

T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENEN HİPOTERMİK RATLARDA KAN SERUMU ALDOSTERON HORMONU VE BAZI MİNERAL DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YASEMİN AKSAY

DANIŞMAN

Doç. Dr. Hüseyin POLAT

AKSARAY, 2018

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY BELGESİ

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 122307417 numaralı Yüksek Lisans/Doktora öğrencisi, "Yasemin AKSAY", ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENEN HİPOTERMİK RATLARDA KAN SERUMU ALDOSTERON HORMONU VE BAZI MİNERAL DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİM" başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Hüseyin POLAT .....
Aksaray Üniversitesi

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Teoman KANKILIÇ .....
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mehmet İlker DOĞRU .....
Aksaray Üniversitesi

Teslim Tarihi: 25 Mayıs 2018

Savunma Tarihi: 25 Haziran 2018

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ve bu eserleri her kullanışımda alıntı yaparak yararlandığımı belirtir; bunu şerefimle doğrularım.
Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Yasemin AKSAY

ÖNSÖZ

Terapötik hipotermi 19. yüzyılın ortalarından bu yana uygulanmakta, yapılan deneyler düşük sıcaklıklarda (<30°C) yapılmış ve önemli yan etkinin ortaya çıktığı, 32°C'nin altına düştüğünde kalbin ileti hücrelerinin depolarizasyondaki azalmaya bağlı ölümcül sonuçların ortaya çıktığı belirlenmiştir. Son yıllarda (1980 sonrası) yapılan hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarda, 32-35°C daha az yan etki görüldüğü saptanmıştır. Yine yapılan araştırmalarda hipoterminin birçok sistem üzerinde çok sayıda fizyolojik değişikliklere neden olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle başarılı bir hipotermi uygulaması için bu fizyolojik değişiklikleri bilmek ve fizyopatolojik değişikliklerin farkında olmak önemlidir. Kontrollü hipoterminin faydaları; başta kalp olmak üzere tüm vücudun metabolizmasını yavaşlatır, ATP depolarını korur, oksijen tüketimi azalır ve iç organların korunmasını ve membran stabilizasyonunu sağlayarak hücre bütünlüğünün korunmasına yardımcı olmaktadır. Kontrollü hipoterminin kullanım alanları; uzun süren cerrahi işlemlerde (beyin, kalp gibi), dolaşım sistemi üzerindeki etkisinden dolayı kan kaybının önlenmesinde yararlanılmaktadır. Tıp alanında beyin kanaması sonucu gelişen travmalar dikkate alındığında, moleküler düzeyde hızlı ve kontrollü hipotermi uygulamasının bu travmaların önlenmesinde önemli yer tutacağı bilinmektedir.

Deneysel modelizasyon kapsamında kullanılan LPS düşük doz aralığındaki çalışmalarda, rodentlerde LPS ile termoregülatuvar anlamda ateşle birlikte hipoterminin de gelişebileceği ve oluşan hipotermi sırasında kemirgenlerde pasif bir ısı kaybı olmamakta, metabolik ısı üretimi azalmakta ve davranışsal olarak daha soğuk tercih edilerek, oluşan hipotermi sürdürülmeye çalışılmaktadır. Bu bulgular, hipotalamusta lokalize olduğu düşünülen (hipotetik) termostatın daha düşük bir seviyeye ayarlandığını düşündürmektedir

Hipotermi böbrekler üzerinde de fizyopatolojik değişikliklere neden olarak, diürezine bağlı bozulan tübüler fonksiyon ve hipovolemi akut böbrek yetmezliğine sebep olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında erkek sıçanlarda LPS ile oluşturulan hipotermi süresince aldosteron hormon düzeyini ve bu hormonun düzenlediği mineral düzeylerini belirlemek amaçlandı.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Doç.Dr.Hüseyin POLAT 'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi desteklerini ilgilerini esirgemeyen değerli eczacılarım Ecz. Mualla ÖZTÜRK YAVUZ ve Ecz. Hasan Buminhan YAVUZ'a ve değerli iş arkadaşlarıma bu süreçte yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.

Ve son olarak eğitim hayatımda, çalışmalarımda bana olan desteğini güvenini esirgemeyen sevgili eşime, beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım olan aileme sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÖZET	v
ABTRACT	vi
ŞEKİLLER	vii
ÇİZELGELER	viii
SİMGELER	ix
KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Genel Bilgiler	3
2.1.1. Lipopolisakkarit	3
2.1.2. Normal vücut sıcaklığı, ateş ve hipotermi	5
2.1.3. Lipopolisakkarit ile oluşturulan hipotermi	8
2.1.4. Aldosteron	9
2.1.5. Mineral	11
2.1.5.1. Minerallerin sınıflandırılması ve vücutta dağılımları	11
2.1.5.2. Minerallerin genel fonksiyonları	11
2.1.5.3 Kalsiyum (Ca)	12
2.1.5.4. Fosfor (P)	12
2.1.5.5. Sodyum (Na) ve Klor(Cl)	13
2.1.5.6. Potasyum (K)	13
3. MALZEME VE YÖNTEM	15
3.1. Deney Hayvanları	15
3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler	16
3.3. Cerrahi İşlemler (İmplantların Yerleştirilmesi)	16
3.4. Deney Protokolü	17
3.5. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi	18
3.6. Hormonal ve Biyokimyasal Analizler	18
3.7. Etik Kurul İzni	19
3.8. İstatistiksel Analizler	19
4. BULGULAR	20
4.1 Kontrol (Tuzlu Su) ve LPS Deney Gruplarında Ağırlık, ΔT ve Kan Alma Zamanlarına Ait Bulgular	20
4.2 Aldosteron Hormonu Düzeylerine Ait Bulgular	20
4.3 Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular	20
5. TARTIŞMA	22
5.1 LPS İndüklü Vücut Sıcaklığı Değişimi	22
5.2. LPS ile Oluşturulan Hipotermide Aldosteron, Na, K, Cl, Ca ve P Düzeyleri Değişimi	22

Sayfa

6. SONUÇLAR 29
KAYNAKLAR 31
ÖZGEÇMİŞ 36

ÖZET

LİPOPOLİSAKKARİT İLE İNDÜKLENEN HİPOTERMİK RATLARDA KAN SERUMU ALDOSTERON HORMONU VE BAZI MİNERAL DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİM

Bu tez çalışmasında, sıçanlara LPS (Serotip E.coli: O111:B4; 250 µg/kg, ip) uygulanarak hipotermi oluşturduk. Oluşturulan hipoterminin girişinde, en derin noktasında ve çıkışta intrakardiyak delinme ile kan örnekleri alındı. Yine aynı çalışmada kontrol grubu sıçanlara tuzlu su (% 0.09'luk NaCl, 0.5 ml/kg ip) uygulanarak hipotermi giriş, en derin noktasına ve çıkışına dek gelen zaman dilimlerinde kan örnekleri alındı. Uygulamalar sonucunda hipoterminin en derin (ΔT: -1.48±0.09 °C) noktasına ortalama 104.46±4.32 dakikada ulaşıldı. Alınan kan serumu örneklerinin analizleri sonucunda aldosteron, Na, K, Cl, Ca ve P düzeyleri kontrol grubuna göre LPS indüklü hipotermi grupları (giriş, dip ve çıkış) arasındaki farklar istatiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Elde etiğimiz sonuçlar, rodentlerde LPS ile termoregülatuvar anlamda ateşle birlikte hipotermininde gelişebileceği göstermiştir. Bu çalışmadaki LPS dozunun endotoksik etkileşim süresinin aldosteron seviyesini değiştirmediğini göstermiştir. Yine bu araştırma sonucunda elde edilen Na, K, Cl, Ca ve P düzeylerinin değişmemesinin LPS indüklü hipotermi süresince aldosteron hormon düzeylerinin değişmemesi sonucu olduğunu düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Lipopolisakkarit, Hipotermi, Aldosteron, Mineral, Sıçan

ABSTRACT

CHANGE OF BLOOD SERUM ALDOSTERONE HORMONES AND SOME MINERAL LEVELS IN HYPOTHERMIC RATS INDUCED WITH LIPOPOLISAKKARIT

In this thesis study, hypothermia was induced by administration LPS (Serotype E. coli: O111: B4; 250 µg / kg, ip) to rats. Blood samples were taken by intracardiac puncture at the initial phase, nadir and the end of the created hypothermia. In the same study, blood samples were taken at the time of hypothermia the initial phase, nadir and the end to the control group rats by saline (0.09% NaCl, 0.5 ml / kg ip). As a result of the applications, the nadir (ΔT: -1.48 ± 0.09 °C) point of the hypothermia was reached at an average of 104.46 ± 4.32 minutes. The differences between the groups of LPS-induced hypothermia (initial phase, nadir and end) were statistically insignificant compared to the control group of aldosterone, Na, K, Cl, Ca and P levels as a result of analysis of the blood serum samples. Our results show that in rodents, thermoregulator with LPS may develop in hypothermia with fever. The LPS dose in this study did not change the level of aldosterone during the endotoxic interaction period. Again, the results of this study suggested that the changes of Na, K, Cl, Ca and P levels were the result of not changing the aldosterone hormone levels during LPS-induced hypothermia.

Keywords: Lipopolysaccharide, Hypothermia, Aldosterone, Mineral, Rat

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1a: Gram negatif bakterilerde LPS'nin genel yapısı 3
Şekil 2.1b: Vücut sıcaklığının kontrolü 6
Şekil 2.1c: Böbrek üstü bezi ve anatomisi 10
Şekil 2.1d: Böbrek üstü bezi adrenal korteks (kabuk) kesitinin görünüşü 10
Şekil 3.1: Deneylere kullanılan erişkin erkek Wistar albino sıçanlar 15
Şekil 3.3: Peritona yerleştirilen sıcaklık vericisi (model VM-FH 3000) implant. 16
Şekil 3.4a: Vücut sıcaklığı kayıtlarını 1 dakikalık aralıklarla kayıt yapan biyotelemetrik cihaz (Mini Mitter, Bend, OR, ABD) 17
Şekil 3.4b: Vericilerden gelen sıcaklık sinyallerin alan TR 3000 serisi alıcı 18
Şekil 3.6: Biyokimyasal analizlerde kullanılan Architect C8000 (Abbott, ABD) cihazı 19
Şekil 5.1: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, vücut sıcaklığına ait değişimlerin gösterimi 23
Şekil 5.2a: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, aldosteron hormonuna değişimlerine ait gösterim 25
Şekil 5.2b: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, Na değişimlerine ait gösterim 26
Şekil 5.2c: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, Cl değişimlerine ait gösterim 26
Şekil 5.2d: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, K değişimlerine ait gösterim 27
Şekil 5.2e: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, Ca değişimlerine ait gösterim 27
Şekil 5.2f: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, P değişimlerine ait gösterim 28

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 3.1: Deneyler için oluşturulan hayvan grupları ve gruplara ait sayılar ... 15

Çizelge 4.1: Sıçanlarda, ağırlık, ΔT ve kan alma zamanına ait elde edilen bulgular 20

Çizelge 4.2: Kontrol (tuzlu su) ve LPS ile oluşturulan hipotermi grubu sıçanlarda, kan serumu Na, K, Cl, Ca ve P düzeylerine ait bulgular 21

SİMGELER

dl	Desilitre
g	Gram
IM	Kas içi
ip	Periton içi
IV	Damar içi
kg	Kilogram
l	Litre
µg	Mikrogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
mEq/l	Milliequivalent/litre
pH	Hidrojen iyon konsantrasyonu
pg	Pikogram
%	Yüzde
ΔT	Bazal sıcaklık
°C	Santigrat derece

KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
ANP	Atrial natriüretik peptid
As	Arsenik
ATP	Adenozin trifosfat
B	Bor
Ca	Kalsiyum
Cl	Klor
Co	Kobalt
Cr	Krom
CRH	Kortikotropin salgılayıcı hormon
Cu	Bakır
E. coli	*Escherichia coli*
F	Flor
Fe	Demir
H	Hidrojen iyonu
HCL	Hidroklorik asit
HPA	Hipotalamus-hipofiz-adrenal aks
I	İyot
IL1	İnterlökin 1
IL6	İnterlökin 6
K	Potasyum
Li	Lityum
LPS	Lipopolisakkarit
Mg	Magnezyum
Mn	Manganez
Mo	Molibden
MR	Mineralokortikoid reseptörü
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
Ni	Nikel
P	Fosfor
Pb	Kurşun
RNA	Ribonükleikasit
S	Kükürt
Se	Selenyum
Si	Silisyum
Sn	Kalay
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TNF-α	Tümör nekroz faktör-alfa
V	Vanelyum
Zn	Çinko

1. GİRİŞ

Gram negatif bakteriler, genelde hastane ve toplum kökenli mikroorganizmalar olup kaynağı genellikle hastanın kendisi, canlı ve cansız yapılardır. Endotoksik bir madde olan lipopolisakkarit (LPS) gram negatif bakterilerin komponentidir (bileşenidir). Lipopolisakkarit, gram negatif bakterilerin dış zarının önemli bir bileşenidir. Gram negatif enfeksiyonlar ile ilişkili fizyopatolojik olaylardan sorumludur [1]. Endotoksinlerin aşırı miktarları birden fazla organ yetmezliği ve ölüme neden olabilmektedir [2].

