

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**FARE SEPSİS MODELİNDE DÜŞÜK DOZ STEROİDLERİN
MEZENTER KAN AKIMI VE ORGAN HASARINA ETKİSİ**

Dr H. Özgür AYTAÇ

UZMANLIK TEZİ

**Tez Danışmanı
Prof Dr İskender SAYEK**

**ANKARA
2006**

TEŞEKKÜR

Çalışmama esin kaynağı olan, tez danışmanım, Sayın Prof Dr İskender SAYEK' e, başından sonuna dek yanımda olan, Farmakoloji A.D. Öğretim Üyesi Sayın Doç Dr Alper İSKİT' e,

Tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen;

Farmakoloji A.D. Öğretim Üyesi, Sayın Prof Dr Oğuz GÜÇ' e ve Fiziyojji A.D. Araştırma Görevlisi Sayın Dr Meltem SEVGİLİ' ye,

Biyokimya A.D. Öğretim Üyesi Sayın Prof Dr Kamer KILINÇ' a,

Biyostatistik A.D. Öğretim Görevlisi Sayın Dr Erdem

KARABULUT' a,

Deney Hayvanları Laboratuvarı sorumlusu Sayın Veteriner Dr İlyas ONBAŞILAR' a,

Farmakoloji A.D.' nın tüm değerli çalışanlarına,

Eğitimimde emeği geçen, Genel Cerrahi A.D.' nın bütün değerli öğretim üyelerine, öğretim görevlilerine ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma, teşekkürü borç bilirim.

ÖZET

AYTAÇ, H.Ö. Fare sepsis modelinde düşük doz steroidlerin mezenter kan akımı ve organ hasarına etkisi., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi, Ankara, 2006. Çekal bağlama ve delme (ÇBD) yöntemiyle karın içi polimikrobiyal sepsis oluşturulan Swiss-albino türü farelerde, erken ve geç dönemlerde uygulanan düşük doz deksametazon tedavisinin, mezenterik arter kan akımına, karaciğer, akciğer ve periton dokularında oluşan oksidatif hasara, vasküler yanıtızsızlığa ve sağ kalıma etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Fareler kan akımı, organ hasarı ve fenilefrine vasküler yanıtın 24, 48 ve 72. saatlerde değerlendirileceği ÇBD+serum fizyolojik, ÇBD+Steroid, Sham+Serum fizyolojik ve Sham+Steroid alt gruplarına ayrıldı. Sağkalım farklı hayvan grubunda değerlendirildi. Çekal bağlama ve delme ya da Sham işlemi sonrasında, sepsisin hipodinamik geç dönemine geçişi geciktirmek amacıyla sıvı tedavisi yapıldı. Çekal bağlama ve delme ya da Sham' ı izleyen ikinci saatte, Steroid gruplarına deksametazon (1 mg/kg/gün), SF gruplarına serum fizyolojik (4ml/kg/gün) uygulandı. Deksametazon veya serum fizyolojik uygulaması, 48 ve 72. saat gruplarında, değerlendirme zamanına dek sürdürüldü. İlgili saat dönemlerinde, hayvanlara tekrar laparotomi uygulanarak, mezenterik arter kan akımları ölçüldü, karaciğer, akciğer ve periton doku örnekleri alındı. Başka bir fare grubunda, ilgili saatlerde ardaşık olarak 1, 3, 10 ve 30 µg i.v. fenilefrin uygulamasıyla mezenterik akım değişiklikleri kaydedildi. Sağkalım grubundaki fareler 7 gün süreyle deksametazon veya serum fizyolojik verilerek izlendi.

ÇBD işlemiyle mezenterik akımda oluşan anlamlı düşüş ($p<0,05$), deksametazon tedavisiyle, 48 ve 72. saatlerde anlamlı şekilde azaldı ($p=0,025$, $p=0,018$). Deksametazon tedavisi, ÇBD sonrası artan, organ hasarının göstergesi olan malonil dialdehit düzeylerini özellikle 24. saatte anlamlı olarak azalttı ($p<0,01$). Fenilefrin uygulamalarını izleyen ölçümlerde, deksametazon tedavisinin tüm dozlarda damar yanıtını anlamlı şekilde arttırdığı ancak, sağ kalım üzerine etkisi olmadığı saptandı.

Bu sonuçlarla, sepsis hayvan modelinde düşük doz steroid tedavisinin, mezenterik kan akımı ve organ hasarına olumlu etkiler gösterdiği kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: Steroid; sepsis; organ hasarı; vasküler yanıtızsızlık; mezenterik dolaşım

ABSTRACT

AYTAÇ, H.Ö. Effect of low dose steroids on mesenteric vascular flow and organ injury in mice sepsis model., Hacettepe University Faculty of Medicine General Surgery Thesis, Ankara, 2006.

The aim of this study is to demonstrate the effects of early and late low dose steroid application on mesenteric artery flow, oxidative injury of liver, lungs and periton, the vascular hyporeactivity and survival in Swiss-albino mice intraabdominal polymicrobial sepsis following caecal ligation and puncture (CLP). Mice were allocated in to CLP+saline, CLP+Steroid, Sham+saline and Sham+Steroid subgroups so as to evaluate the vascular flow, organ injury and vascular response to phenylephrine on 24, 48 and 72 hours. Survival rates were evaluated in a different cluster of animals. Fluid resuscitation was performed to retard the onset of hypodynamic late phase of sepsis after CLP or Sham procedures. Dexamethasone (1 mg/kg/d) to Steroid groups, and saline (4ml/kg/d) to saline groups were administered on the second hour following CLP or Sham procedures, and continued until evaluation time in 48th, 72th hour groups. Re-laparotomy was performed on the concerned time and mesenteric flow was measured, liver, lung and periton samples were obtained. Mesenteric flow response to 1, 3, 10 and 30 µg of i.v. phenylephrine injections were recorded on the related time intervals in a new mice group. Survival group was followed up by seven days administration of dexamethasone or saline.

The significant fall ($p<0,05$) in mesenteric flow following CLP has ameliorated with dexamethasone treatment on 48th and 72nd hours ($p=0,025$, $p=0,018$). Dexamethasone diminished the malonyl dialdehyde (MDA) levels which is an indicator of organ injury raised after CLP, significantly on the 24th hour ($p<0,01$). It is demonstrated that dexamethasone therapy has enhanced vascular response to phenylephrine injections in all doses, nevertheless no change was observed in survival rates.

Hence, we concluded that, low dose steroids have beneficial effects on mesenteric blood flow and organ injury in experimental sepsis model.

Keywords: Steroid; sepsis; organ injury; vascular hyporeactivity; mesenteric blood flow

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	v
İÇİNDEKİLER dizini	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER ve TABLOLAR dizini	viii
RESİMLER ve GRAFİKLER dizini	ix
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİLER	
2.1 TANIMLAR	3
2.2 SEPSİS PATOFİZYOLOJİSİ	6
2.3 SEPSİS KLİNİĞİ	12
2.4 NİTRİK OKSİT	
2.4.1 NİTRİK OKSİT BİYOSENTEZİ VE ETKİ MEKANİZMASI	16
2.4.2 NİTRİK OKSİT İLİNTİLİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI	19
2.5 SEPSİS' te ADJUVAN TEDAVİ YAKLAŞIMLARI	23
2.6 DENEYSEL SEPSİSTE MEZENTER KAN AKIMININ DEĞERLENDİRİLMESİ	24
3 GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1 Mezenter Kan Akımı Ölçümü	29
3.2 Organ Hasarının Saptanması	30
3.3 Mezenterik Akım Vazopressör Yanıtının Ölçümü	33
3.4 İstatistiksel Değerlendirme	33
4 BULGULAR	
4.1 Mezenterik Akım Ölçümleri	34
4.2 Organ Hasarının Göstergesi, Doku MDA Düzeyleri	36
4.3 Mezenterik Akım Vazopressör Yanıtının Ölçüm Sonuçları	43
4.4 Sağ kalım Grupları	47
5 TARTIŞMA	48
6 SONUÇ VE ÖNERİLER	55
7 KAYNAKLAR	56

KISALTMALAR

ADP	Adenozin Difosfat
C	Kompleman
CD	(<i>Cluster of Differentiation</i>) Farklılık kümesi
ÇBD	Çekal Bağlama ve Delme
COX	Siklooksijenaz
CRP	C-Reaktif Protein
CSF	Koloni Uyarıcı Faktör
DİK	Yaygın Damar içi Pıhtılaşma bozukluğu
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
ELAM	Endotelyal Lökosit Adezyon Molekülü
eNOS	endotel kaynaklı Nitrik Oksit Sentaz
FYÜ	Fibrin Yıkım Ürünleri
IL	İnterlökin
INF	İnterferon
iNOS	uyarılabılır Nitrik Oksit Sentaz
L-NA	N ^G -nitro-L-arjinin
L-NMMA	N ^G -metil-L-arjinin
LPS	Lipopolisakkarid
MDA	Malonil Dialdehid
MIP	Makrofaj İnflamatuvar Protein
NFkB	Nükleer Transkripsiyon Faktörü
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
p	istatistiksel anlamlılık değeri
Pa CO2	Kısmi karbondiyoksit basıncı
TAF	Trombosit Aktive edici Faktör
PAI	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
PAMP	Patojen İlintili Moleküler Örnekler
PARS	Poli(ADP) Riboziltransferaz
PG	Prostaglandin
PRR	Örnek Algılama Reseptörleri
PTA	Tromboplastin
TGF	Doku Büyüme Faktörü
Th	(<i>T Helper</i>) T Yardımcı
TNF	Tümör Nekrozis Faktör

ŞEKİLLER

ŞEKİL	SAYFA
2.1 Pro-inflamatuvar Prostaglandinlerin Sentezi	10
2.2 Doğal İmmün Sistemde Hücreyel ve Hümoral Yanıt Yolakları	11
2.3 Sepsiste inflamatuvar yanıt süreci	12
2.4 iNOS uyarılması ve NO sentezi	18

TABLolar

TABLO	SAYFA
2.1 Sistemik İnflamasyon Sürecinde Görev Alan Mediyatörler	15
3.1 Deney Alt Grupları	28
4.1 Gruplara Göre, Düzeltilmiş Mezenterik Akım Ölçümleri	34
4.2.1 Gruplara Göre Karaciğer MDA Düzeyleri	36
4.2.2 Karaciğer MDA Düzeylerinin Gruplar Arası Farklılıklarının Karşılaştırılması	36
4.3.1 Gruplara Göre Akciğer MDA Düzeyleri	37
4.3.2 Akciğer MDA Düzeylerinin Gruplar Arası Farklılıklarının Karşılaştırılması	37
4.4.1 Gruplara Göre Periton MDA Düzeyleri	38
4.4.2 Periton MDA Düzeylerinin Gruplar Arası Farklılıklarının Karşılaştırılması	38
4.5.1 Gruplara Göre Fenilefrinin Tekrarlanan Dozlarına, Mezenterik Akım Yüzde Değişim Yanıtı	43
4.5.2 Tekrarlanan fenilefrin dozlarında, mezenterik kan akımı değişiminin gruplara göre anlamlılığı	45

RESİMLER

RESİM	SAYFA
3.1 Çekal Bağlama ve Delme İşlemi	31
3.2 Mezenterik arter	32
3.3 Ultrasonik damar probu	32
3.4 Akım hızı ölçüm cihazı	32

