



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ENDOTOKSEMİLİ KÖPEKLERDE İNTRAVENÖZ KOLİN
TEDAVİSİNİN AKUT FAZ PROTEİNLERİ
VE KARDİYAK FONKSİYONLARA ETKİSİ**

Meriç KOCATÜRK

(DOKTORA TEZİ)

Bursa-2012



T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ENDOTOKSEMİLİ KÖPEKLERDE İNTRAVENÖZ KOLİN
TEDAVİSİNİN AKUT FAZ PROTEİNLERİ
VE KARDİYAK FONKSİYONLARA ETKİSİ

Meriç KOCATÜRK

(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Zeki YILMAZ

Bursa-2012

Bu doktora tezi TÜBİTAK tarafından, TOVAG-1090660 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	I
İNGİLİZCE ÖZET.....	II
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	III-V
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu (SIRS) ve Akut Faz Proteinleri.....	2
Sepsis ilişkili miyokardiyal disfonksiyon.....	9
Sepsis – endotoksemi tedavisinde kolinerjik sistemin rolü.....	12
GEREÇ ve YÖNTEM.....	16
Materyal seçimi.....	16
Deney protokolü ve uygulamalar.....	17
Örneklerin toplanması ve ölçümler.....	18
İstatistiksel analizler.....	26
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	89
LPS ilişkili SIRS, sepsis, endotoksemi ve çoklu organ disfonksiyonu sendromu (MODS) gelişimi.....	89
LPS ilişkili kardiyak etkilenim.....	98
Kolin tedavisinin SIRS, sepsis, endotoksemi ve MODS gelişimine etkisi.....	107
KAYNAKLAR.....	117
TEŞEKKÜR.....	135
ÖZGEÇMİŞ.....	136

ÖZET

Bu çalışmada; 1) endotoksine yanıt olarak akut faz proteinlerinin (AFP) ve high mobility group box-1 (HMGB-1) proteinde oluşan değişimlerin diyagnostik değerlerinin ortaya konması; 2) miyokardiyal hasarın kardiyak biyobelirteçler ve sistolik zaman aralıkları (STI) ile birlikte miyokardiyal performans indeksinin (Tei index) Doppler ekokardiografik ölçümlerle belirlenebilmesi ve 3) intravenöz kolin ve CDP-kolin tedavisi ile endotoksemili köpeklerde kardiyak anormalitelerin yanısıra AFP'leri ve HMGB-1 yanıtlarındaki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada herbirinde 6 köpeğin bulunduğu 6 tedavi grubu kullanıldı. Çalışmanın ilk bölümünde, intravenöz salin (grup I), kolin klorid (grup II) ve CDP-kolin (grup III) verilen köpekler, klinik ve laboratuvar parametreleri yönünden 48 saat süresince monitorize edildi. Çalışmanın ikinci bölümünde köpeklere, grup I, II, ve III'e ek olarak, endotoksin (*E coli*, lipopolisakkarid [LPS], iv) verilmiş, LPS + Salin (grup IV); LPS + Kolin klorid (grup V) ve LPS + CDP-kolin (grup VI) oluşturulmuştur. Kan örnekleri endotoksin enjeksiyonundan önce (0. saat) ve sonra 0.5, 1, 4, 24 ve 48. saatlerde toplanmıştır.

Yalnız LPS alan köpeklerde 0,5-48. saat diliminde sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) tespit edilmiştir. Kolin tedavisi LPS-ilişkili SIRS bulgularını engellemiş veya minimize etmiş, AFP'leri düzeylerinde (C reaktif protein haricinde) ve HMGB-1 düzeylerinde koruma sağlamıştır. Kardiyak disfonksiyon pre-ejeksiyon (PEP) ve sol ventriküler ejeksiyon sürelerinde (LVET) kısalma, kardiyak output (CO) ve stroke volüm (SV) değerlerinde azalma ve Tei indekste artma ile karakterize edilmiştir. Miyokardiyal hasar serum LDH, CK ve AST'de artma ile Mg seviyelerinde azalma ile ortaya konmuştur. Kolin tedavisi (kolin veya CDP-kolin olarak) STI, kardiyak biyobelirteçler ve Tei indekste artış veya azalmalara karşı koruma sağlamıştır.

Köpeklerdeki bulgularımız; 1) kolin tedavisinin akut faz yanıtlarını ve HMGB-1 protein davranışını düzenleyerek SIRS gelişimini engelleyebileceğini (anti-inflamatuvar etki); 2) HMGB-1 proteininin endotoksemiden şüphelenilen köpeklerde erken yangısal belirteç olarak kullanılabileceğini; 3) Tei indeks'in sepsis ilişkili miyokardiyal performans değerlendirilmesinde rutin olarak kullanılabileceğini ve 4) köpeklerde intravenöz kolin tedavisinin kardiyak yetmezlik ve LPS-ilişkili miyokardiyal hasarın minimize edilmesinde etkili olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Endotoksemi, sepsis, akut faz proteinleri, high mobility group box-1, Tei indeks, kolin, köpek.

Effects Of Choline Treatment on Acute Phase Proteins and Cardiac Functions in Dogs with Endotoxemia

In this study, we aimed to investigate; 1) diagnostic values of the changes in serum acute phase proteins (APPs) and high mobility group box-1 (HMGB-1) protein levels in response to endotoxin; 2) presence of myocardial injury and cardiac function impairment based on the serum cardiac biomarkers and Doppler derived echocardiographic measurements of systolic time intervals (STI) and myocardial performance index (Tei index); and 3) potential of intravenous choline treatment to reverse APP and HMGB-1 responses as well as cardiac abnormalities in dogs with endotoxemia.

Six treatment groups (with 6 dogs in each group) were used. In the first series of the experiment, intravenous normal saline (group I), choline chloride (group II) or CDP-choline (group III) was given to dogs which were monitored for clinical and laboratory parameters during a 48 h period. In the second series of the experiment, in addition to treatment plans in group I, II, and III, endotoxin (*E coli*, lipopolysaccharide [LPS], iv) was given to dogs: LPS + Saline (group IV); Choline chloride + LPS (group V) and CDP-choline + LPS (group VI). Blood samples were collected, before and 0.5, 1, 4, 24, and 48 hrs after endotoxin injection.

Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) was characterized at 0,5-48 hrs in dogs receiving LPS alone. Choline treatment either blocked or minimized LPS-associated SIRS and exhibited protection on levels of APPs (except for C reactive protein) and HMGB-1. Cardiac dysfunction was characterized by shortened preejection period (PEP) and left ventricular ejection time (LVET), and decreased cardiac output (CO) and stroke volume (SV) in combination with tendency of Tei index value to increase. Myocardial injury was characterized by increased serum LDH, CK and AST and decreased Mg level. Choline treatment (either as choline or CDP-choline) also protected from increases or decreases in STI, cardiac biomarkers and Tei index after LPS.

Our findings suggest in dogs that 1) choline treatment may prevent the development of SIRS by regulating acute phase response and HMGB-1 protein behaviors associated with LPS (anti-inflammatory effect); 2) HMGB-1 protein may be used an early inflammatory marker in dogs suspected of endotoxemia; 3) Tei index can be used routinely for the evaluation of sepsis-related myocardial performance and 4) intravenous choline treatment can be effective in the treatment of cardiac dysfunction and LPS-related myocardial injury in dogs.

Key words: Endotoxemia, sepsis, acute phase proteins, high mobility group box-1, Tei index, choline, dog

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo Listesi		Sayfa
Tablo – 1:	Endotoksemi, sepsis ve septik şok tanımlamaları	3
Tablo - 2:	DIC tanısında kullanılan skorlandırma sistemi	9
Tablo – 3:	Miyokardiyal hasar belirlenmesinde kullanılan serum biyobelirteçleri	12
Tablo – 4:	Kontrol ve test gruplarının dağılımı	17
Tablo – 5:	Gruplarda çalışılan denek sayısı (n) ve uygulama detayları	17
Tablo – 6:	Beden sıcaklığı, kalp ve solunum sayıları ile ortalama kan basıncı değişimleri	42-43
Tablo – 7:	Total lökosit sayısı, hematokrit yüzdesit ve trombosit sayısı değişimleri	44
Tablo – 8:	Nötrofil ve lenfosit sayılarındaki değişimler	45
Tablo –9:	Karaciğer enzim aktiviteleri (ALT, AST, ALP, GGT) ve amilazda ki değişimler	46-47
Tablo-10:	Renal hasar belirteçleri ile ilgili değişimler	48
Tablo-11:	Serum lipid profili ile ilgili değişimler	49-50
Tablo-12:	Serum glukoz ve total bilirubin değerindeki değişimler	51
Tablo-13:	Serum akut faz proteinleri değişimleri (CRP, Hp, Cp)	52-53
Tablo-14:	Serum albumin ve total protein değerindeki değişimler	55
Tablo-15:	Venöz kan gazı değişimleri (pH, pO ₂ ve pCO ₂)	57
Tablo-16:	Serum butirilkoлинesteraz (BChE) aktivitesindeki değişimler	58
Tablo-17:	Serum high mobility group box-1 (HMGB-1) proteinde ki değişimler	60
Tablo-18:	Serum IgG ve IgM değerlerindeki değişimler	63
Tablo-19:	EKG de P süre ve amplitüd değişimleri	65
Tablo-20:	EKG de PR ve QRS sürelerindeki değişimler	66
Tablo-21:	EKG de R amplitüd ve T süresinde ki değişimler	67
Tablo -22:	EKG de T amplitüd ve QT sürelerinde değişimler	68
Tablo -23:	Aort (Ao), pulmoner arter (PA) ve sol atriyum (LA) çapları	69
Tablo- 24:	Ekokardiografik olarak LVDD ve LVSD'nin grup içi ve gruplar arası değişimleri	70
Tablo- 25:	Ekokardiografik olarak IVSDD ve IVSSD'nin grup içi ve gruplar arası değişimleri	71
Tablo- 26:	Ekokardiografik olarak sol ventriküler PWSD ve PWDD'nin grup içi ve gruplar arası değişimleri	72
Tablo- 27:	Sistolik zaman aralıkları; aort pre-ejection period (PEP), sol ventriküler ejeksiyon zamanı (LVET) ve PEP/LVET oranının grup içi ve gruplar arası değişimleri	74

Tablo- 28:	Ekokardiografik olarak izovolemik kontraksiyon zamanı (ICT), velocity circumferential fiber shortening (Vcf) ve izovolemik relaksasyon zamanının (IRT) grup içi ve gruplar arası değişimleri	75
Tablo- 29:	Ekokardiografik muayenede kap debisi (C.O.) ve stroke volümün (SV) grup içi ve gruplar arası değişimleri	76
Tablo- 30:	Fraksiyonel kasılma (FS) ve ejeksiyon fraksiyonu (EF) değerlerinde ki değişimler	77
Tablo- 31:	Aort ve pulmoner arter akımlarının maksimal velositelerindeki değişimler	78
Tablo- 32:	Ekokardiografik olarak mitral E/A ve Tei indeks (miyokardiyal performans indeksi) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri	79
Tablo- 33:	Serum kardiyak biyobelirteçlerindeki değişimler (CK, LDH, Mg)	82-83
Tablo- 34:	CRP, HMGB-1 ve BChE'in serum (non-spesifik) kardiyak biyobelirteçleri ile korelasyonları	86
Tablo- 35:	CRP, HMGB-1 ve BChE'in karaciğer enzim aktiviteleri ile korelasyonları	86
Tablo- 36:	CRP, HMGB-1 ve BChE'in serum lipid profili ile korelasyonları	86
Tablo- 37:	CRP ve HMGB-1'in akut faz proteinleri ve immunglobulinler (IgG, IgM) ile korelasyonları	86

Şekil Listesi

Şekil-1:	Endotoksemi patojenezi ve akut faz proteinlerinin açığa çıkması	4
Şekil-2:	SIRS ve CARS arasındaki denge	6
Şekil-3:	SIRS ve CARS'ın etki alanı "CHAOS"	7
Şekil-4:	Kolinerjik beyin iletişim ağı ve asetilkolin reseptörlerinin uyarılması	14
Şekil-5:	Sağ parasternal kısa eksen aort kapak düzeyinden aort, sol atriyum ve pulmoner arter internal çaplarının belirlenmesi	22
Şekil-6:	Ekokardiyografik olarak pulmoner arter akım karakteristiğinin belirlenmesi	22
Şekil-7:	Sağ parasternal kısa eksen (üst) ve M-mode ölçümleri (alt) ile sol ventriküler yapıların çapları ile FS ve EF değerlerinin belirlenmesi	23
Şekil-8:	Sol parasternal kraniyal 4-5 boşluk görünümünden sistol sırasında mitral ve aort akım karakteristiklerinin belirlenmesi.	24
Şekil-9:	Tei indeksin hesaplanmasında kullanılan parametreler ve ekokardiyografik görünümün şematize edilmesi	25
Şekil-10:	Bu çalışmada literatüre uygun Tei indeksin hesaplanması	26

Şekil-11:	Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin serum akut faz proteinlerine etkisi.	54
Şekil-12:	Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin akut faz proteinlerinden total protein ve albümin düzeyine etkisi.	56
Şekil-13:	Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin plazma butirilkolinesteraz (BChE) düzeyine etkisi.	59
Şekil-14:	Western -Blot analizi serum high mobility group box-1 (HMGB-1) proteinin kontrole (LPS grubuna) göre değişimi.	61
Şekil-15:	Serum high mobility group box-1 (HMGB-1) düzeyinin ELISA sonuçları	62
Şekil-16:	Kontrol (Salin grubu) ile test gruplarında global koagülasyon faktörlerinden hesaplanan DIC skorları	64
Şekil-17:	Kolin uygulamasına bağlı EKG de sinus durması	34
Şekil-18:	LPS uygulamasına bağlı olarak gelişen sinus taşikardi	35
Şekil-19:	LPS, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarına ait bazı örneklem zamanlarındaki (0, 4. ve 24. saatler) ekokardiyografik görüntüler	73
Şekil-20:	Normal salin ya da endotoksin uygulanan köpeklerde kolin ve CDP-kolin tedavisinin miyokardiyal performans indeks (Tei indeks) üzerine etkileri.	80
Şekil-21:	Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin serum kreatinin kinaz (CK), laktat dehidrogenaz (LDH) ve magnezyum (Mg) değerlerine etkileri.	81
Şekil-22:	Total lökosit (WBC) sayısı ile pozitif ve negatif akut faz proteinleri arasındaki korelasyon	84
Şekil-23:	Tüm gruplarda farklı zamanlarda (0, 0,5, 1, 4, 24 ve 48. saatler) saptanan trombosit sayısı ile eş zamanlı tespit edilen serum CRP düzeyleri arasındaki korelasyon	85
Şekil-24:	Tüm gruplarda farklı zamanlarda (0, 0,5, 1, 4, 24 ve 48. saatler) saptanan kalp frekansı ile eş zamanlı tespit edilen sistolik zaman aralıkları arasındaki korelasyon	87
Şekil-25:	Tüm gruplarda farklı zamanlarda (0, 0,5, 1, 4, 24 ve 48. saatler) saptanan kalp frekansı ile eş zamanlı tespit edilen / hesaplanan miyokardiyal performans indeks arasındaki korelasyon	88

GİRİŞ

Sepsis/endotoksemi olguları insan ve veteriner hekimliğinde yüksek mortalite ile seyrettiğinden önemini hala korumaktadır. Başta neonatal dönem olmak üzere, enfeksiyöz ajanlara (bakteriyel, viral, protozoal, riketsial ve fungal orjinli) bağlı olarak septik şok ve endotoksemi gelişebilmektedir. Kanda mikroorganizmaların bulunması enfeksiyon olarak tanımlanırken; vücudun septik/non-septik etkenlere verdiği yanıt, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) olarak tanımlanmaktadır (1). SIRS'ın ilk aşamasında üretilen akut faz proteinleri ile homeostasis dengede tutulmaya ve inflamasyon sınırlandırılmaya çalışılır. İmmun sistemde yetersizlik olduğunda; tümör nekrozis faktör (TNF- α) ve interlökin (IL) gibi pro-inflamatuvar sitokinler ve C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz proteinleri (AFP) koruyucu etkiden daha çok doku – organ hasarlarını aktive etmek gibi zararlı etkiler meydana getirip sistemik inflamasyona yol açarlar (2, 3). Sistemik inflamasyonda hayatı tehdit edici en önemli komplikasyon olarak çoklu organ işlev bozukluğu (multiple organ dysfunction syndrome – MODS) gösterilmekte; MODS içinde de kardiyovaskular etkilenim ve yaygın intravaskular koagülasyon (DIC) öncelik arz etmektedir (1, 4-7).

Kardiyovasküler / kardiyopulmoner sistem hasarlarının ortaya konmasında rutin klinik tespitlerin yeterli olmadığı; bu nedenle mutlaka elektrokardiyografik ve ekokardiyografik değerlendirmelerin yapılması gerektiği vurgulanmaktadır. İnsanlarda kardiyak hasarların özellikle erken dönemde belirlenmesinde, hatta hasar boyutunun ortaya konmasında kardiyak biyobelirteçlerinden yararlanılmaktadır. Bu konuda hayvanlarda da çalışmaların yapılıyor olması; veteriner hekimliğin insan hekimliğine paralel gelişim göstermesi anlamında önemli kabul edilmelidir. Son zamanlarda insanlarda kardiyak fonksiyon yetersizliğinin ortaya konmasında ekokardiyografi ile sistolik ve diyastolik kalp fonksiyonlarını global olarak değerlendiren ve Tei indeks olarak adlandırılan miyokardiyal performans indeksinden de yararlanılmaktadır. Tei indeksin veteriner alanda ve sepsiste kullanılabilirliği üzerine çalışmalara da gereksinim duyulmaktadır.

Sepsis/endotoksemi tedavisinde, günümüz koşullarının kapsamlı uygulamaları ve gelişmiş yoğun bakım olanaklarına rağmen, hala istenen sonuçlar alınamamaktadır. Bu nedenle alternatif tedavi modellerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar güncelliğini korumaktadır. Araştırma bulguları kolinerjik anti-inflamatuvar yol olarak adlandırılan

sistemin (8-11), kolin gibi farmakolojik ajanlarla uyarıldığı takdirde sepsis/endotoksemi tedavisine olumlu katkılar yapabildiğini göstermektedir (12-14). Çalışmalarımız köpeklerde endotoksemi oluşturulmadan önce intravenöz kolin veya CDP-kolin ön tedavisinin endotoksin ilişkili multi-organ hasarını (12), lipid anormalitelerini (14), trombosit sayı ve fonksiyonlarındaki değişimleri engellediğini (13) gösterdi.

Bu çalışmada anabilim dalımızda yapılan önceki çalışmalardan (12-17) farklı olarak klinik sürece daha uygun bir metodoloji oluşturulmuş; LPS uygulaması sonrası tek doz intravenöz kolin tedavisi verilerek endotokseminin önemli komplikasyonları olan ve yüksek mortaliteden sorumlu başta kardiyak fonksiyon bozukluğu olmak üzere organ/doku hasarlarının engellenebilme potansiyeli incelenmiş, serum akut faz proteinleri ve kardiyak biyobelirteçleri düzeylerindeki değişimler ortaya konmuş, böylece tedaviye yeni ve etkin bir bakış açısı kazandırılmaya çalışılmıştır.

GENEL BİLGİLER

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) ve Akut Faz Proteinleri: Mortalite riskinin yüksek olmasından dolayı sepsis/endotoksemi olgularının güncelliği devam etmektedir. ABD de insanlarda yılda 750 binden fazla şiddetli sepsis olgusu, günde 500 den fazla hasta kaybı; genel olarak dünyada da her gün 1.400 kişinin ağır sepsisten öldüğü rapor edilmektedir (18-19). Türkiye’de yılda ortalama 13 binden fazla sepsis olgusunun tanımlandığı, bunların %40’ında ağır sepsis (endotoksemi) geliştiği, mortalitenin de diğer ülkelerde rapor edilen oranlara paralel olarak %28-50 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (20). Ülkemizde hayvanlarda görülen sepsis insidansı ile ilgili yeterli veri yoktur. Klinik kayıtlarımız çiftlik hayvanları (21) ile kedi ve köpeklerde özellikle neonatal dönemde enfeksiyöz ajanlara (bakteriyel, viral, protozoal, riketsial ve fungal orjinli) bağlı olarak sepsis/endotoksemi olgularının yaygınlığını göstermektedir (22). Tanısal süreç ve tedavi yaklaşımlarının maliyetli olmasına rağmen, mortalitenin hala yüksek devam etmesi; yaşam standartlarının düşmesine, ekonomik kayıpların da artmasına yol açmaktadır.

Sepsis, non-spesifik bir bakterinin organizmanın herhangi bir yerine yerleşip uygun koşullarda üremesi, zaman zaman ya da sürekli kana karışarak sistemik inflamasyon şekillendirmesidir (Tablo-1).

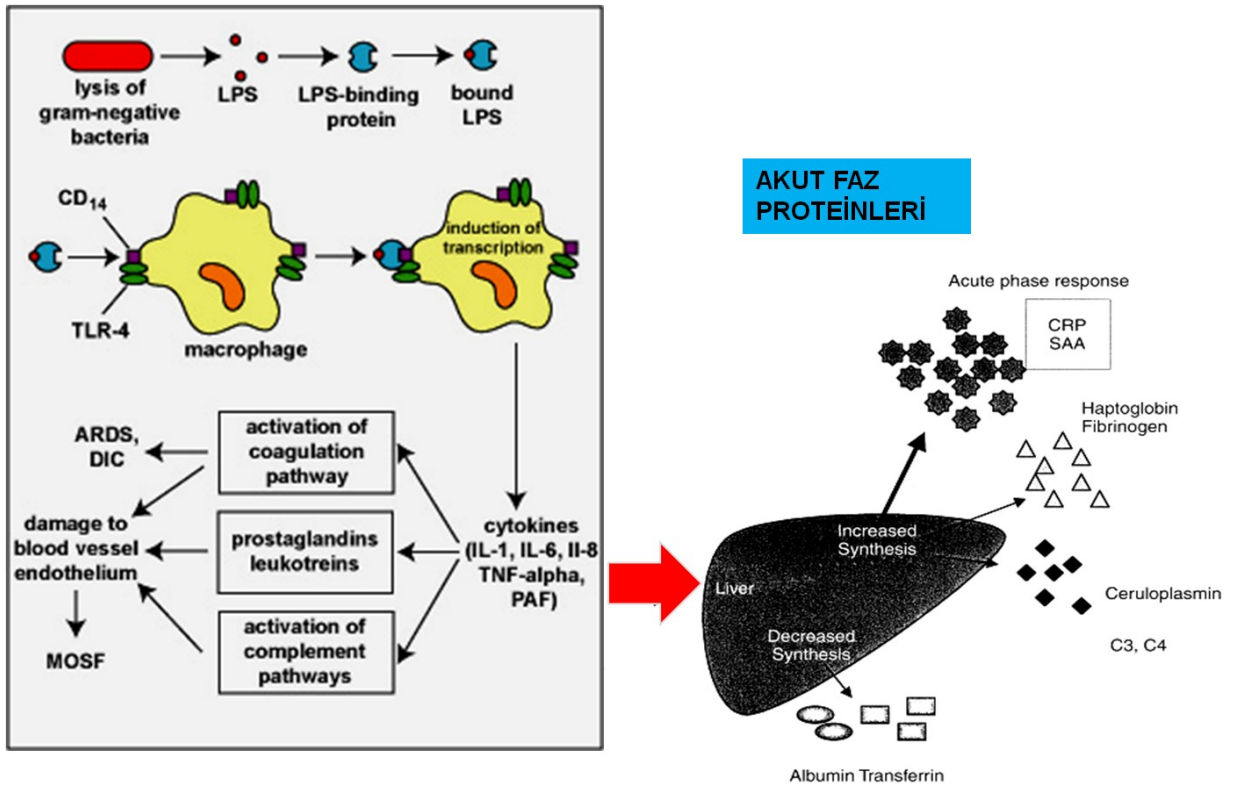
Tablo – 1: Endotoksemi, SIRS, sepsis ve septik şok tanımlamaları

Hastalık	Tanımlama kriterleri*
Enfeksiyon	Mikroorganizmaların vücudun tamamı ya da herhangi bir bölgesinde bulunması
Bakteriyemi	Canlı bakterilerin kan dolaşımında bulunması
Endotoksemi	Gram negatif mikroorganizmalardan açığa çıkan LPS tabiatlı endotoksinlerin kan dolaşımında bulunması ve buna bağlı meydana gelen klinik sendrom.
Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS)	Non-spesifik bir etkene karşı (enfeksiyon ya da non-enfektif nedenler – travma, pankreatit, yanıklar, ısı çarpması, neoplaziler, hipoksi vb.) vücudun verdiği klinik ve/veya hematolojik yanıtlardır. En az ve daha fazlası olduğunda SIRS tanımlanmaktadır: <ul style="list-style-type: none">• Temperatür: <37,2 °C ; >39,2 °C (köpek) ve <37,8 °C ; >40 °C (kedi)• Kalp frekansı/dk: >140 – köpek; <140, >225 – kedi• Solunum frekansı /dk: >30 – köpek, >40 – kedi• Total lökosit sayısı (WBC/μl): Köpek: <6.000 - >19.000; Kedi: <5.000 - >19.000
Kompenzatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromu (CARS)**	SIRS'ın zararlı etkilerini tölare etmek adına vücudun verdiği anti-inflamatuvar yanıtlar.
Sepsis	Enfeksiyon etkenlerine (bakteriler, viruslar, vb.) karşı verilen sistemik inflamatuvar yanıt sendromu – SIRS.
Şiddetli sepsis	Sepsis ile birlikte organ yetmezliği (bir ya da daha fazla organ yetmezliği – ileus, hepatorenal yemezlilik, kardiyak yetmezlik, ARDS vb.), hipoperfüzyon ve hipotansiyona sahip hastalar.
Çoklu organ işlev bozukluğu (MOF veya MODS)	Birçok organ - sistemde yetmezlik
Septik şok	Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen akut dolaşım yetmezliği ve kalıcı arteriyel hipotansiyon varlığı.

* Boller M: How I treat severe sepsis and septic shock. Proceeiding of SEVC., Barcelona – Spain, 2-4 Oct 2009. **Adib-Conquy, M., Cavaillon J.M. Compensatory anti-inflammatory response syndrome. Thrombosis and Haemostasis, 101: 36–47, 2009.

Daha çok Gram - negatif bakterilerin neden olduğu sepsislerde ortaya çıkan hipotansiyon ve yetersiz doku perfüzyonu ile karakterize tabloya septik şok ya da endotoksemi adı verilmektedir (1). Gram - negatif bakteri duvarlarından açığa çıkan

endotoksin (lipopolisakkarit, LPS)'ler dolaşımdaki birçok hücreyi ve damar endotellerini uyararak kimyasal mediatörlerin (humoral, lipid ve sitokin mediatörleri) salınımına neden olurlar (1- 3, 23) (Şekil-1). Mediatörler içinde TNF- α 'nın sentral öneme sahip olduğu, sepsis/endotokseminin erken dönemlerinde açığa çıkıp, akut faz yanıtının gelişimine neden olduğu (24), geç dönemde etkinliğini yitirdiği, ancak bu aşamada da diğer mediatörlerin (C reaktif protein [CRP], thromboxane, high mobility group box 1 [HMGB-1] vb.) primer sorumlu oldukları bilinmektedir (23).



Şekil-1: Gram-negatif bakterilerden açığa çıkan LPS tabiatındaki endotoksinler ve proteinlere (LPS binding) bağlanması. Makrofajların aktive edilmesi ve açığa çıkan mediatörlere bağlı çoklu organ işlev bozukluğu gelişimi (MOSF). TLR: Toll like reseptör, ARDS: Akut respiratorik distress sendromu, DIC: Yaygın intrasvasküler pıhtılaşma (DIC), CRP: C-reaktif protein, SAA: Serum amiloyid A; PAF: Trombosit aktive eden faktör, C3 ve C4: Kompleman (Risuke Karima et al., Molecular Medicine Today, March 1999, Petersen H.H et al. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. Research in Veterinary Science, 35, 2004).

Endotoksinler doğrudan ya da dolaylı olarak salınımına yol açtığı mediatörlerin etkisiyle konakçıda klinik, hematolojik ve serum biyokimyasal yanıtlara neden olurlar (12, 13, 15). Klinik olarak yüksek ateş, kalp ve solunum sayılarında artma, kapıllar yeniden dolma süresinde uzama ve hipotansiyon; kardiyak değerlendirmede sinus taşiaritmi ile sol

ventriküler ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kasılmada azalma; hematolojik olarak belirgin lökopeni, hemokonsantrasyon ve trombositopeni, biyokimyasal ölçümlerde de organ hasar belirteçlerinde değişimler saptanmaktadır (12, 13, 23). Bu sistemik yanıtın (sistemik inflamatuvar yanıt sendromu – SIRS) şekillenmesinde öncelikle karaciğerden üretilen ve dolaşıma salınan akut faz proteinlerinin (AFP) rolü önemli görülmektedir (2, 3, 25) (Şekil-1). Fibrinojen homeostasis sağlanmasında, CRP bakterilerin fagosite edilmesi ve öldürülmesinde, seruloplasmin de anti-trombozis, anti-proteolizis ve antioksidan etkiler oluşturarak inflamasyonun sınırlandırılmasına hizmet etmektedirler (3). AFP'leri iki tipdir; pro-inflamatuar sitokin IL-1 ve TNF- α tarafından indüklenen CRP tip-I AFP olarak, IL-6 tarafından indüklenen fibrinogen ve haptoglobulin de tip-II AFP olarak sınıflandırılmaktadır (2).

SIRS'in gelişiminde primer olarak rol oynayan TNF- α ve IL mediatörler immun yanıtların baskılanması, enfeksiyon riskinin artması ve iyileşme sürecinin yavaşlatılması gibi zararlı etkilere yol açarlar. Diğer taraftan bu inflamatuvar yanıtlara karşı vücutta kompenzatuvar anti-inflamatuar bir yanıt (CARS) geliştirilir. Hastalığın ortaya çıkışında ya da şiddetlenmesinde SIRS ve CARS arasındaki dengenin bozulması önemli rol oynamaktadır (Şekil-2). Klinik tablonun çeşitliliğine bağlı olarak SIRS ve CARS'ın etki alanı "CHAOS" olarak kodlanmıştır (26) (Şekil-3):

C: Kardiyovasküler etkilenim (SIRS'in hâkimiyeti söz konusu)

H: Hemostasis - koagülasyon (SIRS / CARS dengesi)

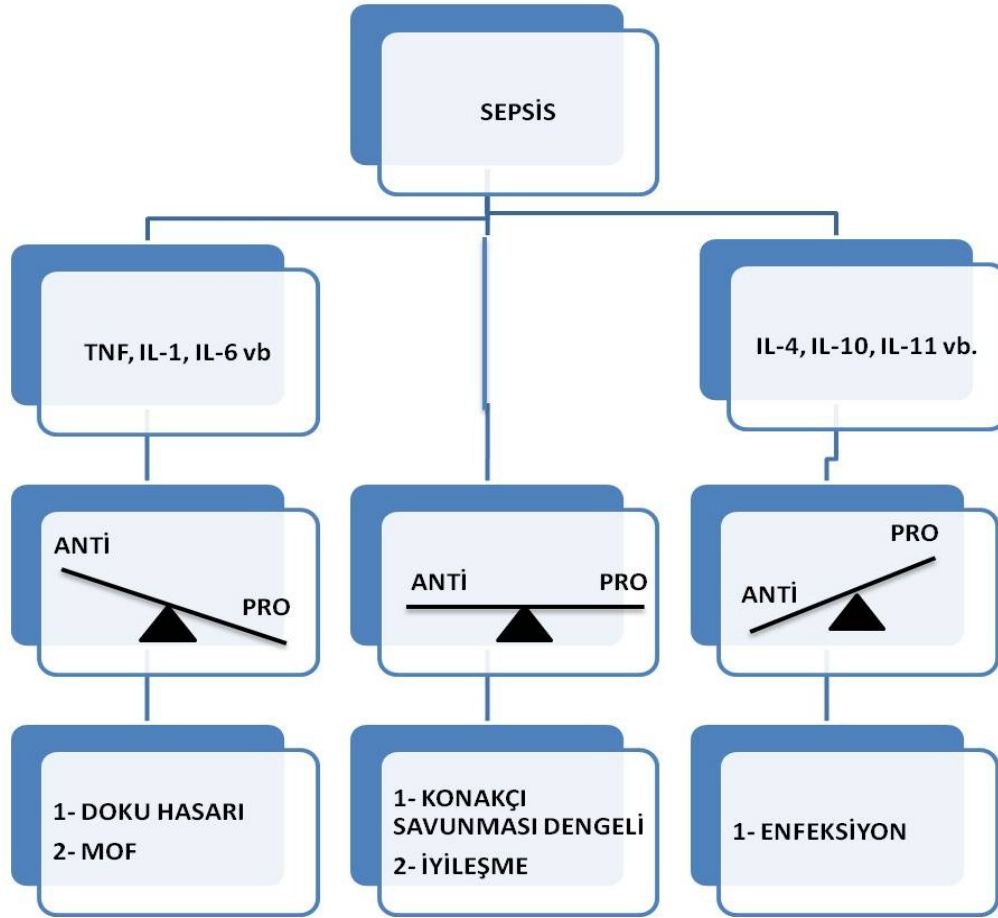
A: Apoptosis (SIRS'in hâkimiyeti söz konusu)

O: Organ disfonksiyonu (MODS - SIRS'in hâkimiyeti söz konusu)

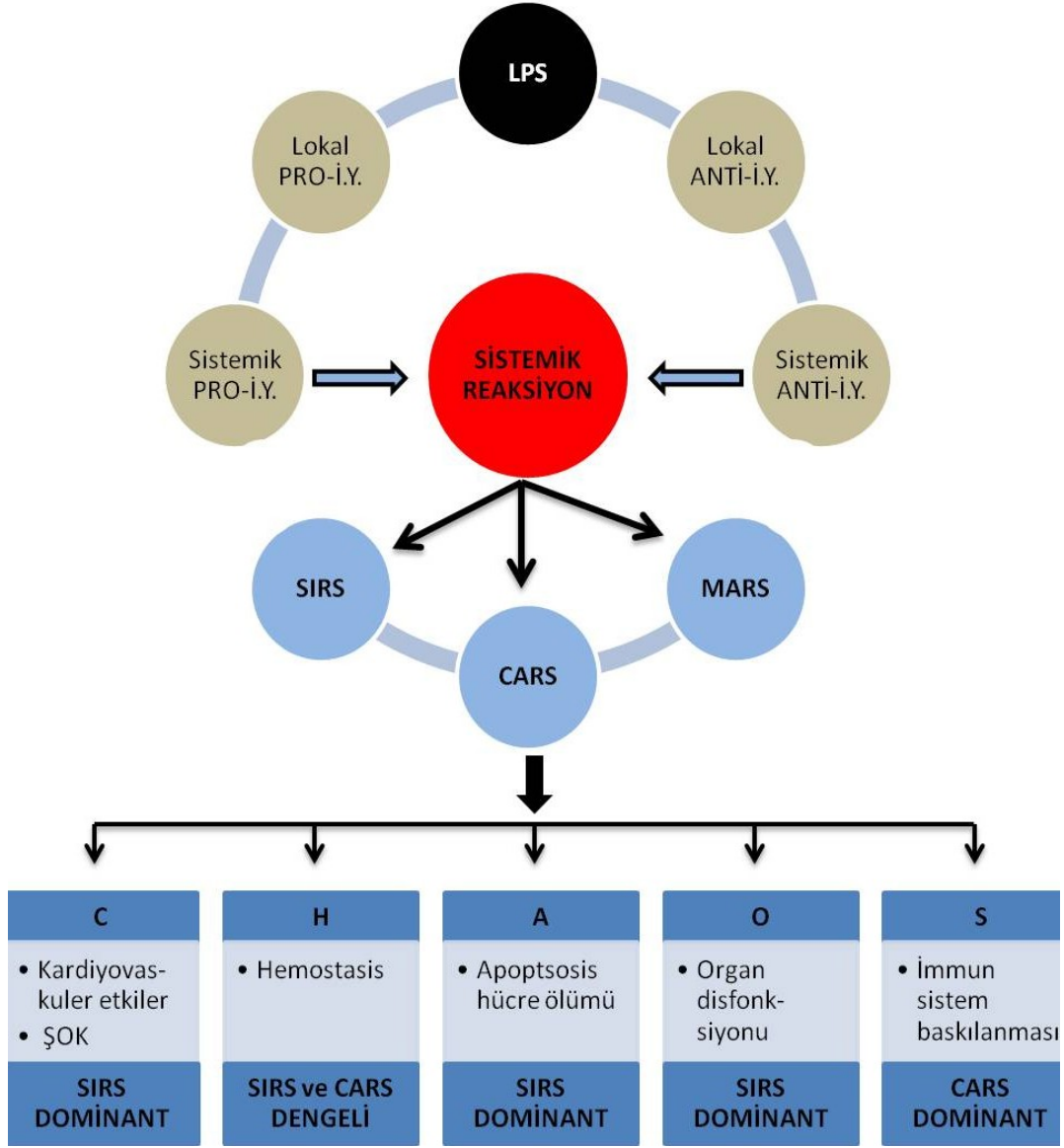
S: İmmun sistemin supresyonu – lenfopeni ile karakterize (CARS'in hâkimiyeti söz konusu)

Sepsisin ilk fazında ortaya çıkan SIRS'ta plazmada aşırı miktarda pro-inflamatuar mediatör (TNF, IL-1, IL-6) bulunurken, anti-inflamatuar mediatörler yok ya da çok az miktarlardadır. Intermediate hemostasiste konakçıda miks anti-inflamatuar yanıt sendromu (MARS) geliştiğinden plazmada pro- ve anti-inflamatuar mediatörlerin her iki grubuna da rastlamak mümkündür. Sepsisin son fazında devreye giren CARS'ta plazmada aşırı miktarda anti-inflamatuar mediatörlere (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, soluble TNF reseptörleri, IL-1 reseptör agonistleri vb.) rastlanırken pro-inflamatuar mediatörler yok denecek kadar azdır (26, 27). Endotokseminin önemli mediatörleri arasında IL'ler ve

TNF- α 'nın yanısıra nitric oxide (NO) ve procalcitonin (PCT) de olduğu belirtilirken (16), CRP'nin sistemik inflamasyon indikatörü olarak adı geçen mediatörlerden daha hassas olduğu ifade edilmektedir (3). Bununla birlikte köpeklerde gerçekleştirilen bir çalışmada (16) deneysel endotoksemi modelinde endotoksini takiben NO ve PCT düzeylerinde dramatik artışların olduğu ve bu artışların 48 saatlik gözlem sürecinde yüksek kaldığı saptanmıştır.



Şekil-2: IL, interlökin; TNF, tümör nekrozis faktör; ANTİ, anti-inflamatuar sitokinler; PRO, pro-inflamatuar sitokinler; MOF, multi-organ yetmezliği
Matthew L. Steinhauser, Steven L. Kunkel, and Cory M. Hogaboam: New Frontiers in Cytokine Involvement during Experimental Sepsis. *Animal Models of Inflammation*, ILAR Journal, 40(4): 1999,



Şekil-3: LPS lipopolisakkarit, PRO-İ.Y pro-inflamatuar yanıt, ANTI-İ.Y. anti-inflamatuar yanıtlar, SIRS sistemik anti-inflamatuar sendrom, CARS kompenzatuvar anti-inflamatuar yanıt sendrom , MARS miks antogonist yanıt sendromu. SIRS, CARS ve MARS arasındaki dengeye bağlı olarak “CHAOS” olarak adlandırılan yansımalar ortaya çıkmaktadır (Davies MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. British Journal of Surgery, 84:7; 920-35, 1997).

Sepsis / Endotoksemi ve Çoklu Organ İşlev Bozukluğu (MODS):

Multi organ yetmezliği klinik bir sendrom olup, sistemik sepsis ile karakterize klinik tablo üzerine, ilerleyici organ yetmezliğinin yerleşmesi şeklinde tanımlanabilir. MODS’un gelişiminde enfeksiyon etkenlerinin yanı sıra makrofajlardan salınan pro-inflamatuar sitokinlerin, hücre / dokulardaki mikrosirkülasyon yetersizliğinin ve herhangi bir hastalık

durumunda barsaklarda gelişen bakteriyel translokasyonun da etkili olabildiği belirtilmiştir. Bu sendromu başlatan olaylar genellikle perfüzyon defektleri, sepsis, doku yaralanmaları, iskemi ve pankreatit gibi inflamatuvar süreçlerdir (28). Her ne kadar MODS'un klinik görünümü gram-negatif sepsis için tipik ise de, benzer hastalık cevabı gram-pozitif mikroorganizma, virüs ve fungus gibi diğer ajanlarca da oluşturulabilmektedir (28). Etken ne olursa olsun ilk etkilenimlerin akciğerlerde başladığı; takiben hepatik, intestinal ve renal yetmezliklerin geliştiği belirtilmektedir. Hematolojik ve miyokardiyal yetmezlik ile birlikte merkezi sinir sistemi problemleri de MODS sürecine eşlik edebilmektedir (29).

Endotoksinlerin damar endotelinde doku faktörünün salınımı, TNF- α stimülasyonu ve CRP salınımı ile koagülasyon sistemini aktive ettiği, böylece dolaşım sisteminde mikrotrombuslara neden olup, MODS ve DIC geliştirdiği bilinmektedir (1, 5, 7, 30, 31, 32). Trombosit sayısında azalma (trombositopeni) veya fonksiyonlarında yetersizlik (trombopati) olduğunda ve vaskular hasarlanmalarda (vasculitis) primer hemostasis bozuklukları gelişmektedir. Sekonder hemostasis defektleri belirtilen koagülasyon faktörlerinin bir ya da birkaçında yetersizlik ile ilgilidir (32). Kontrolsüz koagülasyon aktivasyonunun bir sonucu olarak pıhtılaşma faktörlerinde ve trombosit sayılarında azalma (tüketim) şekillenir (5- 7, 17, 23, 32, 33) (Şekil-3). Tüketim koagülopatisi olarak adlandırılan bu süreç DIC, defibrinojen sendromu ya da koagülasyon – fibrinolitik sendrom olarak da tanımlanmaktadır (6, 7, 34).

DIC tanısında kullanılan testlerin sensitiviteilerinin yüksek, ancak spesifiteilerinin düşük olduğu bildirilmektedir (1, 4- 7, 34, 35). Günümüzde DIC'in tanımlanabilmesi için belirtilen parametrelerin bireysel olarak yetersiz kalmasından dolayı farklı kurumlar (International Society on Thrombosis and Haemostasis [ISTH] ve Japanese Ministry of Health and Welfare [JMHW]) tarafından skorlandırma sistemleri geliştirilmiştir (Tablo-2). İki farklı skondarlandırma sisteminin birbiri ile uyumunun da %64,7 olduğu rapor edilmiştir (7, 35). Peteşi-ekimoz gibi klinik bulguların olmasıyla birlikte global pıhtılaşma (protrombin zamanı [PT] ve/veya aktive parsiyal tromboplastin zamanı [aPTT]) sürelerinde uzama, fibrinojen, antitrombin ve trombosit sayılarında azalma ve d-dimer düzeyindeki artışlar şiddetlerine göre skorlandırılarak DIC tanımlaması yapılmaktadır (7, 34, 36). Yaptığımız çalışmada (17) endotoksin stresine maruz bırakılan köpeklerde ISTH skorları modifiye edilerek DIC tanımlaması yapılmış, farklı olarak antitrombin düzeyi ve

global pıhtılaşma testlerinin her ikisi de (PT ve APTT) hesaplama dahil edilmiştir (Tablo-2).

Tablo -2: DIC tanısında kullanılan skorlandırma sistemi

Parametre	ISTH* – overt DIC kriteri ⁵	DIC skoru – modifiye ¹⁷
Altta yatan hastalık	0 puan (esansiyel)	0 puan (esansiyel)
Klinik semptom	0 puan (esansiyel)	0 puan (esansiyel)
Trombosit sayısı (x 10 ³ /μl)	>50 - <100 (1 puan) <50 (2 puan)	0-100 x 10 ³ /μl azalma-0 puan 110-200 x 10 ³ /μl azalma-1 puan >200 x 10 ³ /μl azalma – 2 puan
d-dimer	Orta düzeyde artma (2 puan) Şiddetli artma (3 puan)	0–100 mg/ml artma – 0 puan 101–200 mg/ml artma – 1 puan >200 mg/ml artma - 2 puan
Fibrinojen g/l	<1 (1 puan)	0-0.5 g/l azalma – 0 puan 0.6-1 g/l azalma – 1 puan >1 g/l azalma – 2 puan
PT ya da APTT	>3 - <6 sn uzama (1 puan) >6 sn uzama (2 puan)	PT: 0-5 sn uzama – 0 puan 6-10 sn uzama – 1 puan >10 sn uzama – 2 puan APTT: 0-9 sn uzama – 0 puan 10-30 sn uzama – 1 puan >30 sn uzama – 2 puan
Antitrombin III %		0-7% azalma - 0 puan 8–20% azalma – 1 puan >20% azalma - 2 puan
DIC tanısı	≥5 puan	≥7 puan

ISTH – International Society of Thrombosis and Haemostasis

Sepsis İlişkili Miyokardial Disfonksiyon: Sepsiste hedef dokunun damar endoteli olduğu ve hemen hemen bütün mediyatörlerin damarlar üzerine etkideği ortaya konmuştur (38-45). Endotelin zedelenmesi hemodinamik değişikliklerin ve organ yetersizliklerinin ilk aşamasını oluşturmaktadır. Endotel hasarı ve kapiller permeabilite artışı ile birlikte kan mikrosirkülasyonda göllendiğinde (pasif konjesyon); dolaşımdaki kan volümü azalmakta, şok ve organ yetmezliği gelişimi kolaylaşmaktadır. Endotel hücresi tarafından salgılanan, daha önce endotel kaynaklı gevşetici faktör (endothelium-derived relaxing factor- EDRF) olarak bilinen nitrik oksit (NO) sepsisteki yaygın vazodilatasyondan sorumlu tutulmakta ve kardiyovasküler sistemde birçok fizyopatolojik etki meydana getirmektedir (45). Bu yaklaşımlara paralel olarak Yılmaz ve arkadaşları da (16) köpeklerde yaptıkları çalışmada LPS uygulamasını takiben serum NO düzeylerinde artış gözlemişler; bu durumu

kardiyovasküler yanıtlar içinde değerlendirmişlerdir. Endotelde üretilen vazokonstriktör bir faktör olan endothelin-1'in (ET-1) LPS aracılı septik şokta 6 saat içerisinde artış gösterdiği, fazla miktarda salındığında da yangısal kardiyomyopatiye bağlı kalp yetmezliği ve ölüm meydana getirdiği belirtilmiştir (45).

Sepsisli hastalarda miyokardiyal disfonksiyon çok yaygın olup, insanlarda kardiyovasküler yetmezlikle beraber seyreden hastalıklarda ölüm % 70-80'lere kadar yükselirken, sadece septisemili hastalarda %20 civarında seyretmektedir (46). İnsanlarda hücresel düzeydeki izole kalp (47-48) ve in vivo hayvan modelleri (49-51) üzerinde yapılan çalışmalar, sepsiste miyokardiyal disfonksiyon oluşumundaki ana nedenlerin kontraktilitedeki azalma ve miyokardiyal uyumdaki bozulma olduğunu göstermiştir. Septisemi ilişkili miyokardiyal işemi şekillenmesindeki öncelikli teorinin global miyokardiyal işemi hipotezine dayandığı belirtilmiştir (52). Bu yaklaşıma uygun olarak septik hastalarda koroner kan akımı ve oksijen taşıma kapasitesinde de olumsuzluklar bildirilmektedir (52). Sepsis ilişkili miyokardiyal dolaşım problemleri aynı zamanda miyokardiyumda kompleks metabolik değişimlere neden olmakta; artmış laktat oluşumu, azalmış serbest yağ asidi oluşumu ve azalmış glukoz alımı gelişmektedir. Sepsis durumunda azalmış koroner arter perfüzyonu, periferel dokularda da benzer metabolik değişimleri meydana getirmektedir. Bu bağlamda şiddetli sepsisli (septik şoklu) hastalarda klasik kardiyovasküler yanıtlar içerisinde sistemik hipotansiyona neden olabilecek düzeyde periferel vazodilatasyon gelişebilmektedir. Hipotansiyon sistemik vasküler rezistansı azaltıp (vazodilatasyon) miyokardiyal performansı yani Tei indeksi artırmakta, takip eden süreçte de miyokardiyal disfonksiyon gelişimine yol açmaktadır. Hipotansiyonu olup miyokardiyal disfonksiyona sahip hastalarda ilk kardiyolojik bulguların azalmış ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve artmış end-diastolik volüm indeksi olduğu belirtilmiştir (51, 52). Bu güne kadar yapılmış olan çalışmalar septik şoklu hastaların hayatta kalma şanslarının düşük kardiyak output (dakikada sol ventrikülden atılan kan volümü) ve stroke volüm (bir kasılmada sol ventrikülden atılan kan volümü) ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (52). Sepsiste meydana gelen miyokardiyal disfonksiyonun prognostik değerde ve multifaktöriyel olduğu rapor edilmiştir (53). LPS ilişkili miyokardiyal hasar genellikle erken dönemde sol ventriküler disfonksiyona, kronik süreçte de biventriküler disfonksiyon ve kalp yetmezliğine dönüşmektedir (54-57). Bu bilgiler yoğun bakım ünitelerindeki insan ve şiddetli sepsis kriterlerine sahip hayvanlarda genel muayeneler içerisinde kardiyolojik değerlendirmelerin de yapılmasının gerektiğini göstermektedir.

