm kuyucuklara stop solüsyonu 50 μ L eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde

450 nm’de ölçüldü. 450 nm’de kör’e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.9) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.4.4. Serum PDE-5 Düzeylerinin Ölçümü

Doku PDE-5 düzeyi SunLong (Cat No:SL1135Ra) kitiyle ölçüldü. Doku PDE-5 düzeyi ölçümü için Rat PDE antibody ile kaplı plate kullanıldı. 1,5-18 ng/ml (1,5; 3; 6; 12;18 ng/ml) arasında değişen standart konsantrasyonlar hazırlandı.



Şekil 3.11. PDE-5 Standart Grafiği

Numune kuyucuğuna 40 µL Sample dilution buffer ve 10 µL numune pipetlendi (dilüsyon faktörü 5). Kör kuyucuğa 50 µL Kromojen A, 50 µL Kromojen B ve 50 µL Stop solüsyonu eklendi

Numuneler, kontrol ve standartlar üç tekerür olmak üzere çalışıldı. Plate shaker ile 10-20 saniye hafifçe sallandıktan sonra üzeri membranla kapatılarak 60 dakika 37 °C de inkübe edildi. Ardından 5 defa yıkama işlemi yapıldı. Sonra her bir kuyucuğa Kromojen A, Kromojen B solüsyonları 50 µL eklendi ve hafifçe çalkalanıp karanlık ortamda 37 °C de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra playttteki tüm kuyucuklara stop

solüsyonu 50 µL eklendi. Plate'e stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde 450 nm'de ölçüldü. 450 nm'de kör'e karşı standart grafik elde edildi. Standard grafikten elde edilen denklem ve seyreltme faktörü göre (Şekil 3.7) numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.5. Histolojik Analizler

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan doku örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Rutin doku takip işlemleri sonucu parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Leica DM 1000, Germany). Kesitler immün pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

3.6. İmmunohistokimyasal inceleme

İmmünperoksidaz inceleme amacıyla adezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan tüm kesitler ksilol ve alkol serilerinden geçirildi. Kesitler PBS ile yıkandıktan sonra %3'lük H₂O₂' de 10 dk. tutularak endojen peroksidaz inaktivasyonu sağlandı. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için antijen retrieval solüsyonu ile 2x5 dk 500 watt' da mikrodalga fırında muamele edildikten sonra soğumaya bırakıldı. Dokular 37° C' de 30 dk. IL 1 β ve Tnf-α Antibody (Katolik no: sc52012, dilution 1/50; sc52746, dilution 1/50; Santa Cruz, USA) ile inkube edildi. İmmunohistokimya kit prosedürüne (AbcamHRP/DAB Detection IHC kit) göre takip edildi. Kromojen olarak 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Hematoksilin ile zemin boyama yapıldı. Kesitler immün pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

3.7. İstatiksel Analizler

Çalışmamızın verileri IBM 22.00 SPSS paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Verilerimizin normal dağılıma (Gaussian) uyumunu test etmek

için Shapiro-Wilk W testi her bir gruba uygulandı, p değeri 0.05'ten büyük çıkan verilerimizin normal dağıldığı kabul edildi, ayrıca normal dağılımı test etmek için skewness testi kullanıldı. Varyansların homojenliğini test etmek için levene testi kullanıldı. P değeri 0.05'ten büyük çıkan verilerimizin varyanslarının homojen olduğu kabul edildi. Çalışmamızda varyansları homojen çıkmayan verilerimizin istatistiği tek yönlü ANOVA testinden post-hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Games-Howell'e göre yapıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Çalışmamızda varyansları homojen çıkan verilerimizin istatistiği tek yönlü ANOVA testinden post-hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı. Kontrol grubuyla diğer gruplar karşılaştırıldığında Φ $p < 0.05$, $\Phi\Phi$ $p < 0.01$, $\Phi\Phi\Phi$ $p < 0.001$ işaretleri kullanıldı. Sepsis grubuyla diğer gruplar karşılaştırıldığında α $p < 0.05$, $\alpha\alpha$ $p < 0.01$, $\alpha\alpha\alpha$ $p < 0.001$ işaretleri kullanıldı.

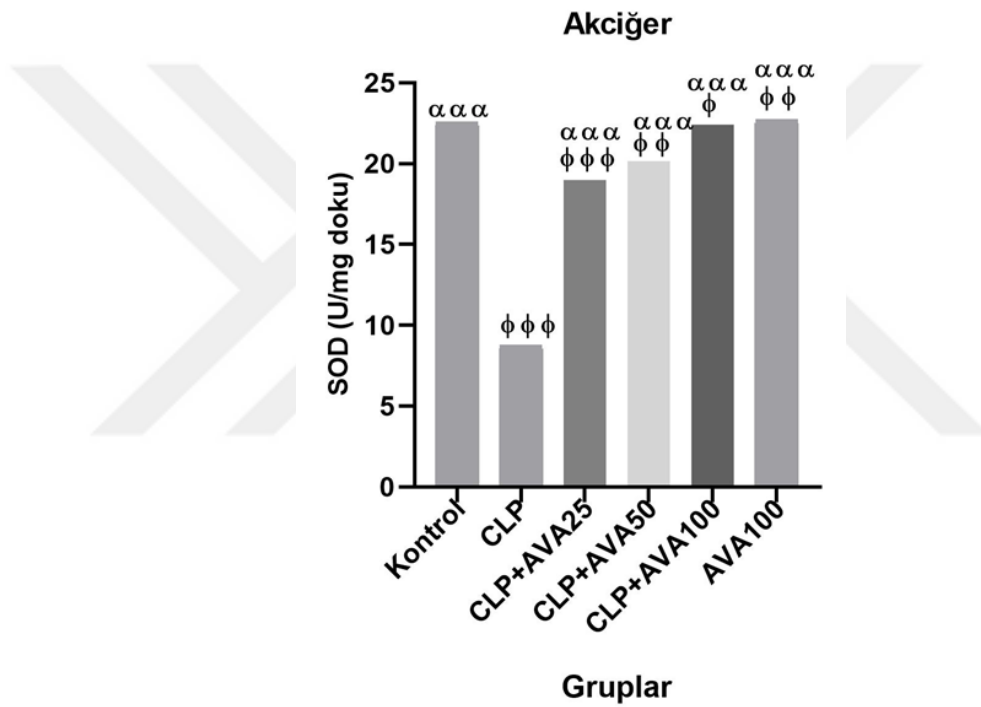
Histopatolojik incelemede semikantitatif olarak elde edilen verilerin gruplar arasındaki farklılıkların analizi için nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, ikili grupların mukayesesi için Mann Whitney U testi kullanıldı. Bu istatistik analizleri için SPSS 13.0 paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Akciğer Dokusuna Ait Antioksidan Sonuçları

4.1.1. Akciğer Dokusuna Ait SOD Enzim Aktiviteleri

Reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturan SOD enziminin kontrol grubuna kıyasla CLP grubunda anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p<0.001$). AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında doza bağlı bir şekilde SOD aktivitesini (Şekil 4.1) anlamlı şekilde arttırdığı gözlemlendi.

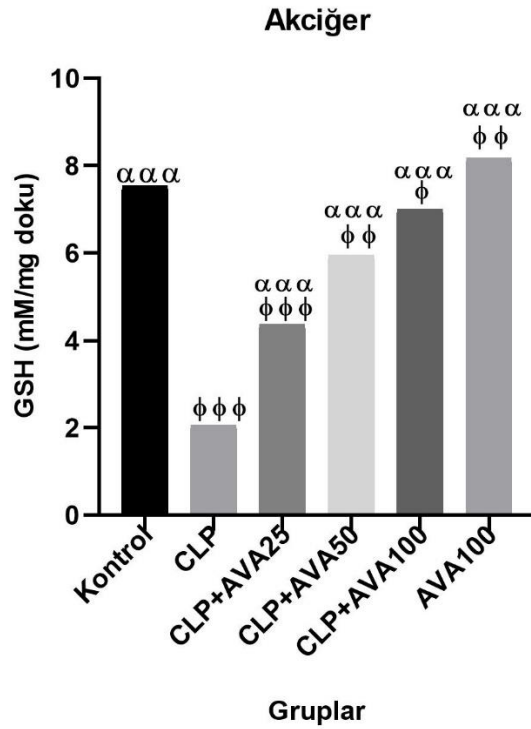


Şekil 4.1. Akciğer Dokularına Ait SOD Enzim Aktivitesi

4.1.2. Akciğer Dokusuna Ait Total Glutasyon Düzeyleri

Antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapan GSH molekülünün seviyeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında CLP grubunda anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında doza bağlı bir şekilde GSH seviyeleri (Şekil 4.2) anlamlı şekilde arttırdığı gözlemlendi.

CLP+AVA 25mg/kg tedavi grubundaki GSH seviyesi CLP grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş görülmektedir. CLP+AVA 50mg/kg tedavi grubundaki GSH seviyesi CLP+AVA 25mg/kg tedavi grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş görülmektedir. CLP+AVA 100mg/kg tedavi grubundaki GSH seviyesi CLP+AVA 50mg/kg tedavi grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş görülmektedir.

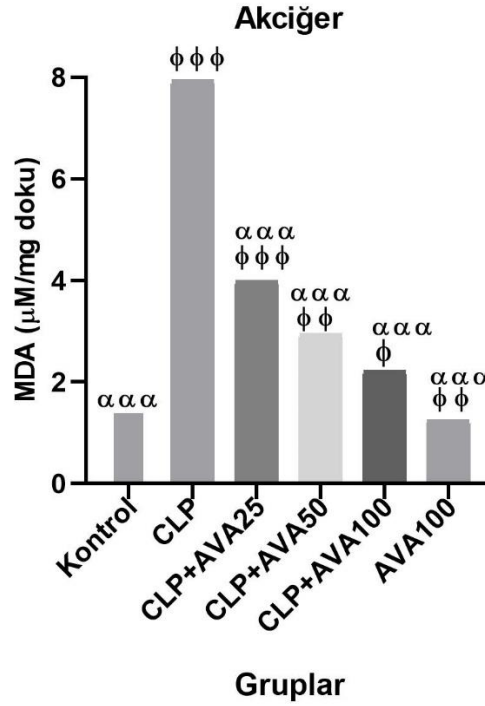


Şekil 4.2. Akciğer Dokularına Ait GSH Düzeyleri

4.1.3. Akciğer Dokusuna Ait Malondialdehit Düzeyleri

Oksidatif stres esnasında meydana gelen lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyelerini kontrol grubu ile kıyasladığımızda septik sıçanların akciğerlerinde MDA seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı arttığı gözlemlendi ($p < 0.001$). AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında doza bağlı bir şekilde MDA seviyelerinin istatistiksel olarak (Şekil 4.3) anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p < 0.001$). Avanafile grupları kendi aralarında kıyaslandığında yüksek doz Avanafile grubundaki düşüş, düşük doz Avanafile

grubundan daha fazladır. Avanafil 25mg/kg uygulanan CLP grubu, CLP grubu ile karşılaştırıldığında akciğer dokusu MDA seviyesinin anlamlı olarak düştüğü görülmüştür ($p<0.001$).



Şekil 4.3. Akciğer Dokularına Ait MDA Seviyeleri

Azalmış GSH seviyesine eşlik eden MDA düzeyindeki artış oksidatif mekanizmanın sepsis kaynaklı doku hasarındaki rolünü göstermiştir. AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında doza bağlı bir şekilde SOD aktivitesini (Şekil 4.1) ve GSH düzeylerini (Şekil 4.2) anlamlı şekilde arttırdığı tespit edildi. AVA 100 mg/kg dozunun MDA seviyelerini (Şekil 4.3) önemli ölçüde azalttığı ve böylece lipid peroksidasyon seviyesini kontrol grubu ile kıyaslanabilecek seviyeye düşürdüğü gözlemlendi.

CLP grubundaki MDA seviyesi sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir. CLP+AVA 25 mg/kg tedavi grubundaki MDA seviyesi CLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. CLP+AVA 50 mg/kg tedavi

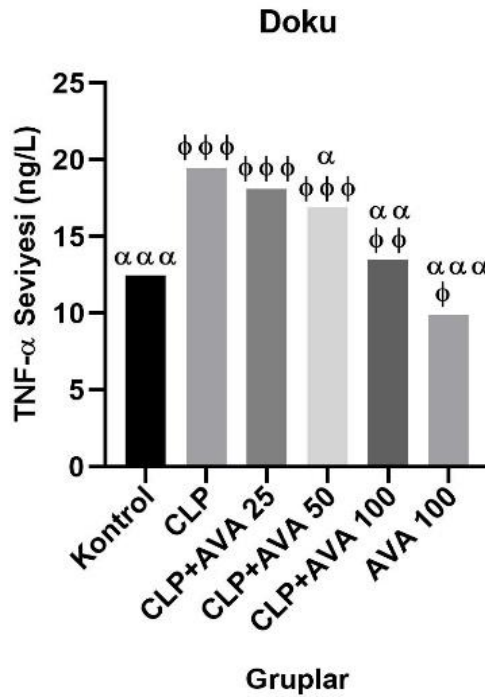
grubundaki MDA seviyesi CLP+AVA 25 mg/kg grubuna göre düşüş göstermiştir. CLP+AVA 100mg/kg tedavi grubundaki MDA seviyesi de CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubuna göre düşüktür.