GRAFİKLER

GRAFİK	SAYFA
4.1 Sham cerrahi ve ÇBD alt gruplarında steroid tedavisinin mezenterik kan akımına etkisi	35
4.2 24, 48 ve 72. saatlerde doku MDA düzeylerinin alt gruplara göre dağılımı	39
4.3.1 24.saatte karaciğer, akciğer ve peritonda MDA düzeylerinin, mezenterik kan akımıyla karşılaştırılması	40
4.3.2 48.saatte karaciğer, akciğer ve peritonda MDA düzeylerinin, mezenterik kan akımıyla karşılaştırılması	41
4.3.3 72.saatte karaciğer, akciğer ve peritonda MDA düzeylerinin, mezenterik kan akımıyla karşılaştırılması	42
4.4 Tekrarlanan fenilefrin dozlarımda, gruplara göre akım yüzde değişim yanıtları	46
4.5 Sağkalım gruplarının değerlendirilmesi	47

I. GİRİŞ

Sepsis, sıklıkla çoklu organ disfonksiyonu sendromu ve organ yetmezliği ile seyreden, günümüz yoğun bakım uygulamalarında en fazla uğraşa neden olan sorunların başında gelmektedir (28). Bu durum, son otuz yıllık süreçte klinisyenlerin ve araştırmacıların, sistemik inflamatuvar yanıt kavramıyla tanışmasına neden olmuş ve normal koşullarda lokal olarak seyretmesi halinde yararlı olan bir sürecin, sistemik duruma ilerleyip kontrol dışına çıkmasıyla zarar verir hal aldığı bir sendrom olarak tanımlanmıştır (10).

Bu konuya olan ilginin artması, zamanla sepsis, sepsis sendromu ve sistemik inflamatuvar yanıt sendromu kavramlarının ayrışmasını sağlamış ve inflamasyon yollarının fizyopatolojini aydınlatmaya yönelik klinik ve deneysel araştırmaların önünü açmıştır (10).

Sistemik inflamasyon aşamasında nitrik oksit ve bir dizi sitokinin ortak yollarla etkin olduğu ve vasküler endotel hasarının patofizyolojisinde kilit rol oynadığı, bunun sonucu olarak da vasküler endotelinin dışarıdan resüsitasyon amaçlı verilen pek çok vazopressör/vazodilatatör ajana duyarsız ya da aşırı duyarlı hale geldiği bilinmektedir (6, 18, 68).

Sepsis kliniğinden, inflamasyonun sistemik aktivasyonunun sorumlu tutulmaya başlanması ve bu süreçteki inflamasyon aktivatörlerinin tek tek ortaya konmasıyla birlikte, araştırmacıların ilgisi “inflamasyon aktivatörlerinin blokajı” kavramına yönelmiştir. Sistemik inflamasyon sürecinin hastalarda benzer şekilde izliyor olduğunun gözlemlenmesi, inflamasyonun değişik evreleri olduğu kavramını doğurmuş, bu da inflamasyon aktivasyonunun blokajında zamanlamanın önemini ortaya koymuştur (25).

Bu gerçekler ışığında bilim adamlarının ortak hedefe olan yönelimlerinde ulaştıkları nokta sıklıkla aynı olagelmıştır. İnflamasyon

sürecinin bilinen tüm ara yolaklarında, hemen tüm aktivatörlerin, olası bütün zamanlama kombinasyonlarıyla bloke edilmesi denenmiş ve çoğu kez deneysel çalışmalarda anlamlı bulunan sonuçlar, klinik uygulamalarda hayal kırıklığıyla sonuçlanmıştır.

Son otuz yıllık süreçte, araştırmalar, bilinen en eski immün modülatörler olan steroidlerle başlamış, inflamatuvar yolaklarda, her bir basamağa selektif ajanların tanımlanması ve steroidlerin alışıldık immünsupresör dozlarda olumsuz ve kimi kez zararlı etkilerinin gözlenmesiyle, sistemik inflamasyon modülasyonundaki önemlerini yitirmişlerdir. Son yıllarda stres dozunda uygulanması durumunda alışıldan daha olumlu sonuçlar göstermesiyle birlikte, sepsiste düşük doz steroid kullanımı kavramı tekrar gündeme gelmiştir (31, 37, 42).

Düşük doz steroidin insanda tedavi amaçlı kullanımının etkileri bugün için tartışmalı olsa da, nitrik oksit ve bununla ilintili yıkım ürünlerinin, steroidlerle baskılanmasıyla, anlamlı klinik değişikliklerin olacağına hayvan çalışmalarıyla gösterilebilmesi, güncel sepsis tedavisine yaklaşımda yeni ufuklar açacaktır.

Bu çalışmada deneysel sepsis modeli oluşturularak, sepsisin olası erken ve geç evrelerinde düşük doz deksametazon uygulamasının sağkalıma, mezenterik arter akımına, organ hasarına ve mezenterik arter akımının vazopressör yanıtına olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

1991 yılında *American College of Chest Physicians (ACCP) and the Society of Critical Care Medicine (SCCM)*' in sepsis ve benzeri klinik tabloların tanımlanmalarına yönelik gerçekleştirdiği uzlaşma konferansına dek, bakteriyemi, septisemi, sepsis, sepsis sendromu ve septik şok, sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılan kavram olmuştur. Konferans, bu kavramlara ilişkin olarak Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve çoklu organ disfonksiyonu sendromunu da içeren yeni tanımlamalarla sonuçlanmıştır (2, 10, 34).

Bu dönemi izleyen çalışmaların, inflamasyon sürecinde anti-inflamatuvar sitokinleri gündeme getirmesiyle birlikte, kompansatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromu ve karışık antagonist yanıt sendromu kavramları tanımlanmıştır (10).

2.1 TANIMLAR

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu : Enfeksiyon ya da pankreatit, yanık gibi enfeksiyon dışı nedenlerle, yerel olarak başlayan inflamasyon yanıtının sistemik hale gelmesiyle oluşan durumdur. Aşağıdaki kriterlerden en az ikisinin gözlenmesi gereklidir;

- Ateş > 38 C° veya < 36 C°
- Nabız > 90 atım/dakika
- Solunum hızı > 20/dakika veya Pa CO₂ < 32 torr (4.3 kPa)
- Beyaz küre > 12000 hücre/mm³ veya < 4000 hücre/mm³ veya periferik yaymada band formasyonu > %10

Bu kriterlerin, inflamasyonun sistemik düzeyde olduğunu göstermede mutlak duyarlılıkta olduğu, ancak özgül olmadığı, takip eden onuncu yıldaki ikinci konferansta vurgulanmıştır (34).

Sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun klinik bulguları değişken olduğu halde, biyokimyasal belirteçleri çok daha somuttur. Bin dokuz yüz doksan iki sistemik inflamatuvar yanıt sendromu kriterlerine uyan hastalarda IL-6, adrenomodulin, CD14, sELAM-1 (Endotelial Lökosit Adezyon Molekülü), MIP-1 (Makrofaj İnflamatuvar Proteini), hücre dışı fosfolipaz A1, prokalsitonin ve C-reaktif protein düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (41, 49, 53, 61). Bu durum, gelecekte sistemik inflamatuvar yanıt sendromu kriterlerinin biyokimyasal ya da immünolojik esaslara göre düzenleneceğinin habercisidir (34).

Sepsis: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu kriterlerinin bir enfeksiyona ikincil gerçekleşmesi durumudur. Kan kültüründe mikroorganizma üremesinin gösterilmesi gerekliliği 1991 sistemik inflamatuvar yanıt sendromu kriterlerinin getirdiği bir düzenleme iken (2), bu gereklilik 2001 sistemik inflamatuvar yanıt sendromu uzlaşma konferansının ardından yerini, “kuvvetle olası enfeksiyon durumunun” yeterli olmasına bırakmıştır (34).

Şiddetli Sepsis: Sepsise, organ yetmezliğinin eşlik etmesi durumudur. Koroner bakım üniteleri dışındaki yoğun bakım ünitelerinde, şiddetli sepsis ilk sırada gelen ölüm nedenidir (34). Marshall ve arkadaşlarının oluşturduğu sınıflandırılma, günümüzde organ yetmezliğinin tanımlanmasında kabul görmüştür (36). Bu sınıflandırmada, solunum, böbrek, karaciğer, kardiyovasküler, hematolojik ve nörolojik fonksiyonlarındaki değişiklikler esas alınmıştır.

Septik Şok: Başka nedenlere bağlı olmaksızın, uygun sıvı tedavisine rağmen düzelmeyen arteriyel hipotansiyonun izlendiği, akut dolaşım yetmezliği durumudur. Hipotansiyon, sistolik arter basıncının 90 mmHg'nin altında olması, ya da 40 mmHg düşüş olması olarak kabul edilir. Çocuk yaş grubu ve yenidoğanlarda, vasküler tonusun bozulması daha uzun zaman aldığı için, taşikardi varlığı ve idrar çıkışında azalma daha önemlidir. Hipotansiyon çocuk

yaş grubu için septik şokun geç bulgusudur (36, 38). Sıvı tedavisi dışında, inotropik ya da vazopressör ajan desteği ile hipotansiyonun engelleniyor olması, hastanın septik şok tablosunda olmadığını göstermez (10, 34).

Çoklu Organ Disfonksiyonu Sendromu : Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, sepsis ya da septik şok sürecindeki hastada organ fonksiyonlarında bozulma olarak tanımlanır. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu tablosu olan hastaların yaklaşık %30'unda gözlenir (10). Solunum, kardiyovasküler, renal, hepatik, gastrointestinal, hematolojik, endokrin ve santral sinir sistemleri etkilenbilir (28, 36). En sık, solunum yetmezliği ve karaciğer yetmezliği görülürken, böbrek yetmezliği en son sırada gelmektedir, ancak en fazla ölümcül seyreden durum da yine böbrek yetmezliğidir. Fry ve arkadaşları, 553 acil cerrahi hastası üzerinde yaptıkları çalışmada, çoklu organ disfonksiyonu sendromunda mortalite oranlarının, etkilenen organ sistemi sayısı ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir. Buna göre mortalite oranları, tek organ yetmezliğinde %30, iki organ yetmezliğinde %60, üç organ yetmezliğinde %85 ve dört organ yetmezliğinde %100 olarak saptanmıştır (17).

Kompansatuvar Anti-inflamatuvar Yanıt Sendromu : Son otuz yıl içinde, sepsis, septik şok, çoklu organ disfonksiyonu sendromu sürecinde pro-inflamatuvar sitokinlerin kontrol dışı artışının, alışıldık klinik sonuçları doğurduğu düşüncesi, beraberinde bu pro-inflamatuvar sürecin herhangi bir basamağında durdurulmasının, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu tablosunu sonlandıracağı düşüncesini doğurmuştur. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar çoğu kez olumsuz sonuçlanmış, diğer taraftan bilinen sürecin tam tersi etki gösterme potansiyelinde olduğu anlaşılan bir dizi karşıt inflamasyon ajanlarının gün ışığına çıkmasını sağlamıştır. Bu durumu açıklamaya yönelik en önemli hipotez, tetikleyici uyararı takiben, inflamasyon henüz yerel düzeyde iken, sistemik yanıtın oluşmasını dengelemek amacıyla, organizmanın bir dizi yerel anti-

inflamatuvar sitokini salmaya başladığını öngörür. Amaç, inflamasyonun yerel ve sistemik etkisinin dengelenmesine yönelik olduğu halde, kimi kez bu yerel anti-inflamatuvar süreç baskın hale geçer ve anti-inflamatuvar yanıtın sistemik hal almasıyla sonlanır. Abartılı immün sistem yanıtının sorununun gözlemlendiği sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun tersine, kompansatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromunda immün sistemin tamamen baskılanması sorunuyla karşılaşılır. Hastalar, baskılanmış immün sistemin sonucu olarak, yaygın enfeksiyona ikincil olarak kaybedilir (10).

