



**RATLARDA İZOPROTERENOL TOKSİSİTESİNE  
BAĞLI ÖLÜMLERDE BEYİN VE BÖBREK  
DOKUSUNDA POSTMORTEM ÜROTENSİN II  
RESEPTÖR VE ENDOTELİN 1 SEVİYELERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Mustafa Talip ŞENER**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Erol AKPINAR**

**Doktora Tezi - 2016**

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

**RATLARDA İZOPROTERENOL TOKSİSİTESİNE BAĞLI  
ÖLÜMLERDE BEYİN VE BÖBREK DOKUSUNDA  
POSTMORTEM ÜROTENSİN II RESEPTÖR VE  
ENDOTELİN 1 SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ**

**Mustafa Talip ŞENER**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı  
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Erol AKPINAR**

**ERZURUM  
2016**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA İZOPROTERENOL TOKSİSİTESİNE BAĞLI  
ÖLÜMLERDE BEYİN VE BÖBREK DOKUSUNDA  
POSTMORTEM ÜROTENSİN II RESEPTÖR VE  
ENDOTELİN 1 SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ**

**Mustafa Talip ŞENER**

**Tez Savunma Tarihi** : 23 Eylül 2016

**Tez Danışmanı** : Doç. Dr. Erol AKPINAR (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Yasin BAYIR (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Durdu ALTUNER (Erzincan Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Yrd. Doç. Dr. Damla ÇETİN (Kafkas Üniversitesi)

**Onay**

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

  
**Prof. Dr. Mehtap TAN**  
Enstitü Müdürü

Doktora Tezi  
**ERZURUM – 2016**

# İÇİNDEKİLER

<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>I</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>III</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>VI</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>VII</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. İzoproterenol (ISO).....	3
2.2. Ürotensin II (UT) ve Ürotensin II Reseptörü (UTR).....	5
2.3. Endotelin 1 (ET-1).....	8
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	<b>12</b>
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları .....	12
3.2. Ratlarda ISO Toksikite Modelinin Oluşturulması .....	12
3.3. Histopatolojik Analizler.....	13
3.4. Moleküler Analizler.....	16
3.5. İstatistiksel Analiz.....	19
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>21</b>
4.1. Moleküler Analiz Bulguları .....	21
4.1.2. Beyin Dokusunda Ürotensin II Reseptör (UTR) Ekspresyon Seviyesi Ölçümü ..	21
4.1.3. Böbrek Dokusunda Ürotensin II Reseptör (UTR) Ekspresyon Seviyesi Ölçümü	24
4.1.4. Beyin Dokusunda Endotelin 1 (ET-1) Ekspresyon Seviyesi Ölçümü .....	27
4.1.5. Böbrek Dokusunda Endotelin 1 (ET-1) Ekspresyon Seviyesi Ölçümü.....	29

4.2. Biyokimyasal Bulgular .....	32
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	32
4.3.1. Beyin Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular.....	32
4.3.2. Böbrek Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular .....	37
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>39</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>48</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>50</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>72</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>72</b>
<b>EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU .....</b>	<b>73</b>

## TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalıŐmayı bilgi ve katkıları ile yöneten Sayın Doç. Dr. Erol AKPINAR'a, tezin yürütülmesinde yardımları için Prof.Dr. Ahmet Hacımüftüoğlu'na, Prof.Dr. Zekai Halıcı'ya, Doç.Dr. Elif adırcı'ya, Doç.Dr. Durdu Altuner'e, Doç.Dr. Abdülmecit Albayrak'a, Doç.Dr. Emre KarakuŐ'a, Yrd.Doç.Dr. Damla etin'e, Uz.Dr. Ahmet Őahpaz'a ve İrfan ınar'a, **2014/036 BAP** proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

**Dr. Mustafa Talip ŞENER**

## ÖZET

### **Ratlarda İzoproterenol Toksisitesine Bağlı Ölümelerde Beyin ve Böbrek Dokusunda Postmortem Ürotensin II reseptör ve Endotelin 1 Seviyelerinin İncelenmesi**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, ISO toksisitesine bağlı ölen ratlarda postmortem beyin ve böbrek dokusunda UTR ve ET-1 seviyesinde meydana gelen değişimleri araştırmaktır.

**Materyal ve Metot:** Çalışmada ratlar kontrol ve ISO toksisite grubu olarak ayrıldı. ISO toksisitesi, tek lethal doz (850 mg./kg.) ISO intraperitoneal uygulanarak oluşturuldu. Grupların postmortem olarak incelenen saatlerde (0, 1, 3, 6, 12, 24, 48 ve 72.) beyin ve böbrek dokusunda UTR ve ET-1 seviyeleri, plazmada UT, BUN ve kreatinin seviyeleri incelendi. Beyin ve böbrek dokularının histopatolojik görünümleri değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışmamızda ISO toksisite grubunda; plazma UT seviyesinde ve plazma kreatinin düzeyinde artış, histopatolojik olarak beyinde iskemik değişiklikler izlendi. Aynı grupta UTR ekspresyon seviyesinde beyinde 1. saatten itibaren, böbreklerde 3. saatten sonra düşme saptandı. ET-1 seviyesinde beyinde 48. saate kadar devam eden artma, böbrekte 0. saatten itibaren düşme tespit edildi.

**Sonuç:** UTR ve ET-1 seviyelerinde gözlenen değişiklikler, postmortem incelemelerin yapıldığı adli tıp alanında klinik uygulamalar açısından değerli olabilir. Kardiyak şoka bağlı ani ölümlerin postmortem değerlendirilmesinde kullanılabilir. Beyin ve böbrek dokusunda UTR ekspresyon ve ET-1 seviyelerindeki belirlenen değişikliklere göre, UT ya da ET-1 agonist veya antagonistlerinin beyin ve böbrekte iskemik değişiklikleri önlemede faydalı olabileceği ile ilgili araştırmalar yapılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Beyin, böbrek, rat, postmortem, ürotensin II reseptör ekspresyonu, endotelin 1

## ABSTRACT

### **Investigation of Postmortem Urotensin II Receptor and Endothelin 1 Levels of Brain and Kidney Tissues in Rats Died Because of Isoproterenol Toxicity**

**Aim:** The aim of this study was investigating changes in postmortem UTR and ET 1 levels of brain and kidney tissues in rats died because of ISO toxicity.

**Material and Method:** In the present study, the rats were divided into two groups as control and ISO toxicity groups. ISO toxicity was created by applying a single lethal dose of (850 mg/kg) ISO intraperitoneal. UTR and ET-1 levels in brain and kidney and UT, BUN and creatinine levels in plasma were investigated at postmortem hours (0, 1, 3, 6, 12, 24, 48 and 72<sup>nd</sup>). Histopathologic appearance of the brain and kidney tissues were evaluated.

**Results:** In our study, in the ISO toxicity group, an increase was found in plasma UT and plasma creatinine levels. It was observed ischemic changes as histopathological in the brain tissue. In the same group, a reduction was observed in UTR expression level after the 1<sup>st</sup> hour in the brain and after the 3<sup>rd</sup> hour in kidneys. On the other hand, ET-1 level was increased in the brain until the 48<sup>th</sup> hour, whereas it was observed to be reduced in the kidney from the beginning.

**Conclusions:** Observed changes in UTR and ET-1 expression level might be valuable in clinical practices in the field of forensic medicine where postmortem examinations are conducted. They can be used in the postmortem evaluation of sudden death caused by cardiac shock. Further studies may be conducted to show that UT or ET-1 agonist or antagonists may be useful in preventing ischemic damage in the brain and kidneys according to the changes determined in UTR expression and ET-1 levels in the brain and kidney tissue.

**Key Words:** Brain, kidney, rat, postmortem, urotensin II reseptor ekspression, endotelin 1



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>EDE</b>	: Endotelin dönüştürücü enzim
<b>ET-1</b>	: Endotelin 1
<b>ISO</b>	: İzoproterenol
<b>MI</b>	: Miyokart infarktüsü
<b>UT</b>	: Ürotensin II
<b>UTR</b>	: Ürotensin II reseptörü



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Postmortem 0. saat plazma UT seviye değişikliği .....	21
Şekil 4.2. Beyinde kontrol grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği.....	22
Şekil 4.3. Beyinde ISO grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği .....	23
Şekil 4.4. Beyinde ISO ve kontrol grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği.....	23
Şekil 4.5. Böbrekte kontrol grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği.....	25
Şekil 4.6. Böbrekte ISO grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği.....	25
Şekil 4.7. Böbrekte ISO ve kontrol grubunun postmortem zaman göre UTR ekspresyon seviye değişikliği.....	26
Şekil 4.8. Beyinde kontrol grubunun postmortem zamana göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği.....	27
Şekil 4.9. Beyinde ISO grubunun postmortem zamana göre ET-1 Ekspresyon seviye değişikliği.....	28
Şekil 4.10. Beyin ISO ve kontrol grubunun postmortem zaman göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği .....	28
Şekil 4.11. Böbrek kontrol grubunun postmortem zamana göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği .....	30
Şekil 4.12. Böbrek ISO grubunun postmortem zamana göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği .....	30

<b>Şekil 4.13.</b> Böbrek ISO ve kontrol grubunun postmortem zaman göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği .....	31
<b>Şekil 4.14.</b> Beyin dokusu kontrol grubu hematoxilen-eozin boyama sonuçları .....	33
<b>Şekil 4.15.</b> Beyincik dokusu kontrol grubu hematoxilen-eozin boyama sonuçları .....	34
<b>Şekil 4.16.</b> Beyin dokusu ISO grubu hematoxilen-eozin boyama sonuçları .....	35
<b>Şekil 4.17.</b> Beyincik dokusu ISO grubu hematoxilen-eozin boyama sonuçları.....	36
<b>Şekil 4.18.</b> Böbrek dokusu kontrol grubu hematoxilen-eozin boyama sonuçları .....	38
<b>Şekil 4.19.</b> Böbrek dokusu ISO grubu eematoksilen-eozin boyama sonuçları .....	38



## TABLULAR DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> Adrenerjik reseptörlerin etkileri.....	3
<b>Tablo 3.1.</b> Deneydeki rat grupları .....	12
<b>Tablo 3.2.</b> Real-time PCR’da kullanılan primer sekanslar .....	18
<b>Tablo 4.1.</b> Beyinde ISO ve kontrol grubunda UTR ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler .....	24
<b>Tablo 4.2.</b> Böbrekte ISO ve kontrol grubunda UTR ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler .....	26
<b>Tablo 4.3.</b> Beyin dokusu ISO ve kontrol grubunda ET-1 ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler. ....	29
<b>Tablo 4.4.</b> Böbrek dokusu ISO ve kontrol grubunda ET-1 ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler. ....	31
<b>Tablo 4.5.</b> ISO ve kontrol grubunda postmortem 0. saat biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması .....	32
<b>Tablo 4.6.</b> Beyin ve beyincik dokuları morfolojik değerlendirme bulguları .....	36

# 1. GİRİŞ

İzoproterenol (ISO) 1959 yılında keşfedilen sentetik bir katekolamindir.<sup>1</sup> ISO miyokart ve iletim sistemindeki beta reseptörler üzerinde en güçlü agonist etki yapan katekolamindir. ISO'nun alfa reseptör üzerine etkisi yok denecek kadar zayıftır. ISO bütün damar yataklarında güçlü vazodilatasyon yapar. Kalbin atış hacmini ve atış hızını artırır.<sup>2</sup> (s.1012) Kalbin oksijen tüketimini artırarak verimini azaltır. Yüksek doz ISO, ratlarda güçlü pozitif kronotrop ve inotrop etkiye bağlı olarak miyokarda oksijen tüketimini artırır, diyastolik arter basıncını ve koroner perfüzyon basıncısını düşürür, bu durum miyokart infarktüsü (MI) sonrası oluşan değişikliklerle benzerlik gösterir.<sup>1</sup>

Ürotensin II (UT) günümüzde tanımlanan ve tespit edilen en güçlü vazokonstriktör peptittir. UT vasküler yataklarda güçlü ve değişken konstrüktör etkiler oluşturur.<sup>3</sup> UT insan sağ atrial trabeküllerinde pozitif inotrop ve aritmojenik etkilidir. Ürotensinerjik sistemin ateroskleroz, kalp yetmezliği, hipertansiyon, preeklampsi, diyabet, böbrek ve karaciğer hastalıkları, peptik ülser gibi hastalıkların yanı sıra psikolojik ve nörolojik bozukluklar gibi çok sayıda patofizyolojik durumlarla bağlantılıdır.<sup>4-8</sup> Son dönemde UT ve UT reseptör (UTR) ekspresyon seviyesinin akut MI hastalarında yüksek bulunmuştur.<sup>9-11</sup> Günümüzde UT ve UTR'nin hastalıklardaki patofizyolojisi bilimsel topluluklarda ilgi çeken ve araştırılmaya devam eden bir konudur.

Endotelin (ET) ilk kez 1988 yılında endotel hücrelerinden izole edilen güçlü bir vazokonstriktör maddedir. Ürotensinin keşfine kadar en güçlü vazokonstriktör madde olarak değerlendirilmekteydi. 21 aminoasit içeren bu peptidin farklı izoformları vardır. Endotelin 1 (ET-1) kardiyovasküler sistemde ve plazmada belirlenen ana form olmakla birlikte, ET-2, ET-3, ET-4 belirlenen diğer formlardır.<sup>2</sup> (s.1319) ET çeşitli kimyasal ve fiziksel uyarılarla sentez edilmekte ve salıverilmektedir. Hemostazın sağlanmasında rol

almaktadır. ET'nin esansiyel hipertansiyon, kalp yetmezliği, iskemik kardiyak disfonksiyonu, akut-kronik böbrek yetmezliği, şok ve dissemine intravasküler koagülasyon gibi patolojik durumlarda plazma konsantrasyonları yükselmektedir.<sup>2</sup>  
(s.1320)

Kardiyak iskemi modelinde kalp dokusunda UTR ekspresyon seviyesi postmortem 48 saatlik süreçte yüksek seyretmektedir.<sup>12</sup> Ancak literatür taramasında ISO toksisitesi ile gelişen miyokart iskemisine bağlı ölümlerde güçlü endojen vazokonstürktörler olan ET-1 ve UTR ekspresyon seviyelerinin, kalp dokusu dışında değişkenlik gösterip göstermediği konusunda bir bilgiye rastlanılmadı. Bu kapsamda ISO toksisitesi ile gelişen miyokart iskemisine bağlı ölümlerde postmortem süreçte kalp haricinde beyin ve böbrek dokusundaki iskemiye, ET-1 ve UTR ekspresyonu seviyeleri üzerinden araştırmak ve klinik uygulamalarda kullanılabilirliğini belirlemek amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İzoproterenol (ISO)

Damar tonusuna ve çapına etki eden ajanlara vazoaaktif ajanlar denir. Vazoaaktif ajanlar etkilerini dokulardaki belli reseptörleri etkileyerek gösterir. Sempatomimetik etkinlik gösteren adrenerjik reseptörler  $\alpha$  ve  $\beta$  reseptörler olarak iki ana gruba ayrılır. Bu reseptörler buldukları dokular ve farklı sempatomimetik ajanlara karşı duyarlılıklarına göre de  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  ve  $\beta_4$  reseptörler olarak alt gruplara ayrılır.<sup>2, 13</sup> (s.971) Adrenalin ve noradrenalin doğal, İzoproterenol (ISO) ise 1959 yılında keşfedilen sentetik sempatomimetik vazoaaktif ajandır.<sup>1</sup> ISO'nun sistemik adı 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil)amino]etil)-1,2-benzendiol hidroklorit'dir (C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>.HCl). Molekül ağırlığı 242.72 gramdır.<sup>14</sup> Farklı sempatomimetik ajanlar, farklı reseptörlerde farklı derecede etkinliklere sahiptir. Sempatomimetik ajanların etki gösterdikleri reseptörler ve yol açtıkları hemodinamik değişiklikler Tablo 2.1'de gösterildi.

**Tablo 2.1.** Adrenerjik reseptörlerin etkileri.<sup>15</sup>

Reseptör	Agonistler	Hedef doku	Yanıt
Alfa 1	A $\geq$ NA>ISO	Vasküler düz kaslar Genitoüriner düz kaslar Karaciğer İntestinal düz kaslar Kalp	Kontraksiyon Kontraksiyon Glikojenoliz, glikoneogenez Relaksasyon Artan kontraktıl güç, aritmi
Alfa 2	A $\geq$ NA>ISO	Pankreatik adacıklar Trombositler Sinir uçları Vasküler düz kaslar	Azalan insülin sekresyonu Agregasyon Azalan NA salınımı Kontraksiyon
Beta 1	ISO>A $\geq$ NA	Kalp Jukstaglomerüler hücreler	Artan kasılma hızı ve artan AV nodal ileti Artan renin sekresyonu
Beta 2	ISO>A>NA	Düz kaslar İskelet kasları Karaciğer	Relaksasyon Glikojenoliz, artan K alımı Glikojenoliz, glikoneogenez
Beta 3	ISO=NA>A	Yağ dokusu	Lipoliz

ISO: İzoproterenol, A: Adrenalin, NA: Noradrenalin

Adrenalin ve noradrenalin alfa adrenerjik reseptörleri güçlü etkiler. ISO ise beta reseptörleri güçlü şekilde etkiler. ISO'nun alfa reseptör üzerine etkisi yok denecek

kadar zayıftır. ISO bütün damar yataklarında güçlü vazodilatasyon yapar. Bunun sonucunda kan basıncında düşmeye neden olur. Kalp debisini belirgin artırır ve damar rezistansında düşmeye bağlı olarak damar yataklarında kan akımını da artırır. ISO miyokart ve iletim sistemindeki beta-1 reseptörlerini güçlü bir şekilde aktive ederek, kalbin atış hacmini ve atış hızını artırır.<sup>2 (s.1012)</sup>

ISO direkt olarak kalbi hızlandırdığı gibi, kan basıncını düşürerek indirekt olarak da kalbi hızlandırır. Kalbin oksijen tüketimini artırarak verimini azaltır. Kalbin oksijen ihtiyacının karşılanamaması ile göreceli hipoksiye neden olur.

Yüksek dozlarda verilen ISO'nun miyokartta iskemiye neden olmaktadır.<sup>16-18</sup> Miyokarttaki iskemi, ISO'nun kalp üzerindeki güçlü pozitif kronotrop ve pozitif inotrop etkilerine bağlıdır. Bu etkiler, miyokardın oksijen ihtiyacının artırır, diyastolik dolma basıncını ve koroner perfüzyon basıncısını düşürür ve bunun sonucunda miyokartta iskemik değişiklikler gelişir. Bu değişikliklerin insanlarda gelişen MI sonrası değişimler ile benzerlik göstermektedir.<sup>1, 19-21</sup> ISO intraselüler kalsiyum miktarını artırarak yüksek enerjili fosfat üretimini engeller. Mitokondride kalsiyuma bağlı ATPaz çalışamaz hale gelir. ATP'nin azalması kalp kasında geri dönüşümsüz hasara yol açar.<sup>22, 23</sup> ISO ile indüklenen deneysel modellerde kalp hasarının gelişmesinde diğer bir mekanizma da intraselüler lizozomal enzimlerin salınmasıdır. Bu durum serbest oksijen radikallerini artırarak ikincil olarak kardiyak hasara neden olur.<sup>24, 25</sup>

ISO verildiğinde kalpte minimal histopatolojik değişiklikler gelişmekte, vücut ağırlığına göre göreceli olarak kalbin ağırlığında artma olmaktadır. Kalp ağırlığındaki artışın fizyopatolojisinde intramuskuler boşlukta sıvı toplanmasına bağlı ödemin önemli rol oynadığı belirtilmektedir.<sup>26, 27</sup> ISO toksisitesinde miyokart hücrelerinde membran bütünlüğünün azalması ile sonuçlanan hasar ortaya çıkar. Bu hasar sonucu kardiyospesifik izoenzimlerde (CK, CK-MB, LDH<sub>1</sub> ve LDH<sub>2</sub>), lizozomal hidrolaz ve



kardiyak troponin T'de önemli artış görülür. Kalp kasında kardiyojenik şokla uyumlu bulgular saptanır.<sup>28-30</sup>

Yüksek doz verilen ISO,  $\beta_2$  reseptör aktivasyonuna bağlı olarak damar dışında diğer düz kaslarında gevşemesine neden olur. ISO, böbreklerde kan akımını şoklu hastalarda artırır, normal kişilerde ise düşürür. Beyinde ise değişikliğe neden olmaz. Akciğerde kan akımında artmaya neden olur. Kalp bloğunun ve ağır bradikardinin kısa süreli acil tedavisinde kullanılır.<sup>2 (s.1017)</sup>

## 2.2. Ürotensin II (UT) ve Ürotensin II Reseptörü (UTR)

Ürotensin II (UT) Gillichthys Mirabilis adında kemikli bir balığın spinal kordundan ayrıştırılan olan somatostatin benzeri siklik 11 aminoasitlik bir peptid hormondur. İlk olarak 1969 yılında izole edilmiştir. Ürotensin II reseptörleri (UTR) ise Ames ve arkadaşları tarafından 1999 yılında keşfedilmiştir.<sup>3, 31</sup> Biyolojik aktiviteden sorumlu tutulan C-terminal ucu sistein köprüleri siklik heksapeptid yapısındadır. C-terminal siklik heksapeptid yapısı (Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys) insanlarda, domuzlarda, maymunda ve ratlarda bulunmaktadır. N-terminal ucu ise uzunluk ve sekans olarak farklı özellikler gösterir. UT, 11 aminoasit yapısında kardiyak, renal ve vasküler sistem üzerine çok etkili olan bir peptiddir.<sup>32</sup> İnsan UT peptidi öncül molekül olan pre-pro UT molekülünden üretilir ve bu molekülün mRNA'sı insan vücudunda birçok dokudan elde edilir.<sup>6</sup> UT kalp, akciğer, karaciğer, dalak, timus, pankreas, böbrek, ince bağırsak, prostat, hipofiz bezi, adrenal bezi ve periferik dokularda bulunur.<sup>33, 34</sup> UTR G protein ile kenetlidir.<sup>35</sup> UTR'yi kodlayan gen 17q25.3 konumunda lokalizedir ve intronu yoktur.<sup>36</sup> UTR en çok arteriyal damar düz kaslarında, kardiyak miyozitlerde ve böbrekte, bunların yanısıra endotelde, monosit ve makrofajlarda da bulunur.<sup>9, 34, 37, 38</sup>

UT günümüzde tespit edilen en güçlü vazokonstriktör maddedir.<sup>3</sup> Kardiyovasküler sistemde arterlerin en güçlü kasıcısıdır. Kalp üzerine pozitif inotropik

etkisi endotelinden 10 kat, serotonininden 100 kat ve noradrenalinden 300 kat daha fazladır.<sup>39</sup> UT bilinen en güçlü vazokonstrüktör madde olmasına rağmen, UT'nin vazokonstrüktör etkisinin canlı türüne ve damar yatağına göre farklılıklar gösterdiği, bazı vasküler bölgelerde endotel bağımlı vazodilatatör etkileri vardır.<sup>14</sup> Örneğin insan ve diğer memelilerde koroner arter ve aortta vazokonstriksiyona,<sup>3, 40-43</sup> ratlarda renal arterde ve mezenterik arterde vazodilatasyona,<sup>44-46</sup> insanda internal torasik arterde vazokonstriksiyona neden olur.<sup>40</sup> Sağlıklı insanda deride küçük damarlarda etkisiz iken,<sup>47</sup> kalp yetmezlikli hastalarda vazokonstriksiyona,<sup>48</sup> insanda abdominal rezistans arterlerde vazodilatasyona neden olur.<sup>14</sup>