Deneysel olarak, LPS düşük dozlarda (5-500 mikrogram/kg) sistemik yolla uygulandığında akut faz reaksiyonu adı verilen bir yanıt oluşturur. Bu yanıtın merkezi sinir sistemi aracılığı ile kontrol edilen, immünolojik, endokrinolojik, otonomik ve davranışsal birçok değişim görülmektedir.

Düşük doz aralığındaki çalışmalarda, rodentlerde LPS ile termoregülatuvar anlamda ateşle birlikte hipoterminin de gelişebileceği anlaşılmaktadır [3]. Oluşan bu hipotermi (ateş gibi) regüle bir yanıttır. Lipopolisakkarit hipotermisi sırasında rodentlerde pasif bir ısı kaybı olmamakta, metabolik ısı üretimi azalmakta ve davranışsal olarak daha soğuk tercih edilerek, oluşan hipotermi sürdürülmeye çalışılmaktadır. Bu bulgular, hipotalamusta lokalize olduğu düşünülen termostatın (hipotetik) daha düşük bir seviyeye ayarlandığını düşündürmektedir [3-5]. Hipotermik yanıtı başlatan periferik sinyal molekülünün TNF-α (tümör nekroz faktör) olduğu öne sürülmektedir. TNF-α düzeyi yanıtın başlangıç döneminde artmakta, bu artış yanıtın büyüklüğü ile doğru orantılı olarak yanıt boyunca sürmektedir [6]. TNF-α artışı veya salınımı bloke edildiğinde, hipotermik yanıt da inhibe olmaktadır [6-8]. Artan TNF-α, hipotalamik düzeyde prostaglandin sentezini uyarmakta ve böylece termostatın daha düşük bir seviyeye ayarlanması mümkün olmaktadır [9]. Hipotermik yanıt prostaglandin sentezini bloke eden farmakolojik ajanlarla inhibe olabilmektedir. Özellikle siklooksijenaz-1 enziminin bu yanıtta daha önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir [6,8].

Son yıllarda immün sistem hücreleri tarafından salınan mediyatörlerin (sitokinlerin) endokrin sistem üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir. Hipotalamo-hipofiz-adrenal (HPA) ekseni immuniteye bağlı inflamatuar reaksiyonların etkileşimleri sonucunda değiştiği, bu cevapta sitokinlerin (IL1, IL6 ve TNF-α) önemli rol oynadığı bildirilmektedir [10,11].

Bu tezde, erkek Wistar albino sıçanlara uygulanan enfeksiyon modeli LPS ile hipotermi oluşturularak, Aldosteron hormon ve bazı kan mineral düzeyine olan etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

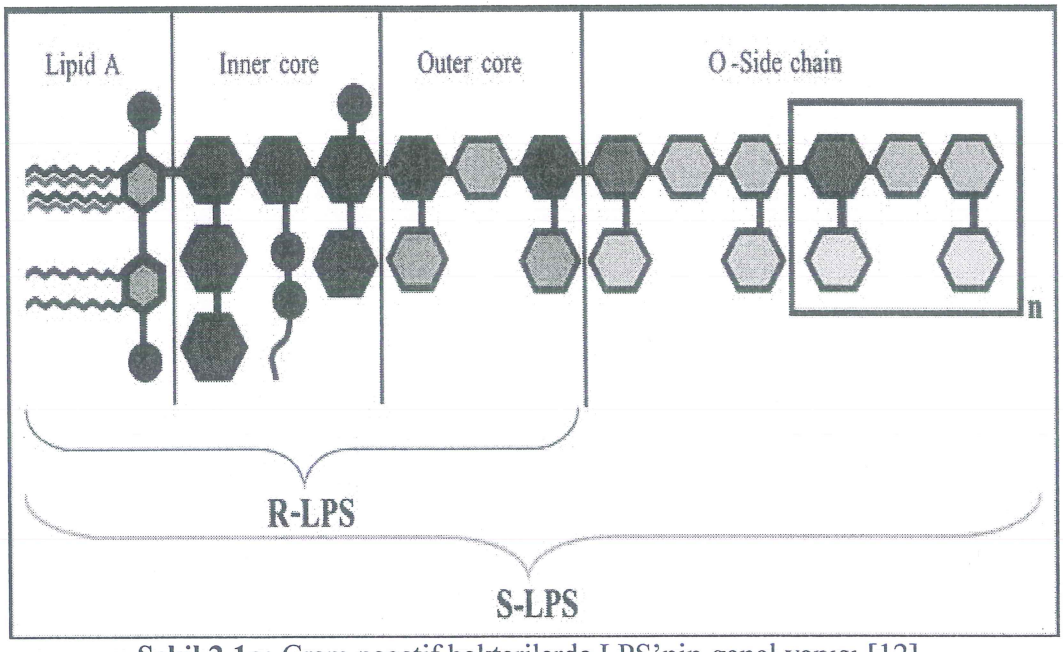
2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Genel Bilgiler

2.1.1. Lipopolisakkarit

Lipopolisakkarit ve endotoksin genellikle aynı anlamda kullanılır ancak aralarında farklık bulunmaktadır. Lipopolisakkarit saflaştırılmış glikolipit yapıya sahip ve bakterinin ölümünden sonra salınmaktadır. Aynı zamanda çoğalma aşamasında az miktarlarda yayılmaktadır. Endotoksin ise LPS' ye ek olarak az miktarda hücre duvarı proteinleri, lipitler, lipoproteinler ve polisakkarid içerir. Lipopolisakkarit toksisitesi çoğunlukla içerdiği Lipid A yapısından kaynaklanır [13].

Gram negatif bakterilerin dış duvarında bulunan LPS, 3 tabakaya birden verilen özel bir isimdir (Şekil 2.1a). LPS olarak ifade edilen yapılar içerisinde konak dokuda immün reaksiyonlara neden olan efektif molekül Lipid A' dır [13].



Şekil 2.1a: Gram negatif bakterilerde LPS'nin genel yapısı [12].

LPS tabakasında üç katmanı;

1. Lipid A: Uzun zincirli yağ asitleri + glikozamin disakkarit üniteleri bulunur ve LPS'nin endotoksin etkisinin tümünden bu bölüm sorumludur [13].

2. Kor: Tüm gram negatif ortak polisakkarid yapı. Lipid-A ile ketodeoksioktülonatla bağlıdır [13].

3. Polisakkarid: Türe özgül O antijeni (somatik antijen) [13].

Lipopolisakkarit çözünen bir maddedir ve yapısal olarak hidrofobik bir lipittir. LPS genelde liyofilize toz halinde ticari olarak temin edilir [13]. Liyofilizasyon işlemi fenol ekstraksiyonu, triklorasetikasit ekstraksiyonu, fenol-kloroform-eter ekstraksiyonu, jel filtrasyon gibi farklı kimyasal işlemler uygulanarak üretilir. LPS'ler, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi birçok gram negatif bakteriden elde edilir [13]. Deneysel septik şok çalışmaları *Escherichia coli*'den elde edilenler üzerinde yoğunlaşmıştır [13]. Bu grupta O26:B6, O55:B5 ve O111:B4 gibi farklı serotiplere sahip farklı suşlardan elde edilmiş LPS türleri mevcut olup kullanılmaktadır [13].

Lipopolisakkarit deneysel hayvan septik şok modellerinde kullanılan, glikolipid yapıdaki maddeler grubudur [13]. Lipopolisakkarit ile septik şokta metabolik, immünolojik, fizyolojik, toksikolojik ve farmakolojik çalışmalar yapılmaktadır [13]. Lipopolisakkarit reseptörlerinin, LPS antogonistleriyle birlikte belirlenmesi ve analiz edilmesi, LPS tarafından oluşturulan hücre aktivasyonun metabolik yolunun belirlenmesine yardım ederek bakteriyel hastalıkların tedavisine yol göstericidir.

Suda çözünen toz halindeki LPS deneysel olarak deney hayvanlarına kas (IM), periton (ip), damar içine (IV) ve infüzyon (sıvı ile damar içine verilmesi) şeklinde verilir. Araştırmalarda LPS uygulamaları 1-5 mg/kg aralığında geniş bir doz aralığına sahip olup hayatta kalma çalışmalarında dozlar genelde yüksektir [13-15]. Dozları belirleyen bir diğer önemli nokta da LPS'nin hangi suşlardan elde edildiği önemlidir. Lipopolisakkarit uygulama sonrası gözlenen değişimler doz ve tür bağımlı olduğu bilinmektedir [14].

Düşük doz LPS ise hiperdinamik faz gözlenir ve insan kompanse (bir eksiğin başka vücut aktivitesiyle tamamlanması) sepsis tablosuna benzer bir model oluşur [16]. Deneysel olarak, düşük dozlarda [5-500 mikrogram (µg)/kg] sistemik yolla uygulandığında akut faz reaksiyonu adı verilen bir yanıt oluşturur. Bu yanıtın merkezi sinir sistemi aracılığı ile kontrol edilen immünolojik, endokrinolojik, otonomik ve davranışsal birçok değişim görülmektedir. Bu komponentler aracılığı ile ateş, motor hipoaktivite, uyku eğilimi, akut faz reaktanlarının salınımı gibi birçok belirti ortaya çıkmaktadır [17]. Bu yanıt ayrıca, sistemik inflamatuvar değişikliklerin oluşumunu incelemek amacıyla bir model olarak da kullanılmaktadır. Tüm bu

değişikliklerin, immünolojik bir saldırıya karşı organizmayı korumaya yönelik bir dizi kompleks, adaptif ve non-spesifik bir süreç olabileceği düşünülmektedir [10,11,18,19].

Lipopolisakkarit uygulanan deneysel sepsis ve septik şok araştırmalarında seçilecek hayvan türü önemli yer tutar [15]. Deneylerde kullanılan hayvanlar fare, sıçan ve kobay gibi küçük hayvanlardır. Bu nedenle köpek, domuz ve koyun gibi büyük türlere göre daha kullanışlıdır [15]. Bu türleri kullanmak, izole kalp, böbrek ve akciğer organ fonksiyonlarının incelenmesi daha kolay ve verimli olup, histopatolojik inceleme için de söz konusu olduğu bildirilmektedir [15].

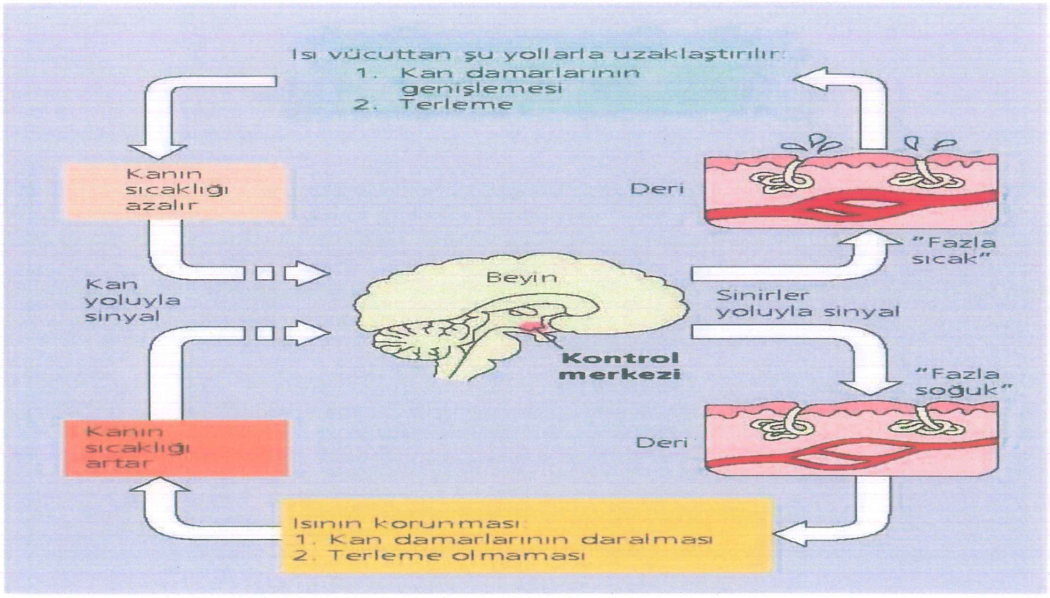
Lipopolisakkaritlerin tek doz halinde intravenöz ve periton içine verildiğinde kullanımı kolay olup, kontaminasyon ve muhafazası zorluğu nedeniyle bakteri kullanımına göre tehlikesi daha azdır. Yine LPS stabil ve saf olması, liyofilize şeklinde muhafazası kolaydır.

2.1.2. Normal vücut sıcaklığı, ateş ve hipotermi

Normal vücut sıcaklığı, herhangi termal bir strese maruz kalmamış kişinin vücut sıcaklığıdır. İnsanın ortalama oral 36.5-36.7°C, rektal 37°C ve deri sıcaklığı 33-34°C'dir. Bu ortalama değerlerden 0.5°C kadar sapmalar görülür. Uykuda ve ovulasyon zamanında 1°C kadar sapmalar normal kabul edilir. Tam istiharat halindeki bir insanın oral 37.5°C, rektal 38°C sıcaklık ateşi işaret edebilir [20,21].