Karışık Antagonist Yanıt Sendromu : Organizmanın sepsise yanıtı sürecinde sistemik anti-inflamatuvar yanıt sendromu ve kompansatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromu arasında gidip gelen dengesiz yanıt durumudur. Bu durum her iki yanıt türünün dengeleneceği bir süreci çağrıştırıyor olsa da, karışık yanıtın sistemik düzeyde gerçekleşiyor olması, çoğu kez hastada immün sistemin yeterince uyarılamadığı bir ortamda organ sistemlerinin yitimiyle seyreder (10). Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve çoklu organ disfonksiyonu sendromu süreci yaşanmadan hızla kaybedilen hastalar bu grubun örnekleridir.

2.2 SEPSİS PATOFİZYOLOJİSİ

Sepsiste inflamasyon süreci, organizmaya yabancı olan mikroorganizmanın, doğal (*innate*: doğuştan var olan) immün sistem tarafından algılanmasıyla dakikalar içinde başlar. En sık görülen etken bakterilerken, virüsler, mantarlar ya da parazitler de inflamasyonun tetikleyicisi olabilirler. Doğal immün yanıt, süreç içinde birbirini tetikleyen hücresel ya da hümorale uyarıların sonucu olarak gerçekleşir.

Hücresel Uyarı :

Gram (-) bakterilerin dış zar yapısında bulunan lipopolisakkarid (LPS) ve endotoksinin, Gram (+) bakterilerin dış zar yapısında

bulunan lipoteikoik asit ve peptidoglikanın, doğal bağıklık sisteminin parçası olan nütrofiller ve makrofajların yüzeyinde bulunan reseprörlerce (PRR: Örnek Algılama Reseptörleri) yabancı olarak (PAMP: Patojen İlintili Moleküler Örnekler) algılanmalarının ardından, çoğu kez fagositoz yoluyla yok edilirler, ya da immün yanıtın uyarılmasıyla inflamasyon sürecini başlatırlar. Bu süreçte yabancı protein kompleksleri, miyeloid seri hücrelerinin dış membranında bulunan CD14 reseptörleriyle (toll-like reseptörler aracılığıyla) temasa geçerlerse, oluşan bu yeni kompleks hücre içi sinyal oluşmasına neden olarak, bir dizi transkripsiyon faktörünü etkinleştirir ve bu da pro-inflamatuvar sitokinlerin salınmasıyla sonuçlanır. Sitokinler, CD4+ T helper-1 (Th1) lenfositlerden, monositlerden, makrofajlardan ve immün kökenli olmayan kimi hücrelerden (örneğin endotel) salınan önemli bir mediatör sınıfıdır. Tümör Nekrozis Faktör (TNF), interlökinler, Koloni Uyarıcı Faktörler (CSF), interferonlar ve kimokinler bu sınıfın üyeleridirler. Pek çok pro-inflamatuvar sitokin tanımlanmıştır, ancak bunların en önemli ve kilit rolde olan ikisi, Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 (IL-1)' dir (47). Bu sitokinler bir yandan dokular üzerine doğrudan toksik etki gösterirken, öte yandan fosfolipaz A2 ve siklooksijenaz enzimlerinin aktivasyonuna neden olurlar. Yabancı mikroorganizmanın sınırlandırılmasına yönelik düzenlenen bu değişiklikler, Trombosit aktive edici faktör (TAF) düzeyini arttırır, Nitrik Oksit Sentaz (NOS)' in uyarılmasını sağlar, nütrofillerce doku inflamasyonuna ve nütrofil aktivasyonuna neden olurlar (12).

Hümmoral Uyarı :

Artan IL-1 ve TNF- α , endotel yüzeyine ve monositlere doğrudan etki ederek, doku faktörünü uyarır ve koagülasyonun ekstrensek yolağını tetiklemiş olur. Doku faktörü, bir pro-inflamatuvar olan trombinin üretimine neden olur. Trombin, mikro dolaşımda fibrin tıkaçları oluşturur. Bu süreçte, yine IL-1 ve TNF- α tarafından, fibrinoliz inhibitörü olan plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1)

üretilmesi sağlanır (12). Fibrinoliz böylelikle baskılanmış olur. Koagülasyon aktivasyonu, biyolojik olarak aktif bazı ürünlerin açığa çıkmasına neden olur. Aktive Faktör XII, inflamasyonun aktivasyonu sürecinde, kendisinden sonraki başlatıcıları etkinleştirmesi açısından oldukça önemlidir. Uyarılmış Faktör XII, dört ayrı yolakla hümmoral sistemin aktivasyonuna neden olur;

- Kompleman sistemi aktivasyonu
- Koagülasyon aktivasyonu
- Fibrinolitik sistem aktivasyonu
- Bradikinin sistemi aktivasyonu

Kompleman sistem aktivasyonu klasik ve alternatif yollarla olur. Aktivasyonu takiben fagositik hücreler dokuya göç eder (kemotaksis), C3b ve C5a aktivasyonu ile fagositoz kolaylaşır. C5a aynı zamanda vasküler geçirgenliği ve inflamasyonu artırır. Sonuçta nötrofil aktivasyonu ve degranülasyonu ile serbest oksijen radikalleri açığa çıkar ve toksik etkiye bağlı hücre yıkım süreci başlamış olur.

Faktör XII' nin aktivasyonu ile koagülasyonun intrinsek yolu başlamış olur. Pre-PTA (Plazma Tromboplastin öncülü), PTA' ya (Faktör XI), sonuçta da fibrinojen (FI), fibrine dönüşür. Koagülasyon faktörleri II, V, VIII ve trombositler, intrinsek yol ile fibrin tıkaçı oluşturulmasında kullanılan mutlak faktörlerdir. Bu durum sepsisin ilerleyen dönemlerinde görülmeye alışık olunan Yaygın Damar içi Pıhtılaşma bozukluğu (DİK) tablosunda tükenen koagülasyon faktörlerinden ötürü, intrinsek koagülasyon yolağının önemine işaret eder (43).

Yerel olayı sınırlamak amacıyla başlatılan koagülasyon aşamasında, başlangıçta fibrinolitik mekanizmalar baskılanmakta iken, inflamasyonun sistemik boyut kazanması ve damar içi pıhtılaşmanın giderek yayılmasına sınırlayıcı bir düzenleme olarak, fibrinolitik aktivasyon devreye sokulur. Bu dönem sistemik inflamasyon döneminde DİK tablosunun gözlendiği dönemdir. Fibrin

lizisi sonucu, Fibrin yıkım ürünleri (FYÜ) açığa çıkar. Fibrin yıkım ürünleri' nin son ürünü olan plazmin, kompleman sistemini aktive etme özelliğine sahiptir. Bu durum, iç içe iki ayrı sistemin nasıl bir diğerini tetiklediğini gösterir (43, 69).

Eş zamanlı gelişen ayrı yolaklarla, kompleman ürünlerinin doğrudan etkisiyle, aktive olmuş Faktör XII' nin, öte yandan TAF, TNF- α ve IL-1 in etkisiyle, ve ayrıca toll-like reseptörler üzerinden oluşturulan nötrofil – endotoksin kompleksinin uyarısıyla, monosit ve makrofajlardan sitokin salınımı gerçekleşir. Bunların başlıcaları, IL-1, interferon- γ (INF- γ), koloni stimulan faktörler (CSF), TAF ve TNF' dür (12, 43, 47).

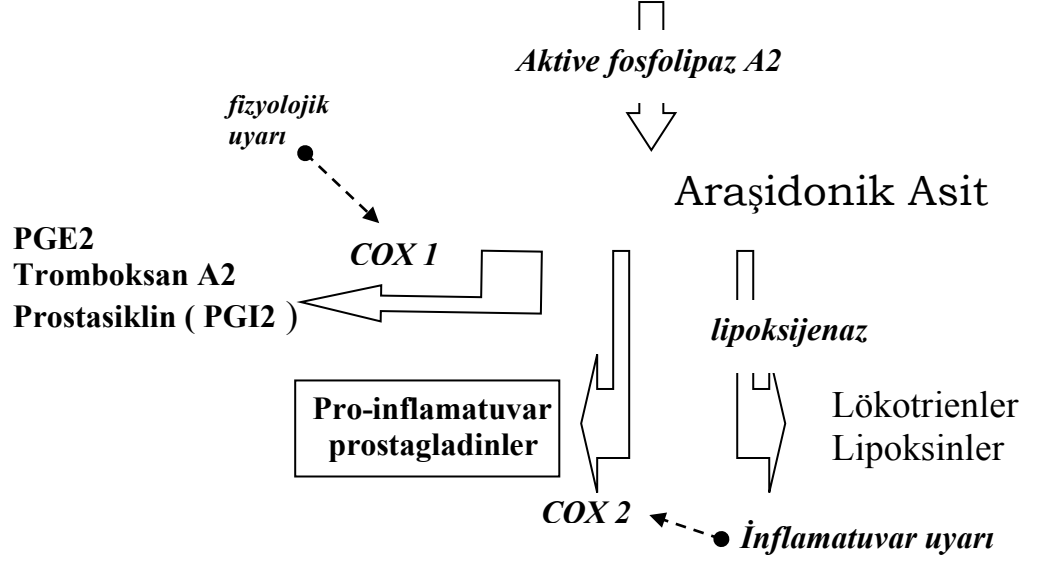
Prekallikrein, doku yaralanması ile kallikreine dönüştürülen bir proteindir. Vasküler endotelde ve uyarılmış makrofajlarda, aktive Faktör XII' nin etkisiyle prekallikrein kallikreine, o da bradikinine dönüşür. Kendisi de güçlü bir vazodilatatör olan bradikinin, özgül endotel reseptörlerine bağlanarak NO sentezini uyarır.

Pro-inflamatuvar sitokinler, immün hücrelerde bulunan siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimini etkinleştirirler. Bu enzim inflamasyonda ve hücre büyümesinde önemlidir. Pro-inflamatuvar sitokinlerle (ör.: IL-1) ve endotoksinle etkinleştirilen COX-2 enzimi uyarılabilir bir enzimdir, ve fosfolipaz A-2 enziminin membran fosfolipidlerinden dönüştürülen araşidonik asitten, prostaglandinlerin sentezlenmesinde görev alır (ŞEKİL-2.1). Steroidler, non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar ve anti-inflamatuvar sitokinlerle (ör.: IL-4) inhibe edilir (66).