UT'nin vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon oluşturma mekanizmasında UTR ekspresyonu önemli rol oynar. UTR ekspresyonu, inositol trifosfatı aktive ederek hücre içi kalsiyumu artırır, L-tipi kalsiyum kanallarının aktivasyonu ile hücre içine kalsiyum girişi olur ve sonuçta vazokonstriksiyon meydana gelir. UTR ekspresyonu bazı vasküler yapıların endotelinde meydana gelirse artan kalsiyum nitrikoksit sentazı aktive eder, bu ise vazodilatasyona neden olur.<sup>10, 49-51</sup>

UT plazma konsantrasyonu sağlıklı kişilerde düşük, hastalık durumunda ise yüksek düzeydedir.<sup>4</sup> UT plazma konsantrasyonları kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, ateroskleroz, diyabet ve karaciğer yetmezliği, preeklampsi, son dönem böbrek hastalıkları ve pulmoner hipertansiyonda yüksek seviyelerdedir.<sup>2, 4-7, 52 (s.1321)</sup> UT'nin kardiyak iskemi ve akut MI'da rol oynadığını gösteren araştırmalar bulunmaktadır.<sup>9, 10</sup> Kronik hipoksik sıçan miyokardında ve akut MI sonrası sıçanların sol ventriküllerinde infarktlı ve infarktlı olmayan zonlarında UTR ekspresyonu artmaktadır.<sup>3, 7, 9-11</sup> UT plazma seviyesi hem iskemik hem de noniskemik konjestif kalp yetmezliğinde yükselmektedir.<sup>9, 14, 53-56</sup>

UT insanda, diğer memelilerde ve ratlarda koroner arterde vazokonstriksiyon yapmaktadır.<sup>40-43</sup> UT'nin fibrozis, kardiyomiyozitlerde hipertrofi, refleks taşikardiye neden olduğu belirtilmektedir.<sup>3, 52</sup> UT ekspresyonu koroner arter, karotid arter ve aortadaki aterosklerotik lezyonlarda artma göstermektedir.<sup>38</sup> UT ratlarda koroner akımda önce geçici bir azalmaya, daha sonra sikloksijenaz ve NO sentaz inhibitörleri ile inhibe edilebilen uzun süreli bir vazodilatasyona neden olur. UT artışı ile koroner damarlarda gelişen vazodilatasyon, patofizyolojik olaylarda kalp üzerine koruyucu etkisinin sonucu olarak ortaya çıkar.<sup>57</sup> Akut MI geçirenlerde plazma UT seviyesi yüksek seyrederek.<sup>58,59</sup> Khan ve ark. akut MI'nda plazmada UT seviyesinde kontrol grubuna göre beşinci güne kadar devam eden yükselmeyi göstermiştir.<sup>59</sup> UT'nin akut MI'nda düşük düzeylerin kötü prognozla ilişkili olduğu ve yüksek düzeylerinin ise kardiyoprotektif etkinin bir sonucu olduğu şeklinde değerlendirilmektedir.<sup>59</sup>

UT'nin koroner arter, karotid arter ve aortadaki aterosklerotik lezyonlarda ekspresyonunda görülen artışın, aterosklerotik plak gelişimini hızlandırdığı ve damar düz kas proliferasyonuna yol açtığı öne sürülmektedir.<sup>38</sup> Son dönem kalp yetmezliği olan hastalarda kalp kasında UT, UTR ekspresyon seviyesi, hipertansiyonda plazma UT düzeyi artmaktadır.<sup>10, 38, 60, 61</sup> UT'nin endotelden bağımsız en kuvvetli vazokonstriktör madde olduğu bilinse de, insanlarda ve ratlarda farklı etkileri farklıdır. Örneğin sıçanlarda endotel kaynaklı nitrik oksit sentatazi uyararak vazodilatasyona neden olur.<sup>7, 62</sup> UT miyokartta iskemi-reperfüzyon hasarlarına karşı kardiyoprotektif etkilidir.<sup>63</sup> UT sağlıklı bireylerde cilt damarlarında vazodilatasyona, kronik kalp yetmezlikli hastalarda ise vazokonstriksiyona neden olur.<sup>64</sup>

Böbrekler, memelilerde UT'nin ana kaynağı olup, anabileşik olan pre-pro UT böbreklerde yoğun bir şekilde eksprese edilir.<sup>61</sup> UT, böbreklerde arteriyal endotel, arteriyal düz kas hücresi, proksimal ve distal tübül ve glomerüllerde üretilmektedir. UT

böbreklerde glomerüler filtrasyon hızının refleks kontrolünü sağlayarak, glomerüler filtrasyon hızının regülasyonunda rol oynar. Böbreklerde vazodilatör ve natriüretik etki yaparak memelilerin böbrek fonksiyonlarını ve kan basıncını regüle etmeye yardımcı olur.<sup>64-68</sup> Vasküler renal disfonksiyonu olan hastalarda, kronik böbrek yetmezliği olanlarda ve tip II diyabetes mellitus hastalarında plazma UT seviyesi yüksek seyretmektedir.<sup>5, 32, 61</sup> UT'nin kardiyoprotektif etkisi nedeni ile kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda yükseldiği belirtilmektedir.<sup>69, 70</sup>

UT beyinde hipokampus, talamus, hipotalamus, pineal bez, pitüiter bez, pons, medulla, spinal kord gibi birçok anatomik bölgede bulunur.<sup>71, 72</sup> Beyin, spinal kord ve motor nöronlarda UT ve UTR benzeri immün reaktivite saptanması, UT'nin santral sinir sistemindeki rolünü göstermektedir. Santral sinir sistemi içinde UT ekspresyonunun gösterilmesi; UT'nin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinin, santral sinir sistemindeki UT tarafından da kontrol edildiğini göstermektedir.<sup>72</sup> UT intraserebroventriküler verildiğinde beş dakika sonra arteriel kan basıncında ve kalp hızında artmaya, ACTH ve adrenalinde serbestleşmeye, beyinde kortikal kan akımında güçlü bir artışa neden olmaktadır.<sup>73, 74</sup> Ratlarda sağ serebral arterin oklüzyonu yoluyla yapılan serebral iskemi modelinde ise UT'nin intraserebroventriküler enjeksiyon sonrasında iskemi bölgesinde alevlenme ortaya çıkmaktadır.<sup>75, 76</sup> Bu sonuçlar ACTH sekresyonunun merkezi sitümlasyonunda UT'nin beyinde nöromodulator ya da nörotransmitter olarak önemli rolü olduğu şeklinde yorumlanmaktadır.<sup>73</sup>

### **2.3. Endotelin 1 (ET-1)**

Endotelin (ET) 1985 yılında Hickey ve ark. tarafından endotel hücre kültürlerinde üretilen vazokonstriktör faktör olarak tanımlanır. ET'ler, Atractaspis engadensis adlı yılan türünden elde edilen peptid yapıda zehir olan sarafatoksinlere benzer.<sup>77</sup> Parakrin ve otokrin etki gösteren 21 amino asit içeren bu peptidin ET-1, ET-2,

ET-3, ET-4 olarak belirlenen değişik izoformları bulunur.<sup>2, 78 (s.1319)</sup> En önemli endotelin ET-1 olup, vücutta yaygın dağılım gösterir ve başlıca damar endotelinde sentezlenip salıverilir.<sup>79</sup> Damar endotelinin dışında mast hücreleri, makrofajlar, mukozal epitelyum, kardiyomiyositler, nöronlar, trakea epiteli, renal medulla, hepatik sinüzoidler ve kuppfer hücrelerinde sentezlenir.<sup>70, 80-84</sup> ET beyinde 24 bölgede lokalizasyon göstermektedir.<sup>85</sup> Vücutta daha az dağılım gösteren ET-2 böbrek ve bağırsaklarda, ET-3 ise beyin, akciğer, bağırsak ve adrenal bezde bulunur.<sup>86-88</sup>

ET sentezi, prepro ET-1'in oluşumuyla başlar. Prepro ET-1'in endopeptidazlara parçalanmasıyla büyük ET sentezlenir. ET-1'in prekürsörü büyük ET-1, endotelin dönüştürücü enzim (EDE) ile ET-1'e dönüştürülür.<sup>89, 90</sup> EDE'nin üç ana izoformu ve bununda alt formları vardır. Bunlar EDE-1 (EDE1a, 1b, 1c, 1d), EDE-2 (EDE-2a-1, 2a-2, 2b-1, 2b-2) ve EDE-3'tür.<sup>2 (s.1319)</sup> ET'nin biyolojik aktivitesine aracılık eden ET-A ve ET-B reseptörleri vardır. Her ikisi de G proteinine kenetli reseptör türündendir.<sup>91, 92</sup> ET-A ve ET-B reseptörleri damar düz kaslarından, kardiyomiyositlerden, fibroblastlardan, hepatositlerden, adipositlerden ve nöronlardan eksprese edilirler.<sup>82, 93, 94</sup> ET-1 vasküler etkilerini ET-A ve ET-B reseptör yoluyla gösterir.<sup>85</sup> ET-A reseptörleri ET-1 için yüksek afiniteye sahiptir ve vasküler düz kas hücrelerinden ve kardiyak miyositlerden temel olarak eksprese edilir.<sup>91, 95, 96</sup> ET-B reseptörleri ise endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofajlarda bulunur.<sup>9, 97, 98</sup> ET-B reseptörleri ET'nin bütün izoformları için eşit afiniteye sahiptir.<sup>97, 99</sup> ET fizyolojik koşullarda homeostazının sağlanmasında rol almaktadır. Damarlarda yavaş gelişen uzun süreli vazokonstriktör etkisi vardır. Damar düz kaslarında kasıcı etkisini ET-A reseptörü etkisiyle yaparken, endotel hücrelerinde bulunan ET-B reseptörleri aracılığıyla nitrikoksit ve prostosiklin sentez ve salıvermesine neden olarak vazodilatasyona neden olur. ET-1, böbreklerde ET-A reseptörlerini etkileyerek hem afferent hem de efferent arteriyollerde vazokonstriksiyon

yapar. Bu etkiye bağı olarak glomerül filtrasyon hızında azalmaya, vücutta su ve tuz retansiyonuna neden olur. ET böbrekte tubulus ve toplayıcı kanal hücrelerinin ET-B reseptörlerini aktive ederek diürez ve natriürez yapar. Kalpte ET-1'in pozitif inotropik etkisi ET-A reseptörlerinin uyarılması ile olurken, negatif inotrop etkisi ise ET-B reseptörlerinin uyarılmasıyla olur.<sup>2 (s.1320)</sup>

ET vazokonstrüktör etkileri güçlü olan Anjiotensin II'den 10 kat daha güçlü bir endojen vazokonstrüktör maddedir. Pulmoner, renal, koroner ve periferik dolaşımda güçlü vazokonstrüktör etkilidir. ET-1 akciğer, karaciğer, böbreklerde metabolize olur. ET-1 düzeyi normalde üretim ve yıkım arasındaki denge nedeni ile dolaşımda düşük düzeyde kalır.<sup>100</sup>

Hipoksi, dehidratasyon, endotoksin ve baroreseptör aktivasyonu ile ET-1'in sekresyonu uyarılır. Atrial natriüretik peptit, beyin natriüretik peptit, prostasiklin ve nitrik oksit gibi vazodilatatörler ET-1'in antagonsisti olarak etki gösterir.<sup>101, 102</sup> Endotel üretimini katekolaminler, anjiotensin II ve arginin-vazopressin sitümüle eder.<sup>103, 104</sup>

ET-1'in kalpte pozitif kronotrop ve pozitif inotrop etkisi olup, koroner damarlarda daralmaya, kardiyak outputun azalmasına ve aritmilere neden olur.<sup>105</sup> ET pulmoner vazokonstrüksiyonu arttırmaktadır.<sup>106</sup> ET-1, insanda koroner ateroskleroz gelişiminde de kritik bir role sahiptir.<sup>107</sup>

ET-1'in vasküler tonusun regülasyonunda, böbreklerden sodyum ve suyun tutulmasında önemli görevi vardır.<sup>103, 108</sup> Plazma ET seviyesindeki artış ile böbrekte afferent ve efferent arteriollerde vazokonstrüksiyon gelişir, renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızı düşer.<sup>106, 109</sup> Bu da böbreklerden su ve sodyum atılımında önemli düşüslere neden olur.<sup>106, 110-112</sup>

Plazma ET seviyeleri MI,<sup>103, 111, 113-117</sup> koroner spazm,<sup>118</sup> kardiyojenik şok, kalp yetmezliği,<sup>99, 119-121</sup> deneysel kalp yetmezliği modellerinde,<sup>122-126</sup> esansiyel

hipertansiyon,<sup>127</sup> pulmoner hipertansiyon,<sup>124-126, 128</sup> pulmoner ödem,<sup>129, 130</sup> diyabet ve ateroskleroz,<sup>131</sup> subaraknoidal kanama, böbrek yetmezliği, preeklampsi, sepsis,<sup>109</sup> hepatorenal sendrom, takayasu hastalığı, raynaud hastalığı gibi bir çok hastalıkta artmaktadır.<sup>132, 133</sup>

MI'nda infarkt alanın boyutu ve yaygınlığı ile orantılı olarak ET-1 sentezinde ve salınımında artış olur. Vojacek ve ark. sol inen koroner arterin anjioplastisinden 2-5 dakika sonra plazma ET-1 seviyesinde artma tespit etmiştir.<sup>134</sup> Diğer bir araştırma da ise iskeminin, plazma endotel seviyesindeki yükselmeyi tetiklediği belirlenmiştir.<sup>135</sup> İnfarkt sahasındaki hipoksi, ET sentezini uyarmaktadır.<sup>50</sup> MI'nın semptomlarının başlangıcından 6 saat sonra plazma ET seviyesi yaklaşık olarak beş kat yükselir ve 24 saat içinde pik yaparak 48 saat kadar yüksek kalır.<sup>114</sup>

Ratlar üzerinde yapılan konjestif kalp yetmezliği modelinde ET-1'in renal dokudaki seviyelerinde yükselme, proksimal tübüler nekroz ve renal difüzyon bozukluğu saptanmıştır.<sup>136</sup> Konjestif kalp yetmezliğinde lokal renal ET-1 seviyesinde artma belirlenmiştir.<sup>124, 137-140</sup> Kronik böbrek yetmezliği ve renal transplantasyon yapılan hastalarda ET-1'in plazma düzeyi yüksek seyretmektedir. ET-1'in akut böbrek yetmezliğinin patogenezinin katkısının olduğu düşünülmektedir.<sup>103</sup>

ET'nin santral sinir sisteminde serebral kan akımının düzenlenmesinde ve beyin çeşitli bölgelerinde yüksek dozlarda vazokonstrüktör etkileri bulunmaktadır.<sup>108</sup> Ayrıca serebrovasküler hastalıklarda beyin omurilik sıvısında ET-1 düzeyinde artma olmaktadır. ET-1'in serebrovasküler hastalıkların etiyolojisinde rol oynayabileceği belirtilmektedir.<sup>106</sup>

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Deney 220-230 gram ağırlık arasında, erkek ergin Albino Wistar ratlar ile yapıldı. Ratlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezinden karşılandı. Hayvan deneyi Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde standart şartlar altında barındırıldı ve beslendi. Deney, Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı Kılavuzu'na uygun olarak yapıldı. Hayvan deneyi için Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığından 26.05.2016 tarih ve 93 Karar sayı numarası ile etik kurul komite onayı alındı ve Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP 2014/036) kapsamında gerçekleştirildi.

Ratlar kontrol ve ISO grubu olarak iki ana gruba ayrıldı. Her bir gruptaki ratlar kendi içinde 8 farklı zaman diliminde (postmortem 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48 ve 72. saatlerde) incelenecek şekilde 6'şar rattan oluşan alt gruplara ayrıldı.

**Tablo 3.1.** Deneydeki rat grupları

Ana grup	Alt grup							
	İncelemenin yapıldığı saatler							
	0s	1s	3s	6s	12s	24s	48s	72s
Kontrol grubu	6r	6r	6r	6r	6r	6r	6r	6r
ISO grubu	6r	6r	6r	6r	6r	6r	6r	6r

(s: İncelemenin yapıldığı ölümden sonraki saat, r: rat)

#### 3.2. Ratlarda ISO Toksikite Modelinin Oluşturulması

ISO'nun ratlara deneysel uygulamasının miyokartta iskemiye neden olduğu bilinmektedir.<sup>17-19, 141-145</sup> Aynı zamanda ISO ile toksisite, tek lethal 850 mg/kg doz uygulanarak oluşturuldu.<sup>12</sup> ISO toksisite grubunu oluşturmak için, ISO (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) serum fizyolojikte çözüldü. İntraperitoneal 850



mg/kg tek doz olarak ratlara uygulandı. Kontrol grubu ratların her birine intraperitoneal serum fizyolojik sıvı enjekte edildi.

**Deneyin yapılışı:** Kontrol grubundaki ratlara serum fizyolojik sıvı enjekte edildi ve herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Kontrol grubu servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. ISO toksisite grubu oluşturmak için ISO tek lethal doz (850 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulandı. ISO toksisite grubu ISO enjeksiyonundan sonra ilk 30 dakika içinde ölen ratlardan oluşturuldu. Tüm deney hayvanları ölümden hemen sonra oluşturulan 20°C sabit standart sıcaklık ortamı sağlayan kabin ortamında bırakıldı.

### **3.3. Histopatolojik Analizler**

**Doku takip işlemleri:** İncelemeye alınan 0. saat grubu hayvanlardan elde edilen beyin, beyincik ve böbrek dokuları %10 formol solüsyonu içinde fiksasyona bırakıldı. 1., 3., 6., 12., 24., 48. ve 72. saat grubu hayvanlardan alınan dokular postmortem sürecin, ET-1 ve UTR analizi üzerine etkilerinin araştırılması için fiksasyona bu süreler sonunda bırakıldı. Fiksasyon sonrası dokular doku takip kasetlerine alınarak takip işlemine başlandı.

**Akarsuda yıkama:** Dokular 60 dk. süresince akar musluk suyunda yıkandı.

**Dehidratasyon işlemi:** Yıkama sonrası dokular dehidratasyon işlemi için;

- %50 etil alkol solüsyonunda 20 dk.,
- %60 etil alkol solüsyonunda 20 dk.,
- %70 etil alkol solüsyonunda 20 dk.,
- %80 etil alkol solüsyonunda 20 dk.,
- %90 etil alkol solüsyonunda 60 dk.,
- %100 etil alkol solüsyonunda 60 dk.,
- %100 etil alkol solüsyonunda 60 dk. sürelerde takip edildi.

**Şeffaflandırma (Temizleme) işlemi:** Dehidratasyon işlemi sonrası dokular;

- 1/1 oranında karıştırılan %99,5 ksilen (Merck)® / %96 etil alkolden elde edilen solüsyonda 15 dk.,
- %99,5 ksilen solüsyonunda 75 dk. süresince bekletildi.

**İnfiltrasyon işlemi (Sertleştirme):** Şeffaflandırma işlemi sonrası dokular;

- Ksilen ve boncuk parafin (Merck) ® karışımında 60°C etüvde 60 dk.,
- Boncuk parafinde 60°C etüvde 60 dk.,
- Boncuk parafinde 60°C etüvde 120 dk. süre boyunca bekletildi.

**Gömme işlemi:** İnfiltrasyon işlemi sonrası sertleştirilen dokular bloğun ortasına gelecek şekilde 58-60°C eritilen parafin içine gömüldü. Dokular gömüldükten sonra parafin hızlı bir şekilde soğutularak kristal yapısına dönmesi sağlandı ve gömme işlemi sonlandırıldı.

**Kesit alma işlemi:** Elde edilen parafin bloklara gömülü bulunan dokular buzdolabında 4°C'de soğutuldu. Buz kalıpları üzerine alınan parafin bloklar Leica RM2125RT mikrotom cihazı ile 5 µm kalınlığında kesilerek sıcak su banyosu yardımı ile lam üzerine alındı.

**Deparafinizasyon işlemi:** Lamlara alınan doku kesitleri sepetlere yerleştirilip 60°C etüvde bir gece bekletilerek parafinden arındırılması sağlandı. Kimyasal deparafinizasyon işlemi için 10'ar dakika iki ayrı ksilen solüsyonunda bekletilerek deparafinizasyon işlemi tamamlandı.

**Boyama kapama işlemleri:**

Deparafinizasyon işlemi biten doku kesitleri;

- %95 etil alkol solüsyonunda 2 dk.,
- %80 etil alkol solüsyonunda 2 dk.,
- %70 etil alkol solüsyonunda 2 dk.,
- %60 etil alkol solüsyonunda 2 dk.,

- eşme suyunda yıkama 5 dk.,
- Hematoksilen (Merck) ® boya solüsyonunda 5 dk.,
- Asit alkol solüsyonunda 1-3 sn.,
- eşme suyunda yıkama 5 dk.,
- Eosin (Merck) ® boya solüsyonunda 3 dk.,
- eşme suyunda yıkama 5 dk.,
- %96 etil alkol solüsyonunda 10 dk.,
- %99,5 ksilen solüsyonda 20 dk.,
- %99,5 ksilen solüsyonda 20 dk.,
- %99,5 ksilen solüsyonda 20 dk. sürelerinde takip edilerek boyama işlemi tamamlanan kesitler üzerine entellan (Merck)® damlatılarak kapatıldı ve kurumaya bırakıldı.

**Kesitlerin değerlendirilmesi ve fotoğraf çekimi:** Boyanan kesitler mikroskopik (Nikon Eclipse Ni marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu) olarak değerlendirildi ve lezyonun en belirgin alanlarından fotoğraf çekimi yapıldı. Morfolojik değerlendirmede beyin dokusu akut nöronal zedelenme (dark nöron), beyincik dokusu purkinje hücre reaksiyonu ve böbrek dokusu glomerül yapısı/hücresi ve tüp yapısı/epiteli açısından değerlendirildi.

Akut nöronal zedelenme (dark nöron): parankim içinde 10 büyük büyütme alanında (BBA) tespit edilen akut nöronal zedelenme (dark nöron) sayısı değerlendirildi. Purkinje hücre sayısı: parankim içinde 10 BBA tespit edilen dejenere purkinje hücre sayısı değerlendirildi. Glomerül sayı ve sıklığı, morfolojik yapısı ve hücre detayı ile hücre özellikleri, proksimal ve distal tübül morfolojisi ve hücre özellikleri değerlendirildi.

### 3.4. Moleküler Analizler

Postmortem dönemde inceleme için hem kontrol hem de ISO toksisite grubu ratların beyin ve böbrek dokuları her bir alt grubun ölümden geçen süresine göre; 0., 1., 3., 6., 12., 24., 48. ve 72. saatlerde alındı. Alınan böbrek ve beyin dokuları sıvı azot ile soğutularak ve soğuk zinciri bozmadan -80°C'ye konularak inceleme aşamasına kadar bekletildi.