4.2. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait TNF- α , IL-1 β , ve IL-6 Seviyeleri

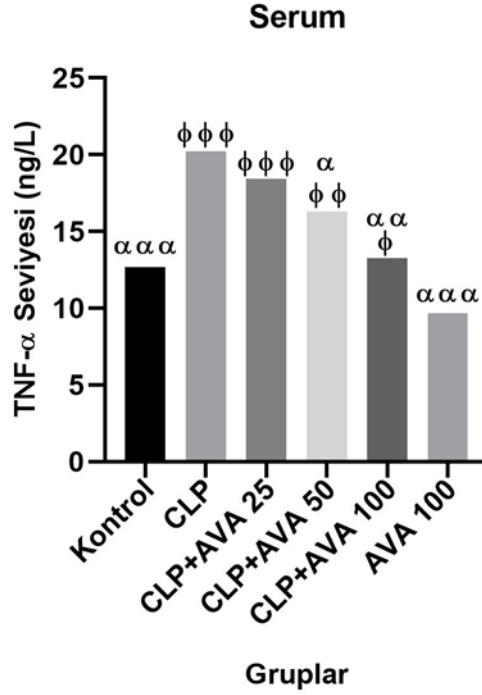
TNF- α , IL-1 β , ve IL-6 inflamasyonun önemli aracıları olarak kabul edilir.

4.2.1. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait TNF- α Seviyeleri

TNF- α , inflamatuvar sitokin üretiminin temel belirteci olarak kabul edilir. *E. coli*'nin bakteriyel endotoksininin uygulanması, TNF- α 'nın kan dolaşımına salınmasıyla sonuçlanır. TNF- α salındıktan sonra endotel hücreleri , makrofajlar ve nötrofiller gibi farklı hücreleri hedefler. Makrofajların üretiminin ve aktivasyonunu artmasına neden olur.²¹⁴



Şekil 4.4. Akciğer Dokularına Ait TNF- α Seviyeleri

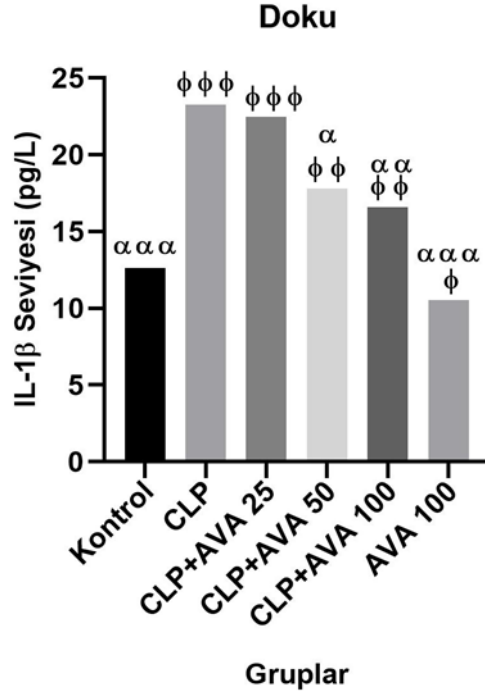


Şekil 4.5. Serum Örneklerinde TNF- α Seviyeleri

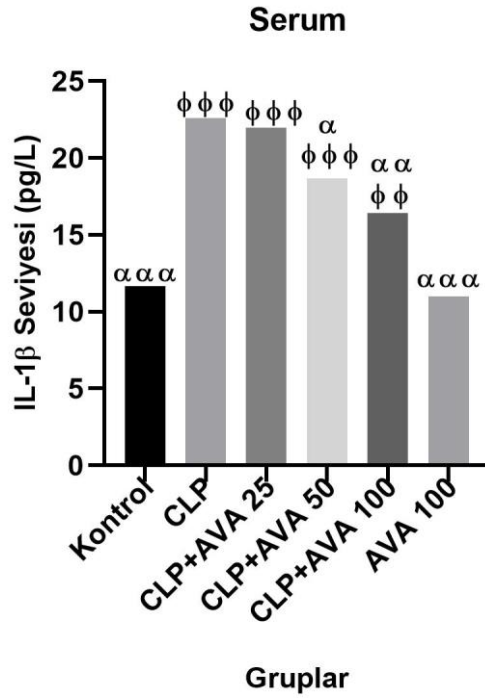
Serum örneği ve akciğer dokusunda CLP grubundaki TNF- α seviyesi sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir. CLP+AVA 100 mg/kg tedavi grubundaki TNF- α seviyesi CLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubundaki TNF- α seviyesi CLP+AVA 25 mg/kg grubuna göre düşüş göstermiştir. CLP+AVA 100mg/kg tedavi grubundaki TNF- α seviyesi de CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubuna göre düşüktür. AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında (Şekil 4.4) ve serum örneklerinde (Şekil 4.5) doza bağlı bir şekilde TNF- α seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. AVA 100 mg/kg dozunun hem dokuda hem serumda TNF- α seviyelerinin önemli ölçüde azalttığı ve kontrol grubu ile kıyaslanabilecek seviyeye düşürdüğü gözlemlendi.

4.2.2. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait IL-1 β Seviyeleri

IL-1, IL-6 gibi diğer proinflamatuvar sitokinleri, reaktif oksijen/azot türlerini ve lipid medyatörlerini serbest bırakmak için inflamatuvar kaskadlarını tetikler.



Şekil 4.6. Akciğer Dokularına Ait IL-1 β Seviyeleri



Şekil 4.7. Serum Örneklerine Ait IL-1 β Seviyeleri

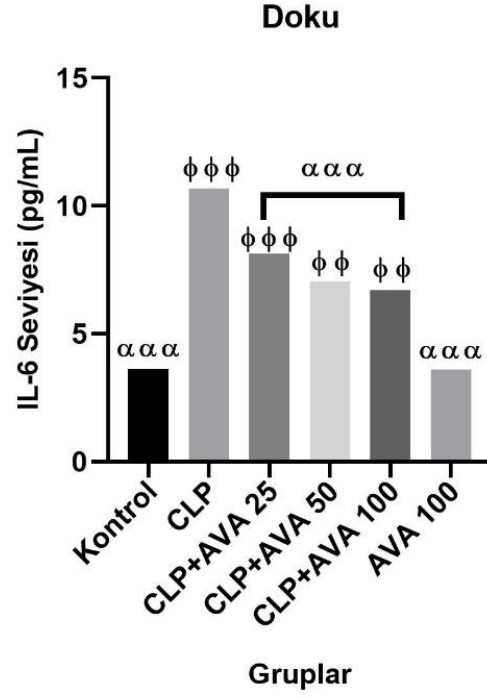
AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında (Şekil 4.5) ve serum örneklerinde (Şekil 4.6) doza bağlı bir şekilde IL-1 β seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. CLP+AVA 100 mg/kg dozunun hem dokuda hem serumda IL-1 β seviyelerini önemli ölçüde azalttığı gözlemlendi.

Septik sıçanların serum örneklerinde ve akciğer dokusunda CLP grubundaki IL-1 β seviyesi sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir. CLP+AVA 100 mg/kg tedavi grubundaki IL-1 β seviyesi CLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubundaki IL-1 β seviyesi CLP+AVA 25 mg/kg grubuna göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. CLP+AVA 100mg/kg tedavi grubundaki IL-1 β seviyesi de CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubuna göre düşüktür.

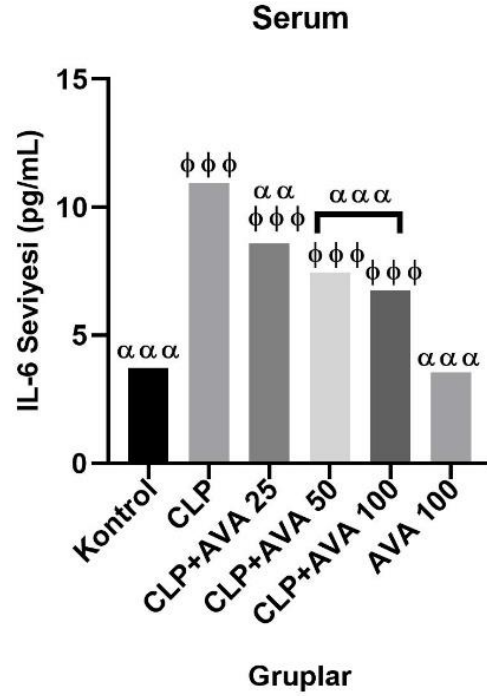
4.2.3. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait IL-6 Seviyeleri

IL-6 hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özelliğe sahip bir sitokindir. İnflamasyon esnasında en kısa sürede sentezlenir ve sentezi IL-1 ve TNF- α tarafından indüklenir.

CLP grubundaki IL-6 seviyesi sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir. CLP+AVA 25 mg/kg tedavi grubundaki IL-6 seviyesi CLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubundaki IL-6 seviyesi, CLP+AVA 25 mg/kg grubuna göre düşüş göstermiştir. CLP+AVA 100mg/kg tedavi grubundaki IL-1 β seviyesi de CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubuna göre düşüktür.



Şekil 4.8. Akciğer Dokularına Ait IL-6 Seviyeleri

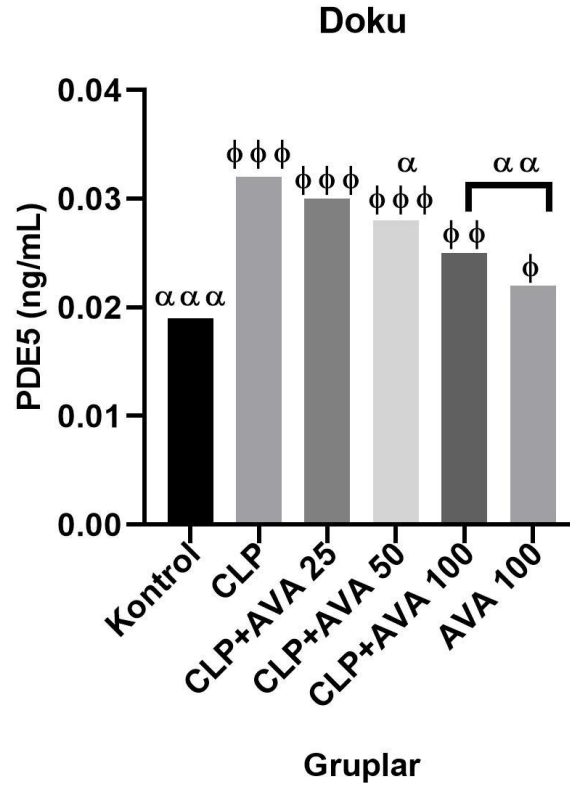


Şekil 4.9. Serum Örneklerine Ait IL-6 Seviyeleri

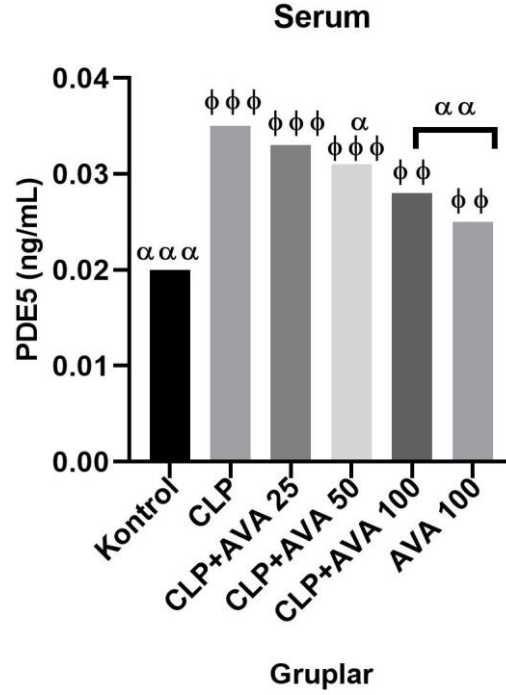
AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında (Şekil 4.8) ve serum örneklerinde (Şekil 4.9) doza bağlı bir şekilde IL-6 seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. AVA 100 mg/kg dozunun hem dokuda hem serumda IL-6 seviyelerinin önemli ölçüde azalttığı ve kontrol grubu ile kıyaslanabilecek seviyeye düşürdüğü gözlemlendi.