Doğal immün sistemi tetikleyen başlatıcıların etkisiyle, önce hücrel immün yanıt etkinleşmekte, bir yandan nötrofil, makrofaj aktivasyonu, yabancı hücrelerin organizmadaki yeri işaretlenip, siklooksijenaz enzimi üzerinden salınan bir dizi doku düzenleyicisi – prostaglandinlerce alan savunmaya uygun hale getirilirken, diğer yandan savunma sisteminin asıl savaşçıları olan lenfositleri hazırlamak için, TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, TAF gibi pro-inflamatuvar

FOSFOLİPİDLERİ

MEMBRAN



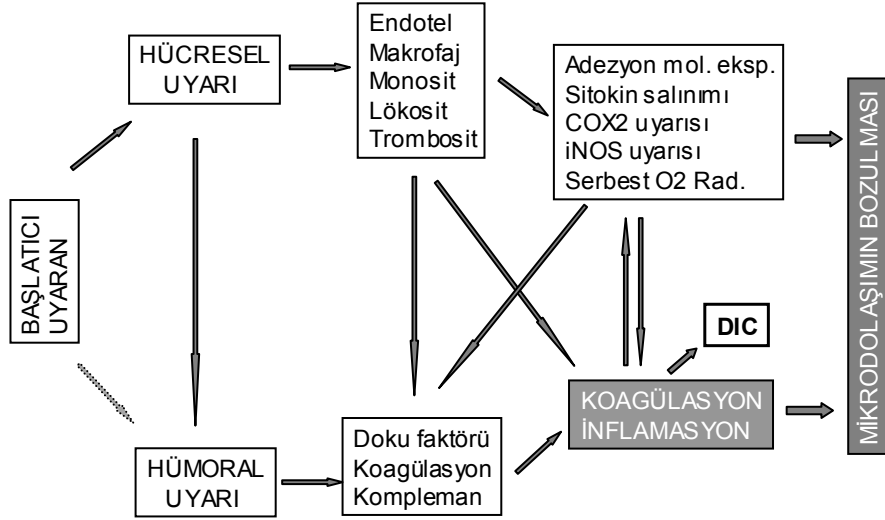
ŞEKİL 2.1 : Pro-inflamatuvar prostaglandinlerin sentezi.

sitokinler, kimokinler haberci olarak salınmaktadır (TABLO 2.1). CD4 Th' larla organize olan savunma sistemi hücreleri, hümmoral immün yanıtını etkinleştirerek T lenfositleriyle yakaladığı düşman hücrelerini B lenfositlerince yapılan immünglobulinlerle yok etmeye başlar. Bir taraftan da mikroorganizmaların yayılmasını engellemek için koagülasyon sistemini etkinleştirerek, inflamasyon alanına gelen yolları fibrin tıkaçlarıyla kapatır, aynı zamanda da inflamasyon bölgesini gözden çıkararak, yok etmeye yönelik kimyasallarını – doku yıkım ürünlerini, Nitrik Oksit' i (NO) – etkinleştirir (10)(ŞEKİL2.2).

Yerel olay sürerken, lokal inflamasyona yönelik alınan önlemler, sitokin haberciler aracılığıyla çevre dokularca da algılanır ve benzer önlemler alınmaya başlanır.

Daha sonra benzer bir mikroorganizmayla olası tekrar karşılaşma durumunda kullanılmak üzere daha özgül ve etkili savunma düzenlemelerinin hazırlanması amacıyla B lenfositleri

uyarılır, böylelikle doğal savunma sisteminin yanı sıra, kazanılmış (*adaptive*) savunma sistemi de devreye sokulmuş olur.



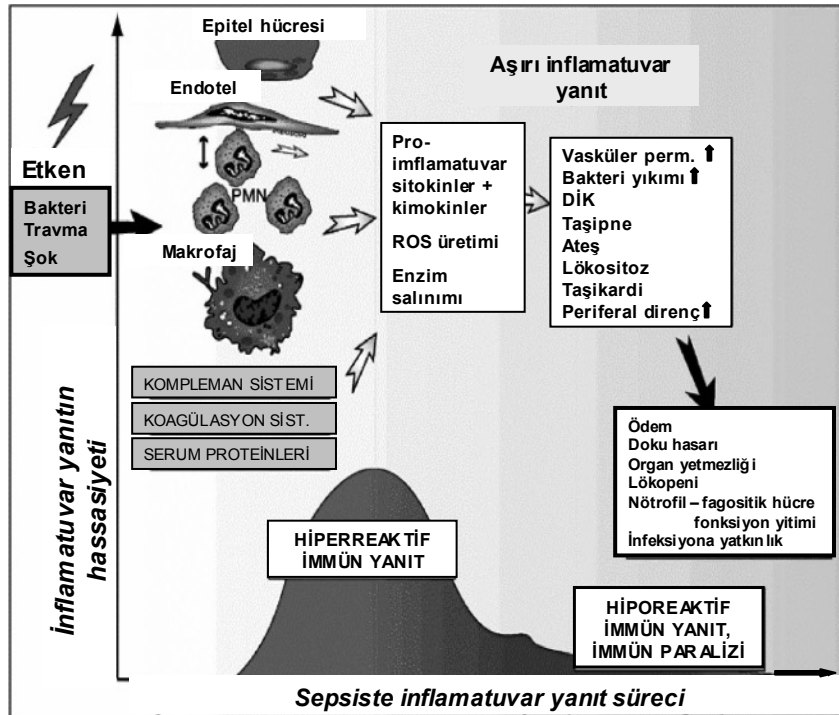
ŞEKİL 2.2 : Doğal İmmün Sistemde Hücreyel ve Hümorale Yanıt Yolakları

Bu aşamada lokal olay kontrol altına alınamaz, mikroorganizma tehditi devam ederse, pro-inflamatuvar sitokinler, çevre dokularda mikroorganizma olmamasına rağmen, inflamasyona neden olarak sanal bir savunma başlatır, yukarıdakine benzer şekilde, fibrin tıkaçlarıyla kapiller damarları tıkayıp, doku yıkım ürünleriyle yıkıma başlarlar.

Savunma sisteminde, inflamasyonun bölge dışına çıkmakta olduğu algılanır ve IL-4, IL-10, IL-13 gibi dizginleyici bir dizi anti-inflamatuvar haberci aracılığıyla Th-2 lökositlerinin oluşturduğu komutlarla inflamasyon baskılanmaya çalışılır (TABLO 2.1).

Yabancı mikroorganizmalar, savunma sisteminde lokal inflamasyon ya da sistemik inflamasyonun erken döneminde, pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar dengelerle sınırlandırılabilirse, olay kontrol altına alınmış, homeostazis sağlanmış olur.

Kontrol altına alınamayan süreçte, pro-inflamatuvar sistemin baskın olması halinde, tüm organizmada inflamasyonun etkinleşmesi giderek artar ve sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, bunun sonucunda da sepsis ve çoklu organ disfonksiyonu sendromuyla sonuçlanır. İnflamasyon aktivasyonunun organizmanın kendisini vurmasını engellemek amacıyla aktifleşen anti-inflamatuvar yanıtın baskın olması durumu ise kompensatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromu ve bunu izleyen immün sistemin baskılanmasını getirir. Kompansatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromu sürecinde görülen bu durum kimi kez ifade edildiğinin aksine gerçek bir anergi hali değil, immün paralizdir çünkü bu baskılanma bir yetmezlik sonucunda görülmeyip, organizasyon sürecinde immün sistemin kendisinin yarattığı bir durumdur (ŞEKİL 2.3.).



ŞEKİL 2.3 : Sepsiste İnflamatuvar Yanıt Süreci. (43)' den alıntı

2.3 SEPSİS KLİNİĞİ

Bir enfeksiyonun tetiklemesi sonrası gelişen sistemik inflamasyon yanıtı tablosu olan sepsiste, hastanın yaşı, yandaş

hastalıkları, genetik durumu ve daha pek çok etkene bağılı olarak değişken ve özgül olmayan farklı klinik tablolar görölüyor olsa da, ortak olan nokta, sistemik inflamaotuvur yanıt sendromu aşamasından geçilerek sepsis tablosuna ulaşılması ve bu nedenle de pro-inflamatuvar yanıtın ve onların ürünlerinin sorumlu olduğu bir klinik yelpazenin hakim olduğudur (34).

Sepsis kliniği, inflamasyonun yerel düzeyden sistemik hale gelmesinde sorumlu pro-inflamatuvar sitokinlerin sistemik etkileriyle başlar. Kapiller endotel vasküler hasarın oluşmaya başlamasıyla birlikte, periferde O₂' in yeterince kullanılamaması, öte yandan serbest O₂ radikalleri ve NO' ce doku hasarının tüm sistemlerle birlikte akciğer periferinde de başlamış olmasına kompanseatuvar bir yanıt olarak solunum sayısının ve O₂' nin hemoglobine bağlanma yatkınlığının arttığı gözlenir. Hiperventilasyon sepsiste sıklıkla ilk gözlenen bulgudur. Bu durum, erken dönemde solunumsal alkaloz tablosuyla kendini gösterir (34). Ateş yanıtı, sepsiste belki de en karışık yanıtlardan biridir. Başlıca TNF- α ve IL-6' nın etkisiyle oluşan hipertermi çoğu hastada görölürken, bir grup hastada normotermi, ya da hipotermi yanıtı izlenir (21). İlginç olan özellikle hipotermi yanıtının, çocuk ve ileri yaş grubunda daha sık görölmesi ve bu durumun kötü prognoz oluşturuyor olmasıdır. Nitekim bu iki yaş grubu, immünitinin daha zayıf olarak bilindiği gruplardır (37).

İzleyen klinik tablo sıklıkla mental durum değişiklikleri, konfüzyon, deliryum benzeri durumlardır. Bu dönemde, periferde oluşmaya başlayan ödem, mikrodolaşım bozuklukları ve beraberinde gelişen insülin direncine bağılı hiperglisemi görölmeye başlanır (21,69). Erken dönemde sistemik inflamasyonun aktivasyonu, artmış metabolizmaya neden olur, hepatik glukoneogenez ve ürogenez sonucu idrarla nitrojen atılımı artar (69).

Sepsisin erken dönemi, fizyolojik regölasyonların henüz devreden çıkmadığı dönemdir. Bu dönemde, periferde O₂ kullanımının azalmaya başlaması ve kapiller göllenmenin oluşmasına

yanıt olarak kardiyak atım hacmi bir miktar artar. Sistemik vasküler dirençteki düşmeyle orantılı olan bu kardiyak output artışı sayesinde, bu aşamada, arteriyel ve venöz O₂ farkı olarak ifade edilen O₂ açığı (ekstraksiyonu) değişmez (69).

