

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SEPTİK ŞOK MODELİ OLUŞTURULAN
RATLARDA ERİTROPOETİNİN ETKİSİ**

Dr. Serdar ÖTER

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2011**

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SEPTİK ŞOK MODELİ OLUŞTURULAN
RATLARDA ERİTROPOETİNİN ETKİSİ**

Dr. Serdar ÖTER

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Adnan ŞAHİN**

**ESKİŞEHİR
2011**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Serdar ÖTER'e ait "Deneysel Septik Şok Modeli Oluşturulan Ratlarda Eritropoetinin Etkisi" isimli çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 07.10.2011

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Adnan ŞAHİN
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Bekir YAŞAR
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Tarık ÇAĞA
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
...../...../.....Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Necmi ATA
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında almış olduğum uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan ve tezimin hazırlanmasında yardımlarını benden esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Adnan ŞAHİN' e teşekkür eder, sonsuz saygılarımı sunarım. Bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren ve eğitimimde büyük emekleri olan sayın hocalarım Prof. Dr. Bekir YAŞAR, Prof. Dr. Ercüment PAŞAOĞLU, Prof. Dr. Tarık ÇAĞA, Prof. Dr. Enver İHTİYAR, Prof. Dr. Serdar ERKASAP ve Prof. Dr. Ersin ATEŞ' e teşekkür eder, sonsuz saygılarımı sunarım. Ayrıca tez çalışmamda yardım ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Kubilay UZUNER, Yrd. Doç. Dr. Emine SÜTKEN, Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU ve istatistiksel değerlendirmeleri yapan Arş. Gör. Özge BOLLUK' a içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Öter, S. Deneysel Septik Şok Modeli Oluşturulan Ratlarda Eritropoetin' in Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011. Deneysel septik şok modeli oluşturulan ratlarda eritropoetin'in hepatik ve renal fonksiyonlar, renal perfüzyon ve klinik bulgular üzerine olan etkisini incelemek amacıyla cinsiyet farkı gözlemlenmeden 24 adet Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. 8'er adet rattan oluşan sham grubu, kontrol grubu ve septik şok + eritropoetin (tedavi) grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Tüm ratlara femoral ven ve femoral arter kateterizasyonu uygulandı. Sham grubundaki ratlara kateterizasyon ve mesane kanülasyonu uygulandı. Kontrol grubundaki ratlara laparotomi + çekal ligasyon perforasyon + kateterizasyon + mesane kanülasyonu uygulandı. Tedavi grubuna da laparotomi + çekal ligasyon perforasyon + kateterizasyon + mesane kanülasyonu uygulandı. Tedavi grubundaki ratlara çekal ligasyon-perforasyon işleminden 60 dk sonra subkutan yüksek doz (4000 IU/kg) eritropoetin uygulandı. Postoperatif septik yanıtlar için on dördüncü saatten itibaren ratlar yakın tansiyon, taşikardi ve ateş takibine alındı. Ratlara yoğun volüm replasmanı uygulandı. İdrar takipleri deney başlangıcından itibaren 24 saat boyunca idrar toplanarak uygulandı. Sonuç olarak eritropoetin verilen tedavi grubunda diğer gruplara göre renal ve hepatik fonksiyonlarda, doku ve kan MDA düzeylerinde, laboratuvar ve klinik bulgularında, karaciğer ve böbrek dokularından alınan örneklerin histolojik bulgularında anlamlı iyileşmeler olduğu görüldü. İdrar takipleri, toplanan idrar miktarları ve kreatinin klerenslerinde anlamlı derecede düzelme olduğu görüldü. Septik şok destek tedavisinde diğer ajanlarla birlikte eritropoetin'in yeni nesil bir ajan olarak kullanılabilmesi düşüncesindeyiz

Anahtar Kelimeler: Eritropoetin, septik şok, rat, MDA

ABSTRACT

Öter, S. Effect of Erythropoietin in Experimental Septik Shock Model in Rats. Eskisehir Osmangazi University Medicine, Faculty Department of General Surgery, Medical Specialty Thesis, Eskisehir, 2011. To examine the effects of erythropoietin on hepatic and renal functions, renal perfusion and clinical findings in rats that induced septic shock, 24 Sprague Dawley rats were used. The rats were divided into 3 groups each consisting of 8 rats, which were not discriminated sexually. The groups were sham, control group and septic shock induced + erythropoietin administered group. In all rats, femoral veins and arteries were catheterized for invasive monitorization, drug injection, taking blood samples and fluid treatment. Also in all rats urinary bladders are canulated. In sham group catheterization and urinary bladder canulation were performed. In control group laparotomy+to establish septic shock ceacal ligation and perforation+catheterization + urinary bladder canulation were performed. In septic shock induced+erythropoietin administered (treatment) group laparotomy + to establish septic shock ceacal ligation and perforation + catheterization + urinary bladder canulation were performed. High dose erythropoietin (4000 IU/kg) subcutaneously administered to the rats in treatment group 60 minutes after the ceacal ligation and perforation. Rats were followed with intervals of 5 minutes (for arterial tension, tachycardia, fever) 14 hours after the operations. Volume replacement was administered to the rats. Urinary output was followed by collecting urine for 24 hours just after the beginning of experiment. As a result renal and hepatic functions, tissue and MDA levels, laboratory and clinical findings , histological findings of the renal and hepatic biopsies were better significantly in treatment group. Also in the erythropoietin administered group arterial tension levels, amount of urine and level of creatinin clearance compared to the control group were increased significantly. Consequently, we believe that erythropoietin may be used as a new age agent in septic shock.

Key Words: Erythropoietin, Septic shock, Rat , MDA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sepsis ve Septik Şok	3
2.1.1. Sepsis ile İlgili Tanımlar	3
2.1.2. Epidemiyoloji	8
2.1.3. Etiyoloji	10
2.1.4. Sepsis Fizyopatolojisi	10
2.1.5. Klinik Belirti ve Bulgular	16
2.1.6. Prognoz	18
2.1.7. Tedavi	18
2.2. Nitrik Oksit	24
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri	25
2.4. Endojen Antioksidanlar	28
2.5. Eritropoetin	29
2.5.1. Yapısı ve Fizyokimyasal Özellikleri	29
2.5.2. Yapım Yeri ve Etki Mekanizması	29
2.5.3. Eritropoetin Reseptörleri	31
2.5.4. EPO Farmakokinetiği ve Metabolizması	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	34
3.1. Hayvanlar ve Diyet	34
3.2. Deneysel Protokol	34

	Sayfa
3.2.1. Serum ve Dokuda MDA Ölçümü	36
3.2.2. Histolojik Yöntemler	36
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	37
4. BULGULAR	38
4.1. Hematolojik Sonuçlar	38
4.2. Hemodinamik Sonuçlar	42
4.3. Renal ve Hepatik Fonksiyonlar, Doku ve Serum MDA Düzeyleri	48
4.4. Kan Gazı Sonuçları	52
4.5. Histolojik Bulgular	54
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	Alanin Aminotransferaz
aPTT	Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
ARDS	Akut Solunum Yetmezliği Sendromu
AST	Aspartat Aminotransferaz
BEA	Baz açığı (arteryel)
BEV	Baz açığı (venöz)
BFU-E	Küme şekillendiren eritroid ünitesi
BH4	Tetra hidrobiopterin B
BUN	Kan Üre Azotu
Ca	Kalsiyum
CA	Amoksisilin+Klavulanik Asit
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CFU-E	Koloni şekillendiren eritroid ünitesi
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
cNOS	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
Cr	Kreatinin
CRP	C Reaktif Protein
CVP	Santral Venöz Basınç
ÇLP	Çekal Ligasyon Perforasyon
DIC	Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma
EDRF	Endotelden Salınan Gevşetici Faktör
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
EPO	Eritropoetin
FiO ₂	İnspratuvar Oksijen Fraksiyonu
FMN	Flavin Mononükleotid
GM-CSF	Granülosit-Monosit Koloni Stimulan Faktör
GSH	Redükte Glutatyon
HB	Hemoglobin
HCO ₃ A	Arteryel Bikarbonat
HCO ₃ V	Venöz Bikarbonat

HE	Hematoksilen Eozin
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksid
HTC	Hematokrit
ICAM	Hücre İçi Adezyon Molekülü
IFN- γ	Interferon- γ
IL	İnterlökin
IL-1Ra	İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
İP	İntraperitoneal
İÜ	İnternasyonal Ünite
İV	İntravenöz
KBY	Kronik Böbrek Yetmezliği
kDA	Kilo Dalton
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LPS	Lipopolisakkarit
LBP	Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein
MDA	Malondialdehit
MDAPL	Malondialdehit Plazma
MODS	Multipl Organ Disfonksiyonu
M.Ö.	Milattan Önce
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NK	Doğal Öldürücü Hücreler
NO	Nitrik Oksit
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO ₂	Azot Dioksit
O ₂ ⁻	Süperoksid Radikali
OAB	Ortalama Arteriyel Sistolik Basınç
ODB	Ortalama Diastolik Basınç
OH-	Hidroksil Radikali
ONBZH	Ortalama Nabız Hızı
PAO ₂	Parsiyel Oksijen Basıncı
PAF	Plazminojen Aktivatör Faktör

PARS	Poli-ADP Riboz Sentaz
PCO2	Parsiyel Karbondioksit Basıncı
PDGF	Trombositten Açığa Çıkan Büyüme Faktörü
PEEP	Pozitif Ekspiryum Sonu Basınç
PGE2	Prostaglandin E2
PGI2	Prostasiklin I2
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
PLT	Platelet
PW	Pulmoner Kama Basıncı
r-hEPO	Rekombinant İnsan Eritropoetini
SA	Sulbaktam+Ampisilin
SC	Subkutan
SIRS	Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SOD	Süperoksid Dismutaz
sTNFr	Çözünebilir TNF Reseptör
SVO ₂	Mikst Venöz Oksijen Saturasyonu
TA	Tansiyon
TGF- β :	Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör α
TSST-1	Toksik Şok Sendromu Toksini 1
VCAM	Damar Hücresi Adezyon Molekülü
WBC	Lökosit
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi

ŞEKİLLER

	Sayfa
4.1. Başlangıç hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi.	39
4.2. Başlangıç hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi.	39
4.3. Başlangıç hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi.	40
4.4. Başlangıçtaki ve çalışma sonundaki hemogram (HB1, HTC1) ateş değerlerinin grafiksel gösterimi.	41
4.5. Başlangıç ve çalışma sonundaki WBC1, WBC2, PLT1, PLT2 değerlerinin grafiksel gösterimi.	42
4.6. Başlangıç ve çalışma sonundaki hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi.	42
4.7. Ortalama arteriyel sistolik basınçların gruptaki seyri.	44
4.8. Ortalama arteriyel sistolik basınçların grafiksel gösterimi.	44
4.9. Ortalama diastolik basınçların gruplara göre dağılımı.	46
4.10. Ortalama Diastolik Basınçların Grafiksel Gösterimi.	47
4.11. Renal ve Hepatik Fonksiyonların Gruptaki Seyri.	51
4.12. Renal ve Hepatik Fonksiyonlarının Grafiksel Gösterimi.	51
4.13. Renal Fonksiyonların ve MDA Düzeylerinin Gruptaki Seyri.	52
4.14. Renal Fonksiyonların ve MDA Düzeylerinin Grafiksel Gösterimi.	52
4.15. Sham grubu böbrek dokusu.	58
4.16. Kontrol grubu böbrek dokusu.	59
4.17. Tedavi grubu böbrek dokusu.	60
4.18. Sham grubu karaciğer dokusu.	61
4.19. Kontrol grubu karaciğer dokusu.	61
4.20. Tedavi grubu karaciğer dokusu.	62

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. Sepsis tanı kriterleri.	5
2.2. Konak savunma mekanizmaları ve bunları bozan durumlar.	11
2.3. Virülans faktörleri.	12
2.4. Endojen mediyatörler.	14
2.5. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler.	15
2.6. Sepsiste en sık görülen klinik belirti, bulgular ve komplikasyonlar.	17
2.7. Hastane dışı sepsis kaynakları.	21
2.8. Hastane İçi Sepsis Kaynakları.	22
4.1. Deney başlangıcındaki Hemogram ve Ateş değerleri.	38
4.2. Deney sonunda hemogram ve ateş değerleri.	41
4.3. Ortalama arteryel sistolik basınçların gruptaki seyri.	43
4.4. Ortalama diastolik basınçların gruptaki seyri.	45
4.5. Ortalama nabız hızlarının gruptaki seyri.	48
4.6. Gruptaki renal ve hepatik fonksiyonların, doku ve plazma MDA değerlerinin seyri.	42
4.7. Başlangıç ve çalışma sonundaki arter ve venöz kan gazı değerleri.	53
4.8. Çalışma sonunda ratlardan alınan karaciğer doku örneklerinin ışık mikroskopik olarak histolojik sonuçları.	56
4.9. Çalışma sonunda ratlardan alınan böbrek doku örneklerinin ışık mikroskopik olarak histolojik sonuçları.	57

1.GİRİŞ

Sepsis, enfeksiyon ve inflamasyona karşı gelişen sistemik bir yanıttır. Sepsis ve sepsis sonucunda gelişen sepsis sendromu, septik şok, erişkin respiratuar distres sendromu ve multipl organ yetmezliği sendromu gibi durumlar agresif cerrahi tedavi, özgül antibiyotik tedavisi ve diğer farmakolojik ajanların kullanılmasına rağmen günümüzde halen yoğun bakım ünitelerindeki mortalitenin en önemli sebebini oluşturmaktadır ve tüm ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada bulunduğu bildirilmektedir. Sepsis ve septik şokta mortalite % 30-70 arasında değişmektedir (1). Günümüzde tüm dünyada önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir (2, 3, 4). Yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastaların etiyojilerinde en yaygın sebeplerinden birisi de septik şoktur (5, 6).

Sepsiste altta yatan nedenler arasında bakteriyel enfeksiyonlar bulunur. Genel olarak en çok gram negatif bakteri ve bunların endotoksinleri tarafından oluşturulduğu kabul edilmektedir (7, 8). Endotoksin, sepsisteki olayları tetikleyen temel moleküldür. İnflamasyon, inflamatuvar bir stimulusa cevap olarak elde edilen dinamik olaylar zinciridir. İnflamasyon olan bölgede vazodilatasyonu takiben kan akımı değişiklikleri, damar permeabilitesinde artış, lokal lökosit birikimi ve ödem oluşur. Birbirini izleyen bu hadiselerin oluşumundan çeşitli mediatörler sorumludur.

EPO 30,4 kDA moleküler ağırlığa sahip glikoprotein yapıda bir hormon olup, memelilerde eritropoezi düzenlediği uzun yıllardır bilinmektedir (9). Kemik iliğinde eritroid progenitör hücreleri stimüle ederek eritrositlerin farklılaşmasını sağlar ve oksijen taşıma kapasitesini artırır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda antiapoptotik ve antiiskemik özelliklerinden dolayı genel olarak doku koruyucu bir ajan olarak değerlendirilmektedir (10). EPO progenitör kök hücre gelişmesinde, hücrel integritenin devamında ve anjiogeneziste de etkilidir. Fetüste temel üretim yeri karaciğer iken, erişkinde %90' ı böbrek dış korteksinde bulunan peritübüler interstisyel hücrelerde, %10'u ise karaciğerde Kupffer hücreleri ve hepatositlerde üretilmektedir (11). EPO kullanılmasının serebral iskemi, myokard enfarktüsü, kronik kalp yetmezliği, akut nekrotizan pankreatit ve bazı deneysel iskemi-reperfüzyon modellerinde (karaciğer, böbrek, akciğer...) hasarı azalttığı gösterilmiştir (12,13). EPO' in dokuları koruyucu özelliği kullanıldığı doza ve

uygulandığı zamana bağımlı olduğu dűşünülmektedir. Hücre düzeyinde koruyucu etki gösterebilmesi için anemi nedeniyle verilen EPO dozlarından çok daha fazlasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bir çok çalışma eritrosit üretiminden öte beyin, böbrek, karaciğer ve kalp gibi dokuları iskemi reperfüzyona bağlı oluşan hasarlarda korumada etkili olduğunu göstermiştir (14). Veriler EPO' nun bu koruyucu etkilerinin, sitokinin antiapoptotik, antiinflamatuvar, antioksidan gibi bir çok özelliğine bağlı olduğunu gösterir (15).

Bu çalışmada ratlarda çekal ligasyon ve perforasyon modeli ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde rekombinant DNA teknolojisiyle geliştirilen bir hormon olan eritropoetinin hepatik ve renal fonksiyonlar dahil olmak üzere septik şokun klinik, labaratuvar ve histolojik bulguları üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis ve Septik Şok

Sepsis, yıllar boyunca tıp dünyasının tedavisi zor ve yüksek mortalitesi olan sorunlarının başında yer almıştır. Son yıllardaki organ destek sistemlerinde ilerleyen gelişmeler sayesinde sepsis fizyopatolojisinin daha da iyi ortaya konulmasına rağmen, yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) hastaların önde gelen mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Günümüzde sepsis, yine YBÜ'lerindeki en sık ölüm nedenidir. Sepsis ve septik şoka bağlı mortalite % 30-90 arasında değişmektedir. Özellikle şok belirtilerinin eşlik ettiği durumlarda, en gelişmiş merkezlerde bile mortalite halen çok yüksektir (1).

2.1.1. Sepsis ile İlgili Tanımlar

Sepsis, Yunanca “çürüme” anlamına gelen “sepo” sözcüğünden köken alır. Tıbbi anlamda ilk olarak 2700 yıl kadar önce yaşamış Homer’ in şiirlerinde kullanılmıştır. Yazılı metinlerde ilk kez yaklaşık olarak milattan önce 400’ lerde Hipokrat’ ın “Corpus Hippocraticum” adlı eserinde karşımıza çıkmaktadır. Hipokrat’ın görüşüne göre “sepsis”, vücutta meydana gelebilen tehlikeli, kötü kokulu “biyolojik çürümedir”. 19. Yüzyıla gelindiğinde Semmelweiss, Lister, Koch ve Pasteur enfeksiyonla ilgili çalışmalar yapmış ve sepsise enfeksiyonun neden olduğu görüşünü aynı dönemde belirtmişlerdir. 1914 yılında, Schottmueller’in patojenin kan dolaşımında bulunmasının sepsiste gözlenen sistemik semptomların nedeni olduğunu savunması, bugünkü anlamda sepsis tanısının başlangıcı olmuştur (16, 17).

Sepsise eşlik eden klinik tabloyu ilk kez, M.Ö. 400 yılında tanımlayan Hippocrates, “akut bir hastalıkta ekstremitelerin soğuması kötü bir belirtidir” ifadesini kullanmıştır (18). Bu tanımlamadan yaklaşık 24 asır sonra günümüzde, sepsis fizyopatolojisindeki gelişmelere karşın, terminolojideki karmaşanın sürdüğü gözlenmektedir. 1991 yılında Society of Critical Care Medicine ve American Collage of Chest Physicians’ın konsensus toplantısında enfeksiyon, bakteriyemi, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), sepsis, septik şok ve multipl organ disfonksiyon sendromuna (MODS) ilişkin evrensel tanımlamalar geliştirilmiştir (19).

İnfeksiyon: Patojen mikroorganizmaların kanda bulunması veya normalde steril olan dokulara invazyonu sonucu gelişen inflamatuvar yanıttır.

Bakteremi: Kanda canlı bakterinin bulunmasıdır. Bakteremi tanısı kan kültürü ile konur.

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS): Enfeksiyon veya enfeksiyon dışı (pankreatit, iskemi, travma doku hasarı, hemorajik şok, yanık gibi) herhangi bir nedene bağlı olarak gelişen hiperinflamatuvar yanıttır (20). Aşağıdaki bulgulardan en az iki veya daha fazlasının bulunması SIRS olarak tanımlanır.

- Vücut ısısı $> 38^{\circ}\text{C}$ veya $< 36^{\circ}\text{C}$
- Kalp hızı > 90 /dakika
- Solunum hızı > 20 /dakika veya $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg
- Lökosit $> 12.000/\text{mm}^3$ veya $< 4.000/\text{mm}^3$, $> \% 10$ band formasyonu

Bu kriterlerin kullanımının bir takım avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır ki, bunlar;

Avantajlar:

- Neredeyse 100% sensitif
- İnflamatuvar olayı gösterir.
- Kullanılabilir bir iletişim aracıdır.
- Klinik deneyimlerle ilişkili sepsis içerik kriteri olarak kullanılmıştır.
- SIRS kriterleri tabloda ne kadar fazlaysa sepsis hastalarındaki ölüm oranı da o kadar artış göstermektedir.

Dezavantajlar:

- Altta yatan temel sorunu anlamamıza yardımcı olmaz
- Sepsis markırı olarak SIRS yüksek sensitiftir fakat spesifik değildir: Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların 65% i herhangi bir zamanda SIRS olmaktadır.

SIRS için tanımlanmış kriterler son derece nonspesifiktir ve hastaların çoğunda bulunabilir. Örneğin lökositoz ve ateşin birlikte bulunması SIRS tanısı için yeterli bir kriterdir. Ancak bu iki parametre hastanede yatarak tedavi olan ya da ayaktan tedavi edilen bir çok hastada bulunabilir. Bu nedenle SIRS ile ilgili kavram karmaşası devam etmektedir. Yeni biyokimyasal ve biyolojik parametrelere dayalı tanımlamalara ihtiyaç vardır (21).

Sepsis: Enfeksiyon sonucu gelişen inflamatuvar yanıt ile birlikte aşağıdaki bulgulardan en az iki veya daha fazlasının bulunmasıdır:

- Vücut ısısı $> 38^{\circ}\text{C}$ veya $< 36^{\circ}\text{C}$
- Kalp hızı > 90 vuru/dakika
- Solunum hızı > 20 /dakika veya $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg
- Lökosit $> 12.000/\text{mm}^3$ veya $< 4.000/\text{mm}^3$ $> \%10$ band formasyonu

Sepsis kriterleri aşağıdaki tablo 2.1' de belirtilmiştir:

Tablo 2.1. Sepsis tanı kriterleri (2).

• Genel kriterler:

- o Ateş ($> 38,3^{\circ}\text{C}$) veya hipotermi ($< 36^{\circ}\text{C}$)
- o Kalp hızı $> 90/\text{dk}$ veya > 2 Standart sapma
- o Takipne
- o Bilinç değişiklikleri
- o Belirgin ödem veya pozitif sıvı dengesi (24 saatte > 20 ml/kg)
- o Hiperglisemi (diyabeti olmayan bir hastada plazma glukoz düzeyi $> 120\text{mg/dl}$ veya $7,7$ mmol/L)

• İnflamasyon belirteçleri:

- o Lökositoz (beyaz küre sayımı $> 12000/\text{mm}^3$)
- o Lökopeni (beyaz küre sayımı $< 4000/\text{mm}^3$)
- o Normal beyaz küre sayımı ve immatür formların $\%10$ dan fazla olması
- o CRP > 2 Standart sapma
- o Plazma prokalsitonin > 2 Standart sapma

Tablo 2.1. Sepsis tanı kriterleri (Devamı) (2).

• Hemodinamik belirteçler:

- o Arteriyel hipotansiyon (sistolik kan basıncı < 90 mmHg, OAB < 70 veya sistolik kan basıncında 40 mmHg'dan fazla düşme veya yaşa göre normal değerlerin 2 Standart sapma altına düşmesi)
- o Kardiak indeks $> 3,5$ L/dk
- o SvO₂ $> \%70$

• Organ fonksiyon bozuklukları:

- o Arteriyel hipoksi (PaO₂/FiO₂ > 300)
- o Akut oligüri (idrar çıkışı $< 0,5$ ml/kg/sa veya 45 ml/24 saat)
- o Kreatinin artışı $> 0,5$ mg/dl
- o Koagülasyon bozuklukları (INR $> 1,5$ veya aPTT > 60 sn)
- o İleus
- o Trombositopeni (trombosit sayısı $< 100,000/mm^3$)
- o Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin > 4 mg/dl veya 70 mmol/L)

• Doku perfüzyonu:

- o Hiperlaktatemi (> 1 mmol/L)
- o Kapiller geri dolumda azalma

OAB: Ortalama arter basıncı, SvO₂: Mikst venöz oksijen saturasyonu, PaO₂: Parsiyel arteriyel oksijen basıncı, FiO₂:İnspiratuar oksijen fraksiyonu INR: Uluslararası normalize edilmiş oran, aPTT: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı

Bazı durumlarda sepsisin ilk bulguları hemodinamideki instabilite veya organ yetmezliği olabilir. Bu nedenle bu tabloya organ fonksiyon bozukluklarına ait kriterler de eklenmiştir. Bu tanımlamaların sepsis için spesifik olmadığını belirtmeliyiz. Bütün belirlenen parametrelerin dışında enfeksiyon varlığı kanıtlanmamış olgularda klinisyen tarafından hastanın “septik görüntüsünün” saptanmış olması önemli bir tanı kriteridir.

Ağır Sepsis (Organ Disfonksiyonu ile Birlikte Olan Sepsis): Organ yetmezliği, fonksiyon bozukluğu veya kaybı ile seyreden sepsise ağır sepsis denilmektedir. Ağır sepsis koroner yoğun bakım üniteleri dışındaki yoğun bakımlarda en sık ölüm nedenidir. Sepsis hastalarında tablo ağırlaştıkça organ fonksiyon bozuklukları, bir diğer deyişle organ yetmezlikleri gelişir. Eğer birden fazla organ sistemi disfonksiyonu mevcutsa çoklu organ yetmezliğinden söz edilir (22).

Ağır sepsiste sepsis bulguları ile birlikte aşağıdaki bulguların eşlik etmesi beklenir:

- Multipl organ disfonksiyonu (MOD); hipoperfüzyon veya hipotansiyona bağlı
- Hipoksi ($\text{PaO}_2 < 75 \text{ mmHg}$)
- Oligüri
- Laktik asidoz
- Mental konfüzyon
- Diğer organ yetmezliği bulguları

Baue ve arkadaşlarının belirttiği organ fonksiyon bozukluğu parametrelerinin bazıları aşağıda verilmiştir (23).