**Real Time-PCR analizi:** Beyin ve böbrek dokusundan ET-1 ve UTR reseptör mRNA ekspresyon düzeyleri kontrol grupları ile karşılaştırıldı. Postmortem dönemde inceleme için hem kontrol hem de ISO toksisite grubu ratların beyin ve böbrek dokuları her bir alt grubun ölümden geçen süresine göre; 0., 1., 3., 6., 12., 24., 48. ve 72. saatlerde alındı. Alınan böbrek ve beyin dokuları hemen -80°C dereceye konularak inceleme aşamasına kadar bekletildi.

**Rat beyin ve böbrek dokusundan RNA ekstraksiyonu:** Beyin ve böbrek örnekleri tek tek tartılarak RNA later RNA Stabilization Reagent ile (Qiagen) 4 haftaya kadar 4°C'de muhafaza edildi. Dokular Tissue Lyser II (Qiagen) homojenize edilip QIAcube de RNA ekstraksiyonu yapıldı. Doku örnekleri tek tek tartılarak RNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanılarak QIAcube RNA izolasyon cihazında (Qiagen) total RNA izolasyonu aşamaları üreticinin tavsiye ettiği şekilde sürdürüldü. Total mRNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile 260 nm'de ölçüldü.

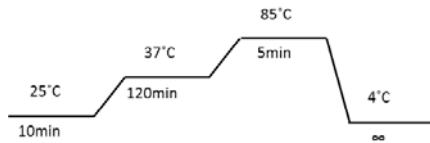
Dokular RNA Later içerisinde çıkarılarak çelik jarların içerisine konularak sıvı azot ile mikroskopik parçalama yapıldı. Soğuk zincir korunarak her gruptan 20 mg ayrı ayrı beyin ve böbrek dokusu alınarak 350 µl Buffer RLT ve 3,5 µl β-mercaptoethanol (β-ME) solüsyonu ile birlikte içerisinde bir adet steril çelik bilye bulunan plastik tüplere konuldu ve Tissue Lyser II (Qiagen) homojenizasyon cihazı ile 5 dk 30 Hz olacak şekilde homojenize edildi. Homojenizasyon işleminden sonra yeni bir eppendorf tüp

içerisine alındı ve 3 dk 13.000 RPM’de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant yeni bir eppendorf tüpe alındı ve RNeasy Mini Kit (cat no: 74106)’in protokolüne göre total RNA izolasyonu QIAcube (QIAGEN) yapıldı. Eppendorf tüpü içerisinde elde edilen RNA -80°C’de muhafaza edildi.

**Revers transkriptaz reaksiyonu ve cDNA sentezi:** High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzimi kullanımı ile total RNA’dan cDNA sentezi yapıldı. Her reaksiyon 10µl RNA ile gerçekleştirilerek cDNA sentezi aşağıdaki sıcaklık değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile sağlandı. cDNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile ölçüm belirlendi ve -20°C’de saklandı.

cDNA sentez reaksiyonu:

Total RNA	10 µl
10 X RT Buffer	2 µl
25 X dNTPs mix	0,8 µl
10 X RT Random Primers	2 µl
MultiScribe Reverse Transcriptase	1 µl
DEPC-H2O	4,2 µl



**Real time PCR ile mRNA ekspresyonlarının kantitatif olarak belirlenmesi:**

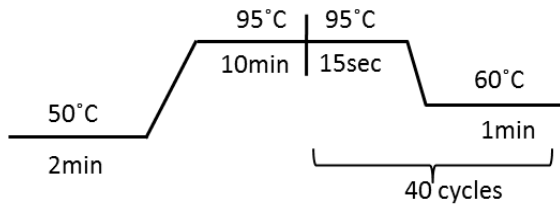
Taq Man Gene Expression Master Mix kiti kullanılarak kantifiye edildi. Amplifikasyon ve kantifikasyon işlemi StepOne Plus Real Time PCR System (Applied Biosystems) cihazında yapıldı. 100ng cDNA için tablo halinde aşağıda verilen TaqMan® Gene Expression Assays’ler ile aşağıda gösterildiği gibi pipetlendi ve 40 siklus ile yürütüldü.

Tüm veriler kontrol grubuyla karşılaştırmalı şekilde  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  metoduna göre hesaplandı.<sup>146</sup>

<b>Gen</b>	<b>In vivo</b>
UTR	Primer design rat
ET-1	Primer design rat
B-actin	Primer design rat

**Pipetleme:**

cDNA (100ng)	X $\mu$ l
TaqMan Master Mix	10 $\mu$ l
Assay	1 $\mu$ l
RNase free H <sub>2</sub> O ile 20 $\mu$ l'e tamamlanacak.	



Real-time PCR'da kullanılan primer sekanslar Tablo 3.2'de gösterildi.

**Tablo 3.2.** Real-time PCR'da kullanılan primer sekanslar

Gen	İleri	Ters
UTR	5'-GACTGGCACTTTGGAGATGT-3'	5'-CGTTCGCTGCTCATTATG GT-3'
ET-1	5'- CAG AGA CAC AGT GCC ATT CC-3'	5'- CAG ACA CGA ACA CTC CCT AAG-3'
B- aktin	5'-TGGTGGGTATGGGTCAGAAG-3'	5'- GACAATGCCGTGTTCAATGG- 3'

UTR: Ürotensin II reseptör, ET-1: Endotelin 1

**Plazma Ürotensin II analizi:** Deney sonrası ratlardan alınan kan örnekleri jelli biyokimyasal tüplere alınarak, 5°C'de soğutmalı santrifüjde santrifüjlenerek serum örnekleri elde edilip hemen alikoatlanarak -80°C'de saklandı. Kan alınmasını takiben,

ratlardan dokular hızlı bir şekilde alınıp sıvı azot altında hemen dondurularak, analizler yapılana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

Antikoagülansız tüpe alınan kanlar, 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve serumlar ayrıldı. Ayrılan serum örnekleri eppendorf tüplerine aktarıldıktan sonra *Cobas C-501* oto analizörde analiz edilmek üzere cihaza yerleştirildi. Plazma Ürotensin aktivitesi cihaz tarafından otomatik olarak hesaplandı.

Her ratın 100 mg böbrek dokusu spesifik homojenat tamponunda, buz üzerinde Tissue Lyser ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi.

**Dokuda ürotensin II reseptör ekspresyon analizi (Rat ürotensin II, ELISA Kit, SUNRED, Şangay, PRC):**

1. Tüm reaktifler, örnekler ve standartlar hazırlandı.
2. 50  $\mu\text{l}$  standart ve 40  $\mu\text{l}$  örnek kendi kuyularına eklendi ve daha sonra biotin antibody'den 10  $\mu\text{l}$  kör ve standartlar hariç tüm kuyulara eklendi. Streptavidin HRP'den 50  $\mu\text{l}$  kör hariç tüm kuyulara eklendi. Üstü kapatılarak  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 60 dk. inkübe edildi.
3. Kuyular aspire edildi ve beş kez yıkandı.
4. Cromogen A'dan 50  $\mu\text{l}$  ve sonra cromogen B'den 50  $\mu\text{l}$  her bir kuyuya eklendi ve karanlıkta 10 dakika  $37^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildi.
5. 50  $\mu\text{l}$  stop solüsyonu eklendi ve 450 nm'de ölçüm alındı.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Bulguların istatistiksel olarak analizinde Graphpad Prism, Version 5.0. ve SPSS 20.0 yazılım programı kullanıldı. Bütün ölçümlerde gruplar arası istatistiksel farklılıklar ve önem seviyeleri için ANOVA (One-Way Variance Analyzes) testi ve Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Beyin dokusunda kontrol ve ISO grubunda nöronal hasarın göstergesi olarak dark nöron ile dejenere purkinje hücreleri sayılarak

ortalamları arasındaki fark Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. Kontrol ve ISO grubunda postmortem 0. saatte plazma BUN ve Kreatin seviyelerinin ortalamaları arasındaki fark Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi.





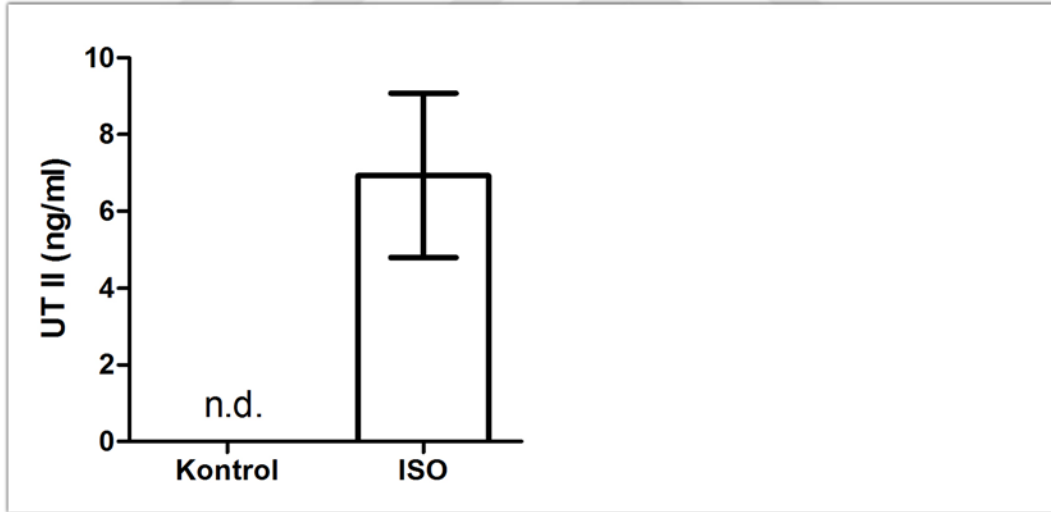
## 4. BULGULAR

### 4.1. Moleküler Analiz Bulguları

Deneysel olarak oluşturduğumuz ISO toksisite ve kontrol grubunda plazma UT, BUN, kreatinin, beyin ve böbrek dokusunda ise ET-1 ve UTR ekspresyon seviye değişim bulguları aşağıda sırayla gösterildi.

#### 4.1.1. Plazma Ürotensin II (UT) Seviyesinin Ölçümü

Plazma UT seviye değişikliklerini postmortem 0. saatte hem ISO grubunda, hem kontrol grubunda incelendi. Plazma UT seviyesini kontrol grubunda postmortem 0. saatte ölçülemeyecek düzeyde düşük olduğu belirlendi. ISO grubunda ise yaklaşık 7 kat yüksek olduğu belirlendi. Şekil 4.1'de ISO toksisite ve kontrol grubunda plazma UT seviye değişiklikleri gösterildi.



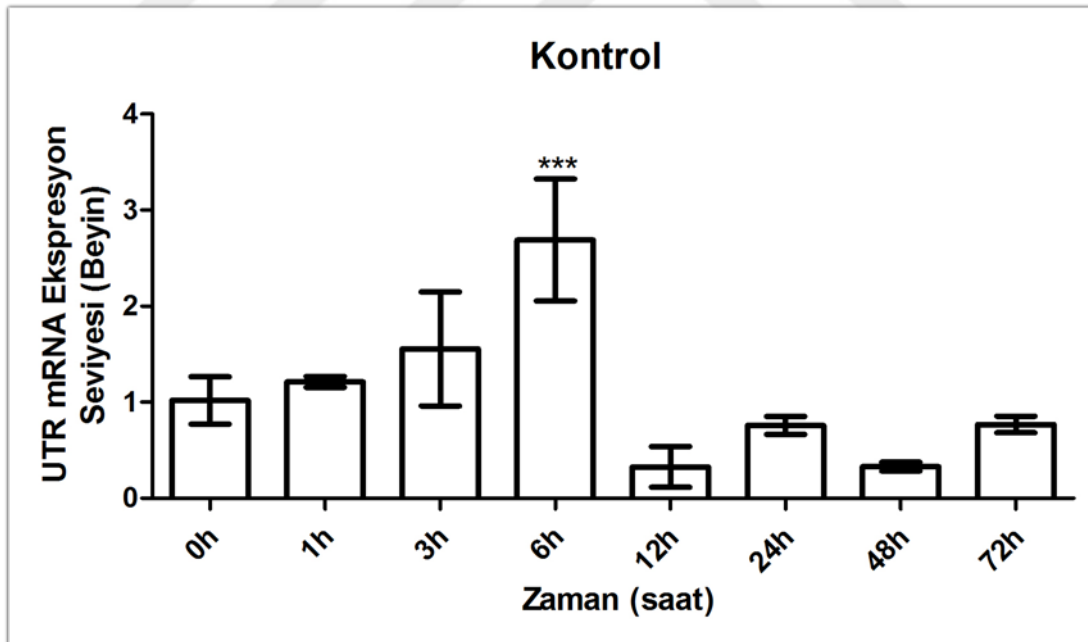
Şekil 4.1. Postmortem 0. saat plazma UT seviye değişikliği. (n.d: ölçülemeyecek düzeyde)

#### 4.1.2. Beyin Dokusunda Ürotensin II Reseptör (UTR) Ekspresyon Seviyesi Ölçümü

Beyin dokusu incelendiğinde; beyinde postmortem dönemde UTR ekspresyon seviye değişikliklerinin kontrol grubunda başlangıç değerine göre postmortem 6. saatte yükselme gösterdiği, ancak diğer saatlerde belirlenen seviye değişikliklerinin anlamlı

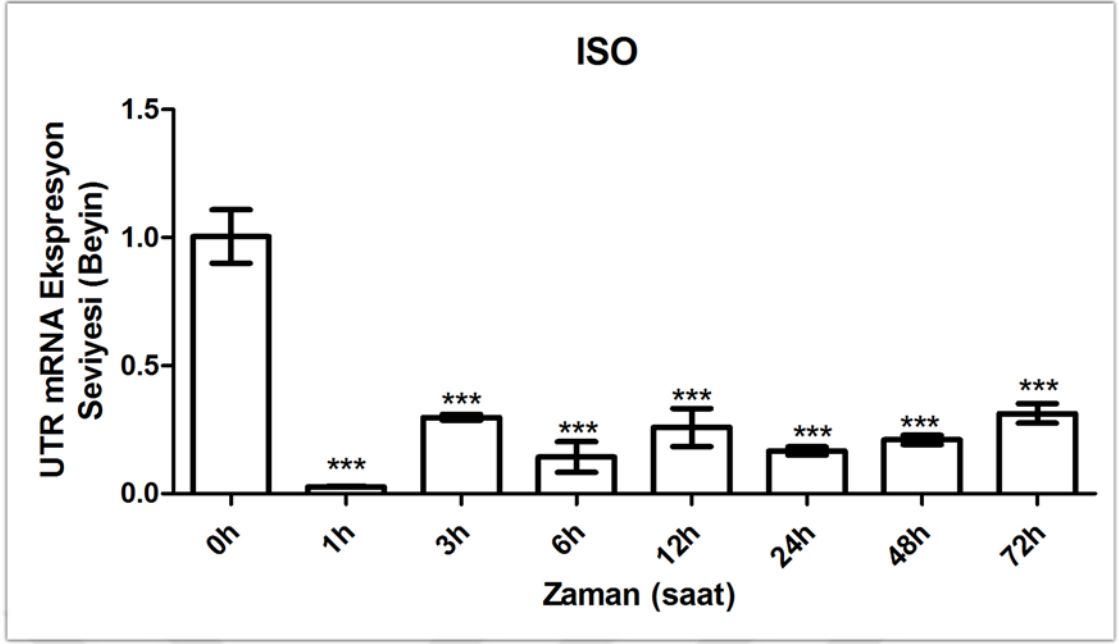
fark göstermediği saptandı (Şekil 4.2). ISO toksisite grubunda ise postmortem dönemde UTR ekspresyon seviye değişikliklerinin başlangıç seviyesine göre, istatistiksel anlamlı fark gösterecek düzeyde düştüğü belirlendi (Şekil 4.3).

Postmortem UTR ekspresyon seviyesi kontrol grubu ile ISO grubu karşılaştırıldığında, UTR ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna göre daha düşük bir düzeyde seyrettiği, postmortem 0. saatte fark istatistiksel olarak anlamlı olmazken, postmortem 1., 3. ve 6. saatlerde saptanan düşüklüğün istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Postmortem 12. saatte kontrol grubuna göre belirlenen düşük düzey istatistiksel olarak anlamlı değildi. Postmortem 24., 48. ve 72. saatlerde UTR ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı düşük seviyelerde olduğu saptandı (Şekil 4.4). Tablo 4.1’de beyin dokusunda ISO toksisite ve kontrol grubunda UTR ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler gösterildi.

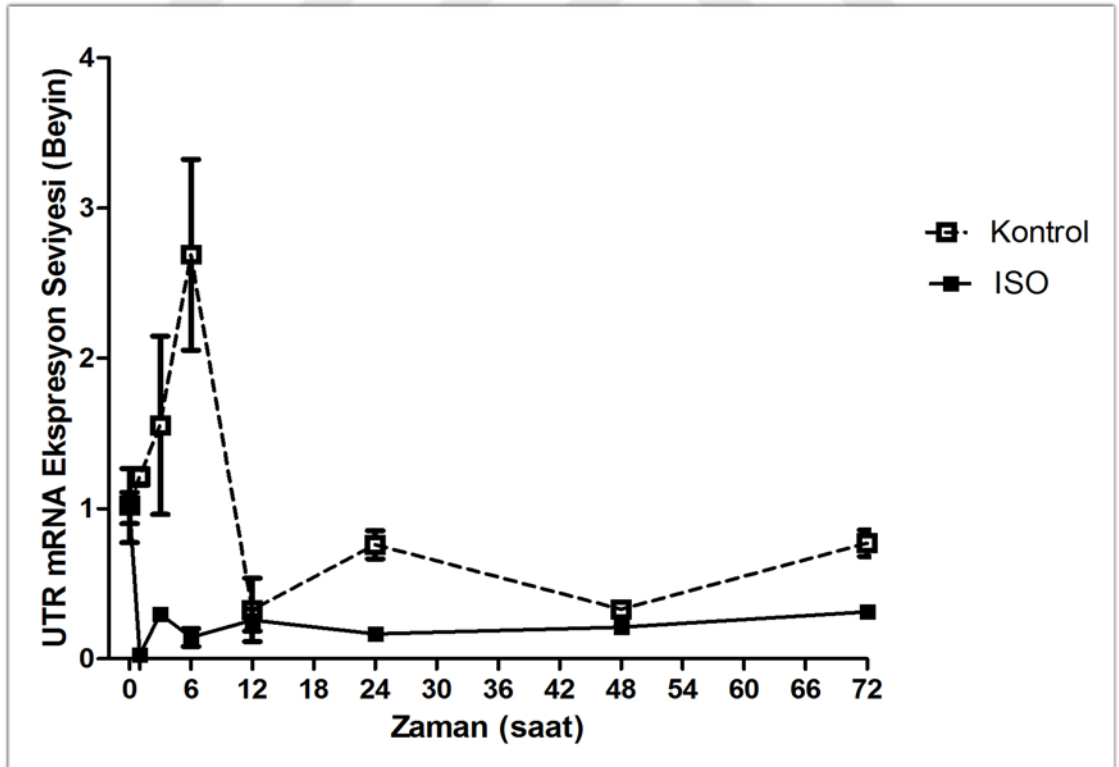


**Şekil 4.2.** Beyinde kontrol grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği

(Sonaçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.3.** Beyinde ISO grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği  
(Sonaçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.4.** Beyinde ISO ve kontrol grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği  
(Sonaçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.)

**Tablo 4.1.** Beyinde ISO ve kontrol grubunda UTR ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler

Postmortem zaman (saat)	ISO grubu (n=48) Ortalama $\pm$ SD	Kontrol (n=48) Ortalama $\pm$ SD	F	P
0	1,00 $\pm$ 0,09	1,02 $\pm$ 0,22	0,027	0,874
1	0,03 $\pm$ 0,00	1,21 $\pm$ 0,05	3321,394	<0,001
3	0,30 $\pm$ 0,01	1,56 $\pm$ 0,53	33,676	<0,001
6	0,14 $\pm$ 0,05	2,69 $\pm$ 0,57	119,158	<0,001
12	0,26 $\pm$ 0,07	0,33 $\pm$ 0,19	0,680	0,429
24	0,17 $\pm$ 0,01	0,76 $\pm$ 0,08	288,838	<0,001
48	0,21 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,04	44,281	<0,001
72	0,31 $\pm$ 0,03	0,77 $\pm$ 0,08	172,048	<0,001

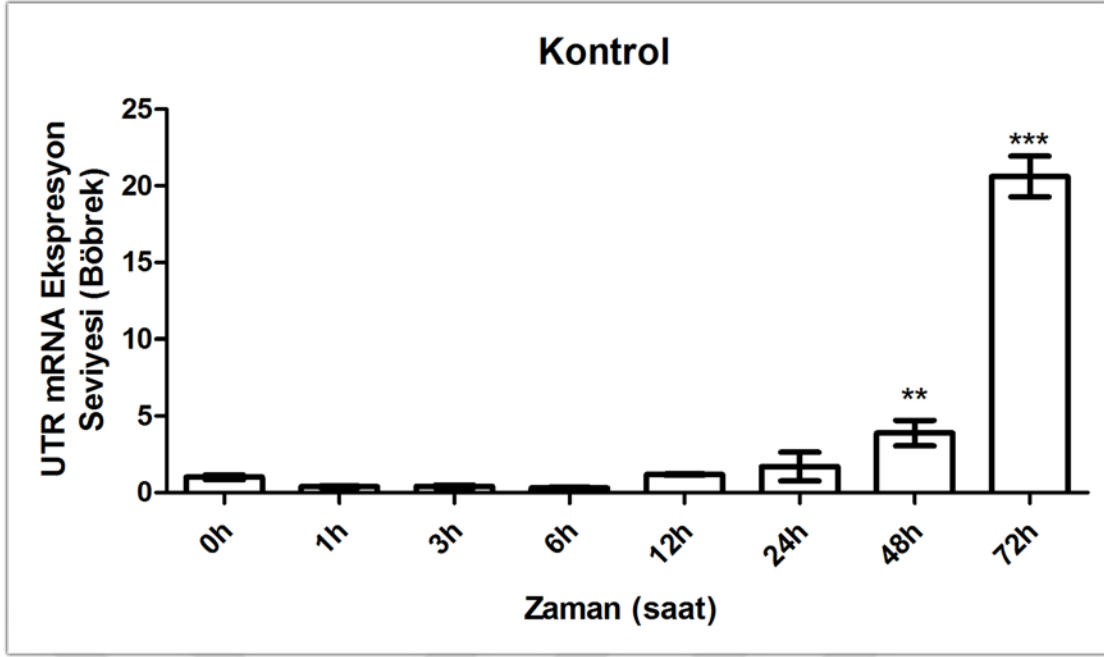
Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma(SD) olarak verildi. Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc oklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4.1.3. Böbrek Dokusunda rotensin II Reseptör (UTR) Ekspresyon Seviyesi

##### lm

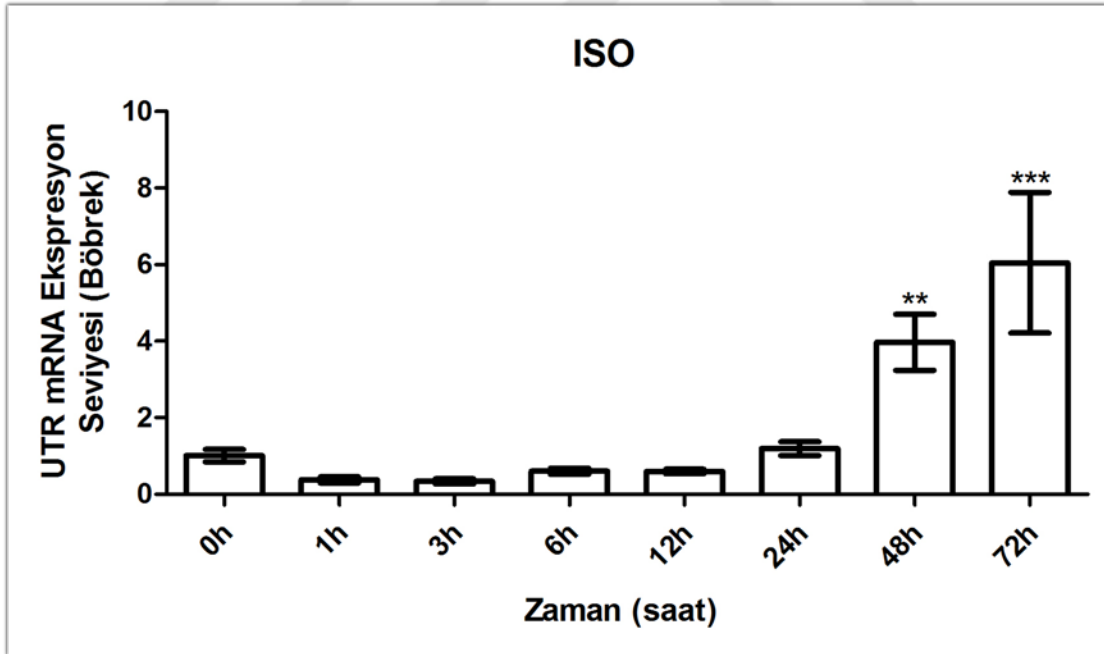
Böbrek dokusunda postmortem dönemde hem kontrol grubunda hem de ISO toksisite grubunda UTR ekspresyon seviye değişikliklerinin başlangıç değerine göre, postmortem 48. ve 72. saatte yükselme gösterdiği, ancak her iki grubun diğer saatlerinde belirlenen seviye değişikliklerinin anlamlı fark göstermediği saptandı (şekil 4.5 ve şekil 4.6).