4.3. Akciğer Dokularına ve Serum Örneklerine Ait PDE-5 Seviyeleri

PDE inhibitörleri sitokinlerin sentezlenmesi ve salınmasını inhibe eden güçlü bir ajanlardan biridir.²¹⁵



Şekil 4.10. Akciğerde Dokularına Ait PDE-5 Seviyeleri



Şekil 4.11. Serumda Örneklerine Ait PDE-5 Seviyeleri

CLP grubundaki PDE-5 seviyesi akciğer dokusu ve serum örneklerinde sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p < 0.001$). CLP+AVA 100 mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesi, CLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0.01$). CLP+AVA 25mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesinin, CLP grubuna göre düşüşü anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesi, CLP+AVA 25 mg/kg grubuna göre anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0.05$). CLP+AVA 100mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesi de CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubuna göre de anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0.01$).

AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında (Şekil 4.10) ve serum örneklerinde (Şekil 4.11) doza bağlı bir şekilde PDE-5 seviyelerinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. AVA 100 mg/kg dozunun hem dokuda hem serumda PDE-5 seviyeleri önemli ölçüde azalttığı ve kontrol grubu ile kıyaslanabilecek seviyeye düşürdüğü gözlemlendi. PDE-5 inhibitörleri, cGMP'ye bağlanma bölgesinde PDE-5 ile kompetitif inhibisyon için yarışmaktadır.²¹⁶

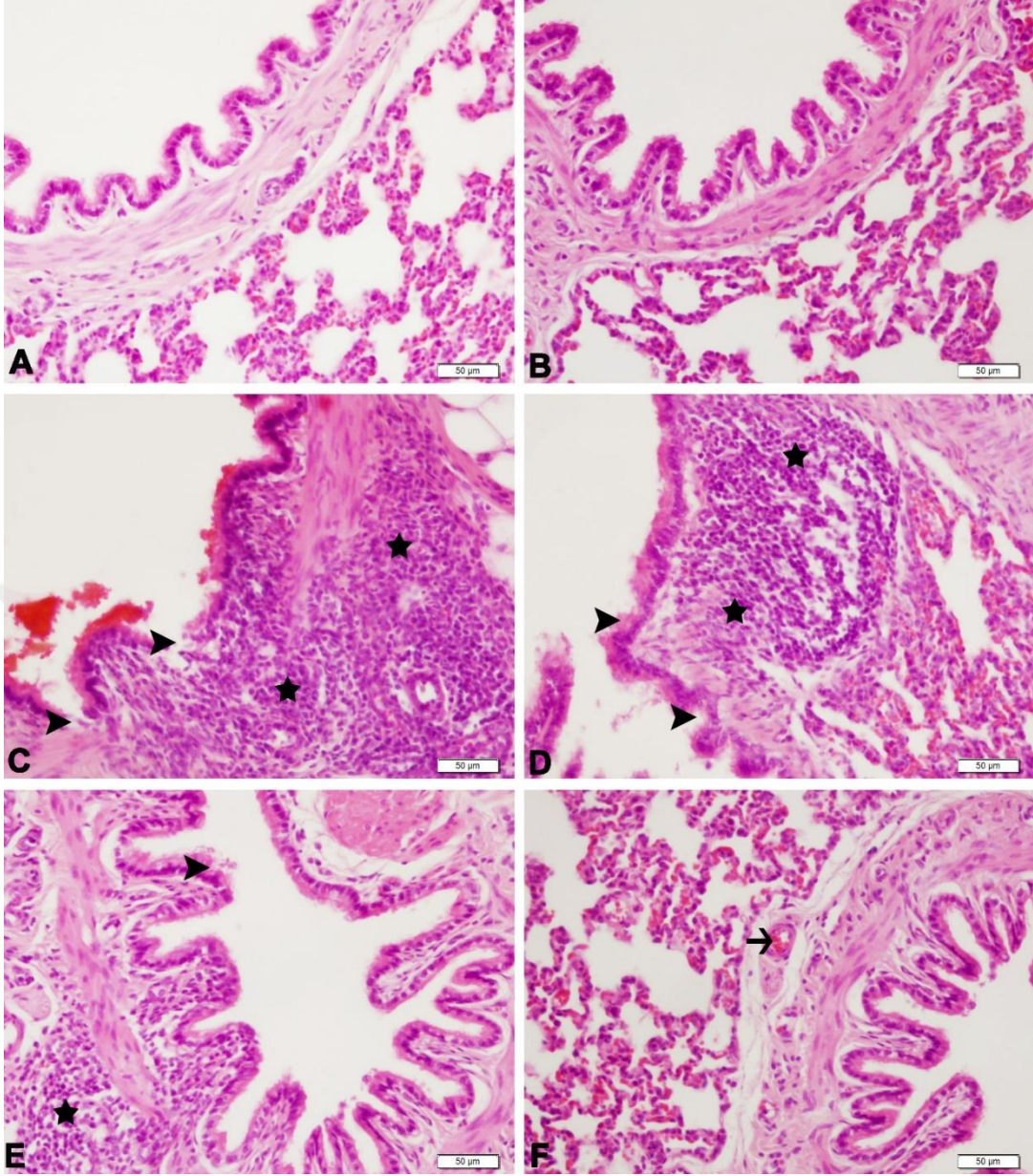
4.4. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait ratların akciğer dokusu incelendiğinde normal histolojik yapıya sahip olduğu (Şekil 4.12A) tespit edildi. 100 mg/kg AVA grubunun akciğer dokularının da normal histolojik görünümüne sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.12B). CLP grubunun akciğer dokuları incelendiğinde İnteralveoler dokuda çok şiddetli düzeyde kalınlaşma, bronş bronşiol epitellerinde çok şiddetli düzeyde deskuamasyon ve dejenerasyon gözlemlendi. Peribronş-bronşioler yerleşimli çok şiddetli düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Alveoler bronşioler ve interstisyel damarlarda çok şiddetli düzeyde hiperemi gözlemlendi (Şekil 4. 12C). Kontrol grubu ile AVA 100 mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi (Tablo 4.1.).

CLP+25 mg/kg AVA uygulanan grupların akciğer dokuları incelendiğinde interalveoler aralıklarda şiddetli düzeyde kalınlaşma, bronş-bronşiol epitellerinde deskuamasyon, erezyon, şiddetli düzeyde peribronş-bronşioler hücre infiltrasyonu ve damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi gözlemlendi (Şekil 4.12D). Kontrol grubu ile AVA 25 mg/kg grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi (Tablo 4.1.).

CLP+50 mg/kg AVA uygulanan grupların akciğer dokuları incelendiğinde interalveoler dokuda orta şiddette kalınlaşma, orta şiddette bronş epitellerinde deskuamasyon, dejenerasyon ve damarlarda orta şiddette hiperemi gözlemlendi (Şekil 4.12E). 50 mg/kg AVA uygulanan grupla CLP grubuyla kıyaslandığında anlamlı fark $p<0,05$ tespit edildi (Tablo 4.1.).

CLP+100 mg/kg AVA uygulanan grupların akciğer dokuları incelendiğinde interalveoler dokuda hafif düzeyde kalınlaşma ve damarlarda hafif düzeyde hiperemi belirlendi (Şekil 4.12F). CLP grubuyla kıyaslandığında anlamlı fark $p<0,05$ tespit edildi (Tablo 4.1.).



Şekil 4.12. Akciğer Dokusunun İmmünohistokimya Kontrol grup, AVA Grup, CLP Grup, CLP+AVA25, CLP+AVA50 grup, CLP+AVA100 Grup Boyama Sonuçları

Kontrol grup, normal histolojik görünüm (A). **AVA grup,** normal histolojik görünüm (B); **CLP grup,** şiddetli düzeyde peribronşiyoler mononükleer hücre infiltrasyonu (yıldızlar), bronşiyol epitellerinde deskuamasyon (okbaşları), (C). **CLP+AVA25 grup,** şiddetli düzeyde peribronşiyoler mononükleer hücre infiltrasyonu (yıldızlar), bronşiyol epitellerinde deskuamasyon (okbaşları), interalveoler septumda kalınlaşma, damarlarda hiperemi (D). **CLP+AVA50 grup,** hafif düzeyde peribronşiyoler

mononükleer hücre infiltrasyonu (yıldız), bronşiol epitellerinde deskuamasyon (okbaşı), (E). **CLP+AVA100 grup**, İnter alveoler septumda hafif düzeyde kalınlaşma, damarlarda hiperemi (ok), (F). H&E, Bar: 50µm.

4.5. İmmunhistokimyasal Bulgular

Kontrol grubuna ait ratların akciğer dokusu immunhistokimyasal olarak incelendiğinde negatif IL 1 β ve Tnf- α ekspresyonu belirlendi (Şekil 14A, 15A). 100 mg/kg AVA uygulanan grupta bulunan ratların akciğer dokusu immunhistokimyasal olarak incelendiğinde IL 1 β ve Tnf- α ekspresyonu negatif olarak gözlendi (Şekil 14B, 15B).

CLP grubuna ait ratların akciğer dokularında peribronşioler, perivasküler, interstisyel dokularda ve mononükleer ve alveoler makrofajlarda çok şiddetli düzeyde IL 1 β ve Tnf- α ekspresyonu tespit edildi (Şekil 14C, 15C).

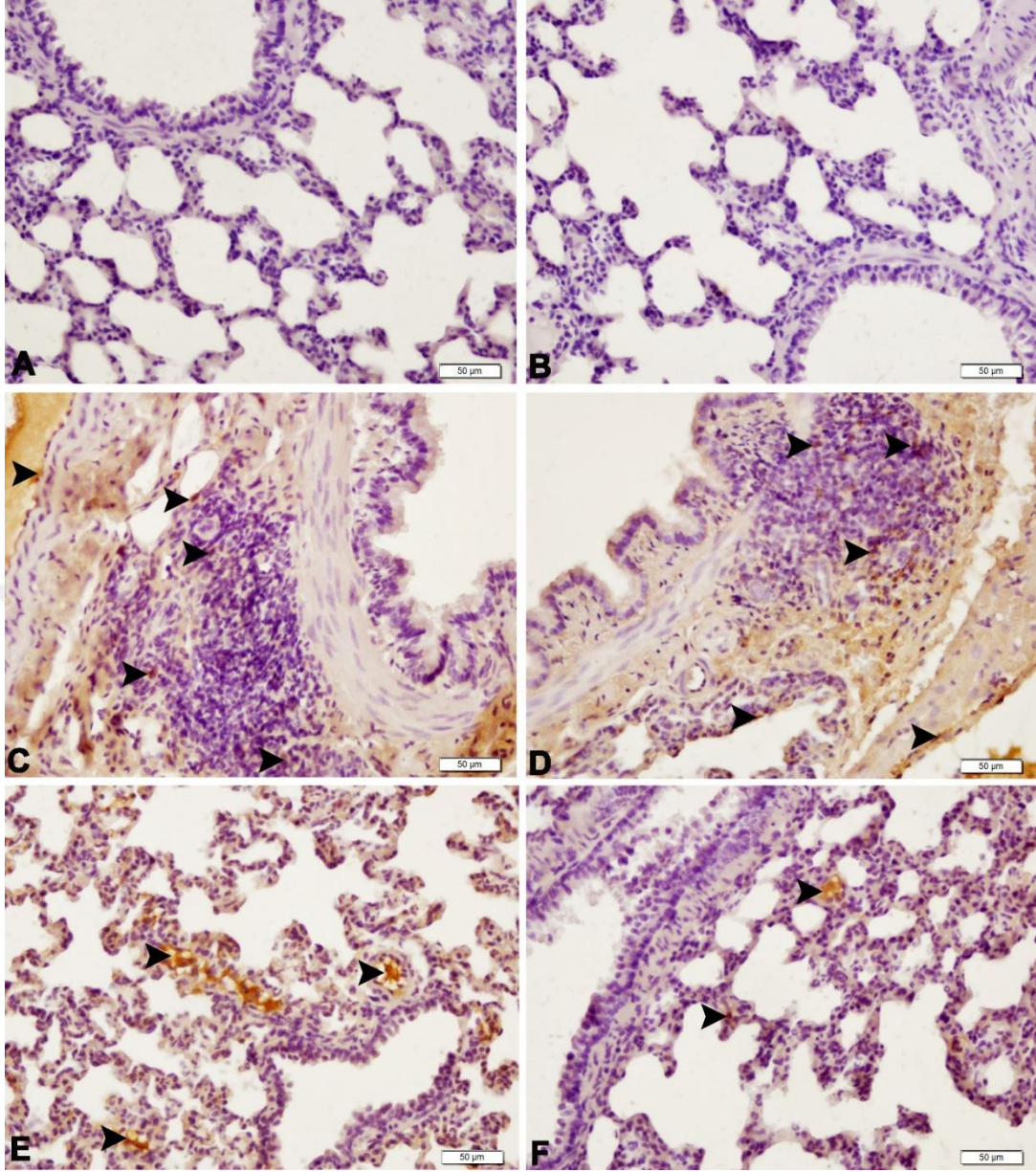
CLP+25 mg/kg AVA uygulanan gruptaki ratların akciğer dokularında peribronşioler, perivasküler, interstisyel dokularda ve mononükleer ve alveoler makrofajlarda şiddetli düzeyde IL 1 β ve Tnf- α ekspresyonları belirlendi (Şekil 14D, 15D).