- Akciğer yetmezliği: Yetmiş iki saatten fazla ventilatör desteği ihtiyacı,
- Böbrek yetmezliği: Poliüri veya oligüri durumuna bakılmaksızın serum kreatinin düzeylerinin 2 mg/dl veya daha yüksek olması,
- Karaciğer yetmezliği: Serum bilirubin değerinin 2 mg/dl'nin üzerinde olması ile birlikte glutamat dehidrogenazın normalden iki kat ve daha fazla artması,
- Kalp yetmezliği: Yüksek dolum basınçlarına rağmen dolaşımın yetersiz olması veya aritmi nedeniyle ilaç tedavisi veya desteğine gereksinim duyması,
- Koagülasyon yetmezliği: $60\ 000/\text{mm}^3$ 'nin altında platelet değeri, normal dışı bir kanama nedeniyle pıhtılaşma faktörlerinin transfüzyonuna ihtiyaç duyulması,
- İmmün yetmezlik: Tam bir yetmezlik söz konusu olmasa da anerji veya daha önce normal bulguları olan bir hastada Staphylococcus epidermidis, Candida veya Pseudomonas enfeksiyonu gelişmesi immün yetmezlik olarak tanımlanabilir.
- Metabolik yetmezlik: Kilo kaybı, kaşeksi gibi kriterler dışında ölçülebilen bir kriteri yoktur.
- Santral sinir sistemi yetmezliği: Glasgow koma skorunun 6 veya daha düşük olması

Septik Şok: Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen hipotansiyon tablosunun mevcut olduğu durumdur; sistolik kan basıncının < 90 mmHg olması veya başlangıçtaki değerinin 40 mmHg altına düşmesi söz konusudur. Çocuklarda vasküler tonus daha uzun süre korunabileceğinden hipotansiyon durumunun ortaya çıkmasından çok daha önce şok tablosu gelişmiş olabilir. Bu nedenle taşikardinin de mevcut olduğu hipoperfüzyon çocuk hastalarda septik şok olarak tanımlanır (24). Çocuklarda hipotansiyon çok geç bir bulgu olduğu için son derece ağır bir tabloyu ifade edebilir.

Erken Septik Şok: Bir saat süren yoğun sıvı resüsitasyonuna cevap veren şok durumudur.

Refrakter Septik Şok: Bir saat süren yoğun sıvı resüsitasyonuna cevap vermeyen şok durumudur.

Multipl Organ Disfonksiyon Sendromu (MODS): Herhangi bir destek tedavisi olmadan organ fonksiyonlarının homeostazisi koruyamadıkları durumdur.

2.1.2. Epidemiyoloji

Sepsis, enfeksiyon hastalıklarına bağlı gelişen ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. Sepsisin ve septik şokun insidansı medikal ve teknolojik ilerlemelere rağmen artmaktadır. Bunun sebebi kataterlerin ve invaziv ekipmanın agresif kullanımı, kemoterapi tedavisi gören kanser hastalarının veya kortikosteroid ve diğer immünsüpresif ilaçları kullanan organ transplantasyonu yapılan veya diğer inflamatuvar hastalığı olan hastaların artmasıdır. Buna ek olarak, gelişen tıbbi bakım sayesinde yaşlı, metabolik veya kanser hastalarına daha uzun yaşam süresi sağlanması, bunun da enfeksiyon riskini de arttırmasıdır. Yoğun bakım ünitelerindeki en önemli ölüm sebeplerindedir (25). Şok bulguları da bu tabloya eşlik ettiği durumlarda mortalite oranı artmaktadır (26).

ABD’de yapılan 22 yıllık bir çalışmada, 750 milyon hastada yaklaşık 10.319.418 sepsis vakası tespit edilmiştir. Hastalık insidans 1979 yılında 100.000’de 82.7 iken 2000 yılında 240.4’e yükselmiştir. Böylece sepsis insidansında % 8.7’lik artış olmuştur (27). Ciddi sepsis, koroner YBÜ’si dışındaki YBÜ’lerinde ölüm sebepleri arasında ikinci sırada, ABD’de tüm ölüm nedenleri arasında ise 13. sırada yer almaktadır (28). ABD’de yılda yaklaşık 5-10 milyar dolarlık ekonomik zarara neden olmaktadır (29). Angus ve arkadaşları tarafından yapılan çok merkezli bir

kohort çalışmasında, ağır sepsisin çok sık görüldüğü, sağlık kaynaklarını önemli ölçüde tükettiği ve mortalite hızının çok yüksek olduğu bulundu. Ağır sepsis için mortalite hızı %9,3 olarak tahmin edildi ve bu da yaklaşık akut miyokard enfarktüsün mortalite hızına eşitti (30). 1993-2003' ü kapsayan bir başka çalışmada da hastanede yatan hastaların % 2,15' inde sepsis tablosu mevcuttu ve bunların da %34' ü "ağır sepsis"di. Ölüm hızı tüm sepsisli vakalarda 1993 ile 2003 arasında azalırken, ağır sepsisli hastalarda ise aşırı artış bildirildi (31). 1999-2005 arasında yapılan bir çalışmadaysa az da olsa ölüm hızında yıllık % 0,18 düşüş görüldüğü bildirildi (32). 2002 yılında 24 Avrupa ülkesinde yapılan, 198 yoğun bakım ünitesini kapsayan "Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients" (SOAP) çalışmasında, 2001 uzlaşma konferansı kriterleri kullanılarak sepsis insidansı % 37 olarak bulunmuştur. Hastane mortalitesinin % 24.1 olarak bulunduğu bu çalışmada, septik şokta mortalite % 54.1 olarak saptanmıştır. En sık enfeksiyon odağı olarak % 68 akciğerler, % 22 batın, % 20 kan ve % 14 üriner sistem bulunmuştur (33).

Sepsise yol açan enfeksiyon kaynağı zamanla değişmiştir. 1990 yılından önce primer kaynak batın iken, son yıllarda akciğerler kaynak olmaya başlamıştır (34). Son çalışmalar pnömoninin sepsis ile en fazla ilişkili enfeksiyon olduğunu göstermiştir. Yaklaşık oranı %40 olan pnömoniyi, intraabdominal enfeksiyon (%20), kateter enfeksiyonu ve primer bakteremi (%15) ve idrar yolu enfeksiyonu (%10) takip etmektedir (35).

Sepsis ileri yaşlarda, özellikle 60 yaşın üzerinde daha sık görülmektedir. Çünkü malignite, KOAH (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı), kronik böbrek yetmezliği, siroz ve diyabet gibi eşlik eden hastalıklar sepsis insidansını artırır ve özellikle bu yaş grubunda sık görülürler. Erkeklerde kadınlara göre biraz daha fazla görülür. Bu farkın sebebi tam bilinmese de erkeklerin daha fazla travmaya maruz kalmaları ve daha fazla ameliyat geçirmelerinin bunu yaratabileceği düşünülmektedir. Sepsis hastalarında mortalite riski de hastalığın şiddeti, yaş ve altta yatan hastalıklar gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Yatak kapasitesi fazla olan, YBÜ'leri bulunan ve invaziv işlemlerin fazla yapıldığı hastanelerde nozokomiyal sepsis gittikçe daha sık görülmektedir (36).

2.1.3. Etyoloji

Sepsis etiolojisinde en sık karşımıza çıkan etkenler bakterilerdir. Bunun yanısıra virus ve mantarlar da sepsise neden olabilmektedir (37). ABD’de Ulusal Nazokomiyal Enfeksiyon Surveyans Çalışması (NNIS) kapsamında hastanelerden bildirilen verilere göre 1970 yıllarında sepsisin en sık karşılaşılan etkeni gram negatif bakteriler iken, 1980’li yıllarda gram pozitif bakterilere doğru bir geçiş olmuştur (38). Bu artışın etkenleri olarak; 3. kuşak sefalosporinler ve kinolonlar gibi Gram (-) bakterilere etkili yeni antibiyotiklerin kullanımının artması, kanser, kollajen doku hastalığı gibi hastalıkları olan kişilerde uzun süreli kateter uygulanmasının artması, vücut içi protez kullanımının artması ve kronik ambulatuvar periton diyalizi gibi yöntemlerin geliştirilmesi ile daha uzun süre yaşama imkanı elde edilmesi sayılabilir (39). Son on yıl içinde gram negatif bakterilerin neden olduğu sepsis, gram pozitif bakteri sepsislerinden biraz daha yüksek oranda görülmekte ve mantar enfeksiyonları da önemli bir sepsis nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır (40, 41).

Bütün sepsislerin %5-15’ inden anaerop organizmalar sorumludur. Bacteriodes fragilis ve fusobacterumlar en sık izole edilen etkenlerdir (42). Ayrıca riketsiyalar, Candida türleri, Plasmodium falciparum gibi protozoalar ve bazı virüsler sepsise neden olmaktadır (40). Son yıllarda sepsis olgularının yaklaşık %5’inden özellikle de Candida türleri olmak üzere mantarların sorumlu olduğu bulunmuştur (43).

2.1.4. Sepsis Fizyopatolojisi

Sepsisin patogenezi oldukça karmaşıktır. Bakterinin organizmaya yerleşmesi ve konak savunması ile etkileşmesi sonucu hastalık ortaya çıkar. Hastalığın ortaya çıkışını; konağın immun sisteminin durumu ve bakteriyel virülans faktörleri belirler (44). Konak normalde immün sistemiyle patojen mikroorganizmaya karşı savunma yapar. Patojenle karşılaştığında konağın doğal immün sistemi buna yanıt olarak endojen mediatörler salgılar. Normal şartlarda bu moleküller organizmayı koruyucu iken, sepsis durumunda organizmaya zarar verir (45,46). Konağın patojen mikroorganizmaya yanıtları doğal ve adaptif (kazanılmış) immün sistem yanıtları olarak sınıflandırılabilir (45, 46). Doğal immünite antijene spesifik T ve B hücre yanıtlarını içeren adaptif immün yanıt başlamadan önce patojen ile karşılaştığında

hemen aktive olarak mikroorganizmaların çoğalma ve yayılmasını önlemeye çalışır.(47). Doğal bağışıklık sistemi makrofajlar, monositler, nötrofiller, dentritik hücreler, doğal öldürücü hücreler (natural killer-NK), kompleman, akut faz proteinleri ve sitokinlerden oluşur (45).

Konağa Ait Faktörler ve İnfeksiyonun Giriş Kapısı: Enfeksiyona karşı konağı koruyan savunma mekanizmalarının (anatomik bariyerler, hücresel immunité, spesifik ve nonspesifik humoral immunité) bozulması, lokal ve sistemik enfeksiyonlara zemin hazırlar. Konak savunma mekanizmaları ve bu savunma mekanizmalarını bozan durumlar tablo 2.2' de özetlenmiştir (48).

Tablo 2.2. Konak savunma mekanizmaları ve bunları bozan durumlar.

Savunma Mekanizması	Bozan Durumlar
Deri ve mukoza	Damar içi kateter Yanıklar Travma
Fagositik hücreler	Granülositopeni Diabetes Mellitus
Kompleman sistemi	Konjenital veya akkiz yetmezliği
İmmunoglobulinler	B Lenfosit maligniteleri Konjenital veya akkiz yetmezliği
T Lenfositler	Lenfomalar,AİDS

Sepsis etkeni olan bakterilerin genellikle çoğu endojen floradan kaynaklanmaktadır. İnfeksiyonun oluşmasında bakteriyel virülans faktörleri önemli bir (adherans, seruma direnç, antifagositik yüzey, hücre içerisinde canlılığını koruma, enzim ve toksinler gibi) rol oynar. Sepsiste klinik tablonun ortaya çıkmasında, bakteriyel invazyon ile beraber bakteriyel hücresel yapıların ve toksinlerin de önemli rolü vardır. Bu hücresel yapı ve toksinler organizma içerisinde çeşitli biyolojik sistemleri aktive ederek, sepsisteki fizyopatolojik değişikliklerden sorumlu endojen mediyatörlerin ortama salınmasını sağlar (49).

Bu bakteriyel hücresel yapı ve toksinler arasında etkisi en iyi bilinen yapı gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan lipopolisakkarit (LPS) yapısındaki endotoksinlerdir. Endotoksin dışında; ekzotoksin A, toksik şok sendromu toksini

TSST-1, pirojenik ekzotoksin A, gram pozitif bakteri veya mantar hücre duvarı yapıları, virüs ve mantar antijenleri de sepsis döngüsünü başlatabilir (50, 51).

Sepsiste izole edilen bakterilerin virülans faktörleri tablo 2.3' de özetlenmiştir.

Tablo 2.3. Virülans faktörleri.

BAKTERİ	VİRÜLANS FAKTÖRÜ
Streptokokus.pneumoniae	Kapsüler polisakkarit, Peptidoglikan (mukopeptid), Lipoteikoik asit, C-Substans, M-Protein, Pnömolizin
GrupA streptokoklar	Kapsül (Hyalüronik asit), C antijenler (gruba spesifik), M ve T proteinler (tipe spesifik), peptidoglikan, Lipoteikoik asit, Hyalüronidaz, Pirojenik ekzotoksin (A, B, C), Streptolizin O-S, Streptokinaz, NADaz, Deoksiribinükleaz.
S.aureus	Kapsül, protein, polisakkarit A, Lipoteikoik asit, Peptidoglikan, Koagülaz, "Clumping" faktör, Stafilokinaz, Hyalüronidaz, Pirojenik ekzotoksin (A,B), Hemolizin ($\alpha,\beta,\gamma,\delta$), Lökosidal toksin, Eksfoliatif toksin, Enterotoksin (A-E), TSST-1
B.cereus	Serolizin
B.alvei	Alveolizin
C.perfringens	Perfringolizin O (Q-toksin)
C.septicum	Septikolizin (α -toksin)
C.histolyticum	Histolikolizin (α -toksin)
L.monocytogenes	Listeriolizin O
E.coli	Endotoksin, Alfa-hemolizin
P.aeruginosa	Slime glikolipid, Endotoksin, Ekzotoksin A, Hemolizin, Lökosidal toksin.

Septik şoku başlatan ilk olay, bakterilerin parçalanması sonucu Lipopolisakkarit (LPS) veya diğer toksik hücre duvarı komponentlerinin dolaşıma çıkmasıdır. Bu aşamadan sonra dolaşım sisteminin kollapsına kadar ne gibi olayların olduğu halen basit bir mekanizma ile açıklanabilmiş değildir (51, 52).

Parçalanmış gram negatif bakterilerden dolaşıma salınan LPS ilk olarak özel plazma proteinleri (LPS-Binding Proteinler) tarafından bağlanır. Daha sonra bu kompleksin monosit ve makrofaj yüzeyinde bulunan CD14 reseptörleri ve endotelial hücreler gibi diğer bazı konak hücrelerinin yüzey reseptörleri ile reaksiyonu söz

konusudur (53).

LPS'in konak hücreler içerisindeki etkileşimi sonucu üç mekanizma aktive olmaktadır. Bunlar:

1) Monosit, makrofaj ve diğer hücreler tarafından sitokinlerin (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , PAF) üretimi ve bunların da prostaglandin ve lökotrienlerin üretimini uyarması,

2) Kompleman sisteminin aktivasyonu,

3) Koagülasyon sisteminin aktivasyonu,

Son yıllarda sepsiste oldukça güçlü vazoregülatör olarak görev yapan iki yeni mediyatör tanımlanmıştır; EDRF ve Endotelin-1. EDRF düz kaslarda vazodilatör, Endotelin-1 ise güçlü vazokonstriktör etki yapar (54). Bu vazoaaktif mediyatörlerin etkisi sonucunda sistemik vasküler direnç azalır; bu da dokulara giden kan akımının azalmasına yol açar. Diğer mediyatörlerin de kardiyak etkileri mevcuttur; TNF- α miyokarda depressif etkisi vardır, PAF kalp üzerinde negatif inotropik etkilidir ve arteriyel kan basıncını azaltır, Lökotrien C4-D4-E4 koroner ve miyokard kan akımını azaltır, IL-2' de kardiyovasküler fonksiyon bozukluğuna yol açar (55). Ayrıca sepsisin bir diğer mediyatörü olan Myocardial Depressant Substance (myokardı deprese eden madde); ventriküler dilatasyon, miyokarda depresyon ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda azalma yapar.

Kompleman Sisteminin Aktivasyonu: Aktive kompleman komponentlerinden C3a ve C5a da etkilerini endotelial doku üzerinde gösterir. Özellikle C5a Polimorfonükleer Lökositlerin (PMNL) kan damarlarının duvarına yapışarak lizozomal enzimlerini ve toksik oksijen radikallerini salması ve damar duvarını hasara uğratmasına neden olmaktadır. PMNL'lerin C5a'ya yanıt olarak damar duvarı boyunca migrasyonu, aynı zamanda vasküler permeabilite artışı sonucu damar dışına sızıntıya da katkıda bulunmaktadır. Tüm bu etkiler sonucu vasküler mikrotrombüs oluşumu kolaylaşmakta ve başlamaktadır (56, 57, 58). Sepsis patogeneğinde rol oynayan endojen mediyatörler tablo 2.4' de verilmiştir.

Tablo 2.4. Endojen mediyatörler.

Tümör Nekroz Faktör- Alfa (TNF- α)	Koagülasyon faktörleri
Interlökinler (IL-1, IL-2,IL-4,IL-6,IL-8)	Miyokard deprese eden madde
Trombosit aktive eden faktör (PAF: Platelet Activating Factor)	Fibrin
Araşidonik asit metabolitleri: Lökotrien B ₄ ,C ₄ ,D ₄ , E ₄ ; Tromboksan A ₂ ; Prostaglandin E ₂ =PGE ₂ , PGI ₂ =Prostasiklin)	Plazminojen aktivatör inhibitörleri
Kompleman C3a, C5a	Trombositler
(GM-CSF)	Isı şok proteinleri (Heat Shock Proteins)
Endotelden salınan gevşetici faktör (EDRF)	Damar permeabilite faktörü
Endotelin-I	“Transforming growth” faktör beta
Gamma-İnterferon	Aminoasitler
Polimorfonükleer lökositler (PMNL); toksik oksijen radikalleri, proteolitik enzimler	Adezyon molekülleri (Endotel-lökosit adezyon molekül-I, İntrasellüler adezyon molekülü-I=ICAM- I, Damar hücresi adezyon molekül-I), Beta-Endorfin, Bradikinin

Bu mediyatörlerin bir kısmı proinflamatuar (TNF, IL-1, IL-8), bir kısmı ise antiinflamatuar (IL-4, IL-10) özelliğe sahiptir. Sepsis patogeneğinde rol oynadığı bilinen proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinler tablo 2.5’ de gösterilmiştir

Tablo 2.5. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler. (CRP: C-reaktif protein, ICAM: Hücre içi Adezyon Molekülü, IFN- γ : Interferon- γ , IL-1Ra: Interlökin 1 Reseptör Antagonisti, LBP: Lipopolisakkarid Bağlayan Protein, PAF: Trombosit Aktive Eden Faktör, PDGF: Trombositten Açığa Çıkan Büyüme Faktörü, sTNFr: Çözünebilir TNF Reseptör, TGF- β : Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β , TNF: Tümör Nekroz Faktörü)

Konak Hücre	Proinflamatuvar mediyatörler	Düzenleyici mediyatörler	Antiinflamatuvar mediyatörler
Monosit/makrofaj	TNF- α , IL-1, IL-8, IFN γ , lökotrienler, PAF, NO	IL-6, IL-12	IL-1Ra sTNFr TGF- β
Nötrofiller	Integrin ekspresyonu, süperoksit, TNF- α , IL-1		Defensinler
Lenfositler	IFN- γ , TNF- α	IL-12	IL-4, IL-10
Endotel hücresi	Sellektin, VCAM, ICAM, NO, doku faktörü		
Trombositler	Serotonin, prostonidler	PDGF	
Plazma komponentleri	Koagülasyon kaskadı, Kompleman aktivasyonu, bradikinin	CRP, LBP	

Koagülasyon Sisteminin Aktivasyonu: Endotoksin, TNF- α , IL-1 ve diğer endojen mediyatörler, koagülasyon sistemini aktive eder. Hageman faktörün Faktör XII aktivasyonu sonucu plazminojen plazmine dönüşür ve intrinsik koagülasyonu başlatır. Fibrinojen fibrine dönüşür. Bunu pıhtılaşma izler. Fibrinolitik aktivite de artar (59).

Genellikle şok ile birlikte görülen kontrol edilemeyen koagülasyon aktivasyonu, tromboz, trombosit ve koagülasyon faktörlerinin (Faktör II, V, VII) tüketimi ile sonuçlanan Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma (Disseminated Intravascular Coagulation = DIC) tablosu ortaya çıkar. Bu durum klinik olarak deri ve mukoza kanamaları ile kendini gösterir. DIC, sepsisli hastalarda prognozu kötü yönde

etkileyen fizyopatolojik bir olaydır. Sepsisli hastalarda ölüm DIC gelişenlerde % 77 gelişmeyenlerde %32 olarak bildirilmiştir (37).

Değişik klinik çalışmalarda etkenlere göre septik şok gelişme oranları Gram negatif basillerde %26-53, S.aureus'ta %20-29, S.epidermidis %17, S.pneumoniae'da %14-46, Bacteriodes türlerinde ise %25'tir (60).

2.1.5. Klinik Belirti ve Bulgular

Sistemik bakteriyel enfeksiyonun yol açtığı sepsis sendromunu düşündüren belirti ve bulgular iki grupta incelenebilir (61, 62). Ancak bu bulgular sadece bakteriyel enfeksiyona spesifik değildir. Sepsiste klinik bulgularla komplikasyonlar arasında çoğu kez bir ayırım yapılmasında zorluklar yaşanır. Hipotansiyon, kanama, asidoz, hipoksi ve sarılığı sepsisin major bulguları olarak kabul edenlerin yanında, bunların bulgu değil de komplikasyon olduğunu savunanlar da vardır. (61, 62).

1. Primer belirti ve bulgular

- Ateş veya hipotermi
- Titreme
- Açıklanamayan taşikardi
- Açıklanamayan takipne
- Açıklanamayan şok
- Periferik vazodilatasyon bulguları
- Mental durum değişiklikleri

2. Sekonder belirti ve bulgular

- Hipotansiyon
- Kanama ve Dissemine Intravasküler Koagülasyon (DIK) bulguları
- Lökopeni veya lökositoz
- Trombositopeni
- Organ yetmezliği
- Akciğer: Siyanoz, asidoz, akut solunum yetmezliği sendromu (ARDS)
- Böbrek: Oligüri, anüri, asidoz
- Karaciğer: Sarılık
- Kalp: Konjestif yetmezlik

Sepsisin başlangıç döneminde baş ağrısı, ishal, bulantı, kusma, nefes darlığı, terleme, titreme gibi nonspesifik semptomlar görülebilir (61). Ateş ve titreme tipik olmasına rağmen bazı hastalarda enfeksiyonun erken dönemlerinde dikkat çekici bir bulgu ile karşılaşılmaz. Hipotermi bazen hipertermiden daha belirgin olarak sistemik enfeksiyonun göstergesi olabilir ve genellikle kötü prognoz işaret eder (62, 63). Üremi veya alkolizm gibi altta yatan bir kronik hastalığı olan erişkin hastalarda ve bebeklerde hipotermi görülme olasılığı daha yüksektir. Hipotansiyon, üre yüksekliği, trombosit düşüklüğü ve kanama bulguları klinisyen için dikkat çekici bulgulardır. Çünkü ateş ve titreme olmadan da bu bulgular sistemik bir enfeksiyonun ya da fokal enfeksiyon odağından sistemik mikrobiyal toksin yayılımının göstergesi olabilir (61, 62).

Tablo 2.6. Sepsiste en sık görülen klinik belirti, bulgular ve komplikasyonlar.

Belirti ve Bulgu	Komplikasyon
Ateş veya hipotermi	Hipotansiyon
Üşüme ve titreme	Kanama
Hiperventilasyon	Trombositopeni
Taşikardi	Lökopeni
Deri lezyonları	Organ yetmezliği
Şuur değişikliği	Akciğer: ARDS
	Böbrek: Oligüri, anüri
	Karaciğer: Sarılık
	Kalp: Konjestif yetmezlik

Sepsiste klinik belirti ve bulgularla komplikasyonlar kolaylıkla ayrılamaz. Tablo 2.6'de sepsiste en sık görülen klinik belirti ve bulgular görülmektedir (64,65).

Sepsiste başka önemli bir bulgu da; santral sinir sistemi tutulumu olmaksızın hastada mental değişikliklerin olmasıdır. Klinik tablo genellikle bir ensefalopati tablosuna benzer bir tablodur. Bu durum genellikle konfüzyon, letarji, oryantasyon bozukluğu ve ajitasyon şeklinde ortaya çıkar (66). Bazı hastalarda şok tablosu görülebilir. Septik şokta; vazodilatasyon ve vasküler permeabilitede artış sonucu dolaşan kan hacmi azalır. Daha sonra derin solukluk, vazokonstrüksiyon ve anüri ile

karakterize soğuk şok tablosu gelişir. Bu fazda vital organlara yeterli perfüzyon sağlanamamaktadır. Solunum yetmezliği; pulmoner kompliansta azalma, irreversibl hipoksi ile karakterizedir ve şok akciğeri denir. Dispne, takipne ve progresif respiratuar distress sendromu (ARDS) görülür. Sepsis en sık akut DIK nedenlerinin başında gelir. Trombositopeni, intravasküler trombin oluşumu, fibrin birikimi, pıhtılaşma faktörlerinde azalma ve fibrinoliz ile karakterizedir (67, 68, 69).