Vücut sıcaklığının değişmez tutulabilmesi için ısı meydana gelişi ile ısı kaybının eşit olması gerekir. Fizyolojik mekanizmalar termal dengeyi (vücut sıcaklığını) normale yakın bir değerde muhafaza eder [20,21]. Vücut sıcaklığını ayarlayan mekanizmalar otonomik, somatik, endokrin ve davranış değişikliği gibi olayları kapsar [20]. Vücut sıcaklığını ayarlayıcı mekanizmaların bir kısmı ısı oluşumunu arttırırlar, bir kısmında ıs kaybını azaltırlar.

Hipotalamustaki sıcaklık ayarlayıcı merkezler iki esas kaynaktan gelen impulslar ile aktive edilirler. Bunlar, arterior hipotalamustaki sıcaklığa duyarlı nöronlar ve derideki sıcağa ve soğuğa duyarlı reseptörlerdir [20-22]. Soğuk ile aktive edilen refleksler posterior hipotalamustan kontrol edilirler. Deneysel olarak posterior hipotalamusun elektrik akımı ile uyarılması titremeye neden olur. Sıcak ile aktive edilen refleksler ise esas olarak arterior hipotalamus tarafından kontrol edilir (Şekil 2.1b). Deneysel olarak bu bölgenin uyarılması, deri kan damarlarının genişlemesine ve terlemeye neden olur [20].



Şekil 2.1b: Vücut sıcaklığının kontrolü [22].

Hipotalamus sıcaklığa duyarlıdır. Deneysel olarak hipotalamus ısıtılırsa, vücutta ısı kaybı mekanizmaları harekete geçer, terleme, solunum yollarından evoporasyon için hızlı nefes alma, deri kan damarlarında genişleme görülür. Deneysel olarak hipotalamus soğutulursa, vücutta ısı üretimi artar, titreme, deri kan damarlarında daralma görülür [20,21].

Ateş ya da febril yanıt, hastalığa karşı sitokinlere bağlı vücut sıcaklığında, akut faz reaktanlarının oluşumu ve çeşitli fizyolojik, endokrinolojik, immunolojik sistemlerin aktivasyonunu içeren karmaşık fizyolojik bir reaksiyondur [23].

Vücut sıcaklığının artması, bağışıklıktan sorumlu birçok hücre üzerinde önemli değişikliklere yol açar. Araştırmalarda ateşin özellikle, antikor üretimi, T hücre aktivasyonu, sitokin oluşumu, nötrofil ve makrofaj fonksiyonlarının artışı gibi bazı parametreler üzerindeki olumlu etkileri gösterilmiştir. Ateş birçok olumsuz etkisine rağmen çeşitli patojenlerin konaktan temizlenmesine de yardım eder. Hayvan çalışmalarında, ateşin hayatta kalmayı artırdığı bildirilmiştir [24].

Normal vücut sıcaklığının 37°C'den 35°C 'nin altına düşmesi halinde hipotermi denen durum meydana gelir. Genel olarak değerlendirmelerde, 32-35°C hafif hipotermi, 28-32°C orta hipotermi ve 22°C 'nin altı değerler derin hipotermi olarak kabul edilir [25].

Genelde hipotermi esnasında, ısı üretmek üzere düzenleme için hormon salınımları gerçekleşir. Hipotermi yaşamı tehdit eder boyuta gelmesi genellikle vücut enerjisi kaynaklarının tükenmesi sonucu oluşur.

Hipoterminin nedenleri arasında en sık karşılaşılanlar şöyle sıralanabilir;

- yaşlılık,
- soğuk ortama maruz kalma,
- ilaçlar (alkol, fenotiyazinler, barbitüratlar, paralitik ilaçlar),
- endokrin disfonksiyon (hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz, hiperosmolar koma, hipotiroidizm, panhipopitüiteridizm),
- merkezi sinir sistemi hastalıkları (inme, beyin tümörü, luetik gliozis, sarkoidozis),
- omurilik kesisi, cilt hastalıkları,
- debilite (ağır renal, hepatik, kardiyak yetmezlik, sistemik lupus eritematozus),
- sepsis ve septik oluşturmaktadır [25].

Hipoterminin organizma üzerindeki genel etkileri;

- metabolizmada yavaşlama,
- kardiyak aritmi,
- hipotansiyon,
- hipopne,
- dehidratasyon,
- koma,
- ilaç klerensinde değişiklikler,
- anemi,
- hemokonsantrasyon,
- trombositopeni,
- granülositopeni,
- pankreatit,
- hiperglisemi,
- pnömoni,
- sepsis ve septik şok, görülmektedir [25].

Hipoterminin tedavi amaçlı uygulanması uzun yıllar öncesine dayanmaktadır. İlk kez Fay (1943) [26], tarafından akut beyin hasarında faydalı olan hipotermi, Bigelow vd. (1950) [27] tarafından kalp cerrahisinde uygulanmıştır. İzleyen yıllarda beyin hasarında terapötik hipoterminin deneysel modelleri üzerinde çalışılmış ve kardiyak arrest (ani durması/krizi) sonrasında hipotermi uygulanmasına yönelik sistematik yaklaşımlar geliştirilmeye başlanmıştır [28,29]. Araştırmalardan elde edilen sonuçlar,

hipoterminin hücresel hasar ve ölümden koruyucu etkisinin oksijen ve glikoz metabolizmasındaki azalması sonucu olmadığını göstermiştir. Hafif hipoterminin nöron koruyucu etkisi, apopitozun inhibisyonu, serbest radikal oluşumunun azalması, membran stabilizasyonu sağlanması ve uyarıcı nörotransmitterlerin azalması ile açıklanmaktadır [30].

Kontrollü hipoterminin faydaları kalp gibi hayati organın korunmasını, metabolizmanın yavaşlamasını ve ATP depolarının korunmasını sağlar. Oksijen kullanım hacmini azaltır ve iç organların korunmasını sağlar. Aynı zamanda membran stabilizasyonunu sağlayarak hücrenin korunmasına yardımcı olmaktadır.

Kontrollü hipoterminin kullanım alanları; uzun süren cerrahi işlemlerde (beyin, kalp gibi), dolaşım sistemi üzerindeki etkisinden dolayı kan kaybının önlenmesinde yararlanılmaktadır. Tıp alanında beyin kanaması sonucu gelişen travmalar dikkate alındığında, moleküler düzeyde hızlı ve kontrollü hipotermi uygulamasının bu travmaların önlenmesinde önemli yer tutacağı bilinmektedir.

Hipotermi, özellikle kalp durmalarında yapılan kalp masajı sonrası tekrar kalbi çalıştırabilinen insanlarda tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Kalp durması ve kalp masajı sırasında gerçekleşen oksijen azalmasından kaynaklı beyin hasarlarının, damarlardan geçen kanın hızını azaltarak tedavi edilebildiği bilinmektedir. Son yıllarda yeni umut olarak kanseri tedavi etmek üzere lokalize (nano teknoloji kullanarak) hipertermi (ateş) kullanıldığı gibi aynı şekilde lokalize oluşturulmuş hipoterminin de kanser tedavisinde alternatif olduğu gösterilmiş ve bu uygulama ulaşılabilinen tümörlerin dondurularak yok edilmesi şeklindedir.

Hipotermi primer ve sekonder olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadır. Organizmanın soğukla karşılaşma sonucu gelişen gelişen primer hipotermi, hastalıklar (kronik), zehirlenmelere neden olan toksikolojik ajanlar ve yaşlanmaya bağlı ısı düzenlemesinin (regülasyon) bozulması sonucu sekonder hipotermi gelişimi gözlenir.

2.1.3. Lipopolisakkarit ile oluşturulan hipotermi

Deneysel modelizasyon kapsamında kullanılan LPS dozu kritik bir anlam taşımaktadır. Çünkü doz 1 mg/kg ve üzerine çıktığında endotoksik bir şok tablosu gelişmekte, akut faz reaksiyonuna ek olarak, derin bir kardiyovasküler toksisite ortaya çıkmaktadır [31]. Düşük doz aralığındaki çalışmalarda, rodentlerde LPS ile

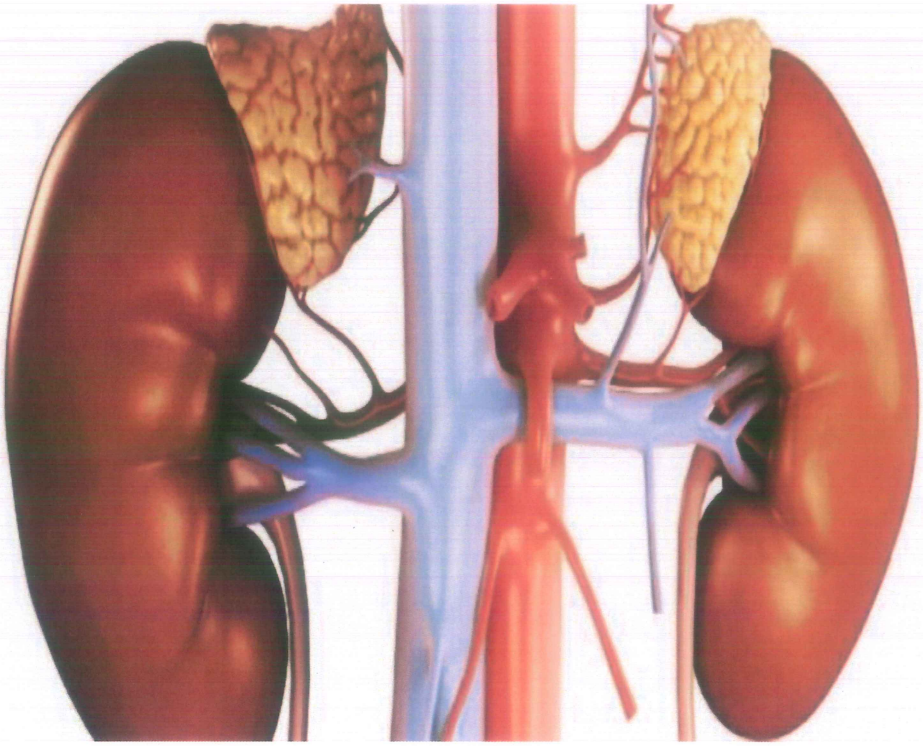
termoregülatuvar anlamda ateşle birlikte hipoterminin de gelişebileceği anlaşılmaktadır [3]. Oluşan bu hipotermi (ateş gibi) regüle bir yanıttır. LPS hipotermisi sırasında rodentlerde pasif bir ısı kaybı olmamakta, metabolik ısı üretimi azalmakta ve davranışsal olarak daha soğuk tercih edilerek, oluşan hipotermi sürdürülmeye çalışılmaktadır. Bu bulgular, hipotalamusta lokalize olduğu düşünülen (hipotetik) termostatın daha düşük bir seviyeye ayarlandığını düşündürmektedir [3-5].

Hipotermik yanıtı başlatan periferik sinyal molekülü TNF-α (tümör nekroz faktör)'dır ve TNF-α düzeyi yanıtın başlangıç döneminde artmaktadır. Bu artış yanıtın büyüklüğü ile doğru orantılı olarak yanıt boyunca sürmektedir. Artışı veya salınımı bloke edildiğinde, hipotermik yanıt da inhibe olmaktadır [6-8]. Artan TNF-α, hipotalamik düzeyde prostaglandin sentezini uyarmakta ve böylece termostatın daha düşük bir seviyeye ayarlanması mümkün olmaktadır [9].