CLP+50 mg/kg AVA uygulanan gruptaki ratların akciğer dokularında Peribronşioler, perivasküler, interstisyel dokularda ve mononükleer ve alveoler makrofajlarda orta düzeyde IL 1 β ve Tnf- α ekspresyonları gözlendi (Şekil 14E, 15E). CLP grubuyla kıyaslandığında anlamlı fark $p<0,05$ tespit edildi (Tablo 4.1.).

CLP+ AVA 100 mg/kg uygulanan gruptaki ratların akciğer dokularında peribronşioler, perivasküler, interstisyel dokularda hafif düzeyde IL 1 β ve Tnf- α ekspresyonları tespit edildi (Şekil 14F, 15F). CLP grubuyla kıyaslandığında anlamlı fark $p<0,05$ tespit edildi (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Akciğer Dokularında Histopatolojik ve İmmunhistokimyasal Bulguların Skorlanması

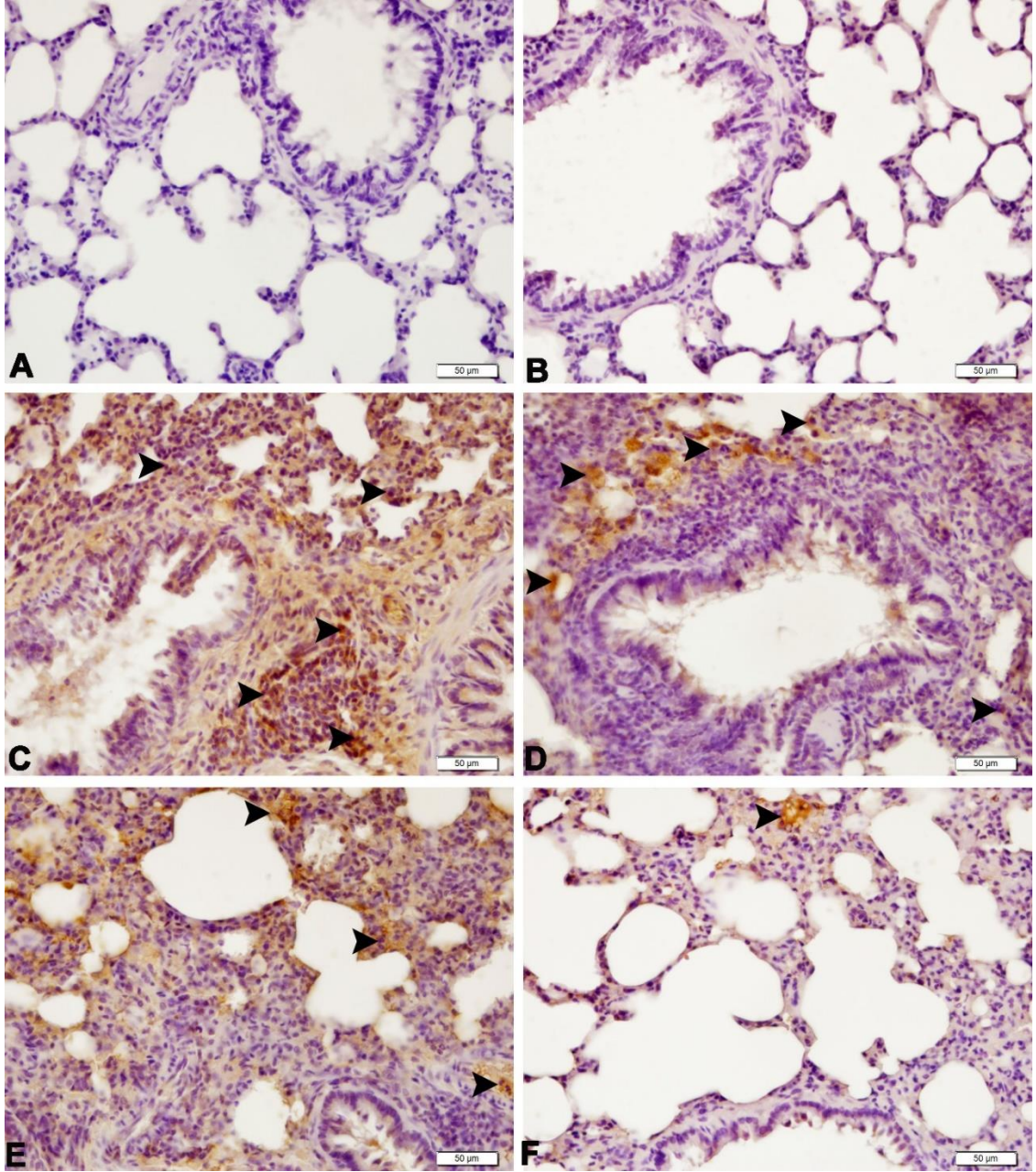
	Kontrol	AVA100	CLP	CLP+ AVA25	CLP+ AVA50	CLP+AVA100
İnteralveoler septumda kalınlaşma	-	-	++++	+++	++	+
Epitellerde deskuamasyon ve dejenereasyon	-	-	++++	++++	++	+
Peribronşiyoller hücre infiltrasyonu	-	-	++++	+++	++	+
Damarlarda hiperemi	-	-	++++	+++	+++	++
IL 1 β	-	-	++++	+++	++	+
Tnf- α	-	-	++++	+++	++	+



Şekil 4.13. Akciğer Dokusunun İmmünohistokimya Kontrol grup, AVA Grup, CLP Grup, CLP+AVA25, CLP+AVA50 grup, CLP+AVA100 Grup Boyama Sonuçları (IL-1 β ekspresyonu)

Kontrol ve AVA gruplar, IL-1 β ekspresyonu negatif (A-B); **CLP grup,** mononükleer hücrelerde, alveol lümenlerinde, alveoler makrofajlarda ve damarlarda şiddetli düzeyde IL-1 β ekspresyonu (okbaşları), (C). **CLP+AVA25 grup,** mononükleer hücrelerde, alveol lümenlerinde ve damarlarda şiddetli düzeyde IL-1 β ekspresyonu (okbaşları), (D). **CLP+AVA50 grup,** damarlarda ve interstisyel dokuda mononükleer hücrelerde orta şiddette IL-1 β ekspresyonu (okbaşları), (E). **CLP+AVA100 grup,**

mononükleer hücrelerde ve damarlarada hafif düzeyde IL-1 β ekspresyonu (okbaşları), (F). IHC-P, Bar: 50 μ m.



Şekil 4.14. Akciğer Dokusunun İmmünohistokimya Kontrol grup, AVA Grup, CLP Grup, CLP+AVA25, CLP+AVA50 grup, CLP+AVA100 Grup Boyama Sonuçları (TNF- α ekspresyonu)

Kontrol ve AVA gruplar, TNF- α ekspresyonu negatif (A-B); **CLP grup,** mononükleer hücrelerde, alveol lümenlerinde, alveoler makrofajlarda ve damarlarda şiddetli düzeyde TNF- α ekspresyonu (okbaşları), (C). **CLP+AVA25 grup,** mononükleer

hücrelerde, alveol lümenlerinde ve damarlarda şiddetli düzeyde TNF- α ekspresyonu (okbaşıları), (D). **CLP+AVA50 grup**, damarlarda ve interstisyel dokuda mononükleer hücrelerde orta şiddette Tnf- α ekspresyonu (okbaşıları), (E). **CLP+AVA100 grup**, mononükleer hücrelerde ve damarlarada hafif düzeyde Tnf- α ekspresyonu (okbaşıları), (F). IHC-P, Bar: 50 μ m.



5. TARTIŞMA

Sepsis, hızlı müdahale edilmesi gereken bir sendromdur. Avanafil, aynı sınıfa ait ilaçlardan daha hızlı etkili ve daha seçici olan yeni bir fosfodiesteraz-5 inhibitörüdür. Erken sepsiste cGMP'nin koruyucu rolünü anlatan bir çalışmada septik sıçanlara sildenafil uygulanmış ve sildenafilin akciğerlere nötrofil sekestrasyonunu azaltarak, akciğer hasarını önlemede etkili olabileceği bildirilmiştir.²¹⁷

Sepsiste, hücrelere yeterli oksijen verilmesi ile organ disfonksiyonunun önlenmesine çalışılmaktadır. Enfeksiyonun hızlı şekilde kontrolü, hemodinamik stabilizasyon ve birden fazla organın etkilenmesini önlemek amaçlanmaktadır.²¹⁸ Sepsiste, öncelikle şiddetli bir şekilde gelişen proinflamatuvar fazı sonrasında immünsüpresyona neden olan antiinflamatuvar fazı görülmektedir.³ Başta görülen yüksek kalp debisinin yerini azalmış kalp debisi ve düşük vasküler direnç almaktadır. Fibrinoliz azalmakta, koagülasyon artmaktadır.²¹⁹ Sepsis ile serbest radikal salınımı gözlenir ve bu da lipid, protein ve DNA peroksidasyonuna yol açar. ROS, fizyolojik konsantrasyonlarda endotel hücrelerinde normal sinyal iletimi için gerekli olsa da ROS'un aşırı üretilmesi ya da antioksidan enzim miktarının azalmasının organ disfonksiyonuna neden olduğu düşünülmektedir.²²⁰ Makrofaj kaynaklı ROS üretimi, endotel hasarına neden olmaktadır.²²¹

Bleomisin kaynaklı akciğer fibrozisi sıçan modelinde, sildenafil ile tedavi edilen gruptaki sıçanlarda malondialdehit (MDA) düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir.²²² Septik pediatrik hastalarla yapılan bir çalışmada ise hastaların GSH konsantrasyonunda bir azalma görülmüştür.²²³

SOD, oksijen molekülüne ve hidrojen peroksit süperoksit serbest radikal dönüşümünü katalize ederek bir antioksidan ajan olarak işlev görür ve serbest radikalleri nötralize eder.^{224, 225} Yapılan hayvan çalışmalarında erektil disfonksiyonda kullanılan

ilaçların, SOD aktivitesini artırarak antioksidan kapasiteyi yükselttiği gösterilmiştir.²²⁶

Benzer şekilde bizim çalışmamızda da Avanafil dozu arttıkça SOD enzimi aktivitesi artmıştır.

Diyabetik erektil disfonksiyonda niklozamidin koruyucu etkisini araştıran bir çalışmada süperoksit dismutaz etkinliğinde azalma, glutatyon depolarının tükenmesinin oksidatif strese katkıda bulunduğu tespit edilmiştir.²²⁷ Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar görülmüştür.

MDA, hücre hasarına neden olan lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Çoklu doymamış yağ asitleri oksitlendiğinde MDA oluşur ve bu ROS hasarının bir göstergesidir.²²⁴ Tadalafil uygulamasının poliamin düzeyleri üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada azalmış MDA ile artmış SOD ve GPx aktivite seviyeleri bulunmuştur.²²⁸ Bu veriler, çalışmamızı destekler niteliktedir.

Soriano FG ve ark.²²⁹ yaptığı çalışmada PARP (polimeraz)-/- farelerde sildenafil tedavisi ile plazma TNF- α plazma seviyesinin düştüğü görülmüştür. Bu nedenle çalışmamızda sildenafilden daha seçici ve daha hızlı etkili PDE-5 inhibitörü avanafil kullanarak yanıtları değerlendirdik. CLP'nin neden olduğu organ hasarını azaltacağını öngörmekteyiz. Çalışmada, ikinci kuşak PDE-5 inhibitörü olan Avanafilin, sepsis sonucu oluşan akciğer hasarı incelenmiştir. Avanafilin, akciğer dokusu hasarını hafiflettiği biyokimyasal ve histopatolojik bulgular ile belirlenmiştir.

CLP ile indüklenen sepsis grubunda TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve MDA seviyelerinin artmış olduğu gözlemlenmiştir. Avanafil ile muamele edilen CLP sıçanlarında SOD aktivitesi ile GSH düzeyinde artış tespit edilmiştir. Çalışmamızın bir başka sonucu, avanafilin akciğerlerde biriken inflamatuvar hücreleri iyileştirmesidir.