Kardiyolojik değerlendirme içerisinde klinik muayene ile birlikte EKG ve ekokardiyografik analizlerden yararlanılmaktadır. Klinik muayenede kalp frekansı değişkenlikleri, hipotansiyon, kapillar dolum süresinde uzama ve periferel nabız kalitesindeki azalmalar ya da damar tonusundaki kayıplar dikkat çekici bulunurken, EKG analizleri ile kalp hızı ve aritmi potansiyelleri değerlendirilebilmekte, miyokardiyal işemi ile ilgili tespitler yapılabilmektedir (58). Martinez ve arkadaşları (162) sepsisli insanlarda kardiyak troponin I (cTnI) yükselmesi ile birlikte EKG değişimlerinin miyokardiyal etkilenimi belirlemede önemli olduğunu belirtmişler; ST elevasyonunun sepsisli hastalarda nadiren görüldüğünü ileri sürmüşlerdir. Ekokardiyografik değerlendirmelerde özellikle fonksiyonel parametrelerdeki değişimlerin sepsis ilişkili miyokardiyal disfonksiyon tanımlamasında yararlı olabileceği tartışılmaktadır (54). Bu bağlamda sıklıkla son zamanlarda global miyokardiyal fonksiyon değerlendirmesi için Tei indeks'ten yararlanılmakta; Tei indeksteki yükselme miyokardiyal fonksiyon bozulması olarak yorumlanmaktadır (59). Sistolik zaman aralıklarının (PEP, LVET vb.) Tei indeks ile karşılaştırıldığında kalp frekansı ile birlikte pre-load ve afterload gibi kalp yükünü artıran faktörlerden etkilendiğinden; klinik süreçte kullanılabilirliğini azaltmaktadır (60).

Miyokardiyal hasar belirlenmesinde insan ve veteriner hekimliğinde klinik tanısal yaklaşımların yanı sıra serum biyobelirteçlerinden de yararlanılmaktadır (Tablo-3). Bu amaçla geleneksel olarak CK-MB (CK'nın miyokardiyal izoenzimi) ve kardiyak troponinler kullanılırken, son zamanlarda serum natriüretik peptitler sepsis ilişkili kardiyak disfonksiyonun ele alınması ve değerlendirilmesinde ön plana çıkartılmışlardır (61-71). Köpeklerde CK-MB'nin kronik böbrek hastalıklarından etkilemesi ve miyokardiyum dışında farklı dokularda bulunması miyokardiyal hasarların ortaya konmasında dezavantajlar oluşturabilmektedir (71, 72).

Miyokardiyal hücre hasarı ile dolaşıma salınan kardiyak troponin I (cTnI) ve kardiyak troponin T (cTnT) salınımına yol açarak, iskelet troponin izomerinden farklı olarak miyokardiyal hasarda yüksek oranda spesivite ve sensitiviteye sahip bir biyobelirteç olarak değerlendirilmektedirler (73, 74). cTnI ve cTnT'nin kandaki düzeyleri standart diyagnoz ve risk tayininde kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan testler cTnI ve cTnT'nin birçok epitobuna karşı oluşan monoklonal antikör testleridir. Kardiyak troponinler miyokardiyal infarktüs ve diğer kardiyak hasarlar sonrasında ilk 3-4 saat içerisinde yükselmekte, 4-10 gün süre ile de dolaşımda yüksek konsantrasyonlarda kalmaktadırlar (75). Kardiyak

troponinler ve natriüretik peptidlerin miyokardiyal fonksiyonlar üzerine farklı bilgiler verdiği ortaya konmuştur (60). Troponin salınımı minimal miyosit hasarı veya hücre membran yapısal değişimlerini belirtirken, brain natriüretik peptid (BNP) duvar stresini ve fonksiyonel değişimleri ortaya çıkarmaktadır (60-61). Yaygın kullanılan biyobelirteçler (Tablo-3) yanında daha az kullanılan (magnezyum) ve halen araştırma konumunda olan serum indikatörleri de (serum kolin ve bütirilkolin esteraz (BChE) düzeyleri) bulunmaktadır (74).

Tablo – 3: Miyokardiyal hasar belirlenmesinde kullanılan serum biyobelirteçleri

Marker	Spesivite Sensitivite	Ortalama Pik Zamanı	Tanım
Troponin test	Miyokardiyal hasarda en sensitif testtir ve CK-MB'den tanısal süreçte daha popülerdir.	12 saat	Infarktüs sırasında miyositlerin sitozolik havuzlarından seruma 2-4 saatte salınır ve 7-10 gün yüksek kalır
CK-MB	İskelet kası hasarı mevcut değilse, relatif olarak spesifiktir.	5-7 saat	Bir çok dokuda yayılmıştır. 3 izoenzimi mevcuttur. Akut miyokardiyal yetmezlik için kullanılır. 8 gün içinde normale döner*.
Laktat dehidrogenaz (LDH)	Troponin kadar spesifiktir.	72 saat	Farklı izoenzimleri vardır ve farklı dokularda da bulunabilmektedir. Doku yıkımı ve hemoliz durumlarında da yükselir. 14 gün içinde normale döner.
Aspartat transaminaz (AST)	Kas hasarı ve karaciğere spesifiktir.		Kalp hasarı için spesifik değildir. Karaciğer fonksiyon testlerinden biri olarak kullanılır.
Miyogloblin	Miyokardiyal etkilenim için düşük spesifiteye sahiptir.	2 saat	Kas doku hasarı olduğunda dolaşımda yüksek miktarda bulunduğuandan spesifitesi azdır.

CK-MB: Kreatinin kinaz – miyokardiyal form

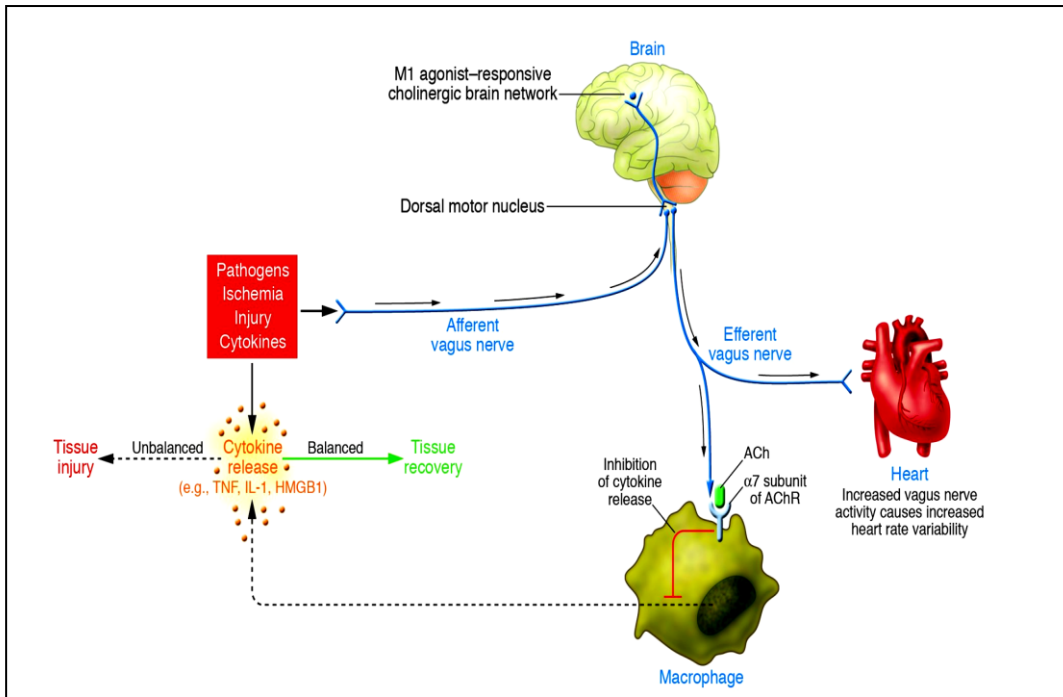
*Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VC, et al. Cardiac troponin I: A marker with high specificity for cardiac injury. Circulation, 88: 101–106, 1993.

Sepsis – Endotoksemi Tedavisinde Kolinerjik Sistemin Rolü: Sepsis/endotoksemi tedavisinde, günümüz koşullarının kapsamlı uygulamaları ve gelişmiş yoğun bakım olanaklarına rağmen, hala istenen sonuçlar alınamamaktadır. Bu nedenle alternatif tedavi modellerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir. Esansiyel, organik bir

besin katkısı olan kolin genellikle vitamin B kompleksi içinde sınıflandırılmaktadır. Kolin; hücre membranlarının yapısal bütünlüğü ve fonksiyonlarının devamlılığını sağlamak, kolinerjik nörotransmisyonu (asetilkolin sentezini) gerçekleştirmek ve metil grupları için primer donör olmak üzere üç temel fizyolojik görevde rol oynamaktadır (76). Mayör membran fosfolipidi olan fosfotidilkolin sentezinde bir ara metabolit ve kolin donörü olan CDP-kolin (citicoline) birçok ülkede inme (stroke), beyin travmaları ve ödemlerinde reçete edilmekte, Parkinson ve Alzheimer hastalıklarında kullanılabilirliği üzerine deneysel çalışmalar da devam etmektedir (77).

Diyet katkısı ya da intravenöz olarak kullanıldığında deney hayvanlarında bakteriyel endotoksinlere karşı gelişen vücut yanıtlarını düzenlemektedir. Kolinden zenginleştirilmiş dietlerin ratlarda endotoksik şok modelinde yaşam sürelerini artırdığı gösterilmiştir (79-81). Aksine kolin eksik dietle beslenen ratlarda endotoksine bağlı gelişen hepatotoksisite ve mortalitede belirgin artış oluşmuştur (79-80). Ayrıca, ratlarda intraserebroventriküler kolin uygulaması ile endotoksinin neden olduğu hipotansiyon, sentral nikotinik kolinerjik nörotransmisyon aracılığı ile geri döndürülmüştür (81). Kolinden zengin diyetle beslenen insanlarda inflamasyon göstergesi akut faz proteinlerinden CRP'nin plazma düzeyinin, kolinden fakir diyetle beslenen insanlara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (9). Son çalışmaların birinde (12) köpeklerde intravenöz kolin tedavisinin endotoksinin neden olduğu multi-organ hasarı ve TNF- α düzeyindeki yükselmeyi hafiflettiği gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada ise (13) intravenöz kolin uygulamasının (kolin klorür ya da CDP-kolin olarak) köpeklerde endotoksine bağlı trombosit sayılarındaki azalmayı hafiflettiği ve trombosit fonksiyonlarını düzelttiği rapor edilmiştir. Bunlarla birlikte İlçöl ve arkadaşları (14) kolinin köpek ve sıçanlarda sepsis/endotoksemiye bağlı hiperlipidemiye ve sıçanlarda endotoksemiye bağlı ölümleri azalttığını gösterirken, bu etkilerin nikotinik reseptör uyarılması ile ilgili olduğunu tartışmışlardır. Yakın zamanda başka bir grup tarafından farelerde yapılan çalışmada (10) endotoksin ve septik şok modellerinde intraperitoneal kolin tedavisi ile dolaşımda TNF- α ve high mobility group box 1 (HMGB1) protein yükselmesinin engellendiği ve yaşam sürelerinin arttığı rapor edilmiştir. Sıçanlarda vagalaktivasyonun nikotinik reseptör uyarımı aracılığıyla inflamatuvar mediatörlerin salınımını ve koagülasyon aktivasyonunu baskıladığı öne sürülmüştür (82-86). Bu bilgiler sepsis/endotoksemi olgularında yüksek mortaliteden sorumlu koagülasyon anormalitelerinin kolin tedavisi ile engellenebileceğini düşündürmektedir.

TNF- α , interferon ve IL-1 gibi pro-İnflamatuar sitokinlerin sepsisin erken dönem belirteçleri olarak kısa yarılanma sürelerine sahip olmaları, uzun süreli monitorizasyonlarda adı geçen parametrelerle tedavi etkinliğinin belirlenmesini güçleştirmektedir (87-88). Sepsis/endotokseminin geç dönem indikatörü olarak (ilk 48 saatte pik yapan) son zamanlarda ilgi uyandıran HMGB-1 proteininin serum düzeylerindeki değişimlerle tedavi etkinliğinin daha sağlıklı gözlenebileceği (89-90) öne sürülmüştür. HMGB-1 proteininin sentez ve salınımında kolin içeren ekstrasellüler bileşiklerin (lysophosphatidyl-choline) regülatör olduğu ileri sürülmüş (8, 91), ancak bu konuda yeterli literatür verisi oluşturulamamıştır. Mevcut bilgiler nöral kolinerjik anti-İnflamatuar yolun (cholinergic brain network) uyarılmasıyla efferent nervus vagus aracılığıyla kalp ve dolaşımdaki hücrelerin aktive edildiğini göstermektedir. Makrofajlar üzerinde bulunan nikotinik asetilkolin reseptörlerinin ($\alpha 7$ -subunit AChR) harekete geçirilmesiyle başta nükleer faktör kappa- B (NF- κ B) ve diğer sitokinler (TNF- α , ILs, HMGB-1) inhibe edilmekte, eş zamanlı olarak da kalpte muskarinik reseptörler aracılığıyla kalp hızı değişkenliği artırılmaktadır (8, 11) (Şekil-4).



Şekil-4: Kolinerjik beyin networkünün uyarılması ve asetilkolin reseptörleri aracılığıyla makrofajlarda sitokin (NF- κ B, TNF- α , ILs ve HMGB-1) mediyatör inhibisyonu, vagal uyarımın kalp hızı değişkenliğinde (heart rate variability) artma şekillendirmesi (8, 11).

Son zamanlarda plazma butirikolinesteraz (BChE) ve asetilkolinesteraz (AChE) düzeyleri de inflamasyonun (low grade inflammation) önemli indikatörü olarak gösterilmiştir (8, 91-96). Kolin nörotransmitter asetil kolinin (ACh) yapısına girip, vagal anti-inflamatuvar yolu aktif hale getirerek koruyucu etki göstermektedir (11, 96). İnflamasyon durumunda karaciğer ve eritrositlerden BChE ve AChE'nin salınımındaki artış nedeni ile plazma düzeyleri yükselir (97, 98). Bu durum ACh düzeyinin düşmesine yani ACh'nin koruyucu etkisinin (kolinerjik anti-inflamatuvar yolun) ortadan kalkmasına neden olmaktadır (91). İntravenöz kolin tedavisinin olumlu etkilerinin gözlenmesinde plazma BChE enzim aktivitesinin düzenleyici potansiyeli henüz literatürde net olarak ortaya konulamamıştır. BChE non-spesifik kolinesteraz (pseudochoolinesterase) olarak adlandırılırken, en yoğun bulunduğu dokular; karaciğer, sentral nervöz sistem, pankreas ve kan serumu olarak belirtilmiştir. AChE primer olarak nöronlarda lokalize olurken, BChE nöronlarla birlikte glial ve endotelyal hücrelerde lokalize olmaktadır. Ayrıca, BChE beyin fonksiyonlarının devamlılığında ACh'in idamesi için AChE ile sinerjizm göstermektedir (91).

Bu çalışmada endotoksin stresine maruz bırakılan köpeklerde;

- 1- Plazma HMGB-1 ve BChE düzeyinin belirlenmesi ile endotoksemi tanısı ve tedavisindeki öneminin ortaya konması
- 2- Miyokardiyal etkilenimin elektrokardiografik (EKG) muayeneler ile birlikte ekokardiografik olarak miyokardiyal sistolik zaman aralıkları ve Tei index ile ilk safhadan son safhaya kadar değerlendirilmesi, böylece hızlı ve güvenilir tanısal bir yaklaşım oluşturulması
- 3- Ekokardiografik parametrelerin (başta Tei indeks olmak üzere) sepsisin şiddetinin değerlendirilmesindeki etkinliğinin belirlenmesi
- 4- Akut faz proteinlerinin endotoksemi sürecindeki davranışlarının belirlenmesi ve intravenöz kolin uygulamasının akut faz yanıtlarını değiştirebilme potansiyelinin incelenmesi
- 5- İntravenöz kolinin tedavi edici etkinliğinin kardiyak biyobelirteçler (CK, LDH ve Magnezyum) ile monitorize edilebilmesi ve
- 6- Endotoksemilerde meydana gelen miyokardiyal disfonksiyonun kolin veya CDP kolin tedavisiyle engellenebilme veya şiddetinin azaltılabilme potansiyelinin ortaya konması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Materyal Seçimi:

Bu çalışmada, daha önce anabilim dalımızda gerçekleştirilen benzer çalışmalarda (12-17, 99) olduğu gibi, köpek endotoksemi modeli kullanılmıştır. Bu tercihte;

- Köpeklerin anatomik ve fizyolojik özelliklerinin yapılacak çalışma için uygun olması,
- İnsan ve hayvanlardaki fizyopatolojik durumu çok iyi taklit edebilmesi,
- Daha önceki çalışmalarımızda elde edilen verilerle karşılaştırma yapılabilmesi,
- Ölçümü düşünülen birçok parametre için yeterli kan örneklerinin toplanabilmesi,
- EKG ve ekokardiyografik muayeneler için ideal bir örnek oluşturması ve
- Bir model olarak bu projeden elde edilen verilerin insan ve diğer hayvanlardaki sepsis/endotoksemi olgularına aktarım potansiyelinin daha yüksek olması etkili olmuştur.

Tedavi monitorizasyonlarda, uygulanan ilaçların etkinliklerinin izlenebilmesinde belirli zamanlarda (projede belirtildiği gibi) klinik-labotaruvar çalışmalarına gereksinim duyulması, deneyin başlangıcından sonuna kadar (ölüm olmaksızın) tüm aşamalarında aynı objeden yararlanma zorunluluğu ve çalışmanın gerçeğe uygunluğu köpek modelinin seçilmesini gerekli kılmıştır.

Bu çalışmada 10-30 kg ağırlığında, 1-6 yaş aralığında toplam 36 melez, erkek köpek kullanılmıştır. Dişi köpekler, seksüel sikluslarının bazı biyokimyasal parametrelerde fizyolojik değişimlere yol açabileceği riski nedeni ile (100, 101) çalışma kapsamına alınmamıştır. Köpeklerin kontrollü bir merkezden (Nilüfer Belediyesi Hayvan Barınağı – Bursa) temin edilmelerini takiben klinik, hematolojik, serum biyokimyasal ve kardiyolojik muayeneleri temelinde rutin kontrolleri yapılarak sağlıklı olanları çalışmaya dâhil edilmiştir.

Bu çalışma T.C. Çevre Orman Bakanlığının (Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü) 18.12.2008 tarihli ve 394/9374 sayılı “Belediye bakımevlerinde bulunan kedi ve köpeklerin; bu kurumdan yazılı izin alınması koşuluyla deneysel amaçlı kullanılabilmesini” içeren yazısını takiben Bursa Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan yasal prosedür ve hayvan hakları çerçevesinde onay almıştır (10.02.2009 tarih ve karar no: 2009 – 01 / 08).

Deney Protokolü ve Uygulamaları:

- 1- Köpekler U.Ü. Veteriner Fakültesi'nin deney hayvanları için organize edilmiş, akreditasyon onayını almış ünitelerinde barındırılmıştır.
- 2- Deney başlamadan en az 10 gün önce köpekler kafeslerine yerleştirilmiş, ortamlarına alışmaları sağlanırken; klinik, hematolojik, serum biyokimyasal ve kardiyolojik yönlerden sağlık kontrolleri yapılarak çalışma için uygun olup olmadıkları değerlendirilmiştir.
- 3- Deneylerin sağlıklı yürüebilmesi için deneyler arası yeterli zaman bırakılmış, her deney 09:00'da başlatılmıştır.
- 4- Çalışmada iki adet ana grup (kontrol ve test grupları) ve her ana grupta üçer adet alt grup olmak üzere toplam 6 grup organize edilmiştir:

Tablo – 4: Kontrol ve test gruplarının dağılımı

Kontrol grupları:	Test grupları:
I - Salin grubu	IV - LPS (endotoksin) grubu
II - Kolin grubu	V - LPS + Kolin grubu
III - CDP-kolin grubu	VI - LPS + CDP-Kolin grubu

Tablo – 5: Gruplarda çalışılan denek sayısı (n) ve uygulama detayları

Grup	n	Uygulama Detayları
Salin grubu	6	NaCl %0,9'luk solüsyondan [†] 0.2 ml/kg, 1 dk, i.v.enjeksiyon; 5.dk sonra aynı uygulamanın tekrarı
Kolin grubu	6	NaCl %0,9'luk solüsyonu (0.2 ml/kg, i.v., 1 dk) takip eden 5.dk da kolin klorür (Sigma, Amerika) uygulanmıştır. Kolin klorür (20 mg/kg)* NaCl %0,9'luk solüsyon (0.2 ml/kg) içinde homojenize edilmiş, 1 dk da yavaş i.v. verilmiştir.
CDP-Kolin grubu	6	NaCl %0,9'luk solüsyon (0.2 ml/kg, i.v., 1 dk) uygulamasını takip eden 5.dk da CDP-kolin (Fluka, Japonya) uygulanmıştır. CDP-kolin (70 mg/kg)** NaCl %0,9'luk solüsyon (0.2 ml/kg) içinde homojenize edilmiş ve 1 dk da yavaş i.v. verilmiştir.
LPS grubu	6	Endotoksin*** sublethal dozda (0.02 mg/kg, i.v.) %0,9'luk NaCl solüsyonu (0,2 ml/kg) içinde homojenize edilip i.v. yolla 1 dk da verilmiştir. Bunu takip eden 5. dk da %0,9'luk NaCl solüsyonundan 0.2 ml/kg, i.v., uygulanmıştır.
LPS + Kolin grubu	6	Endotoksin, LPS grubundaki gibi uygulanmış; takiben 5. dk da kolin grubundaki gibi kolin klorür verilmiştir.
LPS + CDP-Kolin grubu	6	Endotoksin, LPS grubundaki gibi uygulanmış; takiben 5. dk da CDP-kolin grubundaki gibi CDP-kolin verilmiştir.

[†] + Baxter – İstanbul * , ** belirtilen dozlar önceki çalışmalardan (12-14, 17) örneklenmiştir. ****E. coli* 055:B5, Sigma

5- Endotoksin enjeksiyonunu takiben gruplarda (V ve VI. gruplar) belirtilen ilaçların (kolin klorür ve cdp-kolin) dışında daha önceki benzer çalışmalarda (13, 15-17) olduğu gibi herhangi bir ilaç uygulanmamıştır.

6- Çalışma 48 saatlik monitorizasyon olarak planlanmıştır. Her grupta tüm deneklerden tedavi öncesi (0.saat - baseline) ve sonrası 0.5 saat, 1.saat, 4.saat, 24.saat ve 48.saatlerde olmak üzere 6 defa kan örnekleri toplanmıştır.

7- Gözlem süresince (toplam 48 saat), örnekleme zamanları arasında köpekler bireysel kafeslerine alınmış, günlük ihtiyaçları (su, yemek, dolaştırma vb.) gerektiği gibi karşılanmıştır.

8- Çalışma planında gruplar arasındaki uyum açısından gruplar aynı (mevsimsel) dönemde deneyler yapılarak standart hale getirilmiştir. Deney süresince ölüm şekillenmemiştir.

Örneklerin Toplanması ve Ölçümler:

Klinik Muayeneler: Belirtilen zamanlarda öngörülen klinik parametreler; beden sıcaklığı, kapillar dolum süresi, kalp ve solunum frekansı ve non-invasif ortalama kan basıncı tespit edilmiştir.

Laboratuvar Muayeneleri: Klinik muayeneleri takiben hemogram, serum biyokimyasal ölçümler, kan gazları ve koagülasyon parametrelerinin belirlenmesi için sefalik venlerden tekniğine uygun olarak vakumlu tüplere kan örnekleri alınmıştır.

1. Hemogram: Antikoagülanlı (EDTA) kan örneklerinde vakit geçirmeden klinik laboratuvarında bulunan otomatik kan sayım cihazı (CellDyn – 3500, Abbott) kullanılarak tam kan sayımı yapılmıştır. Tam kan sayımının kapsadığı parametreler:

1. Lökogram: Total lökosit sayısı (WBC) ve formül lökosit değerleri
2. Eritrogram: Hematokrit (Hct), hemoglobin (Hgb), eritrosit sayısı (RBC), ortalama RBC hacmi (MCV), ortalama RBC Hgb (MCH), ortalama RBC Hgb konsantrasyonu (MCHC) ve RBC dağılım genişliği (RDW). Çalışma hedefine uygun olarak sadece Hct değeri kullanılmıştır.
3. Trombogram: Trombosit (PLT) sayısı, ortalama PLT volümü (MPV), plateletcrit (PCT) ve PLT dağılım genişliği (PDW). Çalışma hedefine uygun olarak sadece PLT sayıları kullanılmıştır.

2. Serum Biyokimyasal Parametreler: Serum örnekleri zaman kaybı olmaksızın otomatik biyokimyasal analiz cihazında (VetScan – Abaxis), enzim aktiviteleri (aspartat

aminotransferaz [AST], alkalen fosfataz [ALP], alanine aminotransferaz [ALT], kreatinin kinaz [CK] ve amilaz), serum proteinleri (albümin, total protein), renal hasar belirteçleri (kan üre nitrojen [BUN] ve kreatinin [Cr]), glukoz ve total bilirubin yönünden değerlendirilmiştir. Serum lipidleri (total, HDL ve LDL kolesterol ile trigliserid düzeyleri) otomatik klinik analizörü (Architect ci8200; Abbott GmbH Co KG, Wiesbaden, Almanya) ile ticari kitlerin kullanımı ile (Abbott GmbH Co KG) Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında belirlenmiştir.

Dissemine intravaskular koagülasyon (DIC) skorlarının hesaplanması için sodyum sitratlı tam kan örneklerinden plazmalar elde edilmiş, analiz edilinceye dek derin dondurucuda (-18 °C) bekletilmişlerdir. Bu skorların hesaplanması için; prothrombin zamanı, aktif parsiyal tromboplastin zamanı, fibrinojen, anti-thrombin ve d-dimer düzeyleri ticari kitlerin kullanımı ile otomatik koagülasyon ölçüm cihazında belirlenmiştir. DIC tanımlaması için bir önceki yayınımda (17) belirttiğimiz modifiye skorlandırma sistemi kullanılmış; ≥ 7 değeri DIC varlığı olarak yorumlanmıştır (bkz, Tablo -2).

3. Akut Faz Proteinleri ve Butirikolinesteraz (BChE): Serum akut faz proteinlerinin (C reaktif protein - CRP, haptoglobulin - Hp ve seruloplasmin - Cp) düzeyleri ile BChE düzeyleri köpeğe spesifik kitlerin kullanıldığı ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. BChE ölçümü için 100 mikrolitre EDTA'lı kan örnekleri içersine 1 ml distile su konulmuş ependorf tüplerine aktarılarak ölçüm yapıncaya dek derin dondurucuda bekletilmişlerdir. Bu analizler Dr. Jose Ceron ve ekibi tarafından Veteriner Klinik Patoloji laboratuvarında (Veteriner Fak., Murcia Univ., İspanya) hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

CRP konsantrasyon tayini; köpeklerde kullanımı için validasyon çalışması yapılan (103) ve spesifik canine ELISA kiti (Tridelta Phase range canine CRP kit, Tridelta Development Ltd, Brey, İrlanda) ile 0.98 oranında korelasyonu bulunan, human immunoturbidimetric kiti (CRP OSR 6147 Olympus Life and Material Science Europe GmbH, Lismeehan, O'Callaghan's Mills, Co. Clare, Ireland) ile gerçekleştirilmiştir. Hp konsantrasyonu; köpeklerde kullanımı için validasyon çalışması yapılan (102) kolorimetrik metod (Tridelta Phase range haptoglobin kit, Tridelta Development Ltd) ile belirlenmiştir. Seruloplasmin (Cp) konsantrasyonu; köpek örneklerinde validasyon çalışması yapılan (103) ve in vitro p-phenyldiamine ile Cp arasında oksidaz aktivitesine dayanan spektrofotometrik metod ile belirlenmiştir.

BChE aktivitesi literatüre (104) uygun bir şekilde, otomatik analizöre (Olympus AU2700, Olympus Diagnostica GmbH, Hırvatistan) adapte edilerek ölçülmüştür.

4. High Mobility Group Box 1 (HMGB-1) Protein Analizi: HMGB-1 protein tayini Western Blot ve ELISA yöntemleri ile Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda (Tıp Fakültesi, Uludağ Üniversitesi – Bursa) yapılmıştır.

A) İmmunelektroforez Yöntemi (Western Blotting): Toplanan kan örneklerinden ayrılan 100 µl serum örneği eşit hacimde KFL buffer ile karıştırılarak 5 dakika kaynar suda inkübe edilerek protein zincirlerinin açılması ve düzleşmesi sağlanmıştır. Bu sayede vertikal elektroforez sistemi ile jellere yüklenen eşit miktarda protein içeren serum örneklerindeki proteinlerin jel içerisinde göçü sağlanmıştır. Süre bitiminde jeldeki proteinlerin PVDF membran üzerine transferine (400 miliamperde 45–60 dk) geçilmiş ve transfer sonrasında PVDF membran 45 dakika boyunca %5 yağsız süt tozu ile nonspesifik bağlanmaların önüne geçilmesi için bloke edilmiştir. Ardından membran (Tris buffer) TBST ile 3 kez 10'ar dakika yıkanarak membran üzerine primer antikor (Anti-tavşan HMGB1 antikor, Sigma, St. Louis, MO, USA) uygulanmıştır. Oda sıcaklığında bir gece boyunca primer antikor ile inkübe edilen membran tekrar TBST ile 3 x 10'ar dakika yıkandıktan sonra horseradishperoxidase (HRP) işaretli sekonder antikor (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) ile 1 saat süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde membran Western Blotting ECL Detection kit (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) ile karanlık ortamda 1–2 dakika inkübe edilmiş ve membranlarda oluşan pozitif protein bantları Film Baskı Makinesi kullanılarak fotoğraf filmine aktarılmıştır. İmmunblot sonuçlarının değerlendirilmesinde Amerikan "National Institute of Health (NIH)" lisanslı Image J programı kullanılmıştır. Primer antikor ile belirlenen 30 kD civarındaki protein bantlarının optik dansitesi kaydedilmiş; LPS grubu kontrol grubu olacak şekilde, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarına ait optik dansiteler kontrolün yüzdesi olarak bildirilmiştir.

B) HMGB-1 Protein Düzeylerinin Spektrofotometrik Olarak Belirlenmesi (ELISA): Bu amaçla ticari bir ELISA kiti (USCN Life Science Inc., Wuhan, PRC) kullanılmıştır. Kuyucuklarında HMGB1 proteinine karşı antikor tutturulmuş olan 96 kuyucuklu plaka içeren bu kitin prosedürü takip edilerek sandviç ELISA yöntemiyle serum örneklerindeki HMGB1 proteini spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve sonuçlar pg/ml cinsinden verilmiştir. Sağlıklı köpeklerin (kontrol grubu deneklerin) serumlarında ölçülebilen

HMGB-1 proteini olmadığından örnekler bu ölçümün dışında tutulmuştur. Test gruplarının baseline ve takip eden süreçlerinde serum örneklerinde ölçülebilecek düzeyde HMGB-1 proteini olmadığına, istatistik değerlendirme yapabilmek için bu çalışmada ölçülebilen en küçük değer (1408 pg/ml) tercih edilmiştir (105).

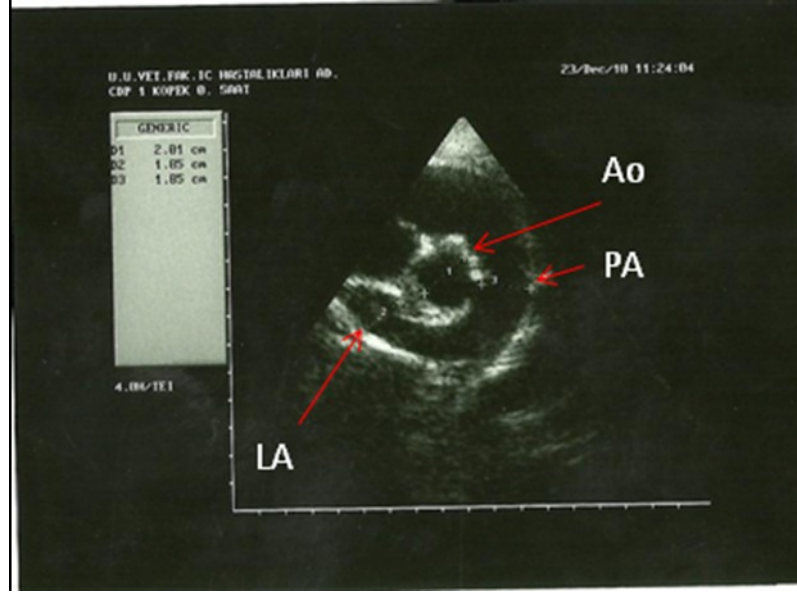
5. Kan Gazları: Antikoagülanlı kan örnekleri klinik laboratuvarında bulunan kan gaz analizörü (IRMA TruePoint analysis system, ITC, NJ-USA) ile pH, parsiyal oksijen basıncı (pO₂) ve parsiyal karbondiyoksit basıncı (pCO₂) yönünden değerlendirilmiştir.

6. Kardiyolojik Muayeneler:

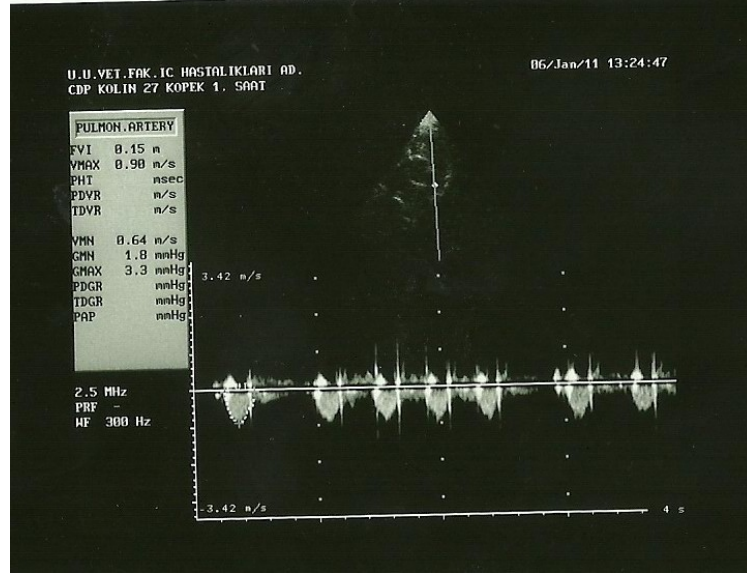
A- Elektrokardiyografi – EKG: EKG muayenesi için ekstremitte derivasyonları kullanılmış, II. derivasyonda ritim analizi ve ölçümler yapılmıştır (Esoate, P80, İtalya). Bilinen yöntemler ile amplitüd (voltaj – mV) ve süreler (saniye olarak) belirlenmiştir: P, R ve T dalgaları voltaj olarak; PR, QRS ve QT intervalleri de süre olarak değerlendirilmiştir. Kolin uygulaması sonrası olası erken dönem kolinerjik sistem etkilenimlerini izleyebilmek ve elektriksel ileti sistemini değerlendirebilmek adına örnekleme zamanlarına sadece EKG muayenesinde uygulaması sonrası 1. ve 15. dakikalar ilave edilmiştir.

B- Ekokardiyografi: Ekokardiyografide (Carisplus, renkli Doppler, Esoate, İtalya) sedasyon kullanmaksızın standart görüntüleme teknikleri (sağ parasternal kısa ve uzun eksen görüntüleri; sol parasternal 4 - 5 boşluk görüntüleri) ile kardiyak geometrik ve fonksiyonel ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Sağ parasternal kısa eksen aort kapak düzeyinden geometrik olarak aort (Ao), sol atriyum (left atrium – LA) ve pulmoner arter (pulmonary artery – PA) internal çapları belirlenmiş (Şekil-5), takiben aynı pencerede PA'nın Doppler akım karakteristiği değerlendirilmiştir (Şekil-6). Bu değerlendirmede ultrason kesiti PA kapakçıklarının median hattına – akıma paralel düşürülmüş ve imleç kapak açılımının proksimaline lokalize edilmiştir. Bu noktadan sürekli dalga (continius wave - CW) Doppler modunda maksimal velosite (Vmax) değeri elde edilmiştir. Hesaplamalar, ilgili akımı manuel olarak taraması ve komut butonuna basmasını takiben otomatik olarak oluşturulmuştur.



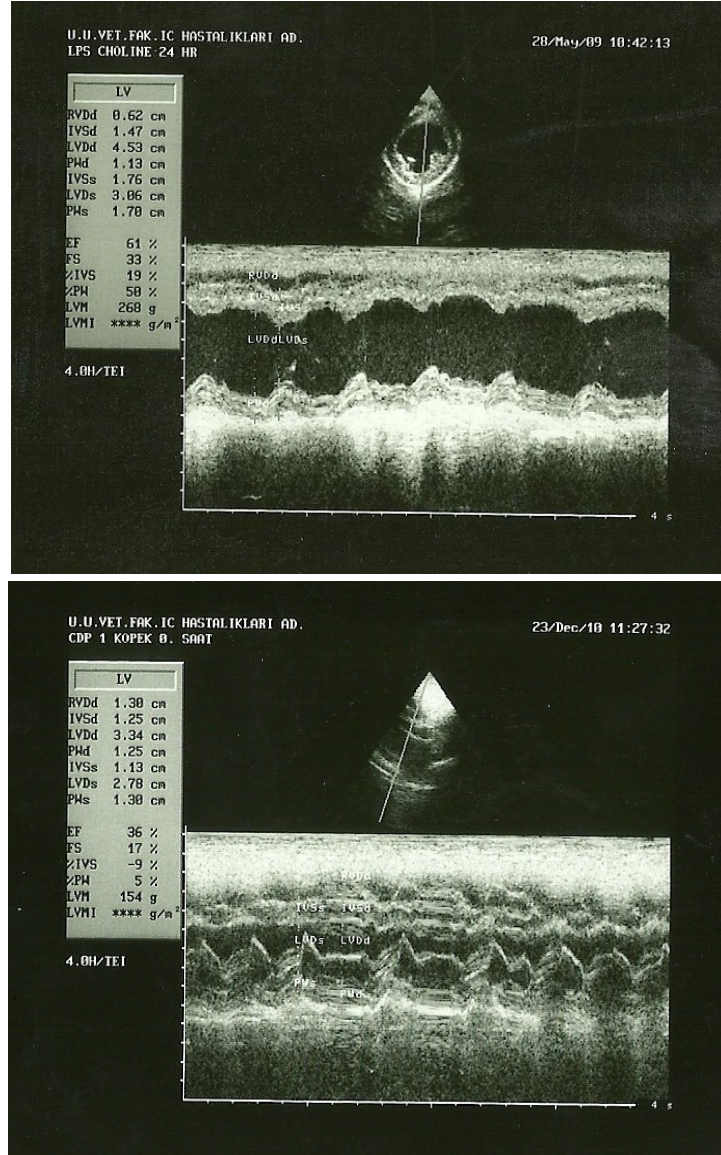
Şekil-5: Sağ parasternal kısa eksen aort kapak düzeyinden geometrik olarak aort (Ao), sol atriyum (left atrium – LA) ve pulmoner arter (pulmonary artery – PA) internal çaplarının belirlenmesi.



Şekil-6: Sağ parasternal aort kapak düzeyinden pulmoner arter akım karakteristiğinin belirlenmesi.

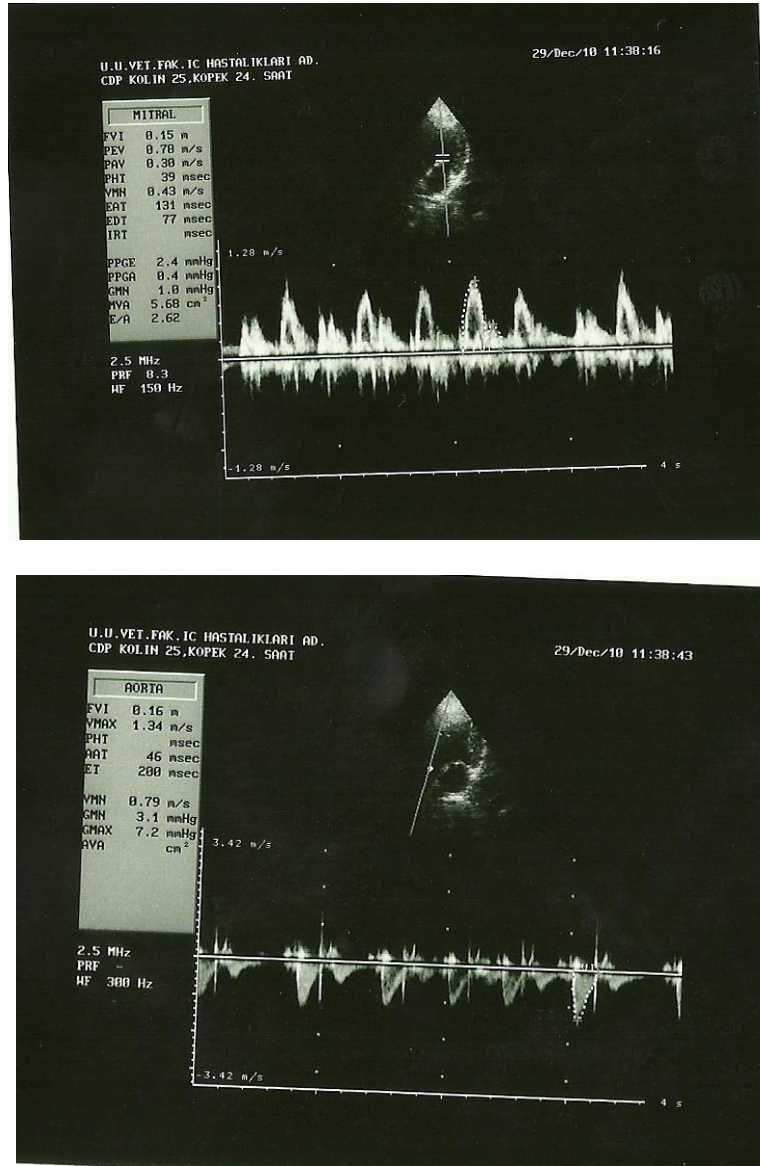
Sağ parasternal kısa eksen görünümünden papillar kas düzeyinde kısa süreli kayıt alınmış, böylece sistolik ve diyastolik dönemlerde sol ventrikül (LV) ve ilgili yapıların değişimlerine olanak sağlanmıştır (Şekil-7). Diyastol (LV'nin maksimum genişlediği an) ve sistol dönemlerinde (LV'nin maksimum kontraktıl anı) görüntü sabitlenerek; LV

internal boşluk diyastol (LVDD) ve sistol çapları (LVSD), interventriküler septum diyastol (IVSDD) ve sistol çapları (IVSSD) ile LV duvar diyastol (LVPWDD) ve sistol çapları (LVPWSD) değerlendirilmiştir. Bu ölçümler sırasında otomatik olarak fraksiyonel kasılma (FS), ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve stroke volüm (SV) de hesaplanmıştır. Kalp debisi (C.O.) manuel olarak ilgili zamandaki kalp frekansı değeri ile SV'ün çarpımından (106) elde edilmiştir.



Şekil-7: Sağ parasternal kısa eksen (üst) ve M-mode ölçümleri (alt) ile sol ventriküler yapıların çapları ile fraksiyonel kasılma (FS) ve ejeksiyon fraksiyonu (EF) değerlerinin belirlenmesi.

Sol parastrenal apikal 4 ve 5 boşluk görüntüleri kullanılarak mitral ve Ao akım karakteristikleri değerlendirilmiş (Şekil-8), takiben Tei index hesaplanmıştır. Mitral akım ölçümü için kranial 4 boşluk görünümü tercih edilmiş; sistol zamanında ultrason imleci mitral kapak açılımının proksimaline lokalize edilmiş, Pulsed wave (PW) Doppler modunda E/A oranı elde edilmiştir. Ao akım ölçümü için kranial 5 boşluk görünümüne geçilmiştir. Ultrason kesiti Ao kapak açılımının medialine lokalize edilerek akıma paralel düşürülmüş ve optimum görüntü için kısa süreli kayıt yapılmıştır. Baseline çizgisinin altında oluşan Ao akımının manuel olarak kullanıcı tarafından taranmasıyla Vmax ile birlikte sistolik zaman aralıkları olan ejeksiyon zamanı (AoET) ve pre-ejeksiyon zamanı (PEP) değerleri ortaya konmuştur.



Şekil-8: Sol parastrenal kranial 4-5 boşluk görünümünden sistol sırasında mitral (üst) ve aort akım karakteristiklerinin belirlenmesi.

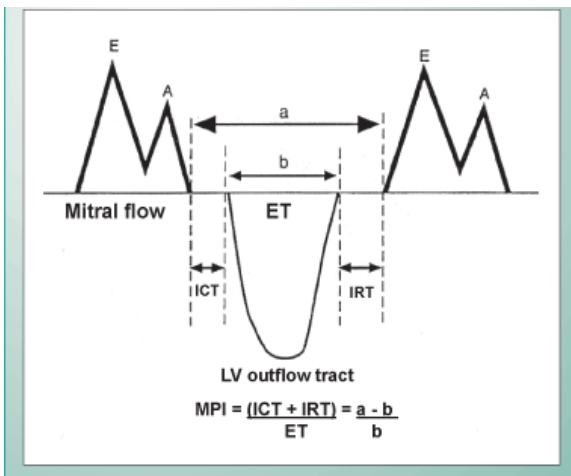
Bu çalışmada sistolik zaman aralıkları olarak pre-ejeksiyon süresi (pre-ejection period [PEP]), LV ejeksiyon süresi (LVET), PEP/LVET oranı ve sirkumferansiyal fiber kısalma hızı (circumferential fiber shortening velocity [Vcf]) değerlendirilmiştir. PEP ve LVET değerleri sol parasternal 5 boşluk penceresi aort kapak üzerinden CW Doppler akım görüntülerinden modifiye edilerek hesaplanmıştır. Bu amaçla baseline çizginin altında kalan ve birbirini takip eden iki aort akımı arasındaki süre PEP değeri (milisaniye – ms), bir akımın başlangıcından bitimine kadar olan süre de LVET değeri (ms) olarak kabul edilmiştir. PEP/LVET oranı, manuel olarak hesaplanmıştır. Vcf değeri literatürde (106) belirtildiği gibi manuel olarak hesaplanmıştır:

$$Vcf (\text{circ/sn}) = \frac{EDD - ESD}{EDD} \times LVET$$

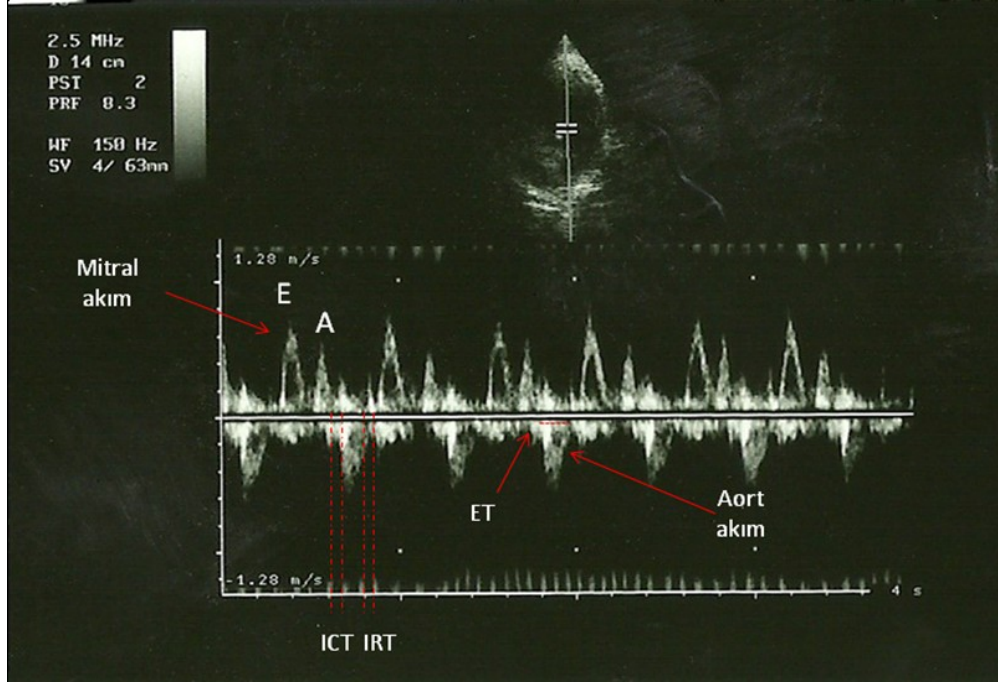
Bu formülde EDD end-diyastol çapını, ESD end-sistol çapını ve LVET de LV ejeksiyon süresini ifade etmektedir. Tei indeks (miyokardiyal performans indeksi) bir önceki çalışmamızda (60) belirtildiği gibi sistolik ve diyastolik fonksiyonel kardiyak parametrelerin (sistolik zaman aralıkları) kombinasyonundan hesaplanmıştır (Şekil-9):

$$ICT + IRT / ET$$

Bu hesaplama için sol parasternal pozisyonda kranial 5 boşluk görüntüsünde örneklem hacmi Ao çıkışı ile mitral kapak açılımının tam ortasına lokalize edilmiş ve "Pulsed" dalga Doppler ekokardiyografi (PDDE) moduna geçilmiştir. Bu sayede baseline çizgisinin üstünde mitral akım E ve A dalgaları, altında da Ao akım elde edilmiştir (Şekil-10). Mitral A dalgası bitiminden Ao akım başlangıcına olan süre isovolemik kontraksiyon zamanını (isovolemic contraction time – ICT), Ao akımının bittiği noktadan ve baseline çizgisi üzerinden mitral E dalgasının başlangıcına olan süre isovolemik relaksasyon zamanını (isovolemic relaxation time – IRT) verirken, Ao akımının baseline hattında başından bitimine kadar olan süre de ejeksiyon zamanını (ET) temsil etmektedir.



Şekil-9: Tei indeksin hesaplanmasında kullanılan parametreler ve ekokardiyografik görünümün şematize edilmesi (Cunha et al. Arqentina and Brasilian Cardiology, 87: 5, 615-622, 2006).