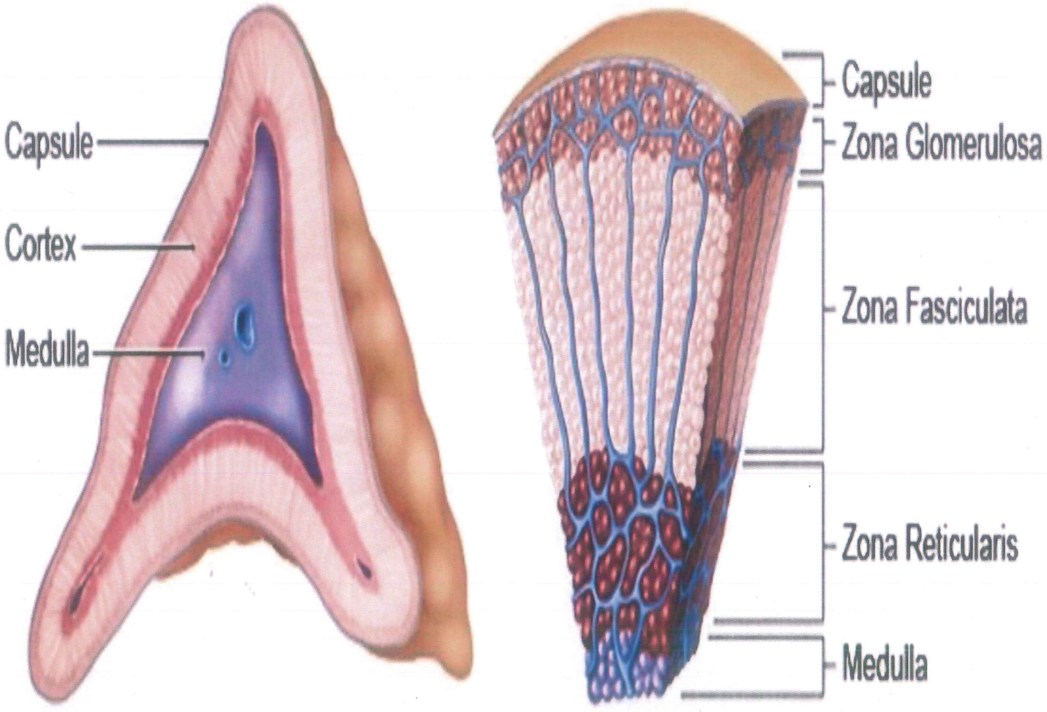
2.1.4. Aldosteron

Aldosteron, adrenal (böbrek üstü) bezlerin korteks (kabuk) kısmının Zona Glomerulosa alanlarında (Şekil 2.1c ve 2.1d) üretilerek salınan steroid hormon olup, kan sodyum (Na) ve potasyum (K) düzeylerini düzenler [32-34]. Aldosteron sentaz enzimi ile kolesterolden oluşturulur. Aldosteron su-elektrolit dengesinin kontrolünde yer alan ana mineralokortikoit hormondur [35]. Aldosteron hormonu, böbrekte toplayıcı kanalındaki hücre zarlarında yer alan mineralokortikoit reseptörlerine (MR) bağlanır ve bu hücrelerin zarlarından sodyum ve potasyum geçirgenliğini arttırarak Na^+/K^+ pompaları etkinleştirir [33-34]. Bu nedenle enerji üretimini (ATP) etkileyerek su ve Na emilerek kana geçer, K idrara verilmesi sağlanır [33].

Aldosteron ayrıca toplayıcı kanallardaki α-aracık hücrelerinden H^+ salgılanmasını uyararak plazma bikarbonat düzeylerini ve dolayısıyla kanın pH'sini düzenler [32]. Aldosteron, böbreğin süzdüğü sodyumun % 2'sinin yeniden kana geçmesinden sorumludur. Bu oran, normal glomerüler süzme hızında kandaki sodyumun tümüne karşılık gelmektedir.



Şekil 2.1c: Böbrek üstü bezi ve anatomisi [36].



Şekil 2.1d: Böbrek üstü bezi adrenal korteks (kabuk) kesitinin görünüşü [37].

2.1.5. Mineral

2.1.5.1. Minerallerin sınıflandırılması ve vücutta dağılımları

Canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için anorganik elementler ya da minerallere ihtiyaç duyarlar. Hayvansal dokuların hepsi farklı miktar ve oranda mineral madde içeriğine sahiptir. Genellikle tuz olarak bulunan mineraller, anorganik elementlerin bir birleşimi olabilirler. Mineral ve mineral element terimleri aynı anlamda kullanılır ve mineral elementler farklı şekillerde (katı, kristal şeklinde gibi) sentezlenmeyen ve parçalanmayan elementlerdir [38].

Hayvansal organizmalarda gereksinilen miktarlarına göre sınıflandırılır ve organizmanın fazla ihtiyaç duyulanlara makro mineraller (makro elementler), ihtiyaçın çok az olanlarına ise mikro (iz) mineraller (mikro elementler) olarak tanımlaması yapılır. Hayvanların ihtiyaç duyulan 24 element saptanmıştır [38].

Makro mineraller; Fosfor (P), Kalsiyum (Ca), Klor (Cl), Kükürt (S), Magnezyum (Mg), Potasyum (K) ve Sodyum (Na) elementlerinden oluşur.

İz mineraller; Arsenik (As), Bakır (Cu), Bor (B), Çinko (Zn), Demir (Fe), Flor (F), İyot (I), Kalay (Sn), Kobalt (Co), Krom (Cr), Kurşun (Pb), Lityum (Li), Manganez (Mn), Molibden (Mo), Nikel (Ni), Selenyum (Se), Silisyum (Si), Vanadyum (V).

Hayvan vücudunun % 3.45'lük kısım makro elementler, % 0.55 iz elementlerden oluşur ve vücut dokularındaki dağılımları üniform (tekdüze) değildir [38].

2.1.5.2. Minerallerin genel fonksiyonları

Hayvansal organizmada fonksiyonları, organik maddelerin, kemik ve diş yapılarına katılır. Yine bazı enzimlerin aktive edilmelerini, vücut asit ve baz düzeylerinin ayarlanması, osmotik basıncın düzenlenmesi, sekresyonun, absorbsiyonun ve koloidal durumun oluşumunu, kalp, kas ve sinirlerin fizyolojik fonksiyonlarını düzenlemesine yardımcı olurlar [38].

Mineral elementlerin vücudun yapısına katılır. Kalsiyum, P, Mg, F, Fe ve Si kemiklerde ve dişlerde mekanik sağlamlığına yardımcı olurlar. Barsaklarda, dokularda ve vücut sıvılarında artan hidrojen iyonu yoğunluğunu kontrol eder ve barsaklardan sıvıların geçiş hızını (her iki yönde) artırırlar [38]. Hayvanların mineral ihtiyaçları, hayvanın türüne, yaşa, genetik yapıya, ırka ve yetiştirme pratiğine bağlı

olarak değişir [38]. Minerallerin bileşiklerin suda çözünme ya da su emme yetenekleri önemli olup, ancak iyon formunda emilebilirler [38].

2.1.5.3 Kalsiyum (Ca)

Kalsiyum hayvan vücudunda, %99'u kemikler ve dişlerde, %1'i vücut sıvılarında bulunur. Kalsiyum ve P, kemiklerde birikir ve mobilize olur. Büyük bir kısmı ince barsakta gereksinimlerine göre absorbe edilir.

Kalsiyum, kemiklerin ve dişlerin yapısına katılır, kanın pıhtılaşma mekanizmasında protrombinin trombine dönüşmesini sağlar. Hayvansal organizmalarda koenzim ya da enzim aktivatörü olarak enzimatik reaksiyonlarında görev yapar, Na ve P ile birlikte kalp atışını düzenler, kasların çalışmasında, sinaptik iletilerin yapılabilmesi için nörotransmitter salınımında ve hücre içi ikincil haberci sisteminde önemli görevler üstlenir [38].

2.1.5.4. Fosfor (P)

Fosfor, hayvansal organizmada vücudunda, %70-85'i kemik ve dişlerde, diğer kısım ise; yumuşak dokularda organik bileşikler olarak, fosfoprotein, fosfokreatin, nükleoprotein ve nükleik asitler olarak bulunur [38].

Fosfor, kalsiyum ve vitamin D'nin metabolizmaları ile ilişkili olup P emilmesi, atılması ve kemik oluşumu bakımından görev alırlar. İnce barsaktan emilir kanla tüm vücutta dolaşır.

Fonksiyonları bakımından, kemiklerin ve dişlerin temel unsuru, nükleik asitlerin, fosfoproteinlerin, adenozin fosfat, hekzosfosfat, kreatinfosfat ve fosfolipitlerin önemli unsurudur. Fosfor monosakkaritlerin barsaktaki emilmeleri, glikozun böbreklerden geriye emilimi, kanda ve diğer vücut sıvılarında tampon madde olarak görev alır [38]. Hayvanlarda fosfor gereksinimi yaş, cinsiyet, besin fosfor oranı, vitamin D düzeyi, fosfor bileşiklerinin nitelikleri ve fosfor emilimini etkileyen faktörlerin durumuna göre değişiklik gösterir [38]. Metabolik aktif dokularda fosfor yetersizliği, hücrelerin metabolik aktivitelerini etkileyerek RNA sentezinin azalmasına neden olur [38].

2.1.5.5. Sodyum (Na) ve Klor (Cl)

Sodyum, tabiatta serbest şekilde bulunmaz, halojenlerle (büyük ölçüde klorla) ve fosforla birleşmiş durumdadır [38]. Sodyum ince barsaktan kolaylıkla emilir, mide ve barsak dışında az da olsa deriden de emilir.

Klor bir elektron alıcısı olarak rol oynar, bazı gazlar ve nitrojen dışında tüm elementlerle kolayca birleşirler [38]. Klor, Na'dan farklı olarak, hücre içinde ve dışında yüksek yoğunlukta bulunur. Hayvansal organizmada Cl'nin, % 85'i hücre arası sıvılarda, diğer kalan Cl'nin kısmı eritrositlerde, deride, kaslarda, sinirlerde ve barsaklarda bulunur [38].

Sodyum ve Cl'nin hayvansal organizmadaki görevi, K ile birlikte osmotik basıncı ve asit-baz dengesini düzenler. Hücre düzeyinde su metabolizmasında önemli görevler yaparlar. Ayrıca Na ve Cl, besin maddelerinin hücreler tarafından emilimini ve artık ürünlerin hücreden atılmasını kontrol eder. Sindirilen protein ve şekerlerin emilebilmeleri için ince barsak lumeninde Na iyonlarının bulunması gerekmektedir [38]. Sodyum ve Cl iyonları, kas ve sinir sisteminin işleyişinde önemli görev alır. Pankreas salgısı ve safra gibi sindirim salgılarının salınımında, mide salgısındaki HCl üretimi kanda bulunan NaCl kaynak teşkil eder [38].

Sodyum yetersizliği, iştahsızlığa, büyümenin gerilemesine, ağırlık kaybına, titreme, hareketlerde ahenksizlik ve ölümle sonuçlanan kalp atışlarındaki düzensizliğe yol açar. Klor yetersizliği, canlı ağırlıkta azalmaya, iştahın gerilemesine, uyuşukluğa, zayıflığa ve kalp damar yapısında bozulmaya neden olur [38].

2.1.5.6. Potasyum (K)

Doğada serbest olarak bulunmaz, bileşik halinde bulunur. Potasyum, difüzyonla ince barsaktan emilir. Özellikle aldosteron, böbreklerden P atımına ve Na geriye emilmesine yardımcı olur. Yetersiz düzeyde aldosteron üretimi fazla Na kaybına ve P birikimine, adrenal korteksin aşırı aktivitesi, Na'nın fazla miktarda geriye emilmesini ve idrarla P kaybını artır [38].

Hayvansal organizmadaki görevleri, dokularda ve kan hücrelerinde temel baz olup, asit ve baz dengesinin düzenlenmesinde önemli bir yer tutar. Sinir uyarılarının kas hücrelerine iletilmelerini ve kasların (kalp kası dahil) ritmik kasılmasını sağlar. Yine birçok enzim sisteminin kofaktörü ve hücre içi sıvıların osmotik basınçlarını sağlar [38].

Vücutta P yetersizliğinde, iştah azalır, büyümenin gerilemesine, kasların zayıflamasına ve felçlere neden olur. Sürekli P yetersizliği, asidosis, yaşamsal organlarda dejenerasyonlar ve sinir sisteminde işleyiş bozulmasına neden olur. Stres sürecinde, aldosteron hormonu tarafından P atımı artar. Potasyum fazlalığı, böbrek yetersizliği, aşırı su kaybı, şok ve adrenokorteks yetersizliği gibi durumlarda ortaya çıkar ve hiperkalemi terimi ile tanımlanır [38].

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Vücut ağırlığı 220-300 g ağırlığa sahip erişkin erkek Wistar albino (Şekil 3.1) sıçanlar kullanıldı. Deneyler için oluşturulan hayvan grupları ve sayılarına ait bilgiler çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1: Deneylere kullanılan erişkin erkek Wistar albino sıçanlar.

Çizelge 3.1: Deneyler için oluşturulan hayvan grupları ve gruplara ait sayılar.

Gruplar	Hayvan Sayısı
Tuzlu Su	10
LPS Giriş (Hipoterminin başlangıcı)	10
LPS Dip (Hipoterminin en derin noktası)	10
LPS Çıkış (Hipoterminin bitiş noktası)	10

Not: Tuzlu Su (% 0.09'luk NaCl, 0.5 ml/kg ip); LPS (Serotip *E.coli*, O111:B4, 250 µg/kg, ip).

3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

LPS: Hipotermi oluşturmak için lipopolisakkarit (E.coli serotip O111:B4, Lot no: L2630, 25 mg, 118K4053, Sigma, İSRAİL) kullanıldı. **Tuzlu Su:** Kontrol grubu için, % 0.09'luk NaCl (serum fizyolojik) kullanıldı.

3.3. Cerrahi İşlemler (İmplantların Yerleştirilmesi)

Sıçanlara genel anestezi altında (ketamin 80 mg/kg+ksilazin 10 mg/kg, im) periton içerisine sıcaklık vericisi (model VM-FH 3000) bir implant yerleştirildi (Şekil 3.3). Bu aşamadan sonra her bir sıçan tek olarak kafeslerde muhafaza edildi. Operasyondan sonra, sıçanlar operasyon öncesi ağırlıklarına ulaştıklarında deneye alındı.