Hiperdinamik erken dönemin ilerleyen evresinde, vasküler direncin giderek düşmesi ve periferde göllenmenin artması, metabolizmanın yükselmesine karşın kardiyak atım hacmindeki artışın sıklıkla ihtiyacı karşılamaya yetmemesi sonucu, O₂ açığı artar. Dokularda anaerobik forforilizasyon süreci ön plana çıkar ve bunun sonucu da belirgin laktik asidozis oluşur. Laktat ve piruvat artışı gözlenir. Tüm bu değişikliklere karşın, kompensatuvar mekanizmalar, kan pH' sını ve arteriyel kan basıncını korumaya yetecek düzeydedir. Periferik dolaşım bozukluğunun kendisini belli etmeye başladığı bu aşamada koagülasyon bozuklukları olmaya başlar. Koagülasyon testlerinde, protrombin zamanı değerinde ve D-Dimer düzeylerinde artış görülür. Hiperdinamik fazın bu yarısında, kan basıncının korunması, hayati öncelikli organların perfüzyonuna devam edilebilmesi amacıyla, gastrointestinal sistem ve deri perfüzyonu giderek azaltılır. Karaciğer perfüzyonunun bozulması, kendisini laboratuvarında karaciğer fonksiyon testlerinin bozulması olarak gösterir. "İlık şok" olarak tanımlanan başlangıç aşamasında vazodilatasyona bağlı, perifer sıcakken, bu dönemin sonuna doğru post-kapiller direncin artmaya başlamasıyla periferik siyanoz, peteşiyal döküntüler gözlenir. Gastrointestinal perfüzyonun bozulması, mukozal bütünlüğün kaybı ve bakteriyel translokasyonun artmasıyla, mevcut sistemik inflamasyon yüküne ek, ikinci bir odak oluşturur. Renal perfüzyonun bozulmasıyla idrar çıkışı azalırken, böbrek fonksiyon testleri giderek bozulur. Akciğerlerde alveolar kapiller geçirgenliğin bozulması, DİK' e bağlı akciğer mikroembolileri ve akciğer ödeminin oluşmasıyla, erişkin solunum güçlüğü sendromu, tabloya eklenir (21, 69).

Devam eden sepsis sürecinde, organizmanın kompensatuvar mekanizmaları yetersiz kalmaya başlar. Sepsisin bu geç döneminde hiperdinamik hemodinami tablosu, yerini hipodinamiye bırakır. Kan

TABLO 2.1 : Sistemik inflamasyon sürecinde görev alan mediyatörler

HÜCRE	Pro-inflamatuvar mediyatörler	Düzenleyici mediyatörler	Anti-inflamatuvar mediyatörler
Makrofaj Monosit	TNF-α IL-1, IL-8 INF-γ Doku faktörü Prostonoidler Lökotrienler TAF, NO	IL-6 IL-12	IL-1 ra Çözünük TNFr TGF-β
Lenfosit	TNF-α INF-γ	IL-12	IL-4, IL-10 Çözünük IL-2r
Nötrofil	TNF-α IL-1 İntegrin Süperoksit		BPI Defensinler Asiklosiasilhidrolaz
Trombosit	Prostonoidler Serotonin	PDGF	
Endotel	Selektin, NO VCAM, ICAM Doku faktörü		Endotelin
Plazma	Koagülasyon sist. Bradikinin Kompleman sist.	CRP LPS bağl.prot.	

basıncı düşer. Doku perfüzyonunun olmaması, O₂ tüketiminin güçlükle gerçekleşmesi nedeniyle O₂ açığı iyice azalır. Bu azalışta, kompensatuvar mekanizmalarla açılan arteriyo-venöz şantların etkisi kaçınılmazdır. Artık kan tablosuna metabolik asidoz hakim olur ve

azalan kompensasyona bağlı giderek derinleşir. Kalp atım hacminin azaldığı kardiyak yetmezlik, hem oluşan periferik değişikliklerin kompensasyonundaki yetersizliğe hem de olasılıkla yapısı çok net tanımlanamamış olan Miyokard baskılayıcı faktör (MBF) etkisine bağlı gerçekleşir (65). Kalp yetmezliğin ön plana çıkmasıyla birlikte, hipodinamik sepsis döneminin sonuna yaklaşılr. Bütün bir inflamasyon süresince NO ve diğer sitokinlerin etkisinde düşük durumda bulunan vasküler tonus, artık bu kimyasallara yanıt veremez hale gelmiş olur, ve bu döneme otonomik regülasyon hakimiyeti damgasını vurur. Hipodinamik dönemin sonunda hem kan basıncı düşüktür, hem de vazokonstrüksiyon mevcuttur. Kan tablosuna derin asidoz hakimdir (21, 69).

2.4 NİTRİK OKSİT :

Furchgott ve arkadaşları, ilk kez 1980 yılında yaptıkları çalışmalarla, asetilkoline bağlı vazodilatasyonun damar endotelinden kaynaklanan hüneral bir faktöre bağlı geliştiğini ileri sürmüş ve bunu Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör (*EDRF*) olarak adlandırmışlardır. Bin dokuz yüz seksen yedide bu maddenin Nitrik Oksit (NO) olduğu gösterilmiştir. Bin dokuz yüz doksanda birbirinden bağımsız pek çok çalışmayla endojen NO' in hipotansiyondan (58), ve endotoksemi verilen farelerde vazopressör ajanlara yanıtızsızlıktan (57) sorumlu olduğu ortaya konulmuştur.

2.4.1 NİTRİK OKSİT BİYOSENTEZİ ve ETKİ MEKANİZMASI :

NO, NOS olarak adlandırılan bir enzim ailesince L-arjininden oluşturulur. NOS' ın üç ayrı izoformu bilinmektedir. Endotel kaynaklı NOS (eNOS – NOS III), sinir hücresi kaynaklı NOS (nNOS – NOSI), ve uyarılabilir (indüklenebilir) NOS (iNOS – NOSII). Yapısal izoformlar olan eNOS ve nNOS'ın, etkinleşmesi için hücre içi kalsiyum artışı gereklidir ve az miktarda (pikomolar konsantrasyonda) NO üretir.

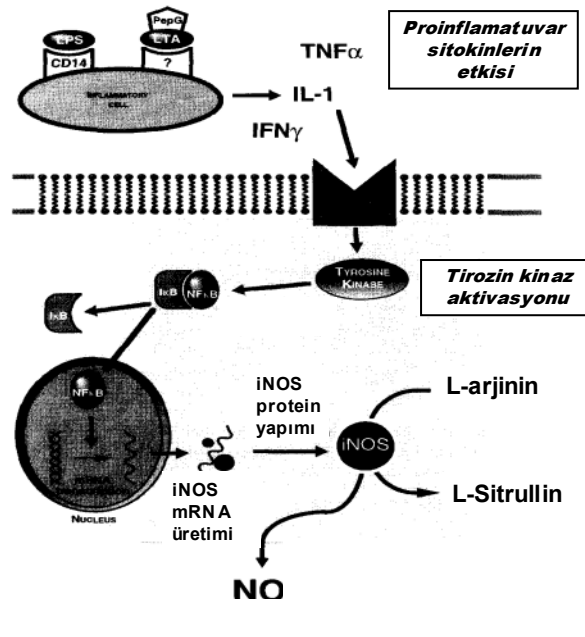
İnflamatuvar sitokinler ve endotoksinlerin uyarısıyla olan immün sistem hücrelerince salınan iNOS, kalsiyumdan bağımsız çalışır ve uzun etkili, fazla miktarda (nanomolar düzeyde) NO oluşturur (59).

Endotel hasarının (*shear stress*) ardından eNOS salınır. Bu salınım, hemodinamik durumdan bağımsızdır. Artan eNOS etkisiyle NO salınımına bağlı vazodilatasyon gerçekleşir, polimorfonükleer hücrelerin ve trombositlerin endotele yapışması önlenir. Uyarılabilir olmayan bu NO salınım türü, muhtemelen, masum endotel hasarlarının onarımında, inflamasyon yolaklarından kaçınmak için gerçekleşen bir düzenlemedir (59). Bakteriyal ya da diğer yabancı yapıların etkisiyle uyarılan iNOS' un aktivasyonu ile çok miktarda salınan NO, savunma sistemi mekanizmalarında önemli rol oynar.

Sepsis patofizyolojisinde erken dönemde endotoksin uyarısına karşı aktifleşen eNOS ile çok miktarda salınan NO' in homeostazisin düzenlenmesine yönelik önemli görevler üstlendiği deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (59). Erken dönemde ortaya çıkan vazodilatasyon, lökosit ve trombositlerin adezyonunun engellenmesi, böylelikle mikrodolaşımın arttırılmasına, konakçı savunmasının güçlendirilmesine olanak sağlar. Mac-Micking ve arkadaşları, eNOS geni korunarak, sadece iNOS geni baskılanan farelerde endotoksin uyarısına karşı septik şok oluşmadığını göstermişlerdir (22). Endotel kaynaklı NOS' ın (eNOS) baskın olduğu sepsisin erken döneminde, vazodilatasyona rağmen mikrodolaşım, ve buna bağlı olarak hemodinami kontrol altındadır. Artan Doku Faktörü (TF), TNF, IL-1, INF- γ uyarısıyla güçlenen tirozin kinaz aktivasyonu sonucu (ŞEKİL 2.4.), geç döneme hakim olacak iNOS aktivasyonunun tetiği çekilmiş olur. iNOS aktivasyonu ile aşırı NO üretimi, bir yandan makrofaj-monosit fonksiyonlarına yardımcı olurken, öte yandan trombosit ve nötrofillerin endotele adezyonunu arttırıp, koagülasyon yolaklarının önünü açarak mikrodolaşımında endotel yıkımını hızlandırır. Bunun sonucu olarak, görece koruyucu görevler üstlenmiş olan eNOS' in aktivasyonunu azaltarak, ortam kalsiyum ve gereksinimlerinden

bağımsız, uyarıyla NO salınması dönemi başlamış olur. Zaten var olan vazodilatasyona, bir de miyokard kan akımının bozulmasıyla, kardiyak atım hacminin azalması yükü eklenir. Bunun sonucunda beklenen tablo hipotansiyon olur.

Sepsis modellerinde miyokard kasılma gücüne yönelik yapılan deneysel çalışmalarda, Miyokard kasılma gücünün, iNOS baskılanmasıyla artarken, eNOS baskılanmasıyla azaldığı gösterilmiştir (59). Nitrik oksit sentaz enziminin her iki izoformuyla da salınan tek bir NO olmasına karşın, endotel üzerine farklı etkiler gösteriyor olmaları, iNOS' in makrofajlara etki ederek işlev görmesinden ötürü, çok daha fazla miktarda NO dönüşümünü gerçekleştirdiğini düşündürmektedir.



ŞEKİL 2.4 : iNOS uyarılması ve NO sentezi. (59)' den alıntı

Aşırı miktarda salınan NO, mitokondriyal solunum zincirinde, NADH-ubikinin redüktaz, süksinat-ubikinin oksidoredüktaz gibi enzimleri baskılayarak, otoinhibisyona neden olur. Benzer baskılama etkilerini Krebs döngüsü üzerine de gösterir. Böylece glukoz metabolizması, aerob taraftan anaerob tarafa kayar. NO, diğer serbest

radikallerde olduğu gibi hücre çekirdeği düzeyinde DNA zincir kırıklarına yol açar. Bu kırıkların onarımı, enerji gerektiren Poli(ADP) Riboziltransferaz (PARS) enzimiyle gerçekleşir. Poli(ADP) Riboziltransferaz' ın aktivasyonu hücre içi NAD+ konsantrasyonunda hızlı düşüş gerçekleşir, elektron transferi, glikoliz ve ATP yapımı azalır. Tüm bu olanlar beraberinde hücre ölümünü getirir (70).