Böbrek dokusu postmortem dönemde ISO toksisite ve kontrol grubu UTR ekspresyon seviyesi karşılaştırıldığında; UTR ekspresyon seviyesinin ISO toksisite grubunda, kontrol grubuna göre tüm saatlerde düşük olduğunu saptandı. UTR ekspresyon seviyesinde saptanan düşük seviyenin 6. ve 12. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. 0., 1., 3., 24. ve 48. postmortem saatlerde UTR ekspresyon seviyesi kontrol grubuna göre düşük olmakla beraber istatistiksel olarak fark anlamlı değildi (şekil 4.7). Tablo 4.2'de böbrek dokusunda ISO toksisite ve kontrol grubunda UTR ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler gösterildi.



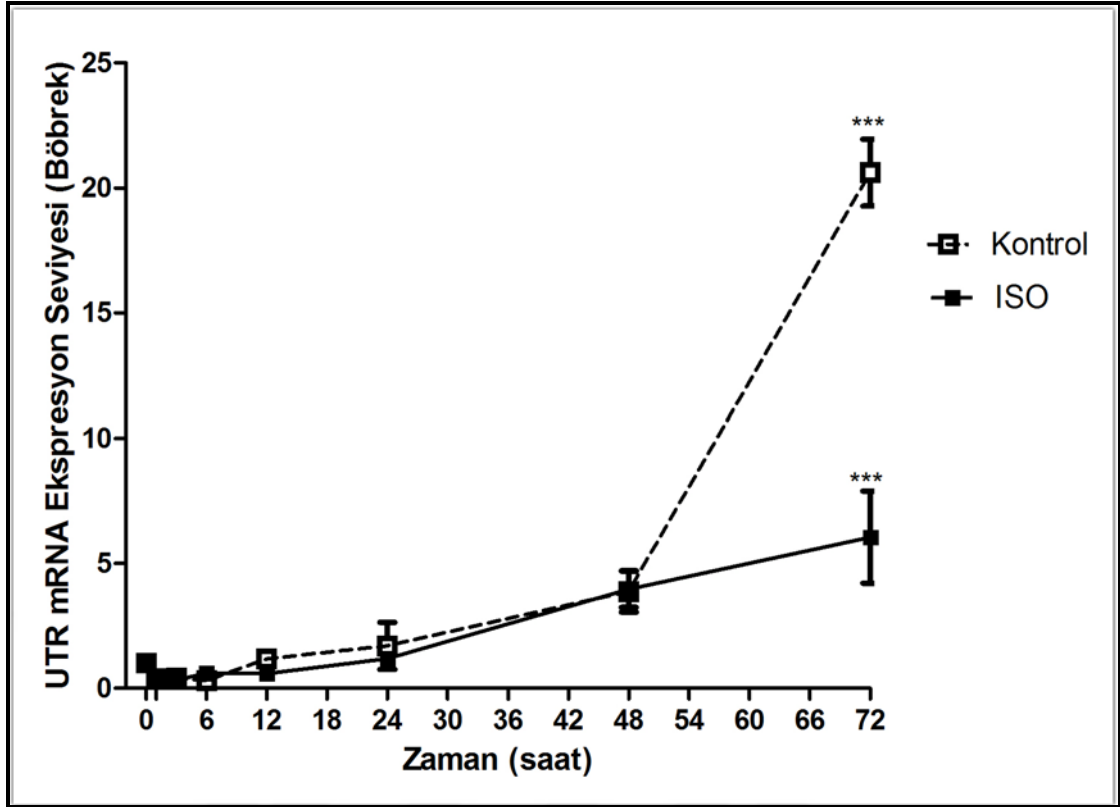
**Şekil 4.5.** Böbrekte kontrol grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği

(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.6.** Böbrekte ISO grubunun postmortem zamana göre UTR ekspresyon seviye değişikliği

(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.7.** Böbrekte ISO ve kontrol grubunun postmortem zaman göre UTR ekspresyon seviye değişikliği  
(Sonaçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.)

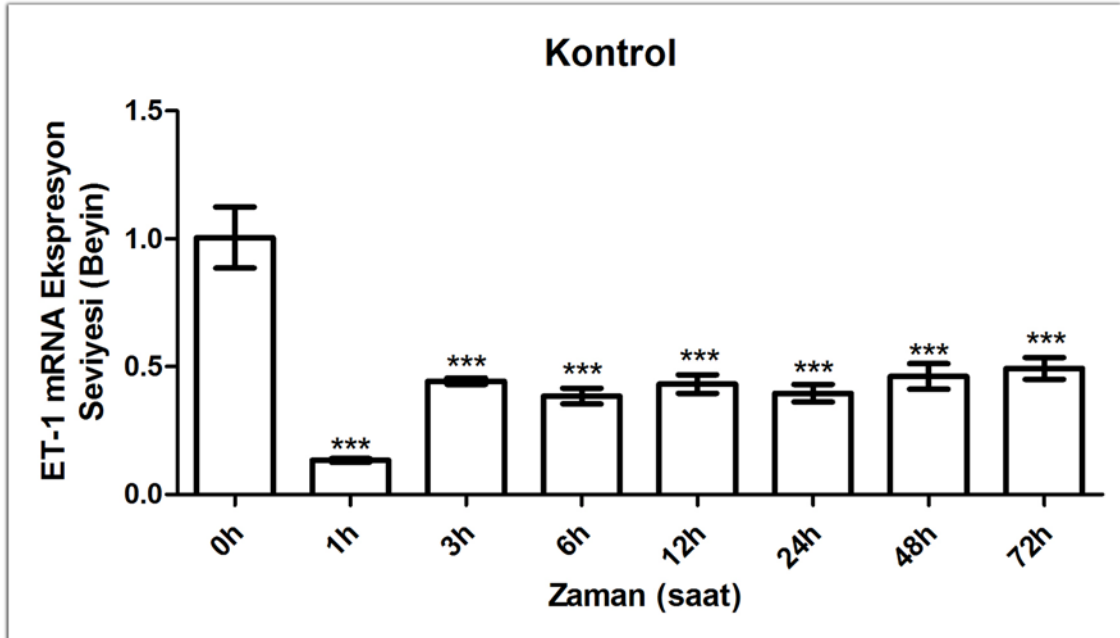
**Tablo 4.2.** Böbrekte ISO ve kontrol grubunda UTR ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler

Postmortem zaman (saat)	ISO grubu (n=48) Ortalama ± SD	Kontrol (n=48) Ortalama ± SD	F	p
0	0,87 ± 0,15	1,01 ± 0,14	0	0,999
1	0,29 ± 0,07	0,38 ± 0,05	0	0,998
3	0,27 ± 0,06	0,40 ± 0,08	1,926	1,195
6	0,51 ± 0,07	0,3 ± 0,05	67,805	<b>&lt;0,001</b>
12	0,53 ± 0,05	1,18 ± 0,05	426,928	<b>&lt;0,001</b>
24	1,02 ± 0,16	1,70 ± 0,84	2,127	0,175
48	3,23 ± 0,65	3,88 ± 0,75	0,049	0,83
72	4,51 ± 1,65	20,61 ± 1,19	307,636	<b>&lt;0,001</b>

Değerler ortalama ± standart sapma(SD) olarak verildi. Sonaçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

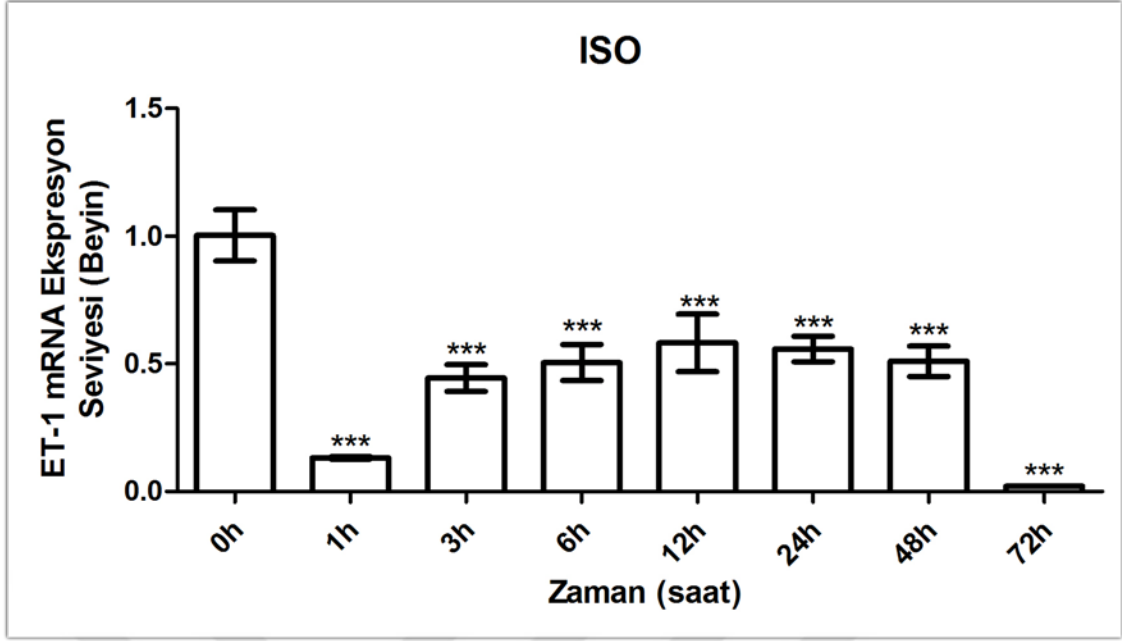
#### 4.1.4. Beyin Dokusunda Endotelin 1 (ET-1) Ekspresyon Seviyesi Ölçümü

Beyin dokusunda postmortem dönemde hem kontrol grubunda hem de ISO toksisite grubunda ET-1 ekspresyon seviye değişikliklerinin başlangıç değerine göre, postmortem tüm saatlerde istatistiksel anlamlı düzeyde düşme gösterdiği saptandı (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Beyin dokusu postmortem dönemde ISO toksisite ve kontrol grubu ET-1 ekspresyon seviye değişiklikleri karşılaştırıldığında; ET-1 ekspresyon seviyesinin hem ISO toksisite grubunda, hem kontrol grubuna başlangıçta ciddi düşme gösterdiği, 1. saatten itibaren bir yükselme eğilimine girerek başlangıç seviyesinden daha az düzeylerde postmortem 48. saate kadar seyrettiği belirlendi (Şekil 4.10). ISO toksisite grubu ile kontrol grubunda ET-1 ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında 6., 12., 24. ve 72. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi. Tablo 4.3’de beyin dokusunda ISO toksisite ve kontrol grubunda ET-1 ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler gösterildi.



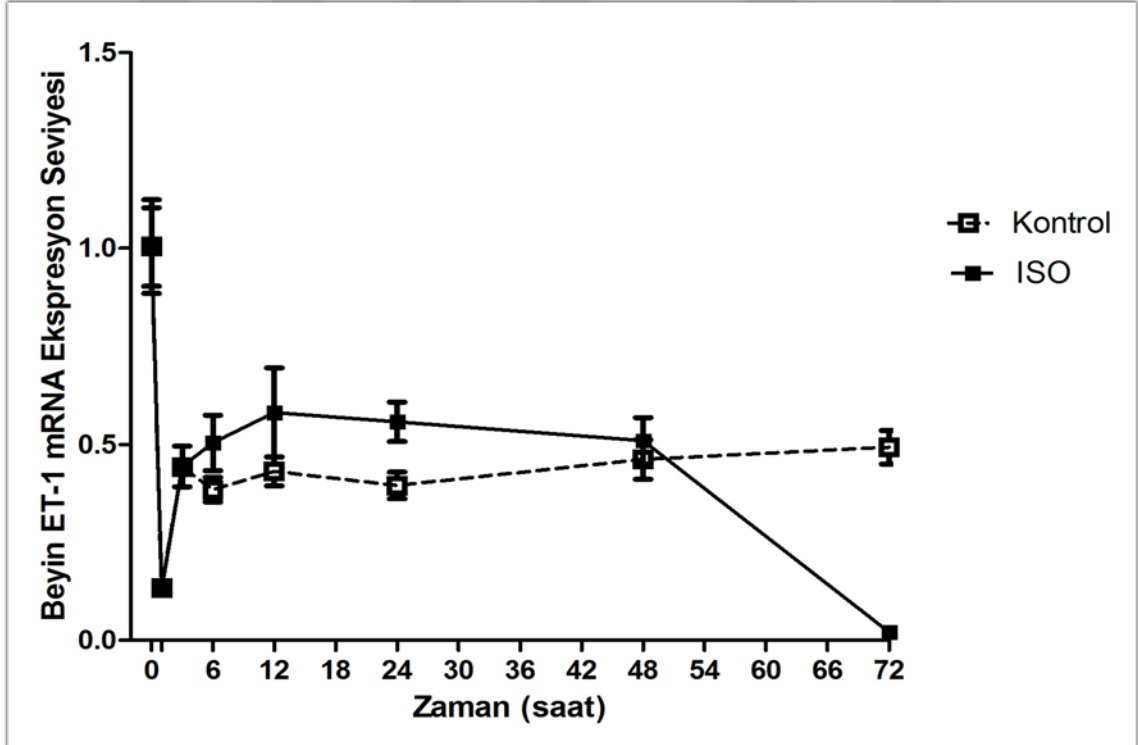
**Şekil 4.8.** Beyinde kontrol grubunun postmortem zamana göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği

(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey’e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.9.** Beyinde ISO grubunun postmortem zamana göre ET-1 Ekspresyon seviye değişikliği

(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.10.** Beyin ISO ve kontrol grubunun postmortem zaman göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği

(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.)



**Tablo 4.3.** Beyin dokusu ISO ve kontrol grubunda ET-1 ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler.

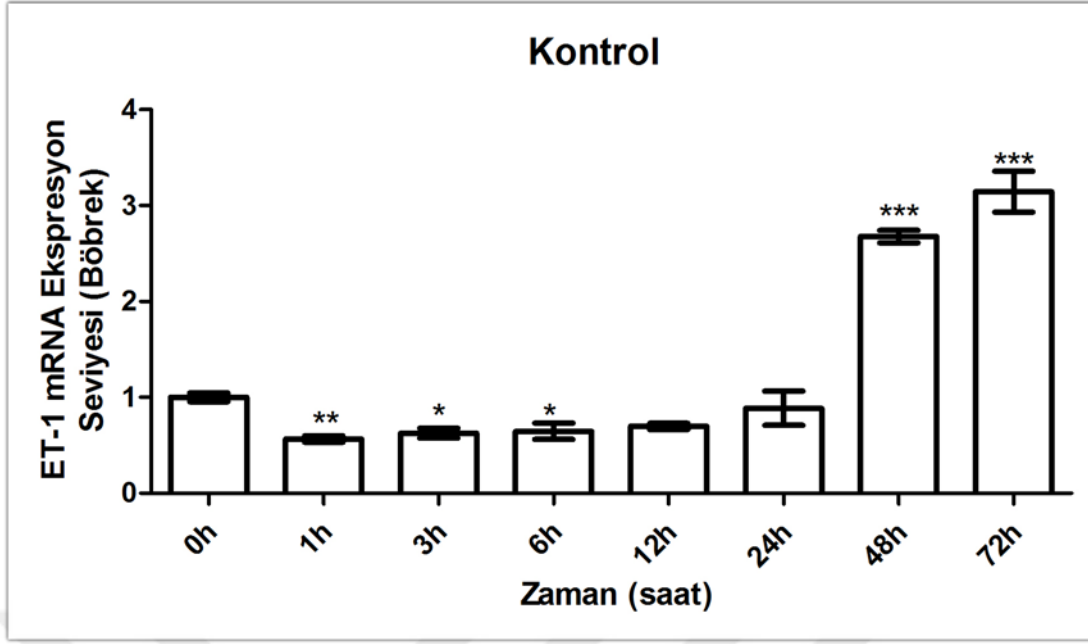
<b>Postmortem zaman (saat)</b>	<b>ISO grubu (n=48) Ortalama <math>\pm</math> SD</b>	<b>Kontrol (n=48) Ortalama <math>\pm</math> SD</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
0	1,00 $\pm$ 0,09	1,00 $\pm$ 0,11	0,0	0,983
1	0,13 $\pm$ 0,00	0,13 $\pm$ 0,01	0,268	0,616
3	0,44 $\pm$ 0,05	0,44 $\pm$ 0,01	0,003	0,956
6	0,50 $\pm$ 0,06	0,38 $\pm$ 0,03	18,088	<b>0,002</b>
12	0,58 $\pm$ 0,10	0,43 $\pm$ 0,03	12,112	<b>0,006</b>
24	0,56 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,03	53,113	<b>&lt;0,001</b>
48	0,51 $\pm$ 0,05	0,46 $\pm$ 0,04	2,849	0,122
72	0,02 $\pm$ 0,00	0,49 $\pm$ 0,04	912,543	<b>&lt;0,001</b>

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma(SD) olarak verildi. Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc oklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

#### **4.1.5. Böbrek Dokusunda Endotelin 1 (ET-1) Ekspresyon Seviyesi lm**

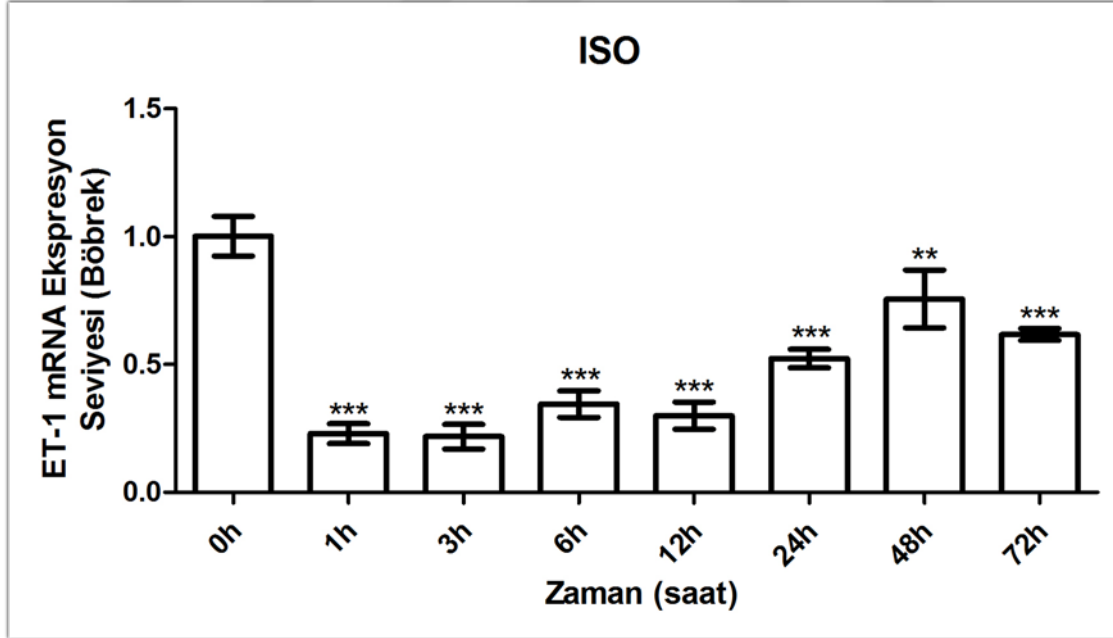
Böbrek dokusunda postmortem dönemde ET-1 ekspresyon seviyesinin kontrol grubunda başlangıç seviyesine göre önce düşme, 48 saatten sonra ise yükselme gösterdiği belirlendi (şekil 4.11). ISO toksisite grubunda ET-1 ekspresyon seviye değişikliklerinin başlangıç değerine göre, postmortem tüm saatlerde istatistiksel anlamlı düzeyde düşme gösterdiği saptandı (şekil 4.12).

Böbrek dokusu postmortem dönemde ISO toksisite ve kontrol grubu ET-1 ekspresyon seviye değişiklikleri karşılaştırıldığında; ET-1 ekspresyon seviyesinin kontrol grubunda, ISO toksisite grubuna göre sürekli yüksek seyrettiği görüldü (şekil 4.13). ET-1 ekspresyon seviyelerinin ISO toksisite grubunda postmortem 0. saat hariç, diğer saatlerde istatistiksel olarak anlamlı fark gösterecek şekilde düşük olduğu belirlendi. Tablo 4.4'de böbrek dokusunda ISO toksisite ve kontrol grubunda ET-1 ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler gösterildi.