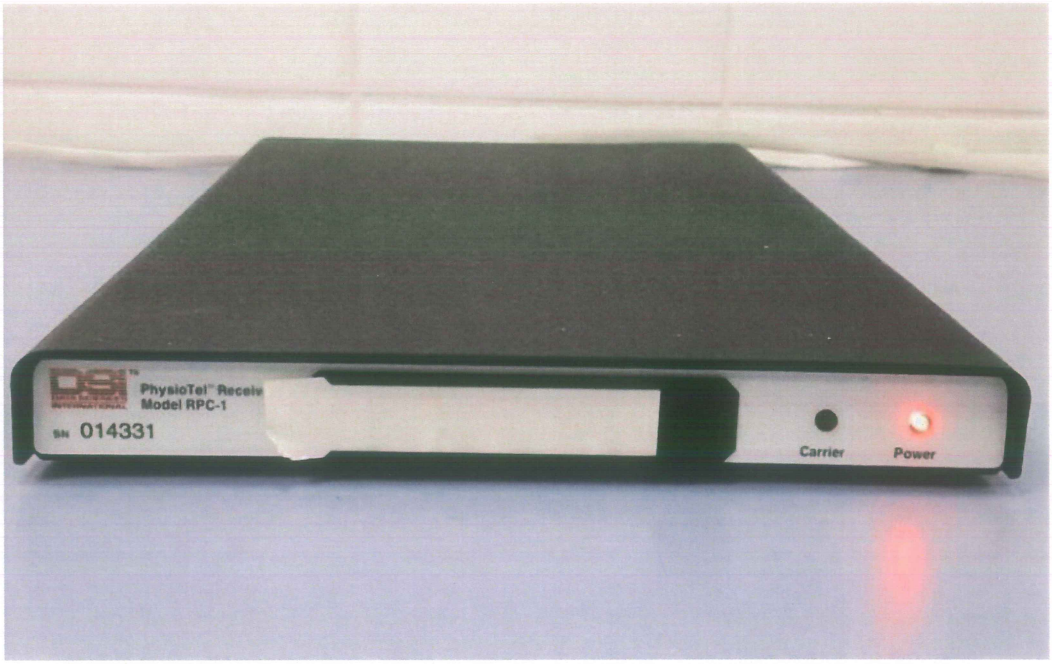
Şekil 3.3: Peritona yerleştirilen sıcaklık vericisi (model VM-FH 3000) implant.

3.4. Deney Protokolü

Bütün deneylerin gerçekleştirildiği laboratuvarın sıcaklığı 24-26 °C arasında tutuldu. Deneylere saat 09:00'da başlandı en az 2 saat süreyle vücut sıcaklığının stabil olması beklenildi. Enjeksiyonlar, saat 11:00-12:00 arasında yapıldı ve oluşan yanıta göre kan örnekleri alındı. Vücut sıcaklığı kayıtları 1 dakikalık aralıklarla yapıldı ve vücut sıcaklığı biyotelemetrik olarak kaydedildi (Mini Mitter, Bend, OR, ABD) (Şekil 3.4a). Vericilerden gelen sıcaklık sinyallerin alınması için, TR 3000 serisi alıcılar kullanıldı (Şekil 3.4b).



Şekil 3.4a: Vücut sıcaklığı kayıtlarını 1 dakikalık aralıklarla kayıt yapan biyotelemetrik cihaz (Mini Mitter, Bend, OR, ABD).



Şekil 3.4b: Vericilerden gelen sıcaklık sinyallerin alan TR 3000 serisi alıcı.

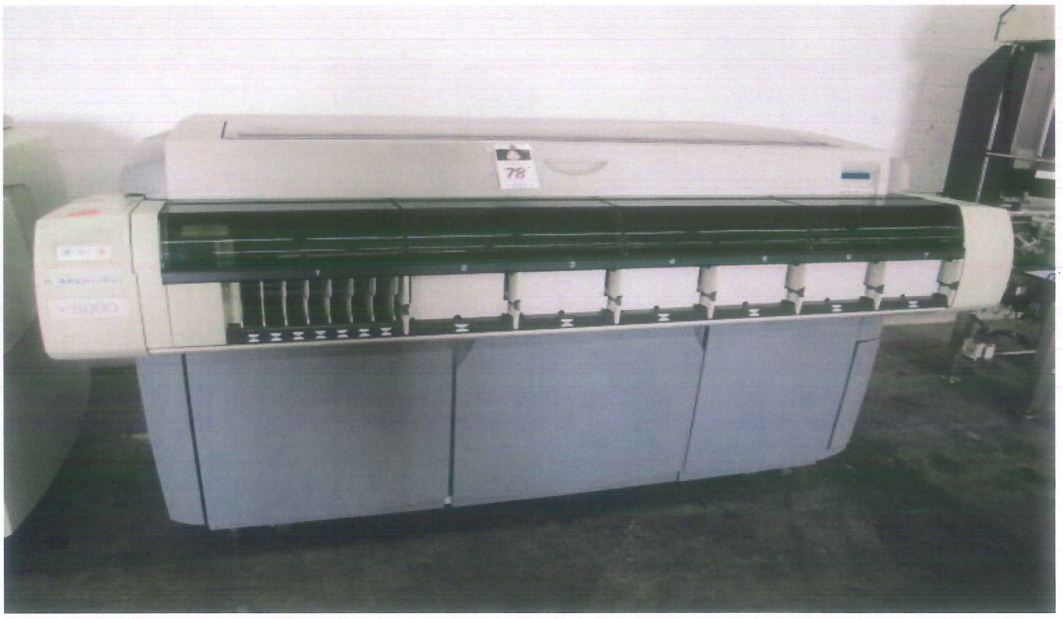
3.5. Kan Örneklerinin Elde Edilmesi

İntraperitonal yolla LPS uygulanarak hipotermi oluşturulan biyotelemetrik verici implante edilmiş sıçanlardan, kontrol grubu, hipoterminin başlangıç, en derin noktası ve bitiş anında dietileter anestezisi altında intrakardiyak yolla 2-2.5 ml kan örnekleri alındı. Belirtilen her bir zaman anı için farklı sıçan grupları kullanıldı. Kontrol grubunu oluşturan sıçanlar, hipoterminin değişik evrelerine (başlangıç, en derin ve bitiş noktasına) dağıtılarak, denk gelen zaman dilimlerinde 2-2.5 ml kan örnekleri alındı. Her grubun, vücut sıcaklığı ortalamaları ve alınan kan örneklerinde yapılan hormon analiz sonuçları birleştirilerek tek bir kontrol grup olarak değerlendirildi. Tüm gruplardaki sıçanlar, kan alma işlemini takiben dietileter ile ötenazi yapıldı. Alınan kan örnekleri 4°C de bir saat ağzı kapalı olarak bekletildikten sonra, 10.000 rpm'de, 5 dak. santrifüj edildi ve elde edilen kan serumları steril saklama tüplerine 75 µl'lik alikotlar halinde aktarılarak analizlerin yapılacağı zamana kadar -80°C'de saklandı.

3.6. Hormonal ve Biyokimyasal Analizler

Aldosteron hormon analizleri için, ELISA yöntemli ticari kitler (DRG, ABD) kullanıldı. Kitler içerisinde yer alan prospektüste önerilen çalışma prosedürleri uygulandı, her bir örnekten çift ölçüm yapıldı, aynı zamanda en düşük ve en yüksek

seviyedeki ölçülen örnekler tekrar analiz edildi ve ortalamaları alındı. Biyokimyasal analizler, Architect C8000 (Abbott, ABD) cihazı ve bu cihaza ait ölçüm kitleri ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Biyokimyasal analizlerde kullanılan Architect C8000 (Abbott, ABD) cihazı [39].

3.7. Etik Kurul İzni

Araştırmada uygulanacak tüm deney protokolleri için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı ve izni alınmıştır (Tarih: 09.04.2008, No: 2008-24-82).

3.8. İstatistiksel Analizler

Enjeksiyon öncesi 30 dakikalık vücut sıcaklığı değeri basal sıcaklık olarak kabul edildi ve enjeksiyon sonrası oluşan değişikliklerin basal sıcaklıktan farkı alınarak hesaplandı (ΔT). Sıcaklık farkları, ortalama ± standart hata olarak ifade edildi ve parametrik istatistiklerle analiz edildi. Hormon değerleri analiz edildikten sonra her bir grubu oluşturan verilerin dağılım özelliklerine bakıldı. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki farklılıkların analizi ANOVA ile yapıldı. Bu analizlerde SPSS 15.0 paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1 Kontrol (Tuzlu Su) ve LPS Deney Gruplarında Ağırlık, ΔT ve Kan Alma Zamanlarına Ait Bulgular

Çizelge 4.1'de sıçanlara tuzlu su (% 0.09'luk NaCl, 0.5 ml/kg ip) ve LPS (Serotip *E.coli*: O111:B4; 250 µg/kg, ip) uygulanarak yapılan deneylerde, oluşturulan hipoterminin değişik evrelerinde, elde edilen ortalama hipotermi düzeyleri ve denk gelen zaman dilimlerine ait bulguların değişimi verilmiştir. Aynı çizelgeden görüleceği gibi hipoterminin en derin (ΔT: -1.48±0.09 °C) noktasına ortalama 104.46±4.32 dakikada ulaşıldı. Hipotermi LPS enjeksiyondan 71.42±2.16 dakika sonra başladı (ΔT: -0.58±0.03), 157.65±10.21 dakikada sonlandı (ΔT: -0.08±0.09).

Çizelge 4.1: Sıçanlarda, ağırlık, ΔT ve kan alma zamanına ait elde edilen bulgular.

Gruplar	Ağırlık (g)	ΔT (°C)	Kan Alma Zamanı (dak.)
Kontrol (n:10)	275.60±4.88	0.03±0.08	106.65±9.34
LPS Giriş (n:10)	279.30±2.94	-0.58±0.03	71.42±2.16
LPS Dip (n:10)	268.35±5.64	-1.48±0.09	104.46±4.32
LPS Çıkış (n:10)	289.45±6.82	-0.08±0.09	157.65±10.21

ΔT (°C): Kan alma sıcaklığı – Bazal sıcaklık; Tuzlu Su (% 0.09'luk NaCl, 0.5 ml/kg ip); LPS (Serotip *E.coli*, O111:B4, 250 µg/kg, ip).

4.2 Aldosteron Hormonu Düzeylerine Ait Bulgular

Çizelge 4.2'de sıçanlara LPS (Serotip *E.coli*: O111:B4; 250 µg/kg, ip) ve tuzlu su (% 0.09'luk NaCl, 0.5 ml/kg ip) uygulanarak yapılan deneyler sonucunda kan serumu aldosteron hormonu analiz sonuçları verilmiştir. Analizler sonucunda aldosteron hormon düzeyleri kontrol grubuna göre LPS indüklü hipotermi grupları (giriş, dip ve çıkış) arasındaki farklar istatiksel olarak önemsizdir.

4.3 Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular

Sıçanlara tuzlu su (% 0.09'luk NaCl, 0.5 ml/kg ip) ve LPS (Serotip *E.coli*: O111:B4; 250 µg/kg, ip) uygulanarak yapılan deneyler sonucunda kan serumu Na, K, Cl, Ca ve

P düzeyleri belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Analizler sonucunda üzerinde durulan Na, K, Cl, Ca ve P biyokimyasal parametreler bakımından kontrol grubu ile LPS indüklü hipoterminin grupları (giriş, dip ve çıkış) arasındaki farklar istatiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2: Kontrol (tuzlu su) ve LPS ile oluşturulan hipotermi grubu sıçanlarda, kan serumu Na, K, Cl, Ca ve P düzeylerine ait bulgular.