İnflamasyonun şu an için içinden çıkılamayan geç döneminde, bir yandan TNF gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin, serbest O₂ radikallerinin etkisiyle, eNOS gen ekspresyonu baskılanırken, öte yandan NO' in kendisinin oluşturduğu endotel hasarıyla, endotelin NO' e vereceği dilatasyon yanıtını baskılar. Bunun sonucu, mikrodolaşımın daha da bozulması ve hücre yıkımının artmasıyla, organ hasarı ve yetmezliğidir.

Çalışmalar, düzenleyici sitokinler olarak da bilinen, IL-4, IL-10, IL-13 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerin, iNOS genini baskıladığını göstermiştir (59, 15).

Literatürde NO' in etkilerine yönelik yapılmış pek çok deneysel çalışmanın ortak sonucu, NO' in, inflamasyon durumunda dokularda artarak organ perfüzyonunu ve yıkımını önlemeye yönelik etkiler gösterirken, endotel hasarı arttıkça, eNOS' ın kontrolü iNOS' a devretmesiyle aşırı NO salınımı sonucu doku hasarı ve şok ile sonuçlandığı şeklindedir (59).

2.4.2. NİTRİK OKSİT İLİNTİLİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI :

Sepsis patofizyolojisinde NO' in rol oynadığının anlaşılmasından, iNOS ve eNOS uyarılarına bağlı NO salınımının hemodinami üzerinde koruyucu düzenlemelerden, organ hasarına kadar giden çok geniş bir yelpazede farklı etkiler gösterdiği ortaya konana değin, NO ile ilgili olabilecek tüm olasılıklar tedavi için denenmiştir. Farklı çalışmalarda, yıkıcı etkilerden kaçınmak amacıyla NO yapımı önlenerek, yapıcı etkileri ön plana çıkarmak amacıyla NO

etkisi arttırılarak (NO donörleri, NO inhalasyonu gibi) veya her iki yaklaşımın ortaklaşa kullanıldığı tedavi yöntemleri, son onbeş yıllık süreçte denenmiş ve birbirinden çok farklı sonuçlar ortaya konmuştur (26,33).

Yakın geçmişte, NO etkisini azaltmak için ya iNOS ekspresyonunun baskılanması, ya da iNOS aktivitesin inhibisyonu üzerinde çalışmalar yapılmıştır (48, 54).

NOS yapımını baskılayan ajanlar:

Uyarılabilir NOS (iNOS)' ın ekspresyonun baskılanması amacıyla kullanılan ilk ilaç deksametazondur. Glukokortikoidler, NOS baskılamasını, lipokortin olarak adlandırılan ve fosfolipaz A2' yi baskılayan bir enzimi uyararak gerçekleştirirler.1990' da Radonski ve arkadaşlarının, Rees ve arkadaşlarının deksametazonun iNOS salınımını baskıladığını in vitro olarak göstermelerinin ardından, Szabo ve arkadaşları, 1994' te yaptıkları deneysel modellerde glukokortikoidlerin kan basıncı üzerine olumlu etkiler göstererek sağkalımı arttırdığını öne sürmüşlerdir (50). Bu dönemi izleyen beş yıllık sürede glukokortikoidlerin alışıldık yüksek immünosupresif dozları kullanılarak yapılan tekrarlayan çalışmalar sıklıkla sağkalım üzerine olumsuz etkilerle sonuçlanmıştır (35, 56). Özellikle 1997 yılı sonrasında stres dozu - fizyolojik doz kavramlarıyla steroidlerle yapılan çalışmalar tekrar ivme kazanmış ve hemodinamik durum, organ hasarı ve sağkalım üzerine olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Hipotansiyonun hakim olduğu ve organ yetmezliğinin baş gösterdiği dönemde steroidlerin beklenen etkiyi gösteremediğinin hayvan deneyleriyle anlaşılmasının ardından, steroidlerin klinik uygulamalardaki kritik zamanlamasının, vazopressör destek gereksiniminin başladığı dönemin hemen başı olduğu düşünülmüş, bundan önce verilecek steroid tedavisinin düşük dozla da olsa, pro-inflamatuvar sürecin organizma yararına baskın olacağı dönemde, anti-inflamatuvar sistemi etkinleştirdiği ve immün supresyon ve

ikincil enfeksiyonlara bağlı artan mortaliteyle sonuçlandırığı öngörölmüştür.

Minnece ve arkadaşlarının 2004 yılında yayınladığı meta-analiz sonuçları değerlendirildiğinde, düşük doz steroid kullanımının yaygınlaşmasıyla, 1997'den sonra sepsiste steroidlerin etkinliğine yönelik yapılan yayınların ortak sonucu, sağkalımı göreceli olarak arttırdığı şeklindedir (39). Yıldız ve arkadaşlarının kırk hasta üzerinde yaptığı klinik çalışma sonucunda, bazal kortizol değerleri esas alınmak koşuluyla düşük doz steroid tedavisi uygulanan grupta mortalite oranı %40 iken, standart tedavi grubunda %55 olduğu bildirilmiştir (67).

Sepsis patofizyolojisinde pro-inflamatuvar dönemden, anti-inflamatuvar döneme, kliniğinde ise hiperdinamik dönemden hipodinamik döneme geçiştiki ayrıntıların tanımlanmasıyla birlikte, steroid kullanılarak inflamasyon baskılanması sürecinde zamanlama kavramı araştırmaların odak noktası olmaya başlamıştır. (ŞEKİL 2.3.) Farklı klinik çalışmalarla, sepsis, şiddetli sepsis, septik şok ve vazopressör-bağımlı septik şok dönemlerinde steroid uygulaması ayrı ayrı denenmiştir. Bu noktadaki en güçlü kanıtlar, steroidlerin vazopressör bağımlılığının başlamasını izleyen 48-72 saat içinde başlatılması durumunda ideal etkilere ulaşıldığını göstermektedir. Patofizyoloji düşünöldüğünde, bu dönemin anti-inflamatuvar yanıtın hakim olmaya başladığı döneme uyabileceği anlaşılmaktadır (43).

Düşük doz glukokortikoidlerin hangi doz aralığında olacağına ilişkin bir uzlaşı bulunmamakla birlikte (37), klinik uygulamalar 200-300 mg/kg hidrokortizon veya eşdeğeri diğer glukokortikoidlerin 5-7 gün süreyle kullanılmasının hemodinamik parametreler ve sağkalım üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermektedir (3). Bu bağlamda Tsao ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada 0,1 mg/kg i.v. deksametazonun, ratlarda klinik parametreleri düzelttiği, inflamatuvar sitokinleri baskıladığı gösterilmiştir (60). Wu ve arkadaşları ise, 1 mg/kg intra-peritoneal deksametazon kullanarak,

iNOS ekspresyonunun anlamlı ölçüde baskılamışlardır (66). Duma ve arkadaşları, endotoksemik sıçanlar üstünde yaptıkları ve NO' in glukokortikoid reseptörlerini bağlayarak adrenal yetmezliğe neden olduğunu gösterdikleri çalışmada, 2 mg/kg s.c. deksametazonun, ancak endotoksemi öncesi, yani, daha NO yapımı gerçekleşmeden uygulanması halinde işe yarayacağını vurgulamışlardır (13).

Nitrik oksit sentaz ekspresyonunu baskılayarak etki ettiği gösterilmiş diğer ajanlar, TNF- α , çözümlü TNF- α reseptörleri, IL-1 antagonistleri, IL-4, IL-10, IL-13, TAF reseptör antagonistleri, dihidropridin türü kalsiyum kanal blokörleri, glibenklamid, N-asetilserotonin, 2,4-diamino-6-hidroksi-pirimidin (DAHP), tirozin kinaz inhibitörleri ve nükleer transkripsiyon faktörü NFkB inhibitörleridir (rotenon, PDTC, bütiril-hidroksianizol). Sayılan tüm bu ajanların sepsiste ortak etkisi, klinikte hipotansiyon gelişmesini geciktirmekle birlikte, sağkalım üzerine sınırlı etki gösteriyor olmalarıdır (59).

NOS etkisini baskılayan ajanlar:

L-ARJİNİN ANALOGLARI: Etkilerini NOS enziminin aktivitesinin inhibisyonuyla gösterirler. Bu etki kompetitifdir, ortamda L-arjininin artmasıyla azalır. N^G-metil-L-arjinin (L-NMMA) etkisi tanımlanmış ilk ajandır. N^G-nitro-L-arjinin (L-NA), ve bunun metil esteri L-NAME tanımlanmış diğer ajanlardır. Bunların eNOS üzerine olan baskılayıcı etkilerinin daha baskın olduğu, bu nedenle de sepsis kliniği üzerine istenmeyen etkilerinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (59).

GUANİDİNLER : Metilguanidin, Dimetilguanidinin dışında bu grubun en etkin üyesi aminoguanidindir. NOS baskılanması dışında, histamin, poliamin metabolizmalarının, glukozillenme son ürünlerinin üretiminin ve katalaz aktivitesinin baskılanması gibi etkileri de vardır. Diğer bir deyişle guanidinler, özgül iNOS

inhibitörleri değildirler. Öte yandan iNOS üzerine olan etkileri, eNOS üzerine olandan fazladır. Aminoguanidinin iNOS aktivitesini baskılamanın yanı sıra iNOS üretimi üzerine de baskılayıcı etkisi bilinir (54). Bu grupta daha sonra tanımlanmış olan 1-amino-2-metil-guanidinin, aminoguanidine göre daha özgül ve güçlü olduğu gösterilmiştir (59). Ancak 1-amino-2-metil-guanidinle yapılmış yeterli klinik çalışma mevcut değildir.

İZOTİYOÜRELER (ITU) : L-Arjininin sentetik analoglarıdır ve selektif, güçlü iNOS inhibitörleridir. S-etil-ITU, aminoetil-ITU ve S-metil-ITU ile yapılmış deneysel çalışma modellerinde olumlu etkileri gösterilmiştir.

AMİDİNLER : 2-iminopiperidin, bütiramin, 2-aminopiridin, propioamid ve asetamidin NOS aktivitesini baskılama etkileri L-NMMA'dan daha güçlü olduğu gösterilmiş ajanlardır (59).

2.5. SEPSİS' te ADJUVAN TEDAVİ YAKLAŞIMLARI:

Sepsis tablosundaki hastaya yaklaşımda öncelikle uygun yelpazede başlanan ampirik antibiyotik tedavisi, kaynak kontrolünün sağlanması, kan ve diğer odakların taranarak mikroorganizma üretilmesini izleyen uygun antibiyotiklerle devam edilmesi ilk basamaktır. Sürekli kan basıncı, santral venöz basınç, idrar çıkışı monitörizasyonu, gerekli olması halinde pulmoner kapiller kama basıncı takibiyle uygun sıvı, kan ve kan ürünleri replasmanı, düzenli arteriyel kan gazı ve kan şekeri izlemleri ve regülasyonları esastır. Gerekli olması halinde akciğer koruyucu mekanik ventilasyon desteği, hemodiyaliz, ultrafiltrasyon gibi uygulamalar, sepsis hastalarının izlendiği yoğun bakım ünitelerinin klasiği haline gelmiştir (48).