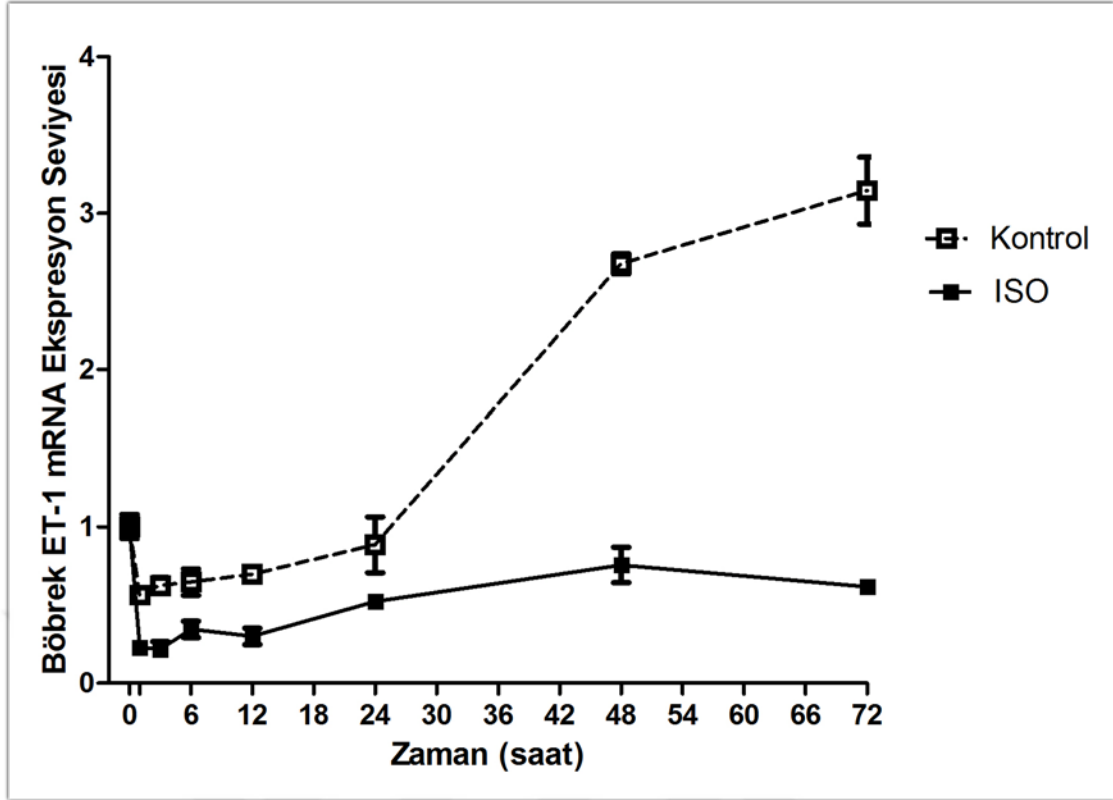
**Şekil 4.11.** Böbrek kontrol grubunun postmortem zamana göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği

(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.12.** Böbrek ISO grubunun postmortem zamana göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği

(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ )



**Şekil 4.13.** Böbrek ISO ve kontrol grubunun postmortem zaman göre ET-1 ekspresyon seviye değişikliği  
(Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.)

**Tablo 4.4.** Böbrek dokusu ISO ve kontrol grubunda ET-1 ekspresyon seviyesinde postmortem değişiklikler.

Postmortem zaman (saat)	ISO grubu (n=48) Ortalama ± SD	Kontrol (n=48) Ortalama ± SD	F	p
0	1,00 ± 0,07	1,00 ± 0,04	0,002	0,968
1	0,23 ± 0,03	0,56 ± 0,03	329,066	<0,001
3	0,22 ± 0,04	0,63 ± 0,05	254,074	<0,001
6	0,35 ± 0,05	0,65 ± 0,08	69,102	<0,001
12	0,30 ± 0,05	0,70 ± 0,03	317,294	<0,001
24	0,52 ± 0,03	0,89 ± 0,16	29,622	<0,001
48	0,76 ± 0,10	2,68 ± 0,06	1628,236	<0,001
72	0,62 ± 0,02	3,14 ± 0,19	1027,797	<0,001

Değerler ortalama ± standart sapma(SD) olarak verildi. Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Tukey'e göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

## 4.2. Biyokimyasal Bulgular

Postmortem 0. saatte ISO toksisite ve kontrol grubunda plazma BUN ve kreatinin değerleri incelendi. İncelemede plazma BUN değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. Postmortem 0. saatte kontrol ve ISO grubunda kreatinin seviyelerinin ölçümünde ise ISO grubunda yaklaşık 3 kat plazma kreatinin seviyelerinde artma ve istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirlendi. Tablo 8’de ISO ve kontrol grubunda postmortem 0. saatte BUN ve kreatinin değerleri gösterildi.

**Tablo 4.5.** ISO ve kontrol grubunda postmortem 0. saat biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

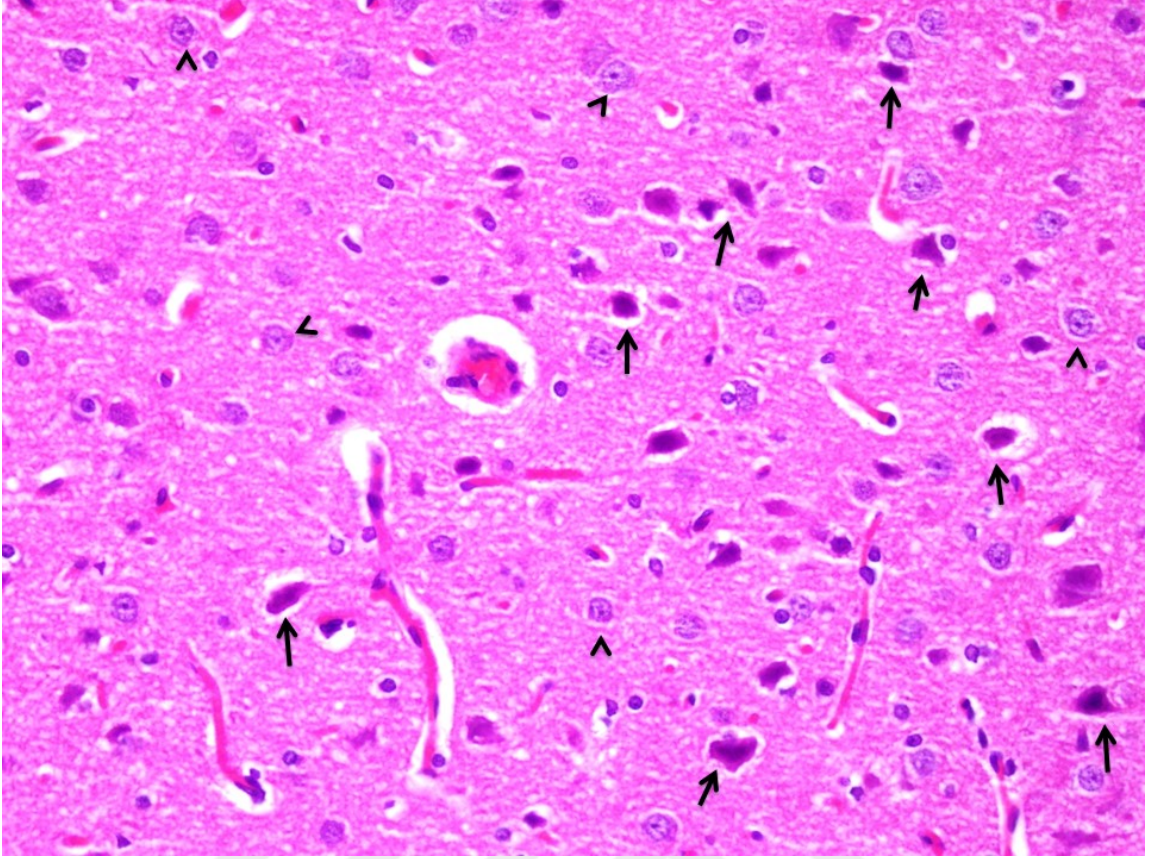
Biyokimyasal parametre	ISO grubu	Kontrol grubu	Mann -Whitney U Test	
	n=6	n=6	Z	p
	Ortalama $\pm$ SD	Ortalama $\pm$ SD		
<b>BUN</b>	23,71 $\pm$ 3,16	22,43 $\pm$ 1,02	-0,983	0,325
<b>Kreatin</b>	0,79 $\pm$ 0,12	0,2 $\pm$ 0,01	-3,244	<b>0,001</b>

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma(SD) olarak verildi. Kontrol ve ISO grubunda postmortem 0. saatte plazma BUN ve Kreatin seviyelerinin ortalamaları arasındaki fark Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi.

## 4.3. Histopatolojik Bulgular

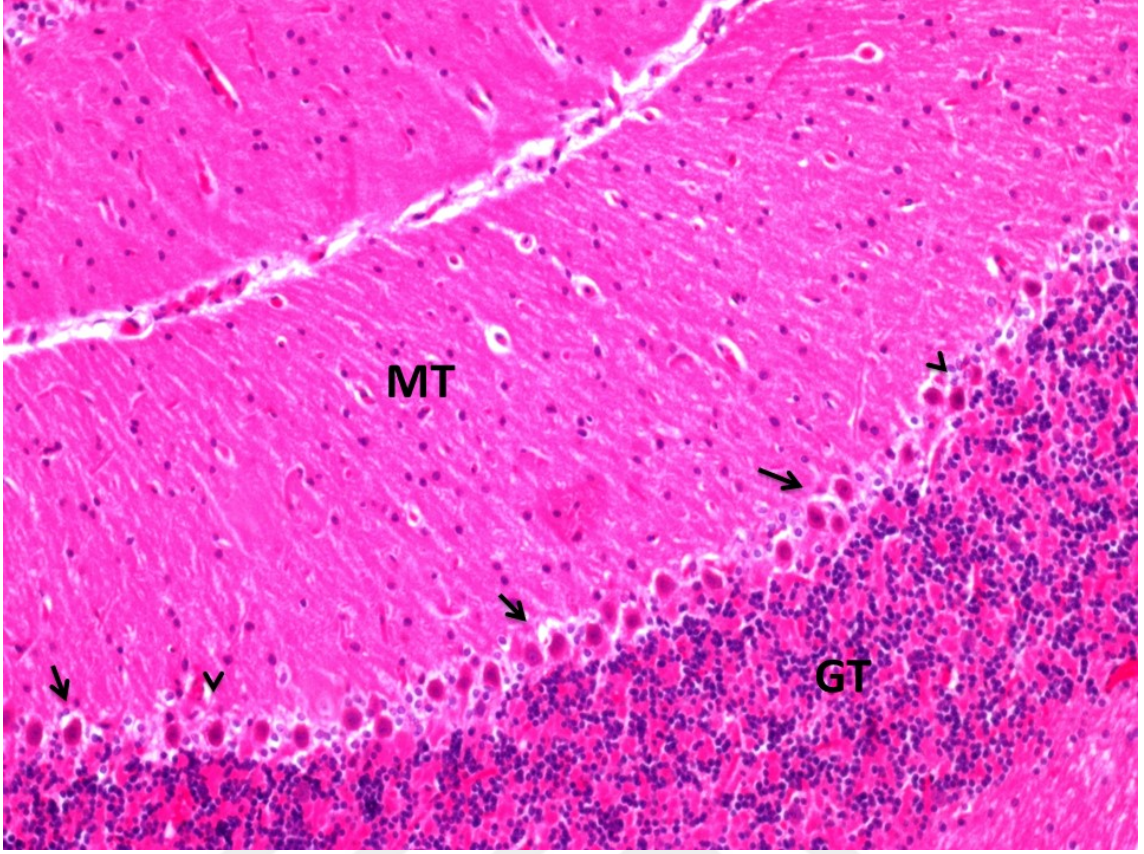
### 4.3.1. Beyin Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubu 0. saat deneklerden elde edilen beyin dokusunda yapılan morfolojik değerlendirme sonucunda kortekste histolojik olarak korunan nöron yapıları yanında akut iskemik zedelenme nedeni ile büzüşerek daha koyu boyanan bazılarında nükleer piknoz ve karyoreksis gözlenen dark nöron yapıları izlendi (Şekil 4.14). Bu gruba ait 1., 3., 6., 12., 24., 48. ve 72. saatlerde deneklerin beyin doku örneklerinde fibriler zeminde bozulma nöron nükleuslarında genel kayıp ve vakuolizasyon gibi artan derecelerde otoliz bulguları gözlemlendi.



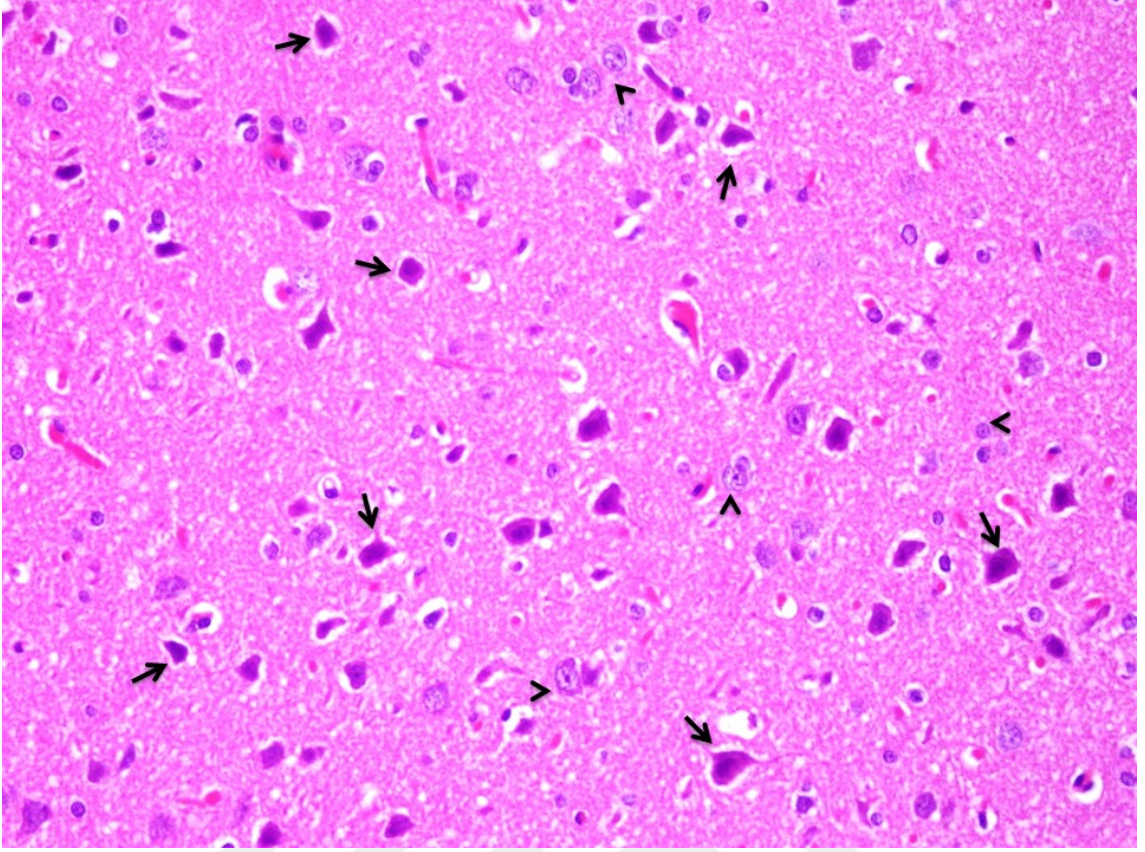
**Şekil 4.14.** Beyin dokusu kontrol grubu hematoksisilen-eozin boyama sonuçları (Serebral korteks; histolojik olarak korunan nöron yapıları (Ok başı) ve koyu boyanan dark nöron yapıları (ok). H&Ex200.)

Kontrol grubu 0. saat deneklerden elde edilen beyincik dokusunda yapılan morfolojik değerlendirme sonucunda özellikle purkinje hücrelerinde akut iskemik zedelenmeye bağlı nükleer piknoz ve karyoreksis ile stoplazmada koyu boyanma ile karakterize dejenerasyon bulguları izlendi (Şekil 4.15). Bu gruba ait 1., 3., 6., 12., 24., 48. ve 72. saat deneklerin beyincik doku örneklerinde fibriler zeminde bozulma granüler tabaka nükleuslarda azalma ve genel kayıp, purkinje hücrelerinde azalma/tama yakın kayıp, vakuolizasyon gibi artan derecelerde otoliz bulguları gözlemlendi.



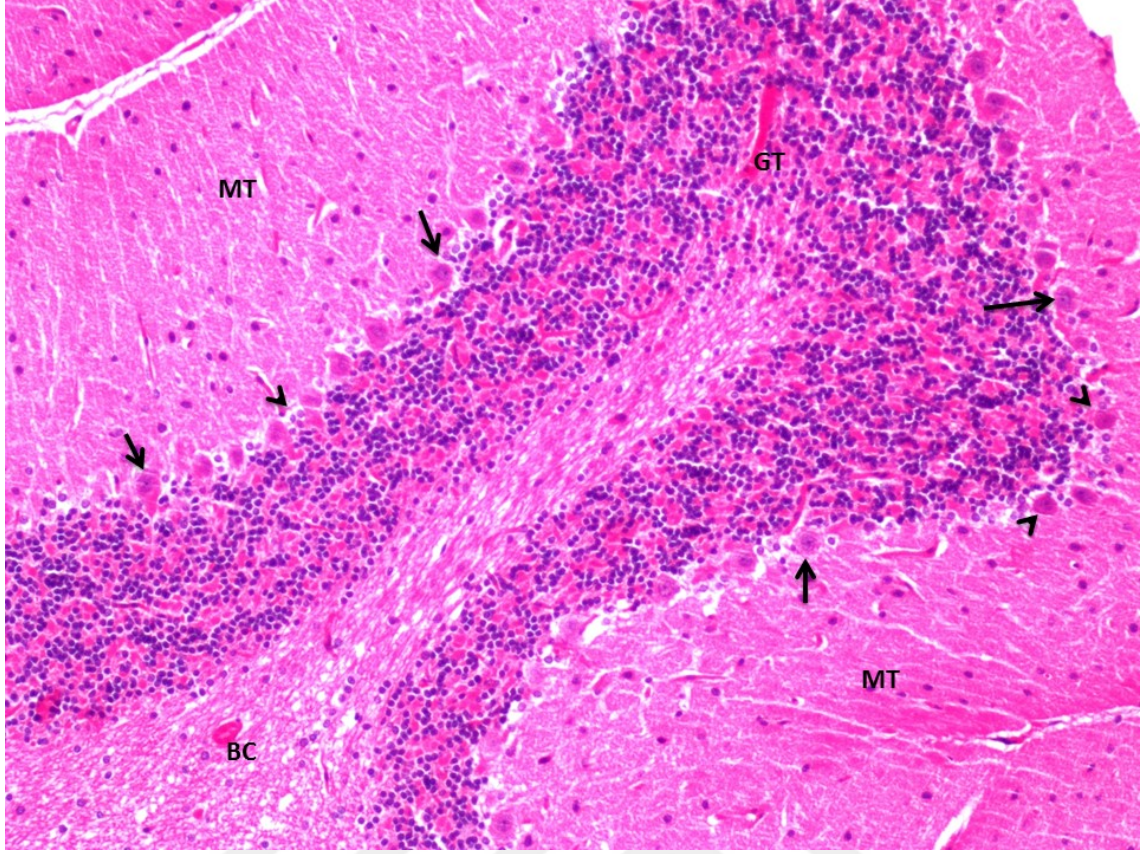
**Şekil 4.15.** Beyincik dokusu kontrol grubu hematoksilen-eozin boyama sonuçları (Serebellar korteks; histolojik olarak korunan purkinje hücreleri (ok) ve koyu boyanan dejenere purkinje hücreleri (ok başı). H&Ex200. **MT:** Moleküler tabaka, **GT:** Granüler tabaka.)

ISO toksisite grubu postmortem 0. saat deneklerinden elde edilen beyin dokusunda yapılan morfolojik değerlendirme sonucunda kortekste histolojik olarak korunan nöron yapıları yanında akut iskemik zedelenme nedeni ile büzüşerek daha koyu boyanan bazılarında nükleer piknoz ve karyoreksis gözlenen dark nöron yapılarında kontrol grubuna göre sayısal artış izlenirken (Şekil 4.16); ISO toksisite grubuna ait diğer saatlerdeki deneklerin beyin doku örneklerinde fibriler zeminde bozulma, nöron nükleuslarında genel kayıp ve vakuolizasyon gibi artan derecelerde otoliz bulguları gözlemlendi.



**Şekil 4.16.** Beyin dokusu ISO grubu hematoksilen-eozin boyama sonuçları (Serebral korteks; histolojik olarak korunan nöron yapıları (ok başı) ve koyu boyanan dark nöron yapıları (ok). H&Ex200.)

ISO toksisite grubunun 0. saat deneklerinden elde edilen beyincik dokusunda yapılan morfolojik değerlendirme sonucunda özellikle purkinje hücrelerinde akut iskemik zedelenmeye bağlı nükleer piknoz ve karyoreksis ile stoplazmada koyu boyanma ile karakterize dejenerasyon bulgularında kontrol grubuna göre sayısal artış izlenirken (Şekil 4.17); bu gruba ait diğer saatlerdeki deneklerde beyincik doku örneklerinde fibriler zeminde bozulma, granüler tabaka nükleuslarda azalma ve genel kayıp, purkinje hücrelerinde azalma/tama yakın kayıp, vakuolizasyon gibi artan derecelerde otoliz bulguları gözlemlendi.



**Şekil 4.17.** Beyincik dokusu ISO grubu hematoksilin-eozin boyama sonuçları (Serebellar korteks; histolojik olarak korunan purkinje hücreleri (ok) ve koyu boyanan dejenere purkinje hücreleri (ok başı). H&Ex200. **MT:** Moleküler tabaka, **GT:** Granüler tabaka, **BC:** Beyaz cevher.)