		LPS Grupları		
Biyokimyasal Parametreler	**Kontrol Grubu (n:10)**	**Hipotermi Giriş (n:10)**	**Hipotermi Dip (n:10)**	**Hipotermi Çıkış (n:10)**
Aldosteron (pg/ml)	38.7±1.63	40.5±1.02	39.8±0.88	40.1±0.95
Na (mEq/l)	149.1±1.29	146.3±1.08	143.3±0.96	143.6±0.87
K (mEq/l)	5.37±0.18	5.30±0.26	5.28±0.20	5.29±0.32
Cl (mEq/l)	108±1.25	109±1.42	109±0.85	110±0.98
Ca (mg/dl)	9.02±0.54	9.16±0.33	9.08±0.47	9.11±0.41
P (mg/dl)	6.38±0.44	6.63±0.39	6.47±0.51	6.52±0.36

5. TARTIŞMA

5.1 LPS İndüklü Vücut Sıcaklığı Değişimi

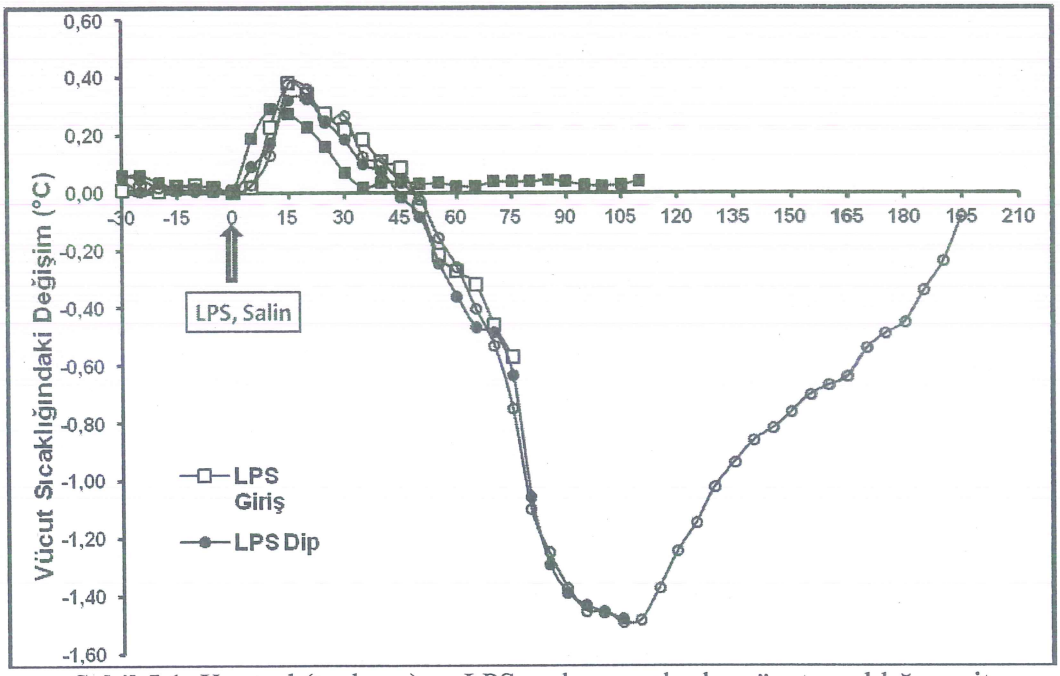
Bu araştırmada, deneysel olarak LPS (O111:B4, 250 µg/kg, ip) uygulanarak sıçanlarda hipotermi (ΔT: -1.48±0.09 °C) oluşturuldu (Çizelge 4.1 ve Şekil 5.1). Düşük doz aralığında LPS ile rodentlerde hipotermi gelişebileceği [3,6,8], bunun nedenlerinden birisi olarak, hipotalamusta lokalize olduğu düşünülen termostatın daha düşük bir seviyeye ayarlandığını düşünülmektedir [3-5]. LPS hipotermisi sırasında rodentlerde pasif bir ısı kaybı olmamakta, metabolik ısı üretimi azalmakta ve davranışsal olarak daha soğuk tercih edilerek, oluşan hipotermi sürdürülmeye çalışılmaktadır.

Oluşturduğumuz hipotermi, LPS enjeksiyonundan sonra ortalama 71.42±2.16 dakikada başladı, 104.46±4.32 dakikada en derin noktaya ulaştı ve 157.65±10.21 dakikada sona erdi (Çizelge 4.1 ve Şekil 5.1). Akarsu ve Mamuk (2007) [6], LPS enjeksiyonundan yaklaşık 40 dakika sonra başlamakta, 30-40 dakika içinde bir minimal noktaya ulaşmakta ve takip eden 60-90 dakika içinde hipoterminin sona erdiği bildirilmekler. Polat vd.'nin (2013) [8], yaptıkları çalışma da benzerlik göstermektedir.

5.2. LPS ile Oluşturulan Hipotermide Aldosteron, Na, K, Cl, Ca ve P Düzeyleri Değişimi

Böbreküstü bezi farklı fizyopatolojik koşullarda yapısal ve işlevsel değişiklikler uğrayarak strese karşı bir yanıt organı olarak görev yapar. Farklı enfeksiyonlarda ve sepsis gibi durumlarda bu bez stres yanıtında önemli bir rol oynar. Özellikle endotoksik etkileşimlerde böbreküstü bezi fonksiyonunda bozulmalar gözlenmiştir. LPS, bütün gram negatif bakterilerin hücre duvarının bir dış bileşeni olup, endotoksik veya septik şok oluşumunun başlatıcı ana faktörü olduğu bilinmektedir. LPS ile organizmada meydana gelen strese bağlı olarak HPA eksenini aktivite ettiği bilinmektedir. Bu artış, IL-1β, IL-6 ve TNF artışı aracılığı ile HPA ekseni aktivitesinin uyarıldığı bildirilmektedir [10,11]. LPS uygulamalarına bağlı olarak,

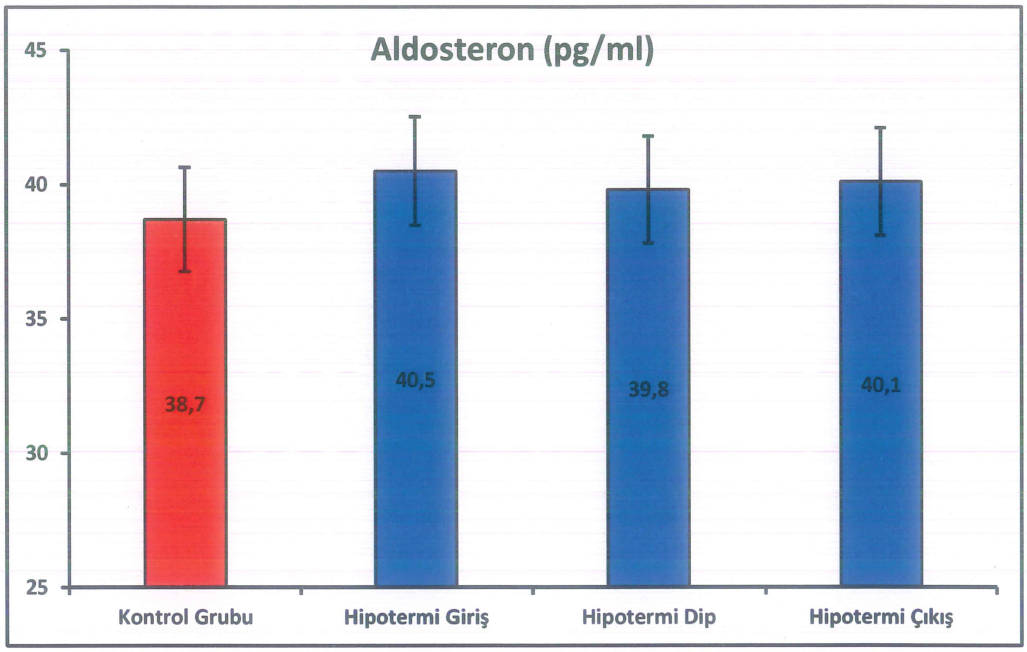
HPA aksı hormonları (CRH ve ACTH) düzeyinde ise birçok araştırmada artış görüldüğü bildirilmektedir [40-46]. HPA ekseni aktivitesindeki bu artışın, enfeksiyona yanıt olarak fizyolojik homeostazisi korumak için devreye girdiği bildirilmektedir [19,47].



Şekil 5.1: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, vücut sıcaklığına ait değişimlerin gösterimi.

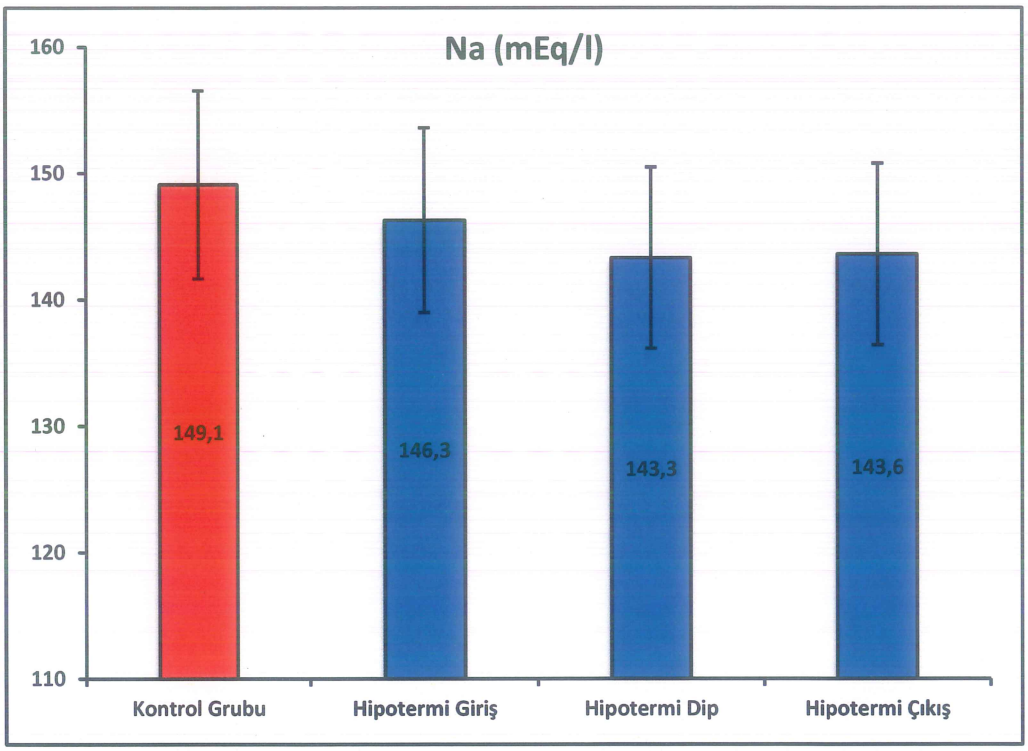
Hipotalamustan salgılanan CRH artışı hipofizi uyararak plazma ACTH düzeyinde artışa neden olmaktadır. Artan ACTH adrenal kortesini uyarak güçlü glukokortikoid salınımına ve bununla birlikte çeşitli stres uyarıcılarına tepki olarak adrenal korteksten aldosteron salındığı bildirilmektedir [48]. Yine akut ve kronik stres faktörleri tarafından aldosteron salınımına, anjiotensin II ve ACTH hormonun aracılık ettiği bildirilmektedir [34,49]. Ancak farklı literatür bildirişlerinde, septik şokta adrenal korteks zona glomerulozada hipotansiyona yanıt olarak aldosteron sekresyonunun arttığı, ancak plazma aldosteron düzeyleri hiperreninemiye rağmen düşük seviyede bulunduğu bildirilmektedir [1,50]. Yine farelerde endotoksik şok sırasında atriyal natriüretik peptid (ANP) konsantrasyonları arttığı ve ANP aldosteron salınımını inhibe ettiği tespit edilmiştir [51,52]. De Salamanca ve García, (2005) [1] yaptıkları araştırmada endotoksemik sıçanların adrenal bezlerinden izole adrenokortikal hücrelerin ACTH yanıtında bozulma olduğunu bildirmiştir.

Yine yapılan farklı araştırmalarda ciddi bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda, ACTH cevaben kortizol seviyelerini artırmadığı bildirmektedir [53]. Sepsis hastalarının bir kısmında adrenokortikal yetmezlik geliştiği bildirilmektedir [53,54]. Polat vd., (2013) [8], LPS ile oluşturulmuş hipotermik sıçanlarda, kan serumu CRH düzeylerinin değişmediği, ACTH düzeylerinin hipoterminin girişinde ve çıkışında değişmediği, hipoterminin enderin noktasında azaldığı bildirilmektedir. Steiner vd., (2004) [55], LPS ile oluşturulmuş hipotermi oluşturulmuş aktif leptin reseptörü taşıyan sıçanlarda kontrol grubuna göre hipotermi grubunda yüksek ACTH hormon düzeyleri görülmüş, hipotermi oluşturulmuş eksik leptin reseptörü sıçanlarda HPA aksı aktivasyonuna cevap vermediği bildirilmektedir. Bu tez çalışmasında yapılan deneyler sonucunda aldosteron hormon düzeyleri kontrol grubuna göre LPS indüklü hipotermi gruplarında (giriş, dip ve çıkış) değişmediği belirlenmiştir (Tablo 4.2 ve Şekil 5.2a). Literatür bildirişlerinde gösterilen endotoksik etkileşimlerde plazma aldosteron seviyesinin artmadığı [1,50], ANP artışının aldosteron salınımını inhibe ettiği [51,52], adrenokortikal hücrelerin ACTH yanıtında bozulma olduğunu [53], sepsis hastalarının bir kısmında adrenokortikal yetmezlik geliştiği bildirilmektedir [53,54]. LPS ile oluşturulmuş hipotermi araştırmalarda CRH ve ACTH düzeylerinin artmadığı bildirilmektedir [8]. Bu araştırmadaki aldosteron sonuçları literatür bildirişlerindeki benzer etkileşimler sonucunda değişmediğini düşündürdü. LPS indüklü oluşturulmuş hipotermilerde, aldosteron hormon düzeyini belirlemeye yönelik çalışmalara rastlanılmamıştır.