Şekil-10: Bu çalışmada Tei indeksin hesaplanması ve ilgili parametrelerin gösterimi

C- Kardiyak Biyobelirteçler: Serum kardiyak biyobelirteçleri olarak kreatinin kinaz (CK), CK-miyokardiyal isoenzim (CK-MB), laktat dehidrejenaz (LDH), LDH'ın miyokardiyal isoenzimi betahidroksibutrik asit dehidrejenaz (BHBD) ve kardiyak troponin I (cTnI) düzeyleri Dr. Jose Ceron ve ekibi tarafından referans bir laboratuvarında (Vet Clin Pathology, Murcia Univ. – Spain) belirlenmiştir. Serum CK, LDH ve magnezyum düzeyleri ticari kitlerin (Olympus LTD) kullanımıyla otomatik analizörde (Olympus A400), cTnI düzeyleri de köpekler için valide edildikten sonra DPC Immulite analizöründe (Diamond Diagnostic - USA) tespit edilmiştir.

İstatistiksel Analizler: Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Tekrarlanan ölçümler için varyans analizi (repeated measure ANOVA) ile birlikte ikili ve kontrol grubuna göre karşılaştırmalar için Holm-Sidak testleri kullanılmıştır (SigmaStat 3.5). Yüzdelerik fark hesaplamalarında percent change calculator'dan yararlanılmıştır. Korelasyon çalışmasında pearson product – moment correlation metodu kullanılmıştır. İki grup karşılaştırmalarında *student t testi*; DIC skorlarında ise non-parametrik (Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks) testler kullanılmıştır. Grafikler SigmaPlot programı (2000 – 6.1, SPSS Inc.) ile oluşturulmuş; $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Klinik Bulgular: Beden sıcaklığı, kalp ve solunum sayıları ile ortalama kan basıncı (MAP) değişimleri Tablo-6'da gösterilmiştir. Beden sıcaklığı kontrol gruplarında (salin, kolin ve cdp-kolin) önemsiz dalgalanmalar göstermiştir (Tablo-6a). Test gruplarında LPS'ye bağlı olarak ilk 0,5.saatten itibaren istatistiksel olmayan bir yükselme saptanmış ($39,8 \pm 0,3$ °C; 4.saat); bu yükselme cdp-kolin uygulaması ile sırasıyla 24. ($38,8$ °C \pm 0,0) ve 48. saatlerde ($39,0 \pm 0,4$ °C) baseline değerlere ($38,8 \pm 0,1$ °C) döndürülmüştür. LPS + Kolin grubunda 24. saat değeri ($40,1 \pm 0,4$ °C), LPS grubuna göre istatistiksel düzeyde anlamlı olmamakla birlikte dikkate değer ($P = 0,064$) ölçüde farklı bulunmuştur.

Kalp frekansı cdp-kolin uygulaması sonrası kısa süreli azalma göstermiş, ancak bu değişimler istatistiksel açıdan çalışma süresince önemsiz düzeyde kalmıştır (Tablo-6b). LPS grubunda 48.saatte hem bu grubun 0.satine (114 ± 6) hem de diğer grupların 48.saatlerine ($86 \pm 9 - 108 \pm 6$ /dk aralığı) göre önemli sayılabilecek bir artış tespit edilmişken, kolin gruplarında 24-48.saatlerde baseline değerlere yakın veriler elde edilmiştir.

Kolin uygulaması ilk örnekleme zamanında solunum sayısını arttırmış (25 ± 2 den 43 ± 12 /dk.), bu artışın cdp-kolin grubunda oluşmadığı gözlenmiştir (Tablo-6c). Cdp-kolin LPS'ye bağlı solunum sayısı artışını düzenlemiş ve baseline limitlerde kalmasına katkı vermiştir, kolin uygulamasına bağlı olarak 0,5-1.saatlerde (37 ± 6 ve 47 ± 10 /dk, sırasıyla) istatistiksel önemde olmayan yüksek değerler elde edilmiştir.

Kolin ve cdp-kolin uygulamalarına bağlı olarak MAP değerlerinde standart hatanın yüksek olmasından dolayı istatistiksel düzeyde önemli değişimler belirlenememiştir (Tablo-6d). MAP kolin enjeksiyonlarını takiben ilk 0,5. saatte baseline değerlere göre hafif düzeyde yükselmiş, daha sonra kolin grubunda düşme, cdp-kolin de ise yüksek düzeyde kalmaya devam etmiştir. LPS uygulaması köpeklerde MAP değerini belirgin şekilde düşürmüştü ($0,5 - 4$. saat; $p < 0,001$), 24. saatten itibaren baseline değerlere geri dönmüştür. Kolin ve cdp-kolin uygulamaları LPS ye bağlı tansiyon değişimlerini minimize etmiş, 48 saat süresince önemli farklılıklar oluşmamıştır.

Belirtilen bu parametrik bulguların yanı sıra kolin uygulamalarına bağlı olarak kolinerjik sistem aktivasyonu ile ilgili olarak ilk dakikalarda salivasyon, lakrimasyon, kusma ve/veya defekasyon daha sonra ishal ve korku-endişe durumları belirlenmiştir. Bu belirtilerin cdp-kolin uygulamalarında daha hafif olduğu ya da görülmediği not edilmiştir.

İntravenöz kolin uygulamasına bağlı fizyolojik yanıtlar ilk dakikada başlayıp, 15. dakika içinde sonlanmış; dolayısıyla 0,5. saat muayenelerinde klinik belirtiler ortadan kalkmıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde iştah ve su alımında kolin ve CDP kolin gruplarında ilk 1 saatin içinde normale dönüşler gözlenmiştir. Test gruplarından LPS grubunda su alımının 24. saatte normale döndüğü, iştahsızlığın ise 24-48 saat kadar devam ettiği belirlenmiştir. LPS + kolin ve LPS + CDP kolin gruplarında ise su alımının ve iştahın 24 saatin içinde normale döndüğü not edilmiştir.

Laboratuvar Bulguları

Hematolojik Bulgular: Tam kan sayımı analizlerinden sepsis/endotoksemiye karakterize etmede en çok kullanılan parametreler; total lökosit sayısı (WBC), hematokrit yüzdesi (Hct) ve trombosit sayısı (Tablo-7) ile birlikte nötrofil ve lenfosit sayıları (Tablo-8) istatistiksel açıdan değerlendirmeye alınmıştır.

WBC sayıları kontrol gruplarında çalışma süresince önemsiz varyasyonlar göstermiştir (Tablo-7a). LPS uygulaması öncesi değer ile ($10.521 \pm 1.667/\mu\text{L}$) sonrası değerler arasında önemli farklılıklar tespit edilmiş; 0,5-1. saatte belirgin lökopeni ($2.989 \pm 0.997/\mu\text{L}$; $p < 0,001$), 4. saatte baseline değerlere yaklaşıma ($10.582 \pm 5.426/\mu\text{L}$) ve 24-48. saatlerde ise lökositosis ($33.000 - 21.900 \pm 5.283 - 5.945/\mu\text{L}$; $p < 0,001$) saptanmıştır. Kolin uygulamalarının (kolin klorür ve cdp-kolin olarak) LPS'ye bağlı oluşan WBC yanıtlarında önemli değişime yol açmadığı gözlenmiştir. Son örnekleme zamanında (48.saat) LPS + Kolin gruplarındaki WBC değerlerinin, LPS grubuna göre daha yüksek olduğu da dikkat çekmiştir. LPS alan köpeklerde ilk 4 saat içinde lökopeni ile birlikte nötropeni - lenfopeni (0,5 - 4 saat), takiben lökositosis ile birlikte nötrofilisi tespit edilmiştir (Tablo-8a). LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında lökositosis ve nötrofilisi tabloya hâkim olmasına rağmen, LPS grubunda gözlenen persistent lenfopeni ortadan kalkmıştır (Tablo-8b).

Hct değeri kontrol gruplarında (salin, kolin ve cdp-kolin) çalışma süresince önemsiz varyasyonlar göstermiştir; 0,5 - 1.saat örnekleme zamanlarında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte ortalama değer olarak Kolin grubunda baseline verilerine göre kısmen yükselme, CDP-Kolin grubunda ise düşme tespit edilmiştir (Tablo-7b). LPS uygulaması belirgin Hct yükselmesine ($47 \pm 1\%$ den $61 \pm 6\%$ 'ya) neden olmuş, bu yükselme 4.saatte istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,01$) düzeye erişmiştir. LPS + kolin gruplarında farklı yanıtlar

alınmıştır: LPS + Kolin klorür uygulaması ilk 4 saatte, yalnız LPS verilen gruba paralel davranış göstermiş, takiben 24-48 saatlerde azalarak baseline değerlere yaklamıştır. Hct yüzdesinin LPS + Cdp-Kolin grubunda, kendi baseline değerlerine göre 48 saat süresince önemsiz varyasyonlar gösterdiği, gruplar arası irdelendiğinde de 4. ($p<0,001$), 24. ($p<0,05$) ve 48. saatlerde ($p<0,05$) LPS ve LPS + kolin grubu değerlerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo-7b).

Trombosit sayıları ile ilgili değişimler Tablo-7c’de verilmiştir. Trombosit sayıları kontrol gruplarında (salin, kolin ve cdp-kolin) çalışma süresince önemsiz varyasyonlar göstermiştir. Trombosit sayıları ($\times 10^3$) baseline olarak (Mean \pm SE) Salin grubunda $355 \pm 35/\mu\text{L}$, Kolin grubunda $362 \pm 61/\mu\text{L}$, Cdp-Kolin grubunda da $399 \pm 52/\mu\text{L}$ olarak tespit edilmiştir. LPS grubunda; LPS öncesi ($258 \pm 53/\mu\text{L}$) ve sonrası (0,5. saat: $153 \pm 58/\mu\text{L}$, $p<0,01$; 1.saat: $143 \pm 60/\mu\text{L}$, $p<0,01$) zamanlarda trombosit sayılarında belirgin azalma saptanmış; 4-48.saat aralığında baseline değerlere dönmüştür. LPS + Kolin gruplarında (kolin klorür ve cdp-kolin) LPS grubunda ilk 1 saatte trombosit sayılarında gözlenen dramatik değişimler oluşmamıştır (Tablo-7c).

Serum Biyokimyasal Bulgular: Karaciğer enzimleri ile ilgili değişimler Tablo-9, renal perfüzyon belirteçleri Tablo-10, lipid profili Tablo-11 ve serum glukoz ile total bilirubin değerleri de Tablo-12’de gösterilmiştir.

Karaciğer Enzimleri: Tablo-9’da görüldüğü gibi karaciğer enzimlerinden ALT, AST ve ALP’nin serum düzeyleri kontrol gruplarında (Salin, Kolin ve CDP-Kolin) çalışma süresince önemsiz varyasyonlar göstermiştir. LPS uygulamasına bağlı olarak ALT (Tablo-9a) ve AST (Tablo-9b) ilk 4 saatte kadar yükselip pik değerine ulaşmakta (193 ± 20 IU/L ve 640 ± 252 IU/L, $p<0,001$, sırasıyla), takiben (24-48 saat) azalma gösterip baseline değerlere dönme eğiliminde olmaktadır. ALP ise ilk 4 saatteki yükselmeyi (174 ± 56 IU/L; $p<0,001$) takiben 24. saatte de yüksekliğini korumuş (170 ± 28 IU/L; $p<0,001$), 48.saatte de kısmen azalma göstermiş (130 ± 11 IU/L; $p<0,01$); ancak buna rağmen baseline (70 ± 15 IU/L) değerlerden yüksek kalmıştır (Tablo-9c). LPS’nin oluşturduğu bu enzimatik değerlerdeki yükselimler kolin ve cdp-kolin tedavileri ile hafifletilmiş; ALT değerleri özellikle LPS + Kolin grubunda LPS + CDP-Kolin grubuna göre istatistiksel olmamakla birlikte daha belirgin bir etki oluşturmuştur. AST ve ALP değerleri kolin tedavi gruplarında 4-48 saatlerde LPS grubuna göre istatistiksel düzeyde azaltılmış ($p<0,05-0,01$), bu etki LPS + CDP-Kolin grubunda daha belirgin oluşmuştur.

Tablo-9d ve – 9e’de sırasıyla GGT ve amilaz değerlerindeki değişimler görülmektedir. Kontrol gruplarında GGT düzeyleri her üç grupta da 0-5 IU/L düzeyinde belirlenirken, test gruplarında LPS uygulaması ile birlikte bu değerler önce yavaş daha sonra belirgin olacak şekilde 50 IU/L (4.saatte; $p<0.001$) düzeyine ulaşmıştır. LPS’ye bağlı 4.saatte saptanan bu belirgin yükselme, tedavi ile birlikte minimize edilmiş, hatta LPS + CDP-Kolin grubunda tam bir korunma sağlanmıştır (Tablo-9d). Amilaz enzim aktivitesi kontrol gruplarında 48 saatlik gözlem periyodunda istatistiksel olarak önemsiz değişimler göstermişken, LPS ve LPS + Kolin gruplarında 4.saate kadar kademeli bir yükselme ($p<0.01$) olmuştur. LPS + CDP-Kolin grubunda baseline’a göre 0.5 - 48.saatlerde önemli bir değişim olmamış, 4. saatte LPS ve LPS + Kolin gruplarından daha düşük değerler elde edilmiştir ($p<0.01$) (Tablo-9e).

Renal Hasar Belirteçleri: Tablo-10’da görüldüğü gibi renal hasar belirteçlerinden serum kreatinin (Tablo-10a) ve üre düzeyleri (Tablo-10b) kontrol gruplarında monitorizasyon periyodunda (48 saat) önemli bir değişim göstermemiştir. CDP-Kolin uygulanan köpeklerde 24.saatte belirlenen serum kreatinin ($1.1 \pm 0,0$ mg/dl) ve üre değerlerinin (31 ± 2 mg/dl) diğer kontrol gruplarına göre daha yüksek ($p<0,001$) olduğu not edilmiştir. LPS uygulanan köpeklerde kreatinin ve üre değerleri sırasıyla 0.saatten ($0,9 \pm 0,03$ mg/dl ve $26,4 \pm 8,0$ mg/dl) 24.saatte kadar yükselirken ($1,7 \pm 0,3$ mg/dl ve $55,9 \pm 5,0$ mg/dl; $p<0,001$) 48.saatlerde başlangıç değerlerine geri dönmüştür. LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında kreatinin ve üre için grup içlerinde önemli bir değişim belirlenemezken, 24.saat değerlerinin LPS grubuna göre daha düşük ($p<0,01$) kaldıkları tespit edilmiştir.

Serum Lipid Profili: Serum lipid profili (total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit değerleri) Tablo-11’de gösterilmiştir. Kontrol gruplarında Salin, Kolin ve CDP-Kolin tedavilerine verilen lipid yanıtlarında istatistiksel önemde bir değişim belirlenememiştir. Test gruplarında istatistiksel farklılık olmamakla birlikte LPS uygulamasını takiben 24.saatte total kolesterol ve LDL-Kolesterolün kısmen yükseldiği ve 48.saatte de bu değişimin stabil kaldığı dikkati çekmiştir. HDL-Kolesterol ise LPS ile birlikte 0-4 saat aralığında kısmen azalmış, sonra (24-48 saat) artma eğilimi göstermiştir. Kolin tedavileri serum lipidlerinde gözlenen bu değişimleri ortadan kaldırmış; uygulama öncesi ve sonrası zamanlarda ki ölçümler arasında önemli farklılık – dalgalanmalar oluşmamıştır. Baseline serum trigliserit değerleri irdelendiğinde kontrol gruplarında cdp-

kolin uygulanan köpeklerin diğer gruplara göre daha yüksek verilere sahip olduğu fark edilmiştir. Kontrol gruplarında grup içlerinde önemli değişimler belirlenmemiştir. Test gruplarının baseline değerlerinin homojen bir yapıda olduğu; LPS verilmesini takiben serum trigliserit düzeyinin yükseldiği (4-24 saat), 48. saatte de başlangıç aralığına döndüğü not edilmiştir. Kolin ve cdp-kolin tedavilerin LPS'ye bağlı oluşan trigliserit değişimlerini minimize ettiği tespit edilmiştir.

Serum Glukoz ve Total Bilirubin: Serum glukoz ve total bilirubin değerleri Tablo-12'de aktarılmıştır. Kolin uygulaması ilk örnekleme zamanında (0,5. saat; 145 mg/dl; $p < 0,01$) kan glukozunda yükselmeye yol açarken, diğer kontrol gruplarında anlamlı bir değişim olmamıştır. LPS uygulaması sonrası glukoz değeri 4 - 24. saatlerde baseline verisine göre daha düşük oluşmuş; ancak bu durum istatistiksel öneme dönüşmemiştir. LPS ile birlikte kolin tedavi gruplarında kan glukoz düzeyinin LPS + Kolin grubunda LPS + CDP-Kolin grubuna göre özellikle ilk saatlerde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kan glukoz düzeyinin çalışma süresince LPS + CDP-Kolin grubunda diğerlerine göre daha stabil kaldığı ve bu grupta tespit edilen 48. saat değerinin LPS grubuna göre istatistiksel düzeyde farklı ($p < 0,001$) olduğu belirlenmiştir (Tablo-12a). Total bilirubinin serum düzeylerinde kolin uygulaması sonrası (48. saat) önemli bir artış ($p < 0,01$) gözlenmiş, bu artışın salin ve cdp-kolin uygulamalarına verilen yanıtlardan daha yüksek olduğu ($p < 0,01$) fark edilmiştir. LPS uygulaması serum total bilirubin değerinde önemli bir değişime yol açmamıştır. Kolin tedavileri sonrası (LPS + Kolin grubu - 4. saat hariç) belirgin varyasyon tespit edilmemiştir (Tablo-12b).

Akut Faz Proteinleri (AFP): Pozitif AFP olarak C-reaktif protein (CRP), haptoglobin (Hp) ve seruloplasmin (Cp) (Tablo-13 ve Şekil-11), negatif AFP olarak ta albumin düzeyleri değerlendirilmiştir (Tablo-14a ve Şekil-12). Bu bilgilere ek olarak total protein (TP) konsantrasyonu da irdelenmiştir (Tablo-14b).

Kontrol gruplarında grup içi ve gruplar arasında serum CRP, Hp, Cp, TP ve albumin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Cdp-kolin uygulanan grupta 24. saatte ortalama Hp düzeyi baseline'ye göre yükselmiş, ancak standart hatanın büyüklüğünden dolayı "p değeri" anlamsız düzeyde kalmıştır (Tablo-13b). LPS uygulaması 0. saatteki CRP değerini $7,3 \pm 4,2$ $\mu\text{g/ml}$ 'den 24. saatte 153 ± 17 $\mu\text{g/ml}$ 'ye kadar yükseltirken, tedavi gruplarında 24. saat değerleri LPS + Kolin (140 ± 5 $\mu\text{g/ml}$) ve LPS + CDP-Kolin gruplarında (119 ± 23 $\mu\text{g/ml}$) daha düşük düzeyde kalmış; ancak, grup

içlerinde 0.saate göre oluşan istatistiksel önemin ($p<0,01 - 0,001$) gruplar arasında oluşmadığı görülmüştür (Tablo-13a). Üç test grubunda da CRP düzeyleri 48.saatte azalma eğilimi göstermesine rağmen yine de tedavi öncesi değerlerden (baseline) yüksek olarak belirlenmişlerdir ($p<0,001$). LPS uygulaması ile Hp ve Cp düzeyleri (24-48.saatter; $p<0,001$) artarken, kolin tedavisi (kolin klorür ve CDP-Kolin olarak) Cp’de ki bu yükselmeyi ilk 24 saat itibariyle bloke etmiştir. Bu etki gruplar arasında da 24.saatte istatistiksel fark oluşturmuştur ($p<0,01$). Hp düzeyinde LPS ve LPS + Kolin gruplarında 24. saatten itibaren yükselme eğilimi olmuş ($p<0,001$), LPS + CDP-Kolin grubunda ise 24-48.saatterde diğer iki test grubuna göre belirgin sabitlik gözlenmiştir ($p<0,001$).

LPS uygulaması ile TP konsantrasyonu artarken (24-48.saatter), albümin konsantrasyonunda ise salin tedavisine göre artma tespit edilmiştir ($p<0,01$; Tablo-14). LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında belirtilen zaman aralığında TP ve albümin değerlerinin LPS grubuna göre daha kabul edilebilir sınırlarda kaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$).

Kan Gazları: Kan gazları olarak venöz kan örneklerinden pH, parsiyal oksijen basıncı (pO_2) ve parsiyal karbondioksit basıncı (pCO_2) değerlendirilmiştir (Tablo-15). Kontrol (Salin, Kolin ve CDP-Kolin) gruplarında grup içi ve gruplar arasında pH, pO_2 ve pCO_2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. LPS uygulaması sonrası kan pH değeri düşmüş (0,5-24. saat; $p<0,05$), ancak LPS’yi takiben kolin tedavisi verilen gruplarda pH değerlerinin başlangıç değerlere yakın seyrettiği belirlenmiştir. LPS uygulaması pO_2 ’ni düşürürken (0,5-48. saat; $p<0,05$ - $p<0,001$), aynı zaman diliminde pCO_2 düzeyini yükseltmiştir ($p<0,01$ - $p<0,001$). LPS + Kolin grubunda pO_2 ve pCO_2 düzeylerinde minimal düzeyde azalma / artma gözlenmiş (0,5-48. saatler; $p<0,05$); LPS + CDP-Kolin grubunda ise 0,5-48. saat değerlerinin her iki parametre için baseline değerlere yakın olduğu dikkati çekmiştir.

Serum Butirilkolinesteraz (BChE) Düzeyleri: Serum BChE düzeyi kontrol gruplarında uygulamalar öncesinde ilk örneklemelerde (0.saatter) 3,7 – 4,4 $\mu\text{mol/ml}$, test gruplarında da 2,8 - 5,1 $\mu\text{mol/ml}$ aralığında belirlenmiştir (Tablo-16 ve Şekil-13). Kontrol gruplarında salin ve kolin (kolin klorür ve cdp-kolin) uygulamalarına köpeklerde tespit edilen BChE yanıtlarında 48 saatlik periyotta önemsiz varyasyonlar izlenmiştir. LPS uygulanması sonrası 24 - 48.saatterde baseline’a göre BChE düzeyi belirgin azalma ($p<0,05$) göstermiş; kolin tedavilerinin bu azalmayı bloke ettiği ($p<0,001$) tespit edilmiştir (Tablo-16).

Serum High Mobility Group Box – 1 (HMGB-1) Protein Düzeyleri: Western blot (WB) ve ELISA analiz sonuçları serum HMGB-1 protein düzeylerinin LPS uygulamasını takip eden ilk örnekleme zamanından itibaren arttığını göstermektedir. WB analizinde LPS grubu kontrol olarak kabul edildiğinde, diğer gruplardaki HMGB-1 düzeyleri LPS grubuna göre % değişim olarak hesaplanmıştır (Tablo-17a ve Şekil-14). Buna göre ortalama HMGB-1 proteini 4.saat verilerinde LPS grubunda 100 ± 28 (ortalama \pm standart hata), LPS + Kolin grubunda 61 ± 16 , LPS + CDP-Kolin grubunda 53 ± 7 ($p < 0,05$) olarak belirlenirken; 24.saat verilerinde sırasıyla 100 ± 21 , 32 ± 4 ($p < 0,01$) ve 53 ± 3 ($p < 0,05$); 48.saat verilerinde de 100 ± 3 , 31 ± 10 ($p < 0,001$) ve 48 ± 11 ($p < 0,01$) olarak tespit edilmiştir. ELISA sonuçlarına göre test gruplarında (LPS, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin) HMGB-1 serum düzeyi yükselmiş (Şekil-15 ve Tablo-17b); kolin tedavileri ile 24.saat değerinde LPS grubuna göre istatistiksel önemde farklılık oluşmuştur ($p < 0,001$).

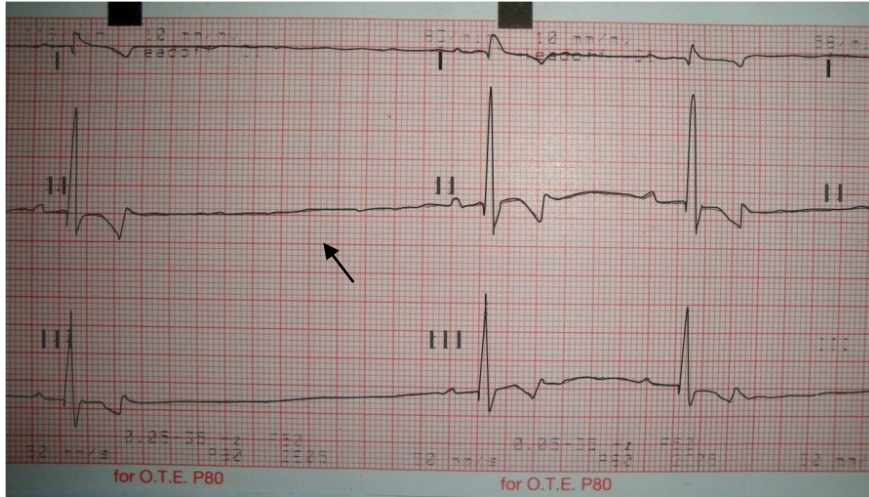
Serum İmmünglobulinleri (IgG ve IgM): Tablo-18’de görüldüğü gibi serum immünglobulinlerinde kontrol gruplarında grup içlerinde istatistiksel düzeyde önemli değişimler belirlenememiştir. IgG (Tablo-18a) ve IgM’nin (Tablo-18b) baseline değerleri CDP-Kolin grubunda salin ve kolin klorür grubuna göre daha yüksek olarak tespit edilmiş; test gruplarında ise homojen bir dağılım elde edilebilmiştir. LPS verilen köpeklerde IgG ve IgM düzeyleri 24-48.saatlerde baseline’a göre azalma göstermiş; ancak bu değişim standart hatanın yüksek olmasından dolayı istatistiksel anlama dönüşmemiştir. Aynı zaman aralıklarında LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında elde edilen immünglobulin değerleri, LPS grubundakilere göre daha yüksek tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

DIC Skorları: DIC skorları Şekil-16’da gösterilmiştir. Kontrol gruplarında salin, kolin ve cdp-kolin uygulamaları DIC skorlarında anlamlı bir değişim oluşturmamıştır. Test gruplarında LPS verilen köpeklerde baseline DIC skoru 0 ± 0 ’dan 6 ± 2 ’ye (0,5.saat; $p < 0,001$), 6 ± 1 ’e (1.saat; $p < 0,001$) ve 7 ± 1 ’e (4.saat; $p < 0,001$) yükselmiş, daha sonra azalma eğiliminde olmuştur. LPS grubunda elde edilen bu yükselmenin diğer test grupları (LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin) ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu ($p < 0,01$) ortaya konmuştur. LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında DIC skorlarının LPS grubuna göre daha düşük kaldığı belirlenmiştir. LPS + Kolin uygulaması 0,5.saatte DIC skorunu 5 ± 1 ’e, 1.saatte 4 ± 2 ’ye ve 4.saatte 6 ± 2 ’ye yükseltmiş, 24-48.saatlerde azalarak baseline’a yaklaşmıştır. LPS + CDP-Kolin uygulaması DIC tanımlaması için kabul edilen çizginin (skor olarak ≥ 7) üzerine çıkmadan çalışma periyodu tamamlanmıştır (Şekil-16).

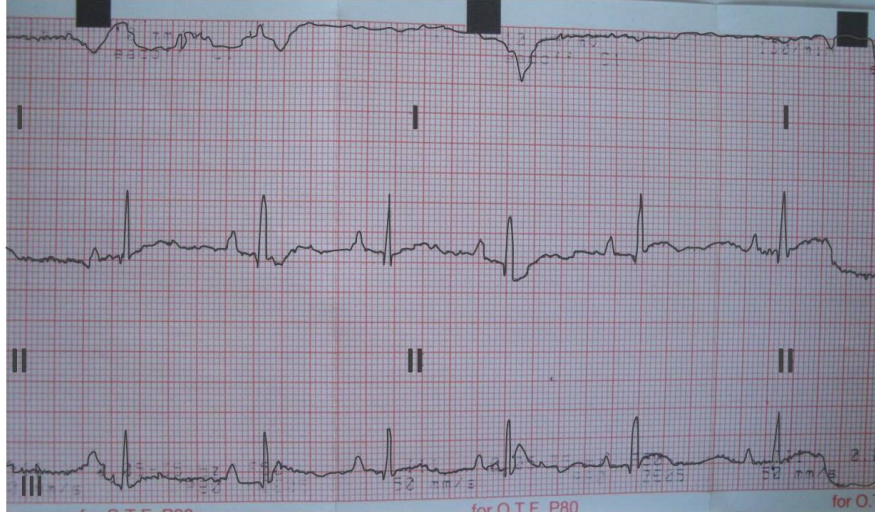
Kardiyolojik Muayene Bulguları

Klinik düzeyde kardiyolojik olarak bu çalışmada kalp frekansı değerlerine ek olarak elektrokardiyografik (EKG) ve ekokardiyografik verilere yer verilmiştir. Kalp frekansı sonuçları Tablo-6a'da aktarılmıştır. Laboratuvar düzeyinde de kardiyak biyobelirteçleri irdelenmiştir.

EKG ile Kalp Ritmi Analizi: EKG ile yapılan ritim analizlerinde deney öncesi değerlendirmelerde normal sinüs ritmi ve respiratorik sinüs aritmi belirlenmiştir. Aritmi belirlenen olgulardaki R-R aralıkları arasındaki varyasyon $<10\%$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda salin uygulaması ile 0-48 saat süresince ritimde bir değişim olmazken, kolin uygulaması sonrası kısa süreli R-R aralıklarında uzama (bradikardi eğilimi) ve sonrasında (0,5.saat) baseline değerlere dönüşler olmuştur. CDP-Kolin uygulanan bazı köpeklerde ilk 5 dk içinde kalp frekansı artışına paralel olarak R-R aralıklarında kısalma ile karakterize taşikardi eğilimi belirlenmiş, bazı köpeklerde ise önemli bir değişim olmamıştır. LPS uygulaması ile birlikte ilk örnekleme zamanlarında (0,5-4 saat) R-R aralıklarında kısalma yani sinüs taşikardi tespit edilmişken, takip eden zamanlarda baseline değerlere dönüldüğü dikkati çekmiştir. LPS ile birlikte kolin ya da cdp-kolin uygulanan köpeklerde sinüs aritmi, sinüs durması (sinüs paus) (Şekil-17), sinüs taşikardi (Şekil-18) ve I-derece atriyoventriküler bloktan oluşan ritim değişimleri belirlenmiştir.



Şekil-17: Kolin uygulamasına bağlı sinüs durması (sinus pause: R-R aralığı süresinin (ok) bir önceki ya da bir sonraki R-R aralığı süresinin iki katından fazla olması). Sinüs pause olan bölümde kalp frekansı 40/dk olarak belirlenirken (3000/73 küçük kutu = 40/dk); takipeden R-R aralığına göre 83/dk olarak hesaplanmaktadır. Denek no: 7, örnekleme zamanı: 0,5.saat (Kolin grubu)



Şekil-18: LPS uygulamasına bağlı olarak gelişen sinus taşikardi (50 mm/sn, 10 mm/mV). LPS uygulaması öncesi 88/dk olan istirahat kalp frekansı, EKG çıktısında görüldüğü gibi 150/dk ya yükselmiştir. Denek no: 13, örnekleme zamanı: 0,5.saate (LPS grubu)

EKG Dalgaları ve İntervalları: Ritim analizini takiben EKG çıktısı üzerinden P süre ve amplitüdleri (Tablo-19), PR aralığı ve QRS süresi (Tablo-20), R amplitüd ve T dalga süresi (Tablo-21) ile T amplitüd ve QT süresi (Tablo-22) değerlendirilmiştir.

P süresi yüzdelerle farklılaşma olarak incelendiğinde Kolin, LPS ve LPS + CDP-Kolin gruplarında baseline değerler ile karşılaştırıldığında ilk dakikalarda (1.dk – 15.dk) %18'lik bir uzama göstermiş; CDP-Kolin grubunda ise %11 oranında kısalma belirlenmiştir. Takip eden zamanlarda bu değerler Kolin gruplarında düşük oranlarda uzama eğilimi ile devamlılık göstermiştir. P dalga voltajı Salin grubunda ilk dakikalarda değişim göstermez ve 0,5.saatte %14 oranında baseline'a göre yüksek bulunurken, Kolin ve CDP-Kolin gruplarında sırasıyla %24 ve %17 oranında artışlar tespit edilmiştir. LPS grubunda 1. dk. elde edilen %43 oranındaki artışa karşılık, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında aynı zamanda sırasıyla %25 ve %33 düzeyinde bir yükselme belirlenmiştir. LPS + Kolin grubunda ilk dakikadaki bu tespit daha sonra normalize olurken, LPS + CDP-Kolin grubunda 24.saatte baseline'a göre %48 oranında bir artış gözlenmiştir (Tablo-19).

PR süresi genelde tüm gruplarda uygulama öncesi değerlerle sonrası değerler arasında anlamlı bir değişim göstermemiştir. LPS uygulaması öncesi PR değeri ($0,1 \pm 0,0$ sn), LPS sonrası 1. dk ($0,2 \pm 0,0$ sn) ve 15.dk değerleriyle ($0,13 \pm 0,02$ sn) sırasıyla %100 ve %30 oranında uzama göstermiştir. PR süresinin LPS grubu 1.dk değeri, grup içinde ve gruplar arasında istatistiksel anlamda önemli ($p < 0,01$) bir farklılık oluşturmuştur (Tablo-20a).

QRS süresi baseline'a göre 1.dk değerleri Kolin grubunda %67 oranında, CDP-Kolin grubunda %33,3 oranında, LPS grubunda da %67 oranında uzama göstermiş; Salin, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında dikkati değer farklılaşmalar oluşmamıştır (Tablo-20b). T ve QT süreleri grup içleri ve gruplar arasında önemli farklılık göstermemekle birlikte; QT süresi LPS uygulaması sonrası 1.dk da %27 oranında bir uzama göstermiştir (Tablo-21b ve -22b). T ve R amplitüdlerinde grup içleri ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenememiştir; R amplitüdü baseline'a göre ($1,5 \pm 0,1$ mV) LPS uygulaması sonrası 1.dk da %66,6 oranında bir artma ($2,5 \pm 0,1$ mV) göstermiştir (Tablo-21a ve -22a).

Ekordiyografik Bulgular: Kalp ile ilgili geometrik ve fonksiyonel ölçümler yapılmıştır. Geometrik ölçümlerle ilgili olarak aort (Ao), pulmoner arter (PA) ve sol atriyum (LA) çapları Tablo-23'de, sol ventrikül (LV) ve LV ile ilgili yapıların (interventriküler septum ve LV duvarı) ölçümleri de Tablo-24'te aktarılmıştır.

Ao, PA ve LA çapları: Tablo-23'te görüldüğü gibi baseline Ao, PA ve LA çapları arasında genelde homojen bir dağılım oluşturulmuş, LPS + CDP-Kolin grubu verileri bu anlamda kısmen düşük kalmıştır. Uygulama öncesi örneklemelerde ortalama olarak Ao için 1,9 – 2,0 cm, PA için 1,6 – 2,3 cm ve LA için 1,8 – 2,5 cm minimum ve maksimum değerler elde edilmiş; grup içi ve gruplar arasında istatistiksel anlamda farklılıklar oluşmamıştır.

LV, IVS ve PW çapları: LV ilgili ölçümler sistol ve diyastode LV, IVS ve PW çaplarının kontrol gruplarında (Salin, Kolin ve CDP-Kolin) grup içi ve gruplar arasında önemsiz varyasyonlarını ortaya koymuştur. LVSD değeri LPS grubunda 0,5.saatte baseline'a göre %2 azalırken, 1.saatte bu azalma %25 düzeyine çıkmıştır ($p<0,01$; Tablo-24a). LPS + Kolin grubunda ise 0,5.saatteki azalma oranının (%23; $p<0,01$) 1.saatte minime indiği (%5) gözlenmiştir. LPS + CDP-Kolin grubunda 1.saatte ki azalma (0.saate göre %41; $p<0,001$) kısmen yükselmiş, ancak 48.saate kadar baseline'a göre düşük ($p<0,001$) kalmıştır. LVDD değeri LPS grubunda baseline'a göre önce %8 (0,5.saate) daha sonra %31 oranında azalırken (1.saate, $p<0,001$); LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında aynı zaman diliminde (0,5-1.saate) sırasıyla %9-20 ve %2-5 oranında azalmıştır (Tablo-24b). Bazı örneklem zamanlarındaki LVSD ve LVDD ölçümlerine ait ekokardiyografik görüntüler Şekil-19'da sunulmuştur.

IVS sistol ve diyastol çapları gruplar arasında baseline değerler olarak homojen bir dağılım göstermiş; sırasıyla minimum ve maksimum olarak $1,21 \pm 0,37$ cm - $1,63 \pm 0,41$ cm ve $0,82 \pm 0,06$ cm – $0,96 \pm 0,03$ cm aralığında tespit edilmişlerdir. IVS sistol ve diyastol çaplarında grup içleri ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı değişimler oluşmamakla birlikte yüzdeler farklılaşmalar dikkate değer bulunmuştur. IVS sistol çapları Salin grubunda baseline'a göre 0,5. saatte %19, 1-4. saatlerde de %26-28 oranında azalırken, Kolin ve CDP-Kolin gruplarında aynı zaman dilimlerinde artma (%9-14) dikkati çekmiştir (Tablo-25a). IVS diyastol çapları baseline'a göre ilk örnekleme zamanında (0,5. saat) Salin, Kolin ve LPS + Kolin gruplarında %2 düzeyinde azalırken, LPS grubunda %16 azalmış; CDP-Kolin gruplarında ise (CDP-Kolin ve LPS + CDP-Kolin grupları) %3-7 oranında artış göstermiştir (Tablo-25b). Çalışmanın 4. saat verileri dikkate alındığında IVS diyastol çaplarının kontrol gruplarında (Salin, Kolin ve CDP-Kolin) baseline'a yakın değerlerde olduğu, test gruplarında ise LPS grubunda (%20 artma) LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarına göre (%3-7 azalma) farklı olduğu görülmüştür. IVS sistol çaplarındaki 4. saatteki artma LPS grubunda (baseline'a göre %5) diğer gruplara göre (LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin) daha az oranda (%16-19) şekillenmiştir.

LV duvar yani PW sistol (PWS) ve diyastol (PWD) verilerinde grup içleri ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olacak düzeyde farklılıklar tespit edilememiş; ancak yüzdeler hesaplamalarda dikkate değer değişimler oluşmuştur (Tablo-26). PWS ve PWD çapları baseline'a göre 4. saatte Salin ve CDP-Kolin gruplarında %5-20 aralığında artma göstermişken, Kolin grubunda aynı zamanda %5 azalma belirlenmiştir. LPS grubunda PWS çapı 4. saatte %37 oranında azalırken, PWD çapı %14 oranında artmıştır. LPS + Kolin PWD çapını 4. saatte baseline'a göre %13 artırmış, PWS çapını ise %2 azaltmıştır. Aynı zamanda LPS + CDP-Kolin grubunda PWD ve PWS çapları için sırasıyla %4 azalma ve %5 artma değerleri elde edilmiştir.

Şekil – 19'da ekokardiyografik olarak LV ilişkili parametrelerdeki tespitlerin bazı zaman (0, 4. ve 24. saat) dilimlerindeki görüntüleri verilmiştir. LPS grubunda 24. saatte diğer gruplardan farklı olarak FS düşerken, LVDD ve LVSD değerleri artmış, sol ventriküler volüm sistol ve diyastol değerleri ise azalmıştır. Bu değişimler kardiyak debi (CO) ve stroke volümü (SV) azalmasına yol açmıştır.

Sistolik Zaman Aralıkları: Sistolik zaman intervalleri olarak pre-ejeksiyon zamanı (PEP), LV ejeksiyon zamanı (LVET), PEP/LVET oranı ve izovolemik kontraksiyon zamanları

(ICT) değerlendirilmiştir. Tablo-27a'da görüldüğü gibi PEP değeri tüm gruplarda 366 ± 64 msn – 534 ± 51 msn aralığında tespit edilmiştir. Uygulama öncesi ve sonrası zamanlardaki PEP yanıtlarda gruplara göre farklılıklar gözlenmiştir: Baseline değerlere göre diğer zamanlarda Salin grubunda önemli bir değişim oluşmazken, LPS grubunda 0,5-48.saatlerde ($p < 0,001$) kısalma belirlenmiştir. LPS grubunda 0,5.saatteki PEP değeri (291 ± 23 msn, $p < 0,01$) diğer grupların aynı zaman dilimindeki PEP değerinden (411 ± 50 msn – 749 ± 242 msn) daha kısa olarak tespit edilmiştir. LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında 0,5.saatte baseline değerlere göre PEP değerinde değişen oranlarda (%12 ve %79, sırasıyla) uzama belirlenmiştir. LVET değeri kontrol gruplarında (Salin, Kontrol, CDP-Kolin) minor varyasyon göstermiş, istatistiksel farklılık oluşmamıştır; baseline değere göre (209 ± 10 msn – 257 ± 10 msn) diğer zamanlarda maksimum %6 oranında bir artma ya da %10 azalma belirlenmiştir (Tablo-27b). Test gruplarında (LPS, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin) grup içleri ve gruplar arasında istatistiksel değişimler tespit edilmiştir. LPS uygulaması öncesi değer (240 ± 11 msn), 0,5 - 48.saatlik gözlem sürecinde önce %14 (205 ± 23 msn), daha sonra %21 (1.saat, 188 ± 14 msn, $p < 0,01$) ve %24 oranında kısalma göstermiştir (4.saat, 182 ± 24 msn, $p < 0,01$). Kolin ile tedavi gruplarında (LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin) baseline değerlere göre 0,5 – 1.saat aralığında LVET değerindeki kısalmanın %3-12 oranı ile sınırlı kaldığı dikkati çekmiştir (Tablo-27b).

PEP/LVET oranı irdelendiğinde (Tablo-27c) baseline değerlerin $1,72 \pm 0,54$ msn – $2,37 \pm 0,51$ msn arasında olduğu görülmektedir. Salin, Kolin, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında baseline'a göre 0,5.saatte kısmen artış gösteren PEP/LVET oranı, Kolin ve CDP-Kolin gruplarında 1-4 saat aralığında azalma ($p < 0,01$) göstermiştir. LPS grubunda 0,5.saatte tespit edilen değer ($1,49 \pm 0,07$ msn) grup içinde ($p < 0,001$) ve gruplar arasında ($p < 0,01$) önemli farklılık olarak dikkati çekmiştir. ICT değeri kontrol gruplarında grup içlerinde istatistiksel boyutta anlamlı bir değişim göstermezken, test gruplarında özellikle 1.saat verilerinde önemli değişimler oluşturmuştur (Tablo-28a). Baseline ICT değeri ortalama 170 msn den 1.saatte LPS grubunda 51 msn'ye (%70 azalma; $p < 0,01$), LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında da sırasıyla 209 – 238 msn'den 66 – 42 msn'ye (%68 – 82 azalma; $p < 0,01$ – $p < 0,001$) gerilemiştir; bu verilerin aynı zamanda kontrol gruplarında elde edilen ICT değerlerinden daha kısa olduğu dikkati çekmiştir ($p < 0,01$). Vcf değeri baseline olarak gruplar arasında homeojen bir dağılım göstermiş; $1,3 \pm 0,1 \times 10^{-3}$ cm/sn ile $1,6 \pm 0,2 \times 10^{-3}$ cm/sn aralığında tespit edilmiştir (Tablo-28b). Test ve kontrol gruplarında baseline'lara göre istatistiksel bir değişim belirlenmemiştir. Tei

indeksinin hesaplanmasında da kullanılan IRT değerinde baseline olarak gruplar arasında homeojen bir dağılım oluşturulamamış, baseline sonrası değerlerde de CDP-Kolin grubu (0.saate göre 0,5.saatte $p<0,01$ azalma) dışında standart hatanın yüksek olmasından dolayı istatistiksel değişim belirlenememiştir (Tablo-28c).

Kalp Debisi ve Stroke Volüm: Kalp debisi (CO) ve stroke volüm (SV) kontrol gruplarında baseline değerlerle karşılaştırıldığında diğer örnek toplama zamanlarında istatistiksel olarak önemli olmayan değişimler göstermiştir (Tablo-29). CO değeri LPS uygulaması ile azalmaya başlamış, 1.saatte de pik azalma şekillenmiştir (gruplararası ve kendi baseline değeri ile karşılaştırıldığında $p<0,001$; Tablo-29a). Benzer bulgular SV değerinde de gözlenmiştir; 1.saatte grup içinde ($p<0,001$) ve gruplar arasında ($p<0,001$) en küçük SV değeri elde edilmiştir (Tablo-29b). LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında 0,5-4 saat aralığında tespit edilen CO ve SV değerlerinin, baseline değerlere yakın olduğu belirlenmiştir. CO ve SV değerleri 48.saatte LPS grubunda hala baseline değerlerin altında kalmışken ($p<0,01$), kolin tedavi gruplarında ortalama olarak baseline'a yakın ya da daha yüksek değerler elde edilmiştir.

Fonksiyonel Parametreler: Ekokardiyografik olarak birçok parametre ölçülmesine rağmen, bu çalışma için fonksiyonel değerlerden fraksiyonel kasılma (FS) ve ejeksiyon fraksiyonu (EF) (Tablo-30); Doppler muayenelerinden de aort ve pulmoner arter akım karakteristikleri (Tablo-31) ile mitral E/A oranları kayıt altına alınmıştır (Tablo-32a). Sistolik ve diyastolik kalp fonksiyonları Tei indeks (miyokardiyal performans indeks) ile değerlendirilmiştir (Şekil-19 ve Tablo-32b).

Tablo-30'da görüldüğü gibi FS ve EF değerleri kontrol gruplarında baseline'da sırasıyla % 21-33 ve % 61-75 aralığında, test gruplarında da % 16-33 ve %45-73 olarak ölçülmüştür. Salin, kolin ve cdp-kolin uygulamaları kontrol gruplarında FS ve EF değerlerinde anlamlı bir değişim oluşturmamıştır. Benzer etki LPS ile birlikte kolin tedavisi verilen gruplarda da gözlenmiş, fonksiyonel ekokardiyografik datalarda önemli değişimler oluşmamıştır.

Aort ve pulmoner arter maksimal velositeleri (AoVmax ve PAVmax, sırasıyla) kontrol gruplarında çalışma süresince paralel dalgalanmalar göstermiş; istatistiksel anlam oluşmamıştır (Tablo-31). Benzer etki pulmoner arter akım karakteristiği için cdp-kolin uygulamasında da geçerli olmakla birlikte özellikle ilk zamanlarda (0,5-1.saat) baseline'a

göre azalma belirlenmiş, sonrasında normalize olmuştur. Test gruplarında LPS, LPS + Kolin ve LPS + CDP – Kolin uygulamalarında AoVmax ve PAVmax değerleri önce azalmış, 24-48 saat aralığında da genel olarak baseline değerlere dönmüştür. LPS grubunda 1.saat değerleri (AoVmax ve PAVmax) diğer grup değerlerinden daha düşük olarak ($p<0,05$) belirlenmiştir.

Mitral E/A oranları baseline olarak tüm gruplarda minimum $1,8 \pm 0,2$ maksimum da $2,5 \pm 0,4$ olarak tespit edilmiştir (Tablo-32). Salin grubunda ilk örnek zamanında (0,5.saat) kısmen azalan E/A oranı, Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında kısmen artmıştır; ancak bu değişimler istatistiksel önemde gerçekleşmemiştir. Mitral E/A oranı LPS grubunda 0,5.saatte belirgin şekilde azalırken (baseline'a göre %18, $p<0,01$), LPS + Kolin grubunda bu azalma daha minimal düzeyde kalmıştır (baseline'a göre %10, $p<0,05$). LPS grubunda E/A oranı baseline değere göre ($2,1 \pm 0,2$) çalışma periyodunca düşük olarak (48.saat, $1,5 \pm 0,3$; $p<0,01$) tespit edilmiş; LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında genelde baseline değerlere yakın veriler elde edilmiştir. LPS grubu 0,5., 24. ve 48.saat E/A oranları diğer gruplar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$ düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo-32a).

Tei indeksi LPS grubu dışında istatistiksel önemde bir değişim göstermemiştir (Tablo-32b ve Şekil-20). Kolin uygulaması 0,5-1 saat aralığında istatistiksel olmayan bir yükselme eğilimi oluştururken, CDP-Kolin aynı etkiyi 1-24 saat aralığında göstermiştir. LPS uygulamasını takip eden ilk 4 saatte Tei indeksi istatistiksel önemde yükselme göstermiş ($1,8 \pm 0,5$; $p<0,01$), daha sonra ortalama olarak 0,9 - 1,1 değerlerine dönerek normalize olmuştur. Tei indeksi bireysel ölçümlerde LPS grubunda 4.saatte bu çalışmanın maksimum değeri 2,5 olarak hesaplanmıştır.

Kardiyak Biyobelirteçler: Serum CK, LDH ve Mg değerleri Şekil-21 ve Tablo-33'te gösterilmiştir. Kontrol gruplarında salin, kolin klorür ya da cdp-kolin uygulamalarını takiben 0-48 saatlik gözlem periyodunda istatistiksel anlamlı değişimler oluşmamıştır. LPS uygulaması (LPS grup) sonrası serum CK ve LDH düzeyleri 4-24.saat aralığında artarken, serum Mg düzeyi aynı zaman aralığında baseline değerine göre azalma göstermiştir. LPS ile birlikte kolin ve cdp-kolin uygulandığında grup içlerinde CK, LDH ve Mg değerlerinde baseline'ye göre önemli değişim oluşmamış, ancak gruplar arasında LPS grubu değerlerine göre istatistiksel farklılık belirlenmiştir. Bu çalışmada total CK ile birlikte CK-MB (CK'nın miyokardiyal isoenzimi), total LDH ile birlikte BHBD (LDH'nin miyokardiyal isoenzimi – betahidroksibutiril dehidrojenaz) da ölçülmüş; ancak, bazı olgulardaki CK-MB ve BHBD

sonuçlarının total CK ve LDH'tan daha yüksek olduğu (kross reaksiyon) fark edilerek çalışma kapsamı dışında bırakılmışlardır. Kardiyak troponin (cTnI) düzeylerinin belirlenmesinde ölçüm metodu olarak $<0,05$ ng/ml cut-off olarak belirlenmiş; kontrol ve test gruplarında birçok serum örneğinde bu değer altında sonuçlar elde edildiğinden istatistiksel veri oluşturmak mümkün olmamıştır.