Postmortem 0. saat deneklerin beyin dokularındaki dark nöron sayısının, beyincik dokularındaki dejenere purkinje hücre sayısının ISO toksisite grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu belirlendi (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6.** Beyin ve beyincik dokuları morfolojik değerlendirme bulguları

Morfolojik özellik	ISO grubu	Kontrol grubu	Mann -Whitney U Test	
	n=6	n=6	Z	p
	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD		
<b>Dejenere purkinje hücre</b>	117,33 ± 12,388	100,67 ± 10,596	-2,082	<b>0,037</b>
<b>Dark nöron</b>	149,83 ± 16,654	53 ± 5,657	-2,887	<b>0,004</b>

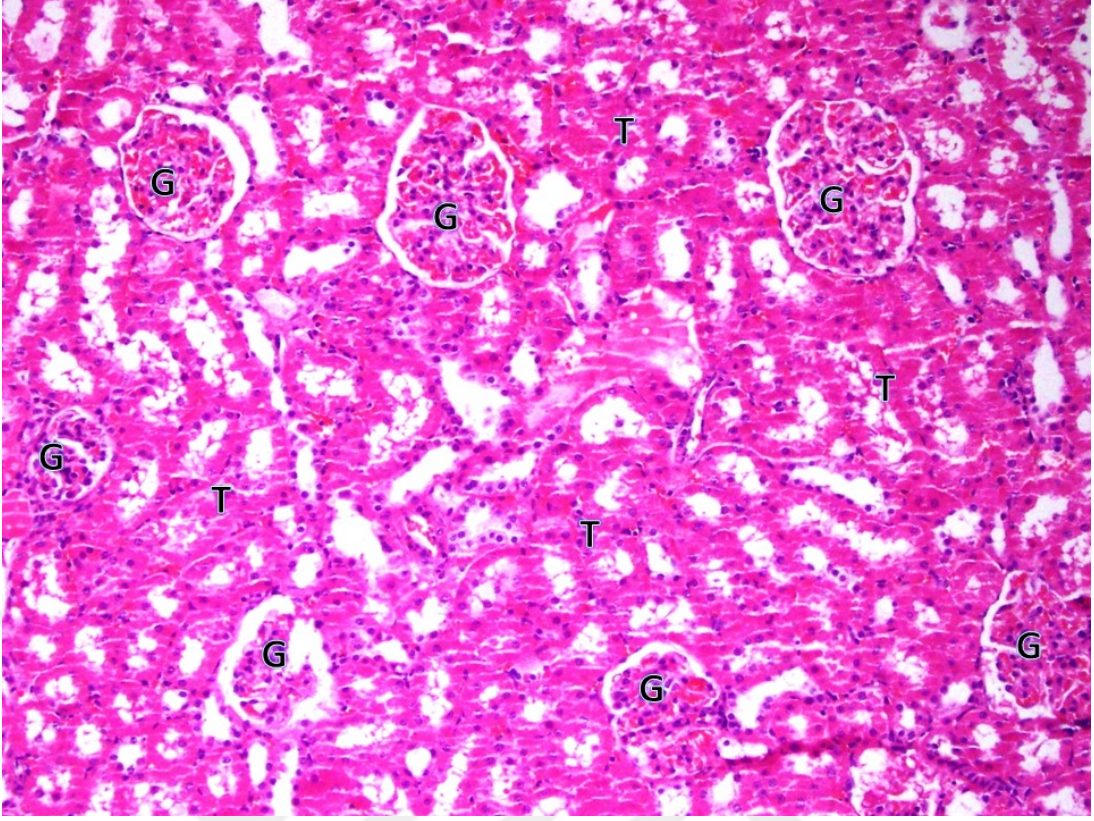
Değerler ortalama ± standart sapma(SD) olarak verildi. Beyin dokusunda kontrol ve ISO grubunda postmortem 0. saatte nöronal hasarın göstergesi olarak dark nöron ile dejenere purkinje hücreleri sayılarak ortalamaları arasındaki fark Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak p<0.05 seviyesindeki sonuçlar önemli kabul edildi.



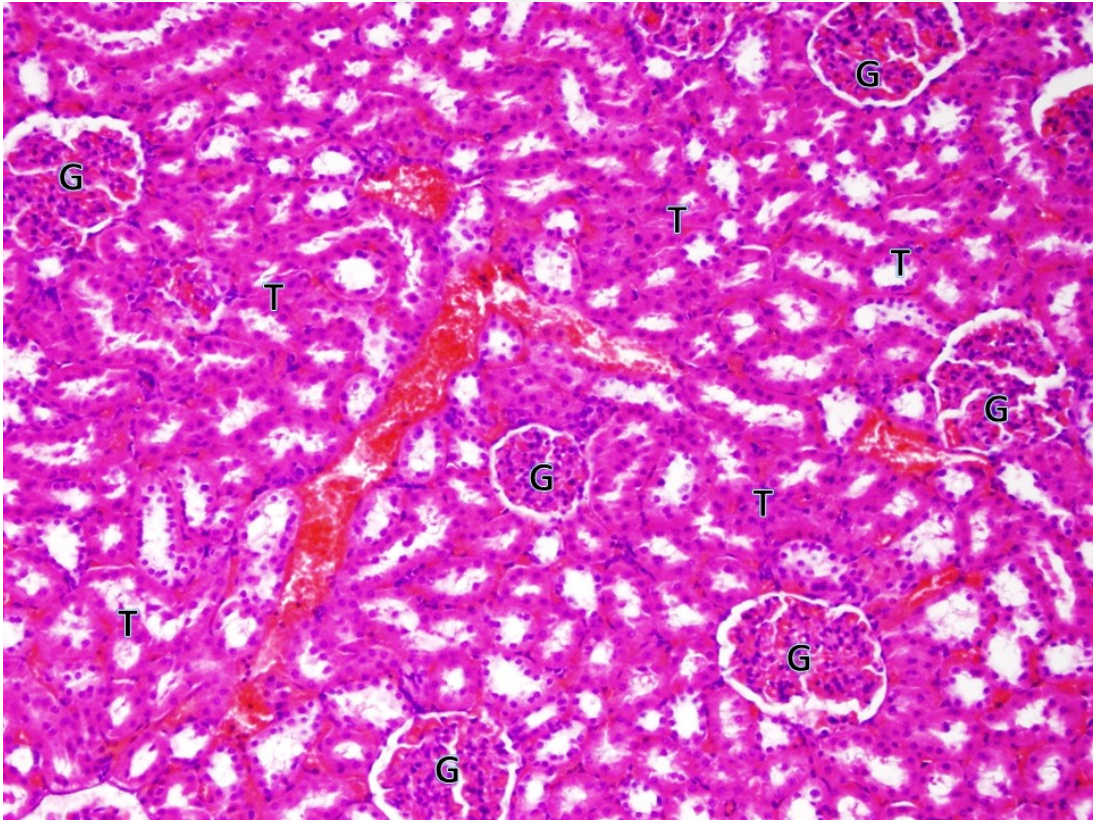
### 4.3.2. Böbrek Dokusuna Ait Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubu 0. saat deneklerden elde edilen böbrek dokusunda yapılan morfolojik değerlendirme sonucunda glomerülerin epitel yapısı ve kapiller ağ morfolojisi, sayı ve sıklığı ile proksimal ve distal tübül yapılarının morfolojisi, tübül epitelinde korunma gibi normal histomorfolojik bulgular yanı sıra konjesyon bulguları izlenirken (Şekil 4.18), bu gruba ait diğer saatlerdeki deneklerin böbrek doku örneklerinde proksimal ve distal tübül epitel morfolojisinin bozulması, glomerül kapiller ağ morfolojisinde bozulma ve vakuolizasyon gibi artan derecelerde otoliz bulguları gözlemlendi.

ISO toksisite grubunun 0. saat deneklerinden elde edilen böbrek dokusunda yapılan morfolojik değerlendirme sonucunda glomerülerin epitel yapısı ve kapiller ağ morfolojisi, sayı ve sıklığı ile proksimal ve distal tübül yapılarının morfolojisi, tübül epitelinde korunma gibi normal histomorfolojik bulgular yanı sıra konjesyon bulguları izlenirken (Şekil 4.19.), bu gruba ait diğer saatlerdeki deneklerin böbrek doku örneklerinde proksimal ve distal tübül epitel morfolojisinin bozulması, glomerül kapiller ağ morfolojisinde bozulma ve vakuolizasyon gibi artan derecelerde otoliz bulguları gözlemlendi.



**Şekil 4.18.** Böbrek dokusu kontrol grubu hematoksisilen-eozin boyama sonuçları  
(Böbrek dokusu glomerül ve tübül yapıları H&Ex100. G: Glomerüler kapiller ağ, T: Tübül yapıları.)



**Şekil 4.19.** Böbrek dokusu ISO grubu eematoksisilen-eozin boyama sonuçları  
(Böbrek dokusu glomerül ve tübül yapıları H&Ex100. G: Glomerüler kapiller ağ, T: Tübül yapıları.)

## 5. TARTIŞMA

Sentetik semptomimetik ajan olan ISO, beta reseptörleri güçlü şekilde etkilerken, alfa reseptör üzerine etkisi yok denecek kadar zayıftır. Ancak yüksek dozlarda beta reseptörler üzerine olan özgünlük ortadan kalkar ve alfa reseptörleri de etkileyebilir.<sup>2 (s. 84)</sup> ISO bütün damar yataklarında güçlü vazodilatasyon yaparak kan basıncını düşürür ayrıca miyokart ve iletim sistemindeki beta-1 reseptörlerini güçlü bir şekilde aktive ederek, kalbin atış hacmini ve atış hızını artırır. Yüksek dozlarda miyokartta güçlü pozitif kronotrop ve pozitif inotrop etkilerine bağlı olarak miyokartta iskemiye neden olur.<sup>17, 18</sup> ISO, böbreklerde kan akımını şoklu hastalarda artırır, normal kişilerde ise düşürür fakat beyinde ise değişikliğe neden olmaz.<sup>2 (s.1017)</sup> Bizde toksik dozda ISO vererek, ratlarda kardiyak iskemi oluşturduk. Yüksek doz ISO sonrası kardiyak iskemi sonucu ölen ratlarda beyin ve böbrek dokusunda UTR ekspresyonu, ET-1 seviye değişikliklerini 20°C'de ve postmortem 72 saatlik süreç içinde inceledik. Aynı zamanda postmortem 0. saatte plazmada UT, BUN ve kreatinin düzeyleri ile histopatolojik olarak beyin ve böbreği araştırdık.

Bilindiği gibi postmortem süreçte dokular ortam sıcaklığından, bakterilerden ve proteolitik enzimlerin etkisiyle gelişen otolitik değişikliklerden etkilenir. Peptit reseptörlerinin postmortem stabilitesi sık karşılaşılan bir problemdir. Peptit reseptörlerinin postmortem stabilitesi ortam sıcaklığı, postmortem soğuma hızı, pH, proteolitik enzimler ve bakteriler gibi birçok faktörden etkilir.<sup>147</sup> Peptit reseptörlerinin postmortem en az 16 saat stabil kaldığı, ancak incelenen dokular içinde beyin dokusunda bulunan peptit reseptörlerinin stabilitesinin daha hassas olduğu belirtilmektedir.<sup>148, 149</sup> ET-A reseptörünün stabilitesi ile ilgili olarak postmortem 8., 16. ve 32 saate incelenen rat modeli rapor edilmiştir.<sup>148</sup> Ayrıca deney hayvanlarında, ölümden sonra geçen sürenin artışına bağlı olarak total RNA'da azalma

gösterilmiştir.<sup>150</sup> Örneğin ratlarla yapılan postmortem deneysel çalışmada total RNA miktarında 16. saatte %17,<sup>151</sup> 24. saatte ise %21 oranında azalma belirlenmiştir.<sup>152</sup> Başka bir deneyde ise postmortem 20. saate kadar total RNA'da göreceli olarak bir stabili kaldığı tespit edilmiştir.<sup>153</sup> Postmortem süreç 40 saatten fazla olduğu durumlarda da protein degradasyonu oluşumu belirlenmiştir.<sup>154</sup> Ölümden sonra geçen süreninin tahmini için yapılan bir araştırmada ise RNA degradasyonu postmortem 11 saatlik süreç içinde ilk 4 saatte istatistiksel olarak önemli fark olmadığı, postmortem 4-11 saatlerde zamana bağlı olarak anlamlı bir azalma olduğu gösterilmiştir.<sup>155</sup> Buzdolabı şartlarında ise postmortem 96. saate kadar rat beyin örneklerinden total RNA ekstrakte edilebilmiştir.<sup>156</sup> Postmortem süreçte vücut sıcaklığı ortam sıcaklığına ulaşmaya kadar RNA'da hızlı bir degradasyon olmakta, ortam sıcaklığı 4-8°C'ye ulaştığında ise RNA degradasyonunda bir azalma meydana gelmektedir.<sup>157</sup>

Tüm bu sonuçlar bize, postmortem sürenin uzamasıyla mRNA seviyelerinde düşmenin giderek arttığını göstermektedir. Beyin ve böbrek dokularında UTR ekspresyonu ve ET-1 seviye değişikliklerini postmortem süreçte incelediğimiz için, postmortem sürecin doğal sonucu olarak karşımıza çıkan otolitik değişiklikler, hiç şüphesiz deney sonuçlarımıza da etki edebilmektedir. Ancak postmortem sürenin erken dönemlerinde yıkımın az ya da göreceli olarak stabil, ilerleyen saatler ise yıkımın daha fazla olması, deney sonuçlarımızın da benzer şekilde postmortem sürecin ilk saatlerinde otolitik değişimlere bağlı daha az etkileneceğini ve özellikle ilk 24 saatten önceki döneminde daha hassas olacağını söyleyebiliriz.

UT ve UTR ekspresyonu son zamanlarda kardiyovasküler hastalıkların moleküler teşhisinde ilgi odağı halindedir. Nitekim deneysel ve klinik birçok araştırmada akut MI'da UT ve UTR ekspresyon seviyesinde artma olmasına rağmen, postmortem etkisinin çok araştırılmadığı görülmektedir.<sup>10, 11, 52</sup> Kardiyak iskemi

modelinde kalpte postmortem UTR ekspresyon seviyesi yüksek seyretmektedir.<sup>12</sup> Yalnız bilindiği gibi UTR ve ET-1 sadece kalpte değil bir çok dokuda da bulunmaktadır. İskemi modellerinde kalp haricinde diğer dokularda bu endojen maddeler artmaktadır.<sup>69, 76, 77, 158</sup> Bu sonuçlar postmortem dönemde ISO toksisitesine bağlı ortaya çıkan kardiyak iskemi ölümlerinde kalp dışında beyin, akciğer, karaciğer, böbrek gibi ET-1 ve UTR'nin bulunduğu diğer dokularda da değişikliklerin gözlenebileceğini akla getirmektedir. Çünkü kardiyak iskemi sonucu diğer birçok doku da etkilenebilir. Bizde ISO toksisitesi sonucu ortaya çıkan kardiyak iskemi sonucu ölen ratlar ile kontrol grubunun postmortem 0 ile 72. saatler arasında beyin ve böbrek dokusundaki ET-1 ve UTR ekspresyon seviye değişimlerini araştırdık.

UT'nin kardiyovasküler sistem regülasyonu ve kan basıncını düzenleme gibi önemli rolü vardır.<sup>159</sup> Genel olarak potent vazokonstriktör etkili olduğu kabul edilmektedir. İntraserebroventriküler verilmesi sonrasında, kalp hızında ve kan basıncında artış göstermektedir.<sup>73</sup> Santral sinir sistemi içinde beyinde birçok lokalizasyonda UT ekspresyonunun gösterilmesi, UT'nin santral olarak kardiyovasküler sistemin kontrolünde rolü olduğunu yönünde değerlendirilmektedir.<sup>72</sup> İskemik ve noniskemik konjestif kalp yetmezliğinde UT plazma seviyesinde yükselme görüldüğü belirtilmektedir.<sup>73, 74, 76, 160</sup> ISO toksisite grubunda, miyokart üzerinde gelişen iskemi ve buna bağlı ortaya çıkan kardiyojenik şok neticesinde ölen ratlarda postmortem 0. saatte plazma UT seviyesinde önemli bir yükselme saptadık. Plazmada UT seviyesinde önemli oranda belirlediğimiz yükselme, organizmanın kardiyojenik şoka bir cevabı olarak değerlendirilebilir. Literatürde UT artışının, rat böbreklerinde vazodilatasyona ve beyinde ise kortikal kan akımında artışa neden olduğu belirtilmektedir.<sup>44-46, 75, 76</sup> Kardiyojenik şokta sempatik sinir sistemin aktivasyonu ile adrenal ve noradrenalin salgınması ve ACTH'nin artması gibi kompensatuar düzenleyici mekanizmalarla

periferel vazokontrüksiyon meydana gelmektedir. Plazma UT seviyesindeki saptadığımız yükselme; muhtemelen kalpte koroner damarlarda ve sistemik dolaşımında vazokonstrüksiyon meydana getirerek kompensatuar mekanizmaları potansiyalize edip kan basıncını yükseltilmeye yönelik olabilir.

Beyin UTR ekspresyon seviyesinde ise postmortem 1. saatten sonra kontrol grubuna göre düşme saptandı. MI'na bağlı gelişen kardiyojenik şok tablosunu kompanse etmek için serum tromboksan A2, serotonin, ET-1 gibi vazokonstrüktör maddelerin konsantrasyonlarının yükselmesi ile gelişen vazokonstrüksiyon, yaşamsal organlara kan akımını sağlamak için dengeleyici bir mekanizma olarak görev yapar.<sup>161</sup> Beyin dokusunda belirlediğimiz UTR ekspresyon seviyesindeki azalma, beyin perfüzyonunu korumaya yönelik olabilir. Birçok vazokonstrüktör madde ile karşı karşıya gelen beyin, böyle bir savunma mekanizması oluşturabilir. Ancak histomorfolojik olarak saptadığımız akut iskemik bulgular bize korunmaya çalışılan beyin perfüzyonunun bu ağır tablo içinde tam kompanse edilemediğini göstermektedir.

Beyin ve beyincik dokusunun histomorfolojik yapısı incelendiğinde, ISO toksisite grubunda beyin dokusunda iskemik değişiklikleri gösteren dark nöron sayısında ve beyincikte dejenere purkinje hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artma belirlendi. Beyin dokusunun iskemiye en duyarlı organlardan biri olması nedeniyle, deney hayvanlarında gelişen kardiyak şok ve buna bağlı debi azalması ile gelişen hipoperfüzyon, beyin dokusunda iskemik değişikliklerin gelişmesinin nedeni olabilir.<sup>162</sup>

Postmortem incelen zaman diliminde beyin dokusunda UTR ekspresyon seviyesinin başlangıç değerine göre kontrol grubunda 6. saatte yükseldiği, ISO toksisite grubunda ise düştüğü belirlendi. Beyin dokusunda UTR ekspresyon seviye değişiklikleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında postmortem tüm saatlerde düşük

olduğu ve en çok düşmenin postmortem 6. saatte olduğu görüldü. Gruplar arasında belirlenen fark istatistiksel olarak incelendiğinde postmortem 1., 3. ve 6. saatlerde anlamlı düşük bulundu. İstatistiksel olarak 12. saatte anlamlı fark olmazken, 24., 48. ve 72. saatlerde de UTR ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre düşük olarak saptandı. Beyin dokusunda UTR ekspresyon seviyesinde 0. saatte kontrol grubuna göre fark olmaması, artan plazma UT seviyelerine cevabın oluşması için geçen zaman diliminin kısa olması nedeniyle, beklenen bir sonuç olarak değerlendirebilir. Ancak postmortem 1. saatten itibaren UTR ekspresyon seviyesinde belirlenen düşme, muhtemelen plazma UT seviyesinin artması sonucu ortaya çıkan reseptör down-regülasyon sonucudur. Ancak postmortem süreç uzadıkça ortaya çıkan otolitik değerişikler, UTR ekspresyon seviyesinde düşmeye önemli katkı yapabilir.

Böbrekler UT'nin en önemli kaynağıdır. Ratlarda UT'nin renal alımıyla 1 saat içinde renal kan akımında, GFH'da, idrar su ve sodyum atılımında artış belirlendi.<sup>44</sup> Vasküler renal disfonksiyonlu hastalarda, kronik böbrek yetmezlikli hastalarda UT'nin yükseldiği belirtilmektedir.<sup>5, 163-165</sup> Bu bulgular, UT'nin memelilerde böbreklerde gramerler filtrasyon hızının regülasyonunda rol oynadığını, böbreklerde vazodilatatör ve natriüretik etkiye sebep olduğunu, böbrek fonksiyonlarını kontrol etme ve kan basıncını regüle etmeye katkısının olduğunu göstermektedir.<sup>66-68</sup>

Böbrek dokusu kontrol ve ISO toksisite grubunda UTR ekspresyon seviyesinde değerişiklikler saptandı. Fakat başlangıç değerine göre hem kontrol grubunda hem de ISO toksisite grubunda UTR ekspresyon seviyesinin 48. saate kadar anlamlı fark gözlenmedi. UTR ekspresyon seviyende 48. saatten sonra fark olsa da, bu otolize bağlı olabilir. Böbrek dokusunda UTR ekspresyon seviye değerişiklikleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; UTR ekspresyon seviyesinin ISO toksisite grubunda, kontrol grubuna göre postmortem 3., 6. ve 72. saatlerde fark istatistiksel olarak anlamlı olacak

şekilde düşük bulundu. Ancak böbrek dokusunda histomorfolojik olarak kontrol grubu ile ISO grubu arasında bir fark saptanmadı. Şok nedeniyle böbrek dokusunun maruz kaldığı strese yanıt olarak beklenen iskemik değişikliklerin görülmemesi, koruyucu mekanizmaların etkisiyle olabilir. Plazma UT seviyesinde ortaya çıkan yükselme, şoka yanıt olarak böbrekleri korumak için kompensatuvar bir mekanizma olabilir. Çünkü kardiyojenik şok sonucu plazma UT'nin yükselmesi ile gelişen renal vazodilatasyon, böbreğin perfüzyonu sağlayarak renal iskemi gelişimini engelleyebilir. Böbreklerde postmortem 0., 1. ve 3. saate kadar UTR ekspresyon seviyesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması, postmortem süreçte böbrekte şok tablosuna cevabın oluşması için geçen zaman diliminin kısalığı ile açıklanabilir. Postmortem 3. saatten sonra böbreklerde UTR ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düşme olması, muhtemelen plazma UT seviyesinin artması sonucu ortaya çıkan reseptör down-regülasyonu olarak düşünülebilir.

Bilindiği gibi akut böbrek fonksiyonlarının ani kaybı BUN ve serum kreatinin miktarının artması ile değerlendirilmektedir. Serum kreatinin başlangıç noktasından 0,5 mg/dL veya daha fazla artışı ya da kreatinin klirens değerinden %50 düşüş akut böbrek yetmezliğinin göstergesidir. RIFLE kriterlerine göre serum kreatinin seviyesinde meydana gelen %50 artış, akut böbrek yetmezliği riskini içermektedir.<sup>166-168</sup> Postmortem 0. saatte plazma BUN değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmezken, plazma kreatinin seviyeleri ISO grubunda yaklaşık 3 kat arttığı saptandı. Plazma kreatinin seviyesinin artması, şok tablosunda böbreklerin yeterince korunamayıp, ancak histopatolojik olarak belirlenemeyen hasarın bir göstergesi de olabilir.