Son zamanlarda sepsis patofizyolojisindeki yollardan esinlenilerek denenmeye başlanan adjuvan tedavi modaliteleri arasında, bir önceki başlık altında değinilen NO sentez ve etkisini baskılamaya yönelik ajanlardan başkaları da mevcuttur. Rekombinan insan aktive protein C uygulaması, araştırma aşamasında olan

Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (GCSF) uygulaması, hemodiyalizle inflamatuvar sitokinlerin uzaklaştırılması ve C1 kompleman inhibitörlerinin uygulanması, bunların başlıcalarıdır (43, 48).

Rekombinan aktive protein C (drotrekogin- α), tüm adjuvan yöntemler içinde, şiddetli sepsis hastalarında 28 günlük mortaliteyi düşürdüğü gösterilmiş ilk ilaçtır. Etkilerini anti-inflamatuvar, anti-trombotik ve pro-fibrinolitik yollar üzerinden gösteriyor olabilir. Kalil ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışmada, gönüllü sağlıklı insanlara endotoksin verilmesini takiben drotrekogin- α uygulamasıyla kan basıncında artış olmuş, ancak sepsis hastalarında izlenen anti-inflamatuvar, anti-trombotik ve pro-fibrinolitik etkiler gözlenmemiştir (9, 29). Bu olumlu etkilerinin yanı sıra, infüzyon sırasında %2,8 ve 28 günlük izlem döneminde de %5,3 oranında ciddi kanamalar görülmüş olması ve yüksek maliyete sahip olması görünür dezavantajlarıdır (48).

İskit ve arkadaşları, sepsisin hipodinamik geç döneminin baskın mediyatörü olan endotelini, bir endotelin reseptör antagonisti olan bosertan kullanarak baskıladıkları deneysel çalışmayla sağkalım üzerine olumlu etkiler göstermişlerdir (25, 27).

Eichacker ve arkadaşlarının, anti-inflamatuvar immün düzenleyici tedavilerin etkinliğini araştıran 95 ayrı çalışmanın sonuçlarını değerlendirdikleri meta-analiz incelemesinde, hasta seçiminin önemli olduğu, özellikle mortalite açısından yüksek risk grubunda olan hastalarda olumlu sonuçlar gözlenmekteyken, düşük riskli hasta grubunda çoğu kez etkilerin olumsuz olduğu belirtilmiştir (14).

2.6. DENEYSEL SEPSİSTE MEZENTER KAN AKIMININ DEĞERLENDİRİLMESİ :

Sepsisin erken dönemlerinde periferde oluşan vazodilatasyona hemodinamik düzenleme yanıtı olarak kardiyak atım hacminin arttırıldığı, kan basıncının normale yakın değerlerde tutulabilmesi

amacıyla ilerleyen dönemde gastrointestinal sistem kan akımının, yaşamsal değeri öncelikli organlara yönlendirildiğine daha önce değinilmişti. Azalan mezenterik dolaşım, gastrointestinal sistemde mukozal bütünlüğün bozulmasıyla artan bakteri translokasyonuna ve böylelikle kontrol altında olsun ya da olmasın inflamasyon yolaklarının tekrar uyarılmasıyla organizmaya getirdiği immün yükü arttırmaktadır (52).

Mezenterik dolaşımın, sepsis kliniğinde deri ile birlikte ilk bozulan dolaşım olması ve bu durumun kliniğe ciddi ölçüde yansması, araştırmacıların mezenterik kan akımının değerlendirilmesine olan ilgilerini doğurmuştur (1, 40, 68).

Sepsisin özellikle şok tablosunun eşlik ettiği geç döneminde, hipotansiyonun ve dolaşım bozukluğunun, endojen ve eksojen vazopressörlere verdiği yanıt, deneysel modellerle in vivo (7, 26, 30, 45, 54) ve in vitro (55, 68) olarak değerlendirilmiştir.

Sautner ve arkadaşlarının domuzlar üzerinde yaptığı endotoksemik sepsis modeli çalışmada, sepsis tablosunda vazopressör ajanlarla arteriyal kan basıncının normal sınırlarda tutulması halinde bile, mezenterik dolaşımın bozuk kaldığı ve %40' lar düzeyinde intestinal iskemiye ve bakteriyal translokasyona neden olduğu gösterilmiştir (45).

Bugüne dek, sepsis yolaklarında tanımlanmış baskılayıcı ajanların hemen hepsiyle mezenterik ve diğer vasküler düzeylerde kan akımlarına olan etkiyi araştıran, bu ajanların vasküler yanıtı etkisini inceleyen deneysel çalışmalar yapılmıştır (5, 54). Bu çalışmalarda sepsis tablosunun derinliğiyle, kan akımında azalma ve vasküler yanıtı arasında doğrusal orantı izlenmiş, ancak inflamasyonu baskılamak amacıyla kullanılan farklı ajanlarla farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılmış bu çalışmalar arasında düşük doz steroid yanıtını araştıranların önemli bir kısmı, insanda görülen sepsis tablosuyla bire bir örtüşmediği düşünülen (44, 63) endotoksin uygulaması modelleriyle gerçekleştirilmiştir.

Biz bu çalışmada, CBD yöntemi ile oluşturulan polimikrobiyal sepsis modelinde, mezenterik arter akım değişikliklerini gözlemlemeyi, düşük doz steroid (deksametazon) tedavisinin bu değişikliklere olan etkisini, vasopressör (fenilefrin) uygulamasına verilen vasküler yanıtı ve deksametazon uygulamasıyla bu yanıtın arttırılabileceğini, artan vasküler yanıtla, organ hasarı arasında bir ilişki olup olmadığını göstermeyi amaçladık.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu' nun 10.02.2006 tarih ve 2006/18-11 karar numaralı onayı alınarak, Hacettepe Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Deneylerde, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi' nde üretilmiş olan, ağırlıkları 20-40 g arasında değişen, toplam 110 adet Swiss-Albino cinsi dişi fare kullanılmıştır. Fareler, standart laboratuvar yemi ve su ile serbest olarak beslenmiş, 22 C° lik denetimli sıcaklık, %30-70 nem ve 12 saat karanlık / 12 saat aydınlık aydınlatma uygulanan ortamlarda barındırılmıştır.

Fareler, polimikrobiyal sepsiste mezenter kan akımı değişikliği, organ hasarı, fenilefrin yanıtı, sağkalım süresi ve düşük doz glukokortikoid uygulamasının bu değerler üzerine etkisinin araştırıldığı CBD, Sham ve sağkalım olarak üç ana gruba ayrılmıştır. İlk gruptaki 72 fare CBD uygulamasını izleyen 24, 48 ve 72. saat alt gruplarına (her alt grupta n=24) ayrılmıştır. Her alt grup CBD+SF (n=12) ve CBD+Deksametazon (n=12) gruplarına ayrılmış, tüm alt gruplardaki farelerde mezenter kan akımı ve organ hasarı (n=8) ve kan akımına fenilefrin yanıtı (n=4) incelenmiştir.

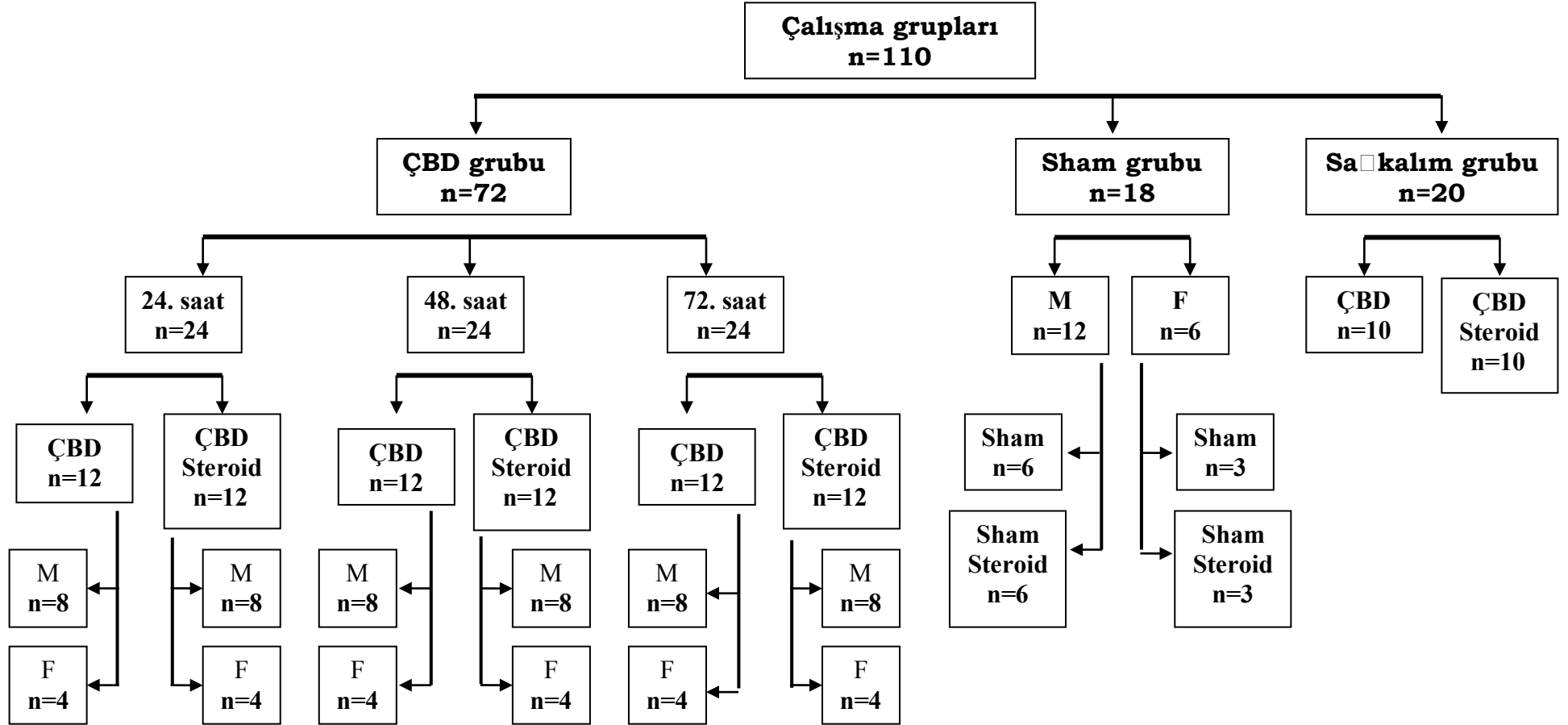
İkinci gruptaki 18 fare Sham grubu olarak oluşturulmuş, bu grup mezenter akım ve organ hasarının (n=12) ve fenilefrin yanıtının (n=6) inceleneceği alt gruplara ayrılmıştır. Her alt gruptaki farelerin yarısına serum fizyolojik, diğer yarısına deksametazon uygulanmıştır. Fenilefrin yanıtının ölçümlerinde, sham grupları içinde zaman ya da deksametazon uygulamasının sonucu etkilemediğinin görülmesi nedeniyle, sham alt gruplarındaki fare sayısı daha fazla arttırılmamıştır (n=6).

Üçüncü gruptaki 20 adet fare üzerinde, polimikrobiyal sepsiste sağkalım ve düşük doz glukokortikoid uygulamasının sağkalıma etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, 20 adet fareden ilk 10 adetine ÇBD, diğer 10 adetine ÇBD + deksametazon işlemi uygulanarak 18 günlük sağkalım süreleri değerlendirilmiştir. Gruplardaki fare sayıları ve uygulanan işlemler, TABLO 3.1.'de özetlenmiştir.