2.1.6. Prognoz

Günümüzde tıbbın artan olanaklarına rağmen sepsiste mortalite oranı hala yüksektir. Çeşitli çalışmalarda sepsiste ölüm oranı %30-70 arasında bildirilmektedir. Mortalite oranlarının farklı bildirilmesinin nedeni, çeşitli konakçı ve çevre faktörleri ile yapılan çalışmalardaki grupların heterojen özellikte olmasına bağlanmaktadır. Mortalite oranı, Gram (-) bakteriyel sepsislerde % 45-50, Gram (+) bakteriyel sepsislerde %20-30 ve anaerop sepsislerde ise % 15-30'dur. Şok, DIC, ARDS ve organ yetmezliğinin diğer komplikasyonları geliştiğinde ölüm oranı %70-90 arasında değişmektedir (5,30). En yüksek mortalite oranının P.aeruginosa sepsislerinde olduğu bildirilmektedir (60). Sepsiste prognozu etkileyen faktörler şu şekilde özetlenebilir (70);

1. İleri yaş
2. Bakteriyeminin şiddeti (polimikrobiyal bakteriyemi)
3. Altta yatan hastalıklar (nötropeni, diyabet, alkolizm, böbrek yetmezliği...)
4. Tedavi başlangıcında infeksiyonun yol açtığı komplikasyonların gelişmiş olması
5. İnfeksiyonun kaynaklandığı yer (nazokomiyal)
6. İnfeksiyon kaynağı
7. Hastanın yattığı servis (yoğun bakım ünitesi)
8. Antibiyotik tedavisinin uygunluğu
9. Tedavinin başlamasına kadar geçen zaman

2.1.7. Tedavi

Sepsisli hastalarda tedavinin başarısı; erken tani, etiyolojinin ve altta yatan nedenin ya da hastalığın belirlenmesi gibi nedenlere bağlıdır. Sepsiste tedavi prensiplerinin belirlenmesinde önemli hususlar:

1. Destek tedavisi,
2. İnfeksiyon odağının kaldırılması,
3. Altta yatan hastalığın ve nedenlerin tedavisi, ortadan kaldırılması
4. Antimikrobiyal tedavi,
5. Diğer tedavi girişimleri.

a. Destek Tedavisi: Ağır sepsis ve septik şokun tedavisinde en önemli nokta hipovoleminin düzeltilmesidir. Hastanın santral venöz basınç (CVP) veya pulmoner wedge (PW) basınç takibi ile yeterli sıvı resüsitasyonu yapılmalıdır. Sıvı tedavisinde birçok solüsyon çeşidi kullanılabilir. Serum fizyolojik, taze donmuş plazma, albumin ve değişik dekstran solüsyonları bu amaçla kullanılabilir(60, 70, 71). Yeterli sıvı tedavisi uygulanmasına rağmen, hastanın tansiyon değerleri düzelmez ise vazopressör ilaçlar kullanılabilir. Bu amaçla dopamin ve dobutamin preparatları tercih edilmelidir. Dopamin, sistolik kan basıncını ve kalp hızını artırır. Dobutaminin etkisi dopamine benzerlik gösterir, fakat kronotropik etkisi dopaminden daha azdır. Septik şokun oligürik ve anürik fazlarında diüretikler kullanılabilir. Fakat bu konuda yeterli klinik çalışma bulunmamaktadır ve diüretiklerin kullanımı çoğu yayında tartışmalıdır (70).

DIK'e bağlı kanamalarda yerine koyma tedavisi yapılmalıdır. Kanamalarda tam kan transfüzyonu, trombositopeni için trombosit süspansiyon replasmanı, hipofibrinojenemi için kriyopresipitat infüzyonu ve koagülasyon faktörlerinin yerine koymak için taze donmuş plazma verilebilir (70, 72).

Pentoksifilin, TNF'nin nötrofiller üzerine gösterdiği etkilerini inhibe etmektedir ve septik şok tedavisindeki yerine ilişkin çalışmalar sürmektedir (70).

Dokulara yeterli oksijen iletimi için arteriyel hemoglobinin oksijen saturasyonu %90' ın üzerinde olmalıdır; bunun için de PaO₂ 55-65 mmHg aralığında tutulmalıdır. Siyanotik ve hipoksemik tabloya sahip her hastada oksijenoterapi gereklidir(70, 73) ARDS'de önceden %70 civarlarında olan mortalite değeri, PEEP yönteminin kullanımı ile %50' lere kadar düşmüştür. Akut dönem atlatılmış ise genellikle hastalarda herhangi bir sekel kalmamaktadır. Ancak PEEP tedavisi ile hipoksi düzeltilse bile, multisistem organ yetmezliği (kalp, böbrek, karaciger, pankreas vb.) ARDS'de ölümlerin temel sebebi olarak bildirilmektedir (70, 73).

b. Antimikrobiyal Tedavi: Tedavinin temel yapı taşlarından birisi de muhtemel infeksiyon odağına yönelik uygulanacak olan antibiyotiklerin gecikmeksizin, parenteral olarak başlanmasıdır. Antimikrobiyal tedaviden başarılı sonuçlar alabilmek için destek tedavisinin tam anlamıyla doğru olarak yapılması, predispozan faktörlerin ortadan kaldırılması gerekir.

Ampirik olarak, MRSA (Metisilin rezistan Stafilokokkus Aureus) ve dirençli gram negatif bakterilere karşı oldukça etkili olan vankomisin+aminoglikozid tedavisi uygun bir kombinasyondur. Her iki antibiyotiğin de nefrotoksik olmasına karşın, kültür sonuçları alınana kadar böbrek fonksiyonları yakından takip edilerek kullanılmaları gerekir. Nefrotoksisitenin azaltılması amacıyla aminoglikozidler günde tek doz şeklinde uygulanabilir. Kültür- antibiyogram sonuçları elde edildikten sonra tedavide değişikliklere gidilebilir ve spektrum daha da daraltılabilir (48). Sepsis kaynağına göre muhtemel infeksiyon etkenleri ve ampirik tedavi seçenekleri tablo 2.7 ve tablo 2.8' de sunulmuştur (20).

Tablo 2.7. Hastane dışı sepsis kaynakları (SA:Sulbaktam+Ampisilin, CA: Amoksisilin+Klavulanik asid)

KLINIK	PATOJEN	ANTIBİYOTİK
Toksik Sok Sendromu (Vajinal Tampon, Yanık, Infekte yara)	Grup A,B,C Streptokoklar	Penisilin G Parenteral makrolid, Seftriakson
Toksik Şok Sendromu (Sellülit, Solunum Yolu İnfeksiyonu)	S.aureus	Nafsilin Sefazolin SA CA
Sellülit ve Furonkülozis	S.aureus	Nafsilin SA/CA Sefazolin
Septik Abortus	Anaerobik bakteriler B.fragilis Enterobacteriaceae C. trachomatis	(SA/CA, Sefoksitin) + Doksisiklin, Klindamisin+ (aminoglikozid, sefotaksim, seftriakson)
Üriner Enfeksiyon	Enterobacteriaceae	2. veya 3. kusak sefalosporin SA/CA Aminoglikozid Florokinolon
Splenektomize Hasta (Odak yok)	S.pneumoniae H.influenzae N.meningitidis	Sefotaksim, Seftriakson, SA/CA
Bağırsak Perforasyonu veya Pelvik Enfeksiyon	Enterobacteriaceae B.fragilis Enterokoklar	Sefoksitin, SA/CA, Klindamisin/ Metronidazol + Aminoglikozid

Tablo 2.8. Hastane içi sepsis kaynakları. (MRSA: Metisiline Dirençli Stafilokokkus Aureus)

KLİNİK	PATOJEN	ANTİBİYOTİK
Dekübitüs Ülseri	Anaeroplara (B.fragilis), Enterobacteriaceae, S.aureus	SA/ CA+aminoglikozid, Sefoksitin+aminoglikozid, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem
Postoperatif Cerrahi Alan Enfeksiyonu (GIS ve kadın pelvik bölgesi dışında)	Grup A streptokok, S.aureus, Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp.	SA/CA/Sulbaktam-sefoperazon+ aminoglikozid, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem Siprofloksasin+Klindamisin/metronidazol
Postoperatif Cerrahi Alan Enfeksiyonu (GIS ve kadın pelvik bölgesi)	Yukarıdakilere ek olarak; B.fragilis, enterokoklar, Grup B ve C streptokoklar	Sefoksitin, Klindamisin/Metronidazol+aminoglikozid, SA/CA, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem
Üriner Enfeksiyon	Enterobacteriaceae, P.aeruginosa	Ofloksasin / Siprofloksasin, Amikasin Sulbaktam-Sefoperazon, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem
Yanık Enfeksiyonu	MRSA, Pseudomonas spp., Enterobacteriaceae	Vankomisin/Teikoplanin + (Amikasin+seftazidim) Vankomisin/Teikoplanin + Karbapenem

Tedavi süresi, alınan klinik cevaba ve etkene bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle 7-14 gündür. Genellikle kabul gören anlayış, hastanın ateşi düştükten veya laboratuvar değerleri normale döndükten sonra 3 gün daha antibiyotiklere devam edilmesi yönündedir. Febril nötropenik hastalarda ve S. Aureusun etken olduğu sepsisler bu tedavi anlayışının istisnalarının başında

gelmekte olup; febril nötropenik hastalarda en az 14 gün, S.aureus sepsisinde ise en az 21 gün tedavi sürdürülmelidir (48).

c. Yeni Tedavi Yaklaşımları: Bu yaklaşımlarda hedeflenen bakteri toksinleri ve konakta ortama salınan mediyatörlerin nötralize edilmesiyle sendromun ilerleyişini durdurmak veya yavaşlatmaktır. Bu amaçla yürütülen çalışmalarda bakteri toksinleri (endotoksin), TNF, IL-1 gibi inflamatuvar yanıtta rol oynayan sitokinler, nötrofil gibi inflamatuvar hücreler, NO, PAF, Bradikinin gibi inflamatuvar yanıtın çeşitli elemanları hedef alınmaktadır. Sepsiste yeni tedavi yaklaşımları aşağıda özetlenmiştir (60, 70) :

A. Antiendotoksin Tedavi :

1. Poliklonal antikorlar
2. Monoklonal antikorlar

B. Antisitokin Tedaviler :

1. Anti-TNF antikorlar
2. IL-1 reseptör antagonistleri (IL1ra)

C. Nötrofillere Yönelik Tedavi Yaklaşımları:

1. Monoklonal lökosit adezyon kompleks (CD11/18) antikorlar.
2. Granülosit-monosit koloni stimulan faktör

D. NO sentaz inhibitörleri

Tüm bu üzerinde çalışmalar yapılan yeni tedavi yaklaşımlarına rağmen henüz yararı kesin olarak gösterilmiş ve rutin uygulamaya girmiş bir tedavi modalitesi yoktur.

d. Glukokortikoid Tedavisi: Etki mekanizması;

1. Endotoksine bağlı mikrovasküler permeabilite artışını azaltır.
2. Lizozom ve hücre membran yapısını stabilize eder.
3. Kompleman aktivasyonunu engeller.
4. Oksijen-hemoglobin disosiasyon eğrisini sağa kaydırır.
5. Fosfolipazdaki inhibisyon ile araşidonik asit metabolizmasının lipooksijenaz ve siklooksijenaz yollarının sonucunda oluşan bioaktif lipidlerinin yapımını azaltır.
6. Granülositlerin agregasyonunu önler.

7. Miyokardiyal performansı artışa neden olur. Muhtemelen serbest oksijen radikallerinin oluşumunu önler.
8. Trombosit agregasyonunu azaltır.
9. Pulmoner venöz spazmın çözülmesini sağlar. Oluşan permeabilite defektini de onararak pulmoner vasküler kan akımını düzeltir.

2.2. Nitrik Oksit

1980' li yıllarda Furchgott ve Zawadzki' nin, asetilkolinin, endotel hücrelerinden bir faktör salınmasını sağladığını ve bu faktörün düz kaslara etki ederek vazodilatasyona neden olduğunu ortaya koymaları ile yeni ve bir o kadar da geniş bir araştırma alanı açılmış oldu. Bu faktöre endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adı verildi (74, 75, 76). 1986-1987 yıllarına gelindiğinde Furchgott ve L. Ignarro, birbirinden bağımsız olarak EDRF' nin nitrik oksit olabileceğini savundular. 1987 yılında da Salvador Moncada' ve arkadaşları, NO' in L-Arjinin denilen aminoasitten sentezlendiğini ortaya koydular (74, 75, 76). Aynı yıl içerisinde hem Palmer ve ark., hem de Ignarro ve ark. yaptıkları farklı çalışmaları ile bu faktörün NO olduğunu ispat ettiler. (74, 75)

NO; güçlü vazodilatör etkisi olan, önemli bir hücre içi sinyal iletim ajanı, atipik bir nörotransmitter, immünolojik hadiselerde görev alan nonspesifik sitotoksik bir mediatördür. Düşük dozlarda iken toksik olmayıp önemli fizyolojik görevlerde rol alır (75). NO' nun oldukça kısa bir yarı ömrü vardır. Dokudaki yarı ömrü 10-60 saniye kadardır; ancak ortamda doku bulunmaması ve oksijen varlığında 4 dakikaya kadar uzayabilir. Ancak yine de uygun in vivo ve in vitro koşullarda nitrit ve nitrat birikimi, NOS aktivitesinin izlenmesi ve ölçülmesinde kullanılmaktadır (77). Çevresel bir toksin ve biyolojik bir mediatör olarak fonksiyon gören gaz yapısında olan ilk moleküldür. Aynı anda farklı hücre türlerinde sentezlenen; parakrin veya otokrin mediatör fonksiyonu bulunan NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi etkisiyle sentezlenmektedir. NOS stereospesifik olarak yarı esansiyel aminoasit olan L-Arjinini substrat olarak kullanmakta ve sonuçta NO ve L-Sitrülin oluşmaktadır. Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ile kofaktör olarak, redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH 4)' e ihtiyaç vardır (76, 78, 79). Bilinen üç NOS geninde sekiz DNA sekansı olduğu saptanmıştır; bazı dokularda (akciğer, pankreas, mide, uterus) ve sinir

dokusunda bulunan nöronal NOS (nNOS), immünolojik uyarılarla indüklenen ve hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerde bulunan indüklenbilir NOS (iNOS) ve endotel hücrelerde bulunan endotelyal NOS (eNOS)' tur. Bu ikisine birden yapısal NOS (cNOS) denir. Endotoksin ve proinflamatuvar sitokinlerin (interferon, bazı interlökinler ve TNF) iNOS' u indükleyerek NO üretimini artırdığı gösterilmiştir (80, 81). NO' in gösterdiği etkiler çözünebilir hem içeren guanilat siklaz aktivasyonu ile oluşur. Sonuçta oluşan cGMP, hücre içi serbest kalsiyum düzeylerini azaltacak olan hücre içi olayın tetiklenmesini sağlamaktadır. NO'in biyolojik fonksiyonları hücre içi kalsiyum seviyelerini etkileyen maddeler ile yakından ilişkilidir. cNOS aktivitesi hücre içi kalsiyum düzeyi ile orantılıyken, iNOS aktivitesi için istirahat halinde hücre içindeki kalsiyum miktarı yeterlidir. Serbest oksijen radikali olarak NO oldukça reaktif olup birçok madde ile etkileşime girebilir. NO kanda hemoglobinin hem grubu ile etkileşime girerek nitrit ve nitrate metabolize olur. Kanda nitrat, NO' in temel stabil biyoreaksiyon ürünüdür. NO' in ayrıca proteinlerin ve aminoasitlerin thiol (-SH) grupları ile reaksiyona girmesi sonucunda stabil nitrozothioller oluşabilir (80, 81).

Nitrik Oksit ve Sepsis Patofizyolojisi

Oksidatif stres durumunda NO' in sitotoksitesiyi, mutagenезisi ve DNA hasarını hatta apoptozisi arttırıcı etkisi vardır. Ayrıca NO, yapısında demir-sülfür bulunduran enzimlerin fonksiyonunu değiştirir, mitokondrial solunumu bozan zararlı etkiler gösterir. NO süperoksitle reaksiyona girerek peroksinitrit üzerinden hidroksil ve nitrojen-dioksit radikallerini oluşturur. Ortaya çıkan peroksinitrit hücrede nükleer bir enzim olan poli ADP-riboz sentaz (PARS) aktivasyonuna neden olur. PARS enzimi nikotinamid adenin dinükleotidi substrat olarak kullanır. Bu olaylar zinciri ATP tüketimine ve hücrenin ölümüne yol açabilir (82, 83, 84).

2.3. Serbest Oksijen Radikalleri

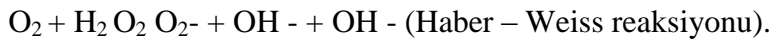
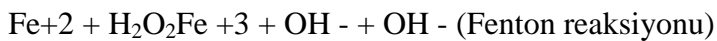
Genel olarak serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan reaktif atom ya da moleküllerdir. Bu eşlenmemiş elektronlar oldukça reaktiftir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Temel görev yapan maddeler oksijenin kendisi, O₂, H₂O₂, geçiş

metallerinin iyonları ve OH- radikalidir. Moleküler oksijen güçlü bir oksidandır ve eslenmemiş iki elektron tasir. Bu yüzden oksijen molekülü bazen biradikal olarak da değerlendirilir. Oksijen en son suya indirgenirken kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilir. Bunlar; O_2^- radikali, OH - radikali ve H_2O_2 'dir. (85).

Süperoksid Radikali (O_2^-): Oksijenin bir elektron alıp indirgenmesi sonucunda aerobik hücrelerin hemen hemen hepsinde serbest süperoksit radikal anyonu oluşur. Süperoksid, serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Bu radikal zararlı etkilerini H_2O_2 için substrat fonksiyonu yaparak gösterir. Süperoksidin nitrik oksit ile birleşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Proteinlere zararlı etkileri olan peroksinitrit; azot dioksit (NO_2), OH - radikali ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşür. Süperoksid ile perhidroksil radikali beraber reaksiyona girdiğinde biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonu sonucunda oksijen ve hidrojen peroksid meydana gelir.

Hidrojen Peroksid (H_2O_2): H_2O_2 ' in üretiminde süperoksit dismutaz enzimi görev almaktadır. H_2O_2 fazla reaktif bir radikal değildir. Süperoksid ile reaksiyona girer ve en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturacak şekilde kolaylıkla yıkılabilir (86).

Hidroksil Radikali (OH -): Hidroksil radikali Haber-Weiss reaksiyonu, Fenton reaksiyonu ya da suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalmasıyla oluşan son derece reaktif bir oksidandır. Yarılanma ömrü çok kısa olup meydana geldiği yerde büyük hasara sebep olur. Tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına neden olur.



Singlet Oksijen: Radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikallerin reaksiyonları sonucunda meydana gelir ve serbest radikal reaksiyonların başlamasını da sağlar. Doymamış yağ asitleri ile de doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini oluşturur ve OH - kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlamasını sağlayabilir.

A. Biyolojik kaynakları:

- Aktive edilmiş fagositler (Respiratory Burst)
- Antineoplastik ajanlar : Nitrofurantoin, Bleomisin, Doksorobisin ve Adriamisin,
- Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, solventler, anestezipler, aromatik hidrokarbonlar).
- Stres; Streste katekolamin miktarı artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır.
- Radyasyon,
- Bağımlılık yapıcı maddelerin kullanımı: Alkol ve uyuşturucular

B. Intraseküler kaynakları:

- Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidropterinler, antibiyotikler,
- Mitokondrial elektron transportu,
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P- 450, sitokrom B 5),
- Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler,
- Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz , triptofan dioksijenaz , hemoglobin,
- Plazma membranı: Lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonu,
- Oksidatif strese neden olan durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon.

Hücre membranına bağlı bir şekilde ve endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom B5 ve sitokrom P-450 enzimlerinin doymamış yağ asitlerini oksitlemesiyle süperoksit radikalleri meydana gelir (87).

Hücrelerin fagositoz işlemi sırasında oksijen kullanımları artar. Bunun sonucu olarak hidrojen peroksit, hipokloroz asit, süperoksit radikali ve hidroksil radikali oluşur. Diğer bir serbest oksijen radikali kaynağı olarak enzimlerin katalitik sikluslarının ana ürünleri gösterilebilir. Aldehid oksidazın yapısı ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğu aynı olup, superoksit radikali üretir. Benzer şekilde dihidroorotat dehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, amino asit oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimler de radikal oluşmasına sebep olurlar. Araşidonik

asidin lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolu ile enzimatik oksidasyonu sonucu serbest oksijen radikalleri ara ürün halinde ortaya çıkar (88).

2.4. Endojen Antioksidanlar

A. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz: Oksijen potansiyel olarak toksik bir maddedir. Oksijenin toksisitesinin nedeni süperoksit dönüşümüdür. SOD ise süperoksit radikalının toksik etkilerine karşı koruyucu bir enzimdir. SOD, süperoksit anyonu ve H_2O_2 radikali oluşumunu önler .

Katalaz: Hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar. Peroksidaz aktivitesi mevcuttur. Peroksizomlarda yerleşmiştir. Hidroksil radikali gibi bazı toksik metabolitlerin oluşumunu engeller (87).

Glutasyon peroksidaz: Hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. Lipid peroksitlerini toksik olmayan alkole çevirir. Hidrojen peroksiti kimyasal olarak detoksifiye eder. Redükte glutasyon (GSH) memeli hücrelerinde küçük miktarlarda (milimolar konsantrasyonda) mevcuttur ve en önemli endojen antioksidanların arasındadır. Detoksifikasyon, aminoasit transportu, koenzimlerin üretimi gibi hücrel görevlerde bulunur. Sellüler ortam için GSG indirgeyici bir tampondur. Düşük glutasyon seviyeleri kanser, viral enfeksiyonlar, bağışıklık sistemindeki bozukluklar, sepsis gibi ciddi hastalıklara eşlik edebilir. NAC glutasyonun öncülüdür. Hem glutasyon seviyelerini artırır hem de serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlar. (89).

Glutasyon -S-transferaz: Özellikle araşidonik asid ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı savunma mekanizması oluştururlar.

Sitokrom Oksidaz: Etkilerini mitokondri içerisinde moleküler oksijeni kullanıp serbest radikal oluşumunu önleyerek gösterir.

B. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar: Lipid fazda ve sıvı fazda olmak üzere 2 gruba ayrılabilir

1) **Lipid fazda bulunanlar:** alfa-tokoferol (E-vitamini), β - karoten.

2) Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar: Askorbik asid, glutasyon, melatonin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, metionin, albumin, bilirubin (90).

2.5. Eritropoetin

2.5.1. Yapısı ve Fizyokimyasal Özellikleri

Eritropoietin (EPO), esas olarak böbreklerden salgılanan glikoprotein yapıda bir hormondur (91). Molekül ağırlığı, 30.400 dalton ile 34.000 dalton arasında olup, yaklaşık %30 ile %49 oranında karbonhidrat içermektedir. Bu karbonhidratın %11'ini sialik asit, %11'ini heksoz ve %8'ini N-asetilglukozamin'in oluşturduğu bildirilmektedir (92). EPO molekülünün helikal yapıda olup, 2 uzun ve 1 kısa sarmal bağlarla birbirine paralel olmayan 4- α -heliksten oluşan bir globüler protein olduğu düşünülmektedir. Plazmadaki eritropoetin molekül ağırlığı yaklaşık 30400 dalton'dur (93). EPO, 193 aminoasitlik bir proteindir ve hücrelerden salgılanma öncesinde N terminalinden 23 aminoasitlik bir kısmı ayrılarak periferik kana salınır. Periferik kana salgılandığında karboksil terminalinde 166. pozisyondaki arjininin uzaklaştırıldığı gösterilmiştir. İnsan plazmasında, üriner EPO'da ya da pürifiye rekombinant EPO'da arjinin rezidüleri bulunmadığından dolayı dolaşımdaki EPO 165 aminoasit içermektedir. Karbonhidrat kısmı fukoz, mannoz, N-asetilglukozamin, galaktoz ve N-asetilnöraminik asitten oluşmaktadır. Terminal N-asetilnöraminik asit EPO metabolizması için önem taşımaktadır. Plazmadaki asialo-eritropoetin, galaktozun karaciğerdeki galaktoz reseptörlerine bağlanması nedeniyle dolaşımdan hızla uzaklaştırılır. Plazma EPO'su göreceli olarak sıcaklığa karşı dayanıklı olan α -2 globulin yapısında olup, pH 3-4 arasında izoelektrik noktada saptanır. Pürifiye r-hEPO'su α ve β formunda, benzer biyolojik aktivitesi, moleküler kitleleri ve aminoasit bileşimleri olan hidroksi-apatit kolonlarından oluşmaktadır. Eritropoetin α formu, klinikte epojen olarak kullanılmaktadır ve β formuna göre daha yüksek oranda karbonhidrat oluşumları içerir (93).

2.5.2. Yapım Yeri ve Etki Mekanizması

EPO, renal peritübüler interstisyel hücreler, hepatositler ve kupffer hücreleri tarafından sentezlenmektedir (9, 93). Kronik böbrek yetersizliği (KBY) ve ileri

düzyeyde anemisi olan hastalarda serumdaki EPO seviyesinin oldukça düşük seviyelerde olduğu bilinmektedir. Anemi oluştuktan 1-1,5 saat sonra anemik fare ve ratların böbreklerinde ve karaciğerlerinde EPO-mRNA'sı tespit edilmiştir. Hemorajiden sonra böbreklerde EPO-mRNA düzeyi, normale göre 200 ile 1000 kat arasında olacak şekilde daha fazla belirlenmiştir (94). Anemide proksimal arterlerin stenozu ve distal bölgelerde mevcut oksijenin kullanılamamasına bağlı olarak gelişen hipoksi sonucunda, proksimal renal tubulus hücrelerinin bulunduğu bölgede fokal hipoksi alanları ortaya çıkmaktadır (95). EPO, hipoksiye yanıt olarak üretilir ve hormonun depolanmasının olmaması nedeniyle gerekli miktarı plazmada ve sadece biyolojik olarak aktif formda bulunmaktadır. Hipoksik uyarı, tüm EPO üreten hücrelerde heterojendir. Lokalize bir alanda EPO üreten hücreler üzerine gelen uyarılar bir eşik değere ulaştığında, bu alanlarda EPO üretimini başladığı bildirilmektedir (95). Renal ve hepatic parankimde EPO üreten spesifik hücrelerin varlığı gösterilmiştir. Bu EPO üreten hücreler, renal parankimin interstisyumunda, tübüler bazal membranın dış kısmında, çoğunlukla korteksin iç ve medullanın dış kısmında bulunmaktadır. Anemide bu hücrelerin sayıları ve EPO-mRNA düzeyi artmaktadır. EPO üretimindeki aşırı artış, EPO-mRNA'yı üreten hücrelerin sayılarının artışıyla orantılıdır (95, 96). Birçok çalışmada (9) erişkin karaciğerinin total EPO üretimine katkısının %10-15 olduğu saptanmıştır. EPO üretimi fetal dönemde böbrek ve karaciğer tarafından sentezlenirken, doğumdan hemen sonra bu üretim büyük oranda böbreklerde olmaktadır. Ayrıca yaş, cinsiyet, menstrüel siklus ve sigara dolaşımındaki EPO seviyesini etkilememektedir. Serum seviyesi, hipoksi ya da kanama olmadıkça stabildir. Serumdaki EPO'nun sabah vakitlerinde en düşük, akşamları ise en yüksek seviyede seyrettiği ancak, bunun bir klinik önemi olmadığı bildirilmektedir (97). Dalakta da EPO aktivitesinin bulunduğu bildirilmiştir. Ancak splenektominin ya da dalakta ortaya çıkan hipoksinin, EPO sentezi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı saptanması üzerine, EPO sentezinin makrofaj kaynaklı olduğu sanılmaktadır. EPO'nun yıkımı, esas olarak karaciğer ve böbreklerde yapılmaktadır. Yıkımda temel görevi karaciğer üstlenmesine rağmen, nefrektomi yapılan ya da ureterleri bağlanan köpeklerde EPO' nun yarı ömrünün uzaması, böbreğin EPO metabolizmasında görev aldığını düşündürmektedir (97). Hematopoezis, hematopoietik kök hücrelerden olgun kan hücrelerinin oluşumuna

kadar geçen bir süreci tanımlar. İlk hematopoietik seri ön hücreler, çok yönlü farklılaşma kapasitesine sahiptir. Olgunlaşma arttıkça farklılaşma, tek bir yönde özelleşerek periferik kanda görülen olgun hücreleri meydana getirir (97). EPO, primer olarak eritroid seri ön hücrelerin çoğalması (proliferasyon) ve olgunlaşmasını (maturasyon) uyararak için kemik iliği üzerine etki gösterir. En az iki büyüme faktörü (IL-3, GM-CSF) tarafından uyarılan çok yönlü (pluripotent) hematopoietik kök hücreler, EPO'ya yanıt veren özelleşmiş eritroid seri ön hücrelere dönüşürler (97).