Sepsiste, IL-1 ve TNF- α gibi sitokinler salgılanmaktadır. Deneysel çalışmalarda, sildenafil ve diğer PDE-5 inhibitörlerinin doku hasarı ve oksidatif stresi azalttığı tespit

edilmiştir.^{216, 221, 230} PDE-5 inhibitörlerinin etkilerini inceleyen bir çalışmada, bu inhibitörlerin, antioksidatif, anti-apoptotik etkileri ile böbrekte koruyucu olduğu tespit edilmiştir.²³¹ Bir başka çalışmada da, avanafilin glukokortikoid kaynaklı kemik kaybı olan sıçanlarda koruyucu etkileri olduğu gözlemlenmiştir.³⁰ Bizim çalışmamızda, avanafilin septik sıçanlarda, IL-1 ve TNF- α sitokinlerinin miktarını düşürdüğü görülmüştür. Her ne kadar literatürde sildenafil grubu ile yapılan çalışmalar gösterilse de bu çalışmada, sildenafil gibi PDE-5 inhibitörü olan avanafil uygulandığında benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır.

PDE-5 inhibitörleri, kimyasal yapı olarak cGMP'ye benzemektedir. Bu inhibitörler, enzimin katalitik bölgesi için cGMP ile yarışmaktadır.²²⁷

Literatürde avanafilin, glukokortikoid kaynaklı osteoporoz sıçan modelinde deksametazon ile verildiğinde oksidatif stresi önemli ölçüde inhibe ettiğini gösteren çalışmalar vardır. Glukokortikoid kaynaklı osteoporoz sıçan modelinde deksametazon uygulanması ile görülen kemik atrofisi ve oksidatif stres avanafil ile tedavi edilmektedir.³⁰ Huyut ve ark., yumurtalıkları alınmış sıçan karaciğerinde sitokin düzeylerini incelemiş olup avanafilin IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α 'yı önemli ölçüde düşürdüğünü bildirmiştir.²³² Zaprinast ve avanafil, NO/cGMP/PKG metabolik yolunu aktive ederek kemik dokusunda anjiyogenezi anlamlı derecede arttırmış ve oksidatif stresi azaltmıştır.²³² Avanafil ile ilgili yapılan bir başka çalışma, avanafilin D vitamini üzerindeki indükleyici etkisi ile kemik yeniden şekillenme mekanizmasına aracılık edebileceğini düşündürmektedir.²³³

Biz, çalışmamızda avanafilin, CLP'ye karşı oksidatif stresi azaltıp koruyucu etkilerini olduğunu biyokimyasal ve histopatolojik analizler ile belirledik. Bahsi geçen histopatolojik analizlerde, avanafil tedavisinin septik sıçanlarda akciğerlerde biriken ve akciğer hasarına neden olan inflamatuvar hücreleri iyileştirdiğini gösterdik. Çalışmamızda

sıçanlara enjekte ettiğimiz avanafil, TNF- α , IL-1 β , IL-6, MDA seviyelerini düşürmüştür. Bununla birlikte SOD enzim aktivitesi ve GSH'yi artırmıştır. Histopatolojik incelememize göre CLP + AVA 25mg/kg grubu dışında sepsis grubu ile diğer gruplar arasında inflamasyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Buna ilave olarak, çalışmamızda CLP + AVA 100 mg/kg grubu en düşük inflamasyon skoruna sahip olduğu görülmüştür.

Avanafilin, CLP'nin neden olduğu akciğer hasarına karşı etkilerini inceledik ve akciğer dokusundaki oksidatif stresi araştırdık. Mevcut çalışmamızda oksidatif stres yolları avanafil tarafından azaltılmıştır ve bu durum, sepsis tedavisinde önemli bir adım olarak değerlendirilebilir.²²⁴ Avanafil, CLP ile indüklenen sepsiste, antioksidan etkileri ile akciğer hasarına karşı koruma sağlamaktadır.

Bununla birlikte, sepsisin neden olduğu akciğer dokusu hasarını ve koruyucu mekanizmaları açıklamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çekum bağlama ve delme modeli oluşturulan sıçanlarda farklı doz avanafil uygulamasının araştırıldığı, doku ve serum örneklerinden elde edilen biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal verilerin değerlendirildiği bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

SOD enziminin akciğer dokusunda kontrol grubuna kıyasla CLP grubunda anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. AVA uygulanan septik sıçanların akciğer dokularında doza bağlı bir şekilde SOD aktivitesinin anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi.

GSH seviyesinin akciğer dokusunda kontrol grubuna göre CLP grubunda anlamlı derecede azaldığı görüldü. GSH seviyesi, düşük ve yüksek doz avanafil kullanımına bağlı anlamlı olarak artış göstermiştir.

Akciğer dokusundaki MDA seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla CLP ile indüklenen sepsis grubunda anlamlı bir istatistiksel artış göstermiştir. Akciğer dokularından alınan örneklerde düşük ve yüksek doz avanafil uygulanan gruplarda oksidan belirteç olan MDA düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır.

CLP+AVA 25mg/kg verilen sıçanlardaki doku TNF- α ve IL-1 β seviyeleri, septik sıçanlar ile kıyaslandığında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ancak, CLP+AVA 100mg/kg verilen sıçanlardaki doku TNF- α ve IL-1 β seviyeleri, septik sıçanlara göre anlamlı şekilde azalmıştır.

CLP+AVA 25mg/kg verilen sıçanlardaki serum TNF- α ve IL-1 β seviyeleri, septik sıçanlar ile kıyaslandığında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ancak, CLP+AVA 100mg/kg verilen sıçanlardaki serum TNF- α ve IL-1 β seviyeleri, septik sıçanlara göre anlamlı şekilde azalmıştır.

CLP+AVA 25mg/kg verilen sıçanlardaki doku IL-6 seviyeleri, CLP grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir azalma görülmüştür. CLP+AVA 100mg/kg verilen

sıçanlardaki doku IL-6 seviyeleri, CLP grubu ile kıyaslandığında anlamlı şekilde azalmıştır.

CLP+AVA 25mg/kg verilen sıçanlardaki serum IL-6 seviyeleri, CLP grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir azalma görülmüştür. CLP+AVA 100mg/kg verilen sıçanlardaki serum IL-6 seviyeleri, CLP grubu ile kıyaslandığında anlamlı şekilde azalmıştır.

CLP grubundaki PDE-5 seviyesi akciğer dokusu ve serum örneklerinde sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir. CLP+AVA 100 mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesi, CLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. CLP+AVA 25mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesinin, CLP grubuna göre düşüşü anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesi, CLP+AVA 25 mg/kg grubuna göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. CLP+AVA 100mg/kg tedavi grubundaki PDE-5 seviyesi de CLP+AVA 50 mg/kg tedavi grubuna göre de anlamlı bir düşüş göstermiştir.

Avanafil ile ilgili literatür araştırıldığında sıklıkla erektil disfonksiyon ve osteoporoz tedavisindeki kullanımına rastlanmıştır. Bizim çalışmamız literatürde avanafil ile yapılan ilk sepsis çalışmasıdır. Bulgularımız avanafilin sepsis üzerine etkilerini gösteren ilk veriler olduğu için bize fikir vermeye, geliştirilmeye ve daha detaylı incelenmeye uygundur. Bu açıdan elde ettiğimiz sonuçlar ile avanafilin koruyucu etkisini bildirmeyi ve ileride yapılacak çalışmalara yol gösterici olmayı umut etmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Niu X, Yao Q, Li W, Zang L, Li W, Zhao J, Liu F, Zhi W. Harmine mitigates LPS-induced acute kidney injury through inhibition of the TLR4-NF- κ B/NLRP3 inflammasome signalling pathway in mice. *European Journal of Pharmacology*, 2019, 849: 160-169.
2. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med*, 2006, 355: 1699-1713.
3. Yorgancı K. Sepsis Patofizyolojisi. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2005, 5 (2): 80-84.
4. Başak M, Coşansel S, Çankır Z, Keskin O, Yazgan Y, Koçak N. Sepsis, septik şok ve tedavide son yaklaşımlar. *Sendrom*, 1998, 10: 54-61.
5. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*, 2003, 348: 1546-1554.
6. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Medicine*, 2001, 29: 1303-1310.
7. Levy MM, Artigas A, Phillips GS, Rhodes A, Beale R, Osborn T, Vincent J-L, Townsend S, Lemeshow S, Dellinger RP. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 2012, 12: 919-924.
8. Liu V, Escobar GJ, Greene JD, Soule J, Whippy A, Angus DC, Iwashyna TJ. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. *Jama*, 2014, 312: 90-92.
9. Ruggieri AJ, Levy RJ, Deutschman CS. Mitochondrial dysfunction and resuscitation in sepsis. *Crit Care Clin*, 2010, 26: 567-575, x-xi.

10. Akturan S, Gümüş B, Ömer Ö, BALANDIZ H, Erenler AK. TÜİK verilerine göre Türkiye'de 2009 ve 2016 yılları arasındaki ölüm oranları ve nedenleri. *Konuralp Medical Journal*, 2019, 11: 9-16.
11. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, Sicignano A, Palazzo M, Moreno R, Boulme R, Lepage E, Le Gall R. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med*, 2002, 28: 108-121.
12. Bochud P-Y, Bonten M, Marchetti O, Calandra T. Antimicrobial therapy for patients with severe sepsis and septic shock: An evidence-based review. *Critical Care Medicine*, 2004, 32: S495-S512.
13. Bone RC. Sepsis syndrome. New insights into its pathogenesis and treatment. *Infect Dis Clin North Am*, 1991, 5: 793-805.
14. Markwart R, Condotta SA, Requardt RP, Borken F, Schubert K, Weigel C, Bauer M, Griffith TS, Förster M, Brunkhorst FM, Badovinac VP, Rubio I. Immunosuppression after sepsis: systemic inflammation and sepsis induce a loss of naïve T-cells but no enduring cell-autonomous defects in T-cell function. *PloS one*, 2014, 9: e115094-e115094.
15. Arndt P, Abraham E. Immunological therapy of sepsis: experimental therapies. *Intensive Care Med*, 2001, 27 Suppl 1: S104-115.
16. Erenler AK, Yapar D, Terzi Ö. Comparison of procalcitonin and c-reactive protein in differential diagnosis of sepsis and severe sepsis in emergency department. *Dicle Tıp Dergisi*, 2017, 44: 175-182.
17. Cadirci E, Ugan RA, Dincer B, Gundogdu B, Cinar I, Akpinar E, Halici Z. Urotensin receptors as a new target for CLP induced septic lung injury in mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2019, 392: 135-145.

18. Uğan RA, Yayla M, Harun Ü, Civelek MS, KILIÇLE PA. Nar Kabuğu Ekstresinin Sıçanlarda Diyabetik Şartlarda Sepsis ile İndüklenen Akciğer Hasarına Karşı Etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, 2020, 47: 678-686.
19. Lang JD, McArdle PJ, O'Reilly PJ, Matalon S. Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury. *Chest*, 2002, 122: 314s-320s.
20. Demirbilek S, Sızanlı EE, Karaman A, Karadağ N, Bayraktar N, Türkmen E, Ersoy MÖ. Septik ratlarda metilen mavisinin akciğer hasarı üzerine etkileri. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 2004, 11.
21. Cadirci E, Halici Z, Odabasoglu F, Albayrak A, Karakus E, Unal D, Atalay F, Ferah I, Unal B. Sildenafil treatment attenuates lung and kidney injury due to overproduction of oxidant activity in a rat model of sepsis: a biochemical and histopathological study. *Clin Exp Immunol*, 2011, 166: 374-384.
22. Celik M, Aksoy AN, Aksoy H, Aksoy Y, Halici Z. Sildenafil reduces ischemia-reperfusion injury in rat ovary: biochemical and histopathological evaluation. *Gynecol Obstet Invest*, 2014, 78: 162-167.
23. Fahmy UA, Ahmed OA, Hosny KM. Development and evaluation of avanafil self-nanoemulsifying drug delivery system with rapid onset of action and enhanced bioavailability. *AAPS PharmSciTech*, 2015, 16: 53-58.
24. Gur S, Sikka SC, Pankey EA, Lasker GF, Chandra S, Kadowitz PJ, Hellstrom WJG. Effect of avanafil on rat and human corpus cavernosum. *Andrologia*, 2015, 47: 897-903.
25. Yilmaz D, Bayatli N, Un O, Kadowitz PJ, Sikka SC, Gur S. The effect of intracavernosal avanafil, a newer phosphodiesterase-5 inhibitor, on neonatal type 2 diabetic rats with erectile dysfunction. *Urology*, 2014, 83: 508.e507-512.