Korelasyonlar: Bu çalışmada birçok klinik ve laboratuvar bulgusu kayıt altına alınmış; ancak, korelasyon istatistiği tüm parametreler için değil de sadece çalışma hedefine uygun olanlar arasında yapılmıştır.

Total lökosit sayısı pozitif AFP'leri ile (CRP, $r=0,540$; Cp, $r=0,322$; Hp, $r=0,421$) $p<0,001$ önemde pozitif korelasyona sahipken, negatif akut faz proteini ile (albümin, $r=-0,196$) $p<0,05$ önemde negatif korelasyona sahip bulunmuştur (Şekil-22). Total lökosit sayısı ile HMGB-1 protein düzeyleri arasında ve HMGB-1 ile CRP arasında istatistiksel önemde korelasyon saptanamamıştır ($r=0,0749$, $p=0,689$ ve $r=0,305$, $p=0,101$; sırasıyla). Ancak, trombosit sayısı spesifik inflamasyon göstergesi ve prokoagülant etkili CRP düzeyi ile negatif yönde ve $p<0,001$ önemde korele ($r=-0,354$) bulunmuştur (Şekil-23). Ayrıca serum CRP, HMGB-1 ve BChE düzeylerinin kardiyak biyobelirteçleri ile korelasyonları Tablo-34'de, karaciğer enzim aktiviteleri ile olan korelasyonları Tablo-35'de ve lipid profili ile korelasyonları da Tablo – 36'da verilmiştir. CRP ve HMGB-1'in akut faz proteinleri (AFP) ve immunglobulinler (IgG ve IgM) arasındaki korelasyonları Tablo – 37'de aktarılmıştır.

Kalp frekansının sistolik time intervalleri ile negatif korelasyona sahip olduğu belirlenmiş; PEP, LVET ve IRT ile önemsiz, ICT ile istatistiksel açıdan önemli ($r = -0,234$; $p<0,05$) etkileşim tespit edilmiştir (Şekil-24). Kalp frekansı ile miyokardiyal performans indeks (Tei indeks) arasında negatif bir korelasyon belirlenmesine rağmen istatistiksel önem oluşmamıştır ($r = -0,09$; $p=0,33$; Şekil-25).

Tablo-10a: Serum kreatinin düzeyinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,1
0,5	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0
1	1,0 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0
4	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,2 ± 0,0
24	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,1 ± 0,0 ⁺	1,7 ± 0,3***	1,0 ± 0,0 ⁺	1,2 ± 0,1 ⁺
48	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,1 ± 0,0 ⁺

Tablo-10b: Serum üre düzeyinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	23 ± 4	24 ± 4	22 ± 4	26 ± 8	27 ± 8	36 ± 5
0,5	24 ± 3	26 ± 4	22 ± 5	28 ± 4	31 ± 4	39 ± 3
1	26 ± 4	26 ± 5	24 ± 5	32 ± 4	34 ± 4	42 ± 2
4	24 ± 4	25 ± 3	26 ± 5	38 ± 6	40 ± 4	41 ± 2
24	20 ± 4	23 ± 2	31 ± 2***	55 ± 5***	37 ± 2 ⁺	38 ± 9
48	26 ± 5	21 ± 3	35 ± 5	33 ± 8	25 ± 3	39 ± 4

Tablo-11a: Serum total kolesterol düzeyinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	148 ± 11	144 ± 16	150 ± 10	222 ± 41	200 ± 35	182 ± 15
0,5	150 ± 13	153 ± 19	140 ± 8	218 ± 42	204 ± 31	183 ± 17
1	157 ± 14	141 ± 12	142 ± 9	221 ± 43	200 ± 26	183 ± 21
4	142 ± 19	151 ± 17	143 ± 7	219 ± 38	202 ± 28	187 ± 22
24	144 ± 10	148 ± 18	146 ± 6	265 ± 57	231 ± 24	212 ± 20
48	143 ± 12	148 ± 16	139 ± 9	270 ± 67	211 ± 24	217 ± 15

Tablo-11b: Serum HDL düzeyinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	111 ± 9	115 ± 11	132 ± 5	156 ± 19	151 ± 19	119 ± 10
0,5	112 ± 10	120 ± 13	128 ± 4	149 ± 18	154 ± 19	119 ± 10
1	117 ± 10	114 ± 8	128 ± 4	148 ± 17	146 ± 16	118 ± 12
4	105 ± 14	120 ± 11	128 ± 4	142 ± 17	145 ± 13	121 ± 13
24	107 ± 7	115 ± 13	128 ± 4	159 ± 23	163 ± 13	127 ± 14
48	107 ± 8	115 ± 12	126 ± 4	172 ± 19	152 ± 13	131 ± 10

Tablo-11c: Serum LDL düzeyinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	53 ± 3	45 ± 7	50 ± 4	88 ± 25	59 ± 3	55 ± 5
0,5	56 ± 5	52 ± 8	47 ± 3	82 ± 22	60 ± 6	54 ± 3
1	59 ± 6	44 ± 5	48 ± 4	85 ± 25	58 ± 3	58 ± 5
4	50 ± 8	47 ± 8	46 ± 4	85 ± 21	59 ± 2	58 ± 6
24	51 ± 5	47 ± 7	50 ± 2	114 ± 36**	75 ± 7	64 ± 3
48	52 ± 4	45 ± 3	44 ± 1	118 ± 43**	65 ± 10	69 ± 7

**p<0.01 baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında

Tablo-11d: Serum trigliserit düzeyinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	41 ± 3	37 ± 5	70 ± 8	59 ± 9	61 ± 5	82 ± 20
0,5	43 ± 5	36 ± 6	60 ± 5	72 ± 15	70 ± 6	87 ± 25
1	45 ± 4	34 ± 5	59 ± 4	83 ± 17	79 ± 12	78 ± 13
4	48 ± 1	41 ± 7	64 ± 9	123 ± 45	95 ± 15	72 ± 14
24	53 ± 6	42 ± 6	83 ± 1	128 ± 49	84 ± 11	100 ± 25
48	49 ± 6	52 ± 9	84 ± 1	71 ± 8	70 ± 12	111 ± 18

Tablo-12a: Serum glukoz değerinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	121 ± 8	111 ± 7	107 ± 7	111 ± 4	117 ± 8	111 ± 6
0,5	122 ± 7	145 ± 8**	113 ± 4	103 ± 8	153 ± 14	118 ± 11
1	119 ± 8	113 ± 12	105 ± 4	121 ± 13	124 ± 14	105 ± 8
4	107 ± 9	117 ± 9	100 ± 3	87 ± 8	101 ± 4	90 ± 9
24	108 ± 7	113 ± 8	96 ± 7	86 ± 16	86 ± 14	96 ± 9
48	110 ± 4	106 ± 7	100 ± 3	125 ± 5	94 ± 15+	99 ± 8++

Tablo-12b: Total bilirubin değerinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,12 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,04	0,12 ± 0,02	0,20 ± 0,02
0,5	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0,16 ± 0,04	0,19 ± 0,01
1	0,13 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,20 ± 0,02
4	0,14 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,40 ± 0,02	0,20 ± 0,01
24	0,10 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,20 ± 0,02
48	0,12 ± 0,02	0,18 ± 0,02*+	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,22 ± 0,02

*p<0.05, **p<0,01, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda Salin, ++ LPS grupları ile karşılaştırıldığında, p<0.05

Tablo-13a: Serum CRP düzeyinin ($\mu\text{g/ml}$) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	11 \pm 7	11 \pm 1	10 \pm 2	7 \pm 4	8 \pm 4	10 \pm 3
0,5	11 \pm 9	11 \pm 1	10 \pm 2	14 \pm 8	7 \pm 4	10 \pm 3
1	16 \pm 11	11 \pm 1	10 \pm 2	12 \pm 7	7 \pm 3	10 \pm 3
4	11 \pm 7	13 \pm 2	9 \pm 2	31 \pm 11	19 \pm 5	26 \pm 2
24	10 \pm 6	12 \pm 3	10 \pm 2	153 \pm 17****+	140 \pm 5****+	119 \pm 23****+
48	13 \pm 20	16 \pm 10	8 \pm 2	101 \pm 17****+	75 \pm 7****+	115 \pm 38****+

***p<0,001, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda kontrol grupları (Salin, Kolin, CDP-Kolin) ile karşılaştırıldığında, p<0.001

Tablo-13b: Serum haptoglobin düzeyinin (g/l) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,8 \pm 0,3	2,9 \pm 0,4	2,2 \pm 0,3	2,4 \pm 0,2	2,7 \pm 0,3	2,8 \pm 0,2
0,5	2,9 \pm 0,4	3,0 \pm 0,4	2,2 \pm 0,4	3,0 \pm 0,6	2,8 \pm 0,3	2,7 \pm 0,2
1	2,8 \pm 0,4	2,8 \pm 0,4	2,0 \pm 0,3	3,1 \pm 0,6	2,7 \pm 0,3	2,8 \pm 0,2
4	2,8 \pm 0,5	2,9 \pm 0,5	2,0 \pm 0,3	3,3 \pm 0,6	2,7 \pm 0,3	2,9 \pm 0,3
24	2,8 \pm 0,5	2,8 \pm 0,5	2,9 \pm 0,3	5,0 \pm 0,8****	4,9 \pm 0,4****	3,0 \pm 0,6
48	2,9 \pm 0,4	2,8 \pm 0,5	2,3 \pm 0,2	4,4 \pm 0,5****	5,8 \pm 0,4****	2,6 \pm 0,1+

***p<0.001, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda LPS ve LPS + Kolin grupları ile karşılaştırıldığında, p<0.001

Tablo-13c: Serum seruloplazmin düzeyinin ($\times 10^{-3}$ AA/dk) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	3,8 \pm 0,1	3,9 \pm 0,4	5,1 \pm 0,4	5,1 \pm 0,5	4,5 \pm 0,3	4,8 \pm 0,4
0,5	3,6 \pm 0,3	4,3 \pm 0,4	4,5 \pm 0,2	5,4 \pm 0,4	4,5 \pm 0,2	4,6 \pm 0,7
1	3,5 \pm 0,6	3,8 \pm 0,4	4,3 \pm 0,2	5,5 \pm 0,7	4,7 \pm 0,3	4,1 \pm 0,2
4	3,4 \pm 0,4	4,4 \pm 0,2	4,2 \pm 0,5	5,5 \pm 0,7	4,9 \pm 0,4	4,1 \pm 0,5
24	3,9 \pm 0,1	4,1 \pm 0,5	4,5 \pm 0,4	7,4 \pm 0,9***	5,0 \pm 0,3+	5,4 \pm 0,6+
48	3,8 \pm 0,2	4,6 \pm 0,6	4,6 \pm 0,4	7,7 \pm 0,1***	6,2 \pm 0,3	8,2 \pm 0,2***

***p<0.001, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında, + ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında, p<0.001

Tablo-14a: Serum total protein değerinin (g/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	6,3 ± 0,1	6,1 ± 0,2	6,5 ± 0,1	6,7 ± 0,2	6,5 ± 0,1	6,5 ± 0,1
0,5	6,3 ± 0,2	6,4 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,5 ± 0,3	6,5 ± 0,2	6,5 ± 0,2
1	6,7 ± 0,2	6,1 ± 0,0	6,3 ± 0,0	6,9 ± 0,3	6,3 ± 0,1	6,4 ± 0,1
4	6,5 ± 0,2	6,4 ± 0,2	6,4 ± 0,1	6,8 ± 0,3	6,2 ± 0,2	6,4 ± 0,2
24	6,1 ± 0,3	6,2 ± 0,4	6,3 ± 0,0	7,0 ± 0,3**	6,3 ± 0,2+	6,2 ± 0,2+
48	6,1 ± 0,2	6,4 ± 0,1	6,3 ± 0,2	6,8 ± 0,6**	6,1 ± 0,2	6,3 ± 0,2

Tablo-14b: Serum albümin değerinin (g/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,2	3,1 ± 0,0	2,8 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,7 ± 0,2
0,5	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,3	3,0 ± 0,0	2,7 ± 0,0	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,2
1	3,0 ± 0,1	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,0	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,3	2,7 ± 0,2
4	2,7 ± 0,3	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,8 ± 0,3	2,7 ± 0,2
24	2,8 ± 0,2	2,9 ± 0,3	3,1 ± 0,0	2,1 ± 0,2**	2,7 ± 0,3+	2,6 ± 0,1+
48	2,7 ± 0,1	3,1 ± 0,2	2,8 ± 0,1	2,1 ± 0,2**	2,5 ± 0,3	2,7 ± 0,1

**p<0,01, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında (p<0,01)

Tablo-15a: Venöz kan pH düzeyinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (istatistiksel açıklamalar Fig.20 de aktarılmıştır)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	7,35 ± 0,01	7,36 ± 0,04	7,34 ± 0,01	7,40 ± 0,03	7,36 ± 0,01	7,33 ± 0,01
0,5	7,35 ± 0,01	7,31 ± 0,01	7,33 ± 0,01	7,34 ± 0,03	7,24 ± 0,02	7,61 ± 0,31
1	7,34 ± 0,01	7,37 ± 0,01	7,35 ± 0,01	7,20 ± 0,07*	7,25 ± 0,02	7,30 ± 0,02
4	7,35 ± 0,01	7,36 ± 0,02	7,34 ± 0,01	7,30 ± 0,03	7,28 ± 0,03	7,32 ± 0,01
24	7,35 ± 0,01	7,36 ± 0,01	7,34 ± 0,01	7,26 ± 0,07*	7,35 ± 0,00	7,33 ± 0,02
48	7,35 ± 0,00	7,36 ± 0,03	7,34 ± 0,01	7,27 ± 0,07	7,35 ± 0,01	7,31 ± 0,04

Tablo-15b: Venöz kan pO₂ değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (istatistiksel açıklamalar Fig.20 de aktarılmıştır)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	62 ± 6	72 ± 4	56 ± 3	71 ± 6	70 ± 6	52 ± 3
0,5	66 ± 3	77 ± 4	58 ± 4	49 ± 4*	61 ± 4	61 ± 2
1	67 ± 3	71 ± 8	58 ± 3	46 ± 4*	60 ± 3*	54 ± 5
4	65 ± 5	71 ± 7	65 ± 4	43 ± 5***	62 ± 2*	56 ± 0
24	62 ± 5	73 ± 7	60 ± 3	40 ± 3**	63 ± 4*	51 ± 2
48	65 ± 6	72 ± 7	58 ± 3	43 ± 2**	64 ± 4*	46 ± 5

Tablo-15c: Venöz kan pCO₂ değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (istatistiksel açıklamalar Fig.20 de aktarılmıştır)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	36 ± 0	37 ± 1	42 ± 4	36 ± 2	36 ± 2	56 ± 2
0,5	36 ± 0	32 ± 1	42 ± 3	47 ± 1	40 ± 1	53 ± 1
1	36 ± 0	39 ± 4	41 ± 2	49 ± 2**	41 ± 1	53 ± 4
4	35 ± 0	35 ± 0	45 ± 5	44 ± 2***	37 ± 1	51 ± 1
24	36 ± 0	35 ± 3	38 ± 2	43 ± 1**	39 ± 0	54 ± 5
48	36 ± 1	34 ± 0	38 ± 1	42 ± 2**	39 ± 1	60 ± 6

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında.

Tablo-16: Serum butirikolinesteraz (BChE) düzeyinin ($\mu\text{mol/ml}$) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	4,0 \pm 0,3	4,0 \pm 0,3	3,8 \pm 0,0	3,7 \pm 0,2	4,1 \pm 0,4	3,9 \pm 1,0
0,5	4,2 \pm 0,3	4,3 \pm 0,3	3,7 \pm 0,0	3,6 \pm 0,3	4,3 \pm 0,3	3,9 \pm 1,0
1	4,3 \pm 0,3	4,0 \pm 0,3	3,7 \pm 0,0	3,7 \pm 0,3	4,2 \pm 0,3	4,0 \pm 1,1
4	3,7 \pm 0,4	4,2 \pm 0,3	3,7 \pm 0,1	4,1 \pm 0,4	4,2 \pm 0,3	3,9 \pm 1,1
24	3,9 \pm 0,2	4,1 \pm 0,4	3,7 \pm 0,0	2,5 \pm 0,3*	3,8 \pm 0,2 ⁺	3,7 \pm 0,5 ⁺
48	4,0 \pm 0,3	4,0 \pm 0,2	3,6 \pm 0,0	2,6 \pm 0,2*	3,7 \pm 0,2 ⁺	3,5 \pm 0,5 ⁺

***p<0,001, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + p<0,05, ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında

Tablo-17a: Serum HMGB-1 protein düzeyinin kontrole (LPS grubu) göre % değişimi – western-blot analiz sonuçları

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
4	100 ± 28	61 ± 16	53 ± 7*
24	100 ± 21	32 ± 4**	53 ± 3*
48	100 ± 3	31 ± 10***	48 ± 11**

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: LPS grubu ile karşılaştırıldığında

Tablo-17b: Serum HMGB-1 protein düzeyinin (x 10² pg/ml) grup içi ve gruplar arası değişimleri – ELISA test sonuçları

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	75 ± 48	65 ± 20	56 ± 25
0,5	459 ± 47***	168 ± 55 ⁺	394 ± 34***
1	516 ± 62***	528 ± 24***	640 ± 28***
4	450 ± 36**	253 ± 98	513 ± 165
24	929 ± 75***	256 ± 68 ⁺	408 ± 69 ⁺
48	389 ± 23	201 ± 54	394 ± 42

p<0.01, *p<0,001 grup içi karşılaştırma (baseline – 0.saate göre); + p<0,001: ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında

Tablo-18a: Serum immunglobulin G (IgG, mg/dl) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2071 ± 40	2096 ± 45	2269 ± 113	2107 ± 80	2044 ± 80	2059 ± 162
0,5	2054 ± 35	2087 ± 45	2122 ± 160	2100 ± 85	2045 ± 85	2032 ± 88
1	2071 ± 35	2075 ± 45	2162 ± 101	2108 ± 95	2026 ± 90	2031 ± 134
4	2013 ± 60	2128 ± 40	2029 ± 146	2124 ± 100	2031 ± 90	2031 ± 112
24	2057 ± 35	2081 ± 30	2154 ± 110	1955 ± 95	2000 ± 90	2020 ± 136
48	2072 ± 30	2077 ± 50	2000 ± 174	1907 ± 90	1980 ± 60	2087 ± 86 ⁺

Tablo-18b: Serum immunglobulin M (IgM, mg/dl) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	347 ± 36	293 ± 22	444 ± 22	358 ± 52	352 ± 34	410 ± 53
0,5	364 ± 40	319 ± 28	434 ± 32	359 ± 54	362 ± 30	398 ± 42
1	380 ± 42	295 ± 18	426 ± 17	362 ± 56	360 ± 40	399 ± 48
4	322 ± 50	312 ± 34	407 ± 19	341 ± 48	344 ± 38	396 ± 43
24	346 ± 44	296 ± 28	425 ± 15	304 ± 48	344 ± 38	395 ± 77
48	346 ± 40	280 ± 14 ⁺	402 ± 25	275 ± 40	341 ± 36	391 ± 44 ⁺⁺

+ ilgili zamanda Salin ve CDP-Kolin grubu ile, p<0.01; ++ ilgili zamanda LPS ve LPS + Kolin grubu ile karşılaştırıldığında, p<0.01

Tablo-19a: EKG'den elde edilen P süresinin (sn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,030 \pm 0,000	0,034 \pm 0,002	0,036 \pm 0,002	0,030 \pm 0,002	0,040 \pm 0,001	0,032 \pm 0,004
1. dakika	0,030 \pm 0,000	0,040 \pm 0,000	0,032 \pm 0,002	0,040 \pm 0,000	0,035 \pm 0,000	0,035 \pm 0,005
15. dakika	0,030 \pm 0,000	0,040 \pm 0,003	0,037 \pm 0,002	0,030 \pm 0,004	0,040 \pm 0,005	0,035 \pm 0,005
0,5. saat	0,030 \pm 0,000	0,035 \pm 0,005	0,037 \pm 0,002	0,035 \pm 0,002	0,033 \pm 0,006	0,037 \pm 0,002
1. saat	0,032 \pm 0,000	0,037 \pm 0,002	0,035 \pm 0,002	0,032 \pm 0,002	0,040 \pm 0,004	0,040 \pm 0,000
4. saat	0,030 \pm 0,000	0,035 \pm 0,005	0,034 \pm 0,002	0,036 \pm 0,002	0,032 \pm 0,004	0,030 \pm 0,004
24. saat	0,026 \pm 0,000	0,034 \pm 0,004	0,036 \pm 0,002	0,035 \pm 0,004	0,037 \pm 0,002	0,037 \pm 0,002
48. saat	0,030 \pm 0,000	0,034 \pm 0,000	0,037 \pm 0,002	0,035 \pm 0,005	0,035 \pm 0,003	0,032 \pm 0,004

Tablo-19b: EKG'den elde edilen P yüksekliğinin (mV) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,23 \pm 0,04	0,17 \pm 0,04	0,23 \pm 0,03	0,21 \pm 0,02	0,20 \pm 0,04	0,27 \pm 0,05
1. dakika	0,23 \pm 0,03	0,20 \pm 0,00	0,25 \pm 0,03	0,30 \pm 0,00	0,15 \pm 0,05	0,18 \pm 0,04
15. dakika	0,23 \pm 0,03	0,21 \pm 0,05	0,27 \pm 0,01	0,22 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	0,25 \pm 0,05
0,5. saat	0,26 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02	0,23 \pm 0,03	0,26 \pm 0,02	0,18 \pm 0,07	0,30 \pm 0,04
1. saat	0,21 \pm 0,03	0,22 \pm 0,01	0,25 \pm 0,04	0,21 \pm 0,02	0,26 \pm 0,05	0,40 \pm 0,00
4. saat	0,20 \pm 0,03	0,26 \pm 0,02	0,27 \pm 0,03	0,24 \pm 0,04	0,21 \pm 0,05	0,27 \pm 0,07
24. saat	0,20 \pm 0,00	0,27 \pm 0,03	0,24 \pm 0,02	0,33 \pm 0,05	0,21 \pm 0,01	0,30 \pm 0,05
48. saat	0,10 \pm 0,04	0,026 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	0,22 \pm 0,07	0,21 \pm 0,03	0,25 \pm 0,05

Tablo-20a: EKG'den elde edilen PR süresinin (sn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,09 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,09 ± 0,00
1. dakika	0,11 ± 0,01	0,14 ± 0,04	0,09 ± 0,00	0,20 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01
15. dakika	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,00	0,13 ± 0,02	0,12 ± 0,00	0,08 ± 0,01
0,5. saat	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,00	0,09 ± 0,01
1. saat	0,11 ± 0,02	0,10 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00
4. saat	0,10 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01
24. saat	0,08 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,10 ± 0,00
48. saat	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,05

Tablo-20b: EKG'den elde edilen QRS süresinin (sn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
1. dakika	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
15. dakika	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,03 ± 0,00
0,5. saat	0,04 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
1. saat	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
4. saat	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,03 ± 0,00
24. saat	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
48. saat	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00

Tablo-21a: EKG'den elde edilen R amplütüdü (mV) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,0 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,1
1. dakika	2,0 ± 0,1	1,8 ± 0,5	1,6 ± 0,1	2,5 ± 0,1	1,7 ± 0,4	1,4 ± 0,2
15. dakika	2,0 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,3
0,5. saat	2,0 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,0	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,1
1. saat	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,3	1,7 ± 0,0	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,3	1,7 ± 0,1
4. saat	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,3	1,7 ± 0,0	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,4	1,8 ± 0,2
24. saat	2,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,0	2,0 ± 0,2	1,6 ± 0,3	1,7 ± 0,2
48. saat	2,1 ± 0,1	1,8 ± 0,5	1,8 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,1

Tablo-21b: EKG'den elde edilen T süresinin (sn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,01
1. dakika	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,00
15. dakika	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,05 ± 0,01
0,5. saat	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00
1. saat	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00
4. saat	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
24. saat	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
48. saat	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,07 ± 0,01 ⁺	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00

+ ilgili zamanda diğer gruplarla karşılaştırıldığında, p<0.05

Tablo-22a: EKG'den elde edilen T amplütüdü (mV) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0
1. dakika	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0
15. dakika	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,1
0,5. saat	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0
1. saat	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,0
4. saat	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0
24. saat	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0
48. saat	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0

Tablo-22b: EKG'den elde edilen QT süresinin (sn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,00	0,11 ± 0,00
1. dakika	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,01
15. dakika	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,00
0,5. saat	0,15 ± 0,00	0,16 ± 0,02	0,10 ± 0,00	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01
1. saat	0,16 ± 0,00	0,16 ± 0,02	0,10 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,00	0,14 ± 0,00
4. saat	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,12 ± 0,01
24. saat	0,14 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,00
48. saat	0,10 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,00

Tablo-23a: Pulmoner arter çaplarının (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,3 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,7 \pm 0,0	2,1 \pm 0,0	2,0 \pm 0,0	1,6 \pm 0,0
0,5	2,2 \pm 0,2	2,1 \pm 0,1	1,5 \pm 0,0	1,9 \pm 0,0	2,2 \pm 0,0	1,3 \pm 0,0
1	1,9 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	1,6 \pm 0,0	1,8 \pm 0,0	1,9 \pm 0,1	1,4 \pm 0,0
4	1,9 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	1,7 \pm 0,0	2,0 \pm 0,1	2,0 \pm 0,2	1,6 \pm 0,0
24	2,0 \pm 0,2	2,1 \pm 0,1	1,7 \pm 0,0	1,9 \pm 0,0	1,8 \pm 0,2	1,5 \pm 0,1
48	1,7 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,7 \pm 0,0	2,0 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,5 \pm 0,2

Tablo-23b: Aort çaplarının (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,0 \pm 0,1	2,2 \pm 0,0	1,9 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	1,9 \pm 0,0
0,5	2,0 \pm 0,1	2,2 \pm 0,0	1,9 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
1	2,1 \pm 0,0	1,9 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	1,8 \pm 0,0
4	2,1 \pm 0,0	2,4 \pm 0,1	2,0 \pm 0,0	2,1 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1
24	2,0 \pm 0,0	2,4 \pm 0,1	2,1 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1
48	2,0 \pm 0,0	2,2 \pm 0,0	2,0 \pm 0,0	2,2 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,9 \pm 0,0

Tablo-23c: Sol atriyum çaplarının (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,5 \pm 0,0	2,4 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1	2,5 \pm 0,2	2,6 \pm 0,1	1,8 \pm 0,0
0,5	2,4 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,9 \pm 0,0	2,2 \pm 0,1	2,0 \pm 0,0	1,8 \pm 0,0
1	2,3 \pm 0,0	2,2 \pm 0,1	2,1 \pm 0,0	2,0 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,9 \pm 0,0
4	2,4 \pm 0,1	2,4 \pm 0,3	2,1 \pm 0,0	2,3 \pm 0,1	2,3 \pm 0,2	2,1 \pm 0,0
24	2,2 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	2,1 \pm 0,2	2,3 \pm 0,1	1,9 \pm 0,0
48	2,2 \pm 0,0	2,4 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	2,3 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1

Tablo-24a: Ekokardiyografik muayenede sağ parasternal kısa eksen görüntüde LVSD'nin (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	3,20 ± 0,25	3,10 ± 0,09	2,94 ± 0,23	3,02 ± 0,12	3,52 ± 0,10	4,12 ± 1,46
0,5	3,00 ± 0,29	3,32 ± 0,26	2,81 ± 0,15	2,95 ± 0,20	2,70 ± 0,44**	2,56 ± 0,13***
1	3,37 ± 0,07	3,03 ± 0,24	2,86 ± 0,19	2,25 ± 0,23**+	3,34 ± 0,19	2,40 ± 0,45***
4	3,55 ± 0,34	3,24 ± 0,42	3,66 ± 1,94	2,89 ± 0,28	2,56 ± 0,39**	2,47 ± 0,49***
24	3,36 ± 0,34	3,29 ± 0,15	3,05 ± 0,27	2,95 ± 0,53	3,01 ± 0,37	2,67 ± 0,33***
48	3,25 ± 0,00	3,20 ± 0,19	3,21 ± 0,15	2,99 ± 0,12	3,23 ± 0,03	2,41 ± 0,44***

LVSD: Sol ventriküler sistol çapı

Tablo-24b: Ekokardiyografik muayenede sağ parasternal kısa eksen görüntüde LVDD'nin (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	4,54 ± 0,33	4,53 ± 0,09	4,21 ± 0,31	4,36 ± 0,08	4,22 ± 0,31	3,37 ± 0,12
0,5	4,12 ± 0,18	4,70 ± 0,23	4,01 ± 0,11	4,00 ± 0,32	3,83 ± 0,91	3,31 ± 0,08
1	4,27 ± 0,11	4,42 ± 0,11	3,92 ± 0,11	3,00 ± 0,46***	3,37 ± 1,09	3,19 ± 0,09
4	4,51 ± 0,17	4,25 ± 0,44	3,69 ± 0,15*	3,64 ± 0,44**	3,20 ± 0,53**	4,16 ± 0,14**
24	4,33 ± 0,16	4,67 ± 0,15	4,04 ± 0,15	3,66 ± 0,32**	4,05 ± 0,52	3,56 ± 0,10
48	4,75 ± 0,00	4,63 ± 0,06	4,39 ± 0,44	3,73 ± 0,19*	4,25 ± 0,39	3,45 ± 0,08

LVDD: Sol ventriküler diyastol çapı

Tablo-25a: Ekokardiyografik muayenede sağ parasternal kısa eksen görüntüde IVSSD'nin (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	1,63 ± 0,41	1,23 ± 0,04	1,23 ± 0,09	1,28 ± 0,07	1,29 ± 0,14	1,21 ± 0,37
0,5	1,31 ± 0,13	1,41 ± 0,16	1,34 ± 0,11	1,48 ± 0,07	1,16 ± 0,11	1,10 ± 0,31
1	1,16 ± 0,17	1,18 ± 0,09	1,38 ± 0,09	1,57 ± 0,15	1,32 ± 0,09	1,19 ± 1,3
4	1,20 ± 0,09	1,16 ± 0,16	1,32 ± 0,11	1,34 ± 0,11	1,50 ± 0,14	1,04 ± 1,19
24	1,11 ± 0,08	1,45 ± 0,10	1,13 ± 0,10	1,29 ± 0,01	1,32 ± 0,09	1,04 ± 0,14
48	1,28 ± 0,00	1,25 ± 0,14	1,30 ± 0,03	1,27 ± 0,06	1,45 ± 0,02	1,04 ± 1,17

IVSSD: interventriküler septum sistol çapı

Tablo-25b : Ekokardiyografik muayenede sağ parasternal kısa eksen görüntüde IVSDD'nin (cm) grup içi ve gruplar arası değişimi (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,82 ± 0,06	0,86 ± 0,04	0,96 ± 0,05	0,96 ± 0,05	1,08 ± 0,08	0,96 ± 0,03
0,5	0,80 ± 0,08	0,84 ± 0,06	1,03 ± 0,05	0,80 ± 0,14	1,05 ± 0,05	0,99 ± 0,10
1	0,93 ± 0,02	0,90 ± 0,05	1,11 ± 0,11	0,99 ± 0,04	1,04 ± 0,07	0,98 ± 0,02
4	0,82 ± 0,10	0,80 ± 0,03	1,03 ± 0,11	1,16 ± 0,17	1,04 ± 0,27	0,87 ± 0,08
24	0,82 ± 0,05	0,98 ± 0,05	1,08 ± 0,11	1,00 ± 0,08	0,94 ± 0,10	0,96 ± 0,07
48	0,90 ± 0,00	0,85 ± 0,04	1,04 ± 0,06	0,95 ± 0,10	1,06 ± 0,15	0,92 ± 0,09

IVSDD: interventriküler septum sistol çapı

Tablo-26a: Ekokardiyografik muayenede sağ parasternal kısa eksen görüntüde PWDD'nin (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,94 ± 0,11	1,14 ± 0,05	1,13 ± 0,08	1,04 ± 0,06	1,11 ± 0,08	0,97 ± 0,05
0.5	0,99 ± 0,05	1,03 ± 0,08	1,18 ± 0,06	1,04 ± 0,06	1,14 ± 0,16	0,94 ± 0,07
1	0,89 ± 0,04	1,06 ± 0,07	1,21 ± 0,10	1,16 ± 0,06	1,50 ± 0,21	1,03 ± 0,07
4	1,03 ± 0,06	1,08 ± 0,08	1,18 ± 0,06	1,18 ± 0,27	1,26 ± 0,17	0,93 ± 0,05
24	1,01 ± 0,06	1,24 ± 0,10	1,06 ± 0,13	1,12 ± 0,10	1,30 ± 0,11	0,99 ± 0,04
48	0,95 ± 0,00	1,16 ± 0,05	1,15 ± 0,13	1,11 ± 0,05	1,10 ± 0,10	1,04 ± 0,06

PWDD: Sol ventriküler post-wall (duvar) diyastol çapı

Tablo-26b: Ekokardiyografik muayenede sağ parasternal kısa eksen görüntüde PWSD'nin (cm) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	1,05 ± 0,12	1,31 ± 0,14	1,27 ± 0,05	1,36 ± 0,06	1,34 ± 0,03	0,97 ± 1,18
0,5	1,31 ± 0,10	1,38 ± 0,06	1,32 ± 0,09	1,35 ± 0,13	1,54 ± 0,30	1,13 ± 1,15
1	1,20 ± 0,05	1,33 ± 0,07	1,18 ± 0,06	1,56 ± 0,23	1,40 ± 0,09	1,14 ± 1,26
4	1,26 ± 0,14	1,24 ± 0,08	1,41 ± 0,09	0,85 ± 0,39	1,31 ± 0,02	1,02 ± 1,08
24	1,21 ± 0,07	1,38 ± 0,08	1,19 ± 0,06	1,19 ± 0,01	1,37 ± 0,05	1,01 ± 1,23
48	1,64 ± 0,00	1,32 ± 0,10	1,11 ± 0,09	1,21 ± 0,12	1,42 ± 0,19	1,19 ± 5,11

PWSD: Sol ventriküler post-wall (duvar) sistol çapı

Tablo-27a: Aort pre-ejeksiyon periyod (PEP) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0. saat	456 ± 45	516 ± 94	534 ± 51	480 ± 105	366 ± 64	417 ± 89
0,5. saat	466 ± 42	660 ± 256	481 ± 54	291 ± 23****+	411 ± 50	749 ± 242
1. saat	436 ± 34	541 ± 126	357 ± 20	327 ± 24***	401 ± 49	343 ± 92
4. saat	455 ± 42	422 ± 65	322 ± 31**	401 ± 50	326 ± 103	424 ± 32
24. saat	443 ± 53	505 ± 106	476 ± 44**	467 ± 49	345 ± 68	410 ± 45
48. saat	466 ± 35	515 ± 76	383 ± 70**	477 ± 42	367 ± 31	440 ± 97

Tablo-27b: Sol ventriküler ejeksiyon zamanı (ET) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0. saat	257 ± 10	242 ± 8	209 ± 10	240 ± 11	241 ± 5	226 ± 6
0,5. saat	248 ± 21	227 ± 6	215 ± 10	205 ± 23	202 ± 43	215 ± 9
1. saat	258 ± 31	247 ± 12	213 ± 9	188 ± 14****+	233 ± 6	197 ± 11
4. saat	263 ± 23	238 ± 15	219 ± 7	182 ± 24**	165 ± 13	213 ± 8
24. saat	239 ± 12	258 ± 19	233 ± 16	186 ± 4**	201 ± 23	243 ± 17
48. saat	230 ± 15	241 ± 9	216 ± 21	189 ± 13**	211 ± 19	207 ± 20

Tablo-27c: Ekokardiyografik muayenede PEP/LVET'in grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	1,72 ± 0,54	2,34 ± 0,45	2,78 ± 0,12	2,37 ± 0,51	1,84 ± 0,31	2,31 ± 0,41
0,5. saat	2,81 ± 0,22	3,04 ± 1,08	2,49 ± 0,25	1,49 ± 0,07****+	2,65 ± 1,08	3,95 ± 1,02
1. saat	2,16 ± 0,15	2,66 ± 0,49	1,55 ± 0,34**	1,90 ± 0,25	2,78 ± 0,63	2,08 ± 0,42
4. saat	2,00 ± 0,36	2,02 ± 0,32	1,67 ± 0,16**	2,30 ± 0,12	1,88 ± 0,18	2,52 ± 0,24
24. saat	1,58 ± 0,21	2,54 ± 0,65	2,38 ± 0,15	2,97 ± 0,41	1,94 ± 0,37	2,23 ± 0,20
48. saat	2,37 ± 0,00	2,38 ± 0,35	2,13 ± 0,47	2,64 ± 0,21	1,16 ± 0,00	2,30 ± 0,41

p<0,01; **P<0.001, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + P<0.05, ilgili zamanda gruplar arası karşılaştırıldığında

Tablo-28a: Ekokardiyografik olarak izovolemik kontraksiyon zamanının (ICT, msn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

↓ Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	105,80 ± 23,40	252,33 ± 106,43	109,75 ± 43,38	170,40 ± 95,14	209,25 ± 88,98	238,00 ± 73,43
0.5	134,25 ± 17,99	251,00 ± 124,02	112,20 ± 23,71	199,50 ± 66,23	84,50 ± 23,50**	240,00 ± 168,51
1	131,75 ± 35,25	320,50 ± 112,11	133,33 ± 41,80	51,00 ± 16,12**+	66,33 ± 11,05**+	42,00 ± 4,00***+
4	124,40 ± 15,30	257,50 ± 65,50	225,33 ± 67,86	187,00 ± 81,34	134,50 ± 80,50	142,00 ± 29,81
24	95,25 ± 15,90	174,75 ± 58,38	132,66 ± 72,88	69,25 ± 24,48++	169,00 ± 51,18	158,66 ± 2,33
48	184,00 ± 0,00	232,23 ± 106,43	123,00 ± 80,77	152,00 ± 16,23	119,00 ± 50,00	265,00 ± 107,32

Tablo-28b: Velocity circumferential fiber shortening (Vcf) değerinin ($\times 10^{-3}$ cm/sn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

↓ Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,0	1,3 ± 0,1	1,6 ± 0,2
0,5	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,0	1,1 ± 0,0
1	0,9 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,4
4	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,9 ± 0,6
24	1,2 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,3	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1
48	1,5 ± 0,0	1,3 ± 0,1	1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,7 ± 0,3

Tablo-28c: Ekokardiyografik olarak izovolemik kontraksiyon zamanının (IRT, msn) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

↓ Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	89,80 ± 20,38	93,33 ± 30,35	67,00 ± 6,44	67,60 ± 9,57	86,50 ± 18,00	74,00 ± 22,36
0,5	55,25 ± 11,01	48,66 ± 2,66**	61,40 ± 5,44	63,25 ± 8,40	84,50 ± 7,50	89,66 ± 11,36
1	52,75 ± 7,59	63,25 ± 8,40	74,00 ± 6,80	69,00 ± 17,89	102,33 ± 52,38	59,00 ± 5,00
4	78,20 ± 17,46	73,00 ± 27,00	51,00 ± 10,00	67,00 ± 6,44	80,50 ± 3,50	71,66 ± 14,31
24	71,25 ± 15,83	55,50 ± 14,82	66,33 ± 18,09	84,50 ± 10,34	48,66 ± 9,00	74,75 ± 7,11
48	61,00 ± 0,00	75,33 ± 16,13	46,00 ± 13,27	72,52 ± 9,31	53,50 ± 7,50	44,75 ± 12,10

Tablo-29a: Ekokardiyografik muayenede kap debisinin (C.O.; ml) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	3232 ± 448	2612 ± 270	3449 ± 407	2999 ± 322	2307 ± 477	1713 ± 247
0,5	2634 ± 465	2677 ± 613	2380 ± 230**	2750 ± 350	2059 ± 727	1054 ± 53***+
1	3497 ± 808	2774 ± 623	3229 ± 396	400 ± 22***+	2236 ± 160	2233 ± 1144
4	3583 ± 902	2543 ± 360	2825 ± 458	1500 ± 565***	1961 ± 511	3220 ± 1450
24	2906 ± 206	2979 ± 505	2875 ± 521	1056 ± 238***+	2478 ± 120	3470 ± 877
48	3232 ± 124	2714 ± 373	3898 ± 412	1610 ± 220***+	2311 ± 251	2757 ± 1131

Tablo-29b: Ekokardiyografik olarak hesaplanan stroke volümünün (SV; ml) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	41,84 ± 13,09	38,30 ± 7,08	26,80 ± 2,27	31,11 ± 2,33	26,50 ± 5,61	16,32 ± 3,66
0,5	27,12 ± 4,00	32,24 ± 7,62	23,40 ± 2,52	38,30 ± 7,28	20,73 ± 6,56	12,35 ± 1,59
1	36,45 ± 8,53	33,97 ± 7,91	25,56 ± 2,41	9,82 ± 2,77***+	18,96 ± 3,52	19,97 ± 10,34
4	37,00 ± 7,51	29,53 ± 5,75	22,58 ± 3,69	17,85 ± 2,10	17,80 ± 1,77	34,60 ± 9,48
24	29,98 ± 1,80	35,64 ± 6,24	20,46 ± 2,79	17,70 ± 5,59	22,20 ± 7,15	30,35 ± 8,21
48	37,40 ± 1,00	36,30 ± 2,10	24,42 ± 4,43	18,22 ± 4,42	26,95 ± 15,45	38,02 ± 14,35

Tablo-30a: Fraksiyonel kasılma (FS, %) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	30 \pm 2	30 \pm 3	29 \pm 2	19 \pm 4	25 \pm 2	22 \pm 2
0,5	29 \pm 3	30 \pm 2	31 \pm 4	19 \pm 4	28 \pm 2	20 \pm 3
1	26 \pm 2	31 \pm 2	29 \pm 3	15 \pm 4	21 \pm 3	22 \pm 1
4	29 \pm 2	34 \pm 7	25 \pm 4	21 \pm 9	27 \pm 2	18 \pm 4
24	24 \pm 3	27 \pm 2	27 \pm 3	16 \pm 2	29 \pm 5	18 \pm 3
48	24 \pm 4	28 \pm 2	27 \pm 4	26 \pm 1	22 \pm 2	22 \pm 3

Tablo-30b: Ejeksiyon fraksiyonu (EF, %) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	69 \pm 2	67 \pm 5	67 \pm 4	64 \pm 5	50 \pm 7	64 \pm 6
0,5	62 \pm 6	62 \pm 7	65 \pm 2	68 \pm 5	57 \pm 9	58 \pm 2
1	63 \pm 2	68 \pm 2	67 \pm 3	59 \pm 3	45 \pm 5	60 \pm 11
4	63 \pm 3	52 \pm 14	68 \pm 3	54 \pm 4	60 \pm 10	53 \pm 1
24	66 \pm 4	66 \pm 3	62 \pm 6	54 \pm 9	52 \pm 4	56 \pm 8
48	62 \pm 0	66 \pm 3	63 \pm 4	54 \pm 9	50 \pm 9	62 \pm 6

Tablo-31a: Aort (Ao) akımı maksimal velosite (Vmax) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,2	0,9 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1
0,5	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,7 ± 0,2**	0,9 ± 0,0
1	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,0	0,6 ± 0,1**+	0,7 ± 0,1**	0,7 ± 0,0**
4	1,3 ± 0,6	1,1 ± 0,0	1,2 ± 0,0	0,9 ± 0,0**	0,8 ± 0,1**	0,8 ± 0,0**
24	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,8 ± 0,1**	0,9 ± 0,1
48	1,6 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,0

Tablo-31b: Pulmoner arter (PA) maksimal velosite (Vmax) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0
0,5	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,9 ± 0,1*	1,0 ± 0,1
1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0	0,6 ± 0,1**+	1,2 ± 0,4	1,1 ± 0,0
4	1,3 ± 0,1	1,1 ± 0,0	1,1 ± 0,0	0,7 ± 0,0**	0,6 ± 0,2	1,0 ± 0,0
24	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,0	0,8 ± 0,0**	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,2
48	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0	0,8 ± 0,1**	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,0

Tablo-32a: Ekokardiyografik muayenede sol parasternal görüntüde mitral E/A'nın grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,32 ± 0,45	2,16 ± 0,14	2,57 ± 0,48	2,13 ± 0,20	2,0 ± 0,2	1,88 ± 0,20
0,5	2,30 ± 0,04	2,17 ± 0,12	2,32 ± 0,29	1,73 ± 0,21***	1,8 ± 0,2**	2,09 ± 0,40
1	2,43 ± 0,02	2,25 ± 0,42	3,03 ± 0,19	1,76 ± 0,17	2,5 ± 0,8	1,69 ± 0,11
4	2,77 ± 0,31	2,94 ± 0,45	2,35 ± 0,21	1,84 ± 0,19	2,1 ± 0,4	1,76 ± 0,11
24	2,22 ± 0,21	2,81 ± 0,51	2,88 ± 0,38	1,52 ± 0,07++	2,1 ± 0,0	1,99 ± 0,09
48	1,80 ± 0,00	2,18 ± 0,16	2,88 ± 0,15	1,50 ± 0,30+	1,9 ± 0,1	2,00 ± 0,16

Tablo-32b: Tei indeks (miyokardiyal performans indeks) değerinin grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	0,9 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,2
0,5	0,9 ± 0,1	1,5 ± 0,5	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,3	0,8 ± 0,4	0,9 ± 0,4
1	0,8 ± 0,1	1,9 ± 0,6+	1,4 ± 0,2+	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,5	1,0 ± 0,3
4	0,9 ± 0,1	1,6 ± 0,6	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,5+++	0,9 ± 0,3	0,8 ± 0,2
24	0,7 ± 0,2	1,1 ± 0,1+	1,4 ± 0,3+	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,9 ± 0,2
48	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,0	1,0 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,0	0,9 ± 0,3

**p<0,01; baseline ile karşılaştırıldığında

+ P<0,05, ilgili zamanda kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; ++ ilgili zamanda tüm gruplarla karşılaştırıldığında, p<0,01

+++ ilgili zamanda LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin grubu ile karşılaştırıldığında p<0,01

Tablo-33a: Serum CK enzim aktivitesinin (IU/L) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	49 ± 5	39 ± 6	99 ± 16	67 ± 13	95 ± 15	75 ± 13
0,5	48 ± 4	45 ± 7	57 ± 9	797 ± 340***	135 ± 25 ⁺	95 ± 10
1	71 ± 12	61 ± 9	87 ± 28	2729 ± 560***	239 ± 50 ⁺	114 ± 22
4	45 ± 2	50 ± 7	87 ± 19	1062 ± 138***	227 ± 65 ⁺	93 ± 11
24	46 ± 5	45 ± 6	69 ± 7	2178 ± 535***	193 ± 69 ⁺	104 ± 15
48	40 ± 6	44 ± 6	92 ± 23	71 ± 14	156 ± 42	57 ± 3

***p<0.001 baseline (0.saate) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında p<0.001

Tablo-33b: Serum LDH enzim aktivitesinin (IU/L) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	78 ± 14	33 ± 9	71 ± 12	42 ± 7	84 ± 22	117 ± 13
0,5	54 ± 13	58 ± 8	65 ± 8	262 ± 108	161 ± 40	156 ± 31
1	48 ± 21	50 ± 13	50 ± 5	2103 ± 600***	487 ± 162 ⁺	244 ± 48 ⁺
4	40 ± 9	37 ± 10	66 ± 13	1769 ± 560***	572 ± 252 ⁺	471 ± 223 ⁺
24	45 ± 7	47 ± 12	90 ± 12 ⁺	204 ± 119	135 ± 30	231 ± 45
48	36 ± 3	50 ± 9	84 ± 3 ⁺	51 ± 14	110 ± 22	125 ± 22

***p<0.001 baseline (0.saate) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında p<0.001

Tablo-33c: Serum Mg düzeyinin (mg/dl) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	1,6 ± 0,0	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,0	1,7 ± 0,0	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,1
0,5	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,9 ± 0,0	1,6 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,0
1	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,9 ± 0,0	1,4 ± 0,1**	1,7 ± 0,0	1,8 ± 0,1
4	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,0	1,3 ± 0,1***	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,1
24	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,1 ± 0,0 ⁺	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,2
48	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,0 ⁺	2,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1

p<0,01, *p<0.001 baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda Salin grubu ile karşılaştırıldığında p<0.01

Tablo-34: CRP, HMGB-1 ve BChE'nin serum (non-spesifik) kardiyak biyomarker ile korelasyonları

	CK	LDH	Mg	AST	BChE
HMGB-1	0,0670	-0,0450	0,227	0,0523	-0,00392
CRP	0,0852	-0,0816	0,460**	0,0263	0,168
Cp	0,190	0,111	0,223	0,135	0,187
Hp	0,393*	0,0563	0,0923	0,249	0,316*
CK		0,610***	-0,408**	0,385**	0,333*
LDH			-0,638***	0,734***	-0,0165
Mg				-0,451**	0,0844
AST					0,243

HMGB-1 High mobility group box-1; CRP C reaktif protein; Cp Seruloplasmin; Hp Haptogloblin; CK Kreatinin kinaz; LDH Laktat dehidrojenaz; Mg Magnezyum; AST Aspartat aminotransferaz

Tablo-35: CRP, HMGB-1 ve BChE'nin karaciğer enzim aktiviteleri ile korelasyonları

	CRP	Cp	Hp	BChE	GGT	ALP	ALT
HMGB-1	0,305	0,126	0,391*	-0,00392	-0,193	0,209	0,214
CRP		0,604***	0,502***	0,168	-0,185	0,444**	0,367*
Cp			0,431**	0,187	-0,151	0,415**	-0,176
Hp				0,316*	-0,268	0,646***	-0,178
BChE					-0,0920	0,573***	-0,101
GGT						0,251	0,394*
ALP							0,132

HMGB-1 High mobility group box-1; CRP C reaktif protein; Cp Seruloplasmin; Hp Haptogloblin; GGT Gamma glutamiltransferaz; ALP Alkalin fosfat; ALT Alanin aminotransferaz

Tablo-36: CRP, HMGB-1 ve BChE'nin serum lipid profili ile korelasyonları

	CRP	Cp	Hp	BChE	Chol	HDL	LDL	Tg
HMGB-1	0,305	0,126	0,391*	-0,00392	0,322	0,303	0,283	0,269
CRP		0,604***	0,502***	0,168	0,488**	0,459**	0,459**	0,346*
Cp			0,431**	0,187	0,445**	0,403**	0,468**	0,219
Hp				0,316*	0,634***	0,595***	0,673***	0,140
BChE					0,591***	0,519***	0,640***	0,107
Chol						0,965***	0,980***	0,513**
HDL							0,935***	0,467**
LDL								0,389*