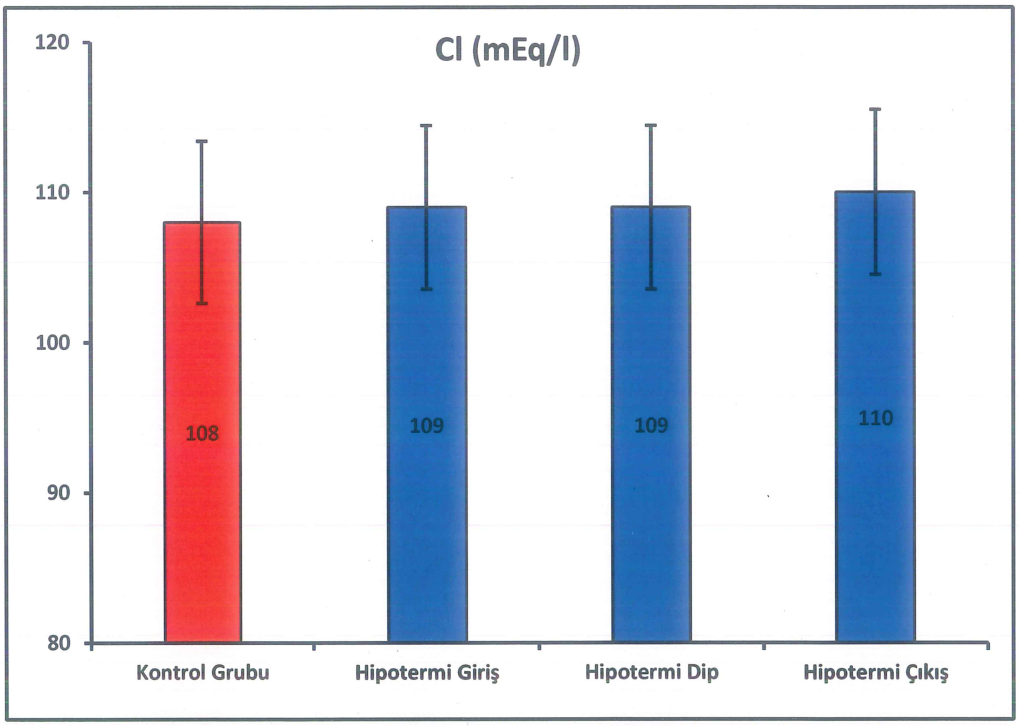


Şekil 5.2a: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, aldosteron hormonuna değişimlerine ait gösterim.

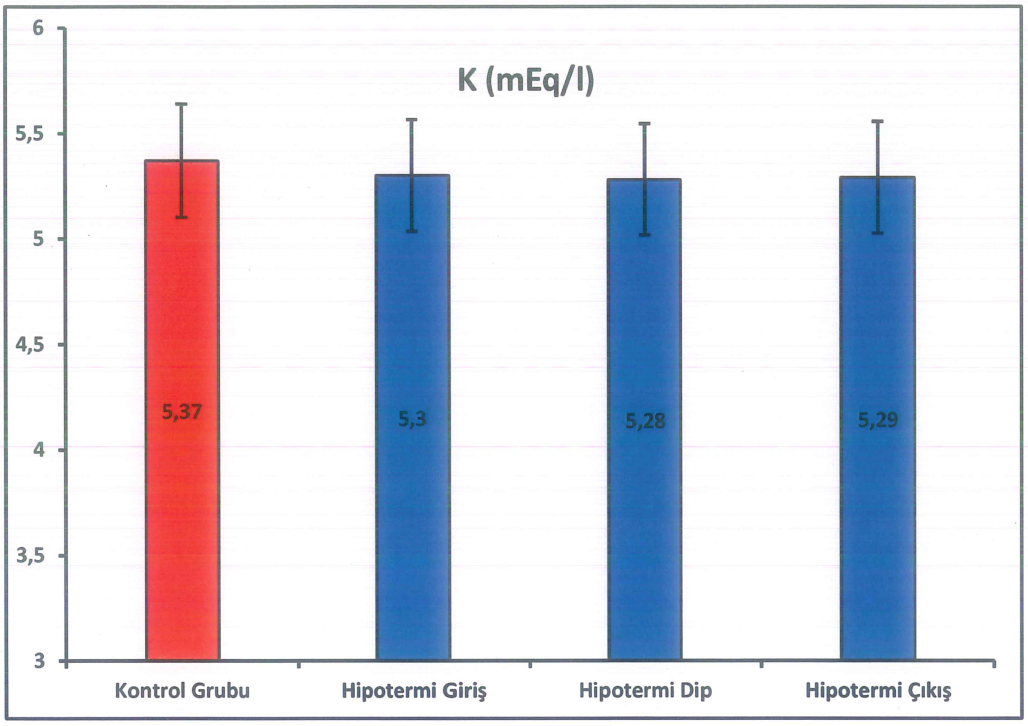
Aldosteron hormonu, böbrekte toplayıcı kanalındaki hücre zarlarında yer alan mineralkortikoit reseptörlerine (MR) bağlanır ve bu hücrelerin zarlarından sodyum ve potasyum geçirgenliğini arttırarak Na^+/K^+ pompaları etkinleştirir [33-34]. Bu nedenle enerji üretimini (ATP) etkileyerek su ve Na emilerek kana geçer, K idrara verilmesi sağlanır [33]. Bu araştırmada LPS indüklü hipotermi gruplarında (giriş, dip ve çıkış) Na, K, Cl, Ca ve P düzeylerinin değişmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 5,2 b, c, d, e ve f). Aldosteron su-elektrolit dengesinin kontrolünde ve kanda sodyum ve potasyum dengesini düzenlediği bilinmektedir. Elde edilen bu sonuçların, LPS indüklü hipotermi süresince aldosteron hormon düzeylerinin değişmemesi sonucu olduğunu düşündürdü.



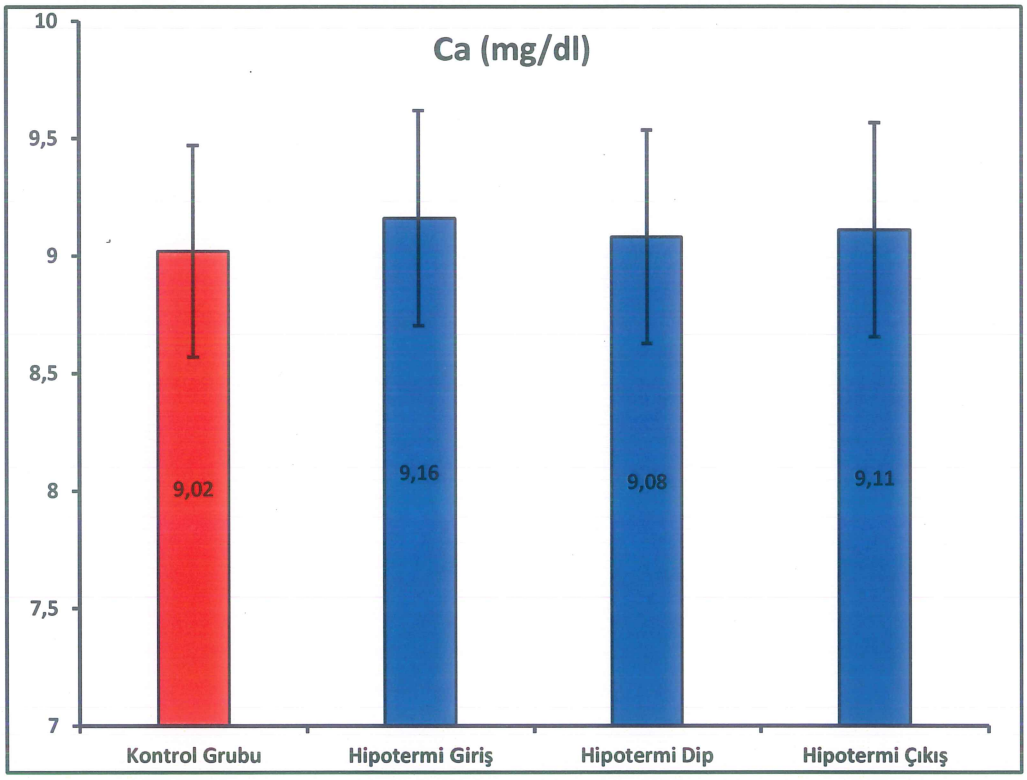
Şekil 5.2b: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, Na değişimlerine ait gösterim.



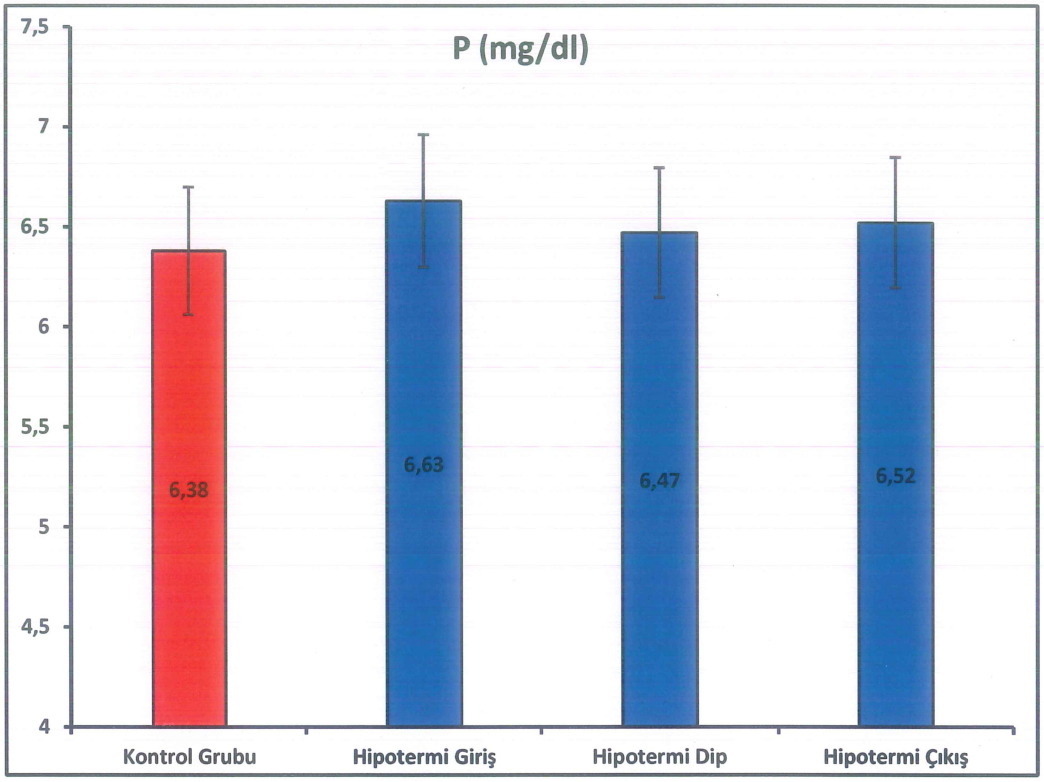
Şekil 5.2c: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, Cl değişimlerine ait gösterim.



Şekil 5.2d: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, K değişimlerine ait gösterim.



Şekil 5.2e: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, Ca değişimlerine ait gösterim.



Şekil 5.2f: Kontrol (tuzlu su) ve LPS grubu sıçanlarda, P değişimlerine ait gösterim.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında sıçanlara LPS (Serotip E.coli: O111:B4; 250 µg/kg, ip) uygulanarak hipotermi oluşturduk. Oluşturulan hipoterminin girişine, en derin noktasında ve çıkışta intrakardiyak delinme ile kan örnekleri alındı. Yine aynı çalışmada kontrol grubu sıçanlara tuzlu su (% 0.09'luk NaCl, 0.5 ml/kg ip) uygulanarak hipotermi giriş, enderin noktası ve çıkışına denk gelen zaman diliminlerinde kan örnekleri alındı. Uygulamalar sonucunda hipoterminin en derin (ΔT: -1.48±0.09 °C) noktasına ortalama 104.46±4.32 dakikada ulaşıldı (Çizelge 4.1). Hipotermi LPS enjeksiyondan 71.42±2.16 dakika sonra başladı (ΔT: -0.58±0.03), 157.65±10.21 dakikada sonlandı (ΔT: -0.08±0.09). Elde etiğimiz sonuçlar, literatür bildirişlerinde olduğu gibi düşük doz aralığındaki çalışmalarda, rodentlerde LPS ile termoregülatuvar anlamda ateşle birlikte hipoterminin de gelişebileceği oluşan bu hipotermi (ateş gibi) düzenleyici yanıt olduğu ve hipotalamusta lokalize olduğu düşünülen termostatın (hipotetik) daha düşük bir seviyeye ayarlandığını görüşlerini destekleyerek benzerlik gösterdi.