ET'nin kasma gücü canlı türüne ve damar yatağına göre değişmektedir. ET-1, insanda ET-A reseptörleri etkisiyle vazokonstrüksiyon ve kan basıncında yükselme,



bazı hayvan türlerinde ise ET-B reseptörleri aracılığı ile nitrik oksit ve prostasiklin salıvererek vazodilatasyon ve kan basıncında düşmeye neden olabilir.<sup>2 (s.1320)</sup> ET beyinde fizyolojik ve patolojik birçok olayda görev alır. Santral sinir sisteminde serebral kan akımının düzenlenmesinde ve beynin çeşitli bölgelerinde yüksek dozlarda vazokonstriktör etkilerinin ortaya çıkmasında rolü olduğu bilinmektedir.<sup>169</sup> Serebrovasküler hastalıklarda, beyin omurilik sıvısında ET-1 düzeyi artar. Bu artış, serebral iskemik hasarın patogenezinde ET-1'in rolü olduğu şeklinde yorumlanmaktadır.<sup>169-175</sup> Ratlar üzerinde serebral iskemi modeli oluşturularak ET-A ve ET-B reseptör seviyelerinin incelendiği araştırmada serebral iskeminin ilk 24 saatlik erken döneminde ET-A reseptör sayısında artma, takip eden saatlerde normale dönme ve ET-B reseptör sayısında belirgin artma belirlendi. ET-B sayısındaki bu artışın serebral iskeminin tedavisinde ve nörovasküler yapıların tamirinde rolü olabileceği şeklinde değerlendirilmektedir.<sup>176</sup> Postmortem dönemde beyin dokusunda hem kontrol hem de ISO toksisite grubunda ET-1 ekspresyon seviye değişikliklerinin başlangıç değerine göre, tüm saatlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşme gözlemlendi. Beyin dokusunda postmortem dönemde ISO toksisite ve kontrol grubu ET-1 ekspresyon seviye değişikliklerini karşılaştırdığımızda ise ET-1 ekspresyon seviyesinin ISO toksisite grubunda 1. saatten itibaren bir yükselme eğilimine girdiğini, bu yükselmenin başlangıç seviyesinden daha az düzeylerde postmortem 48. saate kadar seyrettiğini belirlendi. ISO toksisite grubu ile kontrol grubu arasında ET-1 ekspresyon seviyeleri arasında 3. saate kadar istatistiksel fark saptanmadı. İncelenen diğer saatlerde (6, 12 ve 24) ET-1 seviyelerinde bir yükselme saptandı. ET-1 seviyesi, 48. saatte kontrol grubuna göre yüksek olsa da anlamlı fark bulunmadı. Bu sonuçlar literatür bilgileri ile uyumludur.<sup>177</sup> Başlangıçta ET-1 seviye belirlenen artış ET-A reseptör

aracılığıyla iskemiye tetiklerken, iskeminin ilerleyen saatlerinde ise ET-B reseptörleri aracılığıyla iskeminin önlenmesine yönelik bir mekanizma olarak değerlendirilebilir.

ET-1, ET-A reseptörleri aracılığıyla böbreklerde glomerül mezangiyal hücrelerde, afferent ve efferent arteriyollerde kasıcı etkiyle glomerül filtrasyon hızında azalmaya, su ve tuz retansiyonuna neden olmaktadır.<sup>2</sup> (s. 1320) ET-B reseptörleri aracılığıyla ise böbrekte tubulus ve toplayıcı kanal hücrelerinde diürez ve natriürece neden olur.<sup>110-112</sup> Hipoksi, dehidratasyon, endotoksin ve baroreseptör aktivasyonu ile ET-1'in sekresyonu uyarılır. Plazma ET seviyeleri MI, koroner spazm, kardiyojenik şok, kalp yetmezliği, deneysel kalp yetmezliği modelleri gibi bir çok hastalıkta artmaktadır.<sup>99, 102, 118-124, 134</sup> İskeminin, plazma endotel seviyesindeki yükselmeyi tetiklediği belirtilmektedir.<sup>101, 102</sup> Ratlar üzerinde konjestif kalp yetmezliği modelinde ET-1'in renal dokudaki seviyelerinde yükselme, proksimal tübüler nekroz ve renal difüzyon bozukluğu gelişmektedir.<sup>136</sup> Kronik böbrek yetmezliği veya renal transplantasyonlu hastalarda ET-1'in plazma düzeyi artmaktadır.<sup>178</sup> Böbrek dokusunda postmortem dönemde ET-1 ekspresyon seviyesinin kontrol grubunda başlangıç seviyesine göre önce düştüğü, 48 saatten sonra ise yükseldiği belirlendi. ISO toksisite grubunda ET-1 ekspresyon seviye değişikliklerinin başlangıç değerine göre postmortem tüm saatlerde istatistiksel anlamlı düzeyde düştüğü görüldü. Böbrek dokusunda postmortem dönemde ISO toksisite ve kontrol grubu ET-1 ekspresyon seviye değişiklikleri karşılaştırıldığında; 0. saat hariç, kontrol grubu ET-1 ekspresyon seviyesinin sürekli yüksek seyrettiği belirlendi. Böbrek damar yatağı endoteline diğer damar yataklarına göre daha hassastır. Kardiyak şok tablosuna yanıt olarak postmortem süreç içinde böbrek dokusunda ET-1 seviyesinde azalma olması, muhtemelen ortaya çıkan iskemik değişikliklerden böbrek dokusunun korunmasına yönelik kompensatuvar

bir mekanizmanın sonucu olabilir. Çünkü ET-1 seviyesinde artma olsaydı, bu renal vazokonstriksiyona ve böbreklerde iskeminin daha da derinleşmesine neden olabilirdi.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ratlarda ISO ile oluşturulan ve miyokart üzerinde gelişen iskemi sonucu kardiyojenik şoka bağlı ölümlerde böbrek ve beyin dokusunda UTR ekspresyon ve ET-1 seviyesi, plazma UT, BUN ve kreatinin düzeyleri, histopatolojik olarak beyin ve böbrek dokuları incelendi. Sonuç olarak;

1. Kardiyojenik şok sonrası plazma UT seviyesinde artma saptandı. Bu artış beyin, böbrek ve kalp gibi hayati organlarda azalan doku perfüzyonunu artırmaya yönelik kompensatuvar bir mekanizma olabileceğini düşündürmektedir.
2. Plazma BUN düzeyinde değişiklik olmamakla birlikte, kreatinin düzeyinde kontrol grubuna göre ortalama üç kat artış belirlendi. Bu sonuç böbreklerin akut olarak strese maruz kaldığının bir göstergesi olarak değerlendirildi.
3. Histopatolojik olarak beyin ve beyincik dokularında iskemik değişiklikler olması, kardiyojenik şokta beyin dokusunun iskemiye en hassas olmasının bir sonucudur.
4. Histopatolojik olarak böbrek dokusunda bir değişiklik saptanmaması böbrek dokusunda iskemik değişikliklerin ortaya çıkması için yeterli sürenin olmamasıyla veya artan plazma UT seviyesinin böbrek kan akımını artırarak böbrek dokusunu iskemiye karşı koruması ile açıklanabilir.
5. ISO toksisite grubunda beyinde UTR ekspresyon seviyesinde postmortem 1. saatten itibaren düşme, böbreklerde UTR ekspresyon seviyesinde postmortem 3. saatten sonra düşme, beyinde ET-1 seviyesinde postmortem 48. saate kadar devam eden artma ve böbrekte ET-1 seviyesinde postmortem 0. saatten itibaren düşme belirlendi. Bu bulgular, postmortem incelemelerin yapıldığı adli tıp alanında klinik uygulamalar açısından değerli olabilir. Akut MI'dan çok kısa bir süre sonra ölüm geliştiğinde akut MI'nın postmortem tanısı oldukça güç hale gelmektedir.<sup>179</sup> Kardiyak iskemi kaynaklı ani ölümlerde postmortem süreçte kalp dokusunda UTR

ekspresyon seviyesinin artması, incelediğimiz kalp dışı organlarda (beyin ve böbrekte) UTR ekspresyon seviyesinin düşmesi iskemik kalp hastalığına bağlı ani ölümlerin tanısına katkı sağlayabilir ve UTR ekspresyon seviyesi, akut MI'a bağlı ani ölümlerin postmortem tansında belirleyici bir kriter olabilir.

6. Beyin ve böbrek dokusunda UTR ekspresyon ve ET-1 seviyelerinde belirlenen değişiklikler, bunların agonist veya antagonistleri ile beyin ve böbrekte iskemik değişiklikleri önlemeye yönelik araştırmalar yapılmasına katkı sağlayabilir.



## KAYNAKLAR

1. Kahn DS, Rona G, Chappel CI. Isoproterenol-induced cardiac necrosis. *Ann N Y Acad Sci*, 1969, 156: 285-93.
2. Kayaalp O. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 35. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2012.
3. Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, Loudon CS, Foley JJ, Sauermelch CF, Coatney RW, Ao Z, Disa J, Holmes SD, Stadel JM, Martin JD, Liu WS, Glover GI, Wilson S, McNulty DE, Ellis CE, Elshourbagy NA, Shabon U, Trill JJ, Hay DW, Ohlstein EH, Bergsma DJ, Douglas SA. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature*, 1999, 401: 282-6.
4. McDonald J, Batuwangala M, Lambert DG. Role of urotensin II and its receptor in health and disease. *J Anesth*, 2007, 21: 378-89.
5. Ong KL, Lam KS, Cheung BM. Urotensin II: its function in health and its role in disease. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2005, 19: 65-75.
6. Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010, 298: R1156-72.
7. Zhang YG, Li J, Li YG, Wei RH. Urotensin II induces phenotypic differentiation, migration, and collagen synthesis of adventitial fibroblasts from rat aorta. *J Hypertens*, 2008, 26: 1119-26.
8. Zhu BL, Ishikawa T, Michiue T, Li DR, Zhao D, Bessho Y, Kamikodai Y, Tsuda K, Okazaki S, Maeda H. Postmortem cardiac troponin I and creatine kinase MB levels in the blood and pericardial fluid as markers of myocardial damage in medicolegal autopsy. *Leg Med (Tokyo)*, 2007, 9: 241-50.

9. Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, Halawa N, Giaid A. Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II. *Lancet*, 2002, 359: 1990-7.
10. Tzanidis A, Hannan RD, Thomas WG, Onan D, Autelitano DJ, See F, Kelly DJ, Gilbert RE, Krum H. Direct actions of urotensin II on the heart: implications for cardiac fibrosis and hypertrophy. *Circ Res*, 2003, 93: 246-53.
11. Pakala R. Role of urotensin II in atherosclerotic cardiovascular diseases. *Cardiovasc Revasc Med*, 2008, 9: 166-78.
12. Sener MT, Karakus E, Halici Z, Akpınar E, Topcu A, Kok AN. Can early myocardial infarction-related deaths be diagnosed using postmortem urotensin receptor expression levels? *Forensic Sci Med Pathol*, 2014, 10: 395-400.
13. Altıntaş N, İstik A. Vazoaktif ve inotropik ilaçların doğru kullanımı. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2006, 6: 179-190.
14. Stirrat A, Gallagher M, Douglas SA, Ohlstein EH, Berry C, Kirk A, Richardson M, MacLean MR. Potent vasodilator responses to human urotensin-II in human pulmonary and abdominal resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280: H925-8.
15. Hoffman BB. Catecholamines sd, and adrenergic receptor antagonists. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG (eds). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Thearapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill, 2001:215-68.
16. Wexler BC. Myocardial infarction in young vs old male rats: pathophysiologic changes. *Am Heart J*, 1978, 96: 70-80.
17. Wexler BC, Greenberg BP. Protective effects of clofibrate on isoproterenol-induced myocardial infarction in arteriosclerotic and non-arteriosclerotic rats. *Atherosclerosis*, 1978, 29: 373-95.

18. Knufman NM, van der Laarse A, Vliegen HW, Brinkman CJ. Quantification of myocardial necrosis and cardiac hypertrophy in isoproterenol-treated rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 1987, 57: 15-32.
19. Rona G, Chappel CI, Balazs T, Gaudry R. An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat. *AMA Arch Pathol*, 1959, 67: 443-55.
20. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Cho K, Weber KT, Clark WA. Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res*, 1989, 65: 657-70.
21. Davies MJ. The investigation of sudden cardiac death. *Histopathology*, 34: 93-98.
22. Stelzner TJ, Welsh CH, Berger E, McCullough RG, Morris K, Repine JE, Weil JV. Antiarrhythmic agents diminish thiourea-induced pulmonary vascular protein leak in rats. *J Appl Physiol (1985)*, 1987, 63: 1877-83.
23. Janke J, Fleckenstein A, Doring HJ, Leder O. [Key-role of intracellular calcium overload in acute necrosis of the myocardium. Cardioprotection with verapamil]. *Minerva Med*, 1975, 66: 1846-58.
24. Hoffstein S, Gennaro DE, Weissmann G, Hirsch J, Streuli F, Fox AC. Cytochemical localization of lysosomal enzyme activity in normal and ischemic dog myocardium. *Am J Pathol*, 1975, 79: 193-206.
25. Ravichandran LV, Puvanakrishnan R, Joseph KT. Influence of isoproterenol-induced myocardial infarction on certain glycohydrolases and cathepsins in rats. *Biochem Med Metab Biol*, 1991, 45: 6-15.
26. Lalitha G, Poornima P, Archanah A, Padma VV. Protective effect of neferine against isoproterenol-induced cardiac toxicity. *Cardiovasc Toxicol*, 2013, 13: 168-79.



27. Upaganlawar A, Gandhi C, Balaraman R. Effect of green tea and vitamin E combination in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Plant Foods Hum Nutr*, 2009, 64: 75-80.
28. Ljubuncic P, Mujic F, Winterhalter M, Hukovic N, Vidovic Z, Duricic S. Isoproterenol toxicity in the myocardium in an experiment. *Arh Hig Rada Toksikol*, 1992, 43: 11-20.
29. Sathish V, Ebenezar KK, Devaki T. Synergistic effect of nicorandil and amlodipine on lysosomal hydrolases during experimental myocardial infarction in rats. *Biomed Pharmacother*, 2003, 57: 309-13.
30. Acikel M, Buyukokuroglu ME, Erdogan F, Aksoy H, Bozkurt E, Senocak H. Protective effects of dantrolene against myocardial injury induced by isoproterenol in rats: biochemical and histological findings. *Int J Cardiol*, 2005, 98: 389-94.
31. Onan D, Hannan RD, Thomas WG. Urotensin II: the old kid in town. *Trends Endocrinol Metab*, 2004, 15: 175-82.
32. Langham RG, Kelly DJ, Gow RM, Zhang Y, Dowling JK, Thomson NM, Gilbert RE. Increased expression of urotensin II and urotensin II receptor in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis*, 2004, 44: 826-31.
33. Vaudry H, Do Rego JC, Le Mevel JC, Chatenet D, Tostivint H, Fournier A, Tonon MC, Pelletier G, Conlon JM, Leprince J. Urotensin II, from fish to human. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1200: 53-66.
34. Jegou S, Cartier D, Dubessy C, Gonzalez BJ, Chatenet D, Tostivint H, Scalbert E, LePrince J, Vaudry H, Lihmann I. Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 2006, 495: 21-36.

35. Clozel M, Binkert C, Birker-Robaczewska M, Boukhadra C, Ding SS, Fischli W, Hess P, Mathys B, Morrison K, Muller C, Muller C, Nayler O, Qiu C, Rey M, Scherz MW, Velker J, Weller T, Xi JF, Ziltener P. Pharmacology of the urotensin-II receptor antagonist palosuran (ACT-058362; 1-[2-(4-benzyl-4-hydroxy-piperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-urea sulfate salt): first demonstration of a pathophysiological role of the urotensin System. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 311: 204-12.
36. Protopopov A, Kashuba V, Podowski R, Gizatullin R, Sonnhammer E, Wahlestedt C, Zabarovsky ER. Assignment of the GPR14 gene coding for the G-protein-coupled receptor 14 to human chromosome 17q25.3 by fluorescent in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, 88: 312-3.
37. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Ito S, Murakami O. Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)*, 2003, 104: 1-5.
38. Bousette N, Patel L, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Increased expression of urotensin II and its cognate receptor GPR14 in atherosclerotic lesions of the human aorta. *Atherosclerosis*, 2004, 176: 117-23.
39. Russell FD, Molenaar P, O'Brien DM. Cardiostimulant effects of urotensin-II in human heart in vitro. *Br J Pharmacol*, 2001, 132: 5-9.
40. Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Orphan-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol*, 2000, 131: 441-6.
41. Maguire JJ, Kuc RE, Wiley KE, Klein MJ, Davenport AP. Cellular distribution of immunoreactive urotensin-II in human tissues with evidence of increased

- expression in atherosclerosis and a greater constrictor response of small compared to large coronary arteries. *Peptides*, 2004, 25: 1767-74.
42. Bottrill FE, Douglas SA, Hiley CR, White R. Human urotensin-II is an endothelium-dependent vasodilator in rat small arteries. *Br J Pharmacol*, 2000, 130: 1865-70.
  43. Gray GA, Jones MR, Sharif I. Human urotensin II increases coronary perfusion pressure in the isolated rat heart: potentiation by nitric oxide synthase and cyclooxygenase inhibition. *Life Sci*, 2001, 69: 175-80.
  44. Zhang AY, Chen YF, Zhang DX, Yi FX, Qi J, Andrade-Gordon P, de Garavilla L, Li PL, Zou AP. Urotensin II is a nitric oxide-dependent vasodilator and natriuretic peptide in the rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 285: F792-8.
  45. Gardiner SM, March JE, Kemp PA, Bennett T. Bolus injection of human UII in conscious rats evokes a biphasic haemodynamic response. *Br J Pharmacol*, 2004, 143: 422-30.
  46. Gardiner SM, March JE, Kemp PA, Davenport AP, Bennett T. Depressor and regionally-selective vasodilator effects of human and rat urotensin II in conscious rats. *Br J Pharmacol*, 2001, 132: 1625-9.
  47. Hillier C, Berry C, Petrie MC, O'Dwyer PJ, Hamilton C, Brown A, McMurray J. Effects of urotensin II in human arteries and veins of varying caliber. *Circulation*, 2001, 103: 1378-81.
  48. Sondermeijer B, Kompa A, Komesaroff P, Krum H. Effect of exogenous urotensin-II on vascular tone in skin microcirculation of patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*, 2005, 18: 1195-9.
  49. Maguire JJ, Davenport AP. Is urotensin-II the new endothelin? *Br J Pharmacol*, 2002, 137: 579-88.

50. Luscher TF. Endothelium-derived nitric oxide: the endogenous nitrovasodilator in the human cardiovascular system. *Eur Heart J*, 1991, 12 Suppl E: 2-11.
51. Moncada S, Higgs EA. Nitric oxide and the vascular endothelium. *Handb Exp Pharmacol*, 2006: 213-54.
52. Zhu YC, Zhu YZ, Moore PK. The role of urotensin II in cardiovascular and renal physiology and diseases. *Br J Pharmacol*, 2006, 148: 884-901.
53. Nakayama T, Hirose T, Totsune K, Mori N, Maruyama Y, Maejima T, Minagawa K, Morimoto R, Asayama K, Kikuya M, Ohkubo T, Hashimoto J, Kohzuki M, Takahashi K, Imai Y. Increased gene expression of urotensin II-related peptide in the hearts of rats with congestive heart failure. *Peptides*, 2008, 29: 801-8.
54. Ng LL, Loke I, O'Brien RJ, Squire IB, Davies JE. Plasma urotensin in human systolic heart failure. *Circulation*, 2002, 106: 2877-80.
55. Richards AM, Nicholls MG, Lainchbury JG, Fisher S, Yandle TG. Plasma urotensin II in heart failure. *Lancet*, 2002, 360: 545-6.
56. Russell FD, Meyers D, Galbraith AJ, Bett N, Toth I, Kearns P, Molenaar P. Elevated plasma levels of human urotensin-II immunoreactivity in congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285: H1576-81.
57. Katano Y, Ishihata A, Aita T, Ogaki T, Horie T. Vasodilator effect of urotensin II, one of the most potent vasoconstricting factors, on rat coronary arteries. *Eur J Pharmacol*, 2000, 402: R5-7.
58. Joyal D, Huynh T, Aiyar N, Guida B, Douglas S, Giaid A. Urotensin-II levels in acute coronary syndromes. *Int J Cardiol*, 2006, 108: 31-5.
59. Khan SQ, Bhandari SS, Quinn P, Davies JE, Ng LL. Urotensin II is raised in acute myocardial infarction and low levels predict risk of adverse clinical outcome in humans. *Int J Cardiol*, 2007, 117: 323-8.

60. Russell FD, Molenaar P. Investigation of signaling pathways that mediate the inotropic effect of urotensin-II in human heart. *Cardiovasc Res*, 2004, 63: 673-81.
61. Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N, Hirata Y. Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens*, 2001, 19: 2185-90.
62. Li L, Yuan WJ, Su DF. Effects of rat urotensin II on coronary flow and myocardial eNOS protein expression in isolated rat heart. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25: 1444-9.
63. Gao S, Oh YB, Park BM, Park WH, Kim SH. Urotensin II protects ischemic reperfusion injury of hearts through ROS and antioxidant pathway. *Peptides*, 2012, 36: 199-205.
64. Lim M, Honisett S, Sparkes CD, Komesaroff P, Kompa A, Krum H. Differential effect of urotensin II on vascular tone in normal subjects and patients with chronic heart failure. *Circulation*, 2004, 109: 1212-4.
65. Shenouda A, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. *J Histochem Cytochem*, 2002, 50: 885-9.
66. Abdel-Razik AE, Balment RJ, Ashton N. Enhanced renal sensitivity of the spontaneously hypertensive rat to urotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295: F1239-47.
67. Debiec R, Christofidou P, Denniff M, Bloomer LD, Bogdanski P, Wojnar L, Musialik K, Charchar FJ, Thompson JR, Waterworth D, Song K, Vollenweider P, Waeber G, Zukowska-Szczechowska E, Samani NJ, Lambert D, Tomaszewski M. Urotensin-II system in genetic control of blood pressure and renal function. *PLoS One*, 2013, 8: e83137.

68. Forty EJ, Ashton N. Ontogeny of the renal urotensin II system in the rat. *Exp Physiol*, 2012, 97: 785-95.
69. Zoccali C, Mallamaci F. Urotensin II: a cardiovascular and renal update. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2008, 17: 199-204.
70. Takahashi K, Jones PM, Kanse SM, Lam HC, Spokes RA, Ghatei MA, Bloom SR. Endothelin in the gastrointestinal tract. Presence of endothelinlike immunoreactivity, endothelin-1 messenger RNA, endothelin receptors, and pharmacological effect. *Gastroenterology*, 1990, 99: 1660-7.
71. Vaudry H, Leprince J, Chatenet D, Fournier A, Lambert DG, Le Mevel JC, Ohlstein EH, Schwertani A, Tostivint H, Vaudry D. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCII. Urotensin II, urotensin II-related peptide, and their receptor: from structure to function. *Pharmacol Rev*, 2015, 67: 214-58.
72. Hunt BD, Ng LL, Lambert DG. A rat brain atlas of urotensin-II receptor expression and a review of central urotensin-II effects. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2010, 382: 1-31.
73. Watson AM, McKinley MJ, May CN. Effect of central urotensin II on heart rate, blood pressure and brain Fos immunoreactivity in conscious rats. *Neuroscience*, 2008, 155: 241-9.
74. Lin Y, Tsuchihashi T, Matsumura K, Fukuhara M, Ohya Y, Fujii K, Iida M. Central cardiovascular action of urotensin II in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 2003, 26: 839-45.
75. Huitron-Resendiz S, Kristensen MP, Sanchez-Alavez M, Clark SD, Grupke SL, Tyler C, Suzuki C, Nothacker HP, Civelli O, Criado JR, Henriksen SJ, Leonard CS, de Lecea L. Urotensin II modulates rapid eye movement sleep through activation of brainstem cholinergic neurons. *J Neurosci*, 2005, 25: 5465-74.