2.5.3. Eritropoetin Reseptörleri

EPO, son zamanlarda tanımlanan büyüme faktörü reseptörleri ailesinin bir üyesi olarak belirtilen spesifik EPO reseptörüne bağlanır. Eritropoetin, eritroid progenitör hücrelerin diferansiyasyon ve proliferasyonunun uyarılması ve eritroid hücrelerin olgunlaşma sürecinde yaşama kabiliyetinin desteklenmesi şeklindeki spesifik etkilerinin, EPO'nun membran reseptörlerine bağlanması sonucunda ortaya çıktığı gösterilmiştir (98). Spesifik EPO reseptörleri, sadece insanlarda, eritrolökemik hücrelerde, sıçan eritroid hücrelerinde, eritroid elementlerin bol miktarda bulunduğu fetal karaciğer dokusunda, fare ve rat plasentasında ve megakaryositlerde tespit edilmiştir (99). Karaciğer, akciğer, beyin ve iskelet kasları gibi hematopoietik olmayan dokuların ve monositler ile lenfositler gibi non-eritroid hematopoietik hücrelerin EPO reseptörleri bulunmamaktadır (100). EPO'yu bağlayan düşük ve yüksek affiniteli olmak üzere iki tip EPO reseptörü tespit edilmiştir (101). EPO reseptörleri, ilk olarak eritroid seri ön hücrelerinde tanımlanmıştır. Yüksek affiniteli reseptörlere bağlanma tam biyolojik etkinin ortaya çıkması için gerekmektedir (102). Eritroid hücrelerdeki EPO reseptörlerinin sayısı az (yaklaşık her hücrede 1000 molekül) ve değişkendir. EPO reseptörleri, insan küme şekillendiren eritroid hücresi olarak adlandırılan hücrelerde (BFU-E) tespit edilebilir ve eritroid seri hücrelerin BFU-E'ler, koloni şekillendiren eritroid ünitesine (CFU-E) doğru maturasyon sürecinde bu reseptörlerin sayısında da artış gözlenmektedir. CFU-E ile proeritroblast arasındaki bir süreçte hücre yoğun EPO reseptörlerine sahip olup proeritroblastın maturasyon sürecinde reseptör sayısında azalma gözlenir ve ortokromatik eritroblast evresinde reseptörler ortadan kalkar (100, 101). Reseptörün

ekstrasitoplazmik kısmı EPO bağlayıcı bölge ve intrasitoplazmik C terminali ise sinyal iletimi ile ilgilidir. EPO' nun membran reseptörüne bağlanmasını takiben EPO, hücre içine alınır ve ardından parçalanır. İnsan CFU-E'de iki çeşit EPO reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlere ait genin in situ hibridizasyonda 19. kromozomda bulunduğu açığa çıkarılmıştır. İnsan EPO reseptöründeki 508 ardışık aminoasit sırasının yaklaşık %80'inin fare EPO reseptörü ile homolog yapıda olduğu saptanmıştır. Reseptörlere bağlanmayı takiben EPO, endositoz yoluyla hızlı bir şekilde hücre içine alınır (99, 101). Bunun ardından hücre içi kalsiyum konsantrasyonu, cAMP, cGMP, tirozin spesifik protein kinaz, fosfotidilinositol ve protein-kinaz C düzeylerinde artış görülmesi, EPO'nun etki mekanizmasının bu yolla olduğunu düşündürmektedir (9, 101). Eritroid hücrelerde bulunan EPO reseptör etkileşimi ile başlatan bu türdeki olaylar sonucunda hücrelerde proliferasyon, diferansiyasyon ve matürasyon fazlarının gerçekleştiği düşünülmektedir (93). Önceleri EPO'nun sadece hematopoetik sistem hücrelerindeki reseptörlere spesifik olarak bağlandığı görüşü mevcutken (103) günümüzde epitelyal hücrelerde (104, 105), nöral orijinli hücrelerde de EPO reseptörleri bulunduğu bildirilmiştir (106). Ayrıca ratlarda hipokampusta ve primer hipokampal nöron kültürlerinde EPO reseptörlerinin varlığı da gösterilmiştir (107, 108). Hormonun hücre içine girmesiyle total RNA sentezinde, glikoz ve Fe alımında, α ve β -globin gen transkripsiyonundaki artış, hemoglobin sentezinin artmasına neden olur. Bütün bu değişiklikler, eritroid seri hücrelerin olgunlaşmasına bağlı olarak retikülosit ve olgun eritrosit sayısındaki artışa neden olmaktadır.

2.5.4. EPO Farmakokinetiği ve Metabolizması

EPO metabolizmasında görev alan primer organ karaciğerdir. Hormon, böbreklerde ve karaciğerde depolanmamaktadır. Dolaşımdaki EPO'nun konsantrasyonu, üretim oranını etkilemezken, plazma klirensi oldukça yavaştır (insanlarda 4-12 saat) ve plazma EPO seviyesine bağımlı değildir. Sağlam hayvanlarda EPO klirensi, hızlı ve yavaş olmak üzere iki aşamalı bir şekilde olmaktadır (109). EPO 0.5 ml/dk oranında böbreklerden yavaş bir şekilde atılmaktadır (109). EPO yarılanma ömrünün ratlarda yaklaşık olarak 1,5-3,5 saat, koyunlarda 11 saat, tavşanlarda 8-10 saat ve köpeklerde 9 saat olduğu bulunmuştur.

Sağlıklı insanlarda pürifiye rhEPO ve endojen EPO'nun yarılanma ömrü 4-12 saattir (110, 111). İntravenöz (İV) bolus doz olarak verilen pürifiye r-hEPO plazma klirensi eksponansiyel bir şekilde gerçekleşir. Eliminasyon yarılanma ömrü normal insanlar ve son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda 2-13 saat olarak bildirilmiştir. Plazma EPO klirensi yaklaşık 10 ml/dk'dan azdır. İnsanlarda pürifiye insan eritropoetini plazma volümüne bağlı olmakla birlikte dağılım volümü yaklaşık 30-100 ml/kg olarak belirlenmiştir. EPO üretiminin feedback mekanizması üzerinde yapılan birçok çalışmada EPO'nun plazma düzeyleri ve böbrekte EPO üretiminin inhibisyonu arasında bağlantı bulunamamıştır. İnsanlarda EPO, İV bolus şeklinde verildiğinde doza bağlı seviyeler 1,5 saat içinde tespit edilebilir. İV yarılanma ömrü yaklaşık 5 saattir. Subkutan (SC) uygulamalardan sonra ise serum pik düzeyine 12-24 saat sonra ulaşmaktadır. SC yolla yarılanma ömrü yaklaşık 20 saattir. SC uygulama ile yüksek EPO seviyeleri 48 saate kadar kalmaktadır. EPO'nun %3-10 kadarı değişmeden idrarla atılır. SC uygulamada daha düşük ancak, daha kalıcı EPO düzeylerinin olması, tedavide daha etkili olmaktadır. Ayrıca maliyeti de düşürdüğü için tedavide önemli bir avantaj sağlamaktadır. KBY hastalarında önerilen doz genellikle haftada 3 kez 50 Ü/kg SC EPO uygulamasıdır (112, 113). Ortalama SC verilen dozun sadece %25'i absorbe olur. SC uygulama, İV ve İP uygulamadan daha etkindir (112). Ancak farelere haftada 3 kez İP olarak EPO enjekte edildiğinde hematokrit cevabının fazla olduğu tespit edilmiştir (113). EPO'nun intrapritoneal olarak efektif kullanılabileceğine dair çalışmalar vardır (114).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziyojji laboratuvarında yapıldı. Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı, Fiziyojji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Tıbbi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı.

3.1. Hayvanlar ve Diyet

Çalışmada; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 19/10/2010 tarih ve 176/2010 sayılı onayı alınarak TİCAM laboratuvarından elde edilen ve ağırlıkları 200-300 gr arasında değişen 24 adet Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlarda cinsiyet ayrımı gözetilmedi. Hayvanlar deney süresince standart laboratuvar koşullarında, oda sıcaklığında korundular, standart rat yemi ve musluk suyu ile beslendiler.

3.2. Deneysel Protokol

Tüm ratlara 12 saatlik açlığı takiben intraperitoneal 60mg/kg Ketamin Hidroklorür (parke Davis) ve 5mg/kg Xylazin (Bayer) anestezisi uygulandı. Anestezi derinliği; intraperitoneal enjeksiyondan 5 dk sonra bir dişli pensetle karın cildi sıkıştırılıp ağırlı uyarana verdiği yanıt kontrol edilerek tespit edildi.

Steril koşullarda steril malzemeler kullanılarak %10 luk povidon İyodin (Drog-san) temizliğini takiben 24 adet rat'a sol inguinal bölge derisine uygulanan insizyonla femoral arter ve femoral venleri izole edilerek pig tail 60 (polietilen) kateter vasıtası ile kateterize edildi. Femoral ven kateteri vena kavaya kadar ilerletilerek tespit edildi. Kanülasyon işlemi yapılmadan önce ve sonra, kanüller 100 İ.Ü./ml heparin içeren fiziyojji serum solüsyonları ile yıkanarak tıkanmaları önlendi. Kateterlerin ucu kapatılarak subkutan tünel vasıtasıyla enseden çıkartıldı. Cerrahi prosedür ve takip esnasında hipotermiden kaçınmak için bütün hayvanlar 36, 6 C 'de ısıtılmış cerrahi masada opere edildiler.

Ratlar randomize olarak üç gruba ayrıldıktan sonra kateterizasyon işleminden en geç 24 saatte olmak üzere;

Grup 1 (Sham grubu): Bu gruptaki 8 adet rat'a Anesteziyi takiben mesane kanülasyonu uygulandı. Postoperatif idrar takibi ile birlikte 14. saatten itibaren invaziv Tansiyon ve EKG kayıtları alındı 5 dakika aralıklarla vital bulguları kaydedildi. Kateterizasyon işleminden önce ve deney sonunda arter kan gazı, venöz kan gazı, hemogram, biyokimyasal ölçümler(AST, ALT, BUN, CR) için kan örnekleri alındı. Kanda ve karaciğer dokusunda MDA ölçümü için kan örnekleri alındı. Ratlar 24.saat sonunda aşırı ketamin anestezisi ile sakrifiye edildikten sonra histopatolojik inceleme için karaciğer ve böbrek dokusundan örnekler alındı.

Grup 2 (Kontrol grubu): Bu gruptaki 8 rata Anesteziyi takiben laparotomi ve çekal ligasyon perforasyon (ÇLP) uygulandı. Mesane kanülasyonu uygulandı. Kan örnekleri birinci gruptakine benzer şekilde alındı. Postoperatif, 14.saatten itibaren invaziv TA takiplerinde 90mmHg' nın altına tansiyon değerlerinin düşmesi veya ilk ölçülen tansiyon değerlerinden 40 mmHg ve daha fazla tansiyon düşmesi septik şok için anlamlı kabul edildi. 10µgr/dk Salin infüzyonu başlandı. Ratlara 24 saatin sonunda 1. Gruptaki gibi kan ve doku örnekleri alınarak aşırı doz ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

Grup 3 (Tedavi grubu): Bu gruptaki 8 rata 2. gruptaki gibi laparotomi çekal ligasyon perforasyon ve septik şok oluşturulduktan sonra kan örnekleri alındı. Çekal ligasyon perforasyon işleminden 60 dakika sonra 4000 IU/kg Eritropoetin subkutan yolla tek doz bolus verilerek hemodinamik yanıtları kaydedildi. Arter basınçları basınç transdüseri (Transpac IV, USA) ile ölçüldü.

Ratların invaziv arter basınçları ve kalp atım hızları Data Equationsystem (MP 100 Biopac USA) aracılığı ile monitörize edildi.

Kan gazı ölçümleri IRMA Blood Analyse System ile kateterizasyon işleminin ardından hem arter hem venöz olarak eşzamanlı yapıldı. Başlangıç kan gazı ölçümlerinin ardından alınan 0,6 ml kan üç katı salin infüzyonuyla replase edildi. Final kan gazı, invaziv ölçümler tamamlandığında deney sonunda alınarak tekrar değerlendirildi.

Başlangıç ve sonuç, hemogram ve biyokimyasal ölçümleri hastanemiz hematoloji ve biyokimya bilim dallarında standart yöntemlerle uygulandı. Karaciğer dokusunda ve kanda MDA ölçümleri hastanemiz biyokimya anabilim dalında,

karaciğer ve böbrek dokusundan alınan örneklerin histopatolojik incelemesi hastanemiz histoloji anabilim dalında değerlendirildi.

Ratların vücut ısıları rektal prop yardımıyla ölçülerek başlangıç ve sonuç değerleri kaydedildi.

3.2.1. Serum ve Dokuda MDA Ölçümü

Doku örneklerinin her biri hassas terazile tartılarak 0,15M KCL solüsyonu içinde 1:10 homojenize edilmiştir. Homojenatlar 4000 rpm'de 10 dk., +4°C 'de santrifüj edilerek supernatantlarda MDA ölçümü gerçekleştirildi. 0,4 ml supernatant başına 1,5 ml TBA (%0,08' lik ph:5,5), 1,5 ml asetik asit (%20 'lik ph:3.5) ve 0,2 ml %8.1' lik sodyum dodesil sülfat eklenerek karıştırılmıştır (115). MDA standartları stok MDA standartlarından taze olarak hazırlanmıştır. Tüm örnekler ve standartlar karıştırıldıktan sonra 100°C'de 1 saat kaynatılmıştır. Süre sonunda örnekler ve standartlar soğuk su ile soğutulup 5 ml n-butanol her birine eklenmiştir. Her bir tüp 4000 rpm' de 10 dk santrifüj edildi. Üzerlerindeki berrak sıvı alınıp örnek ve standartların absorbanları 532 nm' de kendi körüne karşı spektrofotometrede okutulmuştur. "Plazma MDA ölçümünde de süpernatan elde edildikten sonra yapılan tüm işlemler plazma için de uygulanmıştır" (116).

3.2.2. Histolojik Yöntemler

Histolojik değerlendirme hastanemiz Histoloji Anabilim dalı laboratuvarında yapıldı. Kontrol, tedavi ve sham gruplarını oluşturan tüm sıçanlardan karaciğer ve böbrek örnekleri alındı. Alınan karaciğer ve böbrek örneklerinin % 10'luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70'lik, %80'lik, %90'lık ve %96'lık alkol serilerinde 45'er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'er dakika ksilolde bekletildi. Karaciğer ve böbrek örnekleri şeffaflanmalarının ardından etüv içinde 65°C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi.

Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutulularak, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45°C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilen-Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilen ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dakika tutularak şeffaflandırıldı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapıldı ve karaciğer ve böbrek örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme hastanemiz Biyoistatistik Anabilim dalı laboratuvarında yapıldı. Çalışmada SPSS 13.0 ve Sigma Stat 3.1 paket programlar kullanılmıştır. Üç gruba ait normal dağılım gösteren Ölçümsel değişkenlerimizin değerlendirilmesinde One Way Analysis of Variance Testi yapılmış olup bu testin çoklu karşılaştırmalarında (Fisher LSD Method, Tukey Test) metodundan yararlanılmıştır. Öncesi – sonrası değişkenlerin ikili karşılaştırmalarında eşleştirilmiş t testi (Pairst Samples Statistics). Normal dağılım göstermeyen 3 gruba ait değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks, öncesi – sonrası değişkenlerin ikili karşılaştırmalarında Wilcoxon Signet Rank Testlerinden yararlanılmıştır.

4. BULGULAR

Ratların ağırlıkları sham grubunda (grup1) ortalama 252,134 (± 14) gr, çekal ligasyon perforasyon (kontrol) grubunda (grup2) 258,3734 (± 13) gr ve çekal ligasyon perforasyon eritropoetin (tedavi) grubunda (grup3) 261,165 (± 16) gr olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($P \geq 0,05$).

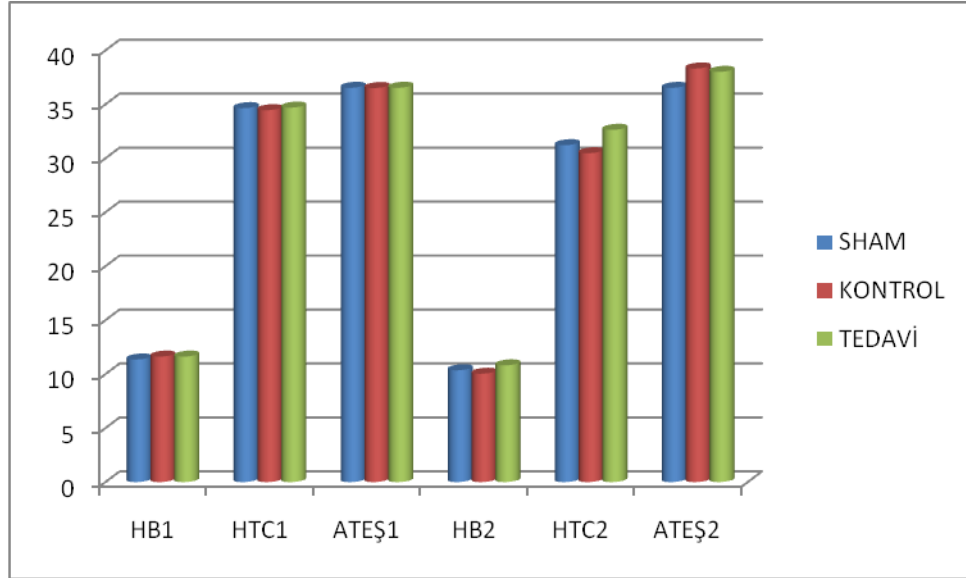
4.1. Hematolojik Sonuçlar

Ratların başlangıç hemoglobin değerleri 1. Grup'ta 11,36 ($\pm 1,11$), 2.grup'ta 11,62 ($\pm 1,27$) ve 3.grup'ta 11,63($\pm 1,01$) idi. Başlangıç hematokrit değerleri grup 1'de 34,65 ($\pm 3,56$), grup 2'de 34,46 ($\pm 3,75$) ve grup3'te 34,70 ($\pm 3,42$) idi. Gruplardaki beyaz küre değerleri grup1'de 7256,24($\pm 894,2$), grup2'de 7246,25 (± 1339), grup3'te 7770 (± 1441) idi. Platelet değerleri grup 1'de 502250 (± 174044), grup 2' de 480250 (± 140212), grup 3'te 554000 (± 186673) idi. Başlangıç ateş değerleri grup 1'de 36,53 $\pm 0,287$, grup 2'de 36,51 $\pm 0,33$, grup 3'de 36,53 $\pm 0,297$ idi. (Tablo 4.1)

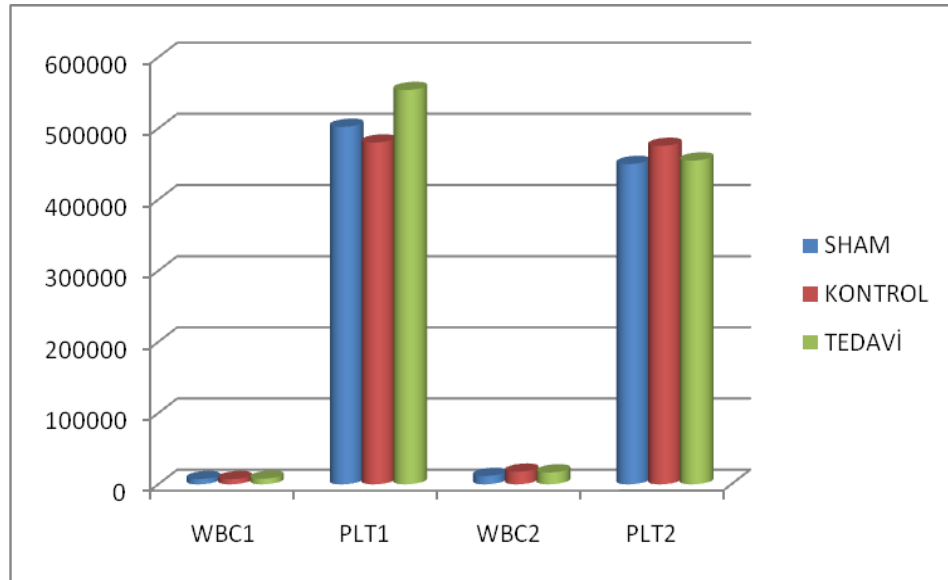
Tablo 4.1. Deney başlangıcındaki hemogram ve ateş değerleri.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	P
HB1	11,3625 $\pm 1,11732$	11,6250 $\pm 1,27139$	11,7350 $\pm 1,01101$	$P \geq 0,05$
HTC1	34,6500 $\pm 3,5605$	34,4625 $\pm 3,75421$	34,7000 $\pm 3,4222$	$P \geq 0,05$
WBC1	7256,24 $\pm 894,21$	7246,25 $\pm 1339,65$	7770,00 $\pm 1441,41$	$P \geq 0,05$
PLT1	502250 ± 174044	480250 $\pm 140212,8$	554000,00 $\pm 186673,8$	$P \geq 0,05$
ATEŞ1	36,53 $\pm 0,2875$	36,51 $\pm 0,3399$	36,53 $\pm 0,2973$	$P \geq 0,05$

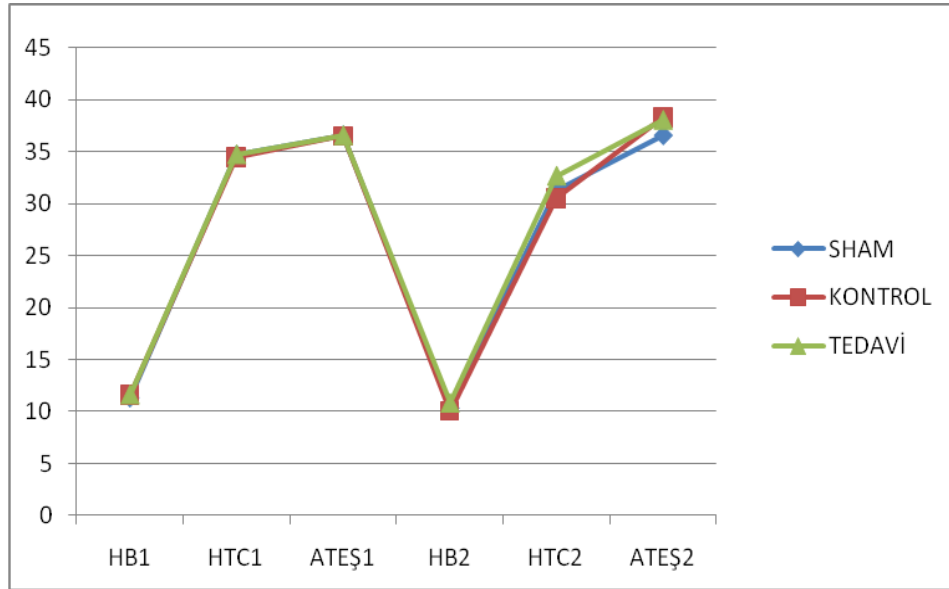
Gruplar arası farklılık Fisher LSD Metodu ile değerlendirildi. Hb1, Hematokrit 1, ateş, beyaz küre1 değerlerinde ve platelet1 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). Başlangıç hemogram ve ateş değerleri şekil 4.1, 4.2 ve 4.3' de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Başlangıç hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi



Şekil 4.2. Başlangıç hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi



Şekil 4.3. Başlangıç hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi

Deney sonunda yapılan ölçümlerde hemoglobin değerleri 1. grup'ta 10,36 ($\pm 0,78$) 2. grupta 10,03 ($\pm 0,87$) 3. grupta 10,81 ($\pm 0,79$) idi. Hematokrit değerleri 1.grupta 31,212 $\pm 2,18$ 2.grup'ta 30,475 $\pm 2,04$ ve 3.grup'ta 32,637 $\pm 2,07$ idi. Beyaz küre değerleri 1. grup'ta 11703,7 ± 2347 , 2. Grup'ta 17657,5 ± 1902 ve 3. Grup'ta 16652,5 ± 1509 idi. Beyaz küre değerlerindeki artış 2. ve 3. grupta beklendiği gibi sepsis ve septik şok açısından anlamlı bulundu. Trombosit değerleri 1.grupta 450000 ($\pm 106426,3$), 2.grupta 475500 (± 101843) 3.grupta 454875(± 118500) idi.