Kontrol grubu ve hipoterminin faklı evrelerinde alınan kan örneklerinin serumlarında aldosteron, Na, K, Cl, Ca ve P düzeylerini belirlemeye yönelik analizler yapılmıştır. Analizler sonucunda aldosteron, Na, K, Cl, Ca ve P düzeyleri kontrol grubuna göre LPS indüklü hipotermi grupları (giriş, dip ve çıkış) arasındaki farklar istatiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Bu araştırmadaki aldosteron sonuçları, literatür bildirişlerinde gösterilen endotoksik etkileşimlerde plazma aldosteron seviyesinin artmadığı, ANP artışının aldosteron salınımını inhibe ettiği, adrenokortikal hücrelerin ACTH yanıtında bozulma olduğunu, sepsis hastalarının bir kısmında adrenokortikal yetmezlik geliştiği ve CRH ve ACTH düzeylerinin artmadığı görüşlerini destekleyerek benzer etkileşimler soncunda değişmediğini düşündürdü. LPS indüklü oluşturulmuş hipotermilerde, aldosteron hormon düzeyini belirlemeye yönelik çalışmalara rastlanılmamıştır.

Yine bu araştırma sonucunda elde edilen Na, K, Cl, Ca ve P düzeylerinin değişmediği belirlenmiştir. Aldosteronun fizyolojik olarak su-elektrolit dengesinin kontrolünde yer aldığı, kanda sodyum ve potasyum dengesini düzenlediği ve

böbrekte toplayıcı kanalındaki hücre zarlarında yer alan mineralokortikoit reseptörlerine (MR) bağlanıp bu hücrelerin zarlarından sodyum ve potasyum geçirgenliğini arttırdığı bilinmektedir. Elde edilen bu sonuçların, LPS indüklü hipotermi süresince aldosteron hormon düzeylerinin değişmemesi sonucu olduğunu düşündürdü.

KAYNAKLAR

[1] De Salamanca, A.E. ve García, R., 2005. Response of rat fasciculata-reticularis cells in primary culture to bacterial lipopolysaccharide. Microbes and infection, 7,9, 1077-1086.

[2] Natanson, C., Hoffman, W.D., Suffredini, A.F., Eichacker, P.Q., Danner, R.L., 1994. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis, Annals of Internal Medicine, 120,9, 771-783.

[3] Dogan, M.D., Ataoglu, H., Akarsu, E.S., 2002. Characterization of the hypothermic component of LPS-induced dual thermoregulatory changes in rats, Pharmacol. Biochem. Behav. 72, 143-150.

[4] Derijk, R.H., Van Kampen, M., Van Rooijen, N., Berkenbosch, F., 1994. Hypothermia to endotoxin involves reduced thermogenesis, macrophage-dependent mechanisms, and prostaglandins. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol., 266: R1-R8.

[5] Almeida, M.C., Steiner, A.A., Branco, L.G.S., Romanovsky, A.A., 2006. Cold-seeking behavior as a thermoregulatory strategy in systemic inflammation. Eur J Neurosci., 23, 3359-3367.

[6] Akarsu, E.S. ve Mamuk, S., 2007. Escherichia coli lipopolysaccharides produce serotype-specific hypothermic response in biotelemetered rats, Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol., 292, R1846-50.

[7] Tollner, B., Roth, J., Storr, B., Martin, D., Voigt, K., Zeisberger, E., 2000. The role of tumor necrosis factor (TNF) in the febrile and metabolic responses of rats to intraperitoneal injection of a high dose of lipopolysaccharide, Pflugers Arch. 440,925-32.

[8] Polat, H., Mamuk, S., Akarsu, E.S., 2013. Hormonal synchronization of lipopolysaccharide-induced hypothermic response in rats. Journal of Endocrinological Investigation, 36,10, 816-824.

[9] Akarsu, E.S., Usanmaz, S.E., Mamuk, S., 2008. The elevation of serum tumor necrosis factor-α and hypothalamic prostaglandin D2 levels in lipopolysaccharide-induced hypothermia in rats : Possible role of cyclooxygenase-1. FASEB Journal, 22, 1234-7.

[10] Watanobe, H. ve Yoneda, M.A., 2003. mechanism underlying the sexually dimorphic ACTH response to lipopolysaccharide in rats: sex steroid modulation of cytokine binding sites in the hypothalmaus. J Physiol; 547, 221-232.

[11] Karima, R., Matsumoto, S., Higashi, H., Matsushima, K., 1999. The molecular pathogenesis of endotoxic shock and organ failure. Mol Med Today, 5, 123–132

[12] Knirel, Y.A. ve Valvano, M.A., 2011. Bacterial Lipopolysaccharides: Structure, Chemical Synthesis, Biogenesis and Interaction with Host Cells. Springer.

[13] Iskit, A.B., 2005. Sepsiste deneysel modeller. Yoğun Bakım Derg, 5, 133.

[14] Iskit, A.B. ve Guc, M.O., 2001.The timing of endothelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock. Eur J Pharmacol,414,281-7.

[15] Iskit, A.B. ve Guc, M.O., 2003. Effects of endothelin and nitric oxide on organ injury, mesenteric ischemia and survival in experimental models of septic shock. Acta Pharmacol Sin, 24,953-7.

[16] Fink, M.P., Morrissey, P.E., Stein, K.L., Clement, R E., Fiallo, V., Gardiner, W.M., 1988. Systemic and regional hemodynamic effects of cyclo-oxygenase and thromboxane synthetase inhibition in normal and hyperdynamic endotoxemic rabbits. Circulatory shock, 26,1, 41-57.

[17] Hart, BI. 1988. Biological basis of the behavior of sick animals. Neurosci. Biobehav. Rev. 12, 123-37.

[18] Chaby, R. 1999. Strategies for the control of LPS-mediated pathophysiological disorders. Drug Discov Today, 4, 209–221.

[19] Turnbull, A.V. ve Rivier, C.L., 1999. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. Physiol Rev. 79, 1–71.

[20] Noyan, A. 1998. Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji. Meteksan, Ankara.

[21] Hall, J.E. ve Guyton, A.C., 2011. Textbook of medical physiology. Saunders.

[22] Campbell, N.A. ve Reece, J.B., 2007. Biología. Ed. Médica Panamericana.

[23] Plasiance, PL. ve Mackowiak, P.A., 2000. Antipyretic therapy : physiologic rationale, diagnostic implications, and clinical consequences, Arc İnter Med 160,449-456.

[24] Kothari, VM. ve Karnad, D.R., 2005. New onset fever in the intensive care unit. JAPI 53,949-953.

[25] Curley, FJ. ve Irwin, R.S., 2003. Disordes of temperature control part I: Hyporthermia. In Irwin RS, Rippe JM (eds) Intensive care medicine. Lippincott Williams & Wilkins, USA, pp 747-762.

[26] Fay, T., 1943. Observations on generalized refrigeration in cases of severe cerebral trauma. Assoc Res Nerv Ment Dis Proc, 24,611-619.

[27] Bigelow, W.G., Lindsay, W.K., Greenwood, W.K., 1950. Hypothermia ; its possible role in cardiac surgery: an investigation of factors governing survival in dogs at low body temperatures. Ann surg 132,849-866.

[28] Safar, P., 1986. Cerebral resuscitation after cardiac arrest: a review. Circulation 74,IV138-53.

[29] Ginsberg, M.D., Sternau, L.L., Globus, M.Y., Dietrich, W.D., Busto, R., 1992. Therapeutic modulation of brain temperature : relevance to ischemic brain injury. Cerebrovasc Brain Metab Rev 4,189-225.

[30] Popp, E. ve Böttiger, B.W., 2006. Cerebral Resuscitation : State of the art , experimental approhaches and clinical perspectives. Neurol Clin 24,73-87.

[31] Romanovsky, A.A., Shido, O., Sakurada, S., Sugimoto, N., Nagasaka, T., 1996. Endotoxin shock: thermoregulatory mechanisms, Am J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 270, R693-703.

[32] Rüster, C. ve Wolf, G., 2006. Renin-angiotensin-aldosterone system and progression of renal disease. Journal of the American Society of Nephrology,17,11, 2985-2991.

[33] Gilbert, K.C. ve Brown, N.J., 2010. Aldosterone and inflammation. Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity, 17,3, 199.

[34] Waanders, F., V de Vries, L., van Goor, H., Hillebrands, J.L., D Laverman, G., JL Bakker, S., Navis, G., 2011. Aldosterone, from (patho) physiology to treatment in cardiovascular and renal damage. Current vascular pharmacology,9,5, 594-605.

[35] Williams, J.S. ve Williams, G.H., 2003. 50th anniversary of aldosterone. J Clin Endocrinol Metab 88, 2364–2372.

[36]http://istanbultip.istanbul.edu.tr/ogrenci/wpcontent/uploads/2017/02/B%C3%B6brek%C3%BCst%C3%BC-Bezi Hormonlar%C4%B1-2017.pdf (06.05.2018).

[37] https://ramneetkaur.com/adrenal-gland/(06.05.2018).

[38] Okuyan, R., 1997. Biyokimya. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Ders kitabı, 450.

[39] https://www.corelaboratory.abbott/us/en/offerings/brands/architect/architect-c8000 (06.05.2018).

[40] Perretti, M., Ahluwalia, A., Flower, R. J., Manzini, S., 1993. Endogenous tachykinins play a role in IL-1-induced neutrophil accumulation: involvement of NK-1 receptors, Immunology, 80,1, 73.

[41] Givalois, L., Dornand, J., Mekaouche, M., Solier, M. D., Bristow, A. F., Ixart, G., Siaud, P., Assenmacher, I., Barbanel, G., 1994. Temporal cascade of plasma level surges in ACTH, corticosterone, and cytokines in endotoxin-challenged rats. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 267,1, R164-R170.

[42] Soto, L., Martin, A.I., Millán, S., Vara, E., López-Calderón, A., 1998. Effects of endotoxin lipopolysaccharide administration on the somatotropic axis. Journal of Endocrinology, 159,2, 239-246.

[43] Kageyama, K., Bradbury, M.J., Zhao, L., Blount, A.L., Vale, W.W., 1999. Urocortin messenger ribonucleic acid: tissue distribution in the rat and regulation in thymus by lipopolysaccharide and glucocorticoids. Endocrinology, 140,12, 5651-5658.

[44] Hansen, M.K., Daniels, S., Goehler, L.E., Gaykema, R.P., Maier, S.F., Watkins, L.R. 2000. Subdiaphragmatic vagotomy does not block intraperitoneal lipopolysaccharide-induced fever. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical, 85,1, 83-87.

[45] Rodríguez, D., Keller, A.C., Faquim-Mauro, E.L., de Macedo, M.S., Cunha, F.Q., Lefort, J., Russo, M. 2003. Bacterial lipopolysaccharide signaling through Toll-like receptor 4 suppresses asthma-like responses via nitric oxide synthase 2 activity, The Journal of Immunology, 171,2, 1001-1008.

[46] Islam, Z. ve Pestka, J.J., 2006. LPS priming potentiates and prolongs proinflammatory cytokine response to the trichothecene deoxynivalenol in the mouse. Toxicology and applied pharmacology, 211,1, 53-63.

[47] Fukata, J., Imura, H., Nakao, K., 1994. Cytokines as mediators in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical function. Journal of endocrinological investigation, 17,2, 141-155.

[48] Moncek, F., Aguilera, G., Jezova, D., 2003. Insufficient activation of adrenocortical but not adrenomedullary hormones during stress in rats subjected to repeated immune challenge, J Neuroimmunol 142, 86–92.

[49] Hattangady, N.G., Olala, L.O., Bollag, W.B., Rainey, W.E., 2012. Acute and chronic regulation of aldosterone production. Molecular and cellular endocrinology, 350,2, 151-162.

[50] De Salamanca, A.E. ve García, R., 2003. Rat glomerulosa cells in primary culture and E. coli lipopolysaccharide action. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 85,1, 81-88.

[51] Ganguly, A., 1992. Atrial natriuretic peptide-induced inhibition of aldosterone secretion: a quest for mediator (s). American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 263,2, E181-E194.

[52] Aiura, K., Ueda, M., Endo, M., Kitajima, M., 1995. Circulating concentrations and physiologic role of atrial natriuretic peptide during endotoxic shock in the rat. Critical care medicine, 23,11, 1898-1906.

[53] Tayek, J.A. ve Atienza, V.J., 1995. Pituitary-adrenal axis function in systemic inflammatory response syndrome, Endocrine, 3,5, 315-318.

[54] Aygen, B., Inan, M., Doğanay, M., Keleştimur, F., 1996. Adrenal functions in patients with sepsis. Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology and German Diabetes Association, 105,3, 182-186.

[55] Steiner, A.A., Dogan, M.D., Ivanov, A.I., Patel, S., Rudaya, A.Y., Jennings, D.H., Romanovsky, A.A., 2004. A new function of the leptin receptor: mediation of the recovery from lipopolysaccharide-induced hypothermia. The FASEB journal, 18,15, 1949-1951.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Yasemin AKSAY

Doğum Tarihi ve Yeri: 19/04/1991 KONAK

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans :Aksaray Üniversitesi 2012

Yüksek Lisans :Aksaray Üniversitesi 2018

İLETİŞİM BİLGİLERİ

Adres : Meydan Mah. 952 Sok. Merkez/AKSARAY

E-posta adresi : yaseminaksay@gmail.com

Tel : 0535 795 6054