76. Chuquet J, Lecrux C, Chatenet D, Leprince J, Chazalviel L, Roussel S, MacKenzie ET, Vaudry H, Touzani O. Effects of urotensin-II on cerebral blood flow and ischemia in anesthetized rats. *Exp Neurol*, 2008, 210: 577-84.
77. Davenport AP, Hyndman KA, Dhaun N, Southan C, Kohan DE, Pollock JS, Pollock DM, Webb DJ, Maguire JJ. Endothelin. *Pharmacol Rev*, 2016, 68: 357-418.
78. Nova A, Sibai BM, Barton JR, Mercer BM, Mitchell MD. Maternal plasma level of endothelin is increased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 1991, 165: 724-7.
79. Yasuda M, Kohno M, Tahara A, Itagane H, Toda I, Akioka K, Teragaki M, Oku H, Takeuchi K, Takeda T. Circulating immunoreactive endothelin in ischemic heart disease. *Am Heart J*, 1990, 119: 801-6.
80. Gray GA, Mickley EJ, Webb DJ, McEwan PE. Localization and function of ET-1 and ET receptors in small arteries post-myocardial infarction: upregulation of smooth muscle ET(B) receptors that modulate contraction. *Br J Pharmacol*, 2000, 130: 1735-44.
81. Ehrenreich H, Burd PR, Rottem M, Hultner L, Hylton JB, Garfield M, Coligan JE, Metcalfe DD, Fauci AS. Endothelins belong to the assortment of mast cell-derived and mast cell-bound cytokines. *New Biol*, 1992, 4: 147-56.
82. Endo T, Uchida Y, Matsumoto H, Suzuki N, Nomura A, Hirata F, Hasegawa S. Regulation of endothelin-1 synthesis in cultured guinea pig airway epithelial cells by various cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 186: 1594-9.
83. Giaid A, Gibson SJ, Ibrahim BN, Legon S, Bloom SR, Yanagisawa M, Masaki T, Vardell IM, Polak JM. Endothelin 1, an endothelium-derived peptide, is

- expressed in neurons of the human spinal cord and dorsal root ganglia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86: 7634-8.
84. Suzuki T, Kumazaki T, Mitsui Y. Endothelin-1 is produced and secreted by neonatal rat cardiac myocytes in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 191: 823-30.
  85. Naidoo V, Naidoo S, Mahabeer R, Raidoo DM. Cellular distribution of the endothelin system in the human brain. *J Chem Neuroanat*, 2004, 27: 87-98.
  86. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med*, 1995, 333: 356-63.
  87. Ito H, Hirata Y, Hiroe M, Tsujino M, Adachi S, Takamoto T, Nitta M, Taniguchi K, Marumo F. Endothelin-1 induces hypertrophy with enhanced expression of muscle-specific genes in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circ Res*, 1991, 69: 209-15.
  88. Masaki T. Endothelins: homeostatic and compensatory actions in the circulatory and endocrine systems. *Endocr Rev*, 1993, 14: 256-68.
  89. Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell*, 1994, 78: 473-85.
  90. Simonson MS, Dunn MJ. Cellular signaling by peptides of the endothelin gene family. *FASEB J*, 1990, 4: 2989-3000.
  91. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature*, 1990, 348: 730-2.
  92. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*, 1990, 348: 732-5.



93. Barton M, Yanagisawa M. Endothelin: 20 years from discovery to therapy. *Can J Physiol Pharmacol*, 2008, 86: 485-98.
94. Pierce KL, Premont RT, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3: 639-50.
95. Hosoda K, Nakao K, Hiroshi A, Suga S, Ogawa Y, Mukoyama M, Shirakami G, Saito Y, Nakanishi S, Imura H. Cloning and expression of human endothelin-1 receptor cDNA. *FEBS Lett*, 1991, 287: 23-6.
96. Lin HY, Kaji EH, Winkel GK, Ives HE, Lodish HF. Cloning and functional expression of a vascular smooth muscle endothelin 1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991, 88: 3185-9.
97. Ogawa Y, Nakao K, Arai H, Nakagawa O, Hosoda K, Suga S, Nakanishi S, Imura H. Molecular cloning of a non-isopeptide-selective human endothelin receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 178: 248-55.
98. Warner TD, Allcock GH, Mickley EJ, Corder R, Vane JR. Comparative studies with the endothelin receptor antagonists BQ-123 and PD 142893 indicate at least three endothelin receptors. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1993, 22 Suppl 8: S117-20.
99. Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev*, 1994, 46: 325-415.
100. Ohkubo S, Ogi K, Hosoya M, Matsumoto H, Suzuki N, Kimura C, Ondo H, Fujino M. Specific expression of human endothelin-2 (ET-2) gene in a renal adenocarcinoma cell line. Molecular cloning of cDNA encoding the precursor of ET-2 and its characterization. *FEBS Lett*, 1990, 274: 136-40.
101. Sagnella GA. Measurement and significance of circulating natriuretic peptides in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*, 1998, 95: 519-29.

102. Trevisani F, Colantoni A, Gerbes AL, Gulberg V, Sica G, Caraceni P, De Notariis S, Morselli-Labate AM, Ligabue A, Gasbarrini G, Bernardi M. Daily profile of plasma endothelin-1 and -3 in pre-ascitic cirrhosis: relationships with the arterial pressure and renal function. *J Hepatol*, 1997, 26: 808-15.
103. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, 332: 411-5.
104. Emori T, Hirata Y, Ohta K, Kanno K, Eguchi S, Imai T, Shichiri M, Marumo F. Cellular mechanism of endothelin-1 release by angiotensin and vasopressin. *Hypertension*, 1991, 18: 165-70.
105. Wanecek M, Weitzberg E, Rudehill A, Oldner A. The endothelin system in septic and endotoxin shock. *Eur J Pharmacol*, 2000, 407: 1-15.
106. Gandhi CR, Berkowitz DE, Watkins WD. Endothelins. Biochemistry and pathophysiologic actions. *Anesthesiology*, 1994, 80: 892-905.
107. Hao L, Wang XG, Cheng JD, You SZ, Ma SH, Zhong X, Quan L, Luo B. The up-regulation of endothelin-1 and down-regulation of miRNA-125a-5p, -155, and -199a/b-3p in human atherosclerotic coronary artery. *Cardiovasc Pathol*, 2014, 23: 217-23.
108. Giaid A, Gibson SJ, Herrero MT, Gentleman S, Legon S, Yanagisawa M, Masaki T, Ibrahim NB, Roberts GW, Rossi ML, Polak JM. Topographical localisation of endothelin mRNA and peptide immunoreactivity in neurones of the human brain. *Histochemistry*, 1991, 95: 303-14.
109. Battistini B, Forget MA, Laight D. Potential roles for endothelins in systemic inflammatory response syndrome with a particular relationship to cytokines. *Shock*, 1996, 5: 167-83.

110. Battistini B, Chailier P, D'Orleans-Juste P, Briere N, Sirois P. Growth regulatory properties of endothelins. *Peptides*, 1993, 14: 385-99.
111. Sugiura M, Inagami T, Kon V. Endotoxin stimulates endothelin-release in vivo and in vitro as determined by radioimmunoassay. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 161: 1220-7.
112. Kuchan MJ, Frangos JA. Shear stress regulates endothelin-1 release via protein kinase C and cGMP in cultured endothelial cells. *Am J Physiol*, 1993, 264: H150-6.
113. Setsuta K, Seino Y, Tomita Y, Nejima J, Takano T, Hayakawa H. Origin and pathophysiological role of increased plasma endothelin-1 in patients with acute myocardial infarction. *Angiology*, 1995, 46: 557-65.
114. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Ann Intern Med*, 1991, 114: 464-9.
115. Tamirisa P, Frishman WH, Kumar A. Endothelin and endothelin antagonism: roles in cardiovascular health and disease. *Am Heart J*, 1995, 130: 601-10.
116. Yamashita J, Ogawa M, Nomura K, Matsuo S, Inada K, Yamashita S, Nakashima Y, Saishoji T, Takano S, Fujita S. Interleukin 6 stimulates the production of immunoreactive endothelin 1 in human breast cancer cells. *Cancer Res*, 1993, 53: 464-7.
117. Motte S, McEntee K, Naeije R. Endothelin receptor antagonists. *Pharmacol Ther*, 2006, 110: 386-414.
118. Wieczorek I, Haynes WG, Webb DJ, Ludlam CA, Fox KA. Raised plasma endothelin in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction: relation to cardiovascular outcome. *Br Heart J*, 1994, 72: 436-41.

119. Pousset F, Isnard R, Lechat P, Kalotka H, Carayon A, Maistre G, Escolano S, Thomas D, Komajda M. Prognostic value of plasma endothelin-1 in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J*, 1997, 18: 254-8.
120. Cody RJ. The potential role of endothelin as a vasoconstrictor substance in congestive heart failure. *Eur Heart J*, 1992, 13: 1573-8.
121. McMurray JJ, Ray SG, Abdullah I, Dargie HJ, Morton JJ. Plasma endothelin in chronic heart failure. *Circulation*, 1992, 85: 1374-9.
122. Iwanaga Y, Kihara Y, Hasegawa K, Inagaki K, Yoneda T, Kaburagi S, Araki M, Sasayama S. Cardiac endothelin-1 plays a critical role in the functional deterioration of left ventricles during the transition from compensatory hypertrophy to congestive heart failure in salt-sensitive hypertensive rats. *Circulation*, 1998, 98: 2065-73.
123. Kobayashi T, Miyauchi T, Sakai S, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Expression of endothelin-1, ETA and ETB receptors, and ECE and distribution of endothelin-1 in failing rat heart. *Am J Physiol*, 1999, 276: H1197-206.
124. Luchner A, Jougasaki M, Friedrich E, Borgeson DD, Stevens TL, Redfield MM, Riegger GA, Burnett JC, Jr. Activation of cardiorenal and pulmonary tissue endothelin-1 in experimental heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 279: R974-9.
125. Zolk O, Quatteck J, Seeland U, El-Armouche A, Eschenhagen T, Bohm M. Activation of the cardiac endothelin system in left ventricular hypertrophy before onset of heart failure in TG(mREN2)27 rats. *Cardiovasc Res*, 2002, 53: 363-71.
126. Sakai S, Miyauchi T, Sakurai T, Kasuya Y, Ihara M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Endogenous endothelin-1 participates in the maintenance of cardiac

- function in rats with congestive heart failure. Marked increase in endothelin-1 production in the failing heart. *Circulation*, 1996, 93: 1214-22.
127. Saito Y, Nakao K, Mukoyama M, Imura H. Increased plasma endothelin level in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*, 1990, 322: 205.
128. Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, Saito Y, Matsumura M, Ueda T, Temma S, Shirakami G, Imura H, Mikawa H. Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects. Evidence for increased production of endothelin in pulmonary circulation. *Circulation*, 1991, 84: 2280-5.
129. Tomoda H. Plasma endothelin-1 in acute myocardial infarction with heart failure. *Am Heart J*, 1993, 125: 667-72.
130. Cernacek P, Stewart DJ. Immunoreactive endothelin in human plasma: marked elevations in patients in cardiogenic shock. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 161: 562-7.
131. Güden DS, Tunçtan B. The role of endothelin-1 in the pathogenesis of diabetes. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 2014, 4: 158-167.
132. Love MP, McMurray JJ. Endothelin in chronic heart failure: current position and future prospects. *Cardiovasc Res*, 1996, 31: 665-74.
133. Wei CM, Lerman A, Rodeheffer RJ, McGregor CG, Brandt RR, Wright S, Heublein DM, Kao PC, Edwards WD, Burnett JC, Jr. Endothelin in human congestive heart failure. *Circulation*, 1994, 89: 1580-6.
134. Vojacek J, Lisy O, Simek S, Kmonicek P, Rohac J, Jachymova M, Jindra A, Jr. Local changes in the plasma endothelin level in the coronary artery immediately after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Cardiology*, 1997, 88: 1-5.

135. Omland T, Lie RT, Aakvaag A, Aarsland T, Dickstein K. Plasma endothelin determination as a prognostic indicator of 1-year mortality after acute myocardial infarction. *Circulation*, 1994, 89: 1573-9.
136. Shibouta Y, Suzuki N, Shino A, Matsumoto H, Terashita Z, Kondo K, Nishikawa K. Pathophysiological role of endothelin in acute renal failure. *Life Sci*, 1990, 46: 1611-8.
137. Gurbanov K, Rubinstein I, Hoffman A, Abassi Z, Better OS, Winaver J. Bosentan improves renal regional blood flow in rats with experimental congestive heart failure. *Eur J Pharmacol*, 1996, 310: 193-6.
138. Modesti PA, Cecioni I, Costoli A, Poggesi L, Galanti G, Serneri GG. Renal endothelin in heart failure and its relation to sodium excretion. *Am Heart J*, 2000, 140: 617-22.
139. Francis BN, Abassi Z, Heyman S, Winaver J, Hoffman A. Differential regulation of ET(A) and ET(B) in the renal tissue of rats with compensated and decompensated heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 44 Suppl 1: S362-5.
140. Friedrich EB, Muders F, Luchner A, Dietl O, Riegger GA, Elsner D. Contribution of the endothelin system to the renal hypoperfusion associated with experimental congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1999, 34: 612-7.
141. Ramesh CV, Malarvannan P, Jayakumar R, Jayasundar S, Puvanakrishnan R. Effect of a novel tetrapeptide derivative in a model of isoproterenol induced myocardial necrosis. *Mol Cell Biochem*, 1998, 187: 173-82.
142. Chappel CI, Rona G, Balazs T, Gaudry R. Severe myocardial necrosis produced by isoproterenol in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1959, 122: 123-8.

143. Sharma M, Kishore K, Gupta SK, Joshi S, Arya DS. Cardioprotective potential of ocimum sanctum in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem*, 2001, 225: 75-83.
144. Kralova E, Mokran T, Murin J, Stankovicova T. Electrocardiography in two models of isoproterenol-induced left ventricular remodeling. *Physiol Res*, 2008, 57 Suppl 2: S83-9.
145. Ojha S, Goyal S, Sharma C, Arora S, Kumari S, Arya DS. Cardioprotective effect of lycopene against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Hum Exp Toxicol*, 2013, 32: 492-503.
146. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>(-Delta Delta C(T))</sup> Method. *Methods*, 2001, 25: 402-8.
147. Dias LS, Schell DN, Burcher E. Binding characteristics of endothelin ET(A) receptors in normal and post-mortem rat lung. *Peptides*, 2000, 21: 861-9.
148. Dias LS, Schell DN, Burcher E. Effect of post-mortem delay on density of tachykinin receptors in rat peripheral tissues. *Peptides*, 1998, 19: 1359-64.
149. Cash R, Raisman R, Cervera P, Javoy-Agid F, Agid Y. Pitfalls in membrane binding sites studies in post-mortem human brain. *J Recept Res*, 1987, 7: 527-54.
150. Catts VS, Catts SV, Fernandez HR, Taylor JM, Coulson EJ, Lutze-Mann LH. A microarray study of post-mortem mRNA degradation in mouse brain tissue. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005, 138: 164-77.
151. Morrison MR, Griffin WS. The isolation and in vitro translation of undegraded messenger RNAs from human postmortem brain. *Anal Biochem*, 1981, 113: 318-24.

152. Noguchi I, Arai H, Iizuka R. A study on postmortem stability of vasopressin messenger RNA in rat brain compared with those in total RNA and ribosomal RNA. *J Neural Transm Gen Sect*, 1991, 83: 171-8.
153. Johnson SA, Morgan DG, Finch CE. Extensive postmortem stability of RNA from rat and human brain. *J Neurosci Res*, 1986, 16: 267-80.
154. Stan AD, Ghose S, Gao XM, Roberts RC, Lewis-Amezcuca K, Hatanpaa KJ, Tamminga CA. Human postmortem tissue: what quality markers matter? *Brain Res*, 2006, 1123: 1-11.
155. Sampaio-Silva F, Magalhaes T, Carvalho F, Dinis-Oliveira RJ, Silvestre R. Profiling of RNA degradation for estimation of post mortem interval. *PLoS One*, 2013, 8: e56507.
156. Harrison PJ, Heath PR, Eastwood SL, Burnet PW, McDonald B, Pearson RC. The relative importance of premortem acidosis and postmortem interval for human brain gene expression studies: selective mRNA vulnerability and comparison with their encoded proteins. *Neurosci Lett*, 1995, 200: 151-4.
157. Bauer M, Gramlich I, Polzin S, Patzelt D. Quantification of mRNA degradation as possible indicator of postmortem interval--a pilot study. *Leg Med (Tokyo)*, 2003, 5: 220-7.
158. Tian L, Li Y, Hua W, Jia Y, Zhou M, Gu Y, Qi J. Expression of Urotensin II During Focal Cerebral Ischemic in Diabetic Rats. *Can J Neurol Sci*, 2014, 41: 498-503.
159. Ashton N. Renal and vascular actions of urotensin II. *Kidney Int*, 2006, 70: 624-9.
160. Song W, Abdel-Razik AE, Lu W, Ao Z, Johns DG, Douglas SA, Balment RJ, Ashton N. Urotensin II and renal function in the rat. *Kidney Int*, 2006, 69: 1360-8.



161. Karakurt O, Kilic H, Akdemir R. Transient subclavian artery spasm observed during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *Turk Kardiyol Dern Ars*, 2010, 38: 44-6.
162. Erecinska M, Silver IA. Tissue oxygen tension and brain sensitivity to hypoxia. *Respir Physiol*, 2001, 128: 263-76.
163. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Satoh F, Ito S, Kimura Y, Sasano H, Murakami O. Role of urotensin II in patients on dialysis. *Lancet*, 2001, 358: 810-1.
164. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Murakami O, Ito S, Kikuya M, Ohkubo T, Hashimoto J, Imai Y. Elevated plasma levels of immunoreactive urotensin II and its increased urinary excretion in patients with Type 2 diabetes mellitus: association with progress of diabetic nephropathy. *Peptides*, 2004, 25: 1809-14.
165. Ravani P, Tripepi G, Pecchini P, Mallamaci F, Malberti F, Zoccali C. Urotensin II is an inverse predictor of death and fatal cardiovascular events in chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2008, 73: 95-101.
166. Van Biesen W, Vanholder R, Lameire N. Defining acute renal failure: RIFLE and beyond. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2006, 1: 1314-9.
167. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet*, 2005, 365: 417-30.
168. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, Acute Dialysis Quality Initiative w. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*, 2004, 8: R204-12.

169. Matsuo Y, Mihara S, Ninomiya M, Fujimoto M. Protective effect of endothelin type A receptor antagonist on brain edema and injury after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke*, 2001, 32: 2143-8.
170. Jesmin S, Sakuma I, Togashi H, Yoshioka M, Hattori Y, Kitabatake A, Miyauchi T. Expression of endothelin receptors in the brain of SHR-SP and effects of an endothelin blocker. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2004, 44 Suppl 1: S156-9.
171. Bian LG, Zhang TX, Zhao WG, Shen JK, Yang GY. Increased endothelin-1 in the rabbit model of middle cerebral artery occlusion. *Neurosci Lett*, 1994, 174: 47-50.
172. Barone FC, Globus MY, Price WJ, White RF, Storer BL, Feuerstein GZ, Busto R, Ohlstein EH. Endothelin levels increase in rat focal and global ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1994, 14: 337-42.
173. Ziv I, Fleminger G, Djaldetti R, Achiron A, Melamed E, Sokolovsky M. Increased plasma endothelin-1 in acute ischemic stroke. *Stroke*, 1992, 23: 1014-6.
174. Willette RN, Ohlstein EH, Pullen M, Sauermelch CF, Cohen A, Nambi P. Transient forebrain ischemia alters acutely endothelin receptor density and immunoreactivity in gerbil brain. *Life Sci*, 1993, 52: 35-40.
175. Estrada V, Tellez MJ, Moya J, Fernandez-Durango R, Egido J, Fernandez Cruz AF. High plasma levels of endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in patients with acute ischemic stroke. *Am J Hypertens*, 1994, 7: 1085-9.
176. Bhalla S, Leonard MG, Briyal S, Gulati A. Distinct Alteration in Brain Endothelin A and B Receptor Characteristics Following Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Drug Res (Stuttg)*, 2016, 66: 189-95.
177. Franceschini R, Gandolfo C, Cataldi A, Del Sette M, Rolandi A, Corsini G, Rolandi E, Barreca T. Twenty-four-hour endothelin-1 secretory pattern in stroke patients. *Biomed Pharmacother*, 2001, 55: 272-6.

178. Deray G, Carayon A, Maistre G, Benhmida M, Masson F, Barthelemy C, Petitclerc T, Jacobs C. Endothelin in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 1992, 7: 300-5.
179. Kakimoto Y, Tsuruyama T, Miyao M, Abiru H, Sumiyoshi S, Kotani H, Haga H, Tamaki K. The effectiveness and limitations of triphenyltetrazolium chloride to detect acute myocardial infarction at forensic autopsy. *Am J Forensic Med Pathol*, 2013, 34: 242-7.



## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
<b>Adı Soyadı:</b>	Mustafa Talip ŞENER
<b>Doğum tarihi:</b>	01.12.1974
<b>Doğum Yeri:</b>	Erzurum
<b>Medeni Hali:</b>	Evli
<b>Uyruğu:</b>	T.C.
<b>Adres:</b>	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 25240, Erzurum
<b>Tel:</b>	0505 785 68 61
<b>Faks:</b>	
<b>E-mail:</b>	talipsener@gmail.com
Eğitim	
<b>Lise:</b>	Erzurum Lisesi (1992)
<b>Lisans:</b>	Atatürk Üniversitesi Tıp (1993-1999)
<b>Yüksek Lisans:</b>	
<b>Doktora:</b>	
Yabancı Dil Bilgisi	
<b>İngilizce:</b>	2010 ÜDS: 72.50
<b>Almanca:</b>	
<b>Rusça:</b>	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
	Bilgisayar ve Teknoloji

## EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



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

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1600127392  
Konu : HADYEK Kararı.

27.05.2016

### TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 06.05.2016 tarihli ve 42190979-000-E.1600109995 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazımız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 26.05.2016 tarih ve 3 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 93 no'lu karar ile sözkonusu doktora tezi çalışmasının isminin değiştirilerek yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 26.05.2016

Toplantı Sayısı : 3

**KARAR N0 93:** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Erol AKPINAR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülen "Ratlarda İzoproterenol Toksisitesine Bağlı Ölümelerde Beyin ve Böbrek Dokusunda Postmortem Endotelin-1 ve Ürotensin Seviyelerinin İncelenmesi" başlıklı doktora tezi çalışmasının isminin "Ratlarda İzoproterenol Toksisitesine Bağlı Ölümelerde Beyin ve Böbrek Dokusunda Postmortem Ürotensin II Reseptör ve Endotelin 1 Seviyelerinin İncelenmesi" olarak değiştirilmesi ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 06.05.2016 tarih ve 42190979-000-E.1600109995 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen doktora tezi çalışmasının isminin değiştirilerek yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Devriş ÖZDEMİR  
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum  
Tel: +90 442 2317222  
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#?birim=veteriner-fakultesi>  
Kep Adresi: [atauni@hs01.kep.tr](mailto:atauni@hs01.kep.tr)

Bilgi: Mehmet KOCA  
Faks: +90 442 2317244  
E-Posta: [vetfak@atauni.edu.tr](mailto:vetfak@atauni.edu.tr)