HMGB-1 High mobility group box-1; CRP C reaktif protein; Cp Seruloplasmin; Hp Haptogloblin; BChE Butirilkolinesteraz; Chol Total kolesterol; HDL High density lipoprotein (HDL – kolesterol); LDL Low density lipoprotein (LDL – kolesterol)

Tablo-37: CRP ve HMGB-1'in akut faz proteinleri ve immunglobulinler (IgG, IgM) ile korelasyonları

	CRP	Albümin	TP	Cp	Hp	IgG	IgM
HMGB-1	0,305	0,128	0,103	0,126	0,391*	-0,0764	0,0177
CRP		0,157	0,00899	0,604***	0,502***	-0,0433	-0,0234
Albümin			0,115	-0,0634	-0,211	0,104	-0,181
TP				0,0734	0,0923	0,117	0,242
Cp					0,431**	-0,0965	-0,0316
Hp						-0,520**	-0,363*
IgG							0,906***

HMGB-1 High mobility group box-1; CRP C reaktif protein; TP total protein; Cp Seruloplasmin; Hp Haptogloblin

Tablo-6a: Beden sıcaklığının grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	38,9 \pm 0,1	39,0 \pm 0,2	39,3 \pm 0,2	39,3 \pm 0,2	38,7 \pm 0,1	38,8 \pm 0,1
0,5	38,8 \pm 0,1	39,3 \pm 0,2	39,1 \pm 0,1	39,7 \pm 0,4	39,1 \pm 0,1	39,2 \pm 0,0
1	38,8 \pm 0,1	39,2 \pm 0,3	38,9 \pm 0,1	39,8 \pm 0,4	39,3 \pm 0,1	39,5 \pm 0,1
4	38,5 \pm 0,1	39,1 \pm 0,2	38,8 \pm 0,2	39,8 \pm 0,3	39,7 \pm 0,3	40,4 \pm 0,2***
24	38,9 \pm 0,1	38,8 \pm 0,4	39,1 \pm 0,1	39,1 \pm 0,2	40,1 \pm 0,4***	38,8 \pm 0,0
48	38,8 \pm 0,1	38,9 \pm 0,3	38,7 \pm 0,0	38,1 \pm 0,2 ⁺	38,9 \pm 0,2	39,0 \pm 0,4

Tablo-6b: Kalp frekansının grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	101 \pm 6	85 \pm 4	110 \pm 11	114 \pm 6	90 \pm 6	112 \pm 10
0,5	92 \pm 4	85 \pm 9	98 \pm 5	111 \pm 11	101 \pm 13	90 \pm 12
1	94 \pm 5	83 \pm 7	113 \pm 5	116 \pm 8	103 \pm 10	118 \pm 8
4	92 \pm 9	88 \pm 7	112 \pm 8	102 \pm 15	106 \pm 15	105 \pm 9
24	96 \pm 2	88 \pm 11	115 \pm 16	104 \pm 22	105 \pm 5	116 \pm 2
48	102 \pm 4	86 \pm 9	98 \pm 5	128 \pm 10	116 \pm 24	108 \pm 6

Tablo-6c: Solunum sayısının grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	40 ± 10	25 ± 2	25 ± 2	29 ± 3	23 ± 3	24 ± 2
0,5	34 ± 4	43 ± 12	25 ± 2	64 ± 18+	37 ± 6	18 ± 2
1	40 ± 8	39 ± 7	26 ± 2	46 ± 6	47 ± 10	27 ± 3
4	48 ± 13	56 ± 10	28 ± 3	36 ± 5	31 ± 4	25 ± 2
24	40 ± 9	42 ± 13	24 ± 3	53 ± 14***	24 ± 3	20 ± 3
48	40 ± 5	33 ± 4	28 ± 4	56 ± 6***+	24 ± 3	22 ± 3

Tablo-6d: Non-invasif ortalama kan basıncının (MAP) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	124 ± 3	129 ± 10	119 ± 5	118 ± 5	125 ± 6	126 ± 6
0,5	124 ± 5	140 ± 10	146 ± 13	89 ± 4***+	117 ± 7	129 ± 7
1	130 ± 4	120 ± 6	128 ± 12	92 ± 3***	121 ± 5	122 ± 12
4	121 ± 3	119 ± 7	134 ± 14	110 ± 7***	122 ± 8	122 ± 7
24	126 ± 4	124 ± 5	134 ± 4	121 ± 4	128 ± 4	122 ± 8
48	129 ± 4	122 ± 3	131 ± 3	125 ± 3	128 ± 4	128 ± 5

Tablo-7a:

- WBC ($\times 10^3$)

()

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0						
0,5				+	+	+
1				+	+	+
4		0,8				
24						
48						

Tablo-7b: Hematokrit (Hct -

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0						
0,5				52,5		
1				+	+	
4						
24						
48	1,1				+	

Tablo-7c:

3

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0						
0,5				***+	+	+
1				***+	+	+
4						
24		366				
48						

Tablo-8a: Nötrofil sayısının ($\times 10^3/\mu\text{l}$) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	7,716 \pm 0,846	8,516 \pm 0,090	12,242 \pm 1,983	8,684 \pm 1,627	9,148 \pm 2,402	10,893 \pm 0,799
0,5	7,373 \pm 0,685	8,192 \pm 0,719	12,428 \pm 1,988	1,813 \pm 0,735****+	0,924 \pm 0,379****+	3,447 \pm 0,273****+
1	8,264 \pm 0,784	8,840 \pm 0,861	11,550 \pm 1,794	1,307 \pm 0,537****+	1,078 \pm 0,085****+	2,190 \pm 0,622****+
4	7,780 \pm 0,529	8,504 \pm 0,462	11,997 \pm 2,392	9,332 \pm 4,548	9,617 \pm 1,523	8,738 \pm 2,573
24	8,234 \pm 0,600	10,882 \pm 3,209	13,984 \pm 2,781	31,620 \pm 5,290****+	33,420 \pm 2,681****+	30,850 \pm 2,071****+
48	8,554 \pm 0,941	8,338 \pm 2,544	14,156 \pm 2,705	20,113 \pm 6,218***	25,900 \pm 2,919****+	27,300 \pm 2,005****+

Tablo-8b: Lenfosit sayısının ($\times 10^3/\mu\text{l}$) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama \pm standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,444 \pm 0,250	1,252 \pm 0,384	1,530 \pm 0,246	2,080 \pm 0,587	1,712 \pm 0,010	1,963 \pm 0,489
0,5	2,177 \pm 0,260	1,082 \pm 0,317	1,225 \pm 0,165	0,518 \pm 0,240****+	1,314 \pm 0,195**	0,759 \pm 0,156**+
1	3,188 \pm 0,607	1,180 \pm 0,302	0,813 \pm 0,045	0,458 \pm 0,125****+	1,520 \pm 493	0,999 \pm 0,224**
4	2,690 \pm 0,157	1,290 \pm 0,379	1,104 \pm 0,084	0,230 \pm 0,049****+	0,365 \pm 0,113**+	0,259 \pm 0,023****+
24	2,960 \pm 0,477	1,242 \pm 0,380	1,923 \pm 0,385	1,082 \pm 0,482**+	1,304 \pm 0,258**	1,050 \pm 0,321
48	2,956 \pm 0,505	1,218 \pm 0,356	1,588 \pm 0,158	1,433 \pm 0,679	2,568 \pm 0,360	1,395 \pm 0,269

Tablo-9a: ALT enzim aktivitesinin (IU/L) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	21,5 ± 3,6	26,4 ± 2,3	22,9 ± 2,8	31,2 ± 3,7	31,5 ± 4,2	51,5 ± 24,9
0,5	21,9 ± 3,6	34,6 ± 6,2	22,4 ± 3,1	37,5 ± 4,5	51,9 ± 8,6	115,0 ± 72,0
1	23,5 ± 3,7	31,9 ± 6,0	23,3 ± 2,8	57,7 ± 8,3	87,1 ± 26,6	135,6 ± 79,1
4	22,6 ± 4,9	34,9 ± 6,9	23,3 ± 3,7	193,8 ± 20,0***	146,0 ± 60,6	260,0 ± 155,7
24	21,2 ± 1,9	32,0 ± 5,9	24,6 ± 2,5	76,0 ± 28,7	114,5 ± 68,8	183,1 ± 146,8
48	20,9 ± 2,5	31,9 ± 5,0	22,4 ± 3,1	39,8 ± 7,2	80,0 ± 36,7	118,5 ± 60,5

Tablo-9b: AST enzim aktivitesinin (IU/L) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	13 ± 0	17 ± 1	19 ± 0	19 ± 1	20 ± 2	29 ± 4
0,5	13 ± 1	18 ± 2	17 ± 0	63 ± 22	85 ± 28	83 ± 43
1	17 ± 1	22 ± 3	20 ± 2	302 ± 152**	181 ± 61	105 ± 50
4	16 ± 2	23 ± 2	20 ± 1	640 ± 252***	370 ± 145+	232 ± 114+
24	13 ± 1	20 ± 2	26 ± 8	246 ± 167*	142 ± 68	47 ± 13+
48	11 ± 1	19 ± 1	22 ± 4	29 ± 17	44 ± 14	26 ± 8

*p<0,01, ***p<0.001 baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırma, p<0.01-0.001

Tablo-9c: ALP enzim aktivitesinin (IU/L) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

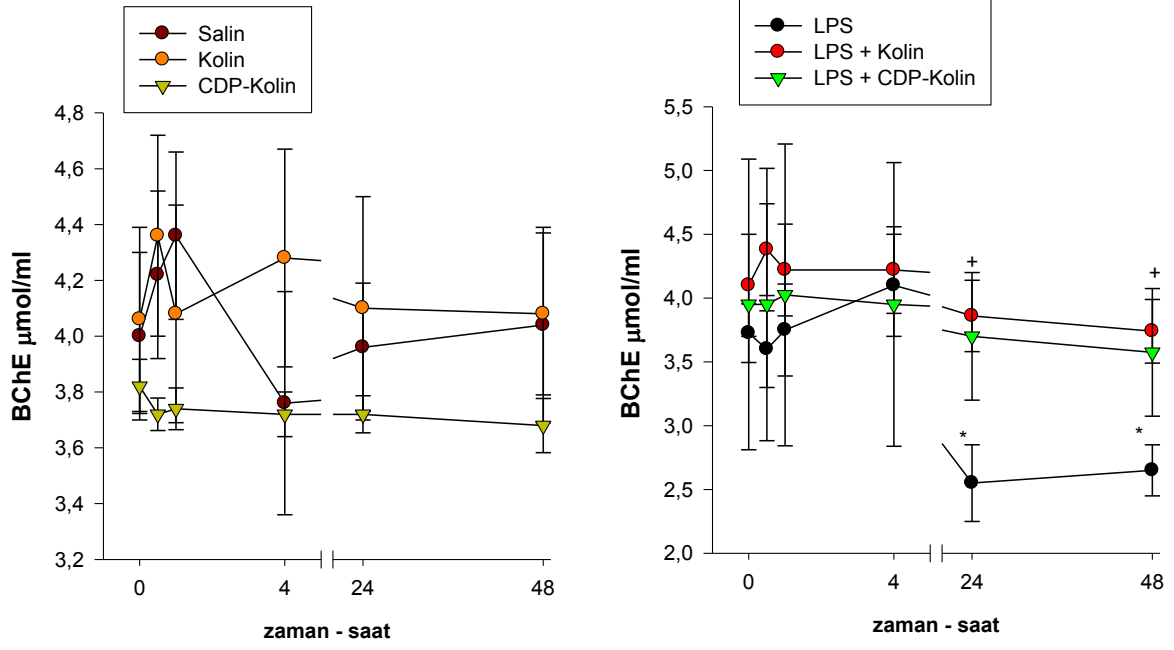
↓ Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	43 ± 3	36 ± 4	43 ± 6	70 ± 15	71 ± 8	49 ± 13
0,5	42 ± 5	31 ± 8	40 ± 5	87 ± 23	94 ± 6	58 ± 12
1	51 ± 5	33 ± 5	40 ± 5	100 ± 28	109 ± 16	58 ± 11
4	42 ± 2	39 ± 3	41 ± 5	174 ± 56***	120 ± 18+	71 ± 11+
24	43 ± 5	37 ± 3	47 ± 9	170 ± 28***	172 ± 28	105 ± 10+
48	40 ± 3	37 ± 3	45 ± 7	130 ± 11**	131 ± 18	92 ± 3+

Tablo-9d: GGT enzim aktivitesinin (IU/L) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

↓ Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin + Salin	Kolin + Salin	CDP-Kolin + Salin	LPS + Salin	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	2,9 ± 0	3,3 ± 0	3,0 ± 0	3,8 ± 0	3,6 ± 1	1,9 ± 0
0,5	2,7 ± 0	3,6 ± 0	3,1 ± 0	4,0 ± 0	7,4 ± 1	5,1 ± 1
1	2,8 ± 0	3,7 ± 0	3,4 ± 0	5,7 ± 1	9,4 ± 2	5,2 ± 1
4	3,0 ± 0	3,9 ± 0	3,0 ± 0	32,0 ± 18	13,7 ± 2	6,2 ± 0
24	2,7 ± 0	3,6 ± 0	2,8 ± 0	4,4 ± 0	8,3 ± 2	4,0 ± 0
48	2,8 ± 0	3,6 ± 0	2,9 ± 0	3,6 ± 0	6,4 ± 1	3,9 ± 1

Tablo-9e: Amilaz enzim aktivitesinin (IU/L) grup içi ve gruplar arası değişimleri (ortalama ± standart hata)

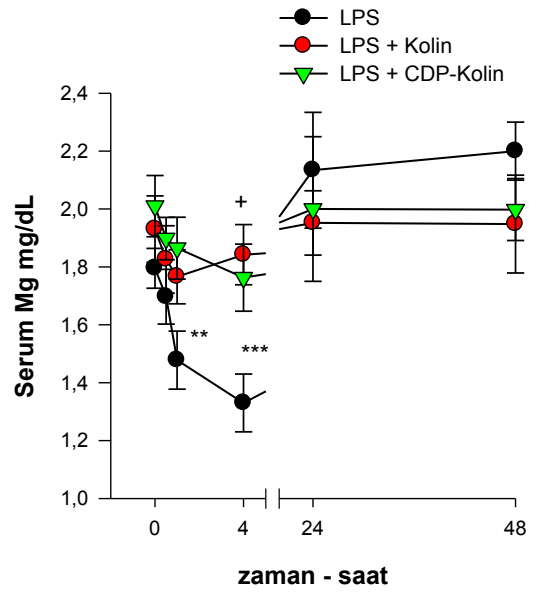
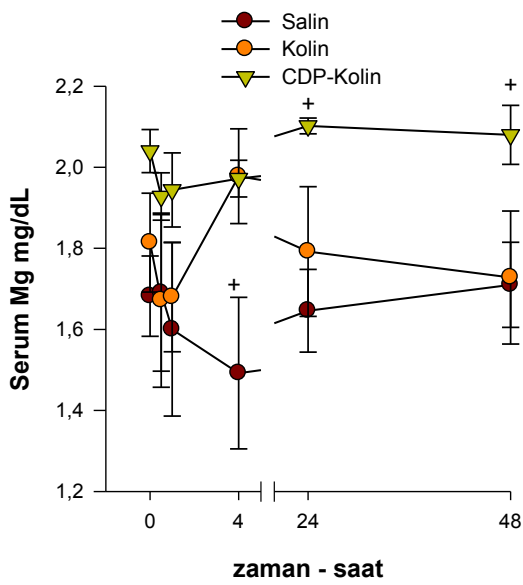
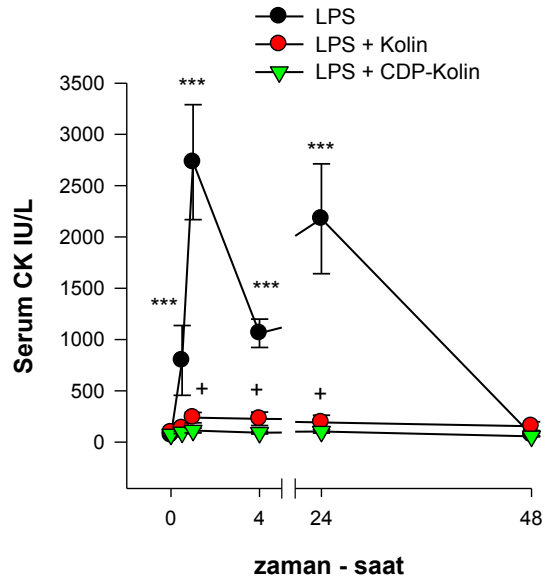
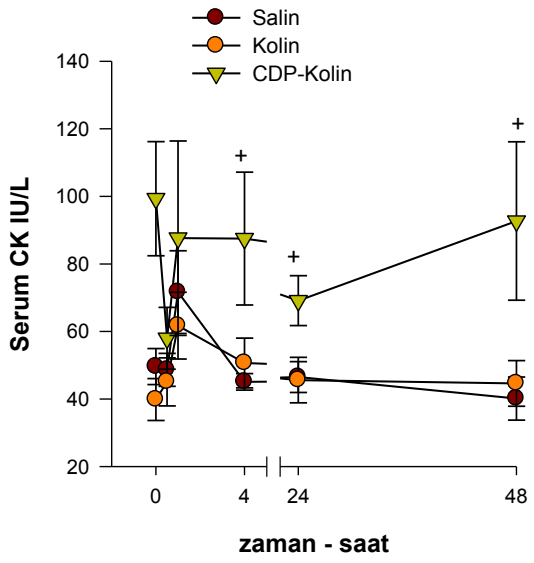
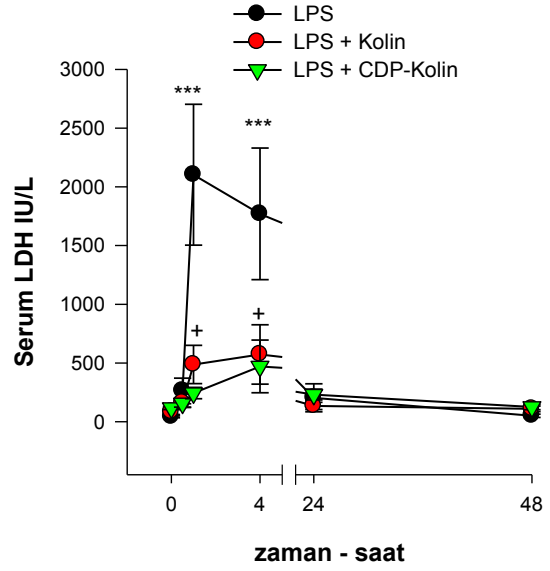
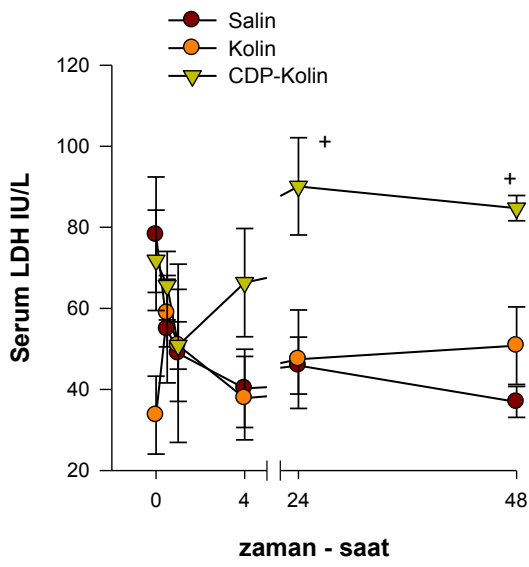
↓ Zaman (saat) ↓ Gruplar →	Salin	Kolin	CDP-Kolin	LPS	LPS + Kolin	LPS + CDP-Kolin
0	862 ± 179	677 ± 63	742 ± 32	906 ± 116	883 ± 113	669 ± 78
0,5	878 ± 184	720 ± 84	703 ± 39	885 ± 117	1045 ± 132	672 ± 65
1	908 ± 196	727 ± 78	725 ± 38	920 ± 124	1153 ± 156	680 ± 57
4	800 ± 217	845 ± 156	709 ± 58	1055 ± 186**	1235 ± 164**	720 ± 65+
24	873 ± 194	883 ± 250	764 ± 36	901 ± 229	639 ± 158	679 ± 111
48	763 ± 90	774 ± 164	712 ± 30	1024 ± 136	758 ± 142	793 ± 91



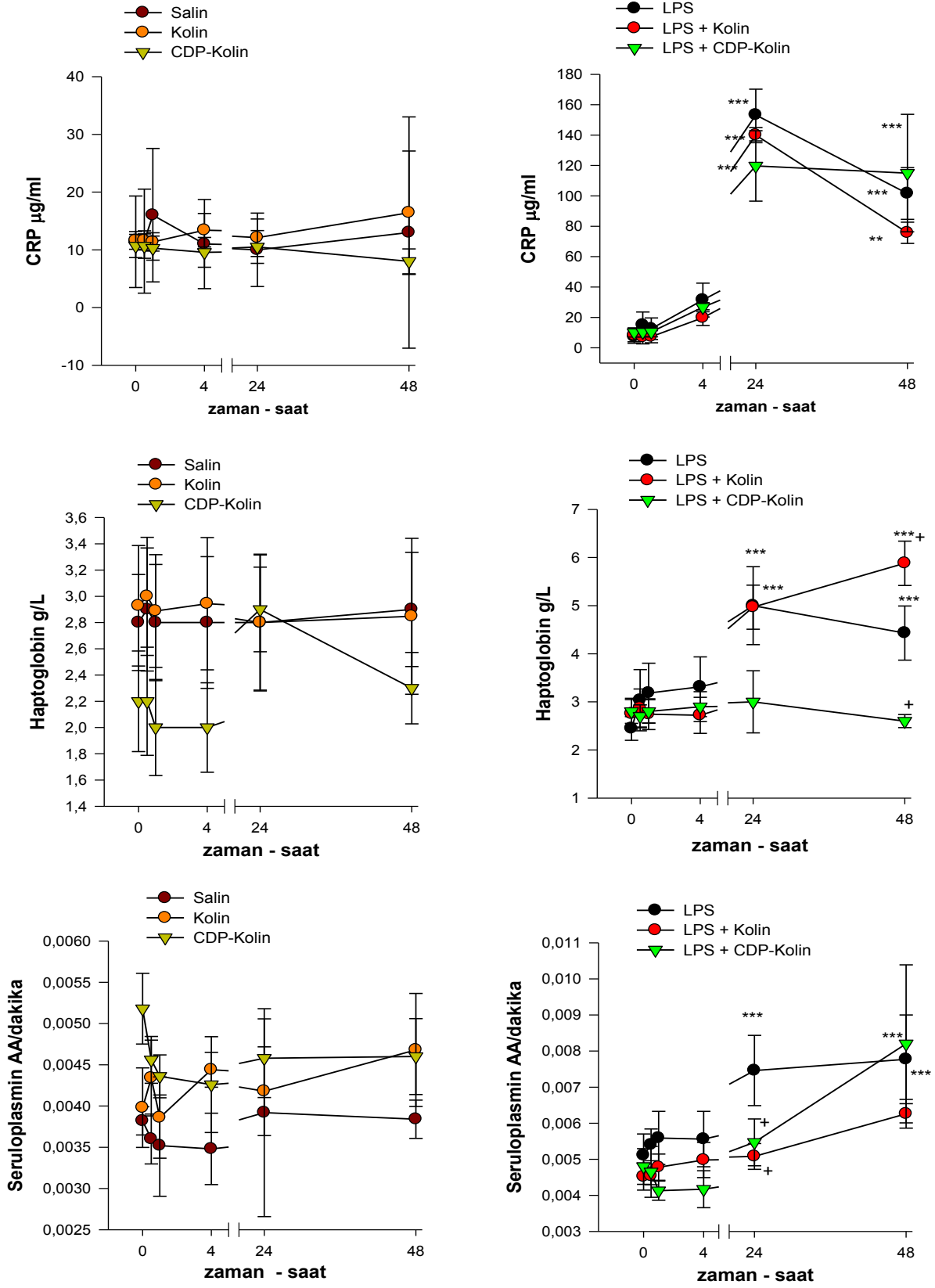
Şekil-13: Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin plazma butirilkinesteraz (BChE) düzeyine etkisi.

***p<0,001, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + p<0,05, ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında

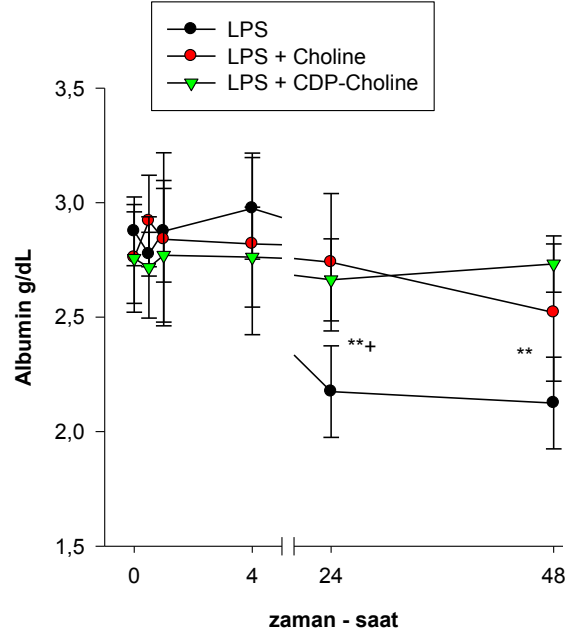
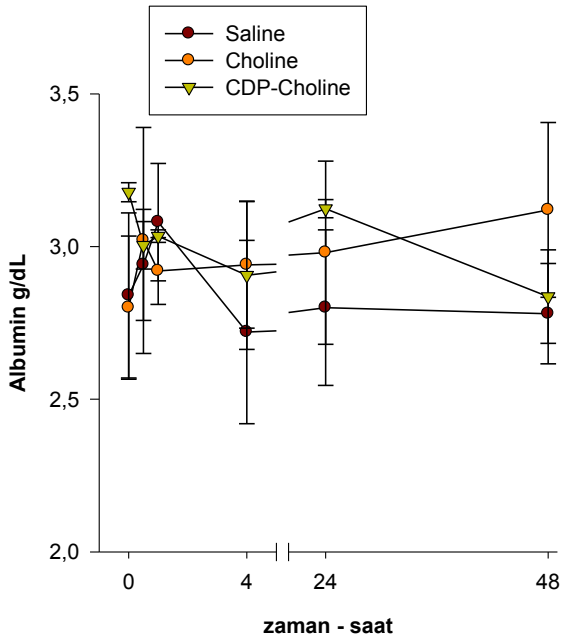
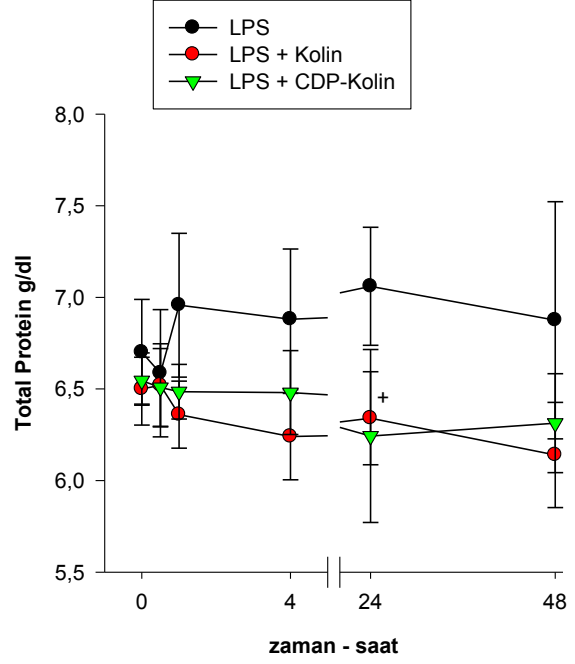
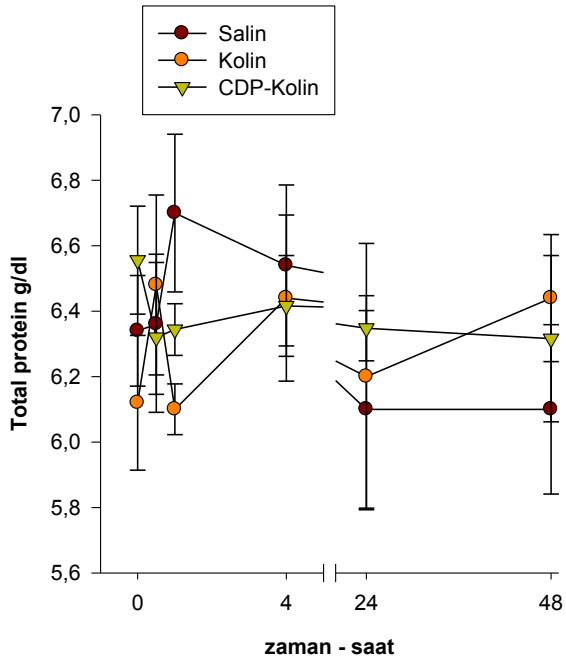
CDP-Kolin: cytidine-5'-diphosphocholine



Şekil-21: Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin serum kreatinin kinaz (CK), laktat dehidrogenaz (LDH) ve magnezyum (Mg) değerlerine etkileri. **p<0,01, ***p<0.001 baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında; **CDP-Kolin:** cytidine-5'-diphosphocholine



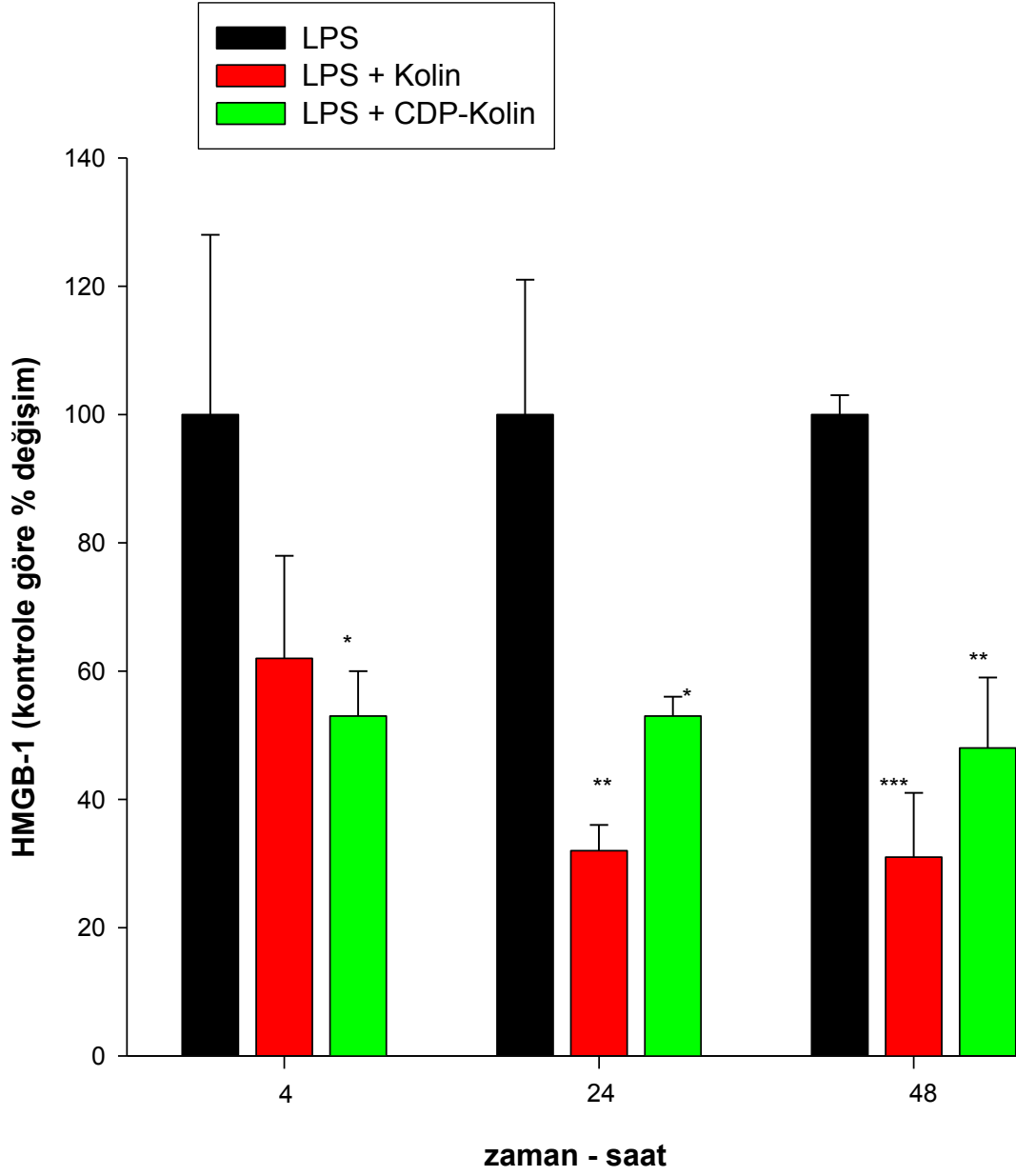
Şekil-11: Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin serum akut faz proteinlerine etkisi. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, baseline (0. saat) ile karşılaştırıldığında; + ilgili zamanda gruplar karşılaştırıldığında. **CRP:** C-reaktif protein; **CDP-Kolin:** cytidine-5'-diphosphocholine.



Şekil-12: Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin tedavisinin total protein ve akut faz proteinlerinden albumin düzeyine etkisi.

**p<0,01, baseline (0.saat) ile karşılaştırıldığında; + p<0,05, ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında

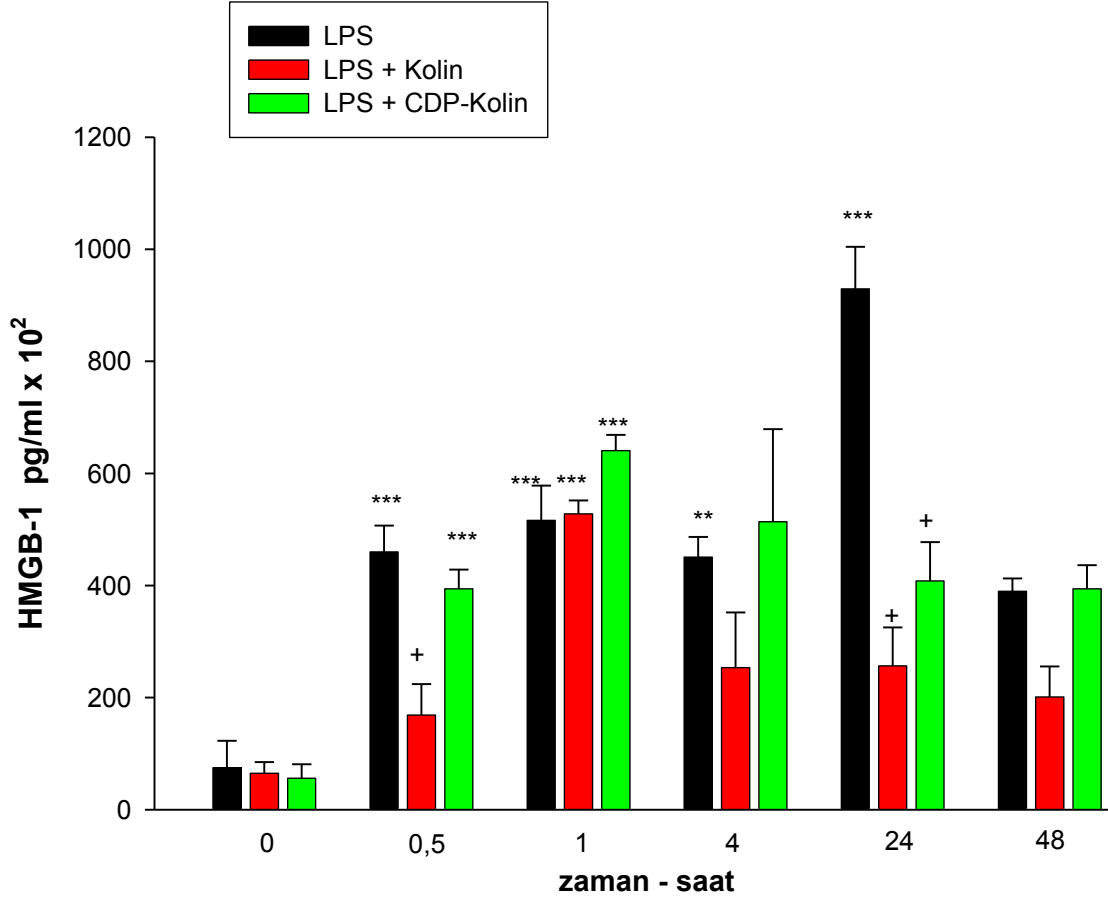
CDP-Kolin: cytidine-5'-diphosphocholine.



Şekil - 14: Western-Blot (WB) analizinde serum high mobility group box-1 (HMGB-1) proteininin kontrole (LPS grubuna) göre değişimi. Örneklemelerde modifikasyon yapılmış; WB analizi için HMGB-1'in ölçülebilecek düzeyde olduğu zamanlar (LPS sonrası; 4., 24. ve 48.saatler) dikkate alınmıştır.

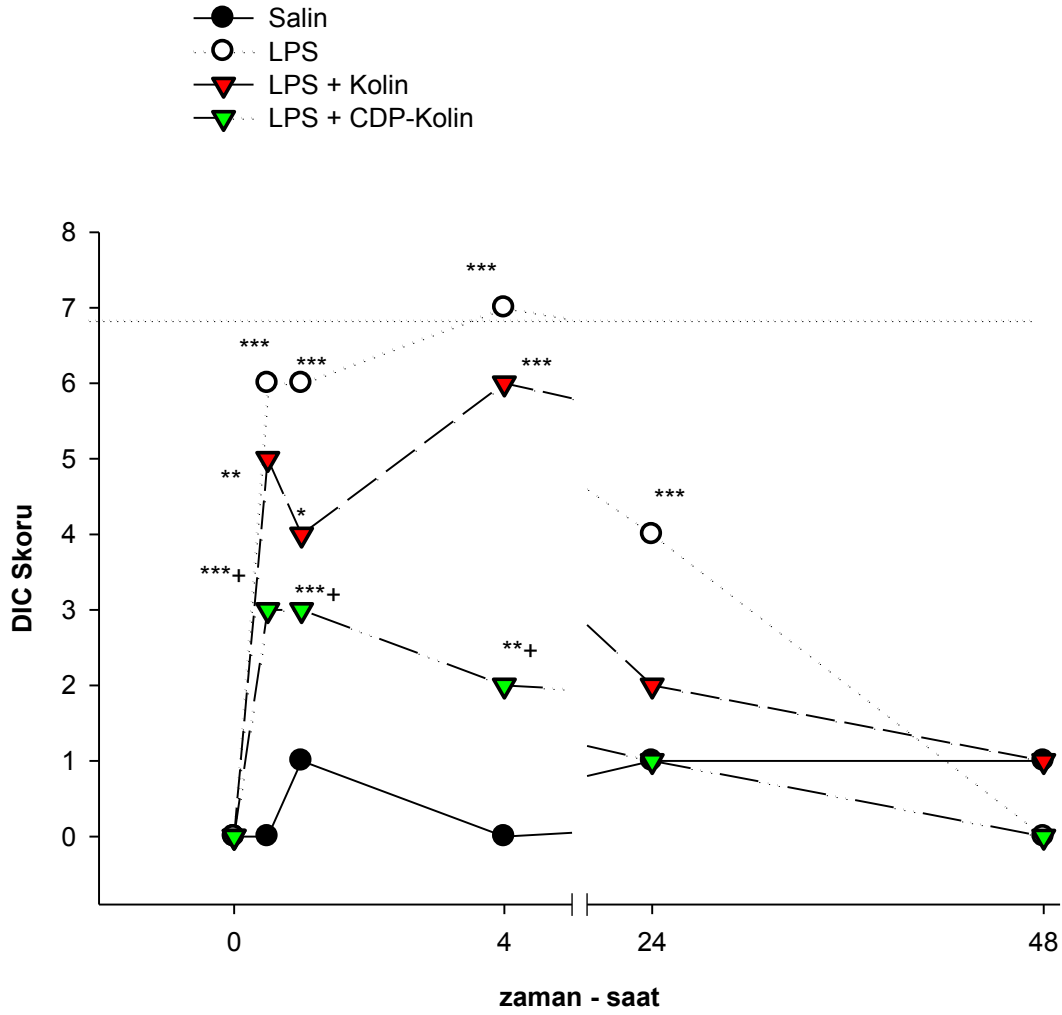
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$: LPS grubu ile karşılaştırıldığında

CDP-Kolin: cytidine-5'-diphosphocholine.



Şekil – 15: Serum high mobility group box-1 (HMGB-1) düzeyi ile ilgili ELISA test sonuçları – okunamayan örnekler için ölçülebilen en küçük değer (1408 pg/ml) kullanılmıştır. ***p<0,001 grup içi karşılaştırma (baseline – 0.saate göre); + p<0,001: ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında

CDP-Kolin: cytidine-5'-diphosphocholine.

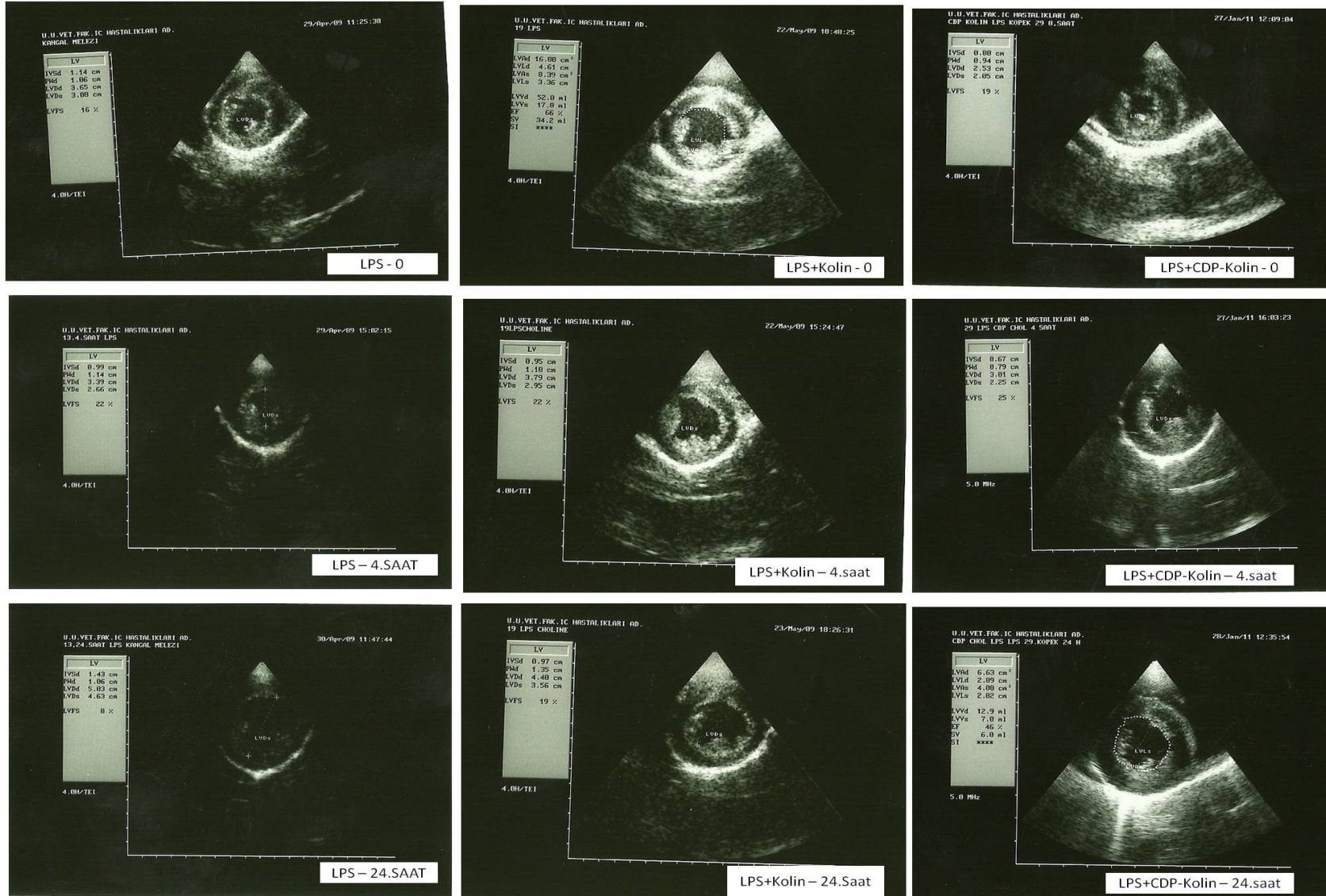


Şekil – 16: Kontrol (Salin grubu) ile test gruplarında global koagülasyon faktörlerinden (trombosit sayısı, PT, aPTT, fibrinojen, ATIII, d-dimer) hesaplanan DIC skorlarının zamana göre değişimi (hesaplama için bkz, Tablo-2). Tedavi ve örneklemeler materyal ve metotta gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir; ≥ 7 değeri DIC ile uyumlu kabul edilmiştir. Sonuçlar ortalama (mean) olarak verilmiş, standart hatalar gösterilmemiştir.

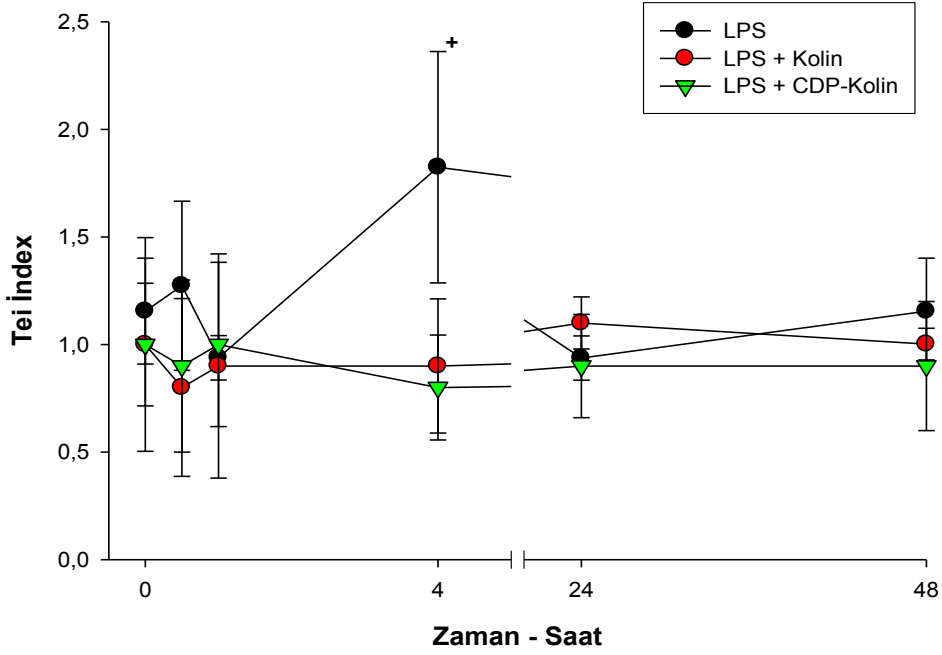
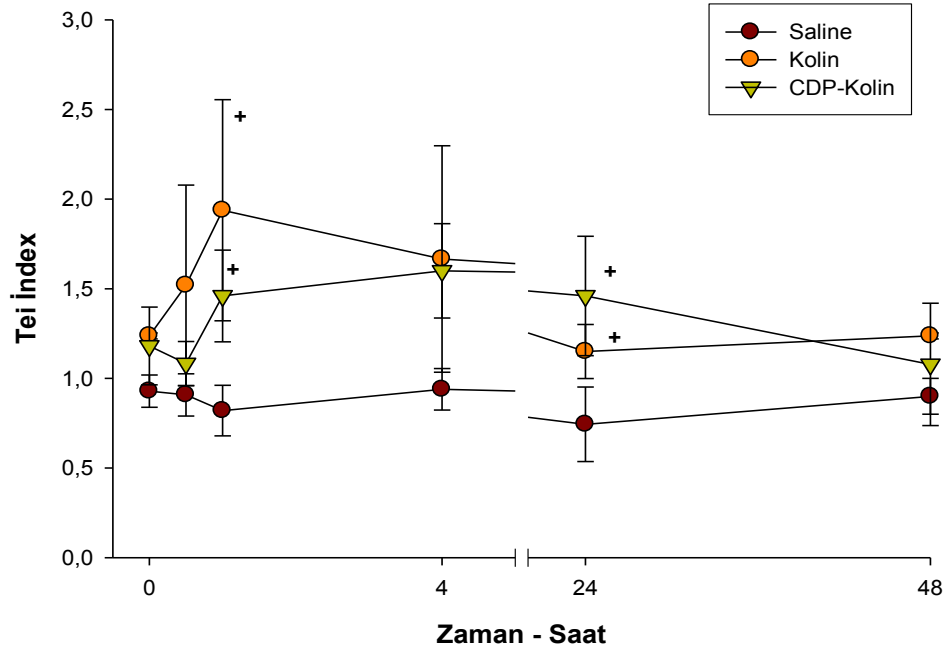
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ baseline (0.saate) göre karşılaştırma – grup içi değerlendirme

+ $p < 0,01 - 0,001$ ilgili zamanda LPS grubu ile karşılaştırıldığında

CDP-Kolin: cytidine-5'-diphosphocholine

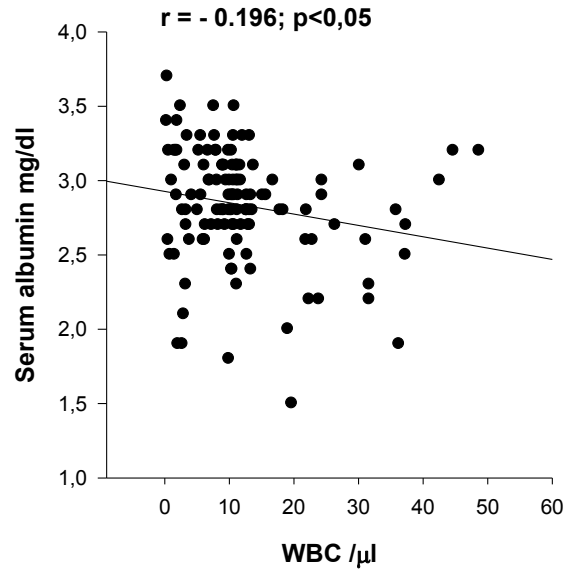
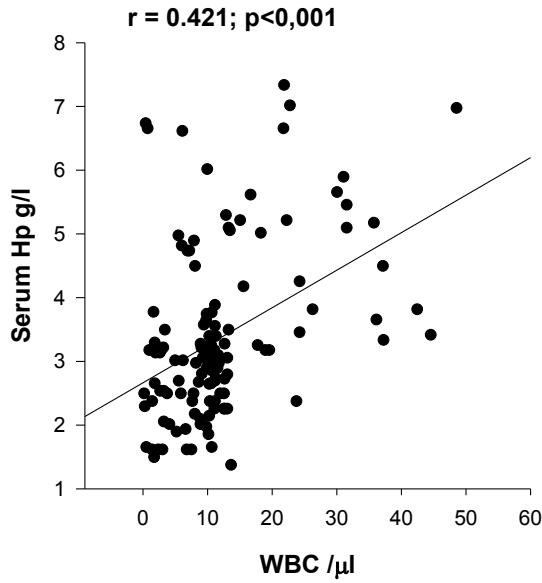
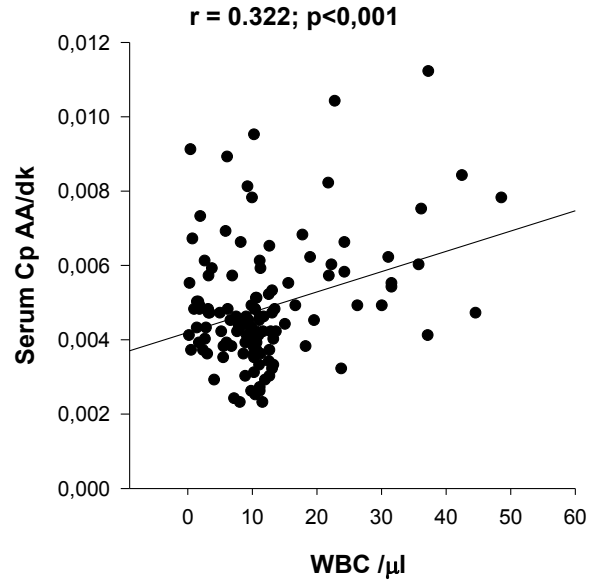
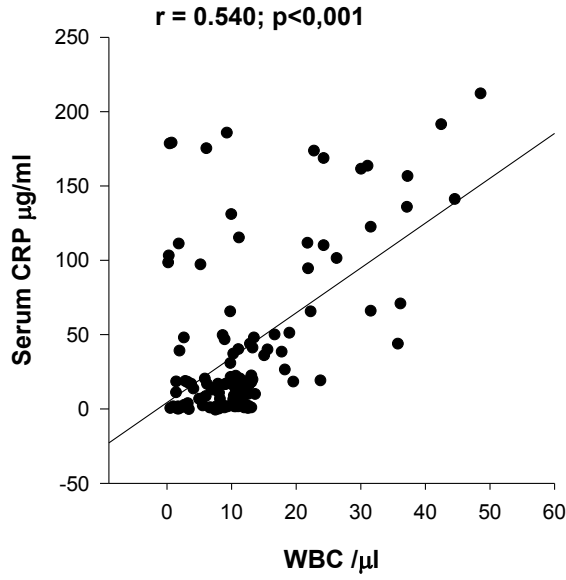


Şekil-19: LPS, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarına ait bazı örneklem zamanlarındaki (0, 4. ve 24.saattler) ekokardiyografik görüntüler. Sağ parasternal kısa eksen papillar kas düzeyinden ölçümler yapılmış; sistolik ve diyastolik sol ventrikül, interventriküler septum ve duvar çapları belirlenirken, EF ve FS değerleri de otomatik olarak hesaplanmıştır. LPS grubunda 24.saatte diğer gruplardan farklı olarak FS düşerken, LVDD ve LVSD değerleri artmış, sol ventriküler volüm sistol ve diyastol azalmıştır. Bu da kardiyak debi (CO) ve stroke volümü (SV) düşürmüştür.