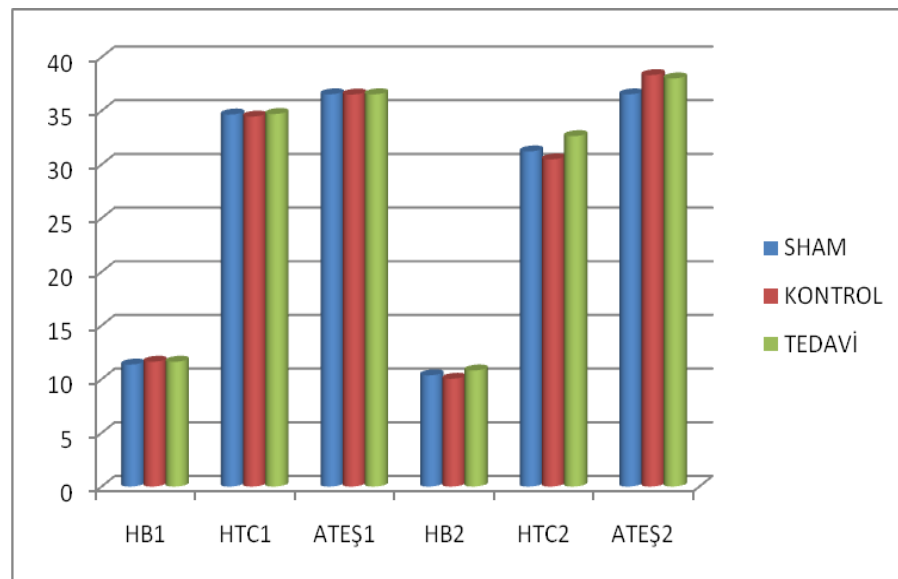
HB2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). Gruplar arası farklılık Fisher LSD metoduyla değerlendirildi. Grup 1 ve grup 2, grup1 ve grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). HTC2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). Gruplar arası farklılık Fisher LSD metoduyla değerlendirildi. Grup 1, grup2, grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). Beyaz küre (WBC2) değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P \leq 0,001$). Ancak grup2 ve grup3 arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Platelet 2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). Ateş 2 değerlerinde grup1 ve grup 2, grup1 ve grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı

fark bulundu ($P \leq 0,001$). Ancak grup2 ve grup3 arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). (Tablo 4.2)

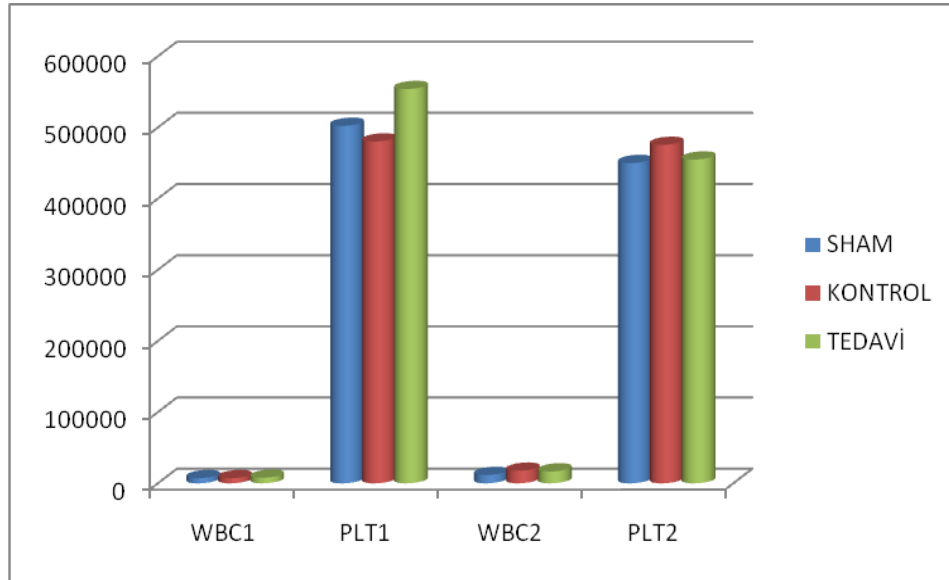
Tablo 4.2. Deney sonunda hemogram ve ateş değerleri.

	Grup1	Grup2	Grup3	P
HB2	10,36±0,789	10,03±0,870	10,81±0,798	$P \geq 0,05$
HTC2	31,21±2,18	30,47±2,04	32,63±2,07	$P \geq 0,05$
WBC2	11703,75±2347	17657,5±1902,16	16652,5±1509,20	$P \leq 0,001$
PLT2	450000±106426,36	475500±101843,01	454875±118500,67	$P \geq 0,05$
ATEŞ2	36,52±0,281	38,32±0,503	38,01±0,476	$P \leq 0,001$

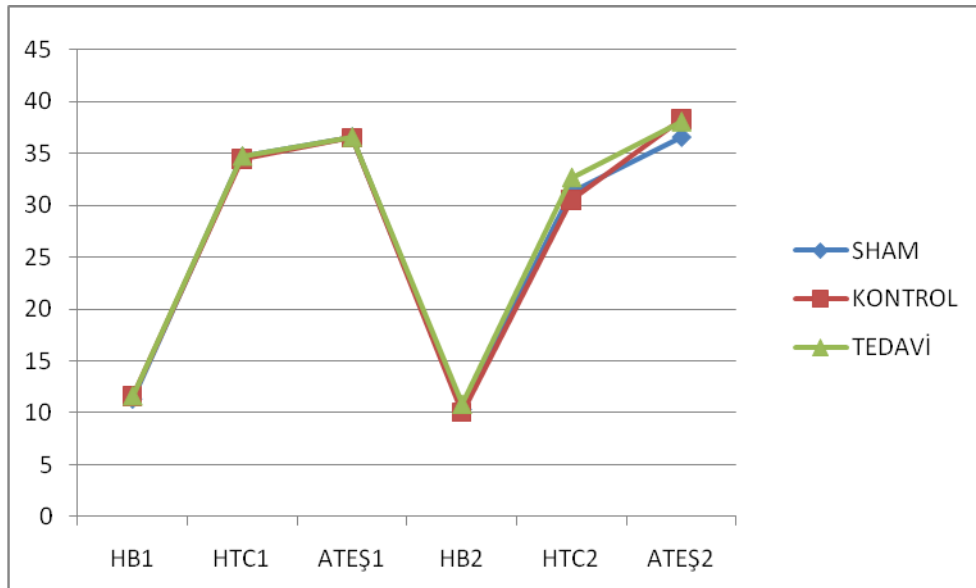
Başlangıçtaki ve çalışma sonundaki hemogram ve ateş değerleri şekil 4.4, 4.5 ve 4.6' da gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Başlangıçtaki ve çalışma sonundaki hemogram (HB1, HTC1) ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi



Şekil 4. 5. Başlangıçtaki ve çalışma sonundaki WBC1, WBC2, PLT1 VE PLT2 değerlerinin grafiksel gösterimi



Şekil 4.6. Başlangıç ve çalışma sonundaki hemogram ve ateş değerlerinin grafiksel gösterimi

4.2. Hemodinamik Sonuçlar

Ortalama arteriyel sistolik basınçları 0-15-60-90-120-240 ve 60.dakikalarda ölçülerek 1dakikalık ortalama değerleri alındı. 0. dakikaya OAB0 denildi. 15-60-90-

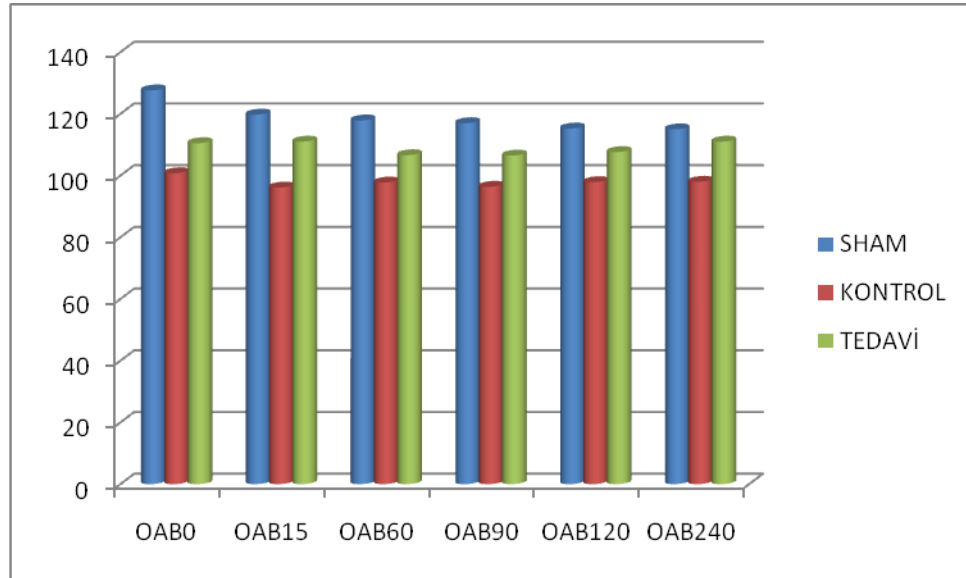
120-240 dakika ölçümleri, OAB15, OAB60, OAB90, OAB120, OAB240 şeklinde numaralandırıldı. Gruplar arası OAB karşılaştırıldı.

Deney sırasında ölçülen ortalama sistolik arteriyel basınçlar tablo 4.3' de gösterilmiştir.

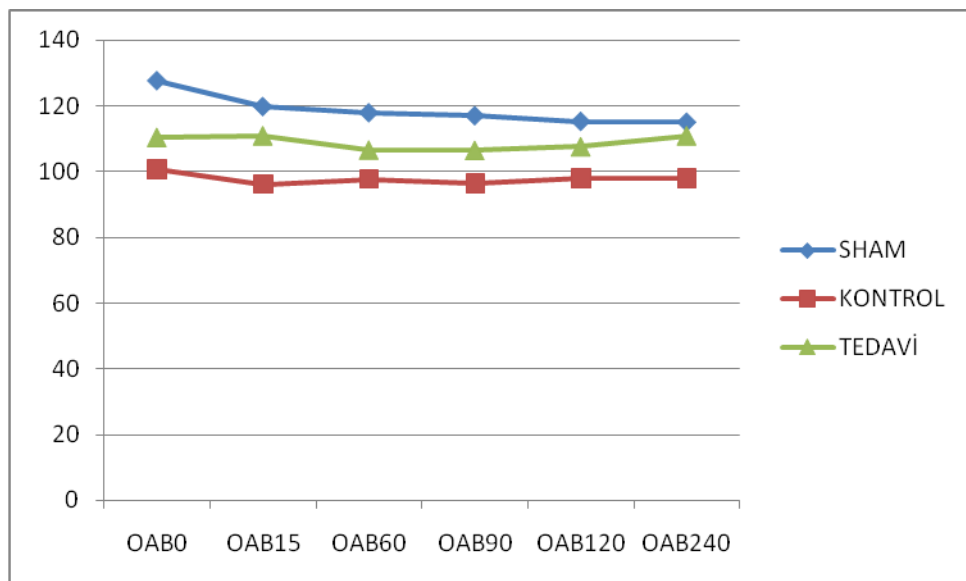
Tablo 4.3. Ortalama arteriyel sistolik basınçların gruplardaki seyri.

	Grup1	Grup2	Grup3	P
OAB0	127,62±12,29	100,75±12,76	110,50±13,41	P≤0,05
OAB15	119,75±16,42	96,12±7,39	111±14,46	P≤0,001
OAB60	117,87±16,67	97,75±8,56	106,62±13,31	P≤0,05
OAB90	117±9,30	96,37±6,18	106,50±10,01	P≤0,05
OAB120	115,25±9,55	97,87±8,49	107,62±8,07	P≤0,05
OAB240	115±8	98±5,45	111±7,70	P≤0,001

1.grupta OAB0 127,62±12,29, grup2' de OAB0 100,75±12,76 grup3' te OAB0 110,50±13,41 olarak bulundu. OAB15 grup1' de 119,75±16,42, grup2' de OAB15 96,12±7,39, grup 3' te OAB15 111±14,46 idi. OAB60 değerleri grup1' de 117,87(±16,67), grup 2' de OAB60 97,75(±8,56), grup3'te OAB60 106,62(±13,31) idi. OAB90 grup1'de 117(±9,30) grup2'de OAB90 96,37(±6,18), grup3'te OAB90 106,50(±10,01) idi. OAB120 Grup1'de 115,25 (±9,55), grup2'de OAB120 97,87 (±8,49) grup3'te OAB120 107,62 (±8,07) idi. OAB240 grup1'de 115(±8) grup2'de OAB240 98 (±5,45) grup3'te OAB240 111(±7,70) idi. (Şekil 4.7, şekil 4.8)



Şekil 4.7. Ortalama arteriyel sistolik basınçların gruplardaki seyri



Şekil 4.8. Ortalama arteriyel sistolik basınçların grafiksel gösterimi.

OAB1 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup1 ve grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($P \geq 0,05$).

OAB2 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup 1 ve Grup 3, Grup 2 ile

grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. ($P \geq 0,05$).

OAB3 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup 1 ve Grup 3, Grup 2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. ($P \geq 0,05$).

OAB4 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup 1 ve Grup 3, Grup 2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. ($P \geq 0,05$).

OAB5 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup 1 ve Grup 3, Grup 2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. ($P \geq 0,05$).

OAB6 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($\leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup 1 ve grup 2 ve grup 2 ile grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup 1 ve Grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. ($P \geq 0,05$).

Tablo 4. 4. Ortalama diastolik basınçların gruplardaki seyri.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	P
ODB0	84,50±10,01	52,25±5,36	61,75±8,77	$P \leq 0,05$
ODB15	78,25±12,44	45,50±4,98	61,75±6,36	$P \leq 0,001$
ODB60	86,25±6,54	45,00±4,40	63,50±8,19	$P \leq 0,001$
ODB90	85,50±5,73	45,12±2,61	63,50±6,30	$P \leq 0,001$
ODB120	85,25±4,13	45,50±5,09	63,75±6,79	$P \leq 0,001$
ODB240	85,00±8,75	46,44±4,40	65,25±7,05	$P \leq 0,001$

Ortalama diastolik basınç ODB0 grup1'de 84,5(±10,01) grup'2 de 52,25(±5,36), grup3'te 61,75(±8,77), ODB15 grup1 'de 78,25(±12,44), grup2' de 45,50(±4,98) grup3'te 61,75(±6,36), ODB60 grup 1 'de 86,25(±6,54), grup2 'de 45(±4,40), grup3' te 63,50(±8,19), OAB 90 grup1'de 85,50(±5,73), grup2'de 45,12(±2,61), grup3' te 63,50(±6,3), ODB120 grup1 'de 85,25(±4,13) grup2 'de

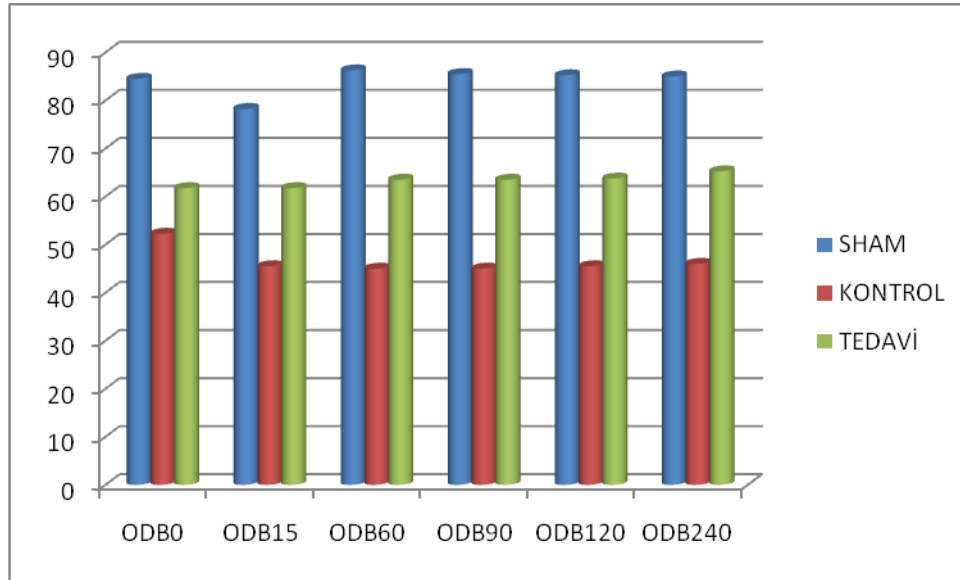
45,50(\pm 5,09), grup3 'te 63,75(\pm 6,79), ODB240 grup 1'de 85(\pm 8,75), grup2'de 46,44(\pm 4,40), grup3 'te 65,25 (\pm 7,05) olarak ölçüldü. Tablo 4.4' de ortalama diastolik basınçlar gösterilmiştir.

ODB0 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. grup1 ve grup2, grup1 ve grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($P \geq 0,05$).

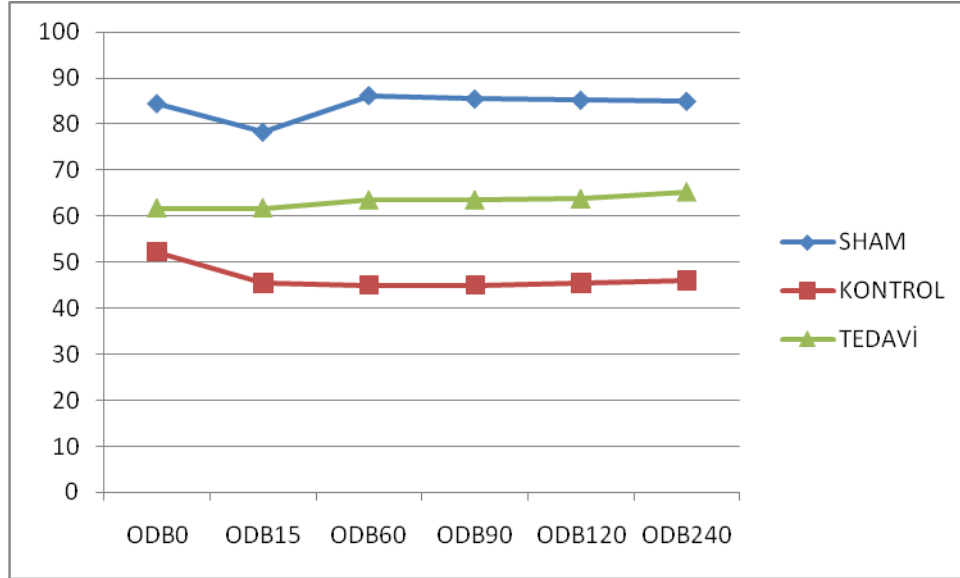
ODB15 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($P \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup1 ve grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$). Grup2 ve grup 3 arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P = \leq 0,001$).

ODB60 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P = \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup1 ve grup3, grup 2 ve grup 3 arasında istatistiksel olarak belirgin derecede anlamlı farklılık saptandı ($P = \leq 0,001$).

Ortalama diastolik basınçların gruplara göre dağılımı şekil 4.9 ve 4.10' da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Ortalama diastolik basınçların gruplara göre dağılımı.



Şekil 4.10. Ortalama Diastolik Basınçların Grafikselsel Gösterimi.

ODB90 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup 1 ve grup3, grup2 ve grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$).

ODB120 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup 1 ve grup3, grup2 ve grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$).

ODB240 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup 1 ve grup3, grup2 ve grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$).

Ortalama nabız hızları (ONBZH); ONBZH0 grup1’de 302,37($\pm 26,73$), grup2’de 256,37($\pm 29,24$), grup3’te 227,62($\pm 27,54$) idi. ONBZH15 grup1’de 313,25($\pm 23,15$) grup2 ‘de 278($\pm 20,12$), grup3’te 235,62($\pm 29,85$), ONBZH60 grup1’de 312,25($\pm 23,01$), grup2 ‘de 284($\pm 18,98$), grup3’ te 248,37($\pm 31,73$), ONBZH90 grup1’ de 314,5($\pm 21,56$), grup2’ de 286,37($\pm 14,88$), grup3’te 257,87($\pm 34,54$), ONBZH120 grup1’de 304,25($\pm 20,6$), grup2 285($\pm 15,6$), grup3’ te 264,87($\pm 31,89$), ONBZH240 grup1’de 297,62($\pm 17,80$), grup2’de 280,5($\pm 18,47$), grup3’te 260,5($\pm 31,02$) idi.

Ortalama nabız hızlarının gruplardaki seyri tablo 4.5’ de verilmiştir.

Tablo 4.5. Ortalama nabız hızlarının gruplardaki seyri.

	Grup1	Grup2	Grup3	P
ONBZH0	302,37(\pm 26,73)	256,37(\pm 29,24)	227,62(\pm 27,54)	$P \leq 0,05$
ONBZH15	313,25(\pm 23,15)	278(\pm 20,12)	235,62(\pm 29,85)	$P \leq 0,05$
ONBZH60	312,25(\pm 23,01)	284(\pm 18,98)	248,37(\pm 31,73)	$P \leq 0,05$
ONBZH90	314,5(\pm 21,56)	286,37(\pm 14,88)	257,87(\pm 34,54)	$P \leq 0,05$
ONBZH120	304,25(\pm 20,6)	285(\pm 15,6)	264,87(\pm 31,89)	$P \leq 0,05$
ONBZH240	297,62(\pm 17,80)	280,5(\pm 18,47)	260,5(\pm 31,02)	$P \leq 0,05$

ONBZH0, ONBZH15, ONBZH60, ONBZH90, ONBZH120, ONBZH240 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,05$) Fisher LSD testi uygulandı.tüm ONBZH değerlerinde grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$).grup1 ile grup2 arasında ve Grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

4.3. Renal ve Hepatik Fonksiyonlar, Doku ve Serum MDA Düzeyleri

İdrar miktarları grup1'de 14,68ml (alt sınır 12 üst sınır 16,5), grup2'de 6,12ml (alt sınır 4,9 üst sınır 7,5) grup3'te 10,1ml (alt sınır9,1 üst sınır11,1) idi.

İdrar kreatinin düzeyleri grup1'de 43,62 (alt sınır 41,5 üst sınır 45,5) grup2'de15,8 (alt sınır 13,5 üst sınır 17,5), grup3'te 24,25(alt sınır 20,20 üst sınır 28,2).111

Kan BUN düzeyleri başlangıçta grup1'de 22,25 (alt sınır 18,6 üst sınır 28) grup2 'de 25 (alt sınır 20 üst sınır 29), grup3'te 24,37 (alt sınır 20 üst sınır 30) idi. Deney sonunda yapılan ölçümlerde kan BUN düzeyleri (BUN2) 35,25 \pm 4,09, grup2'de 95,62 \pm 10,37, grup3 te 56,62 \pm 6,98 idi.

Kreatinin klerensleri grup1' de 1 \pm 0,26, grup2' de 0,11 \pm 0,09, grup3'te 0,56 \pm 0,14 idi.

Kan kreatinin düzeyleri deney başlangıcında grup1 de 0,46 (alt sınır 0,3 üst sınır 0,8) grup2'de 0,55(alt sınır 0,3 üst sınır 0,84) grup 3'de 0,45 (alt sınır 0,3 üst sınır0,6) idi.

AST1 düzeyleri deney başlangıcında grup1'de $37,5\pm5,63$ grup2'de $35,12\pm6,87$ grup 3'de $35,37\pm5,9$ idi.AST2 düzeyleri deney başlangıcında grup1 de $50,37\pm9,55$ grup2'de $383,87\pm17,56$ grup 3'de $230,62\pm12,6$ idi.ALT1 düzeyleri deney başlangıcında grup1'de $21,5\pm4,1$ grup2'de $20,37\pm6,25$ grup 3'de $21,5\pm7,01$ idi.ALT2 düzeyleri deney başlangıcında grup1 $35,37\pm5,97$ grup2'de $168,5\pm52,05$ grup 3'de $127\pm44,62$ idi.

Deneyin sonunda karaciğer dokusundan alınan örneklerden ve seum örneklerinden çalışılan MDA düzeyleri; MDADOKU ve MDAPL olarak isimlendirildi.MDADOKU grup1 'de $11,45\pm1,64$, grup2 'de $20,23\pm1,94$, grup3' de $13,4\pm1,08$ idi.MDAPL ise grup1 'de $2,41\pm0,66$, grup2 'de $7,78\pm1,42$, grup3' de $4,2\pm0,63$ idi (Tablo 4.6)

Tablo 4.6. Gruplardaki renal ve hepatik fonksiyonların, doku ve plazma MDA değerlerinin seyri

	Grup1	Grup2	Grup3	P
İMİKTARI	$14,68\pm2,60$	$6,12\pm1,24$	$10,12\pm0,99$	$P\leq0,001$
İKREATİNİN	$43,62\pm1,92$	$15,87\pm2,35$	$24,25\pm4,06$	$P\leq0,001$
KANBUN1	$22,25\pm3,49$	$25\pm3,16$	$24,37\pm3,85$	$P\geq0,05$
KANBUN2	$35,25\pm4,09$	$95,62\pm10,37$	$56,62\pm6,98$	$P\leq0,001$
KAN KREATİNİN1	$0,46\pm0,18$	$0,55\pm0,28$	$0,45\pm0,15$	$P\geq0,05$
KAN KREATİNİN2	$0,57\pm0,21$	$0,95\pm0,24$	$0,7\pm0,21$	$P\leq0,05$
KREATİN KLERENSİ	$1\pm0,26$	$0,11\pm0,09$	$0,56\pm0,14$	$P\leq0,001$
AST1	$37,5\pm5,63$	$35,12\pm6,87$	$35,37\pm5,9$	$P\geq0,05$
AST2	$50,37\pm9,55$	$383,87\pm17,56$	$230,62\pm12,6$	$P\leq0,001$
ALT1	$21,5\pm4,1$	$20,37\pm6,25$	$21,5\pm7,01$	$P\geq0,05$
ALT2	$35,37\pm5,97$	$168,5\pm52,05$	$127\pm44,62$	$P\leq0,001$
MDADOKU	$11,45\pm1,64$	$20,23\pm1,94$	$13,4\pm1,08$	$P\leq0,001$
MDAPL	$2,41\pm0,66$	$7,78\pm1,42$	$4,2\pm0,63$	$P\leq0,001$

İdrar miktarı değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P\leq0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup2 ile

grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,05$) grup1 ve grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

İdrar kreatinin değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($P \leq 0,001$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ve grup2, grup2 ile grup3 ve grup1 ile grup3 arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$).

BUN1 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($P \geq 0,05$).

Kan Kreatinin1 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($P \geq 0,05$).

Kan BUN2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Tukey Testi uygulandı. Grup1 ile grup2 , grup2 ile grup3 ve grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$).

Kan kreatinin2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,05$). Kruskal-Wallis Testi uygulandı. Grup1 ve grup2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,05$). Grup1 ile grup 3 ve grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$).

Kreatinin klerens değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi ($P \leq 0,001$). Tukey Testi uygulandı. Grup1 ve grup2 arasında, grup2 ve grup3 arasında, grup1 ile grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$).

MDAPL değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Tukey Testi uygulandı. Grup1 ile grup2 , grup2 ile grup3 ve grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$).