26. Katz EG, Tan RB, Rittenberg D, Hellstrom WJ. Avanafil for erectile dysfunction in elderly and younger adults: differential pharmacology and clinical utility. *Ther Clin Risk Manag*, 2014, 10: 701-711.
27. Polakowska M, Orzelska-Gorka J, Talarek S. Drugs modulating the L-arginine:NO:cGMP pathway – current use in therapy. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 2016, 29: 14.
28. Soydan G, Sökmensüer C, Kılınç K, Tuncer M. The effects of sildenafil on the functional and structural changes of ileum induced by intestinal ischemia–reperfusion in rats. *European Journal of Pharmacology*, 2009, 610: 87-92.
29. Mulhall JP, Burnett AL, Wang R, McVary KT, Moul JW, Bowden CH, DiDonato K, Shih W, Day WW. A phase 3, placebo controlled study of the safety and efficacy of avanafil for the treatment of erectile dysfunction after nerve sparing radical prostatectomy. *J Urol*, 2013, 189: 2229-2236.
30. Huyut Z, Bakan N, Yıldırım S, Alp HH. Effects of the Phosphodiesterase-5 (PDE-5) Inhibitors, Avanafil and Zaprinas, on Bone Remodeling and Oxidative Damage in a Rat Model of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Med Sci Monit Basic Res*, 2018, 24: 47-58.
31. Kutlu Z. Myrtus communis l. bitkisinin meyvesinden elde edilen uçucu yağın hücre hattına LPS ile indüklenen endoteksemiye bağlı hücre hasarına etkilerinin biyokimyasal olarak araştırılması. Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Doktora, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2017.
32. Atikeler G, Çıracı MZ, Kocabıyık M, Kavutçu M, Canbolat O, Çevik C. Effect of vitamin D on free radical metabolism in renal tissues of septic rats / Septik ratların böbrek dokularında serbest radikal metabolizmasına vitamin D'nin etkisi. *Turkish Journal of Biochemistry*, 2016, 41: 316-321.

33. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, Colombara DV, Ikuta KS, Kissoon N, Finfer S, Fleischmann-Struzek C, Machado FR, Reinhart KK, Rowan K, Seymour CW, Watson RS, West TE, Marinho F, Hay SI, Lozano R, Lopez AD, Angus DC, Murray CJL, Naghavi M. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*, 2020, 395: 200-211.
34. Elay G, Gündogan K, Coskun R. Sepsis Yönetiminde Ne Degisti?/What Has Changed in Sepsis Management? *Journal of Critical and Intensive Care*, 2014, 5: 11.
35. Rudd KE, Delaney A, Finfer S. Counting Sepsis, an Imprecise but Improving Science. *Jama*, 2017, 318: 1228-1229.
36. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*, 2009, 25: 83-101, viii.
37. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nature Reviews Immunology*, 2008, 8: 776-787.
38. Thurston AJ. Of blood, inflammation and gunshot wounds: the history of the control of sepsis. *Aust N Z J Surg*, 2000, 70: 855-861.
39. Baron RM, Baron MJ, Perrella MA. Pathobiology of sepsis: are we still asking the same questions? *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2006, 34: 129-134.
40. Francoeur JR. Joseph Lister: surgeon scientist (1827-1912). *J Invest Surg*, 2000, 13: 129-132.
41. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche J-D, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent J-L,

- Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 2016, 315: 801-810.
42. Bakır BO. Enteral glutamin ve arjinin desteğinin sıçanlarda lipopolisakkarit ile oluşturulan sepsise etkisi. Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Ankara: Başkent Üniversitesi, 2015.
43. Lakshmikanth CL, Jacob SP, Kudva AK, Latchoumycandane C, Yashaswini PS, Sumanth MS, Goncalves-de-Albuquerque CF, Silva AR, Singh SA, Castro-Faria-Neto HC, Prabhu SK, McIntyre TM, Marathe GK. Escherichia coli Braun Lipoprotein (BLP) exhibits endotoxemia - like pathology in Swiss albino mice. *Sci Rep*, 2016, 6: 34666.
44. Özkanlar S. Deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda antibiyotik, kortikosteroid ve vitamin K kullanımlarının inflamatuvar belirteçler, hematolojik parametreler ve yaşam süreleri üzerine etkilerinin araştırılması. Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2011.
45. Mayer AM, Oh S, Ramsey KH, Jacobson PB, Glaser KB, Romanic AM. Escherichia coli lipopolysaccharide potentiation and inhibition of rat neonatal microglia superoxide anion generation: correlation with prior lactic dehydrogenase, nitric oxide, tumor necrosis factor-alpha, thromboxane B2, and metalloprotease release. *Shock*, 1999, 11: 180-186.
46. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, 1992, 101: 1644-1655.

47. Sherwood ER, Toliver-Kinsky T. Mechanisms of the inflammatory response. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2004, 18: 385-405.
48. Berg D, Gerlach H. Recent advances in understanding and managing sepsis. *F1000Res*, 2018, 7.
49. AYHanci T, ALTINDİŞ M. Antimikrobiyal Peptidlerin Sepsis Tanısındaki Rolü. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 2019, 3: 1-7.
50. Babadostu H. Sepsiste presepsinin tanıs ve prognostik değerin APACHI II ve SOFA skorları ile karşılaştırılması. 2016.
51. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *The Lancet*, 2018, 392: 75-87.
52. Thompson K, Venkatesh B, Finfer S. Sepsis and septic shock: current approaches to management. *Internal Medicine Journal*, 2019, 49: 160-170.
53. Davies MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. *Br J Surg*, 1997, 84: 920-935.
54. Robertson CM, Coopersmith CM. The systemic inflammatory response syndrome. *Microbes and Infection*, 2006, 8: 1382-1389.
55. Chen P, Billiar T. Gut Microbiota and Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS). *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1238: 195-202.
56. Yar F. Sepsisli ratlarda deksmedetomidin ve midazolamın immünite üzerine etkileri. 2017.
57. Pittet D, Li N, Woolson RF, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: a 6-year validated, population-based model. *Clin Infect Dis*, 1997, 24: 1068-1078.

58. Polat G, Ugan RA, Cadirci E, Halici Z. Sepsis and Septic Shock: Current Treatment Strategies and New Approaches. *The Eurasian journal of medicine*, 2017, 49: 53-58.
59. Pınar Zarakolu MA. Sepsiste antimikrobiyal tedavi. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2005, 5: 103-108.
60. Bayraktar O. Deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda s-allilsistein'in transglutaminaz ii üzerine etkileri. ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2013.
61. Rivers EP, McIntyre L, Morro DC, Rivers KK. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of a window of opportunity. *Canadian Medical Association Journal*, 2005, 173: 1054-1065.
62. Kaukonen K-M, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality Related to Severe Sepsis and Septic Shock Among Critically Ill Patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA*, 2014, 311: 1308-1316.
63. Torio CM, Andrews RM. National Inpatient Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2011: Statistical Brief #160. İçinde: *Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs*, Rockville (MD), Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2006.
64. Huang M, Cai S, Su J. The Pathogenesis of Sepsis and Potential Therapeutic Targets. *Int J Mol Sci*, 2019, 20.
65. Seymour CW, Iwashyna TJ, Cooke CR, Hough CL, Martin GS. Marital status and the epidemiology and outcomes of sepsis. *Chest*, 2010, 137: 1289-1296.
66. Sundararajan V, Macisaac CM, Presneill JJ, Cade JF, Visvanathan K. Epidemiology of sepsis in Victoria, Australia. *Crit Care Med*, 2005, 33: 71-80.
67. Alberti C, Brun-Buisson C, Goodman SV, Guidici D, Granton J, Moreno R, Smithies M, Thomas O, Artigas A, Le Gall JR. Influence of systemic inflammatory

- response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 168: 77-84.
68. Fleischmann C, Thomas-Rueddel DO, Hartmann M, Hartog CS, Welte T, Heublein S, Dennler U, Reinhart K. Hospital Incidence and Mortality Rates of Sepsis. *Dtsch Arztebl Int*, 2016, 113: 159-166.
69. Levy MM, Artigas A, Phillips GS, Rhodes A, Beale R, Osborn T, Vincent JL, Townsend S, Lemeshow S, Dellinger RP. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*, 2012, 12: 919-924.
70. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*, 2001, 29: 1303-1310.
71. Chen KF, Chaou CH, Jiang JY, Yu HW, Meng YH, Tang WC, Wu CC. Diagnostic Accuracy of Lipopolysaccharide-Binding Protein as Biomarker for Sepsis in Adult Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, 2016, 11: e0153188.
72. Tobias PS, Soldau K, Ulevitch RJ. Isolation of a lipopolysaccharide-binding acute phase reactant from rabbit serum. *J Exp Med*, 1986, 164: 777-793.
73. Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal*, 2001, 13: 85-94.
74. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*, 1990, 249: 1431-1433.
75. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, 2000, 406: 782-787.

76. Vasselon T, Detmers PA. Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun*, 2002, 70: 1033-1041.
77. Brown KA, Brain SD, Pearson JD, Edgeworth JD, Lewis SM, Treacher DF. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. *Lancet*, 2006, 368: 157-169.
78. Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T, Takeda K, Akira S. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*, 1999, 11: 443-451.
79. Alcaide P, Auerbach S, Luscinskas FW. Neutrophil recruitment under shear flow: it's all about endothelial cell rings and gaps. *Microcirculation*, 2009, 16: 43-57.
80. Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Annals of internal medicine*, 1996, 125: 680-687.
81. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, Bricker TL, Jarman SD, Kreisel D, Krupnick AS. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *Jama*, 2011, 306: 2594-2605.
82. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *Bmj*, 2016, 353.
83. Shum H-P, Yan W-W, Chan TM. Recent knowledge on the pathophysiology of septic acute kidney injury: a narrative review. *Journal of critical care*, 2016, 31: 82-89.
84. Iacobone E, Bailly-Salin J, Polito A, Friedman D, Stevens RD, Sharshar T. Sepsis-associated encephalopathy and its differential diagnosis. *Critical care medicine*, 2009, 37: S331-S336.

85. Esposito S, De Simone G, Boccia G, De Caro F, Pagliano P. Sepsis and septic shock: New definitions, new diagnostic and therapeutic approaches. *J Glob Antimicrob Resist*, 2017, 10: 204-212.
86. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2013, 50: 23-36.
87. Uhle F, Lichtenstern C, Brenner T, Weigand MA. [Pathophysiology of sepsis]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*, 2015, 50: 114-122.
88. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascón GA, Hernandez G, Murray P, De Backer D. THE ENDOTHELIUM IN SEPSIS. *Shock*, 2016, 45: 259-270.
89. Hack CE, Zeerleder S. The endothelium in sepsis: source of and a target for inflammation. *Crit Care Med*, 2001, 29: S21-27.
90. Marreiro DD, Cruz KJ, Morais JB, Beserra JB, Severo JS, de Oliveira AR. Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. *Antioxidants (Basel)*, 2017, 6.
91. Roul D, Rozec B, Ferron M, Erfanian M, Persello A, Audigane L, Grabherr A, Erraud A, Merlet N, Guijarro D, Muramatsu I, Lauzier B, Gauthier C. $\beta(1)$ -Adrenergic cardiac contractility is increased during early endotoxemic shock: Involvement of cyclooxygenases. *Life Sci*, 2019, 236: 116865.
92. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci*, 2013, 9: 1057-1069.
93. Kayal S, Jaïs JP, Aguiní N, Chaudière J, Labrousse J. Elevated circulating E-selectin, intercellular adhesion molecule 1, and von Willebrand factor in patients with severe infection. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157: 776-784.

94. Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M, van der Poll T. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *Journal of Leukocyte Biology*, 2008, 83: 536-545.
95. Russell JA, Rush B, Boyd J. Pathophysiology of Septic Shock. *Crit Care Clin*, 2018, 34: 43-61.
96. Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. *J Pathol*, 1997, 181: 257-266.
97. Akin A, Alp E, Altindis M, Azak E, Batirel A, Çağ Y, Durmus G, Kepenek Kurt E, Sagiroglu P, Ture Z. Current diagnosis and treatment approach to sepsis. *Mediterranean Journal of Infection Microbes and Antimicrobials*, 2018, 7.
98. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*, 2003, 348: 138-150.
99. Jimenez R, Belcher E, Sriskandan S, Lucas R, McMaster S, Vojnovic I, Warner TD, Mitchell JA. Role of Toll-like receptors 2 and 4 in the induction of cyclooxygenase-2 in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102: 4637-4642.
100. BARDAŞ R. Deneysel rat sepsis modelinde etanersept ve talidomid tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi/Experimental rat sepsis model the efficacy of etanercept and thalidomide treatment evaluation. 2015.
101. Sriskandan S, Altmann DM. The immunology of sepsis. *J Pathol*, 2008, 214: 211-223.
102. Róka B, Tod P, Kaucsár T, Vizovišek M, Vidmar R, Turk B, Fonović M, Szénási G, Hamar P. The Acute Phase Response Is a Prominent Renal Proteome Change in Sepsis in Mice. *Int J Mol Sci*, 2019, 21.
103. Huttunen R, Hurme M, Aittoniemi J, Huhtala H, Vuento R, Laine J, Jylhävä J, Syrjänen J. High plasma level of long pentraxin 3 (PTX3) is associated with fatal

- disease in bacteremic patients: a prospective cohort study. *PLoS One*, 2011, 6: e17653.
104. Mauri T, Bellani G, Patroniti N, Coppadoro A, Peri G, Cuccovillo I, Cugno M, Iapichino G, Gattinoni L, Pesenti A, Mantovani A. Persisting high levels of plasma pentraxin 3 over the first days after severe sepsis and septic shock onset are associated with mortality. *Intensive Care Med*, 2010, 36: 621-629.
 105. Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M, van der Poll T. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *J Leukoc Biol*, 2008, 83: 536-545.
 106. Iba T, Levy JH. Inflammation and thrombosis: roles of neutrophils, platelets and endothelial cells and their interactions in thrombus formation during sepsis. *J Thromb Haemost*, 2018, 16: 231-241.
 107. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med*, 1999, 341: 586-592.
 108. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood*, 2003, 101: 3765-3777.
 109. Oikonomopoulou K, Ricklin D, Ward PA, Lambris JD. Interactions between coagulation and complement—their role in inflammation. *Seminars in Immunopathology*, 2012, 34: 151-165.
 110. Rittirsch D, Flierl MA, Nadeau BA, Day DE, Huber-Lang M, Mackay CR, Zetoune FS, Gerard NP, Cianflone K, Köhl J, Gerard C, Sarma JV, Ward PA. Functional roles for C5a receptors in sepsis. *Nat Med*, 2008, 14: 551-557.
 111. Xia ZF, Wu GS. [Role of cytokines in sepsis and its current situation of clinical application]. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 2019, 35: 3-7.
 112. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med*, 2020, 383: 2255-2273.