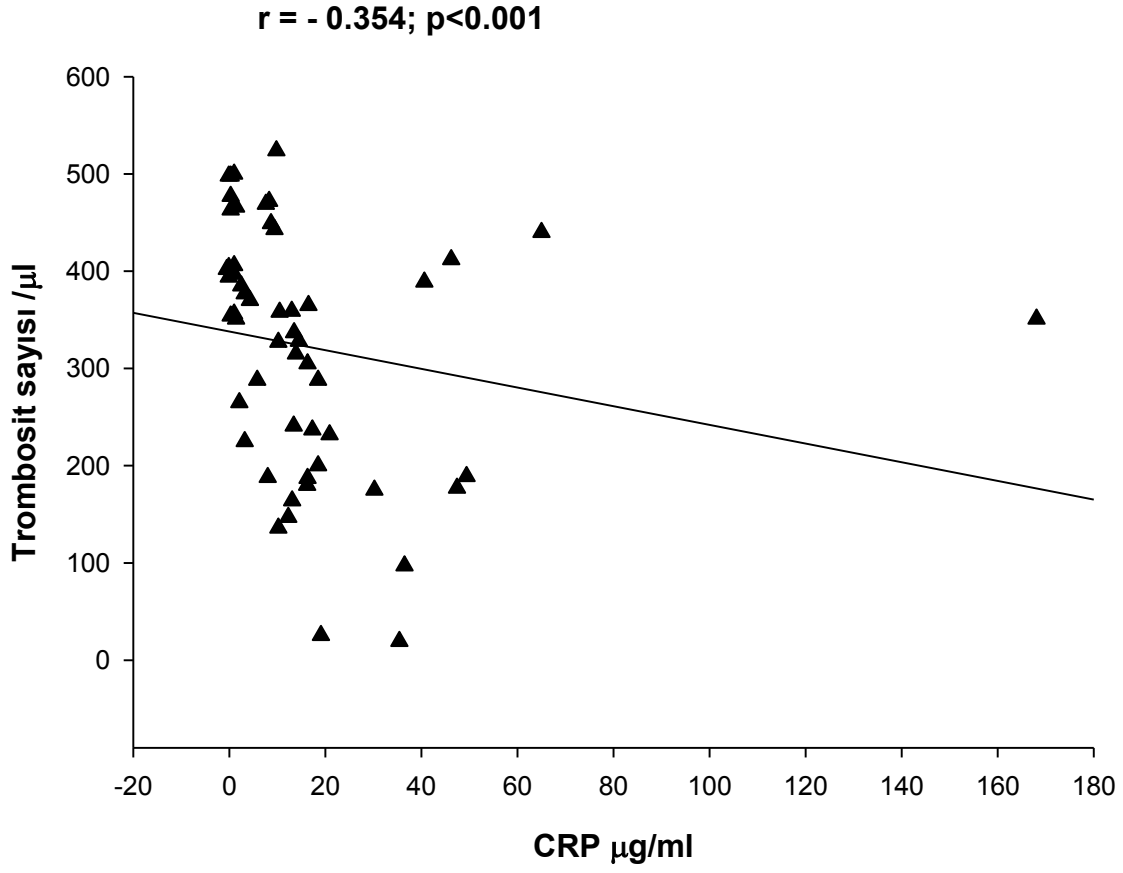
Şekil-20: Normal salin (kontrol) ya da endotoksin (LPS) uygulanan köpeklerde kolin ve CDP-kolin tedavisinin Tei index (miyokardiyal performans indeksi) üzerine etkisi. Sol parasternal apikal 4-5 boşluk görüntüden, mitral kapak açılımı maksimal noktası ile aort kapak açılımı arasında kalan alana ultrason imleci yerleştirilerek Pulse Doppler moduna geçildi; isovolemik kontraksiyon zamanı (ICT) ile isovolemik relaksasyon zamanı (IRT) toplamı aort ejeksiyon (ET) zamanına bölünerek Tei indeks hesaplandı. Sonuçlar altı farklı zamanda ortalama \pm standart hata olarak verildi.

+ $P < 0.05$, ilgili zamanda gruplar arası karşılaştırıldığında. **CDP-Kolin:** cytidine-5'-diphosphocholine.



Şekil-22: Total lökosit (WBC) sayısı ile akut faz proteinleri arasındaki korelasyon (Pearson Product Moment Correlation). Tüm gruplarda farklı zamanlarda (0, 0,5, 1, 4, 24 ve 48. saatler) saptanan WBC değerleri ile eş zamanlı tespit edilen serum CRP, Cp, Hp ve albumin değerlerinin karşılaştırılması. WBC, serum pozitif akut faz proteinleri (CRP, Cp ve Hp) ile pozitif, negatif akut faz proteini (albumin) ile negatif korelasyona sahiptir.

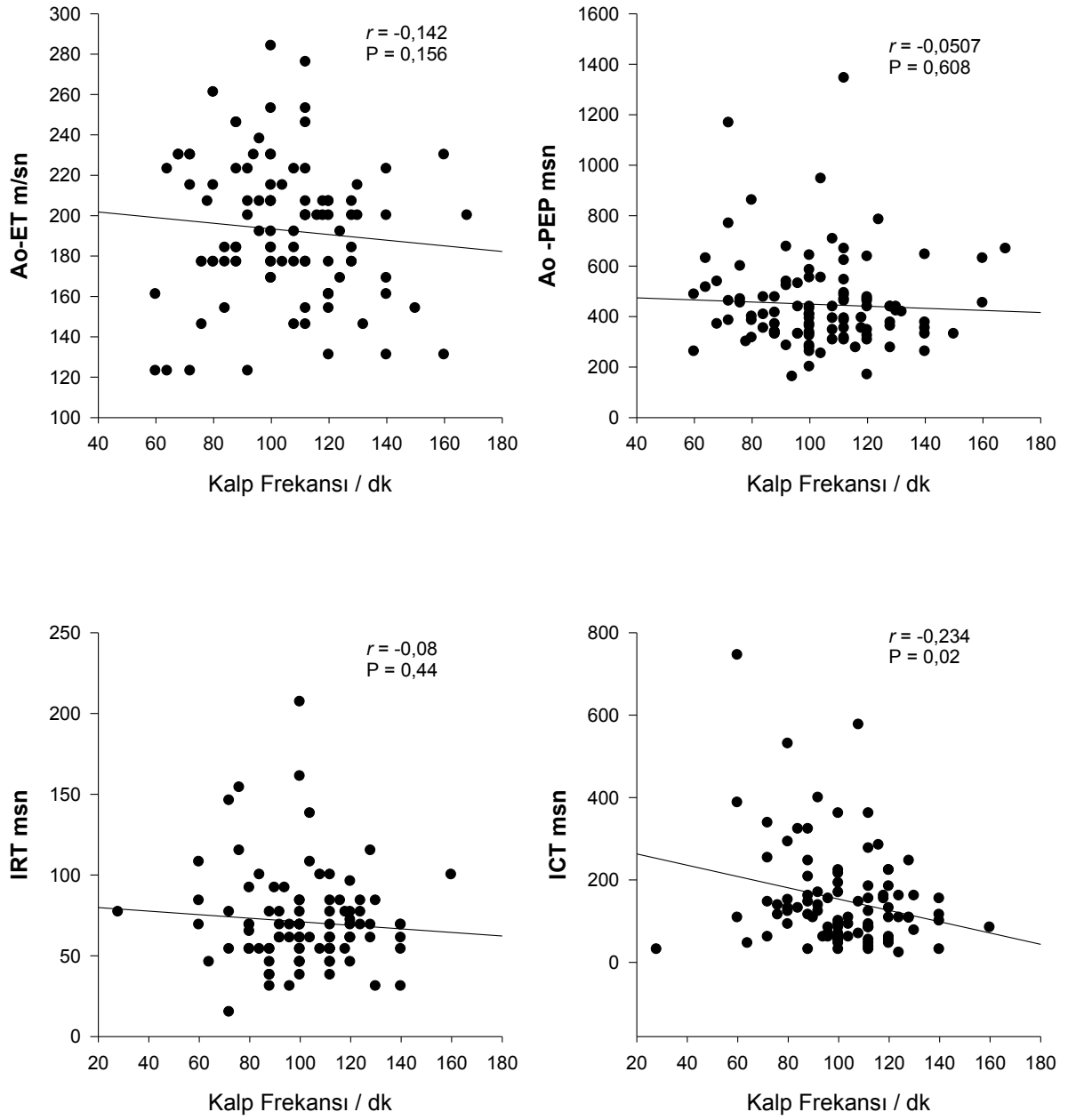
CRP: C-reaktif protein; **Cp:** Seruloplasmin; **Hp:** Haptogloblin



Şekil- 23: Tüm gruplarda farklı zamanlarda (0, 0,5, 1, 4, 24 ve 48. saatler) saptanan trombosit sayısı ile eş zamanlı tespit edilen serum CRP düzeyleri arasındaki korelasyon (Pearson Product Moment Correlation).

Trombosit sayısı ile serum CRP arasında istatistiksel düzeyde negatif korelasyon ($r=-0,354; p<0,001$) saptanmıştır.

CRP: C-reaktif protein



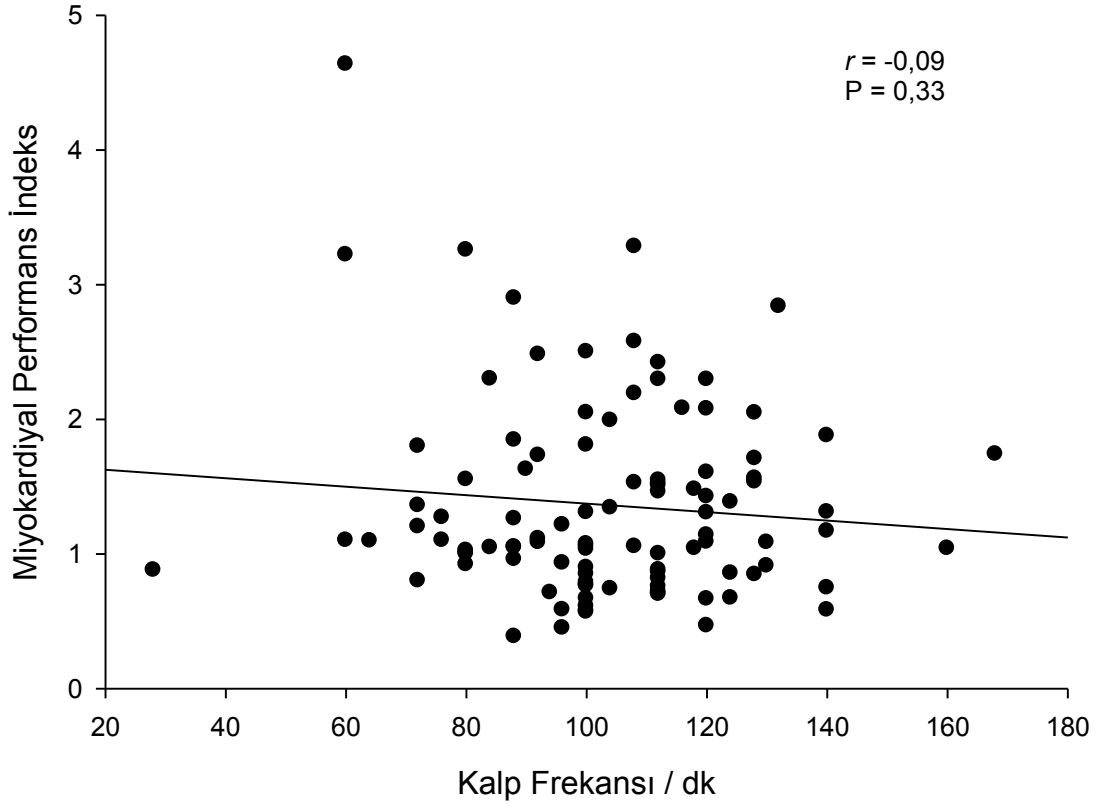
Şekil-24: Tüm gruplarda farklı zamanlarda (0, 0,5, 1, 4, 24 ve 48. saatler) saptanan kalp frekansı ile eş zamanlı tespit edilen sistolik zaman aralıkları arasındaki korelasyon

ET: ejeksiyon zamanı

PEP: Pre-ejeksiyon periyodu

IRT: izovolemik relaksasyon zamanı

ICT: izovolemik kontraksiyon zamanı



Şekil-25: Tüm gruplarda farklı zamanlarda (0, 0,5, 1, 4, 24 ve 48. saatler) saptanan kalp frekansı ile eş zamanlı tespit edilen / hesaplanan miyokardiyal performans indeks arasındaki korelasyon

TARTIŞMA ve SONUÇ

LPS İlişkili SIRS, Sepsis, Endotoksemi ve MODS Gelişimi

Sepsis/endotoksemik seyirli hastalıklar insan hekimliğinde olduğu kadar veteriner hekimlikte de önemli bir yer tutmakta; maddi – manevi kayıpların nedeni olmaktadır. Sepsisin yüksek mortalite ile seyretmesinde doğru tanının zamanında konulamaması, tedavinin eksik bazen de hatalı olması etkin rol oynamaktadır. Bununla birlikte, sepsis kompleks bir patofizyolojik mekanizmaya sahip olduğundan tanı, tedavi ve monitorizasyon gerektiği gibi yapılsa da şekillenen komplikasyonlara bağlı olarak ölümler kaçınılmaz olabilmektedir. Bu nedenlerle günümüzde sepsisin erken tanı ve tedavi edilebilirliği üzerine çalışmalar yoğun bir şekilde devam ettirilmektedir (4, 5, 15, 17, 30, 107).

Akut faz proteinleri (AFP) erken tanı ve prognoz değerlendirmelerinde birçok parametreye göre öncelikli biyokimyasal ölçümler olarak öne çıkmakta, sepsis/endotoksemilerdeki davranışları ve tedavi ile olası değişimleri özellikle köpeklerde tam olarak bilinmemektedir. Belirtilen komplikasyonlar içinde koagülasyon patolojilerinin ve multi-organ hasarlarının (kardiyak ve hepato-renal yetmezlik) önemli olduğu bilindiğinden; tanısız süreçte hemostasis (pıhtılaşma mekanizması) ve organ hasar belirteçlerinin ortaya konması önerilmektedir (7, 12, 108, 109). Kapsamlı tedavi uygulamalarına rağmen sepsiste ölüm oranının yüksek olması, alternatif tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. Son yıllarda, kolinerjik anti-inflamatuar yol aktif hale getirilerek, sepsisin tedavi edilmesine yönelik çalışmalar önemli bir gündem oluşturmuştur (9, 12-15, 17, 81). Bu sistemin kolinerjik agonistlerle medikal olarak harekete geçirilmesinin AFP ve sepsis komplikasyonları üzerine etkileri de henüz netlik kazanmamıştır. Bu bağlamda, sunulan bu çalışma ile sepsis/endotoksemi olgularının patofizyolojik mekanizmasına, erken tanı ve etkin tedavi modeli geliştirme çalışmalarına farklı bir bakış açısı getirip, bilimsel ve pratik değerler oluşturulması amaçlanmıştır.

Sunulan bu çalışmada önceki benzer çalışmalarda (13-16, 99) olduğu gibi köpeklerde deneysel endotoksemi modeli kullanılmış, insan ve veteriner hekimliğinde önemli sağlık problemlerinden biri olan endotoksemi olgularına klinik ve laboratuvar bulguları temelinde kapsamlı bir yaklaşım getirilmiştir. Canlı / attenuue edilen E.coli suşları ile yapılan deneysel sepsis çalışmalarında elde edilen klinik – laboratuvar bulguları ile (110, 111), sunulan bu çalışmada olduğu gibi doğrudan bakteri endotoksininin (E.coli

lipopolisakkaridi – LPS; serotip 055:B5) verildiği çalışmalarda (13-16, 99) elde edilen bulgular arasındaki benzerlik; deneysel köpek endotoksemi modelinin klinik olguları taklit edebilme potansiyelinin yüksek olduğunu ve saha koşullarının ihtiyaçlarını karşılayabileceğini göstermektedir.

Sepsis/endotoksemi olgularında patojenler (mikroorganizma ilişkili moleküler yapılar) immunité ile ilgili hücrelerde, endotelyum ve nöroendokrin sistemde birbirini izleyen intrasellüler olayları başlatırlar. Proinflamatuvar mediatörler (TNF- α vb) akut faz reaksiyonu oluşturarak invaze mikroorganizmaları eradike etmeye ve Gram - negatif mikroorganizmalardan açığa çıkan endotoksinlerin (LPS) konakçıda oluşturabileceği doku hasarlarını önlemeye çalışırken, anti-inflamatuvar mediatörler de bu reaksiyonların kontrolünü sağlamak için immun sistemi ve lökositler yanıtını yeni duruma adapte ederler. Etkene karşı konakçının oluşturduğu, sitokin mediatör ilişkili kontrol edilemeyen hiper-inflamatuvar yanıt, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) olarak tanımlanırken; şiddetli enfeksiyonlara kompleks immunolojik yanıt da kompenzatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromu (CARS) olarak tanımlanmaktadır (26, 28, 112). SIRS ve CARS arasında denge bozulup da SIRS dominant hale geldiğinde septik şok ve MODS; CARS dominant hale geldiğinde ise yaygın enfeksiyon ve persistent immun supresyon ortaya çıkmaktadır (113, 114). Bu çalışmada LPS uygulamasını takiben ilk 0,5.saatte klinik olarak beden sıcaklığında yükselme ve solunum sayısında artma (hiperdinamik sepsis); hematolojik olarak da belirgin lökopeni, hemakonsantrasyon ve trombosit sayısında azalma belirlenmiştir. SIRS tanımlanması için hastada rutin klinik bulgulardan en az iki değişimle birlikte hematolojik olarak lökositosis ya da lökopeni olması gerektiğinden (1, 115), tespit ettiğimiz bulgular çalışmada LPS alan köpeklerde ilk 30 dakika içinde SIRS geliştiğinin göstergeleri olmuştur. Bu çalışmada LPS uygulaması sonrası (1-24.saatter) oluşan patolojik klinik bulgularla birlikte kardiyopulmoner etkilenim, hepatorenal sendrom, hemostasis dengesizliği ve lenfopeni saptanması; köpeklerde SIRS ve CARS dengesinin bozulup miks anti-inflamatuvar yanıt sendromu (MARS) geliştiğini (28, 116) belgeler niteliktedir. Sunulan çalışmada serum immunglobulinlerinin 24-48.saatterde azalma göstermesi; LPS etkilerinin nötralize edilmesi adına IgG ve IgM'nin aşırı kullanımı ve/veya üretimlerindeki inhibisyondan (116) ileri gelebilir. Bu durum konakçı savunmasını zayıflatırken septik şok gelişimini de hızlandırmaktadır (114). Septik şok ifadesi; hastadaki SIRS kriterleri ile birlikte hipotansiyon varlığını işaret etmekte; hatta yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen bu hipotansiyonun devam ettiğini göstermektedir (5).

Bu çalışmada LPS alan köpeklerde kapillar dolum süresindeki uzama ile periferel nabız kalitesi ve non-invazif ortalama kan basıncındaki (MAP) azalma, septik şok/endotoksemi varlığının klinik yansımaları (107, 110, 111, 114, 117) olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ilk örnekleme zamanında (0,5. saat) tespit edilen endotoksemi kriterlerine, kan gazlarındaki değişimlerin de (kan pH'sında ve pO₂ değerlerinde azalma, pCO₂ değerinde ise artma) eşlik etmesi, konakçılarda meydana gelen metabolik değişimlerin (metabolik asidoz) ve pulmoner etkilenimin önemli bir göstergesi olmuştur.

Bu çalışmada tespit edilen lökogram verileri (nötropenik lökopeni) Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonların ya da endotoksemilerin seyri sırasında gözlenen erken dönem hematoloji belirteçlerine (inflamatuvar lökogram varlığına) paralellik göstermiştir (13, 15-17, 107, 109, 118, 119). Bu noktada inflamasyon indikatörü serum biyobelirteçlerinin varlığı, doğru tanımlama yapılmasına önemli katkı vermektedir. İnsan ve köpeklerde majör inflamatuvar markerin CRP olduğu, diğer akut faz reaktantlarının (Hp, Cp ve albümin) ikincil önemde olduğu ortaya konmuştur (1, 3, 25). Bu çalışmada, LPS grubu köpeklerde AFP değerleri irdelendiğinde LPS uygulaması sonrası ilk 2 saat içinde baseline'a (0. saat) göre CRP'nin 35 kat, Hp ve Cp'nin ise 1,5-2 kat artması bu bilgileri doğrular niteliktedir. Böylece inflamasyon varlığı LPS grubu köpeklerde SIRS kriterlerine ek olarak CRP artışıyla da konfirme edilmiştir. Çalışmada elde edilen WBC değerlerinin pozitif AFP'leri (CRP, Hp ve Cp) ile pozitif, negatif AFP'i (albümin) ile negatif korelasyona sahip olması; AFP'lerinin (özellikle CRP'nin) rutinde bakılmadığı durumlarda inflamasyon göstergesi olarak WBC değerinin de güvenilirliğini göstermiştir.

LPS uygulaması sonrası ilk örnekleme zamanlarında (0.5-1 saat) saptanan belirgin lökopenin 4-6 saat aralığında normalize olduğu (baseline değerlere yaklaştığı), takip eden zamanlarda ise belirgin lökositozun geliştiği görülmektedir. Bu bulgular önceki çalışma (13, 15-17, 107, 109, 118, 119) bulgularını konfirme ederken lökositler yanıtının sepsis/endotoksemilerdeki dinamik değişimini de yansıtmıştır. LPS'ye bağlı şekillenen nötropenik lökopenin; kemik iliğinde progenitör hücrelerin tükenmesi, granülositik seride maturasyon işleminin duraksaması ve ekstravaskular alana geçiş şiddeti ile üretim arasındaki dengesizlikten ileri geldiği rapor edilmiştir (89, 108, 120). Jilma ve arkadaşları (120) insanlarda yaptıkları çalışmada LPS uygulamasını (4 ng/kg, i.v.) takiben 60. dakikada öncelikle nötrofil sayısında olmak üzere baseline'a göre belirgin lökopeni saptamışlar; 40 dakika sonra başlangıç değerlere dönüş gözlemişlerdir. İnsanlarda yapılan bu

araştırmadaki (121) lökositler yanıtının, sunulan bu çalışmadan daha kısa sürede normale dönmesinde; uygulanan LPS dozlarının (4 ng/kg ve 0,02 mg/kg) farklı olması etkin olabilir. Köpeklerde yapılan çalışmalar (12, 15) farklı doz LPS (0,02–1 mg/kg, i.v.) uygulamasının klinik - hematolojik ve serum biyokimyasal bulgulara doza bağlı bir değişim oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Total lökosit azalması hastada septik ölüm riskini artırırken, aşırı üretimi (lökemik reaksiyon) hiperviskozite ve trombus riski yaratmaktadır (108). Bu nedenlerle, bu çalışmada olduğu gibi septik hastaların koagülasyon patolojileri ve kardiyak fonksiyonlar yönünden mutlaka değerlendirilmesi gerekmektedir.

Lökosit sayısı ve serum CRP düzeyinin yanısıra son zamanlarda karaciğerden dolaşıma salınan serum butirilkinesteraz (BChE) enzim aktivitesinin de inflamasyon indikatörü (low grade inflammatory marker) olabileceği tartışılmaktadır (91, 93). BChE enziminin insan ve deney hayvanı çalışmalarında doğal sepsis ya da LPS uygulaması sonrası serum düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (92, 94-96). Bu çalışmada LPS alan köpeklerde 24-48. saatlerde serum BChE düzeyinde saptadığımız anlamlı azalma, sepsis ya da enfeksiyonu olup da, serum BChE’da azalma rapor edilen insan çalışmalarına (93, 94) paralellik göstermiştir. Al-Kassab ve Vijayakumar (121) yaptıkları çalışmada yoğun bakım ünitelerindeki sistemik sepsis sendromlu (septik şoklu) hastalarda kolinesteraz düzeyinde önemli azalma tespit ederken, Blanceil ve Delaroche (122) de postoperatif enfeksiyonlu hastalarda BChE düzeyinde azalma belirlemişlerdir. Bilindiği gibi patojenik stimulusun oluşturduğu inflamatuvar reaksiyon (SIRS), CARS olarak adlandırılan hızlı ve önemli anti-inflamatuvar yanıtla takip edilmektedir (28). Bu reaksiyon yani CARS, inflamasyon gelişimini belli bir çizginin altında tutarak kan dolaşımında inflamatuvar komponentlerin yayılımını dolayısıyla septik şok oluşumunu ortadan kaldırıp yaşama şansını artırmaktadır. İnflamasyona konakçının verdiği bireysel yanıtlardaki farklılıkların mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte; pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımını ve makrofaj aktivasyonunu engelleyen asetilkolin (ACh) aracılı kolinergik anti-inflamatuvar yolun bu süreçte etkin olabileceği ileri sürülmektedir (123). Dolayısıyla BChE düzeyinde saptadığımız bu azalma, ACh düzeyinin artırılması ve inflamatuvar sürecin sınırlandırılması amacına hizmet eden organik bir reaksiyon olarak düşünülmüştür (124). Bu çalışmada serum BChE düzeyinin serum pozitif AFP’leri (CRP, Cp, Hp) ve HMGB-1 protein düzeyleri ($p>0,05$) ile korelasyonlarında yalnız Hp ile istatistiksel boyutta ($p<0,05$) ilgili olması, inflamasyonun sınırlandırılması sürecinde BChE’nin akut faz yanıtı içinde Hp ile

birlikte hareket edebileceğini göstermiştir. Hp sentezleyen DNA'ların (HpcDNA), BChE sentezleyen kromozomların (BChEcDNA) hemen distalinde lokalize olması bu yaklaşımı destekler niteliktedir (125).

Hematolojik verilerde tam kan sayımı içinde lökogram ile birlikte eritrogram sonuçları da yer almaktadır. Bu çalışma için eritrogram verilerinden yalnız Hct değeri (sıvı kayıplarının dolayısıyla dehidrasyonun önemli indikatörü) kayıt altına alınmış; Salin (kontrol) grubunda çalışma süresinde önemli bir istatistiksel değişim belirlenemezken, LPS alan köpeklerde (LPS grubu) 0,5.saatten başlayarak 4.saate kadar şiddetlenen bir Hct yükselimi ortaya konmuştur. Bu veriler aynı doz LPS'nin (0,02 mg/kg, iv) kullanıldığı köpeklerden elde edilen Hct değerlerine (13, 15) benzerlik gösterirken, yüksek doz LPS (1 mg/kg, iv) verilen köpeklerdeki Hct değerlerinden (13) düşük kalmıştır. Bu çalışmada Hct değerinde saptanan yükselmenin, LPS uygulamasını takiben köpeklerde şekillenen kusma-ishalden ileri geldiği, hatta spontan olarak suya karşı ilgisizliğin de mevcut duruma katkı verdiği söylenebilir. Bununla birlikte, LPS'ye yanıt olarak dolaşıma salınan mediatörlerin damar endotelinde meydana getireceği hasarlanma ile damar permeabilitesinin artacağı (89); böylece başta albumin gibi küçük moleküler ağırlıklı proteinlerin intravaskular alandan ekstravaskular alana çıkarken beraberinde plazma kaybı da şekillendireceği (33) ihtimal dâhilindedir. Batmaz ve arkadaşları (107) da LPS alan köpeklerde ilk 30 dakika içinde Hct değeri artarken, plazma volümünde de %25'lik bir azalma kaydetmişlerdir. Bu nedenle, sepsis/endotoksemik seyirli hastalıklarda klinik olarak ishal-kusma olmadan da dehidrasyon gelişebileceği ileri sürülebilir. Bu çalışmada ortalama Hct değerinin LPS öncesi (0.saat - %45) ve sonrası (4.saat - %61) tespitleri karşılaştırıldığında (%35 artış); oluşan dehidrasyonun boyutu da ortaya çıkmaktadır. LPS grubunda total protein konsantrasyonunun yükselme eğiliminde olması, ancak albümin değerinin 24-48.saatlerde baseline'a göre istatistiksel düzeyde düşük kalması, dehidrasyon varlığı ve oluşum mekanizması (albümin kaybı) ile ilgili düşünceleri destekler niteliktedir.

Trombosit sayısının sepsis/endotoksemik seyirli hastalıklarda azaldığı (trombositopeni) ya da trombositopeni olmaksızın fonksiyonlarının değiştiği rapor edilmektedir (6, 33, 126). Bu çalışmada kontrol gruplarının aksine LPS grubu köpeklerde 0,5-1.saatlerde baseline'a göre tespit edilen trombosit sayısındaki %45'lik azalma diğer çalışma (15, 89, 108, 118) bulgularına benzerlik göstermekte; LPS ilişkili hücresel apoptosisin aktive edilmesi, kemik iliği baskılanması, artan sekestrasyon ve/veya artan

kullanımdan (4, 37, 121) ileri gelebilmektedir. Bununla birlikte trombositlerin karaciğer sinüoitlerinde birikmesi ve makrofajlar tarafından fagosite edilmesi de endotoksemilerde trombositopeni nedeni olarak gösterilmektedir (127, 128). LPS'ler doğrudan ya da dolaylı olarak salınımına yol açtığı mediatörler (TNF- α , ILs, trombosit aktive faktör [PAF] vb.) ile kemik iliğine baskı oluşturarak kronik süreçte trombositopeni meydana getirebilmektedirler (33). Bu çalışmada LPS uygulaması sonrası perakut zaman diliminde trombositlerde oluşan bu reaksiyon, hücresel şemotaksis ve artan kullanım düşüncesini destekler niteliktedir. LPS-sensitif hücrelerden salınan trombosit agonistleri; PAF, epinefrin (89, 129, 130) tromboksan (89), Von-Willebrand Faktör -vWF (131), adenozin di-fosfat [ADP] (134) ve endotelial adezyon molekülleri (121) *in vivo* olarak trombosit adezyon ve agregasyonunu artırarak belirgin trombositopeniye yol açmaktadırlar. Yapılan bir çalışmada (89) bolus LPS enjeksiyonunu takip eden ilk 30 dakika içinde serum tromboksan düzeyinin arttığı, beraberinde trombosit agregasyon artışı ve vasokonstriksiyon nedeni ile koagülopati riski olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenlerle klinik ve deneysel çalışmalarda sepsis/endotoksemi modellerinde trombosit sayılarının değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Sunulan bu çalışmada koagülopati riskini artıran bir diğer faktörün Hct değeri artışı yani hemakonsantrasyon olduğu (108, 118, 129, 131) düşünülmüştür. Dehidrasyon gelişen endotoksemili hastalarda, intravaskular sahadan ekstravaskular alana (doku boşlukları, geniş vücut boşlukları ve akciğer gibi organlarda interstitiel alanlara) yoğun sıvı geçişleri olduğundan, kanın şekilli elementlerinin damar endoteline tutunma (adhezyon) ve kümeleşme (agregasyon) potansiyeli artmaktadır. Bu süreç süreklilik gösterdiği takdirde, mikrovaskular alanda oluşacak trombusların doku hipoksisi, hızlanmış apoptosis ve kanama riskine yol açacağı aşikârdır (6, 31, 32, 132).

Erken dönem sepsis/endotoksemilerde dolaşıma fazla miktarda salgılanan vWf, epinefrin, ADP, tromboksan gibi mediatörler trombosit agregasyon ve adezyonunda artma sağlayarak, relatif bir sayısal azalma ya da aşırı kullanımdan kaynaklanan bir azalma meydana getirmektedirler. Bu durum sepsis/endotoksemilerde ölümün en önemli komplikasyonlarından biri olan tüketim koagülopatisinin (consumption coagulopathy), diğer adı ile yaygın intravaskular koagülasyonun da (DIC) oluşumunu tetiklemektedir (4-7, 31, 36, 133). Koagülasyon (hemostasis) patolojilerinin insan ve veteriner hekimliğinde yerinde ve zamanında tanımlanabilmesi için yeterli donanıma sahip laboratuvar imkânlarına gereksinim duyulmaktadır (33). Bu amaçla geleneksel olarak trombosit sayılarının (primer hemostasis) belirlenmesine ek olarak koagülasyon zincirinin intrinsik,

ekstrinsik ve yaygın sistemlerini değerlendiren fibrinojen, PT ve aPTT'nin (sekonder hemostasis), anti-trombin (ATIII) ve d-dimer gibi (tersiyer hemostasis) parametrelerin ölçülmesi önerilmektedir (5, 31, 100, 129, 134, 135, 136). Bu çalışmada LPS stresine maruz bırakılan köpeklerde (LPS grubu) organ/doku hasar belirteçlerinde artma şekillenmesiyle, bir önceki yayında (12) olduğu gibi, MODS gelişimi belirlenmiştir. Bu çalışmada MODS kapsamında hemostasis dengesinin durumu DIC skorlarının hesaplanmasıyla test edilmiştir (33). DIC tanımlaması için trombositopeni bulgusunun önemli bir belirteç olabileceği ifade edilse de (6, 7), birçok parametrenin kullanılmasıyla oluşturulan bir skorlandırma sisteminin daha güvenilir sonuçlar vereceği öne sürülmektedir. Farklı kurumlar tarafından insanlarda DIC tanımlaması için geliştirilen farklı skorlandırma sistemleri olmakla birlikte, bu sistemler arasında güçlü bir korelasyon olduğu da bilinen bir gerçektir (7, 36, 135). Bu bağlamda, Yılmaz ve arkadaşları (17) tarafından yapılan bir çalışmada bu sistemlerin modifiye edilmesiyle, köpekler için kullanılabilir bir skorlandırma şeması geliştirilmiştir. Bu şemaya göre bu çalışmada köpeklerde LPS uygulamasını takip eden 4. saatte DIC gelişimi belirlenmiş, daha sonra skorların düşmeye başladığı gözlenmiştir. LPS'li köpeklerde DIC gelişiminin olası patofizyolojik mekanizmaları bilinmesine rağmen (7, 36, 134), 4. saatten itibaren LPS etkisindeki köpeklerde skorların spontan olarak azalması ve DIC tanımlamasından skor anlamında çıkılması tam olarak açıklanamamıştır. Bu durum konakçının hemostasis dengesini tekrar oluşturmaya başladığının bir işareti olabilir.

AFP'lerinden CRP insan ve veteriner hekimliğinde inflamasyon göstergesi olarak yaygın olarak kullanılmakla birlikte (2, 3, 26, 91), son yıllarda pro-koagülan (koagülasyon aktivatörü) özelliğinden de bahsedilmektedir (137-139). Bu bağlamda, çalışmada CRP'nin trombosit sayısı ile istatistiksel önemde negatif korelasyonlu belirlenmesi; CRP'nin koagülasyon sürecinde önemli rol oynadığı (pro-koagülan) söyleminin köpekler için de geçerli olabileceğini belgeler niteliktedir. Diğer yandan, serum HMGB-1 ve BChE düzeylerinin global koagülasyon parametreleri ile tespit ettiğimiz negatif / pozitif yöndeki korelasyonlar, koagülasyon zincirinin kompleks yapısını yansıtırken, adı geçen inflamatuvar indikatörlerin endotoksemide pıhtılaşma sürecine olası katılımlarını da göstermektedir.

Sunulan bu çalışmada sublethal LPS uygulamasını takiben sepsis/endotokseminin klinik - laboratuvar bulguları ilk örnekleme zamanında oluşmaya başlamış, çoklu organ işlev bozukluğu (multiple-organ dysfunction syndrome - MODS) 24 saat içinde tespit

edilir olmuştur. Serum karaciğer enzim aktiviteleri (ALT, AST, ALP, GGT) ve pankreatik amilaz 4.saatte, düz kas ve/veya kardiyak biyobelirteçleri (CK, LDH ve Mg) 0,5-24.saatlerde, renal hasar belirteçleri de (üre – kreatinin) 24.saatte belirgin değişimler göstermiştir. Benzer zaman dilimlerinde kan gazlarında (metabolik değişim ve/veya pulmoner fonksiyon bozukluğu), kolesterol ve trigliserit değerlerinde (lipid profili bozukluğu) ve koagülasyon parametrelerinde tespit edilen değişimler (hemostasis bozukluğu) endotoksemilerde MODS kapsamının geniş bir yelpazede değerlendirilmesi gerektiğinin de örnekleri olmuştur. Uygulanan endotoksin dozuna (0,02-1 mg/kg, i.v.) bağlı olarak köpeklerde gelişen hepato-renal yetmezlik İlçöl ve arkadaşları (12) tarafından tartışılmış; TNF- α aracılı sitokin mediatör stimülasyonu, doku hipoperfüzyonu ve dehidrasyondan kaynaklanan dolaşım yetmezliği olası nedenler olarak öngörülmüştür. Lipid profili değişimleri sepsisli hastalarda sık karşılaşılan bir komplikasyon olarak öne çıkmaktadır. “Sepsis lipemisi” olarak adlandırılan bu durum (140, 141); sunulan bu çalışmada olduğu gibi serum total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit düzeylerinde artma, HDL-kolestrol düzeyinde ise azalma ile karakterize edilmektedir. Septik durumlarda ortaya çıkan lipeminin, konakçının patojenik stimülüse verdiği doğal bir immun yanıt olduğu ve sitokinler ile otonomik sinir sistemi tarafından regüle edildiği ortaya konmuştur (140). Bu çalışma verileri AFP (CRP, Hp ve Cp) ve BChE enzimlerinin serum lipid ve karaciğer enzim aktiviteleri ile istatistiksel önemde korelasyonunu gösterdiğinden, köpeklerde LPS’ye karşı oluşan lipid yanıtlarının düzenlenmesinde belirtilen parametrelerin (AFP ve BChE) rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada saptanan LPS-ilişkili hipertrigliserideminin olası neden(ler)i olarak; karaciğerde çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) sekresyonunun artması, trigliseritten zengin lipoprotein klirensinin gecikmesine yol açan lipoprotein lipaz aktivitesinin sekonder olarak inhibe edilmesi ve konakçının trigliserit – lipoprotein kompleksi ile LPS etkilerinin nötralize etme çabası (14) gösterilebilir. Köpek ve sıçanlarda deneysel endotoksemi modelinde gösterildiği gibi (14), bu çalışmada tespit edilen hiperkolesterolemi, aynı zamanda karaciğerde kolesterol sentezi artışından da ileri gelebilir. Çalışmada LDL-kolesterolün serum düzeyi artarken, albumin ile birlikte HDL-kolesterolün azalması; konakçı immun yanıtları içerisinde anti-oksidan kapasitenin de aşırı kullanıldığını (143) düşündürmektedir. Bu yaklaşımda HDL’nin önemli anti-oksidan madde olan paraoksonase-1 (PON1)’in plazmada bağlayıcısı olması ve bu kompleks yapının konakçının inflamasyona karşı oluşturduğu yanıtta (SIRS ve CARS dengesinde) rol oynaması etkili olmuştur (143). Bu düşüncüyü endotoksemili köpeklerde yaptığımız bir çalışmanın sonuçları (PON1’in total

kolesterol, LDL- ve HDL-kolesterol ile pozitif korelasyonda olması) da destekler niteliktedir (147). Yılmaz ve Şentürk (114) ise sepsis kriterlerine sahip doğal enfekte parvoviral enteritisli köpeklerde hipertrigliseridemi ile birlikte hipokolesterolemi varlığını rapor etmişlerdir. İnsanlarda (145) ve köpeklerde (114) sepsis olgularında hipokolesteroleminin zayıf prognoz göstergesi olduğu ileri sürülürken, sunulan bu çalışmada hiperkolesterolemi saptanmış olması; sublethal LPS ile oluşturulan endotoksemi şiddetinin, belirtilen çalışmalardan daha hafif düzeyde kalması ile açıklanabilir.

High mobility group box – 1 (HMGB-1) protein uzun yıllardan beri kromozomal (intraseküler) bir protein olarak bilinirken, son zamanlarda geç dönem sepsis indikatörü (late – onset sepsis indicator) olarak dikkati çekmeye başlamıştır (147, 148). Sitokin mediyatör TNF- α 'nın, LPS uygulamasını takiben ilk saatlerde (0-4 saat) plazma düzeyi yükselirken; HMGB-1 düzeyi monosit ve makrofajlardan salınarak 24-48 saat sonra yükselmektedir (8, 107, 149-151). Bu bağlamda bu çalışma ile HMGB-1 proteininin LPS uygulamasını takip eden ilk örnekleme zamanlarında (4.saat) serumda ölçülebilir düzeyde ve yüksek değerlerde belirlenmesi; köpeklerde HMGB-1'in literatür bilgisini genişletecek şekilde erken dönem inflamasyon indikatörü olabileceğini düşündürmektedir. Cohen ve arkadaşları (150) non-septik inflamasyon oluşturan travmalı hastalarda (insanlarda) HMGB-1'in ilk 30 dakika içinde yükseldiğini belgelemeleri bu çalışma sonuçlarını tür farklılığına rağmen destekler niteliktedir. Doğal sepsislerde HMGB-1 yükselmesinin ya da eksojen olarak HMGB-1 uygulamasının yüksek mortalite ile ilgili olduğu, aksine her iki durumda da HMGB-1 otoantikorları uygulandığında hayatta kalma oranının arttığı rapor edilmiştir (147). Korelasyon çalışmalarında lökosit, nötrofil, prokalsitonin (PCT) ve serum organ/doku hasar belirteçlerinin düzeyleri ile pozitif bir ilgi saptanması (153), HMGB-1'in aynı zamanda pro-inflamatuar özelliklerde olduğunu ortaya koymuştur. Sunulan bu çalışmada serum HMGB-1 düzeyinde ki artışların (4-24.saatler), total lökosit sayısındaki değişim ve CRP düzeyindeki artışlar ($p<0,001$) ile örtüşmesi, pro-inflamatuar özelliğin pekiştirilmesi açısından önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Sepsisin geç dönem indikatörü olarak ilgi çekmesine rağmen (106, 149, 150), HMGB-1'in hemostasis ve AFP ile olan bağlantısı yani koagülasyon süreci ve konakçının inflamasyona verdiği yanıtlar (SIRS) içerisindeki davranışları belirsiz kalmıştır. LPS'ye karşı oluşan HMGB-1 yanıtlarının, bu çalışma kapsamında değerlendirilen AFP'lerinin (CRP, Hp, Cp ve albümin) değişim yönlerine paralel, serum immunglobulin (IgG)

düzeylerine zıt yönde olması; endotoksemi patofizyolojisinde konakçı immun yanıtlarının oluşumunda HMGB-1'in AFP'leri özellikle Hp ile birlikte kompleks bir yapı içerisinde (pro-inflamatuar olarak) hareket edebileceğinin ip uçları olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte serum HMGB-1 düzeyinde erken dönemde tespit edilen yükselmenin (4.saat) LPS grubunda DIC skorlarındaki pik nokta ile örtüşmesi; HMGB-1'in (pro-) koagülant etkiye sahip olduğunu (153) düşündürmektedir. Ito ve arkadaşları'nın (153) bulguları (HMGB-1'in DIC skorları ile pozitif korelasyonu) bu çalışmada tespit edilen eğilimleri destekler niteliktedir.