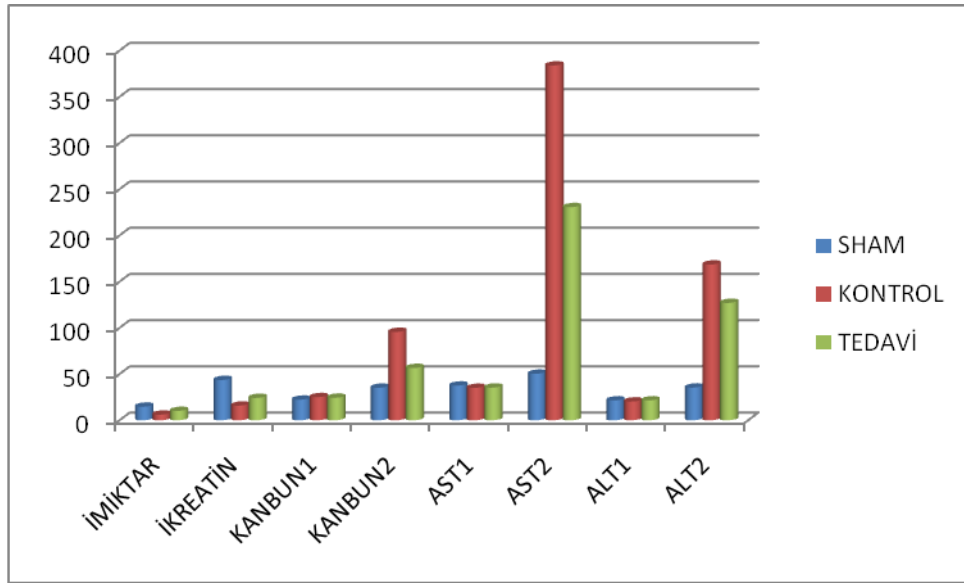
MDADOKU değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Tukey Testi uygulandı. Grup1 ile grup2 , grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$).

AST1 ve ALT1 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$).

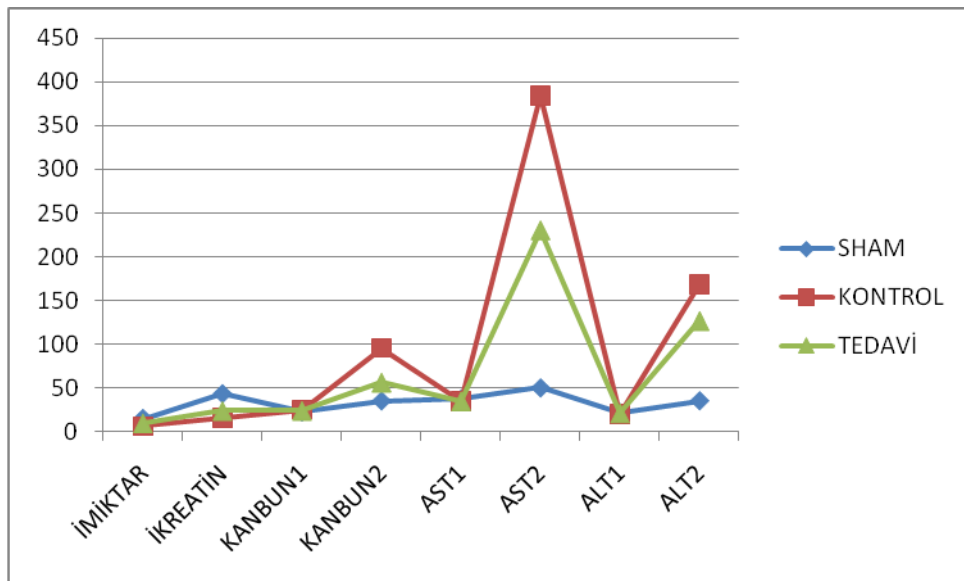
ALT2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Tamhane Testi uygulandı. Grup1 ve grup2 ve grup1 ile grup 3

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$).

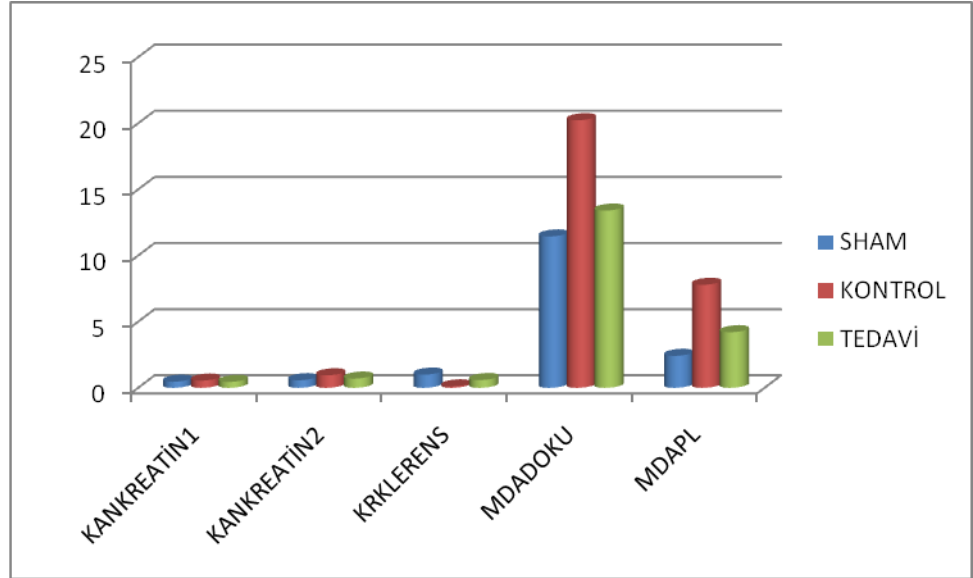
AST2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Kruskal-Wallis Testi uygulandı. Grup1 ve grup2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Grup1 ile grup 3 ve grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$) (Şekil 4.11, şekil 4.12, şekil 4.13, şekil 4.14)



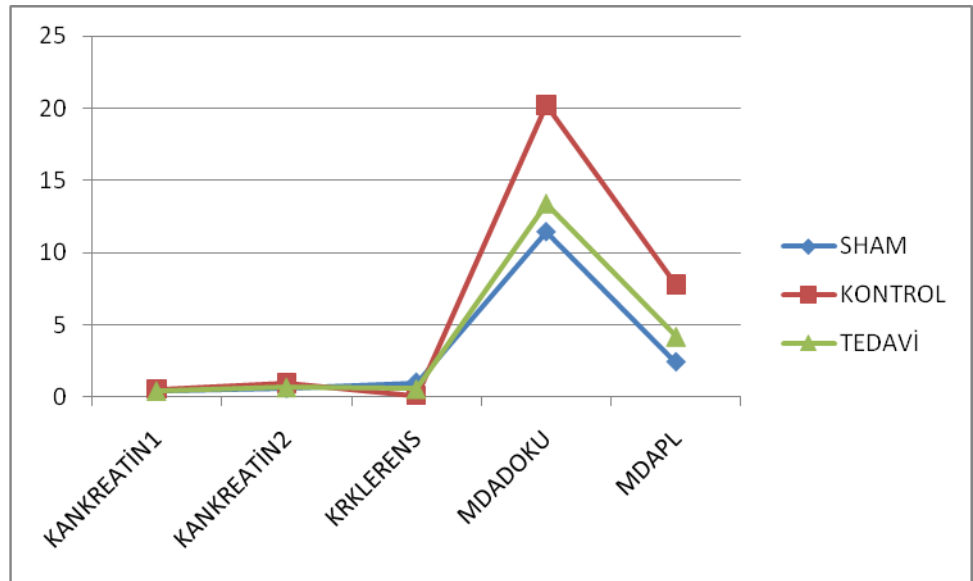
Şekil 4.11. Renal ve hepatic fonksiyonların gruplardaki seyri.



Şekil 4.12. Renal ve hepatic fonksiyonlarının grafiksel gösterimi.



Şekil 4.13. Renal fonksiyonların ve MDA düzeylerinin gruptaki seyri.



Şekil 4.14. Renal fonksiyonların ve MDA düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.4. Kan Gazı Sonuçları

Kangazı değerleri arteriyel ve venöz olmak üzere başlangıçta ve deney sonunda ölçüldü. Başlangıç arter kan gazı değerlerine PHA1, deney sonundaki arter kan gazı değerlerine PHA2 denildi. Venöz değerler benzer şekilde PHV1,PHV2 şeklinde adlandırıldı.

PHA1 Değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu($P \leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ile grup2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. Grup1 ile grup2 ve grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. PHA2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,05$).Fisher LSD testi uygulandı.Grup1 ile grup3, grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu($P \leq 0,001$). Grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Başlangıç ve çalışma sonundaki arter ve venöz kan gazı değerleri tablo 4.7’de sunulmuştur.

Tablo 4.7. Başlangıç ve çalışma sonundaki arter ve venöz kan gazı değerleri

	Grup1	Grup2	Grup3	P
PHA1	7,35±0,0522	7,3245±0,0092	7,33±0,0435	$P \leq 0,05$
PHA2	7,335±0,0214	7,319±0,0201	7,323±0,0265	$P \leq 0,001$
PHV1	7,33±0,0344	7,311±0,0324	7,312±0,0471	$P \geq 0,05$
PHV2	7,32±0,0332	7,18±0,0556	7,26±0,0883	$P \leq 0,05$
PCO2A1	35±7,69	29,226±8,963	37,186±8,672	$P \leq 0,05$
PCO2A2	33±7,458	29,155±10,369	33,140±2,965	$P \geq 0,05$
PCO2V1	45,427±7,618	41,2±9,027	35,8±10,256	$P \geq 0,05$
PCO2V2	44±7,366	40±9,127	35±11,025	$P \geq 0,05$
HCO3A1	21,02±1,88	20,6±1,12	20,88±2,56	$P \geq 0,05$
HCO3A2	21,722±1,980	15,036±4,542	16,3±2,418	$P \leq 0,05$
HCO3V1	21,855±3,054	19,102±3,144	20,620±3,975	$P \geq 0,05$
HCO3V2	18,326±3,455	15,09±3,524	16,631±3,473	$P \geq 0,05$
BEA1	6±2,14	4±1,02	5,5±2,15	$P \geq 0,05$
BEA2	4,24±2,158	5,311±3,69	5,5±2,756	$P \geq 0,05$
BEV1	6,618±2,660	6,950±2,245	5,3±4,188	$P \geq 0,05$
BEV2	7,3±2,25	10±3,06	9,850±3,920	$P \geq 0,05$
(PAO2)1	98,62±1,30	98,12±1,24	98,16±1,35	$P \geq 0,05$
(PAO2)2	96,87±1,80	93,35±3,28	93,50±2,82	$P \leq 0,05$

PHV1 Değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. PHV2 Değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu($P \leq 0,05$).Tukey testi uygulandı.Grup1 ile grup2 ve grup1 ile grup3 arasında anlamlı farklılık saptandı($P \leq 0,05$).Grup2 ile grup3 arasında istatistiksel

olarak anlamlı farklılık saptandı. ($P \leq 0,05$). PCO₂ Değerlerinde başlangıç ve final değerlerinde hem arteriyel hemde venöz ölçümlerde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

HCO₃A1 Değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak HCO₃A2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,05$). Fisher LSD testi uygulandı. Grup1 ile grup3, grup1 ile grup2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P \leq 0,001$). Grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. HCO₃V1 Değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. HCO₃V2 Değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

P(AO₂)1 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. P(AO₂)2 değerlerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P \leq 0,05$).

4.5. Histolojik Bulgular

Sham grubuna ait sıçan böbrekleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde böbrek korteksi ve kortekste bulunan böbrek cisimcikleri (malpighi cisimciği+bowman kapsülü) ile tübül yapılarının normal histolojik görünümde olduğu gözlemlendi. Ayrıca böbrek medullası ve medullada bulunan tübüllerin de normal histolojik görünümde olduğu gözlemlendi.

Çekal ligasyon ile septik şok uygulanan kontrol grubuna ait sıçanlardan alınan böbrekler üzerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerde korteks ve medullada gerek tübül yapıları gerekse böbrek cisimciklerinde yoğun dejenerasyonlar görüldü özellikle korteksteki tübüller dilatasyonlar ve intersitisyel alandaki hemoraji dikkat çekti. Ayrıca nekrotik alanlar ve tübüllerdeki epitelyal hücre dökülmeleri dikkat çekti.

Septik şok+eritropoetin uygulanan tedavi grubuna ait sıçanlardan alınan böbrek örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hemorajinin ve tübüller hasarının oldukça azalmış olduğu ve böbrek korteksi ve medulla yapısının normale yakın görünüm aldığı dikkat çekti.(Tablo 4.8, tablo 4.9)

Sham grubuna ait sıçan karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde karaciğer hepatosit hücreleri, vena sentralis yapısı, portal alan ve sinüzoidal kapiller yapıları normal histolojik yapıda gözlemlendi

Çekal ligasyon ile septik şok uygulanan kontrol grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde özellikle sinüzoidal dilatasyonlar ve portal alanda hücrel inflamasyon gözlemlendi. Ayrıca karaciğer hepatosit hücre nükleuslarında hipertrofi dikkat çekti.

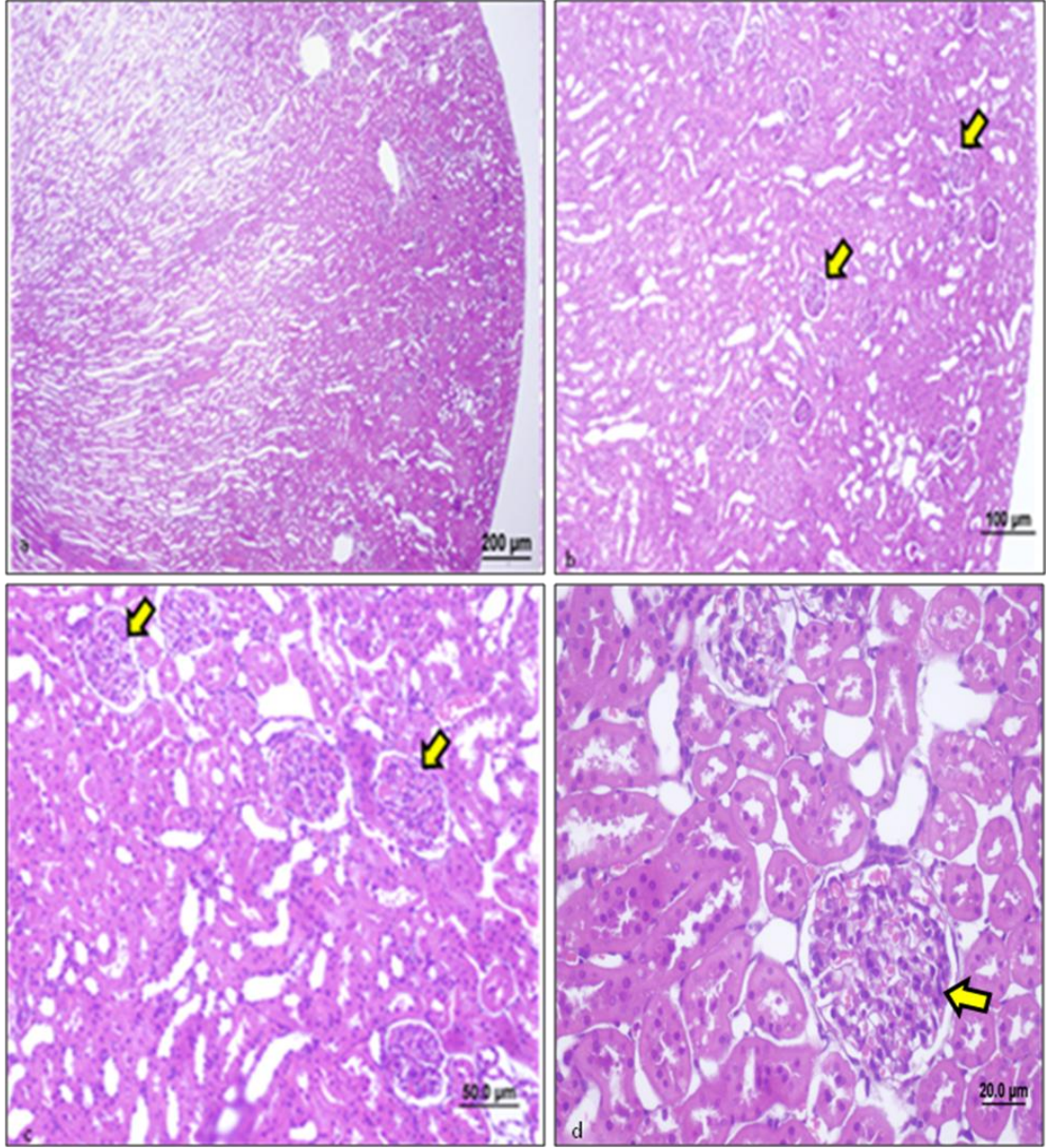
Septik şok+eritropoetin uygulanan tedavi grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sinüzoidal dilatasyonun ve portal alandaki hücrel inflamasyonun oldukça azalmış olduğu ve karaciğerin normale yakın histolojik yapıda olduğu görüldü. (Şekil 4.15, şekil 4.16,şekil 4.17, şekil 4.18, şekil 4.19 ve şekil 4.20)

Tablo 4.8. Çalışma sonunda ratlardan alınan karaciğer doku örneklerinin ışık mikroskopik olarak histolojik sonuçları. ((-) hasar yok, (+) az hasar, (++) orta hasar, (+++) hasar çok olarak değerlendirilmiştir.)

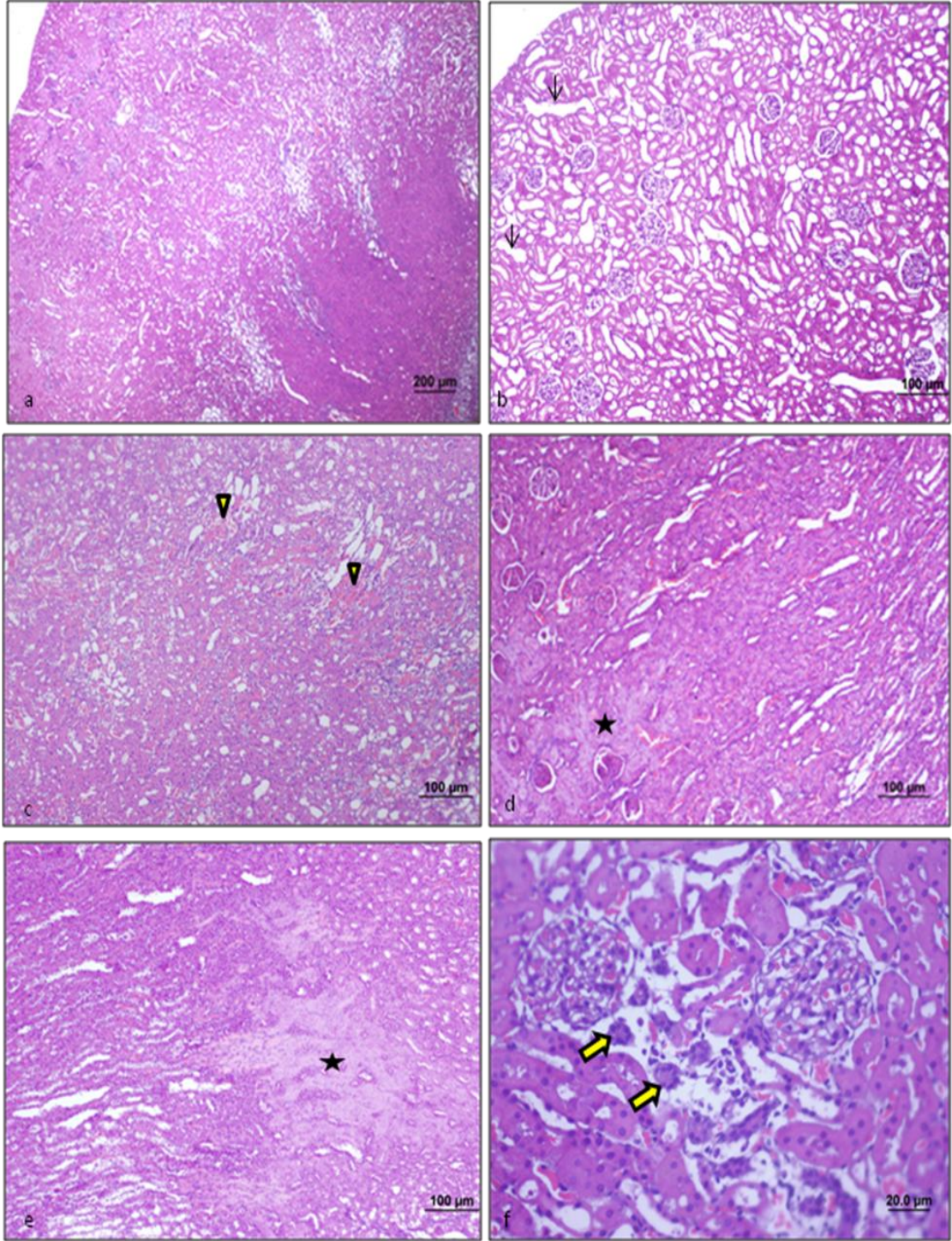
KARACİĞER	NEKROZ	SİNÜZOİDAL DİLATASYON	İNFLAMASYON	KONJESYON
Sham 1	-	-	-	-
Sham 2	-	-	-	-
Sham 3	-	-	-	-
Sham 4	+	-	-	-
Sham 5	-	-	-	-
Sham 6	-	-	-	-
Sham 7	-	-	-	-
Sham 8	-	-	-	-
Kontrol 1	-	+++	++	-
Kontrol 2	+	++	-	-
Kontrol 3	-	++	-	+
Kontrol 4	-	-	+++	-
Kontrol 5	++	-	-	+
Kontrol 6	-	-	++	-
Kontrol 7	+	-	+	-
Kontrol 8	-	+++	-	++
Tedavi 1	-	-	-	+
Tedavi 2	-	-	+	+
Tedavi 3	-	-	+	-
Tedavi 4	-	+	+	+
Tedavi 5	-	-	+	-
Tedavi 6	-	-	-	-
Tedavi 7	-	-	+	+
Tedavi 8	-	-	-	-

Tablo 4.9. Çalışma sonunda ratlardan alınan böbrek doku örneklerinin ışık mikroskopik olarak histolojik sonuçları.(-) hasar yok, (+) az hasar, (++) orta hasar, (+++) hasar çok olarak değerlendirilmiştir.)

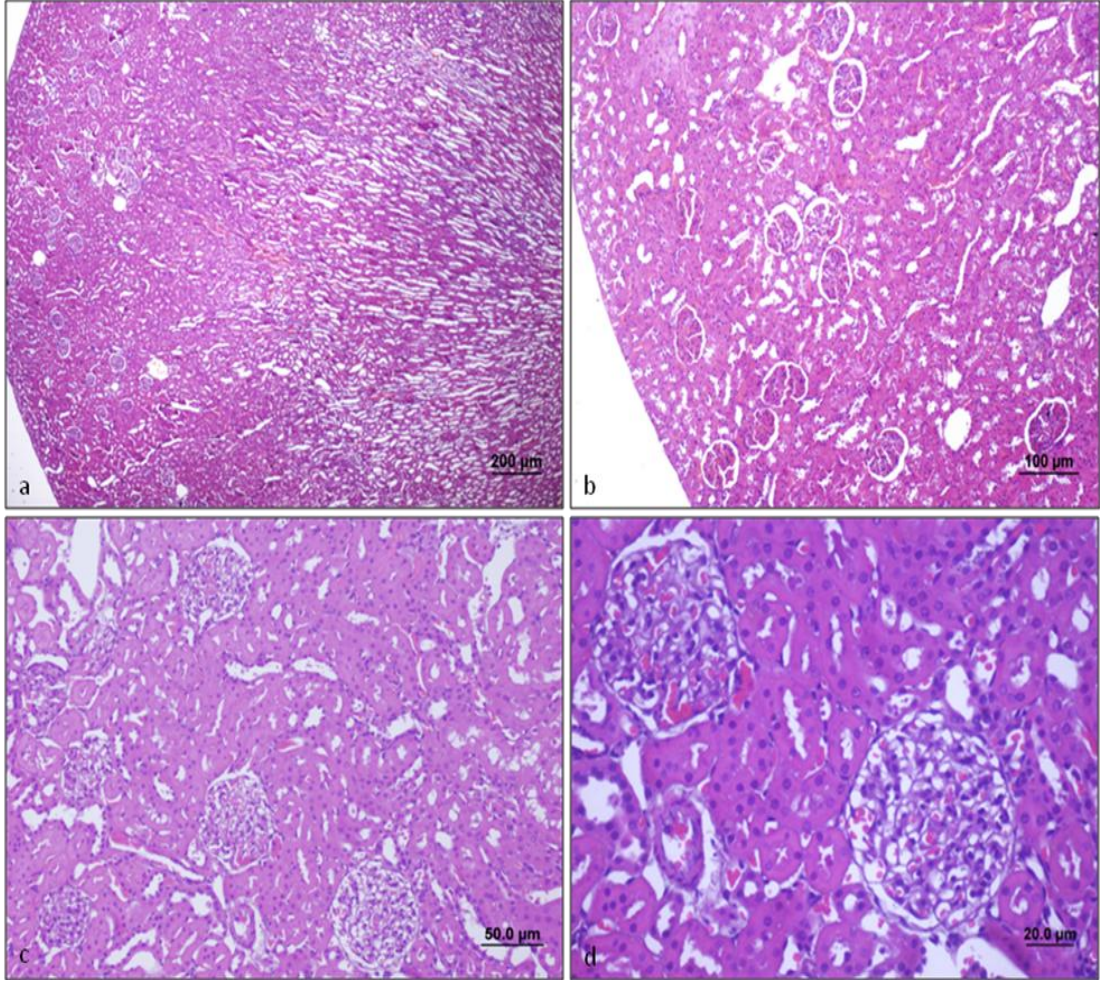
BÖBREK	GLOMERÜL HASARI	TÜBÜLER ATROFİ	NEKROZ	İNFLAMASYON	HEMORAJİ
Sham 1	-	-	-	-	-
Sham 2	-	-	-	-	-
Sham 3	-	-	-	-	-
Sham 4	-	-	-	-	-
Sham 5	-	-	-	-	+
Sham 6	-	+	-	-	-
Sham 7	-	-	-	-	-
Sham 8	-	-	-	-	-
Kontrol 1	-	++	+++	-	+
Kontrol 2	-	+++	-	-	-
Kontrol 3	+	+++	+++	-	+++
Kontrol 4	+	+++	-	-	+
Kontrol 5	++	++	-	-	-
Kontrol 6	+	++	++	-	-
Kontrol 7	++	++	-	-	++
Kontrol 8	-	+++	-	-	++
Tedavi 1	-	-	-	-	+
Tedavi 2	-	-	-	-	-
Tedavi 3	-	++	-	-	-
Tedavi 4	-	-	-	-	-
Tedavi 5	-	-	-	-	-
Tedavi 6	+	-	-	-	+
Tedavi 7	-	-	-	-	-
Tedavi 8	+	-	-	-	+



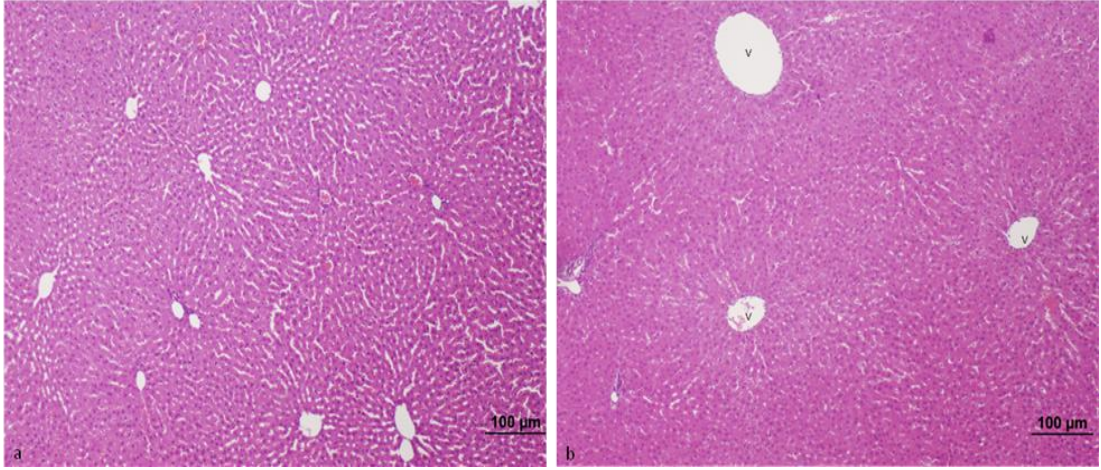
Şekil 4.15. Sham grubu böbrek dokusu; ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde farklı büyütmelerde normal görünümlü böbrek korteksi ve medulla yapısı (a) (x4, HE), korteksteki böbrek tübülleri ve malpighi cisimciği (ok), (b,c,d) (X10,20,40 HE).