113. Mosevoll KA, Skrede S, Markussen DL, Fanebust HR, Flaatten HK, Aßmus J, Reikvam H, Bruserud Ø. Inflammatory Mediator Profiles Differ in Sepsis Patients With and Without Bacteremia. *Front Immunol*, 2018, 9: 691.
114. Bağcık Ş. Atorvastatinin rat intraabdominal sepsis modelinde sekonder akciğer hasarı üzerine olan etkilerinin araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2011.
115. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med*, 1992, 119: 598-620.
116. Aydemir Celep N. Sıçanlarda çekal ligasyon perforasyon yöntemi ile indüklenen sepsis modelinde silymarinin karaciğer dokusu üzerine etkisinin araştırılması. 2020.
117. Toklu HZ. Sıçanlarda Sepsise Bağlı Ensefalopatide Erken Ve Geç Dönemde Riluzolün Etkilerinin Araştırılması. Marmara Üniversitesi (Turkey), 2006.
118. Yıldız D. Koroner arter hastalarında cerrahi öncesi ve sonrası antioksidan enzim aktiviteleri, salik asit, iz element ve mineral düzeylerinin belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, 2018.
119. Malmezat T, Breuille D, Capitan P, Mirand PP, Obled C. Glutathione turnover is increased during the acute phase of sepsis in rats. *The journal of nutrition*, 2000, 130: 1239-1246.
120. Shimaoka M, Park EJ. Advances in understanding sepsis. *Eur J Anaesthesiol Suppl*, 2008, 42: 146-153.
121. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and molecular immunology E-book*. Baskı. Elsevier Health Sciences, 2014.
122. Cinelli MA, Do HT, Miley GP, Silverman RB. Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition. *Med Res Rev*, 2020, 40: 158-189.

123. Gu M, Mei X-L, Zhao Y-N. Sepsis and cerebral dysfunction: BBB damage, neuroinflammation, oxidative stress, apoptosis and autophagy as key mediators and the potential therapeutic approaches. *Neurotoxicity Research*, 2021, 39: 489-503.
124. Mertens K, Lowes DA, Webster NR, Talib J, Hall L, Davies MJ, Beattie JH, Galley HF. Low zinc and selenium concentrations in sepsis are associated with oxidative damage and inflammation. *Br J Anaesth*, 2015, 114: 990-999.
125. Latunde-Dada GO. Ferroptosis: role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2017, 1861: 1893-1900.
126. Sezer K, Keskin M. Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. *FÜ Sağ. Bil. Vet. Dergisi*, 2014, 28: 49-56.
127. Su L-J, Zhang J-H, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, Jiang F, Peng Z-Y. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 2019.
128. Gross SS, Wolin M. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annual Review of Physiology*, 1995, 57: 737-769.
129. Soto ME, Guarner-Lans V, Soria-Castro E, Manzano Pech L, Pérez-Torres I. Is Antioxidant Therapy a Useful Complementary Measure for Covid-19 Treatment? An Algorithm for Its Application. *Medicina (Kaunas)*, 2020, 56.
130. Thoma A, Lightfoot AP. NF- κ B and Inflammatory Cytokine Signalling: Role in Skeletal Muscle Atrophy. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1088: 267-279.
131. Rivas AM, Nugent K. Hyperglycemia, Insulin, and Insulin Resistance in Sepsis. *Am J Med Sci*, 2020.
132. Uğan RA. Diyabetik farelerde sepsisle indüklenen akut akciğer hasarında ürotensin II reseptör agonist ve antagonistlerinin etkilerinin incelenmesi. 2016.

133. Farrokhi F, Smiley D, Umpierrez GE. Glycemic control in non-diabetic critically ill patients. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2011, 25: 813-824.
134. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13: 260-268.
135. Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14: 121-137.
136. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 2013, 13: 862-874.
137. Otto GP, Sossdorf M, Claus RA, Rödel J, Menge K, Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC. The late phase of sepsis is characterized by an increased microbiological burden and death rate. *Crit Care*, 2011, 15: R183.
138. Cavaillon JM, Adib-Conquy M. Bench-to-bedside review: endotoxin tolerance as a model of leukocyte reprogramming in sepsis. *Crit Care*, 2006, 10: 233.
139. BALCI ALTIN C. Yoğun Bakıma Kabulünde Vitamin D Eksikliği Olan Kritik Hastalarda Tek Doz ve İdame Kolekalsiferol Tedavisinin Enfeksiyon ve Mortalite ile İlişkilerinin İncelenmesi. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2018.
140. Zumla A, Rao M, Wallis RS, Kaufmann SH, Rustomjee R, Mwaba P, Vilaplana C, Yeboah-Manu D, Chakaya J, Ippolito G, Azhar E, Hoelscher M, Maeurer M. Host-directed therapies for infectious diseases: current status, recent progress, and future prospects. *Lancet Infect Dis*, 2016, 16: e47-63.
141. Biswas SK, Lopez-Collazo E. Endotoxin tolerance: new mechanisms, molecules and clinical significance. *Trends Immunol*, 2009, 30: 475-487.

142. Lelubre C, Vincent JL. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14: 417-427.
143. Pool R, Gomez H, Kellum JA. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. *Crit Care Clin*, 2018, 34: 63-80.
144. Liu YC, Yu MM, Shou ST, Chai YF. Sepsis-Induced Cardiomyopathy: Mechanisms and Treatments. *Front Immunol*, 2017, 8: 1021.
145. Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Heales S, Land J, Smolenski R, Davies NA, Cooper CE, Singer M. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet*, 2002, 360: 219-223.
146. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, Stern EJ, Hudson LD. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med*, 2005, 353: 1685-1693.
147. Morelli A, Passariello M. Hemodynamic coherence in sepsis. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2016, 30: 453-463.
148. Burgdorff AM, Bucher M, Schumann J. Vasoplegia in patients with sepsis and septic shock: pathways and mechanisms. *J Int Med Res*, 2018, 46: 1303-1310.
149. Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, De Gaudio AR, Adembri C. Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Crit Care*, 2015, 19: 26.
150. Levi M, Van Der Poll T. Thrombomodulin in sepsis. *Minerva Anesthesiol*, 2013, 79: 294-298.
151. Rello J, Valenzuela-Sánchez F, Ruiz-Rodriguez M, Moyano S. Sepsis: A Review of Advances in Management. *Adv Ther*, 2017, 34: 2393-2411.
152. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*, 2014, 5: 4-11.

153. Panacek EA, Marshall JC, Albertson TE, Johnson DH, Johnson S, MacArthur RD, Miller M, Barchuk WT, Fischkoff S, Kaul M, Teoh L, Van Meter L, Daum L, Lemeshow S, Hicklin G, Doig C. Efficacy and safety of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody F(ab')₂ fragment afelimomab in patients with severe sepsis and elevated interleukin-6 levels. *Crit Care Med*, 2004, 32: 2173-2182.
154. Shakoory B, Carcillo JA, Chatham WW, Amdur RL, Zhao H, Dinarello CA, Cron RQ, Opal SM. Interleukin-1 Receptor Blockade Is Associated With Reduced Mortality in Sepsis Patients With Features of Macrophage Activation Syndrome: Reanalysis of a Prior Phase III Trial. *Crit Care Med*, 2016, 44: 275-281.
155. Hilarius KWE, Skippen PW, Kissoon N. Early Recognition and Emergency Treatment of Sepsis and Septic Shock in Children. *Pediatr Emerg Care*, 2020, 36: 101-106.
156. Kingsley SM, Bhat BV. Differential Paradigms in Animal Models of Sepsis. *Curr Infect Dis Rep*, 2016, 18: 26.
157. Korneev KV. Mouse Models of Sepsis and Septic Shock. *Molecular Biology*, 2019, 53: 704-717.
158. Copeland S, Warren HS, Lowry SF, Calvano SE, Remick D. Acute inflammatory response to endotoxin in mice and humans. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2005, 12: 60-67.
159. Korneev KV, Kondakova AN, Arbatsky NP, Novototskaya-Vlasova KA, Rivkina EM, Anisimov AP, Kruglov AA, Kuprash DV, Nedospasov SA, Knirel YA, Drutskaya MS. Distinct biological activity of lipopolysaccharides with different lipid A acylation status from mutant strains of *Yersinia pestis* and some members of genus *Psychrobacter*. *Biochemistry (Mosc)*, 2014, 79: 1333-1338.

160. Lewis AJ, Seymour CW, Rosengart MR. Current Murine Models of Sepsis. *Surg Infect (Larchmt)*, 2016, 17: 385-393.
161. van Zoelen MA, Schouten M, de Vos AF, Florquin S, Meijers JC, Nawroth PP, Bierhaus A, van der Poll T. The receptor for advanced glycation end products impairs host defense in pneumococcal pneumonia. *J Immunol*, 2009, 182: 4349-4356.
162. van Zoelen MA, Achouiti A, Schmidt AM, Yang H, Florquin S, Tracey KJ, van der Poll T. Ligands of the receptor for advanced glycation end products, including high-mobility group box 1, limit bacterial dissemination during Escherichia coli peritonitis. *Crit Care Med*, 2010, 38: 1414-1422.
163. Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, Ward PA. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat Protoc*, 2009, 4: 31-36.
164. POLAT BE. Sepsis Oluşturmak İçin Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2020, 15: 181-186.
165. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res*, 1990, 49: 186-196.
166. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P. EXPERIMENTAL MODELS OF SEPSIS AND THEIR CLINICAL RELEVANCE. *Shock*, 2008, 30.
167. Brackett DJ, Schaefer CF, Tompkins P, Fagraeus L, Peters LJ, Wilson MF. Evaluation of cardiac output, total peripheral vascular resistance, and plasma concentrations of vasopressin in the conscious, unrestrained rat during endotoxemia. *Circ Shock*, 1985, 17: 273-284.
168. Johnston TD, Hampton WW, Fry DE. Septic hemodynamics produced by infusion of endotoxin. *Curr Surg*, 1989, 46: 101-103.