LPS İlişkili Kardiyak Etkilenim

İnsan ve deney hayvanı çalışmaları sepsis / septik şok olgularında şekillenen çoklu organ işlev bozukluğu sendromunda kardiyak disfonksiyonunun önemli bir yer tuttuğunu ve kötü prognoz nedenlerinden biri olduğunu ortaya koymuştur (56, 57, 154, 155). Deneysel çalışmalar LPS stresine maruz bırakılan deneklerde sitokin mediatörler (TNF- α , ILs vb) aracılığıyla miyokardiyal kontraktilitenin etkilendiğini, benzer durumun sadece eksojen olarak TNF- α verildiğinde de ortaya çıktığını göstermektedir (57, 89). Sepsis/endotoksemili hastalarda kardiyak performansın bozulmasında, makro- ve mikosirkülasyondaki değişimler ile birlikte otonomik nervöz disfonksiyonun da etkili olduğu rapor edilmiştir (56, 155-158). LPS ilişkili miyokardiyal hasar genellikle erken dönemde sol ventriküler disfonksiyona, kronik süreçte de biventriküler disfonksiyon ve kalp yetmezliğine dönüşmektedir (55-58). Geçmiş yıllarda sepsisli hastaların sayısal çokluğuna rağmen, spesifik tanısal metodlar (kardiyak troponin vb) rutine indirgenemediğinden, sepsis ilişkili kardiyak komplikasyonların oranı ve ölümlerdeki potansiyeli tam olarak bilinmiyordu. Yakın geçmişe ait veriler yoğun bakım ünitelerindeki sepsisli insanların büyük bir kısmında (%50) kardiyak disfonksiyon geliştiğine işaret etmektedir (57, 158). Bu tablo, yoğun bakım ünitelerindeki insan ve şiddetli sepsis kriterlerine sahip hayvanlarda genel muayeneler içerisinde kardiyolojik değerlendirmelerin de yapılmasını zorunlu kılmıştır. Bu bilgiler ışığında, sunulan bu çalışmada denekler kardiyolojik açıdan klinik (kalp frekansı, EKG ve ekokardiyografi) ve serum biyokimyasal parametreler (kardiyak troponin, CK, CK-MB, LDH, BHDH, AST, Mg) ile değerlendirilmiş; olası miyokardiyal ve kardiyak performans etkilenimleri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

EKG ile yapılan ritim analizlerinde deneklerin tümünde deney öncesi değerlendirmelerde normal sinüs ritmi ve/veya respiratorik sinüs aritminin hakim olduğu belirlenmiştir. LPS uygulaması ile birlikte baseline'a göre ilk örnekleme zamanında EKG'de R-R aralıklarında uzama (ortalama kalp frekansında azalma eğilimi) daha sonra ise R-R aralıklarında kısalma (sinüs taşikardi) tespit edilmesi; klinik olarak oskültasyon ile belirlenen kalp frekansı değerlerine paralellik göstermiştir. Bu yanıtlar konakçının LPS stresine karşı oluşturduğu metabolik ihtiyaçların karşılanmasına yönelik elektrofizyolojik reaksiyonlar (60, 108, 159) olarak yorumlanmıştır. Bu reaksiyonların oluşumunda sempatik aktivasyonun ve yangısal mediatörlerin kalp üzerindeki olumsuz etkilerinin (sepsis induced myocardial dysfunction [SIMD]) de rol oynayabileceği (57, 155) düşünülmüştür. LPS uygulaması sonrası ilk 15 dakika içinde ölçülebilen parametrelerde tespit ettiğimiz değişimler yani baseline değerlere göre EKG dalga voltajlarındaki (P ve R dalgaları) artma ile sürelerindeki uzamalar (P, PR, QRS ve QT), LPS ilişkili anormal otonomik kontrol (160) düşüncesini destekler niteliktedir. Çalışma bulgularımız Yılmaz ve arkadaşları'nın (159) deneysel sepsisli köpeklerde EKG'de P dalga voltajında artma saptamaları ile paralellik gösterirken, R voltajında azalma saptamaları ile farklılık oluşturmuştur. Kocatürk ve arkadaşları da (161) sepsis kriterlerine sahip doğal enfekte köpeklerde yaygın olarak sinüs taşikardi ve QRS amplitüdünde istatistiksel önemde olmayan bir yükselim saptamışlardır. Çalışma sonuçlarındaki bu uyumsuzluklar; adı geçen çalışmalarda farklı metodların uygulanması (LPS, canlı attenuue E.coli bakterisi, doğal sepsis) ve/veya sepsis şiddetlerinin farklılığından ileri gelebilir. Martinez ve arkadaşları da (162) sepsisli insanlarda cTnI yükselmesi ile birlikte EKG değişimlerinin miyokardiyal etkilenimi belirlemede önemli olduğunu belirtirken; QRS amplitüd kaybı, dar QRS oluşumu ve uzamış QT süreleri ile sepsis ilişkili kardiyak etkilenimi karakterize etmişlerdir. Aynı çalışmada (162) ST elevasyonunun sepsisli hastalarda nadiren görüldüğünü de ileri sürmüşlerdir. Rich ve arkadaşları (163) 17 septik hastanın 14'ünde QRS amplitüdünde azalma, 8'in de ise QRS süresinde uzama saptamışlar; Na iyonlarının yetersiz kullanımından ileri gelen bu durumun kardiyak eksitabiliteyi de azaltabileceğini ifade etmişlerdir. Farelerde deneysel sepsis modellerinde erken taşikardi oluşumunun bradikardi ile devam ettiği gözlenmiştir. Bradikardi oluşumunda enfeksiyon etkenlerinin ya da ürünlerinin (LPS) vagal efferent nöral yolu aktif hale getirmesinin etkili olduğu rapor edilmiştir (164). Aynı çalışmada (164) atropin uygulaması ile LPS ilişkili bradikardinin önlenmesi ya da tedavi edilmesi; muskarinik kolinerjik innervasyonun etkinliğini öne çıkarmıştır. İnsanlarda (160, 162, 163) ve domuzlarda (165) olduğu gibi bu çalışmada elde

edilen EKG değişimleri köpeklerde de endotoksemik seyirli hastalıklarda kalbin elektrofizyolojik özelliklerinin değişebileceğini göstermiştir.

Bu çalışmada LPS uygulaması kalpte elektrofizyolojik değişiklikler oluşturmaya rağmen ekokardiyografik olarak elde edilen geometrik ölçümlerde (Ao, PA, LA, LVDD, LVSD, IVSDD, IVSSD, PWDD ve PWSD) genellikle istatistiksel boyutta önemli bir varyasyon belirlenmemiştir. Ancak, belirtilen ekokardiyografik parametrelerin baseline ortalama değerlerine göre LPS sonrası zamanlarda (0,5-48 saat) dikkate değer yüzdeler farklılaşmalar gelişmiştir. Buna göre LPS uygulaması LVDD ve LVSD’de ilk örnekleme zamanında %25-30 azalma (0,5.saat; $p<0,05$), IVSDD ve IVSSD’da %16 oranında azalma sağlarken, PWDD ve PWSD da önemsiz yüzdeler değişimler şekillenmiştir. Çalışmanın 4.saatinde IVS ve PW diyastol ve sistol çapları kontrol gruplarında baseline değerlere yakın bulunurken, LPS grubunda artma ya da azalma eğilimi göstermiştir. Bu çalışmada tespit edilen bu ekokardiyografik değişimlerin deneklerde sepsis ve MODS gelişiminin tanımlandığı zaman (0,5 - 4.saat) ile örtüşmesi; köpeklerde LPS stresinin kalpte erken dönemde geometrik değişimlere de neden olabileceğini düşündürmüştür. Iwase ve arkadaşları (166) ratlarda yaptıkları çalışmada LPS uygulaması sonrası 30. dakikada LVDD ve LVSD da belirgin azalma, PW’da ise artma saptamışlar; olası nedenler olarak ta LV miyokardiyumda belirgin kapillar konjesyon ve hafif ödem gelişimini göstermişlerdir.

İnsan ve veteriner hekimliğinde kalp hastalıklarının değerlendirilmesinde daha spesifik kardiyolojik değerlendirmelerden yararlanılmaktadır. Bu anlamda sistolik zaman aralıklarının (STI) klinik ve akademik çalışmalarda LV fonksiyonların değerlendirilmesinde tercih edilmesinde non-invasif ekokardiyografik bir yaklaşım olması da etkin olmaktadır. Global LV performansın değerlendirilmesinde non-spesifik bir indikatör olarak kabul edilen STI (167); genel olarak pre-ejeksiyon (PEP) ve ejeksiyon fazlarından (LVET) oluşmakta ve total elektro-mekanikal sistol süresini ifade etmektedir. Bu nedenle genellikle STI tanımlamasında PEP: LVET oranından bahsedilmektedir. STI daha kapsamlı olarak PEP: LVET oranı ile birlikte PEP, LVET, Vcf ve ICT değerlerinden oluşmaktadır. STI’ların insanlarda yaş, cinsiyet ve gebelik faktörlerinden etkilendiği rapor edilmiştir (168). Aynı çalışmada diurnal (gün içinde farklı saatlerde) ve farklı günlerde (day-to-day) yapılan ölçümlerde varyasyonların yaşandığı, gıda alımının da bu ölçümlere etki ettiği belirtilmiştir. Bu değişimlerin yaşanmasında sempatik aktivasyonun kalp üzerindeki etkisinden bahsedilmiştir (168). Bu çalışmada yalnız erişkin erkek

köpekler kullanılmış, deneyler standart olarak henüz mama verilmeden sabah 09:00'da başlatılmış, 24. ve 48.saat ölçümlerinde aynı zaman dilimi kullanılmıştır. Böylece STI ölçümlerinde yaş, cinsiyet, gıda ve zaman faktörüne bağlı olası etkilenmeler minimale indergenmeye çalışılmıştır.

STI'nın dört önemli komponenti bulunmaktadır: Kalp frekansı, preload (önyük), afterload (ardyük) ve miyokardiyal inotropi. Dolayısıyla sistolik zaman aralıkları bu dört komponentteki değişimlerden etkilenmektedirler. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada PEP yanıtlarda baseline'a göre Salin grubunda önemli bir değişim olmazken, LPS grubunda 0,5-48.saatlerde kısalma eğilimi dikkati çekmiş; hatta LPS grubunda 0,5.saatteki PEP değeri (291 ± 23 msn, $p < 0,01$) diğer grupların aynı zaman dilimindeki PEP değerlerinden (411 ± 50 msn – 749 ± 242 msn) daha kısa olarak belirlenmiştir. Bu farklılık LPS uygulamasına bağlı olarak gelişen periferel rezistans ve LV kontraktilite azalması ile ilgili olabilir (54). Sepsisin hiperdinamik döneminde sistemik vasküler rezistansta azalma ile pulmoner kan akımında artma rapor edilmiştir. Hastalık ilerlediğinde bu tabloya çalışmada belirlendiği gibi CO ve O₂ tüketimindeki (pO₂) azalma da eşlik etmektedir (169, 170). LVET değeri kontrol gruplarında baseline değere göre diğer zamanlarda %6 -10 oranında varyasyon göstermiş, bu nedenle istatistiksel farklılık oluşmamıştır. Bu değişimler gün içinde ve takip eden günlerde LVET'te gözlenebilecek normal varyasyonlar ile uyumlu kabul edilmiştir. LPS uygulaması öncesi LVET değerinin gözlem sürecinde önce %14, sonraki zamanlarda da %21-24 oranında kısalma göstermesi ($p < 0,01$); LPS etkisiyle önce preload'da (önyük) sonra da SV'deki azalmaya bağlanabilir. Bu düşünce SV değerinin LPS sonrası 1.saatte grup içi ($p < 0,001$) ve gruplar arasında ($p < 0,001$) en küçük değerde belirlenmesi ve PEP: LVET oranının LPS sonrası 0,5.saatte grup içi ve gruplar arasında önemli farklılık ($p < 0,01$ - $p < 0,001$) göstermesi ile desteklenebilir. Jianhi ve arkadaşları (171) farelerde farklı doz LPS'nin kardiyak fonksiyonlara etkilerini değerlendirdikleri çalışmada LPS'nin SV ve CO'yu belirgin şekilde azaltırken, preloadda istatistiksel bir düşme yarattığını ortaya koymuşlar ve bu değişimlerin LPS ilişkili LV kontraktilite azalmasından daha çok LV fonksiyon yükünü artıran durumlarla ilgili olduğunu vurgulamışlardır. Bu bilgiler Kober ve arkadaşlarının (172) endotoksik köpeklerde kardiyovaskular performanstaki erken depresyonun, kardiyak disfonksiyondan daha çok azalan preload'tan ileri geldiğini bildiren çalışma bulguları ile paralellik göstermiştir. Artucio ve arkadaşları (173) da PEP:LVET oranındaki azalmanın LV disfonksiyon göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. PEP'in en önemli değişkeni olarak

kabul edilen ICT süresi, hastalarda çok düşük diyastolik basınç olduğunda kısalmaktadır (174). Bu bağlamda ICT değeri kontrol gruplarında grup içlerinde istatistiksel boyutta anlamlı bir değişim göstermezken, LPS grubunda baseline ortalama değer 170 msn'den 1. saatte 51 msn'ye (%70 azalma, $p<0,01$) düşmüştür. Bu durum LPS alan köpeklerde insanlarda olduğu gibi düşük diyastolik basınç nedeni ile şekillenmiş olabilir. Bu çalışmada LPS sonrası zamanlarda (0,5-4 saat) köpeklerde belirgin hipotansiyon belirlenmesi bu düşünceyi destekler niteliktedir. Sistolik zaman aralıklarından biri olan Vcf değerinde test ve kontrol gruplarında istatistiksel bir değişim belirlenememesi; Vcf değerinin LV yükte (preload ve afterload) meydana gelen değişimlerden minimal düzeyde etkilenmesinden (107, 175) ileri gelebilir. Diğer yandan Kumar ve arkadaşları (176) düşük doz LPS uyguladıkları insanlarda EF değerindeki azalma ile birlikte Vcf değerinde de azalma belirlemişler ve bu yansımayı miyokardiyal yetmezlik belirtisi olarak tartışmışlardır.

Sepsisli hastalarda sistolik disfonksiyon kadar diyastolik disfonksiyonun da önemli olduğu rapor edilmiştir (177). Landesberg ve arkadaşları (177) sepsis/septik şoklu hastaların %10'unda izole LV sistolik disfonksiyon, %15'inde sistolik ve diyastolik disfonksiyon, %38'inde ise izole diyastolik disfonksiyon belirlemişlerdir. Diyastolik fonksiyonların Doppler değerlendirilmesinde yaygın olarak IRT, ventriküler dolum (mitral E/A oranı), "E" deceleration süresi ve atriyal kontraksiyon parametreleri kullanılmaktadır (108). Bu çalışmada diyastolik fonksiyon IRT ve mitral E/A oranı ile değerlendirilmiş; "E" erken, "A" da geç (atriyal kontraksiyon) ventriküler dolum velositesini ifade etmiştir. IRT değeri tüm gruplarda baseline olarak incelendiğinde önemli varyasyon göstermiş, standart hatanın yüksekliğinden istatistiksel düzeyde değişimler elde edilememiştir. Mitral E/A oranı sağlıklı köpeklerde yaş, vücut ağırlığı ve kalp frekansı değerlerinden etkilenmekle birlikte 1'den büyük tespit edilmektedir (107). Bu çalışmada mitral E/A oranı bu bilgilere paralel olarak örnekleme öncesinde tüm gruplarda ortalama olarak 1,8 - 2,5 aralığında tespit edilmiştir. Salin grubunda ilk örnek zamanında kısmen azalan E/A oranı, diğer zamanlarda minimal değişimler göstermiş; istatistiksel önemde olmayan bu durum gün içi ve günler arası görülebilecek fizyolojik varyasyonlara bağlanmıştır. Mitral E/A oranının LPS grubunda baseline'a göre grup içinde azalması (0,5-48. saat, %18 azalma, $p<0,01$) ve aynı zaman dilimlerinde (0,5., 24. ve 48. saat; $p<0,05$) diğer gruplardan daha düşük bulunması; LPS etkisiyle gelişen diyastolik disfonksiyon belirtisi olarak (113, 177) yorumlanmıştır.

STI ve serum kardiyak biyobelirteçlerinin sahip olduğu dezavantajlarının giderilmesi adına, sunulan bu çalışmada miyokardiyal performans ekokardiyografik olarak Tei indeksinin hesaplanması ile değerlendirilmiştir. Tei indeks yani miyokard performans indeksi sistolik zaman aralıkları kullanılarak elde edilen sayısal bir değer olup izovolemik kasılma zamanı (ICT) ve izovolemik gevşeme zamanı (IRT) toplamının, ejeksiyon zamanına (ET) bölünmesi ile elde edilmektedir (60, 178). Miyokard performans indeksi, primer miyokardiyal sistolik disfonksiyonu olan hastalarda sistolik ve diyastolik miyokard performansını birlikte değerlendirebilen bir Doppler indeksi olarak keşfedilmiştir (178, 179). Kalp hızı değişikliklerinden bağımsız gibi gözüken Tei indeksi, farklı klinik durumlarda prognostik değerde görülmektedir (179). Abdel- Hady ve arkadaşları (180) insanlarda neonatal sepsiste sistolik ve diyastolik disfonksiyon şekillendiğini, böyle hastalarda cTn ile birlikte Tei indeksin prognostik değere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Kocatürk ve arkadaşlarının (59) köpeklerde yaptığı çalışmada sepsis ilişkili mortalite belirlenmesinde Tei indeksi sensitivitesinin %91, spesifitesinin ise %100 olduğu gösterilmiş (>0,8 cut-off değer); bunu sensitivitelere göre sırasıyla serum cTnI (%93), CK (%68), LDH (%63), AST (%36) ve Mg düzeylerinin (%22) takip ettiği rapor edilmiştir. Bu veriler, Tei indeksin sepsis/endotoksemi nedenli miyokardiyal etkilenimi belirlemede, çalışılan biyokimyasal parametrelere olan üstünlüğünü göstermektedir. Rossi ve arkadaşları (155) sepsise bağlı olarak miyokardiyumda hasarlanma meydana gelmesizin miyokardiyal kontraktilitenin azalabileceğini rapor etmeleri, Tei indeks'in fonksiyonel bir değerlendirme olarak serum biyokimyasal indikatörlere olan üstünlüğünü destekler niteliktedir. İnsanlarda Tei indeksin dilate kardiyomyopatide (DCM), akut miyokardiyal infarktüste ve izole sistolik ya da diyastolik disfonksiyonda arttığı rapor edilmektedir (179). Elde ettiğimiz veriler, insan çalışmaları (181) ile uyumlu olmakla birlikte Tei indeksin köpeklerde endotoksemik seyirli hastalıklarda global sol ventriküler disfonksiyonunu değerlendirmede kullanışlı bir metod olduğunu gösterir niteliktedir. Bu çalışmada LPS uygulaması sonrası 4. saatte Tei indekste pik yükselimin belirlenirken, aynı zamanda ICT süresinin uzaması ve LVET süresinin de kısılması; LV disfonksiyonu olan insanlarda tespit edilen bulgulara (183) paralellik göstermiştir. Materyalde kullanılan erişkin köpeklerin baseline Tei indeks verileri (<1,5) ile bir önceki araştırmamızda (59) sağlıklı köpeklerden (<6 ay) elde ettiğimiz veriler (0,3-0,5) arasındaki farklılık; Tei indeksin insanlarda olduğu gibi (180) köpeklerde de yaşa bağlı değişim göstermesi ile açıklanabilir. Çalışmamızda LPS'li köpeklerde Tei indeksindeki bu yükselimi miyokardiyal performansın olumsuz yönde etkilendiğinin bir göstergesi olarak

yorumlanmış, insanlarda yapılan ve kalp yetmezliklerinde artış rapor eden çalışmalara (179) da uyum sağlanmışır. Bu çalışma bulgularının Tei indeksin kalp frekansı ile korelatif olmadığını göstermesi, Tei indeksin kalp hızından etkilenmediğini belirtilen yayınları (179) desteklemiş, aynı zamanda Tei indeksin diğer ekokardiyografik verilere özellikle sistolik zaman aralıklarına olan üstünlüğünü de perçinlemiştir.

Ekokardiyografik olarak bu çalışmada fonksiyonel değerlerden fraksiyonel kasılma (FS) ve ejeksiyon fraksiyonunda (EF), Doppler muayenelerinden de aort (AoVmax) ve pulmomer arter akım karakteristiklerinde (PAVmax) salin (Salin grubu) ve LPS uygulaması sonrası (LPS grubu) grup içi ve gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir değişim tespit edilememiştir. Oysa Chopra ve Sharma (158) sepsis-ilişkili miyokardiyal disfonksiyonu (SIMD) ekokardiyografik olarak biventriküler miyokardiyal kontraktilite bozulması ile karakterize etmişler, diğer araştırmalara (56, 154, 183) uygun olarak miyokardiyal disfonksiyonun EF’de azalmaya yol açtığını belirtmişlerdir. Sepsis ilişkili taşikardi kalp yetmezliğinin ilerlemesine neden olurken, bu süreçte kümülatif sempatik aktivasyon ve mediatörlerin (miyokardiyal depresant faktör, nitrik oksit, sitokinler ve endotelin-1) kalp üzerine olumsuz etkileri rol oynamaktadır (55, 58). Bu çalışmada belirtilen ekokardiyografik verilerde (EF, FS, AoVmax ve PAVmax) literatüre uyumlu değişimlerin belirlenmemesinde; ET-1 gibi SIMD patofizyolojisinde önemli rol oynayan mediatörlerin geç dönemde aktif olması (56, 154), oysa sunulan bu çalışmanın 48 saatte bitirilmesi ve uygulanan LPS dozuna bağlı olarak deneklerde hipodinamik sepsis fazına geçilmemesi etkili olabilir. Sepsis ilişkili kalp etkileniminin belirlenmesinde bu çalışma için seçilen ekokardiyografik verilerden sadece Tei indeksinde anlamlı değişimler ortaya konabilmiştir. Bu tespit, Tei indeksin köpeklerde endotoksemik hastalıklarda erken dönem global LV fonksiyon değerlendirmesinde diğer ekokardiyografik indekslere olan üstünlüğünü perçinlemiştir. İnsan (177) ve köpek çalışmaları (59) artmış Tei indeksin sistolik ve diyastolik kalp fonksiyonlarındaki baskılanmanın bir göstergesi olduğunu belgelemektedir.

Bu çalışmada LPS sonrası 0,5-24.saatlerde non-spesifik serum miyokardiyal biyobelirteçlerinin (total CK, LDH ve AST) artması da sepsis (LPS) ilişkili miyokardiyal etkilenimi destekler niteliktedir. Çalışmanın serum örneklerinde total CK düzeyi ile birlikte CK-MB düzeyleri de ölçülmüş; ancak, CK-MB değerlerinin bazı örneklerde total CK değerlerinden daha yüksek olduğu fark edilmiştir. Benzer tespitler LDH enzim

aktivitesi ile izotopu olan ve miyokardiyal duyarlılığı daha fazla olan betahidroksi butirat dehidrajenaz (BHBD) enzim aktivitesinde de tecrübe edilmiştir. CK-MB ve BHBD'nin miyokardiyal hasarın ortaya konmasında total CK ve LDH enzim aktivitelere göre daha spesifik olmasına rağmen (73), kullanılan kitlerde yaşanan diğer izotoplardan ileri gelen kros reaksiyonlar ve tam olmayan antikor nötralizasyonları (184) analiz sonuçlarının çalışma dışında tutulmasına neden olmuştur. Diğer taraftan total enzim aktiviteleri içinde miyokardiyal izotop (CK-MB, LDH-1 ve LDH-2) oranlarının düşük olması (73); CK-MB ve BHBD'nin miyokardiyal hasar belirteci olarak köpeklerde erken dönemde tanınabilirliğini de sınırlandırmaktadır. Bu noktada CK-MB'nin total CK'nın köpeklerde %10'nundan daha az bir kısmını [Walker (184)'a göre de %1-3'ünü], insanlarda ise %40'nı oluşturduğunu hatırlamak gerekmektedir (72, 185). Köpeklerde CK-MB'nin kronik böbrek hastalıklarından etkilenmesi ve miyokardiyum dışında iskelet kası, akciğer, dalak ve bağırsak dokularında da bulunması; CK-MB'nin spesifitesini sınırlandıran diğer faktörler olarak gösterilmektedir (72).

Miyokardiyal hasar belirlenmesinde günümüzde daha özellikli parametreler (natriüretik peptidler – BNP ve ANP; kardiyak troponinler - cTnI) kullanılmaktadır (72). Kardiyak troponinlerin sağlıklı bireylerin serumda tespit edilemeyecek düzeyde ya da düşük konsantrasyonlarda bulunması; minör miyokardiyal hasarların ortaya konmasında dezavantajlar oluşturabilmektedir (72, 73). Serum cTnI düzeyinin test grubu köpeklerin çoğunda cut-off değerinin (<0,05 ng/ml) altında belirlenmesinde, bu çalışmada kullanılan LPS dozu (0,02 mg/kg) ve buna bağlı miyokardiyal etkilenme derecesi rol oynayabilir. Mehta ve arkadaşlarının (186) insanlarda yaptıkları çalışmada, sepsis ve miyokardiyal disfonksiyon dereceleri ile serum cTnI yükselimi arasında pozitif korelasyon saptamaları da bu düşüncüyü destekler niteliktedir. Henüz yazım aşamasında olan çalışmamız (187) yüksek doz LPS alan köpeklerde serum cTnI düzeyinin 4-24.saatlerde artış göstererek 0,67 ng/ml'ye kadar yükselebileceğini göstermektedir. cTnI yükselmesinde hipoperfüzyon ve/veya kardiyak dokuya direkt enfeksiyon etkisi rol oynamaktadır (162).

Magnezyum eksikliğinin (hipomagnesemi) kalp fonksiyonlarını olumsuz etkilediği yakın dönemde yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (188). Mg eksikliğinin kardiyak miyositlerde Ca girişini artırması, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu hızlandırması ve inflamatuvar mediatör salınımını artırması ile işemik kalp hastalıkları, konjestif kalp yetmezliği, ani kardiyak ölüm, arteroskleroz ve aritmilere neden olabileceği rapor

edilmiştir (189, 190). Hipomagnezeminin hospitalize hastalarda ve özellikle kalp problemlili insanlarda yaygın tespit edilen bir bulgu olduğu, bu nedenle tedavi aşamasında medikal ya da diete bağlı olarak olarak Mg takviyesine özen gösterilmesi gerektiği öne sürülmüştür (192). Mg takviyesinin miyokardiyal metabolizmayı düzenlediği, Ca akümülyasyonunu ve miyokardiyal hücre ölümünü de engellediği belirtilmiştir. Bu etkilerin yanısıra Mg'un serbest oksijen radikal düzeyini düşürme, lipid metabolizmasını düzenleme ve trombosit fonksiyonlarını inhibe etme gibi özelliklere sahip olduğu da tespit edilmiştir (189). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada Kocatürk ve arkadaşları (59) doğal enfekte olup sepsis kriterlerine sahip parvoviral enteritisli köpeklerde serum Mg değerinin sağlıklı kontrollerden istatistiksel olarak farklı olmadığını ve mortalite belirlemede sınırlı etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Serum Mg üzerine endotoksin (LPS) etkilerini irdeleyen literatür bilginin sınırlı olması, sunulan bu çalışmanın güçlü yönlerinden birini oluşturmuştur. Yetmişli yıllarda yapılan iki deneysel çalışma serum Mg düzeyinin endotoksemilerde değişim potansiyeline sahip olmadığını göstermektedir. Bu çalışmaların birinde Griel ve arkadaşları (190) intravenöz E.coli lipopolisakkaridini (055:B5) erişkin sığırlara total 1 mg olarak enjekte etmişler; serum Mg düzeyinde 48 saat süresince anlamlı bir değişim saptayamamışlardır. Herman ve arkadaşları (191) da deneysel endotoksemide tavşanlarda serum Mg, Ca ve P düzeylerinin değişim göstermediğini rapor etmişlerdir. Sunulan bu çalışmada ise LPS uygulamasını takiben serum Mg düzeyi 4. saate kadar belirgin azalmış, daha sonra baseline değere dönmüştür. Belirtilen çalışmalarda (190, 191) aynı E.coli serotipi kullanılmasına rağmen sunulan bu çalışmadan farklı yanıtların alınmasında; tür farklılığı ve LPS dozuna bağlı oluşturulan endotoksemi şiddeti (12,15) rol oynayabilir. Çalışmamızda LPS sonrası beden sıcaklığı, kalp frekansı ve solunum sayısındaki artışlar, AFP'lerindeki değişimler ve karaciğer enzim aktivitelerindeki artışlar konakçıda metabolik fonksiyonların arttığını yani hiperdinamik fazın hakimiyetini göstermektedir. Bu bağlamda aynı zaman diliminde serum Mg düzeyinin azalması ve serum CRP ile Mg arasında pozitif bir korelasyon olması, LPS stresine karşı metabolik ihtiyaçlarının karşılanmasına yönelik bir reaksiyon olarak algılanmıştır. Bu yaklaşımda Mg'un birçok enzimin (>300) yapısına girip katalizör etki göstermesi, böylece enerji transferi, depolanması ve kullanımında öncelik arz etmesi etkin olduğu düşünülebilir (192).

Kolin Tedavisinin LPS İlişkili SIRS, Sepsis, Endotoksemi ve MODS Gelişimine Etkileri

Sepsis/endotoksemi gibi hastalıklar yoğun bakım ünitelerinde kapsamlı tedaviler uygulanmasına rağmen yüksek mortalite ile seyretmektedirler. İnsan ve veteriner hekimliğinde sepsis ilişkili hastalıklarda maddi-manevi kayıpların azaltılması, hayatta kalma oranının artırılmasına yönelik çalışmalar devam ettirilirken, alternatif tedavi denemeleri önemli gündem oluşturmuştur. Bu nedenle kolinerjik anti-inflamatuvar yolun kolinerjik agonistlerle uyarılarak sepsis/endotoksemideki yararlı etkileri de tartışılır olmuştur (11, 17, 93, 98, 123). Sunulan bu çalışmada, sublethal doz (0,02 mg/kg) LPS uygulayarak köpeklerde endotoksemi ve MODS kriterleri tespit edilmiş, böylece kolinerjik agonistlerle yapılacak tedavi denemelerine ideal bir model oluşturulmuştur. Bu çalışmanın, önceki benzer çalışmalardan metodolojik olarak farklılık göstermesi; kolin bileşiklerinin tedavideki etkinliğinin değerlendirilmesinde daha güçlü veriler oluşturmamıza olanak sağlamıştır. Bir önceki çalışmamız (17) ve bugüne kadar yapılan diğer çalışmalarda (12-16) intravenöz kolin bileşiklerini takiben LPS uygulanmış olmasına rağmen bu çalışmada saha koşullarını ideal olarak temsil edebilmek için önce LPS (böylece endotoksemi geliştirilmiş) takiben de kolin bileşikleri (kolin klorür ve cdp-kolin) uygulanmıştır.

Kontrol grupları irdelendiğinde Kolin ve CDP-Kolin gruplarındaki verilerin büyük bir bölümünün, çalışma periyodunda (0-48 saat) grup içlerinde ve gruplar arası verilerden istatistiksel boyutta farklı olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte intravenöz kolin uygulaması ile ilk dakikalarda salivasyon, lakrimasyon, kusma ve defekasyon daha sonra da ishal, miktirasyon ve korku-endişe durumları belirlenmiş; bu belirtilerin cdp-kolin uygulamalarında daha hafif olduğu ya da görülmediği not edilmiştir. Cdp-kolin'e köpeklerin farklı yanıt vermesinde, cdp-kolinin intravenöz uygulamayı takiben periferel dolaşımda öncelikle metabolitlerine (cytidine ve kolin) dönüşmesi (119) etkin olabilir. Çalışmamızdaki bu tespitler, intravenöz kolin uygulamasına bağlı olarak deneklerde kolinerjik sistemin aktif hale getirildiğinin gözlemsel yansımaları olmuştur. Kolin ve cdp-kolin uygulamalarının ilk örnekleme zamanlarında kalp frekansı ve MAP değerlerini kısmen düşürmesi, solunum sayısının ise CDP-Kolin grubunda daha hafif olmak üzere belirgin arttırması; köpeklerde ölçülebilen parametreler bazında kolinerjik sistem etkilerinin (12-15, 17) oluştuğunu destekler niteliktedir.

Kalp kolinerjik sistemin etkisi altında çalıştığından *N. vagus* uyarıldığında kalbin refraktör (dinlenme) periyodu da uzamaktadır (164). Bu çalışmada kardiyolojik muayenelerde kolin ve / veya cdp-kolin uygulamasını takiben bradikardi eğilimi saptanması (EKG'de R-R aralıklarının uzaması ve kalp frekansının düşmesi), sistolik zaman aralıkları ve kalp debisinde değişimler saptanması kolinerjik sistem aktivasyonunun kalp üzerindeki etkilerinin de oluştuğunu göstermektedir. Bu tespitlerin yanısıra kolin ve cdp-kolin uygulamaları serum biyokimyasal parametrelerde (glukoz ve total bilirubin dışında), koagülasyon ve bazı ekokardiyografik verilerde çalışma süresince anlamlı bir değişime yol açmamıştır. Serum glukoz ve total bilirubin artışları kolin bileşiklerinin kolinerjik sempatik sistemi (glikolizis ve safra sekresyonunu) aktive etmesi (193, 194) ile ilgili olabilir.

Membran fosfolipidlerin prekürsörü olarak bilinen kolin, diyet katkısı ya da intravenöz olarak kullanıldığında deney hayvanlarında bakteriyel endotoksinlere karşı gelişen vücut yanıtlarını düzenlemektedir (12, 14, 79-81, 144). Bu bağlamda klinik bulgular irdelendiğinde LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında benden sıcaklığı, kalp frekansı ve solunum sayılarında LPS grubuna göre daha hafif etkilenimler olurken, non-invazif ortalama kan basıncı (MAP) değerlerinde tam bir korunma elde edilmiştir. Bu olumlu tespitlerde, kolin bileşiklerinin sitokin mediatör (TNF- α) inhibisyonu oluşturmaları (12, 119) ve sentral nikotinik kolinerjik nörotransmisyonu artırması sayesinde hipotansiyonu restore etmeleri (83, 195, 196) etkili olabilir.

Sistemik inflamasyon tanımlaması ve tedavi monitorizasyonunda başta lökositler değişimler olmak üzere tam kan sayımı sonuçlarından yararlanılmaktadır. Bazı lökositlerin (lenfosit ve monosit) membranlarında kolinerjik reseptörlerin ve non-nöral asetilkolinin bulunması (17), eksojen uygulamayı takiben dolaşımdaki serbest kolinin, kolinerjik agonist olarak bu reseptörleri etkilemesine ve lökosit trafiğini yönlendirmesine (197, 199) olanak sağlayabilir. Bu çalışmada kolin ve cdp-kolin tedavileri LPS etkisine bağlı lökosit azalması (0-2 saat) ya da artmasında (4-24 saat) etkili olamazken, kolinden daha çok cdp-kolinin Hct değeri ve trombosit sayılarında koruyucu etkileri dikkati çekmiştir. Cdp-kolin tedavisi alan köpeklerde, kolin alanlara göre kolinerjik davranışların (salivasyon, kusma, lakrimasyon ve ishal) daha hafif ya da kısmen oluşması, dehidrasyon gelişiminin sınırlandırılması anlamına gelmektedir. LPS grubu ile karşılaştırıldığında, kolin tedavi gruplarında (LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin) dehidrasyonun serum

biyokimyasal indikatörü olarak kabul edilen total protein konsantrasyonunda sağlanan stabilizasyon da bu görüşü destekler niteliktedir. Bu etkideki olası mekanizmaların; 1) dolaşımdaki albumin düzeyinin bu çalışma süresince başlangıç (baseline) değerlere yakın tutulması ve 2) LPS-ilişkili dolaşıma salıverilen ve damar permeabilitesi-tonusunu bozarak dehidrasyonu tetikleyen başta TNF- α olmak üzere bir ya da birçok mediatörün (12, 90, 119) inhibe edilmesi olarak düşünmekteyiz.

LPS grubunda serum AFP düzeyleri istatistiksel düzeyde değişmesine rağmen özellikle cdp-kolin uygulandığında (LPS + CDP-Kolin grubu) Hp'de 24.saate, Cp'de de 48.saate kadar önemli bir değişim gözlenmemesi; kolin uygulamalarının LPS'li köpeklerde akut faz yanıtını geciktirebileceğini / hafifletebileceğini göstermektedir. Benzer etkinin serum CRP düzeyine yansımaması; CRP'nin insanlarda olduğu gibi köpeklerde de primer, Hp ve Cp'nin ise sekonder AFP olması (3, 26, 145, 161) ile açıklanabilir. Intravenöz kolin tedavisinin yüksek doz (1 mg/kg) LPS uygulanan köpeklerde, düşük doz (0,02 mg/kg) LPS uygulananlara göre daha etkili bulunması (12); bu çalışmada CRP'de olduğu gibi bazı parametrelerde kolin tedavisinin etkisiz kalmasının bir diğer açıklaması olabilir. LPS'li köpeklerde tespit edilen serum BChE enzim aktivitesindeki (low grade inflammatory marker) azalma ile HMGB-1 protein (late-onset inflammatory marker) düzeyindeki artmanın, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında görülmemesi de kolin tedavisinin anti-inflamatuar potansiyelini destekler niteliktedir. Bu düşüncemiz, farelerde endotoksin ve septik şok modellerinde intraperitoneal kolin tedavisi ile dolaşımdaki TNF- α ve HMGB-1 proteinin engellendiğini ve yaşam sürelerinin arttığını rapor eden çalışma bulguları (10) ile güçlendirilebilir. Deney sürecinde (0-48 saat) dolaşımdaki immunglobulin (IgG ve IgM) fraksiyonlarının, LPS grubunun aksine baseline değerlerde kalması, kolin tedavilerinin kompenzatuvar immünolojik reaksiyonları (CARS) aktif tutması ve mononükleer (monosit, lenfosit) hücre membranlarında non-nöral ACh resöptörlerini uyarması (17, 93, 119) ile ilişkilendirilebilir. İn vitro bir çalışmada (200), LPS etkisine bağlı immunglobulin IgG ve IgM'deki değişim monosit aktivasyonu ile ilişkilendirilerek, aktive monositlerin IgG üretimini baskıladığı belirtilmiştir.

Kolinden zenginleştirilmiş diyetler ratlarda endotoksik şok modelinde yaşam sürelerini artırırken (79-81), kolin eksik diyetle beslenenlerde hepatotoksisite ve mortalitede belirgin artış rapor edilmiştir (80, 81). Bu bilgilere paralel olarak, bu çalışmada karaciğer enzim aktiviteleri ve karaciğerden dolaşıma salıverilen BChE enzim düzeyleri irdelendiğinde;

LPS ilişkili hepatotoksisitenin ve serum BChE'deki azalmanın kolin gruplarında (özellikle cdp-kolin tedavisinde) görülmediği ya da sınırlandırıldığını tespit ettik. Bu çalışmada bilimsel tasarım ve etik değerler gereği sublethal doz LPS kullanımı tercih edildiğinden, deney sürecinde ölüm tespit edilmemiş; dolayısıyla mortalite ve hepatotoksisite bağlantısı da değerlendirilememiştir. Kolin ile ilgili yapılan deneysel çalışmalarda köpeklerde intravenöz kolin öntedavisinin endotoksinin neden olduğu multi-organ hasarını hafiflettiği (12), köpek ve sıçanlarda endotoksemiye bağlı hiperlipidemiye sınırlandırırken, sıçanlarda endotoksimeye bağlı ölümleri azalttığı gösterilmiştir (14). Sunulan bu çalışmada kolin tedavileri ile (cdp-kolin tedavisinde daha belirgin olacak şekilde) hepato-renal ve miyokardiyal biyobelirteçleri, lipid profili ve kan gazlarında sağlanan regülasyon, kolin uygulamalarının çoklu organ işlev bozulmasını (MODS) engellediğini / sınırlandırdığını öneren çalışma (12) bulgularını destekler niteliktedir. Klinik, hematolojik ve serum biyokimyasal bulgulardan oluşan bu tespitlerimiz, genel olarak LPS sonrası kolin uygulaması ile LPS'ye yanıt olarak gelişen sistemik inflamasyonun yani SIRS'ın sınırlandırılabilirliğini; inflamatuvar yanıtlardan sorumlu SIRS ve CARS arasındaki dengenin patojenik durumlara adapte edilebileceğini, böylece köpeklerde septik şok ve MODS gelişiminin engellenebileceğini düşündürmüştür. Kolin tedavisi LPS öncesi (12-15, 17) ve bu projede olduğu gibi sonrası uygulandığında; her iki durumda da MODS parametreleri bazında LPS etkilerinin sınırlandırılma potansiyelindeki benzerlik dikkate değer görülmüştür. Bu olumlu etkiler kolin tedavisi ile asetilkolin salınımının artması ve efferent vagus aracılı nikotinik reseptörün uyarılması (11, 93, 98) ile ilgili olabilir.

Sıçanlarda vagal kolinerjik anti-inflamatuvar sistemin nikotinik reseptörlerle uyarılmasının inflamatuvar mediatörlerin salınımını ve koagülasyon aktivasyonunu baskıladığı rapor edilmiştir (83-87). Özellikle cdp-kolin tedavisinin LPS sonrası oluşan trombosit sayısındaki azalmayı engellemesi; kolin tedavisinin primer hemostasis regülasyonunda etkin olduğunu rapor eden bir önceki yayımla (15) örtüşmektedir. Bu bulgulara paralel olarak, trombosit sayısı ile birlikte global koagülasyon test sonuçlarından hesaplanan DIC skorları, LPS grubunda 4.saatte bu çalışma için belirlenen cut-off değere (≥ 7) ulaşmasına rağmen, her iki kolin tedavi grubunda da skorların emniyetli bölgede kaldığı dikkate çekmiştir. Bu etki, kolin uygulamasının koagülasyon zincirinde intrinsik (aPTT), ekstrinsik (PT) ve yaygın sistemde (PT, aPTT ve fibrinojen) görev alan sekonder ve tersiyer hemostasis proteinlerinin (ATIII) LPS stresine cevaben oluşan azalmadan (tüketim koagülopatisinden) korunmuş olabileceğini düşündürmektedir. Bu yaklaşım

köpeklerde kolin ve cdp-kolin ön tedavisini takiben LPS uyguladığımız çalışma (17) sonuçları ile uyum göstermiştir. Adı geçen çalışmada (17) kolin tedavisi alan köpeklerde sekonder hemostastan sorumlu plazma koagülasyon faktör düzeylerinin fonksiyonel sınırlarda kaldığı belirlenmiştir. LPS + CDP-Kolin grubunun LPS + Kolin grubuna göre DIC skorlarını düzenlemedeki üstünlüğünün, cdp-kolinin periferal olarak parçalandıktan sonra açığa çıkan sitidin kısmı ile ilgili olabileceği (17) düşünülmüştür. Faktör III (tromboplastin) ve kalsiyum dışında tüm koagülasyon proteinlerinin karaciğerde üretildiği bilindiğinden (33), kolin tedavisinin hemostasis üzerine tespit ettiğimiz bu olumlu etkilerinde; karaciğer üzerindeki direkt koruyucu etkisinin (membran fosfolipidlerinin yapısına girerek hücre membran stabilizasyonu sağlaması) ve/veya mediatör inhibisyonu ile (TNF- α , AFP'leri ve HMGB-1) sağladığı dolaylı etkinin de (11, 93, 119) rolü olabilir. Van Wasterloo ve arkadaşları (84) elektriksel olarak oluşturulan vagal uyarımın ratlarda LPS'nin yol açtığı prokoagülan etkiyi tam olarak önlerken, fibrinolitik yanıtları orta düzeyde düzenlediğini belirtmişler; vagal uyarımın sadece inflamasyon sürecinde değil, aynı zamanda koagülasyon-antikoagülasyon dengesinde de etkin olabileceğini vurgulamışlardır.

HMGB-1 proteinin sentez ve salınımında kolin içeren ekstrasellüler bileşiklerin (lysophosphatidyl-choline) regülatör olduğu ileri sürülmüş (90, 91, 93), ancak bu konuda yeterli literatür verisi oluşturulamamıştır. Bu çalışmada literatürde (105) belirtildiği gibi sağlıklı deneklerin çalışma süresince elde edilen serum örneklerinde ve test grubu deneklerin bazı örneklerinde western-blot (WB) analizinde HMGB-1 protein belirlenememiş; bu nedenle yalnız 4-48.saatlerdeki değişimler değerlendirilebilmiştir. WB sonuçları kolin tedavi grupları ile kontrol (LPS) grubu arasında 48.saatte istatistiksel önemde farklılık göstermesine rağmen, benzer yanıtlar aynı saatte ELISA verilerinde gözlenememiştir. Bu durum bazı örneklerde ELISA ile saptanamayacak düzeyde (cut-off değerinin altında) HMGB-1 bulunmasından ve bu çalışma için ölçülebilen en düşük değer (1408 pg/ml) veri olarak girilmesinden ileri gelebilir. Bu bağlamda, çalışma sonuçları LPS grubu ile karşılaştırıldığında LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin tedavisi alan köpeklerde serum HMGB-1 protein düzeyinin daha düşük kaldığını göstermiştir. Bu olumlu etkinin kolin bileşiklerinin nöral kolinerjik anti-inflamatuar yolu aktiveleştirerek makrofajlar üzerindeki asetilkolin reseptörlerini ($\alpha 7$ subunit nicotinic AChR) harekete geçirmesiyle (11, 93, 194) ilgili olduğu söylenebilir. Ratlarda gerçekleştirdiğimiz henüz yayınlanmamış çalışma verileri; LPS öncesi heksametyonum (kolinerjik nikotinik reseptör antagonisti)

tedavisi alan grupta (Hekzametonyum + Kolin + LPS), Kolin + LPS grubunda tespit edilen TNF- α üzerinden olumlu etkilerin bloke edildiğini, atropin (periferal muskarinik reseptör antagonist) öntedavisi alan ratlarda ise (Atropin + Kolin + LPS grubu) kolin ilişkili TNF- α ile ilgili olumlu etkilerin bloke edilemeden sadece hafifletilebildiğini göstermiştir. Bu bilgiler Pavlov ve Tracey (193)'in tespitleri ile birleştirildiğinde; köpeklerde kolinerjik anti-inflamatuar etkilerin ortaya çıkabilmesi, yani HMGB-1 protein inhibisyonunun oluşabilmesi için farmakolojik olarak muskarinik reseptörlerden (mAChR) daha çok nikotinik reseptörlerin (nAChR) uyarılmasına gereksinim olduğunu göstermektedir.

Mevcut bilgiler nöral kolinerjik anti-inflamatuar yolun (cholinergic brain network) uyarılmasını takiben efferent nervus vagus ve muskarinik reseptörler aracılığı ile kalp hızı değişkenliğinin (heart rate variability) artırıldığı yönündedir (11, 93, 192). Bu çalışmadaki EKG ve kalp frekansı değerleri kolin bileşiklerinin bireysel olarak kullanıldığında sahip oldukları bradikardi potansiyelinin (cdp-kolin'de minimal), LPS ile birlikte kullanıldığında oluşmadığını göstermektedir. Bu tespit, kalbin otonomik sinir sistemi (sempatik ve parasempatik sistemin kombine etkisi) tarafından regüle ediliyor (11) olması ile açıklanabilir. Asetilkolin aracılı parasempatik uyarı kalp hızını azaltırken, fizyolojik ve patolojik durumlar (bu çalışmada olduğu gibi LPS stresi) sempatik aktivasyon ile kalp hızını artırmaktadır (11, 119).

Kalp hızının kolin bileşikleriyle değiştirilebilir olması; sistolik zaman aralıklarının da bu tedaviden etkilenebileceğini düşündürmektedir. Bu yaklaşım çalışmada kalp frekansı değerlerinin sistolik zaman aralıkları ile istatistiksel düzeyde önemli (ICT, $p < 0,01$) ya da önemsiz düzeyde (LVET, IRT, PEP) negatif korelasyonlar göstermesi ile güçlendirilebilir. LPS grubunda PEP değerinde azalma saptanmasına rağmen LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin gruplarında 0,5.saatte baseline değerlere göre PEP değerinde değişen oranlarda (%12 - %79) uzama belirlenmesi; LPS'nin PEP üzerindeki etkilerinin kolin bileşiklerinin intravenöz uygulanması ile ortadan kaldırıldığını göstermiştir. Bu durum kolinerjik agonistlerce vagal innervasyonun aktive edilmesi ve periferal rezistanslığın artırılması (12) ile uyumlu görülmüştür. Ayrıca, bu çalışmada olduğu gibi kolinerjik innervasyonun medikal olarak aktive edilmesiyle, preload ve LV volüm azaltılarak PEP değerinde uzama sağlanabilir (81). LVET değerindeki kısalmanın LPS alan köpeklerde %24 olmasına rağmen kolin ile tedavi gruplarında (LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin) baseline değere göre 0,5 – 1.saat aralığında %3-12 oranı ile sınırlı kaldığı dikkati çekmiştir. CO ve SV

değerleri de çalışma sonunda LPS grubunda hala baseline değerlerin altında kalmışken, kolin tedavi gruplarında baseline'a yakın ya da daha yüksek değerler elde edilmiştir. Bu da kolin tedavisinin preload ve afterload arasındaki dengeyi sağlarken, LV kontraktilitesini ve SV'ü düzenleyebileceğini düşündürmüştür. Kolin tedavisi ile kalp frekansı değerlerinin LPS grubuna göre daha kabul edilebilir sınırlarda tutulması; ventriküllerin kanla dolması için yeterli zaman oluşturulmasına, böylece end-diyastolik volüm ve SV artışına olanak sağlayabilir. Sistolik zaman aralıklarında meydana gelen bu değişimlerle birlikte, LPS uygulaması ile mitral E/A oranlarındaki belirgin azalmanın, LPS + Kolin grubunda minimal düzeyde gerçekleşmesi; kolin tedavisinin LV diyastolik fonksiyonların korunması ya da idamesinde kısmen etkili olabileceğini göstermiştir. Vasküler rezistans, CO, SV gibi fonksiyonel kardiyovaskular parametrelerde azalma yönündeki değişimlerde, LPS etkisiyle dolaşıma salınan inflamatuvar mediatörlerin rolü olduğundan (170); kolin bileşikleriyle bu mediatörlerin inhibisyonu ya da attenuasyonu bu çalışmada kardiyolojik verilerde elde edilen olumlu değişimlerin de nedeni olabilir. Bu yaklaşım, LPS etkisiyle artan TNF- α 'nın kolin ön tedavisi ile engellendiğini gösteren çalışma bulguları (12) ve yangısal protein HMGB-1 ve CRP'nin LPS ilişkili yükselmelerinin kolin tedavileri ile sınırlandırıldığını gösteren bu çalışma bulguları tarafından desteklenebilir.