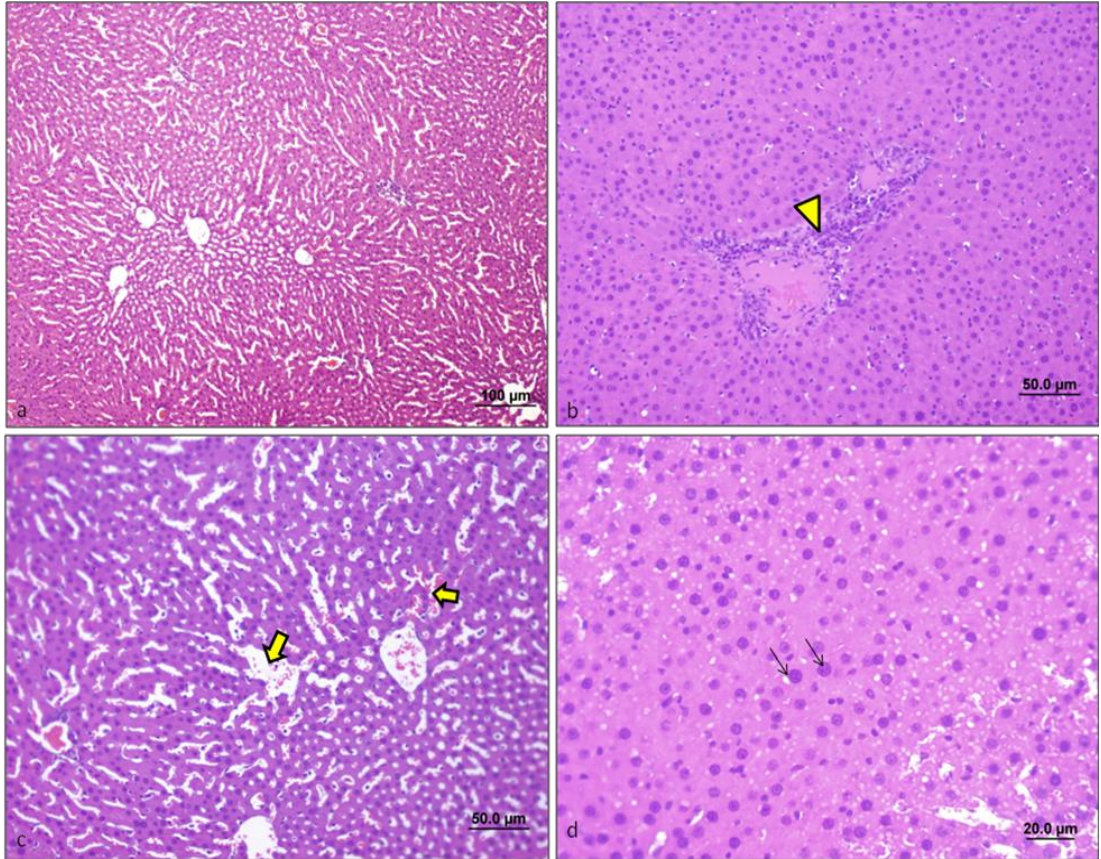
Şekil 4.16. Kontrol grubu böbrek dokusu; çekal ligasyon ile septik şok uygulanan bu grubun böbrek örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde korteks ve medullada gerek tübül yapıları gerekse böbrek cisimciklerinde yoğun dejenerasyonlar izlendi (a) (x4, HE), tübüler dilatasyonlar (ok) (b) (x10, HE), intersitisyel alanda hemoraji (ok başı) (c) (x10, HE), nekrotik alanlar (*) (d,e) (x10, HE) ve tübüler atrofi (kalin ok) (f) (x40, HE) dikkat çekti.



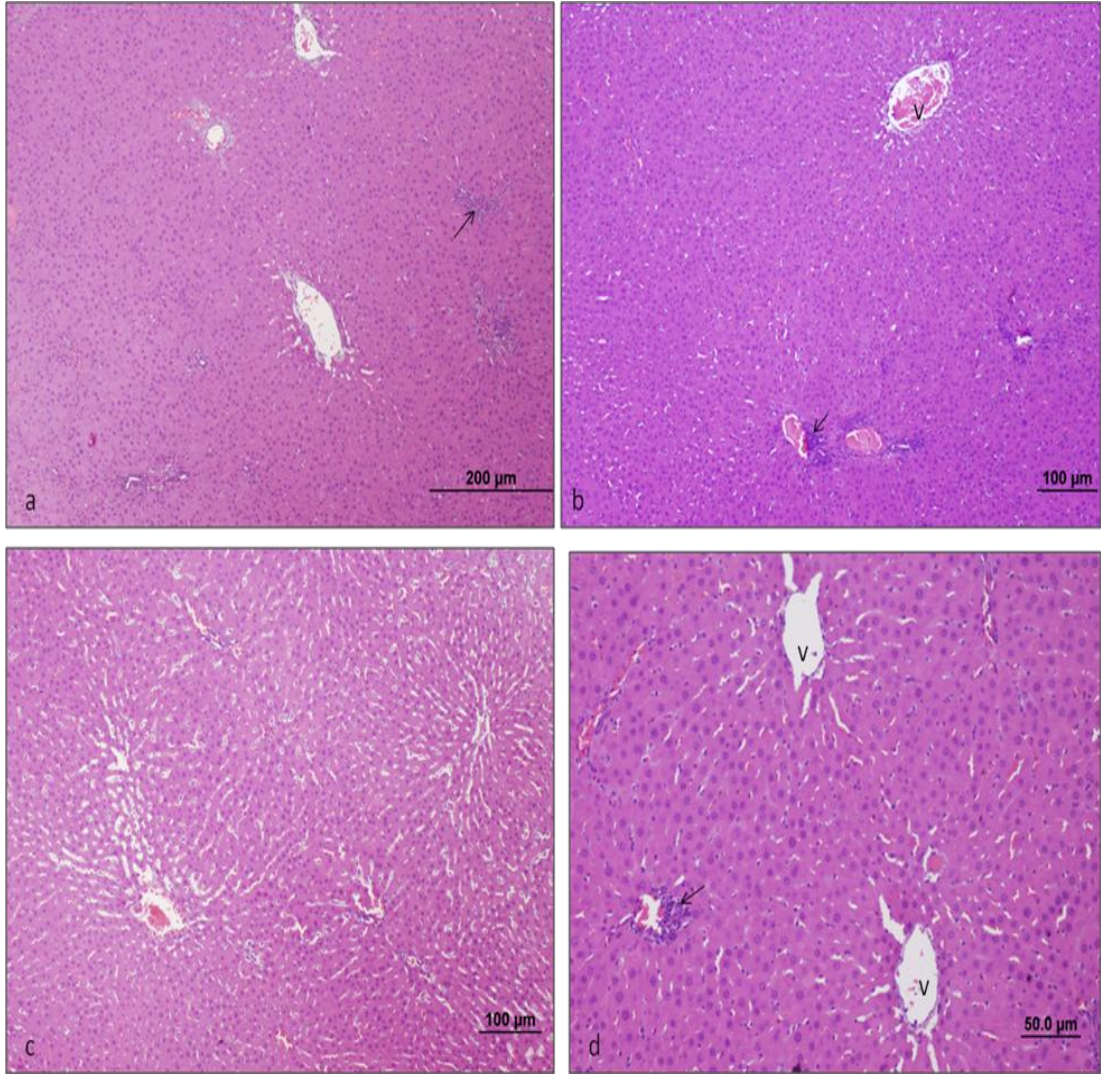
Şekil 4.17. Tedavi grubu böbrek dokusu; septik şok+eritropoetin uygulanan bu grubun böbrek örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde hemorajinin ve tübüler hasarın azalmış olduğu ve normale yakın görünümlü böbrek korteksi ve medulla yapısı (a) (x4, HE), korteksteki böbrek tübülleri ve malpighi cisimcikleri (b,c,d) (X10,20,40, HE) görüldü.



Şekil 4.18. Sham grubu karaciğer dokusu; ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde karaciğer normal histolojik yapıda gözlemlendi (a) (x4, HE).



Şekil 4.19. Kontrol grubu karaciğer dokusu; çekal ligasyon ile septik şok uygulanan bu grubun karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde sinüzoidal dilatasyonlar (kalın ok) (a,c) (x4, 20, HE), portal alanda yoğun hücresel inflamasyon (ok başı) (b) (x10, HE) ve nekrotik hücre yapıları ve hepatosit hücre nükleuslarında hipertrofi gözlemlendi (ok) (d) (x 40, HE) dikkat çekti.



Şekil 4.20. Tedavi grubu karaciğer dokusu; septik şok+eritropoetin uygulanan bu grubun karaciğer örneklerinde Işık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde sinüzoidal dilatasyonun ve portal alandaki hücresel inflamasyonun oldukça azalmış olduğu (a,b,c,d) (x10, 20, HE) ve karaciğerin normale yakın histolojik yapıda olduğu görüldü.

5. TARTIŞMA

Günümüzde kullanılmaya başlanan yeni antibiyotikler, ilaçlar ve immünmodülasyona yönelik tedavi protokollerine rağmen, septik şok, %30-90 ölüm oranı ile kendini gösteren, ciddi bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir (1, 117). Bu tablo septik şok ile yapılan klinik deneysel çalışmaların büyük bir hızla artışına neden olmakla beraber, bu çalışmalarda hastaların çeşitliliği, farklı etyolojik septik şok nedenleri, farklı tedavi yöntemleri vb. gibi sebeplerle yeterli sonuçlar alınamamaktadır (118). Septik şok deneysel modellerinin yeterliliği de günümüzde sürekli tartışılmaktadır. Bu modellerde kullanılan sıçan, fare gibi hayvanların aslında insanlara göre endotoksine daha dirençli olması, gram-pozitif bakterilerle çalışmaların yeterli olmaması gibi birçok etken tartışma konusudur (119).

Aynı şekilde, klinik deneysel çalışmalara fikir kaynağı olan deneysel hayvan modellerinde değişik septik şok modelleri, çeşitli hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalar gibi nedenlerle sonuçlarda çelişkiler ve farklılıklar bulunmaktadır (120).

Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde görülen en sık sepsis nedeni gastrointestinal sistem duvarı bütünlüğünün bozulmasıdır (perfore apendisit, kolon perforasyonu...). Bu durumu taklit etmek için bazı deneysel modeller geliştirilmiştir ve en çok kullanılan model çekal ligasyon- perforasyondur (ÇLP). ÇLP ile hayvanlarda oluşturulan sepsisin erken ve geç bifazik klinik belirtileri ile insanlardaki sepsise benzediği kabul edilir.

Çekal ligasyon perforasyon modeli öncelikle ratlarda tarif edilmesine rağmen fare ve koyunlarda da uygulanmıştır. Anestezi altındaki hayvanlarda bağırsak pasajını bozmadan çekumun standart bir iplik ile bağlanması ve daha sonra bağlanan kısmın standart ölçüdeki bir enjektör iğnesi ile bir veya iki kez delinmesi esasına dayanır. Operasyon sonrasında karın boşluğu kapatılarak hayvanlara ağırlıklarına göre sıvı (resüsitasyon) verilir (118, 120).

Overhaus ve ark.'nın yaptığı deneysel çalışmada ileusa bağlı sepsis yöntemi olarak ÇLP uygulanmıştır (121).

Koga H. ve ark. sepsise bağlı karaciğer hasarını konu alan çalışmalarında sepsis oluşturmak için ÇLP yöntemini kullanmışlardır (122).

ÇLP ile oluşturulan septik şok modellerinin dezavantajları;

- Farklı araştırma gruplarının sonuçları arasında değişiklikler izlenebilir. Bu durumun olası sebepleri:

- Farklı seviyelerde çekum bağlanması,
- Bağırsak geçişinin durması,
- Delme sayısı ve kullanılan iğnenin çapı (22 G, 18 G vb.),
- Delme sonrası bazı araştırmacıların çekumdan feçes çıkışını hızlandırmaları,
- Hayvanların aç veya tok olması,
- Resüsitasyon amacıyla sıvı veriliş verilmemesi.

ÇLP ile oluşturulan septik şok modellerinin avantajları;

- Uygulaması kolay ve ucuzdur. LPS veya bakteriye gerek yoktur.
- Diğer modellerden farklı olarak çok çeşitli mikroorganizmaların (polimikrobiyal) gözlemlendiği septik şok tablosu gelişir.
- Klinikteki septik şok tablosuna benzer bir model oluşur (perfore apandisit, divertikülit, kolon perforasyonu gibi).

İdeal modelin standardize edilmiş ve insanda gözlenen septik şok tablosuna benzer özellikler gösteriyor olması en temel beklentiler olmasına rağmen tüm özelliklere sahip tek bir model tanımlanamamıştır. Hayvan modellerinde yoğun bakım ünitelerinde uygulanan destekleyici tedaviye benzer bir durum yaratmak kolay gözükmemekle beraber septik şok patofizyolojisinin anlaşılmasında, klinik deneme öncesi yeni tedavi protokollerinin (yaklaşımlarının) bulunmasında deneysel modellerin önemi hiç kuşkusuz son derece fazladır.

EPO, ilk olarak kemik iliği ve ekstremiteler alanlarda eritrosit oluşumunu sağlayan glikoprotein yapılı bir hormon olarak keşfedilmiş ancak son yıllarda eritopoetik etkisi dışında genel doku koruyucu özelliği ortaya konmuştur. EPO çeşitli nedenlerden ötürü gelişen anemi tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. r-EPO'nun bir büyüme hormonu olması ve kardiyovasküler, anjiogenez ve mitoz üzerine olan önemli etkileri klinik kullanımda daha geniş bir alanda faydalı olabileceğini göstermiştir (123, 124). Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda anemi tedavisinde kullanılan EPO'nun egzersiz toleransını arttırdığı, kardiyak outputu düzelttiği, periferik vasküler direnci arttırdığı, angina semptomlarını geriletmediği, myokardiyal iskemiyi azalttığı, ventriküler hipertrofiyi azalttığı belirtilmiştir (125). Bunun yanı

sıra beyin fonksiyonlarını arttırdığı, üremik kanamaya meyli azalttığı, trombosit fonksiyonlarını arttırdığı, cinsel fonksiyonları arttırdığı, endokrin ve immün sistemi düzelttiği ve hayat kalitesini arttırdığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (12).

Eritropoetin vücudumuzdaki bir çok organı iskemi-reperfüzyon ve aşırı inflamasyon sonucu oluşan doku zedelenmelerine karşı koruyabilir.(126)

Bir çok sistem üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, eritropoetin iskemi reperfüzyon yoluyla oluşan doku zedelenmesine ve disfonksiyonuna kalp(127), böbrek(128), beyin(129), karaciğer(130) gibi organları koruyucu etkilerini ortaya koymaktadır (131, 132).

Vedat B. ve ark. torsiyon/detorsiyon yöntemiyle iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda eritropoetin özellikle akut dönemde başarılı sonuçlar sağladığını ve MDA değerlerinde olumlu etkilerde bulunduğunu göstermişlerdir (133).

Bizim çalışmamızda ulaştığımız sonuçlar; septik şok modelinde eritropoetin ile yapılmış çok fazla çalışma olmamasına rağmen literatürdeki bilgilerle paralellikler mevcuttu. Çekal ligasyon ve perforasyon yöntemiyle ön şart olan iskemi reperfüzyon ve dolaşım şoku oluşturulduktan sonra volüm replasmanı yapılan ve peritonit hali gelişen ratlarda bir gruba eritropoetin uygulanarak verilen yanıtlar değerlendirildi. Ortalama arter basınçları eritropoetin uygulanan grupta 0. ve 15. dakikalarda kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen birbirlerine benzer şekildeydi. 15. dakikadan itibaren EPO verilen tedavi grubunda sham grubuna benzer şekilde kan basınçlarında düzelmeye gözlemlendi. Deneyin ilerleyen sürelelerinde de kontrol grubundaki kan basınçlarının tedavi grubundan daha düşük olduğu görüldü.

Ortalama diastolik basınçlar değerlendirildiğinde her üç grupta da anlamlı farklılıklar mevcutken, kontrol grubu ile tedavi grubunun arasında çok az da olsa farklılığın olduğu ve EPO uygulanan grupta kontrol grubuna nazaran yüksek değerler olduğu saptandı.

Gruplar arasında ortalama nabız hızları değerlendirildiğinde tüm değerlerde sham grubu ile tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Sham grubu ile kontrol grubu arasında ve kontrol ile tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Parissis JT ve ark. kardiomyopati gibi kronik kardiyak problemi olan anemik hastalarda eritropoetin türevi olan darbepoetin alfa kullanarak oksidatif stressin plazma mediatörleri üzerinde oldukça olumlu sonuçlar almışlardır (134). Hirata A. ve arkadaşları ise myokardial infarktüs oluşturdukları köpeklerde iskemik myokardiyumdaki neovaskülarizasyon ve sol ventrikül disfonksiyonunda deneklere uygulanan eritropoetin oldukça iyi etkilerde bulunduğunu saptamışlardır (135). Bunun gibi eritropoetin kardiyak etkileri üzerine yapılan bir çok çalışmaya paralel olarak bizim çalışmamızda da tedavi grubunun sistolik-diastolik kan basınçları ve nabız hızlarında kontrol grubuna göre değerlerin sham grubunun değerlerine daha yakın olarak bulunmuştur.

Renal fonksiyonların değerlendirilmesinde; idrar miktarı ve idrar kreatinin değerlerinde tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptandı. ($P \leq 0,001$). Yine burada da tedavi grubunun değerleri kontrol grubundan yüksek olarak bulunmuştur.

Deney başlangıcına ölçülen biyokimyasal parametrelerden kan BUN ve Kreatinin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamasına rağmen; deney sonunda yapılan ölçümlerde BUN değerlerinde üç grupta da anlamlı derecede farklılık mevcuttu ($P \leq 0,05$). Ancak tedavi grubundaki deney sonu BUN2 değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. Deney sonrası kan kreatinin düzeyleri sham grubu ile kontrol grubu arasında oldukça farklı iken tedavi grubuyla sham grubu arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Kreatinin klerensleri değerlendirildiğinde tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptandı.

Johnson ve ark.'nın yaptığı çalışmada akut renal iskemi ve yetmezlikte eritropoetin verilmesinin renal dokuyu koruyucu ve onarıcı etkileri olduğu ortaya konulmuştur (136). Buna benzer olarak Ateş E. ve ark (137) böbrek iskemi reperfüzyon hasarına karşı EPO' nun koruyucu etkisini, tirozin kinaz aktivasyonu yoluyla, başardığını göstermişlerdir. Yaptığımız çalışmada da eritropoetin verilen tedavi grubunda biyokimyasal ve histolojik olarak olumlu sonuçlar alınmıştır.

Kan gazı değerlendirmelerinde doku asidozunu değerlendirmek açısından deney sonundaki venöz ölçümler dikkate alındı. PHV2 değerlerinde her üç grupta da asidoz saptanmasına rağmen sham grubuna göre her iki grupta da anlamlı derecede düşük değerler saptandı ($P \leq 0,05$). Özellikle de kontrol grubunda değerlerin daha

düşük olduğu görüldü. PCO₂V₂, HCO₃V₂, BEV₂ değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı. Eritropoetin uygulanan grupta metabolik asidoz değerlerinde minimal anlamlı iyileşme ortaya konulmuştur. Burada unutulmaması gereken faktör septik şokta eritropoetin gibi tüm tedavi prosedürlerinin oldukça erken tedaviye başlanmasının dirençli metabolik asidozun gelişiminin engellenmesinde etkili olacağı kanaatindeyiz.

Deney sonunda arter kan gazında yapılan ölçümlerde PHA₂ değerlerinde kontrol grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede PH değerleri düşüktü ($P \leq 0,001$). PCO₂A₂ değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı. HCO₃A₂ değerlerinde sham grubuna kıyasla diğer iki grupta sonuçlar benzerdi ve anlamlı ölçüde düşüktü. Fakat sham grubu ile kontrol grubu arasındaki dğer farkı daha belirgindi (Grup1 ve grup2 $P \leq 0,001$ ve grup1 ve grup3 $P \leq 0,05$). BEA₂ değerlerinde eritropoetin uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede değerler yüksek bulundu ($P \leq 0,05$).

Renal fonksiyonların oldukça iyi korunabilmesi, eritropoetin grubundaki BEV₂ ve PAO₂ değerlerinde kontrol grubu ile benzer sonuçlara ulaşılması, ancak BEA₂ değerlerinde yükseklik saptanması eritropoetin doku oksijen sunumu ve kullanımında meydana getirdiği dolaylı iyileşmeye bağlı olduğu kanaatindeyiz.

Çalışma başlangıcında her üç gruptan alınan AST ve ALT değerlerinde anlamlı farklılık yok iken çalışma sonundaki AST ve ALT değerlerinde üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Burada dikkati çeken eritropoetin verilen tedavi grubundak değerlerin kontrol grubuna göre daha iyi ve düşük bulunmasıdır. Aynı şekilde karaciğer dokusundan ve kandan çalışılan MDA değerlerinin eritropoetin verilen tedavi grubunda daha olumlu saptanmasıdır.

Deney sonunda üç gruptaki ratların karaciğer ve böbrek dokularından alınan doku örneklerinin histolojik incelemesinde; eritropoetin verilen tedavi grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sinüzoidal dilatasyonun ve portal alandaki hücresel inflamasyonun oldukça azalmış olduğu ve karaciğerin normale yakın histolojik yapıda olduğu görüldü. Aynı şekilde böbrek örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hemorajinin ve

tübüler hasarın oldukça azalmış olduğu ve böbrek korteksi ve medulla yapısının normale yakın görünüm aldığı dikkat çekti.