169. Spapen H, Zhang H, Wisse E, Baekeland M, Seynaeve C, Eddouks M, Vincent JL. The 21-aminosteroid U74389G enhances hepatic blood flow and preserves sinusoidal endothelial cell function and structure in endotoxin-shocked dogs. *J Surg Res*, 1999, 86: 183-191.
170. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram-negative sepsis. *Br J Surg*, 2001, 88: 22-30.
171. Dejager L, Pinheiro I, Dejonckheere E, Libert C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends Microbiol*, 2011, 19: 198-208.
172. Altunal Ç. Deneysel peritonit oluşturulan ratlarda Simvastatin'in akciğer hasarı üzerindeki etkileri. 2010.
173. Costa EL, Schettino IA, Schettino GP. The lung in sepsis: guilty or innocent? *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2006, 6: 213-216.
174. Lu Q, Harrington EO, Rounds S. Apoptosis and lung injury. *Keio J Med*, 2005, 54: 184-189.
175. Potter LR. Guanylyl cyclase structure, function and regulation. *Cell Signal*, 2011, 23: 1921-1926.
176. Elhwuegi AS. The Wonders of Phosphodiesterase-5 Inhibitors: A Majestic History. *Ann Med Health Sci Res*, 2016, 6: 139-145.
177. Yu X, Ge L, Niu L, Lian X, Ma H, Pang L. The Dual Role of Inducible Nitric Oxide Synthase in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Friend or Foe? *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 8364848.
178. Oger S, Behr-Roussel D, Gorny D, Lebret T, Validire P, Cathelineau X, Alexandre L, Giuliano F. Signalling pathways involved in sildenafil-induced relaxation of

- human bladder dome smooth muscle. *British journal of pharmacology*, 2010, 160: 1135-1143.
179. Hofmann F, Ammendola A, Schlossmann J. Rising behind NO: cGMP-dependent protein kinases. *J Cell Sci*, 2000, 113 (Pt 10): 1671-1676.
 180. Murad F. Shattuck Lecture. Nitric oxide and cyclic GMP in cell signaling and drug development. *N Engl J Med*, 2006, 355: 2003-2011.
 181. Andersson KE. PDE5 inhibitors - pharmacology and clinical applications 20 years after sildenafil discovery. *Br J Pharmacol*, 2018, 175: 2554-2565.
 182. Lin CS, Lin G, Xin ZC, Lue TF. Expression, distribution and regulation of phosphodiesterase 5. *Curr Pharm Des*, 2006, 12: 3439-3457.
 183. Uckert S, Kuczyk MA. Cyclic nucleotide metabolism including nitric oxide and phosphodiesterase-related targets in the lower urinary tract. *Handb Exp Pharmacol*, 2011: 527-542.
 184. Ateş KC. Piperon türevli yeni tadalafil sentezi. Sakarya Üniversitesi, 2019.
 185. Francis SH, Blount MA, Corbin JD. Mammalian cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular mechanisms and physiological functions. *Physiol Rev*, 2011, 91: 651-690.
 186. Keravis T, Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isozymes as targets of the intracellular signalling network: benefits of PDE inhibitors in various diseases and perspectives for future therapeutic developments. *Br J Pharmacol*, 2012, 165: 1288-1305.
 187. Mokry J, Mokra D. Immunological aspects of phosphodiesterase inhibition in the respiratory system. *Respir Physiol Neurobiol*, 2013, 187: 11-17.

188. Sebkhi A, Strange JW, Phillips SC, Wharton J, Wilkins MR. Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation*, 2003, 107: 3230-3235.
189. Toward TJ, Smith N, Broadley KJ. Effect of phosphodiesterase-5 inhibitor, sildenafil (Viagra), in animal models of airways disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 169: 227-234.
190. Karatza AA, Bush A, Magee AG. Safety and efficacy of Sildenafil therapy in children with pulmonary hypertension. *Int J Cardiol*, 2005, 100: 267-273.
191. Demirbaş E, Akalın F, Kararmaz A, İsbir S, Arsan S, Ak K. Ciddi Pulmoner Hipertansiyonlu Komplet Atriyoventriküler Kanal Defekti Onarımından Sonra Kombine İnhal Nitrik Oksit ve Oral Sildenafil Kullanılması: Vaka Sunumu ve Literature Taraması. *Sakarya Tıp Dergisi*, 7: 246-250.
192. Wharton J, Strange JW, Møller GM, Growcott EJ, Ren X, Franklyn AP, Phillips SC, Wilkins MR. Antiproliferative effects of phosphodiesterase type 5 inhibition in human pulmonary artery cells. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172: 105-113.
193. Stasch JP, Pacher P, Evgenov OV. Soluble guanylate cyclase as an emerging therapeutic target in cardiopulmonary disease. *Circulation*, 2011, 123: 2263-2273.
194. Cakmak E. Investigation about the relaxing effects of three molecules that act in nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway namely noc-18, atacigat and zaprinast on the sheep oddi sphincter. 2018.
195. Zhang X, Zhivaki D, Lo-Man R. Unique aspects of the perinatal immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2017, 17: 495-507.
196. Günder S. Sepsis tanısı alan preterm ve term yenidoğanlarda mikro CRP ve delta nötrofil indeksinin tanısal değeri. 2021.

197. Andersson K-E. Pharmacology of erectile function and dysfunction. *Urologic Clinics of North America*, 2001, 28: 233-248.
198. Bajraktari G, Burhenne J, Bugert P, Haefeli WE, Weiss J. Cyclic guanosine monophosphate modulates accumulation of phosphodiesterase 5 inhibitors in human platelets. *Biochem Pharmacol*, 2017, 145: 54-63.
199. Berkels R, Klotz T, Sticht G, Englemann U, Klaus W. Modulation of human platelet aggregation by the phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2001, 37: 413-421.
200. van der Vliet A, Eiserich JP, Shigenaga MK, Cross CE. Reactive nitrogen species and tyrosine nitration in the respiratory tract: epiphenomena or a pathobiologic mechanism of disease? *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160: 1-9.
201. Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does N-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest*, 1998, 113: 1616-1624.
202. Barichello T, Fortunato JJ, Vitali AM, Feier G, Reinke A, Moreira JC, Quevedo J, Dal-Pizzol F. Oxidative variables in the rat brain after sepsis induced by cecal ligation and perforation. *Crit Care Med*, 2006, 34: 886-889.
203. Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med*, 2004, 351: 159-169.
204. Corbin JD, Francis SH, Webb DJ. Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction. *Urology*, 2002, 60: 4-11.
205. Ladha F, Bonnet S, Eaton F, Hashimoto K, Korbitt G, Thébaud B. Sildenafil improves alveolar growth and pulmonary hypertension in hyperoxia-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172: 750-756.

206. Sairam K, Kulinskaya E, McNicholas T, Boustead G, Hanbury D. Sildenafil influences lower urinary tract symptoms. *BJU international*, 2002, 90: 836-839.
207. Humbert M, Sitbon O, Simonneau G. Treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*, 2004, 351: 1425-1436.
208. Rodríguez-Iturbe B, Ferrebuz A, Vanegas V, Quiroz Y, Espinoza F, Pons H, Vaziri ND. Early treatment with cGMP phosphodiesterase inhibitor ameliorates progression of renal damage. *Kidney Int*, 2005, 68: 2131-2142.
209. Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, Ruiz-Stewart I, Park J, Schulz S, Chepenik KP, Waldman SA. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev*, 2000, 52: 375-414.
210. Corinaldesi C, Di Luigi L, Lenzi A, Crescioli C. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: back and forward from cardiac indications. *J Endocrinol Invest*, 2016, 39: 143-151.
211. Kedia GT, Uckert S, Assadi-Pour F, Kuczyk MA, Albrecht K. Avanafil for the treatment of erectile dysfunction: initial data and clinical key properties. *Ther Adv Urol*, 2013, 5: 35-41.
212. Sakamoto T, Koga Y, Hikota M, Matsuki K, Murakami M, Kikkawa K, Fujishige K, Kotera J, Omori K, Morimoto H, Yamada K. The discovery of avanafil for the treatment of erectile dysfunction: a novel pyrimidine-5-carboxamide derivative as a potent and highly selective phosphodiesterase 5 inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 5460-5465.
213. Gur S, Sikka SC, Pankey EA, Lasker GF, Chandra S, Kadowitz PJ, Hellstrom WJ. Effect of avanafil on rat and human corpus cavernosum. *Andrologia*, 2015, 47: 897-903.

214. 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: 801-805.
215. Özer Ö, Topal U, Şen M. The effects of specific and non-specific phosphodiesterase inhibitors and N-acetylcysteine on oxidative stress and remote organ injury in two-hit trauma model. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2020, 26: 517-525.
216. Yeğinsu A, Ergin M, Gürlek K, Şaylan O. Akciğer kontüzyonunda sildenafilin etkileri. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg*, 2011, 19: 613-617.
217. Kovalski V, Prestes AP, Oliveira JG, Alves GF, Colarites DF, Mattos JE, Sordi R, Velloso JC, Fernandes D. Protective role of cGMP in early sepsis. *Eur J Pharmacol*, 2017, 807: 174-181.
218. Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and Septic Shock—Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making. *Medical Clinics*, 2020, 104: 573-585.
219. Wakabayashi G, Gelfand J, Jung W, Connolly R, Burke J, Dinarello C. Staphylococcus epidermidis induces complement activation, tumor necrosis factor and interleukin-1, a shock-like state and tissue injury in rabbits without endotoxemia. Comparison to Escherichia coli. *The Journal of clinical investigation*, 1991, 87: 1925-1935.
220. Lee M, Choy WC, Abid MR. Direct sensing of endothelial oxidants by vascular endothelial growth factor receptor-2 and c-Src. *PloS one*, 2011, 6: e28454.
221. Demirbilek S, Ersoy MÖ, Demirbilek S, Karaman A, Akın M, Bayraktar M, Bayraktar N. Effects of polyenylphosphatidylcholine on cytokines, nitrite/nitrate levels, antioxidant activity and lipid peroxidation in rats with sepsis. *Intensive care medicine*, 2004, 30: 1974-1978.

222. Yildirim A, Ersoy Y, Ercan F, Atukeren P, Gumustas K, Uslu U, Alican I. Phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate in a rat model of bleomycin-induced lung fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther*, 2010, 23: 215-221.
223. Lyons J, Rauh-Pfeiffer A, Ming-Yu Y, Lu XM, Zurakowski D, Curley M, Collier S, Duggan C, Nurko S, Thompson J, Ajami A, Borgonha S, Young VR, Castillo L. Cysteine metabolism and whole blood glutathione synthesis in septic pediatric patients. *Crit Care Med*, 2001, 29: 870-877.
224. ERASLAN E, TANYELİ A, GÜLER MC, EKİNCİ AKDEMİR FN, NACAR T, TOPDAĞI Ö, POLAT E. Nrf2 inhibitörü Brusatol, sıçanlarda anti-inflamasyon ve anti-oksidatif stres yoluyla çekal ligasyonu ve delinmeye bağlı akciğer hasarını iyileştirir. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 77: 467-476.
225. Sheweita S, Salama B, Hassan M. Erectile dysfunction drugs and oxidative stress in the liver of male rats. *Toxicology reports*, 2015, 2: 933-938.
226. Žuntar I, Krivohlavek A, Kosić-Vukšić J, Granato D, Bursać Kovačević D, Putnik P. Pharmacological and toxicological health risk of food (herbal) supplements adulterated with erectile dysfunction medications. *Current Opinion in Food Science*, 2018, 24: 9-15.
227. Engin S. WNT/ β -katenin sinyal yolağı inhibitörü niklozamidin diyabetik erektil disfonksiyonda koruyucu etkisinin araştırılması. 2020.
228. Duranti G, Ceci R, Di Luigi L, Antinozzi C, Dimauro I, Sabatini S, Cervelli M, Sgrò P. Effect of Tadalafil Administration on Redox Homeostasis and Polyamine Levels in Healthy Men with High Level of Physical Activity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18: 9962.

229. Soriano FG, Liaudet L, Szabó E, Virág L, Mabley JG, Pacher P, Szabó C. Resistance to acute septic peritonitis in poly(ADP-ribose) polymerase-1-deficient mice. *Shock*, 2002, 17: 286-292.
230. Özer Ö, Topal U, Şen M. The effects of specific and non-specific phosphodiesterase inhibitors and N-acetylcysteine on oxidative stress and remote organ injury in two-hit trauma model. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 2020, 26: 517-525.
231. Coskuner ER, Ozkan B. Reno-protective effects of Phosphodiesterase 5 inhibitors. *Clinical and Experimental Nephrology*, 2021, 25: 585-597.
232. Huyut Z, Bakan N, Çokluk E, Akbay Hİ, Alp HH, Şekeroğlu MR. Do Avanafil and Zaprinas Change Some Selected Cytokine Levels In Ovariectomized Rat's Liver? 2020.
233. Huyut Z, Bakan N, Akbay Hİ, Yıldırım S, Şekeroğlu MR. Zaprinas and avanafil increase the vascular endothelial growth factor, vitamin D3, bone morphogenic proteins 4 and 7 levels in the kidney tissue of male rats applied the glucocorticoid. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 2020: 1-7.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Doğum tarihi: Doğum Yeri: Medeni Hali: Uyruğu: Adres: Tel: Faks: E-mail:
Eğitim
Lise: Lisans: Yüksek lisans: Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Almanca: - Rusça: -
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Rabia Nilüfer ERSOYOĞLU
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Farmakoloji
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%8	% 15
II. Genel Bilgiler	%8	% 35
III. Materyal ve Metod	%24	% 35
IV. Bulgular	%8	% 15
V. Tartışma	%1	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 75296309-050.01.04-E.1900138319
Konu : HADYEK Kararı.

02.05.2019

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 04.04.2019 tarihli ve 42190979-000-E.1900111545 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 30.04.2019 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 83 no'lu kararı ile sözkonusu doktora tezi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhüname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 30.04.2019

TOPLANTI SAYISI : 5

KARAR N0 83: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Erol AKPINAR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Hızlı Etkili PDE-5 Enzim İnhibitörü Avanafilin Sıçanlarda Çekum Bağlama ve Delme İle İndüklenen Sepsis Modelinde Akciğer Hasarı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi**” isimli doktora tezi çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 04.04.2019 tarih ve 42190979-000-E.1900111545 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen doktora tezi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesinin, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