İnsan ve deney hayvanı çalışmaları, sepsis/endotoksemik seyirli hastalıklarda sepsis-ilişkili miyokardiyal fonksiyon bozukluğunun (sepsis-induced myocardial dysfunction - SIMD) ölümlerden sorumlu önemli bir komplikasyon olduğunu göstermiştir (55, 56, 58, 154, 184). Bu çalışmada miyokardiyal etkilenim serum enzim değerleriyle birlikte ekokardiyografik olarak sol ventriküler fonksiyonel parametreleri (EF, FS, Tei indeksi) ve Doppler akım karakteristikleri (AoVmax ve PAVmax) ile değerlendirilmiştir. Deneysel endotoksemi modeli oluşturduğumuz bu çalışmada miyokardiyal etkilenim non-spesifik olarak serum CK, AST ve LDH enzim aktivitelerindeki yükselme, Mg düzeyinde ise azalma (0,5-4 saat) ile ortaya konmuş; LPS ile birlikte kolin ve cdp-kolin uygulandığında adı geçen parametrelerde LPS etkilerinin minimize edildiği ya da engellendiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, LPS + Kolin ve LPS + CDP-Kolin tedavilerinin LPS grubunda ilk 1 saat içinde gözlenen EF, FS, AoVmax ve PAVmax değerlerindeki kısa süreli değişimlere anlamlı bir etki oluşturmadığı fark edilmiştir. Kolin tedavisi verilen grupta (LPS + CDP-Kolin) LPS'nin neden olduğu Tei indeksteki yükselme eğiliminin tersine döndürüldüğü yani 0,5-1 saat aralığında ortalama değerlerde azalma eğilimi olduğu belirlenmiştir. Iwase ve arkadaşları (166) ratlarda LPS sonrası kısa zamanda sol

ventrikülde (LV) fonksiyonel ve yapısal değişimler oluştuğunu not etmişler; LV duvar kalınlığında meydana gelen artmanın miyokardiyal ödem ve kapıllar konjesyonundan ileri geldiğini öne sürmüşlerdir. Trombosit aktive faktör (PAF) antagonistleri ile yapılan ön tedavilerde bu olumsuz etkilerin hafifletilmesiyle, PAF'ın LPS ilişkili erken dönem kardiyovasküler yanıtlarda önemli olabileceği vurgulanmıştır. Bu çalışmamızda PAF mediatör tayini yapılmamış olmakla birlikte, LPS-ilişkili TNF- α (12) ve HMGB-1 protein düzeyindeki artışların kolin ve cdp-kolin tedavileri ile baskılanabilir olması; olumlu kardiyak yanıtların alınması ve miyokardiyal performans indeksinin düzenlenmesinde (kısmen) etkili olabilir düşüncesindeyiz. Son yapılan bir çalışmada (201) M3 muskarinik asetilkolin reseptörlerinin (M3-maChR) kalp hastalıkları ve fonksiyonlarının regülasyon ve idamesinde önemli olduğu belirtilmiş; bu reseptörlerin kolin gibi farmakolojik ajanlarla uyarıldığında ventriküler kardiyomiyositlerin apoptosis ve işemik hasardan korunabileceği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada köpeklerde özellikle sistolik zaman aralıkları gibi birçok faktörden etkilenebilen fonksiyonel kardiyolojik verilerden ürettiğimiz yaklaşımların geçerli olabilmesi için ileride “n” sayısının daha yüksek olduğu doğal ya da deneysel planlanmış çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Genel olarak çalışma sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, proje hipotezlerine uygun olarak aşağıdaki noktaların önemli olduğu düşünülmektedir:

- 1- LPS stresi (0,02 mg/kg, iv, tek doz) köpeklerde klinik-laboratuvar bulguları temelinde doğal olgularla uyumlu SIRS, sepsis ve endotoksemi kriterlerini geliştirmektedir.
- 2- LPS ilişkili çoklu organ işlev bozukluğu sendromu (MODS) serum biyokimyasal olarak organa spesifik ya da non-spesifik parametreler ile ortaya konabilmektedir. Uygulanan LPS dozu (0,02 mg/kg, iv, tek doz) köpeklerde hepato-renal hasarlanma, kardiyopulmoner etkilenim, koagülasyon denge (hemostasis) bozukluğu ve immun sistem patolojileri temelinde MODS geliştirmektedir.
- 3- LPS ile kardiyak etkilenimin ortaya konmasında fonksiyonel parametre Tei indeksin çalışılan diğer ekokardiyografik parametrelerden (sistolik zaman aralıkları, EF, FS, AoVmax ve PAVmax) tanı ve tedavi monitorizasyonunda daha etkili olduğu söylenebilir.

- 4- SIRS patojenezi içinde köpeklerde LPS stresine karşı akut faz proteinlerindeki değişim ve değişim dereceleri (CRP majör AFP, Hp ve Cp ise orta düzey AFP) ortaya konmuş; CRP'nin köpeklerde inflamasyon indikatörü olarak üstünlüğü teyit edilmiştir.
- 5- Son dönemin inflamasyon indikatörü olarak ilgi odakları serum BChE ve HMGB-1 protein düzeylerinin LPS etkisine bağlı olarak değişim göstermesi, köpeklerde de bu amaç için kullanılabileceklerini düşündürmüştür. Ayrıca, dolaşımdaki HMGB-1 protein düzeyinin köpeklerde LPS sonrası erken dönemde (ilk dört saat içinde) yükselmesi dikkate değer görülmüş; bu özelliği nedeni ile erken dönem sepsis/endotoksemi ilişkili inflamasyon tanımlamalarında da kullanılabileceği düşünülmüştür.
- 6- Deneysel LPS stresinde köpeklerde serum BChE ve CRP düzeylerinin serum karaciğer enzim aktiviteleri ve lipid profili değerleri ile korelasyonlu olması, ileride yapılacak sepsis/endotoksemi ilişkili inflamasyon çalışmalarına farklı bir bakış açısı getirebilir.
- 7- Kolin tedavisi (kolin klorür ve cdp-kolin olarak) sepsis/endotoksemi modelinde köpeklerde SIRS ve MODS gelişimini düzenleme (önleme veya sınırlandırma) potansiyeline sahiptir.
- 8- Kolin tedavisi, sepsis / endotoksemik seyirli hastalıklarda insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da görülebilecek sistolik ve diyastolik kardiyak disfonksiyonların önlenmesi ya da hafifletilmesinde alternatif bir yöntem olabilir.
- 9- Kolin ile bu çalışmada LPS ilişkili akut faz proteinlerindeki (CRP hariç) artışların baskılanması, serum BChE düzeyindeki azalmanın engellenmesi ve HMGB-1 protein düzeylerindeki artışın sınırlandırılması; köpeklerde kolinin alternatif anti-inflamatuar bir ajan olabileceğini işaret etmektedir.
- 10- Kardiyak patolojilerinin sınırlandırılmasında kolin tedavisinin etkinliği önemli bir bulgu olarak ortaya konmuş; bu etkilerin rutin EKG ve ekokardiyografik muayenelerin yanısıra Tei indeks ile izlenebilir olduğu vurgulanmıştır.

Bu çalışma ile bir yandan önceki çalışmalarımızın bazı bulguları konfirme edilirken, diğer yandan yeni bulgular da ortaya konulmuştur. Önceki çalışmalarımızda kolin intravenöz (i.v.) olarak ön tedavi şeklinde kullanılmış, endotoksin (LPS) i.v. olarak daha sonra uygulanmıştır. Bu çalışmada ise, önceki çalışmalardan farklı olarak kolin tedavisi klinik sürece daha uygun olarak endotoksemi oluşturulduktan sonra uygulanmıştır. Ayrıca önceki çalışmalarda kolin LPS öncesi ve sonrası (4 saat ara ile 2 kez) olmak üzere toplam 3 doz uygulanmışken, bu çalışmada tek doz ve LPS sonrası kullanılmıştır. Klinik sürece

daha uygun koşullarda gerçekleştirilen bu çalışmada kolin'in endotokseminin etkilerini baskılaması, bu maddenin yakın gelecekte veteriner ve tıp hekimliği pratiğinde ilaç olarak tedavinin önemli bir parçası olabileceğini dűřündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. LEVI M, KELLER TT, GORP E, CATE H. Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovascular Research*, 60: 26–39, 2003.
2. BISTRIAN BR. Acute phase proteins and the systemic inflammatory response. *Critical Care Medicine*, 27(3): 452-453, 1999.
3. PETERSEN HH, NIELSEN JP, HEEGAARD PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, 35: 163–187, 2004.
4. LEVI M. Pathogenesis and treatment of disseminated intravascular coagulation in the septic patient. *Journal of Critical Care*, 16(4): 167-177, 2001.
5. LEVI M, EVERT DJ, MEIJERS J. The diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Blood Reviews*, 16: 217–223, 2002.
6. CATE H. Trombocytopenia: One of the markers of disseminated intravascular coagulation. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, 33: 413-416, 2003/2004.
7. WADA H. Disseminated intravascular coagulation. *International Chemistry and Diagnostic Laboratory Medicine*, 344: 13–21, 2004.
8. TRACEY KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(2): 289-296, 2007.
9. DETAPOULOU P, PANAGIOTAKOS DB, ANTONOPOULOU S, PITSAVOS C, STEFANADIS C. Dietary choline and betaine intakes in relation to concentrations of inflammatory markers in healthy adults, the ATTICA study. *Journal of Clinical Nutrition*, 87(2): 424-30, 2008.
10. PARRISH WR, ROSAS-BALLINA M, GALLOWITSCH-PUERTA, OCHANI M et al. Modulation of TNF release by choline requires alpha7 subunit nicotinic acetylcholine-mediated signaling. *Molecular Medicine*, 14: 567-574, 2008.
11. HUSTON JM, TRACEY KJ. The pulse of inflammation: heart rate variability, the cholinergic anti-inflammatory pathway and implications for therapy. *Journal of Internal Medicine*, 269: 45–53, 2011.
12. ILCOL YO, YILMAZ Z, ULUS IH. Endotoxin alters serum free choline and phospholipid-bound choline concentrations and choline administration attenuates endotoxin-induced organ injury in dog. *Shock*, 24(3): 288- 93, 2005.
13. YILMAZ Z, ILCOL YO, TORUN S, ULUS IH. Intravenous administration of

- choline or CDP-choline improves platelet count and platelet closure times in endotoxin-treated dogs. *Shock*, 25(1): 73-79, 2006.
14. ILCOL YO, YILMAZ Z, CANSEV M, ULUS IH. Choline or CDP-choline alters serum lipid responses to endotoxin in dogs and rats: involvement of the peripheral nicotinic acetylcholine receptors. *Shock*, 32(3): 286-94, 2009.
 15. YILMAZ Z, ILCOL YO, ULUS IH. Investigation of diagnostic importance of platelet closure times measured by Platelet Function Analyzer-PFA100 in dogs with endotoxemia. *Berliner Mucnhener Tierarztliche Wochenschrift*, 118: 341-348, 2005.
 16. YILMAZ Z, ILCOL Y, ULUS IH. Endotoxin increases plasma leptin and ghrelin levels in dogs. *Critical Care Medicine*, 36(3): 828-833, 2008.
 17. YILMAZ Z, OZARDA Y, CANSEV M, ERALP O, KOCATURK M, ULUS IH. Choline or CDP-choline attenuates coagulation abnormalities and prevents the development of acute disseminated intravascular coagulation in dogs during endotoxemia. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 21(4): 339-348, 2010.
 18. WANG HE, DEVEREAUX RS, YEALY DM, SAFFORD MM, HOWARD G. National variation in United States sepsis mortality: a descriptive study. *International Journal Health Geographics*, 9: 9, 2010.
 19. ANGUS DC, LINDE-ZWIRBLE WT, LIDICKER J, CLERMONT G., CARCILLO J, PINSKY MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Medicine*, 29(7): 1303-10, 2001.
 20. ERDOĞAN H. Sepsis. *Pencere*, 5; 9; 18-21, 2005.
 21. KENNERMAN E, YILMAZ Z., ŞENTÜRK S. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Kliniğine Getirilen Sığır ve Koyunların Değerlendirilmesi. *Uludag University Journal Faculty of Veterinary Medicine*, 22(1-2- 3): 19-5, 2003.
 22. YILMAZ Z, KENNERMAN E, ŞENTÜRK S, TEMİZEL EM, AYTUG N. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Kliniğine Getirilen Kedi ve Köpeklerin Değerlendirilmesi (1990-2000). *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21: 23-31, 2002.
 23. AMERSFOORTH ESV, BERKEL TJC, KUIPER J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clinical Microbiology Reviews*, 16: 379-414, 2003.
 24. HABIF S. İnflamatuvar yanıtta akut faz proteinleri. *İzmir Atatürk Eğitim*

- Hastanesi Tıp Dergisi, 43(2): 55-65, 2005.
25. CERON JJ, ECKERSALL PD, MARTINEZ-SUBIELA S. Veterinary Clinicalical Pathology, 34: 85-99, 2005.
 26. OSUCHOWSKI MF, WELCH K, SIDDIQUI J, REMICK DG. Circulating cytokine/inhibitor profiles reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality. Journal of Immunology, 177(3): 1967-1974, 2006.
 27. ADIB-CONQUY M, CAVAILLON JM. Compensatory anti-inflammatory response syndrome. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 101: 36-47, 2009.
 28. BAUE AE, PURHAM R, FAIST E. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS), multiple organ failure (MODS), multiple organ failure (MOF): are we winning the battle? Review. Shock (Augusta, Ga.), 10 (2): 79-89, 1998.
 29. AKÇAY MN, AKÇAY G, BALIK AA, DEMİRTAŞ T. Multi organ yetmezliği (Etiyopatogenez, önlenmesi ve tedavisi konusunda son görüşler). T Klinik Tıp Bilimleri Dergisi, 15:1, 1-5, 1995.
 30. LEVI M, JONGE E, POLL T. New treatment strategies for disseminated intravascular coagulation based on current understanding of the pathophysiology. Annals of Medicine, 36(1): 41-9, 2004.
 31. SEMERARO N, AMMOLO CT, SEMERARO F, COLUCCI M. Sepsis-associated disseminated intravascular coagulation and thromboembolic disease. Mediterrean Journal of Hematology and Infectious Diseases, 2(3): e2010024, 2010.
 32. PRATER R, TVEDTEN H. Hemostatic abnormalities in Small animal clinical diagnosis. Editors: Micheal D, WILLARD and HAROLD Tvedten, Saunders, 4th edition, page 92-112, 2004.
 33. WIINBERG B, JENSE AL, JOHANSSON PI, ROZANSKI E, TRANHOLM M, KRISTENSEN AT. Thromboelastographic evaluation of hemostatic function in dogs with disseminated intravascular coagulation. Journal of Veterinary Medicine, 22(2): 357-65, 2008.
 34. HAMBLETON J, LEUNG LL, LEVI M. Coagulation: consultative hemostasis. Hematology (American Society of Hematology Education Program), pages: 335-52, 2002.
 35. LEVI M, TOH CH, THACHIL J, WATSON HG. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology, British Journal of Haematology, 145(1): 24-33, 2009.
 36. BAKHTIARI K, MEIJERS JCM, de JONGE E, LEVI M. Prospective validation of

- the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation, *Critical Care Medicine*, 32: 2416–2421, 2004.
37. BONE RC. The pathogenesis of sepsis. *Annals of Internal Medicine*, 115: 457, 1991.
 38. COHEN J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 420: 885-91, 2002.
 39. HOTCHKISS RS, KARL IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *The New England Journal of Medicine*, 348/2: 138-150, 2003.
 40. RUSSEL JA. Management of sepsis. *The New England Journal of Medicine*, 355/16: 1699-1713, 2006.
 41. SCHLOSSBERG D. Clinical Infectious Disease. In: Carmen E. DeMarco and Rodger D. MacArthur. *Sepsis and Septic Shock*, Cambridge University Press, New York, page 9-19, 2008.
 42. CAVAILLON JM, ADIP-CONQUY M, FITTING C, ADRIE C, PAYES D. Cytokine cascade in sepsis. *Scandinavian Journal of Infectious Disease*, 35(9): 5353-44, 2003.
 43. BERNARD GR. Drotrecogin alfa (activated) (recombinant human activated protein C) for the treatment of severe sepsis. *Critical Care Medicine*, 31: 85-93, 2003.
 44. CINEL I, OPAL SM. Molecular biology of inflammation and sepsis. *Critical Care Medicine*, 37: 291-304, 2009.
 45. HEUSCH G, POST H, MICHEL MC, SHULZ R. Endogenous nitric oxide and myocardial adaptation to ischemia. *Circulation Research*, 87: 146-152, 2000.
 46. PARILLO JE, PARKER MM, NATANSON C, SUFFEREDINI AF, DONNER RL, CUION RE, OGNIBENE FP. Septic shock in humans: advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. *Annals of Internal Medicine*, 113: 227-242, 1990.
 47. McDONOUGH KH, SMITH T, PATEL K, QUINN M. Myocardial dysfunction in the septic rat heart: role of nitric oxide. *Shock*, 10: 371 376, 1998.
 48. MERX MW, LIEHN EA, JANSSENS U, LUTTICKEN R, SCHRADER J, HANRATH P, WEBER C. HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin profoundly improves survival in a murine model of sepsis. *Circulation*, 109: 2560–2565, 2004.
 49. NATANSON C, FINK MP, BALLANTYNE HK, MAC VITTIE TJ, CONKLIN JJ, PARILLO JE. Gram-negative bacteremia produces both severe systolic and

- diastolic cardiac dysfunction in a canine model that simulates human septic shock. *Journal of Clinical Investigation*, 78: 259–270, 1986.
50. STAHT TJ, ALDEN PB, RING WS, MADOFF RC, CERRA FB. Sepsis-induced diastolic dysfunction in chronic canine peritonitis. *American Journal of Physiology and Heart Circulation Physiology*, 258: H625–H633, 1990.
 51. MERX MW, LIEHN EA, GRAF J, van de SANDT A, SCHALTENBRAND M, SCHRADER J, HANRATH P, WEBER C. Statin treatment after onset of sepsis in a murine model improves survival. *Circulation*, 112: 117–124, 2005.
 52. CUNNION RE, SCHAER GL, PARKER MM, NATANSON C, PARILLO JE. The coronary circulation in human septic shock. *Circulation*, 73: 637–644, 1986.
 53. PARKER MM, SHELHAMER JH, NATANSON C, ALLING DW, PARILLO JE. Serial cardiovascular variables in survivors and nonsurvivors of human septic shock: heart rate as an early predictor of prognosis. *Critical Care Medicine*, 15: 923–929, 1987.
 54. COURT O, KUMAR A, PARILLO JE, KUMAR A. Clinical review: Myocardial depression in sepsis and septic shock. *Critical Care*, 6(6): 500-8, 2002.
 55. ROZENBERG S, BESSE S, BRISSON H, JOZEFOWICZ E, KANDOUSSI A, et al. Endotoxin-induced myocardial dysfunction in senescent rats. *Critical Care*, 10(4): R124, 2006.
 56. RUDIGER A, SINGER M. Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction. *Critical Care Medicine*, 35(6): 1599-1608, 2007.
 57. AVADESH CS. Sepsis-induced myocardial dysfunction. *Shock*, 28(3): 265-269, 2007.
 58. CHRISTOPHER S, GERHARD Dimitras A, KONTOYANNIS and MASSIMO Piepoli. Spectral analysis of the heart rate variability in the sepsis syndrome. *Clinical Autonomic Research*, 3: 5-13, 1993.
 59. KOCATURK M, MARTINEZ S, ERALP O, TVARIJONAVICIUTE A, CERON J, YILMAZ Z. Tei index (myocardial performance index) and cardiac biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Research in Veterinary Science*, 51(9): 478-483, 2010.
 60. FERNANDES CJ Jr, AKAMINE N, KNOBEL E. Cardiac troponin: a new serum marker of myocardial injury in sepsis. *Intensive Care Medicine*, 25: 1165–1168, 1999.

61. SPIES C, HAUDE V, FITZNER R, et al. Serum cardiac troponin T as a prognostic marker in early sepsis. *Chest*, 113: 1055–1063, 1998.
62. TURNER A, TSAMITROS M, BELLEMO R. Myocardial cell injury in septic shock. *Critical Care Medicine*, 27: 1775–1780, 1999.
63. ARLATI S, BRENNAN S, PRENCIPE L, et al. Myocardial necrosis in ICU patients with acute non-cardiac disease: a prospective study. *Intensive Care Medicine*, 26: 31–37, 2000.
64. Ver ELST KM, SPAPEN HD, NGUYEN DN, et al. Cardiac troponin I and T are biological markers of left ventricular dysfunction in septic shock. *Clinical Chemistry*, 46: 650–657, 2000.
65. AMMANN P, FEHR T, MINDER EI, et al. Elevation of troponin I in sepsis and septic shock. *Intensive Care Medicine*, 27: 965–969, 2001.
66. AMMANN P, MAGGIORINI M, BERTEL O, et al. Troponin as a risk factor for mortality in critically ill patients without acute coronary syndromes. *Journal of American College of Cardiology*, 41: 2004–2009, 2003.
67. METHA NJ, KHAN IA, GUPTA V, et al. Cardiac troponin predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *International Journal of Cardiology*, 95: 13–17, 2004.
68. WITTHAUT R, BUSCH C, FRAUNBERGER P, et al. Plasma atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are increased in septic shock: impact of interleukin-6 and sepsis-associated left ventricular dysfunction. *Intensive Care Medicine*, 29: 1696–1702, 2003.
69. CUTHBERTSON BH, PATEL RR, CROAL BL, et al. B-type natriuretic peptide and the prediction of outcome in patients admitted to intensive care. *Anaesthesia*, 60: 16–21, 2005.
70. TUNG RH, GARCIA C, MORRIS AM, et al. Utility of B-type natriuretic peptide for the evaluation of intensive care unit shock. *Critical Care Medicine*, 32: 1643–1647, 2004.
71. ARCHER J. Cardiac biomarkers: a review. *Comparative Clinical Pathology*, 12: 121–128, 2003.
72. KEMP M, DONOVAN J, HIGHAM H, HOOPER J. Biochemical markers of myocardial injury. *British Journal of Anaesthesia*, 93(1): 63-73, 2004.
73. AMMANN P, PFISTERER M, FEHR T, et al. Raised cardiac troponins. *British Medical Journal*, 328: 1028–1029, 2004.

74. KEIN Gunnewik JMT, Van der HOEVEN JG. Cardiac troponin elevations among critically ill patients. *Current Opinion in Critical Care*, 10: 342–346, 2004.
75. BERTINCHANT JP, LARUE C, PERNEL I, et al. Release kinetics of serum cardiac troponin I in ischemic myocardial injury. *Clinical Biochemistry*, 29: 587–594, 1996.
76. ZEISEL SH, Da COSTA KA. Choline: an essential nutrient for public health. *Nutrition Reviews*, 67(11): 615-23, 2009.
77. ADIBHATLA RM, HATCHER JF. Cytidine 5'-diphosphocholine (CDP-Choline) in stroke and other CNS disorders. *Neurochemistry Research*, 30: 15-23, 2005.
78. RIVERA CA, WHEELER MD, ENOMOTO N, THURMAN RG. A choline rich diet improves survival in a rat model of endotoxin shock. *American Journal of Physiology*, 275: 862-867, 1998.
79. NOLAN JP, ALI MV. Endotoxin and the liver; Toxicity in rats with choline deficient fatty livers. *Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine*, 129: 29-33, 1968.
80. EASTIN CE, McCLAIN CJ, LEE EY, BAGBY GJ, CHAWLA RK. Choline deficiency augments and antibody to tumor necrosis factor-alpha attenuates endotoxin-induced hepatic injury. *Clinical and Experimental Research*, 21: 1037-1041, 1997.
81. SAVCI V, ULUS IH. Cardiovascular effects of central choline during endotoxin shock in the rat. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 30: 667-675, 1997.
82. BOROVIKOVA LV, IVANOVA S, ZHANG M, YANG H, BOTVHKINA GI, WATKINS LR, WANG H, AHUMRAD N, EATON JW, TRACEY KJ. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405: 458-462, 2000.
83. WANG H, YU M, OCHANI M, AMELLA CA, TANOVIC M, SUSARLA Li JH, WANG H, YAN H, ULLOA L, et al. Nicotinic acetylcholine receptor a7 subunit is essential regulator of inflammation. *Nature*, 421: 384-388, 2003.
84. VAN WESTERLOO DJ, GIEBELEN IAJ, MEIJERS JCM, DAALHUISEN J, De VOS AF, Van Der POLL T. Vagus nerve stimulation inhibits activation of coagulation and fibrinolysis during endotoxemia in rats. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4: 1997-2002, 2006.
85. HAMANO R, TAKAHASHI HK, IWAGAKI H, YOSHIMO T, NISHIBORI M, TANAKA N. Stimulation of 7-nicotinic acetylcholine receptor inhibits CD14 and

- the toll-like receptor 4 expression in human monocytes. *Shock*, 26: 358-354, 2006.
- 86.** TAKAHASHI HK, IWAGAKI H, HAMANO R, KANKE T, LIU K, SADAMORI H, YAGI T, YOSHIMO T, TANAKA N, NISHIBORI M. The immunosuppressive effects of nicotine during mixed lymphocyte reaction. *European Journal of Pharmacology*, 559: 69-74, 2007.
- 87.** BOTTOMS G.D, ADAMS R. Involvement of prostaglandins and leukotrienes in the pathogenesis of endotoxemia and sepsis. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 200: 1842–1848, 1992.
- 88.** GREEN E. M, ADAMS HR. New perspectives in circulatory shock: Pathophysiologic mediators of the mammalian response to endotoxemia and sepsis. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 200, 1834–1841, 1992.
- 89.** GAINI S, KOLDKJAER OG, MOLLER HJ, PEDERSEN C, PEDERSEN SS. A comparison of high-mobility group-box 1 protein, lipopolysaccharide-binding protein and procalcitonin in severe community-acquired infections and bacteraemia: a prospective study. *Critical Care*, 11(4): 76, 2007.
- 90.** ERLANDSSON HH, ANDERSSON U. Mini-review: The nuclear protein HMGB1 as a proinflammatory mediator . *European Journal of Immunology*, 34(6): 1503-12, 2004.
- 91.** DAS UN. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. *Medical Science Monitor*, 2007.
- 92.** FEINGOLD KR, MEMON RA, MOSER AH, GRUNFELD C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis*, 139: 307-315, 1998.
- 93.** RAO AA, SRIDHAR GR, DAS UN. Elevated butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Medical Hypotheses*, 69(6): 1272-6, 2007.
- 94.** NOVAK F, VAVROVA L, KODYDKOVA J, NOVAK FS, HYNKOVA M, ZAK A, NOVAKOVA O. Decreased paraoxonase activity in critically ill patients with sepsis. *Clinical and Experimental Medicine*, 10, 21-25, 2010.
- 95.** DRAGANOV D, TEIBER J, WATSON C., BISGAIER C, NEMZEK J, REMICK D, STANDIFORD T, La DU B. PON1 and Oxidative Stress in Human Sepsis and an Animal Model of Sepsis, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 660: 89-97, 2010.
- 96.** OFEK K, KRABBE KS, EVRON T, DEBECCO M, NIELSEN AR, et al.

- Cholinergic status modulations in human volunteers under acute inflammation. *Journal of Molecular Medicine*, 85: 1239-1251, 2007.
97. SRAMEK JJ, CUTLER NR. RBC Cholinesterase Inhibition: A Useful Surrogate Marker for Cholinesterase Inhibitor Activity in Alzheimer Disease Therapy?. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 14(4): 216–227, 2000.
98. CHATONNET A, LOCKRIDGE O. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Journal of Biochemistry*, 260: 625-634, 1989.
99. ERALP O, YILMAZ Z, FAILING K, MORITZ A, BAUER N. Effect of experimental endotoxemia on thrombelastography parameters, secondary and tertiary hemostasis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(3): 524-31, 2011.
100. GÜNZEL-APEL AR, HAYER M, MISCHKE R, WIRTH W, HOPPEN HO. Dynamics of haemostasis during the oestrous cycle and pregnancy in bitches. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 51: 185-93, 1997.
101. ULUTAS PA, MUSAL B, KIRAL F, BILDIK A. Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches, *Research in Veterinary Science*, 86(3): 373-376, 2009.
102. CERON JJ, MARTINEZ-SUBIELA S. An automated spectrophotometric method for measuring canine ceruloplasmin in serum. *Veterinary Research*, 35: 671-679, 2004.
103. MARTINEZ-SUBIELA S, CERON JJ. Analytical validation of commercial assays for haptoglobin, C-reactive protein and serum amyloid in dogs. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 37: 61-66, 2005.
104. TECLES F, MARTINEZ-SUBIELA S, BERNAL LJ, CERON JJ. Use of whole blood for spectrophotometric determination of cholinesterase activity in dogs. *The Veterinary Journal*, 160: 242-249, 2000.
105. YU DH, NHO DH, SONG RH, KIM SH, LEE MJ, NEMZEK JA, PARK J. High-mobility group box 1 as a surrogate prognostic marker in dogs with systemic inflammatory response syndrome, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(3): 298-302, 2010.
106. BOON JA. *Manual of Veterinary Echocardiography*, First Edition, Lippcott Williams & Wilkins, USA, page: 35-260, 1998.
107. BATMAZ H, YILMAZ Z, TOPAL A, GOEGUL OS, SENTURK S. Effects of hypertonic sodium chloride, hypertonic sodium chloride plus sodium bicarbonate

- and hypertonic sodium chloride plus ringer's lactate solution in the treatment of dogs with experimentally induced endotoxaemia. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 27: 339-347, 2003.
- 108.** AIRD WC. The Hematologic System as a Marker of Organ Dysfunction in Sepsis. *Mayo Clinic Proceedings*, 78: 869-881, 2003.
- 109.** YILMAZ Z, ERALP O, ILCOL YO. Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(2): 159-63, 2008.
- 110.** HARDIE EM, RAWLINGS CA, SHOTS EM, WALTMAN DW, RAKICH PM. Lidocaine treatment of dogs with *Escherichia coli* septicaemia. *American Journal of Veterinary Research*, 49: 77-81, 1988.
- 111.** YILMAZ Z. The effects of dobutamine, flunixin meglumine, methylprednisolone and enalapril in dogs with experimentally-induced septic shock. *Uludag University Journal of Faculty of Veterinary Medicine*, 19: 1-7, 2000.
- 112.** WARD NS, CASSERLY B, AYALA A. The compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients. *Clinics in Chest Medicine*, 29(4): 617-25, 2008.
- 113.** BONE RC, NEWTON SI. Sepsis, SIRS, and CARS. *Critical Care Medicine*, 24(7): 1125-8, 1996.
- 114.** YILMAZ Z, SENTURK S. Characterisation of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Small Animal Practice*, 48(11): 643-650, 2007.
- 115.** OStanin AA, LEPLINA OY, SHEVELA CY, KOZHEVNIKOV VS, CHERNYKH HR. Inflammatory Syndromes (SIRS, MARS, CARS) in Patients with Surgical Infection. *Russian Journal of Immunology*, 5(3): 289-300, 2000.
- 116.** HOFFMAN JN, FERTMANN JM, VOLLMAR B, LASCHKE MW, JAUCH KW, MENGER MD. Immunoglobulin M-enriched human intravenous immunoglobulins reduce leukocyte-endothelial cell interactions and attenuate microvascular perfusion failure in normotensive endotoxemia. *Shock*, 29(1): 133-9, 2008.
- 117.** BATMAZ H. Effects of isotonic, hypertonic and hypertonic + isotonic sodium chloride solutions in dogs with endotoxemia. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5(1-2-3): 113-127, 1996.
- 118.** ILCOL YO, GURUN MS, TAGA Y, ULUS IH. Intraperitoneal administration of

- choline increases serum glucose in rat: involvement of the sympatho-adrenal system. *Hormone and Metabolic Research*, 34: 341-347, 2002.
- 119.** ILCOL YO, CANSEV M, YILMAZ MS, HAMURTEKIN E, ULUS IH. Intraperitoneal administration of CDP-choline and its cholinergic and pyrimidinergic metabolites induce hyperglycemia in rats: involvement of the sympathoadrenal system. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 113: 186-201, 2007.
- 120.** JILMA B, BLANN A, PERNERSTORFER T, et al. Regulation of Adhesion molecules during human endotoxemia, no acute effects of aspirin. *American Journal of Respiration and Critical Care Medicine*, 159/3: 857- 863, 1999.
- 121.** AL-KASSAB AS, VIJAYAKUMAR E. Profile of serum cholinesterase in systemic sepsis syndrome (septic shock) in intensive care unit patients. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 1: 11-14, 1995.
- 122.** BLANCEIL Y, DELAROCHE O. Diminution de l'activité de la cholinestérase plasmatique au cours des infections bactériennes sévères: comparaison avec celle observée en cas de cirrhose grave. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation*, 15: 220-222, 1996.
- 123.** TRACEY KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 420: 853-859, 2002.
- 124.** ROSAS-BALLINA M, TRACEY KJ. Cholinergic control of inflammation. *Journal of Internal Medicine*, 265: 663-679, 2009.
- 125.** ZAKUT H, ZAMIR R, SINDEL L, SOREQ H. Gene mapping on chorionic villi chromosomes by hybridization in situ: localization of cholinesterase cDNA binding sites to chromosomes 3q21, 3q26-ter and 16q21. *Human Reproduction*, 4(8): 941-6, 1989.
- 126.** NYSTROM ML, BARRADAS MA, JEREMY JY, MIKHAILIDIS DP. Platelet shape change in whole blood: differential effects of endotoxin. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 71: 646-650, 1994.
- 127.** DURHAM SK, BROUWER A, BARELS RJ, et al. Comparative endotoxin-induced hepatic injury in young and aged rats. *Journal of Pathology*, 162: 341-349, 1990.
- 128.** CRONER RS, HOERER E, KULU Y, et al. Hepatic platelet and leukocyte adherence during endotoxemia. *Critical Care*, 10: 1-6, 2006.
- 129.** HACKNER SG. Approach to the diagnosis of bleeding disorders. *The Continuing Medical Education*, 17: 331-351, 1995.

130. RAND ML, ROLAND L, MARIAN AP. Platelet function assays. *Transfusion and Apheresis Science*, 28: 307–317, 2003.
131. HOMONICK M, BLANN AD, HOLLENSTAIN U, PERNERSTORFER T, EICHLER H, JILMAZ B. Systemic inflammation increases shear stress-induced platelet plug formation measured by the PFA-100. *British Journal of Haematology*, 111: 1250–1252, 2000.
132. BUNE LT, THANING P, JOHANSSON PI, BOCHSEN L, ROSENMEIER J.B. Effects of nucleotides and nucleosides on coagulation. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 21(5): 436-41, 2000.
133. CHAVEZ JJ, FOLEY DE, SNIDER CC, HOWELL JC, COHEN E, MUENCHEN RA, CARROLL RC, A Novel thrombelastograph® tissue factor/kaolin assay of activated clotting times for monitoring heparin anticoagulation during cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology and Analgesia*, 99: 5, 1290-1294, 2004.
134. LEVI M. Current understanding of disseminated intravascular coagulation. *British Journal Haematology*, 124(5): 567-576, 2004.
135. LEVI M, MEIJERS JC. DIC: which laboratory tests are most useful, *Blood Reviews*, 25(1): 33-7, 2011.
136. SCHÖCHL H, SOLOMON C, SCHULZ A, VOELCKEL W, HANKE A, Van GRIENSVEN M, REDL H, BAHRAMI S. Thromboelastometry (TEM) findings in disseminated intravascular coagulation in a pig model of endotoxemia. *Molecular Medicine Reports*, 17(3-4): 266-72, 2011.
137. BISOENDIAL RJ, KASTELEIN JJ, LEVELS JH, ZWAGINGA JJ, van den BOGAARD B, REITSMA PH, MEIJERS JC, HARTMAN D, LEVI M, STROES ES. Activation of inflammation and coagulation after infusion of C-reactive protein in humans. *Circulation Research*, 15; 96(7): 714-6, 2005.
138. SCHAFFER K, KONSTANTINIDES S. Adipokines and Thrombosis. *Clinical Experimental Pharmacology Physiology*, 38(12): 864-71, 2011.
139. GREMMEL T, AY C, SEIDINGER D, PABINGER I, PANZER S, KOPPENSTEINER R. Soluble p-selectin, D-dimer, and high-sensitivity C-reactive protein after acute deep vein thrombosis of the lower limb. *Journal of Vascular Surgery*, 2011. (in press)
140. HARRIS HW, GOSNELL JE, KUMWENDA ZL. The lipemia of sepsis: triglyceride-rich lipoproteins as agents of innate immunity. *Journal of Endotoxin*

- Reseach, 6: 421-430, 2001.
141. WU A, HINDS CJ, THIERMERMANN C. High-density lipoproteins in sepsis and septic shock: metabolism, actions, and therapeutic applications. *Shock*. 21: 210-221, 2004.
 142. ROCHE M, RONDEAU P, SINGH NR, TARNUS E, BOURDON E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lettters*, 582(13): 1783-7, 2008.
 143. JAMES RW, DEAKIN SP. The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity. *Free Radical Biology & Medicine*, 37: 1986-1994, 2004.
 144. TVARIJONAVICIUTE A, KOCATURK M, CANSEV M, TECLES F, CERON JJ, YILMAZ Z. Serum butyrylcholinesterase and paraoxonase 1 in a canine model of endotoxemia: Effects of choline administration. *Research in Veterinary Science*, in press, DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.09.010, 2011.
 145. VYROUBAL P, CHOARLA C, GIOVANNI I, HYSER R, TICHA A, HRNCIARIKOVA D, ZADAK Z. Hypocholesterolemia in clinically serious conditions--review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Republic*, 152(2): 181-189, 2008.
 146. SUNDÉN-CULLBERG J, NORRBY-TEGLUND A, ROUHIAINEN A, RAUVALA H, HERMAN G, TRACEY KJ, LEE ML, ANDERSSON J, TOKICS L, TREUTIGER CJ. Persistent elevation of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock. *Critical Care Medicine*, 33(3): 564-73, 2005.
 147. SHIMAOKA M, PARK EJ. Advances in understanding sepsis. *European Journal of Anaesthesiology Supplement*, 42: 146-53, 2008.
 148. WANG H, YANG H, CZURA CJ, SAMA AE, TRACEY KJ. HMGB1 as a late mediator of lethal systemic inflammation. *American Journal Of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164 (10 Pt 1): 1768-1773, 2001.
 149. WANG H, LIAO H, OCHANI M, JUSTINIANI M, LIN X, YANG L, AL-ABED Y, WANG H, METZ C, MILLER EJ, TRACEY KJ, ULLOA L. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nature Medicine*, 10(11): 1216-1221, 2004.
 150. COHEN MJ, BROHI K, CALFEE CS, RAHN P, CHEHEBRO BB, CHRISTIAANS SC, CARLES M, HOWARD M, PITTET JF. Early release of high mobility group box nuclear protein 1 after severe trauma in humans: role of

- injury severity and tissue hypoperfusion. *Critical Care*, 13(6): 174, 2009.
- 151.** HOU LC, QIN MZ, ZHENG LN, LU Y, WANG Q, PENG DR, YU XP, XIN YC, JI GL, XIONG LZ. Severity of sepsis is correlated with the elevation of serum high-mobility group box 1 in rats. *Chinese Medical Journal (English)*, 122(4): 449-54, 2009.
- 152.** KAWAHARA K, SETOYAMA K, KIKUCHI K, BISWAS KK, KAMIMURA R, IWATA M, ITO T, MORIMOTO Y, HASHGUCHI T, TAKAO S, MARUYAMA I. HMGB1 release in co-cultures of porcine endothelial and human T cells. *Xenotransplantation*, 14(6): 636-41, 2007.
- 153.** ITO T, KAWAHARA K, NAKAMURA T, YAMADA S, NAKAMURA T, ABEYAMA K, et al. High-mobility group box 1 protein promotes development of microvascular thrombosis in rats. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5(1): 109-16, 2007.
- 154.** CROUSER ED. Mitochondrial dysfunction in septic shock and multiple organ dysfunction syndrome. *Mitochondrion*, 4: 729-741, 2004.
- 155.** ROSSI MA, CELES MRN, PRADO CM, SAGGIORO FP. Myocardial structural changes in long-term human severe sepsis/septic shock may be responsible for cardiac dysfunction. *Shock*, 27(1): 10-18, 2007.
- 156.** MINNECI PC, DEANS KJ, HANSEN B, PARENT C, ROMINES C, GONZALES DA et al. A canine model of septic shock: balancing animal welfare and scientific relevance. *American Journal Physiology Heart Circulation Physiology*, 293(4): 2487-2500, 2007.
- 157.** WERDAN K, SCHMIDT H, EBELT H, ZORN-PAULY K, KOIDL B, HOKE RS, HEINROTH K, MULLER-WERDAN U. Impaired regulation of cardiac function in sepsis, SIRS, and MODS. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 87: 266-274, 2009.
- 158.** CHOPRA M, SHARMA AC. Distinct cardiodynamic and molecular characteristics during early and late stages of sepsis-induced myocardial dysfunction. *Life Sciences*, 81: 306-316, 2007.
- 159.** YILMAZ Z, BATMAZ H, SENTURK S. Evaluation of electrocardiography in treatment with dobutamine in dogs with experimentally-induced septic shock. *The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine University of Uludag*, 16: 29-37, 1997.
- 160.** PIEPOLI M, GARRARD Ch. S, KONTOYANNIS DA, BERNARDI L.

- Autonomic control of the heart and peripheral vessels in human septic shock. *Intensive Care Medicine*, 21(2), 112-119, 1995.
161. KOCATURK M, MARTINEZ S, ERALP O, TVARIJONAVICIUTE A, CERON J, YILMAZ Z. Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Small Animal Practice*, 51: 478-483, 2010.
 162. MARTINEZ JD, BABU RV, SHARMA G. Escherichia coli septic shock masquerading as ST-segment elevation myocardial infarction, 121(2): 102-5, 2009.
 163. RICH MM, McGARVEY ML, TEENER JW, FRAME LH. ECG Changes during Septic Shock. *Cardiology*, 97: 187-196, 2002.
 164. FAIRCHILD KD, SRINIVASAN V, MOORMAN JR, GAYKEMA RP, GOEHLER LE. Pathogen-induced heart rate changes associated with cholinergic nervous system activation. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 300(2): 330-9, 2011.
 165. STENGL M, SYKORA R, KROUZECKY A, CHVOJKA J, NOVAK I, VARNEROVA V, KUNCOVA J, NALOS L, et al. Continuous hemofiltration in pigs with hyperdynamic septic shock affects cardiac repolarization. *Critical Care Medicine*, 36(12): 3198-204, 2008.
 166. IWASE M, YOKOTA M, KITACHI K, WANG L, TAKAGI K, NAGASAKA T, IZAWA H, HASEGAWA T. Cardiac functional and structural alterations induced by endotoxin in rats: importance of platelet-activating factor, 29(3): 609-17, 2001.
 167. KITTLESON MD, KIENLE RD. *Small Animal Cardiovascular Medicine*. St-Louis, Mosby, page: 347-361, 1998.
 168. HASSAN S, TURNER P. Systolic time intervals: a review of the method in the non-invasive investigation of cardiac function in health, disease and clinical pharmacology. *Postgraduation Medical Journal*, 59: 423- 434, 1983.
 169. GÜRKAN ÖU, ÇOBANLI B. Sepsis ve Septik Şok. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 52: 1, 41-44, 1999.
 170. YOUNG JD. The heart and circulation in severe sepsis. *British journal of anaesthesia*, 93/1: 111-120, 2004.
 171. JIANHI L, ROSENBLATT-VELIN N, LOUKILI N. Endotoxin impairs cardiac hemodynamics by affecting loading conditions but not by reducing cardiac inotropism. *American Journal of Physiology- Heart and Circulation Physiology*, 299: H492-H501, 2001.
 172. KOBER PM, THOMAS Jr JX, FILKINS JP. Glucose clamping and

- cardiovascular function in endotoxic dogs. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 249(5): R578-R583, 1985 .
173. ARTUCIO H, DIGENIO A, PEREYRA M. Left ventricular function during sepsis. *Critical Care Medicine*, 17(4): 323-7, 1989.
174. TIMURALP B. Sol ventrikül performansının noninvazif sistolik zaman intervalleri yolu ile incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Tıp Bülteni*, 1: 109- 112, 1977.
175. FENTON KE, SABLE CA, BELL MJ, PATEL KM, BERGER JT. Increases in serum levels of troponin I are associated with cardiac dysfunction and disease severity in pediatric patients with septic shock. *Pediatric Critical Care Medicine*, 5(6): 533-538, 2004.
176. KUMAR A, BUNNELL E, LYNN M. et al. Experimental human endotoxemia is associated with depression of load-independent contractilityIndices*Prevention by the Lipid A analogue E5531. *CHEST*, 126(3): 860-867, 2004.
177. LANDESBURG G, DAN GD, MEROZ Y, et al. Diastolic dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock. *European Heart Journal*, 2011.
178. SOUSA MG, CARARETO R, DE-NARDI AB, BRITO FLC, NUNES N, CAMACHO AA. Effects of isoflurane on Tei-index of myocardial performance in healthy dogs. *Canadian Veterinary Journal*, 48: 277–282, 2007.
179. ULUÇAY A, TATLI E. Myocardial performance index. *Anadolu Kardiyol Dergisi*, 8(2): 143-8, 2008.
180. ABDEL-HADY HE, MATTER MK, EL-ARMAN MM. Myocardial dysfunction in neonatal sepsis: A tissue Doppler imaging study. *Pediatric Critical Care Medicine*, 2011. (in press)
181. IBETH TRY, LUIS GBJ, FRANCIZKO CZC, CESAR ML, EDUARDO VR. Índice de funcionamiento miocárdico global con ecocardiografía Doppler en pacientes con sepsis. *Revista Mexicana de Cardiología*, 16: 60–64, 2005.
182. LAVINE SJ. Effect of changes in contractility on the index of myocardial performance in the dysfunctional left ventricle. *Cardiovascular Ultrasound*, 4:45, 2006.
183. RAMANA KV, WILLIS MS, WHITE MD, HORTON JW, DIMAIO JM, SRIVASTA D, et al. Endotoxin-Induced Cardiomyopathy and Systemic Inflammation in Mice Is Prevented by Aldose Reductase Inhibition. *Circulation*, 114: 1838-1846, 2006.

184. WALKER DB. Serum Chemical Biomarkers of Cardiac Injury for Nonclinical Safety Testing. *Toxicologic Pathology*, 34: 94–104, 2006.
185. O'BRIEN PJ. Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. *Toxicology*, 245: 206–218, 2008.
186. MEHTA NJ, KHAN IA, GUPTA V, JANI K, GOWDA RM, SMITH PR. Cardiac troponin I predicts myocardial dysfunction and adverse outcome in septic shock. *International Journal of Cardiology*, 95(1): 13-17, 2004.
187. YILMAZ Z, ERALP O, KOCATURK M, CERON JJ. Köpeklerde farklı doz LPS uygulamalarının serum AFP ve kardiyak biyobelirteçlerin üzerine etkileri (yazım aşamasında olan makale).
188. KURABAYASHI M. Role of magnesium in cardiac metabolism. *Clinical Calcium*, 15(11): 77-83, 2005.
189. SHECHTER M. Magnesium and cardiovascular system. *Magnesium Research*, 23(2): 60-72, 2010.
190. GRIEL LC, ZARKOWER A, EBERHART RJ. Clinical and Clinico-pathological Effects of Escherichia coli Endotoxin in Mature Cattle. *Canadian Journal of Comperative Medicine*, 39: 1-6, 1975.
191. HERMAN EH, MHATRE RM, COONEY DA, LEE IP. A Comparison of Some Pharmacological Effects of Escherichia coli (E. coli) L-Asparaginase and E. coli Endotoxin in Rabbits. *Pharmacology*, 9: 85-96, 1973.
192. ALTURA BM, ATURA BT. Role of magnesium in patho-physiological processes and the clinical utility of magnesium ion selective electrodes. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplement*, 224: 211-234, 1996.
193. PAVLOV VA, TRACEY KJ. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*, 19: 493–499, 2005.
194. ILCOL YO, GURUN MS, TAGA Y, UUS IH. Intraperitoneal administration of choline increases serum glucose in rat: involvement of the sympatho-adrenal system. *Hormone and Metabolic Research*, 34: 341-347, 2002.
195. CANSEV M, YILMAZ MS, ILCOL YO, HAMURTEKIN E, ULUS IH. Cardiovascular effects of CDP-choline and its metabolites: involvement of peripheral autonomic nervous system. *European Journal of Pharmacology*, 577 (1-3): 129-42, 2007.

- 196.** ISBIL-BUYUKCOSKUN N, ILCOL YO, CANSEV M, HAMURTEKIN E, OZLUK K, ULUS IH. Central choline suppresses plasma renin response to graded haemorrhage in rats. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 35(9): 1023-31, 2008.
- 197.** KAWASHIMA K, FUJII T. Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes. *Pharmacology and Therapeutics*, 86: 29–48, 2000.
- 198.** DOWNING JEG, MIYAN JA. Neurol immunoregulation: emerging roles for nerves in immune homeostasis and disease. *Immunology of Today*, 21: 281–289, 2000.
- 199.** ULUS IH, MILLINGTON WR, BUYUKUYSAL RF, KIRAN BK. Choline as an agonist: determination of its agonistic potency on cholinergic receptors. *Journal of Biochemistry and Pharmacology*, 15: 2747–2755, 1988.
- 200.** SAGER DS, JASIN HE. Bacterial lipopolysaccharide-induced immunoglobulin synthesis by human blood lymphocytes partially depleted of monocytes. *Clinical Experimental Immunology*, 47: 645-652, 1982.
- 201.** MENG S, WANG LS, HUANG ZQ, et al. Berberine ameliorates inflammation in patients with acute coronary syndrome following percutaneous coronary intervention, *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 2012. (in press)

TEŞEKKÜR

Danışman hocam Prof. Dr. Zeki YILMAZ olmak üzere, tez izleme komitesindeki hocalarıma (Ebru YALÇIN / U.Ü. Veteriner Fakültesi – İç Hastalıkları A.D., Mehmet CANSEV / U.Ü. Tıp Fakültesi – Farmakoloji A.D.); çalışmanın gerçekleştirilme aşamasında yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım ve proje ekibime teşekkürlerimi sunarım. Bu projede serum örneklerinde kardiyak biyobelirteçleri ve immunglobulinlerin belirlenmesine yönelik bilimsel plan ve bütçe olmamasına rağmen, ölçümler meslektaşımız Dr. Jose Ceron'un (Murcia univ. – Spain) katkıları ile gerçekleştirilmiştir. Projenin hayata geçirilmesinde maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a (TOVAG-109O660); projenin planlanması, yürütülmesi ve olası sorunların çözümlenmesine katkı sağlayan, Emekli olduğu döneme kadar tez izleme komitesinin üyesi olan Prof. Dr. Nilüfer AYTUĞ'a ve şu an akademik çalışmalarını farklı bir kurumda devam ettirmesine rağmen çalışmanın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle katkı sağlayan Prof. Dr. İsmail Hakkı ULUS hocama teşekkürü bir borç bilirim. Son olarak, bana eğitim hayatım boyunca gönülden destek veren değerli aileme ve dostlarıma sonsuz minnettarlığımı sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

26.10.1984 yılında Bursa'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Bursa'da tamamladıktan sonra, 2002 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesine kayıt oldum. Öğrenciliğimin 8. yarısında zorunlu yaz stajımı DAAD bursu ile Justus-Liebig Üniversitesi (Giessen-Almanya) Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Küçük Hayvan Kliniği'nde yaptım. Dokuzuncu yarıyılı ERASMUS bursu ile yine Justus-Liebig Üniversitesi (Giessen-Almanya) Veteriner Fakültesi'nde tamamladım. U.Ü.Veteriner Fakültesindeki eğitimimi ikincilik ünvanı ile tamamladıktan sonra, 2008 yılının bahar yarısında aynı fakültenin İç Hastalıkları Anabilim Dalı doktora programına başladım. Kardiyoloji ile ilgili birikimimi arttırmak üzere 2 ay süre ile Kopenhag Üniversitesi Veteriner Fakültesi Kardiyoloji Bölümü'nde bulundum. Ocak 2009 tarihinde araştırma görevlisi kadrosuna atandım, halen görevime devam etmekteyim.