M.Bockhorn ve ark. hepatik rejenerasyon modelinde eritropoetini kullanmış olup transplante edilen karaciğer dokularında eritropoetin verilen grupta olumlu sonuçlar almışlardır (138). Sepodes M. Maio R. Ve ark. ratlarda karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında eritropoetinin etkili olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir (130). Yaptığımız çalışmada da eritropoetin verilen tedavi grubundaki AST, ALT, MDA değerlerinde ve karaciğer dokusunda bu ve buna benzer çalışmalara paralel olarak anlamlı derecede başarılı sonuçlar alınmıştır. (139)

Bu çalışmada ideal bir deneysel septik şok modeli halen ortaya konulamamasına rağmen klinik uygulamaya benzer bir model uygulamaya özen gösterdik. Yaptığımız araştırmalarda septik şoktaki iskemi-perfüzyon hasarı ve inflamasyon için olan tedavi arayışlarına oldukça etki alanı çeşitli ve güçlü olan eritropoetin gibi bir ajanı kullandık. Biokimyasal, klinik ve histolojik bulgularda oldukça olumlu sonuçlarla karşılaştık. Bu deneysel çalışmada özellikle de erken dönemde uygulanan eritropoetin ile elde edilen olumlu sonuçların daha ilerde yapılacak klinik çalışmalara yön vereceğini ve eritropoetinin yeni bir çok alanda daha kullanılabilirliğinin yeni çalışmalarla ortaya konabileceğini düşünüyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

a) Hemodinamik değerlere bakıldığında OAB0 ve OAB15’de sadece kateterizasyon uygulanan grupta (sham), laparotomi+çekal ligasyon perforasyon uygulanan (kontrol) ve eritropoetin verilen grup (tedavi) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcutken; kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı farklılık yoktu ($P \geq 0,05$).

b) OAB60’ te gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu.

c) OAB90 ve OAB120’ de sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken ($P \leq 0,001$), sham grubu ile tedavi grubu arasında farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$).

d) OAB240 değerlerinde gruplar özellikle de kontrol grubu ile sham ve tedavi grupları arasında arasında anlamlı farklılık saptandı.

e) ODB0 kontrol grubunda sham grubundan anlamlı olarak düşüktü ($P \leq 0,001$).

f) ODB15 değerleri kontrol grubunda diğer her iki gruba göre anlamlı olarak daha düşüktü. ($P \leq 0,001$).

g) ODB60 değerlerinde heriki grupta kontrol değerlerine göre daha yüksek değerler saptanmasına rağmen sham grubu ile tedavi grubunda benzerdi ($P \leq 0,05$).

h) ODB90 değerlerinde bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$).

i) ODB120 ve ODB240 değerlerinde her üç grupta anlamlı farklılık saptandı. Kontrol grubunaki değerler, her iki gruptan da düşük olmasına rağmen sham grubu ile tedavi grubundaki değerler arasındaki fark daha az olarak bulundu. ($P \leq 0,001$).

j) ONBZH0, ONBZH15, ONBZH60, ONBZH90, ONBZH120, ONBZH240 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,05$). Tüm ONBZH değerlerinde sham grubu ile tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($P \leq 0,001$). Sham grubu ile kontrol grubu arasında ve kontrol ile tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

k) Renal fonksiyonların değerlendirilmesinde; kontrol grubunda her iki gruptan da düşük idrar miktarları saptanmasına rağmen ($P \leq 0,001$), sham grubu ile tedavi grubu arasındaki farkın sham grubu ile kontrol grubu arasındaki istatistiksel

farktan daha az olduğu belirlendi.($P \leq 0,01$).

l) İdrar kreatinin değerlerinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak oldukça belirgin farklılık saptandı.($P \leq 0,001$).

m) Deney başlangıcına ölçülen biyokimyasal parametrelerden KANBUN1 ve KanKreatinin1 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($P \geq 0,05$). Deney sonunda yapılan ölçümlerde KANBUN2 değerlerinde her üç grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken özellikle de tedavi grubundaki sonuçlarda belirgin bir düzelme mevcuttu. Kan kreatinin2 düzeylerinde sham grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık mevcutken sham ile tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($P \geq 0,05$).

n) Kreatinin klerensleri değerlendirildiğinde her 3 grupta da istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptanmıştır. ($P \leq 0,05$).

o) Kan gazı değerlendirmelerinde doku asidozunu değerlendirmek açısından deney sonundaki venöz ölçümler dikkate alındı.PHV2 değerlerinde her üç grupta da asidoz saptanmasına rağmen sham grubuna göre her iki grupta da anlamlı derecede düşük değerler saptandı ($P \leq 0,05$). PCO2V2, HCO3V2, BEV2 değerlerinde anlamlı farklılık saptanmadı.

p) Deney sonunda arter kan gazında yapılan ölçümlerde PHA2 değerlerinde kontrol grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede PH değerleri düşüktü ($P \leq 0,001$). PCO2A2 değerlerinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı. HCO3A2 değerlerinde kontrol grubuna kıyasla diğer iki grupta sonuçlar benzerdi ve anlamlı ölçüde düşüktü grup1 ve grup3 ($P \leq 0,001$) ve grup1 ve grup2 ($P \leq 0,05$). Ayrıca deney sonunda arter kan gazındaki PAO2(2) değerlerinde sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel farklılık mevcutken sham grubu ile tedavi grubu arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

q) Deney sonunda alınan kan örneklerinden çalışılan MDA değerleri (MDAPL) her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($P \leq 0,001$).Ayrıca doku örneklerinden alınan MDADOKU değerlerinde sham grubu ile kontrol grubu arasında beligin ölçüde istatistiksel farklılık varken sham grubu ile tedavi grubu arasında bu farklılık saptanmamıştır. ($P \geq 0,05$).

r) Tedavi grubuna ait sıçanlardan alınan böbrek örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde özellikle kontrol grubuyla

karşılaştırıldığında hemorajinin ve tübüler hasarın oldukça azalmış olduğu ve böbrek korteksi ve medulla yapısının normale yakın görünüm aldığı görüldü.

s) Tedavi grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sinüzoidal dilatasyonun ve portal alandaki hücresel inflamasyonun oldukça azalmış olduğu ve karaciğerin normale yakın histolojik yapıda olduğu görüldü.

EPO ilk olarak eritropoezde etkinliği gösterilmiş otokrin ve parakrin etkili glikoprotein yapıda bir hormondur. Günümüzde, EPO'in sadece eritropoetik etkisi dışındanda apoptozu azaltma, inflamasyonu baskılama, angiogenezi artırma ve oksidatif strese karşı koyma gibi fonksiyonları doğrultusunda genel bir doku koruyucu sitokin olduğu görüşü hakimdir. EPO' nun özellikle de nöroprotektif etkileri başta olmak üzere bir çok etkileri üzerine git gide artan çalışmalar yapılmaktadır. Ancak eritropoetin'in septik şok tedavisinde klinik kullanımı için septik şok üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Hines DW, Bone RC. Septic Shock. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR(eds). Infectious Diseases. Second Edition. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1992; 544-48.
2. Andrew B, Brian G and Timothy R. Shock Principles of Surgery, Ed. Seymour I. Schwartz, Eight Edition. Mc Graw–Hill, New York 2004; 85–105.
3. Korucu B. Dolaşım şoku. Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, 1996; 97–114.
4. Tekin E. Genel Cerrahi tanı ve tedavi ilkeleri, Ed. Atilla Ergin, 1. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 2000; 97–107.
5. Parillo JE. Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock. N Engl J Med. 1993; Vol: 328: 1471–1477.
6. Pova P. C-reactive protein: A valuable marker of sepsis. Intensive Care Med 2002; 28: 235-243.
7. Raetz CRH, Ulevitch RJ, Wright SD, Sibley CH. Extraordinary signal transduction. Faseb J 1991; 5: 2652–60.
8. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. An Intern Med. 1991; 115: 457–69.
9. Krantz SB. Erythropoietin. Blood 1991; 77: 419-34.
10. Ghezi P, Brines M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. Cell Death and Differentiation 2004; 11: 37–44
11. Pandit JJ, Maxwell PH. New insights into the regulation of erythropoietin production. Br.J.Anaesth. 2000; 85: 329-30.
12. Maiese K, Li F, Chong ZZ. New avenues of exploration for erythropoietin. JAMA. 2005; 293: 90-95.
13. Taşçılar O, Çakmak GK, Tekin IO, Emre AU, Uçan BH, Bahadır B, Açıkgöz S, Irkorucu O, Karakaya K, Balbaloglu H, Kertis G, Ankaralı H, Cömert M. Protective effects of erythropoietin against acute lung injury in a rat model of acute necrotizing pancreatitis. World J Gastroenterol. 2007; 14;13(46): 6172-82.

14. Baker JE. Erythropoietin mimics ischemic preconditioning. *Pharmacology and Toxicology, Biochemistry and Pediatric Surgery, Medical College of Wisconsin*, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, WI 53226, USA. 2005; 42 (5-6): 233-41.
15. A nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects the myocardium from ischemia reperfusion injury. Fiordaliso F, Chimenti S, Staszewsky L, Bai A, Carlo E, Cuccovillo I, Doni M, Mengozzi M, Tonelli R, Ghezzi P, Coleman T, Brines M, Cerami A, Latini R., Mario Negri Institute for Pharmacological Research, Milan 20157, Italy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102(6): 2046-2550.
16. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word “sepsis.” *Intensive Care Med*. 2006; 32: 2077.
17. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar, Sepsis and Septic Shock: A History. *Crit Care Clin*. 2009; 25: 83–101.
18. Davies MG, Hagen PO. Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Br J Surg*. 1997; 84: 920–35.
19. Bone RC, Balk RA, Cerra FB Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and multiple organ failure, and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992; 101: 1644-1655.
20. Young LS. Sepsis Syndrome. In : Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth Edition. Churchill Livingstone Penn, 2000; 806-19.
21. Levy, M.M., Fink, M.P., Marshall, J.C., 2001 SCC/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference, *Crit Care Med*. 2003; 31: 1250-6.
22. Annane, D., Bellissant, E., Jean-Marc, C., Septic shock, *Lancet*, 2005; 365: 63-78.

23. Baue, A.E., Faist, E., Dittmer, H., Heberer, G., Multiple organ failure in polytrauma patients, *J Trauma.*, 1993; 23: 775-87.
24. Goh, A., Chan, P.W.K, Lum, L., Sepsis, severe sepsis and septic shock in paediatric multiple organ dysfunction syndrome, *J Paed Child Health.* 1999; 35: 488-492.
25. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 108-21.
26. Matot I, Sprung CL. Definition of sepsis. *Intensive Care Med.* 2001; 27: 3-9.
27. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348: 1546-54.
28. Vincent JL, Abraham E, Anane D, et al. Reducing mortality in sepsis: New directions. *Crit Care*, 2002; 6 (3): 1-18.
29. Bone R. J. The sepsis syndrome. Definition and General Approach to Management. *Clinics in Chest Medicine* 1996; 17 (2): 175-81.
30. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky M. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001; 29: 1303-10.
31. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL: Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: A trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* 2007; 35: 1244-1250.
32. Melamed A, Sorvillo FJ. The burden of sepsis-associated mortality in the United States from 1999 to 2005: an analysis of multiple-cause-of-death data. *Cr.t. Care Med.* 2009; 13 (2): 138.
33. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study *Crit Care Med.* 2006; 34: 344-53.
34. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time? *Crit Care Med.* 1998; 26: 2078–2086.

35. Alberti C, Brun-Buisson C, Goodman SV, Guidici D, Granton J, Moreno R, Smithies M, Thomas O, Artigas A, Le Gall JR. Influence of systemic inflammatory response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168: 77–84.
36. Pittet DL, Woolson N, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: a 6-year validated, population-based model. *Clin Infect Dis.* 1997; 24: 1068-72.
37. Rangel-Frausto, M.S., The epidemiology of bacterial sepsis, *Infect Dis. Clin. of North America*, 1999; 13(2): 299-312.
38. Bistrian, B., Acute phase proteins and systemic inflammatory response, *Crit Care Med*, 1999; 27(3): 452-463.
39. Bochud PY, Bonten M, Marchetti O, Calandra T. Antimicrobial therapy for patients with severe sepsis and septic shock: An evidence-based review. *Crit Care Med.* 2004; 32 (11): 495-512.
40. Angus, D.C., Wax, R.S., Epidemiology of sepsis: An update, *Crit Care Med.* 2001; 29 (Suppl.7): 109-16.
41. Hines, D., Lisowski, J., Sepsis. In: Gorbach, S.L., Barlett, J.G., Blacklaw N.R., Eds, *Infectious Diseases*, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1998; 654-61.
42. Uzun, O., Nozokomiyal sepsis: Patogenez ve klinik ozellikler, *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*, 1998; 2 (4): 188-93.
43. Uzun, O., Sepsis In: Uzun, O., Unal, S., Eds, *Guncel bilgiler ışığında enfeksiyon hastalıkları*, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2002; 613-23.
44. Doğanay M. Sepsis. Willke A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları Kitabı'nda*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1996; 473-85.
45. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med.* 2006; 355: 1699-713.
46. Hotchkiss RS, Karl IE. The Pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med.* 2003; 348/2: 138-150.

47. Bochud PY, Calandra T. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *Br Med J*, 2003; 326: 262-266.
48. Uzun Ö. Sepsiste Ampirik Tedavi Yaklaşımı. Akalın HE, Kanra G (editörler). *Ampirik Antibiyotik Tedavisi Kitabı'nda*. Ankara : Güneş Kitabevi, 1994; 175-86.
49. Uzun Ö, Akalın HE, Hayran M, Ünal S. Factors influencing prognosis in gram negative bacteraemia : Evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 866-73.
50. Prins JM, van Agtmael MA, Kuijper EJ, van Deventer SJH, Speelman P. Antibiotic - induced endotoxin release in patients with gram (-) negative ürosepsis: a double blind study comparing imipenem and ceftazidime. *J Infect Dis* 1995: 886-91.
51. Bacteraemic Infections. In: Bannister AB, Begg NT, Gillespie SH (eds). *Infectious Diseases*. First Edition. Blackwell Science Ltd, 1996; 283-300.
52. Septic Shock. In: Salyers AA, Whitt DD (eds). *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*. ASM Press, Washington DC, 1994; 56-60.
53. Sriskandan S, Cohen J. Gram positive sepsis. Mechanisms and differences from Gram-negative sepsis. *Infect Dis Clin North Am*. 1999; 13: 397-412.
54. Baykal A, Kavuklu B, Iskit AB, et al. An experimental study of the effect of nitric oxide inhibition on mesenteric blood flow and interleukin-10 levels in lipopolysaccharide. *World J Surg* 2000; 24: 1116-20.
55. Hoffmann JN, Werdan K, Hartl WH, et al. Hemofiltrate from patients with severe sepsis and depressed left ventricular contractility contains cardiotoxic compounds. *Shock*, 1999; 12: 174.
56. Bengston A, Redl H, Schlag G, Hogasen K, et al. Anti TNF treatment of baboons with sepsis reduces TNF-alpha, Il-6, Il-8, but not the degree of complement activation. *Scand J Immunology* 1998; 48: 509-514.
57. Baykal A, Iskit AB, Hamaloglu E, et al. Melatonin modulates mesenteric blood flow and TNF alfa concentrations after lipopolysaccharide challenge. *Eur J*

- Surg 2000; 166: 722-7.
58. Neviere R, Mathieu D, Chagnon JL, et al. Skeletal muscle microvascular blood flow and oxygen transport in patients with severe sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996; 153: 191.
 59. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002; 420: 885-891.
 60. Akpınar S, Tekeli E. Septik Şok : Klinik Yaklaşım-Patogenez-Terapötik Yaklaşım. Şahinoğlu AH (ed). Yoğun Bakım Sorunları ve Tedavileri Kitabı'nda. Ankara : Türkiye Klinikleri Tıp Kitabevi, 1992; 567-74.
 61. Uzun, Ö., Nozokomiyal sepsis: Patogenez ve klinik özellikler, *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*, 1998, 2 (4): 1885-1893.
 62. Uzun, Ö., Sepsis In: Uzun, Ö., Ünal, S., Eds, Güncel bilgiler ışığında enfeksiyon hastalıkları, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2002; 523-613.
 63. Tabak, F., Sepsis ve septik şok, *Prognoz*, 1999; 2 (3): 178585.
 64. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J (eds). *Infectious Diseases*. London: Mosby. 1999; 47 (1): 1-14.
 65. Martin MA, Silverman HJ. Gram negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Clin Infect Dis*. 1992; 14: 1213.
 66. Parrat JR, Stoclet JC. Vascular smooth muscle function under conditions of sepsis and ARDS. In: *Role of Nitric Oxide in Sepsis and ARDS*. Fink MP, Payen D (eds). Springer Verlag, Berlin. 1995; 44.
 67. Levi M, Cate HT. Disseminated intravascular coagulation. *N Eng Med*. 1999; 341: 586.
 68. Septic Shock. In: Salyers AA, Whitt DD (eds). *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*. ASM Pres, Washington DC. 1994; 56-60.
 69. Uzun Ö, Akalın HE, Hayran M, Ünal S. Factors influencing prognosis in gram negative bacteremia organism: Evaluation of 448 episodes In a Turkish University Hospital. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 866-73.
 70. Doğanay M. Sepsis. Willke A, Söyletir G, Doganay M (editörler). *Enfeksiyon Hastalıkları Kitabı'nda*. Istanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 1996; 473-485.

71. Mayer J, Hajek R, Vorlicek J, Tomiska M. Sepsis and septic shock: II. Treatment. *Support Care Cancer*. 1995; 3: 111.
72. Doganay M. Sepsis tedavisi. *Türkiye Tıp Dergisi*. 1998; 5: 42.
73. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe Sepsis. *N Eng J Med*. 1999; 340: 207.
74. Altug S, Demiryürek AT, Kanzık I. Nitrik oksit ve peroksinitritin myokard üzerindeki etkileri. *FABAD J Pharm Sci*. 1998; 23: 153-159.
75. Güray A, Türköz Y, Özerol H. Nitrik Oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. *T Klin J Med Sci*. 1997; 17: 115-119.
76. Roselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of Nitric Oxide in The Biology, Physiology and Pathophysiology of Reproduction. *Hum Reprod Update*. 1998; 4(1): 3-24.
77. Tunçtan B, Abacıoğlu N. Biyolojik örneklerde NO ölçümü: Diazotizasyon Yöntemi. *FABAD J Pharm Sci*. 1998; 23: 161-170.
78. Aladag MA, Türköz Y, Özerol IH. Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri. *T Klin J Med Sci*. 2000; 20: 107-111.
79. Muriel P. Regulation of nitric oxide synthesis in the liver. *J Appl Toxicol*. 2000; 20: 189-195.
80. Schulz R, Nava E, Moncada S. Induction and potential biological relevance of a calcium independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br. J. Pharmacol*. 1992; 105: 575-580.
81. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol.Rev*. 1991; 43: 109- 143.
82. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 1990; 87: 1620-1624.

83. Szabo C. Role of poli (ADP-ribose) synthase in inflammation. *Eur J Pharmacol.* 1998; 350: 1-19.
84. Gross SS, Wolin MS. Nitric Oxide: Pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol.* 1995; 57: 737-769.
85. Marzatico M, Cafe C. Oxygen radicals and other toxic metabolites as key mediators of the central nervous system tissue injury. *Funct Neurol* 1993; 8(1): 51-66.
86. Gül M, Ayan M, Seydanoğlu A, Cander B, Girişgin S, Erayman I, Erdem S. The effect of N-acetyl cysteine on serum glutathione, TNF- α and tissue malondialdehyde in the treatment of sepsis. *Ulusal Travma Acil Cerrahi Derg.* 2011; 17 (4): 293-7.
87. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1992; 38 (1): 66-70.
88. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. 1991; 161 (4): 488-503.
89. Fraternali A, Paoletti MF, Casabianca A, Oiry J, Clayette P, Vogel JU, et al. Antiviral and immunomodulatory properties of new pro-glutathione (GSH) molecules. *Curr Med Chem* 2006; 13 (15): 1749-1755.
90. Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 1984; 1 (8391): 1396-1397.
91. Woodman D.D.: Erythropoetin, *Comparative Haematology International*; 1992; 2: 1-7.
92. Tsuda E, Kawanishi G, Ueda M., Masuda S., Sasaki R. The role of carbohydrate in recombinant human erythropoietin. Research Institute of Life Science, Snow Brand Milk Products Co., Tochigi, Japan. *Eur J Biochem.* 1990; 188 (2): 405-11.

93. Fisher J.W.: Erythropoietin, In Massry S.G., Glassock R.J., Textbook of Nephrology, 3rd Edition, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland USA, 1995; 191- 197.
94. Giger U.: Erythropoietin and its clinical use, Comp. Continuing Education Article; 1992; 14 (1): 25-34.
95. Cotes P.M.: Erythropoietin hormones in blood, 3rd Ed., Vol. 4, Academic Press Inc., London; 1983; 195-211.
96. Spivak J.L. and Watson A. J.: Hematopoiesis and the Kidney The Kidney: Physiology and Patophysiology, Second Ed., Raven Press, Ltd., New York. 1992; Chapter 42, 1553-1593.
97. Youssoufian H., Longmore G., Neumann D., Yoshimura A., Lodish H.F.: Structure, function and activation of the erythropoietin receptor, Blood; 1993; 81: 2223-2236.
98. Sawada K., Krantz S.B., Dai C.H., Koury S.T., Horn S.T., Glick A.D., Civin C.: Purification of human blood burst-forming units-erythroid and demonstration of the evolution of erythropoietin receptors, J. Cell Physiol. 1990; 142: 219.
99. Sawyer S.T.: Receptors for erythropoietin. Distribution, structure and role in receptor-mediated endocytosis in erythroid cells, In Harris JR (ed): Blood Cell 2000; 122-124.
100. Biochemistry, vol I, New York, NY, 1990; Plenum; pp:365.
101. Erslev A.J. : Erythropoietin, N. Eng. J. Med. 1991; 324 (19): 1339-1344.
102. Juul S.E., Yachnis A.T., Rojiani A.M., Christensen R.D.: Immunohistochemicallocalization of erythropoietin and its receptor in the developing human brain, Pediatric and Developmental Pathology 1999; 2: 148-158.
103. Anagnostou A., Liu Z., Steiner M., Chin K., Lee E.S., Kessimian N., Noguchi C.T.: Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994; 91: 3974-3978.

104. Anagnostou A., Lee E.S., Kessimian N., Levinson R., Steiner M.: Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on erythro-endothelial cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 1990; 87: 5978-5982.
105. Chin K., Yu X., Cokic B.B., Liu C., Shen K., Mohrenweiser H.W., Noguchi C.T.: Production and processing of erythropoietin receptor transcripts in brain. *Molecular Brain Research*. 2000; 81: 29-42.
106. Koury M.J., Bondurant M.C.: Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells, *Science*, 1990; 248: 273.
107. Morhishita E., Masuda M., Nagao M., Yasuda Y., Sasaki R.: Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death, *Neuroscience*; 1997; 76 (1): 105-116.
108. Sadamoto Y., Igase K., Sakanaka M., Sato K., Otsuka H., Sakaki K., Masuda S., Sasaki M.: Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1998; 253: 26-32.
109. Wespes E, Amar E, Hatzichristou D, et al. EAU Guidelines on erectile dysfunction: an update. *Eur Urol*. 2006; 49: 806-15.
110. Piroso E., Erslev A.J., Flaharty K.K. et al.: Erythropoietin life span in rats with hypoplastic bone marrows, *Am. J. Haematol*. 1991; 36: 105-110.
111. Dilek İ., Uysal V.A., Üstün C.: Rekombinant Human Eritropoietin ve klinik uygulamaları, *Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 1991; 7 (2):1-7.
112. Fisher J.W.: Erythropoietin: Physiology and pharmacology update, *Exp. Biol. Med*. 2003; 228 (1): 1-14.
113. Macdougall I.C.: Optimizing the use of erythropoietic agents-pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations, *Nephrol. Dial. Transplant*. 2002; 17(5): 66-70.
114. Johnson C.A., Wakeen M., Taylor C.A., Zimmerman S.W., Burkart J., Bhattacharya A., Kosorok M.R.: Comparison of intraperitoneal and subcutaneous epoetin alfa in peritoneal dialysis patients, *Peritoneal Dialysis International* 1999; 19 (6): 578-582.

115. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-431.
116. Ohkawa, H. , N. Ohishida and K. Yagi. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiokarbituric acid reaction. *Anal.Biochem.* 1979; 95: 351-358
117. Villa P, Sartor G, Angelini M, et al. Pattern of cytokines and pharmacomodulation in sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 549-553.
118. Baker CC, Chaudry IH, Gaines HO, et al. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery* 1983; 94: 331-335.
119. Septic acute kidney injury: new concepts. Bellomo R, Wan L, Langenberg C, May C *Nephron Exp Nephrol.* 2008; 109 (4): 95-100.
120. Yang S, Chung CS, Ayala A, et al. Differential alterations in cardiovascular responses during the progression of polymicrobial sepsis in the mouse. *Shock* 2002; 17: 55-60.
121. Overhaus M, Togel S, Pezzone M, Bauer AJ. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004; 287: 685-694.
122. Koga H, Hagiwara S, Inomata M, Kono Y, Oyama Y, Kai S, Nishida T, Noguchi T. The new vitamin E derivative, ETS-GS, protects against cecal ligation and puncture induced systemic inflammation in rats. Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Oita University Faculty of Medicine. *Inflammation*, 2011.
123. Galeano M, Altavilla D, Cucinotta D, Russo GT, Calò M, Bitto A, Marini H, Marini R, Adamo EB, Seminara P, Minutoli L, Torre V, Squadrito F. Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. *Diabetes.* 2004; 53 (9): 2509-2517.
124. Coleman T, Brines M. Science review: recombinant human erythropoietin in critical illness: a role beyond anemia? *Crit Care* 2004; 8: 337-341.

125. Pascual J, Teruel JL, Moya JL, Liaño F, Jiménez-Mena M, Ortuño J. Regression of left ventricular hypertrophy after partial correction of anemia with erythropoietin in patients on hemodialysis: a prospective study. *Clin Nephrol*. 2008;280-7.
126. Cristoph Tiemermann, Beneficial effects of erythropoietin in preclinical models of shock and organ failure, *Critical Care*, 2007; 11: 132
127. Parsa CJ, Matsumoto A, Kim J, Riel RU, Pascal LS, Walton GB, Thompson RB, Petrofski JA, Annex BH, Stamler JS, et al.: A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart. *J Clin Invest* 2003; 112: 999-1007.
128. Sharples EJ, Patel N, Brown P, Stewart K, Mota-Philippe H, Sheaff M, Kieswich J, Allen D, Harwood S, Raftery M, et al.: Erythropoietin protects the kidney against the injury and dysfunction caused by ischemia-reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2115-2124.
129. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R: In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 4635-4640.
130. Sepodes B, Maio R, Pinto R, Sharples E, Oliveira P, McDonald M, Yaqoob M, Thiernemann C, Mota-Filipe H: Recombinant human erythropoietin protects the liver from hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Transpl Int* 2006; 19: 919- 926.
131. Sharples EJ, Thiernemann C, Yaqoob MM: Mechanisms of disease: cell death in acute renal failure and emerging evidence for a protective role of erythropoietin. *Nat Clin Pract Nephrol* 2005; 1: 87-97.
132. Brines M, Cerami A: Discovering erythropoietin's extrahematopoietic functions: biology and clinical promise. *Kidney Int* 2006; 70: 246-250.
133. Vedat Bakan, Harun Çıralık, Fatma Inanaç Tolun, Yalçın Atlı, Ayhan Mil , Senol Öztürk: Protective effect of erythropoietin on torsion / detorsion injury in rat model. *Journal of Pediatric Surgery*, 2009; 44: 1988–1994.
134. Parissis JT, Kourea K, Andreadou I, et al. Effects of darbepoetin alpha on plasma mediators of oxidative and nitrosative stress in anemic patients with

chronic heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2009; 103: 1134–1138.

135. Hirata A, Minamino T, Asanuma H, et al. Erythropoietin enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 176–84.
136. Johnson DW, Pat B, Vesey DA, Guan Z, Endre Z, Gobe GC. Delayed administration of darbepoetin or erythropoietin protects against ischemic acute renal injury and failure. *Kidney Int* 2006; 69: 1806-1813.
137. Ateş E, Yalçın A U, Yılmaz S, Köken T, Tokyol Ç. Protective effect of erythropoietin on renal ischemia and reperfusion injury. *ANZ Journal of Surgery* 2005; 75: 1100.
138. M. Bockhorn', C. Fingas', E. Niehues' , M. Trippler', A. Frilling', C.E. Broelsch', J.F. Schlaak', exogenous administration of erythropoietin improves liver regeneration of the donor and recipient in a rat living related liver transplantation model. 'General and Transplantation Surgery; Gastroenterology and Hepatology, University@ Hospital Essen, Essen, Parallel Session 4: Liver failure and transplantation 2007; 4: 16-17.
139. Aoshiba K, Onizawa S, Tsuji T, Nagai A. Therapeutic effects of erythropoietin in murine models of endotoxin shock. First Department of Medicine, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan. *Crit Care Med.* 2010; (1): 340-341.