Farelerin tamamında polimikrobiyal sepsis, daha önceki yayınlarda tanımlanan yöntemlere uygun olarak (23), çekal bağlama ve delme (ÇBD) işlemiyle gerçekleştirilmiştir. İntra-peritoneal yolla 400 mg/kg kloralhidrat anestezisini takiben, umblikus altı 1 cm orta hat insizyonu ile karına girilerek, çekum karın dışına alınmış, ileoçekal valvin hemen distalinden olacak şekilde 4-0 ipek bağlamayla bağlanmış ve çekum, 22 no. iğne kullanılarak iki kez delinmiş, deliklerden dışarıya intestinal içerik sızıntısı gözlenecek şekilde çekum sıkılmış, ardından karın iki kat olarak 4-0 ipek dikişle kapatılmıştır (RESİM 3.1). Sham cerrahi gruplarında, çekumun bağlanması ve delinmesi dışındaki işlemler aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. Hayvanların tamamına işlemden hemen sonra 40 ml/kg serum fizyolojik subkutan yoldan enjekte edilmiştir.

Steroid gruplarındaki tüm hayvanlara, sham cerrahi ya da ÇBD işlemlerini izleyen ikinci saatte deksametazon 1 mg/kg (4 ml/kg hacim içinde) intra-peritoneal yoldan verilmiştir. Kırk sekiz ve 72. saat gruplarındaki hayvanlar için bu işlem 24 saat arayla tekrar edilmiştir. Böylece, 24. saat gruplarındaki fareler tek doz, 48. saat

TABLO 3.1: Deney alt grupları



SHAM : Sham cerrahi + Serum Fizyolojik (4 ml/ kg) i.p
SHAM Steroid : Sham cerrahi + Dekstametazon 1 mg/kg/gün i.p. (4 ml/kg)
ÇBD : ÇBD + Serum Fizyolojik (4 ml/ kg) i.p.
ÇBD Steroid : ÇBD + Dekstametazon 1 mg/kg/gün i.p. (4 ml/kg)
M: Mezenter akımı ve organ hasarı **F** : Fenilefrin yanıtı

grubundakiler iki doz, 72. saat grubundakiler toplam üç doz deksametazon almışlardır. Deksametazon verilmeyen gruplardaki hayvanlara, verilenlerle eş zamanlı olarak 4 ml/kg serum fizyolojik intra-peritoneal yoldan uygulanmıştır. Sağkalımların izleneceği gruptaki farelere, ilgili alt gruplarına göre deksametazon 1 mg/kg (4 ml/kg hacim içinde) veya 4 ml/kg serum fizyolojik intra-peritoneal yoldan 7 gün boyunca uygulanmaya devam edilmiş, sonrasında titre edilerek 4 gün içinde kesilmiştir.

Tüm gruplardaki hayvanlara, cerrahi izleyen üç gün boyunca 40 ml/kg/gün serum fizyolojik cilt altı yoldan uygulanmıştır.

3.1. Mezenter Kan Akımı Ölçümü :

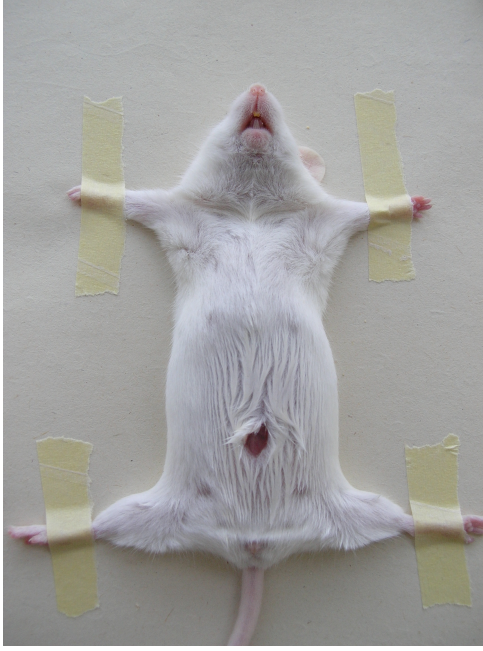
Mezenter akım ölçümü ve organ hasarı saptanması için yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan 60 adet fare, ilgili saat dilimi dönemlerine göre, 24, 48 ya da 72. saatlerde, incelenmeye alınmışlardır. Daha önce bahsedildiği şekilde, yine 400 mg/kg kloralhidrat anestezisini takiben, eski orta hat laparotomi insizyonu ksifoid – pubis hattı boyunca büyütülerek karına girilmiş, karın içi enfeksiyon tablosunun olduğunun her seferinde onaylanmasının ardından işlemlere devam edilmiştir. Barsaklar orta hattın soluna alınarak, mezenter köküne inilip, ortak mezenterik arter bulunmuş ve izole olarak dönülüp akım ölçüm işlemine hazırlanmıştır (RESİM 3.2). Doppler esasına göre akım algılayan bir damar probu (Perivascular Flow Probes, Transonic Systems) aracılığıyla (RESİM 3.3) akım hızı ölçen bir cihaz (Ultrasonic Volume Flowmeter T 106X, Transonic Systems) (RESİM 3.4) kullanılarak mezenterik arter akımları ölçülerek kaydedilmiştir. İzleyen aşamada, laparotomi insizyonuna sternotomi eklenip kalp kanının boşaltılmasıyla hayvanlar sakrifiye edilmiş ve organ hasarı tayininde kullanılmak amacıyla, akciğer, karaciğer ve periton örnekleri alınarak işlem sonlandırılmıştır.

3.2. Organ Hasarının Saptanması :

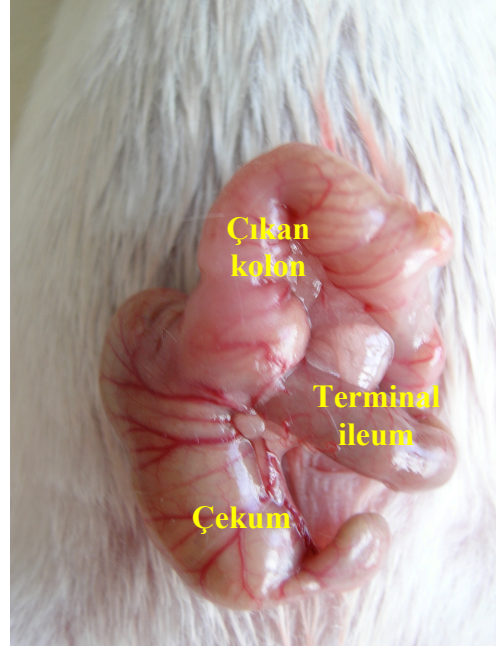
Dokularda oksidatif hasarın saptanmasında bilinen pek çok yöntem vardır. Lipid Peroksit tayini de bunlardan birisidir. Malonil Dialdehid (MDA), lipid peroksidasyonu sırasında oluşan ürünlerdendir (18). Malonil Dialdehid ve diğer aldehydler laboratuvar şartlarında tiyobarbütirik asit ile tepkimeye girerek renkli bir karışım oluşturur ve lipid peroksidasyonu tayini için olanak sağlarlar (8).

Bu esaslar doğrultusunda, farelerin akciğer, karaciğer ve peritonlarından alınan ve ölçüm anına dek -20 C° de saklanmış olan örneklerde, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında doku MDA düzeyleri çalışılmıştır.

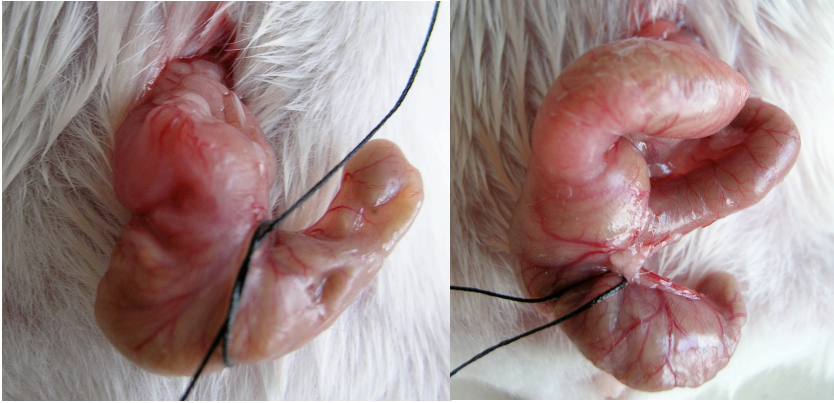
Dokular tartılarak, ağırlıklarının 10 katı fosfat tamponu içerisinde homojenize edilmiş, bu homojenattaki lipid peroksit düzeyleri, tiyobarbütirik asit yöntemiyle tayin edilmiştir. Değerler gram yaşdoku başına nanomol olarak hesaplanmıştır.



umblikus altı 1 cm insizyon



çekumun hareketlendirilmesi

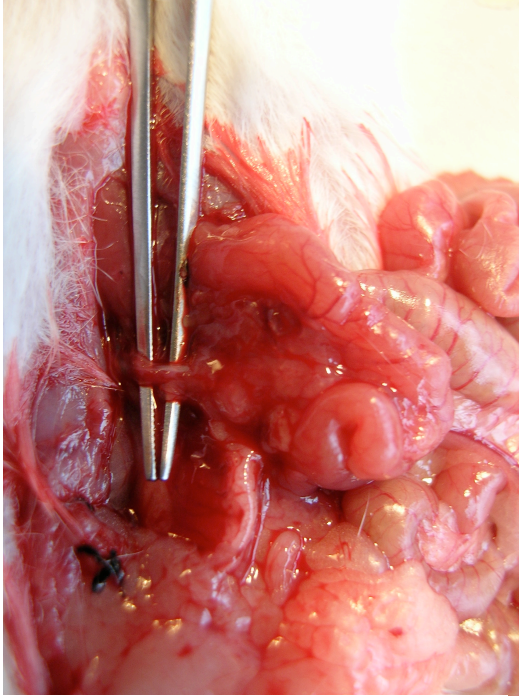


çekal bağlama

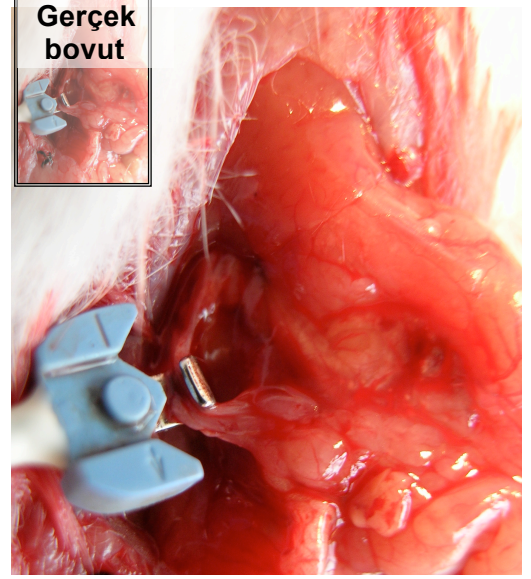


delme ve barsak içeriğinin çıkışı

RESİM 3.1: Çekal bağlama ve delme işlemi

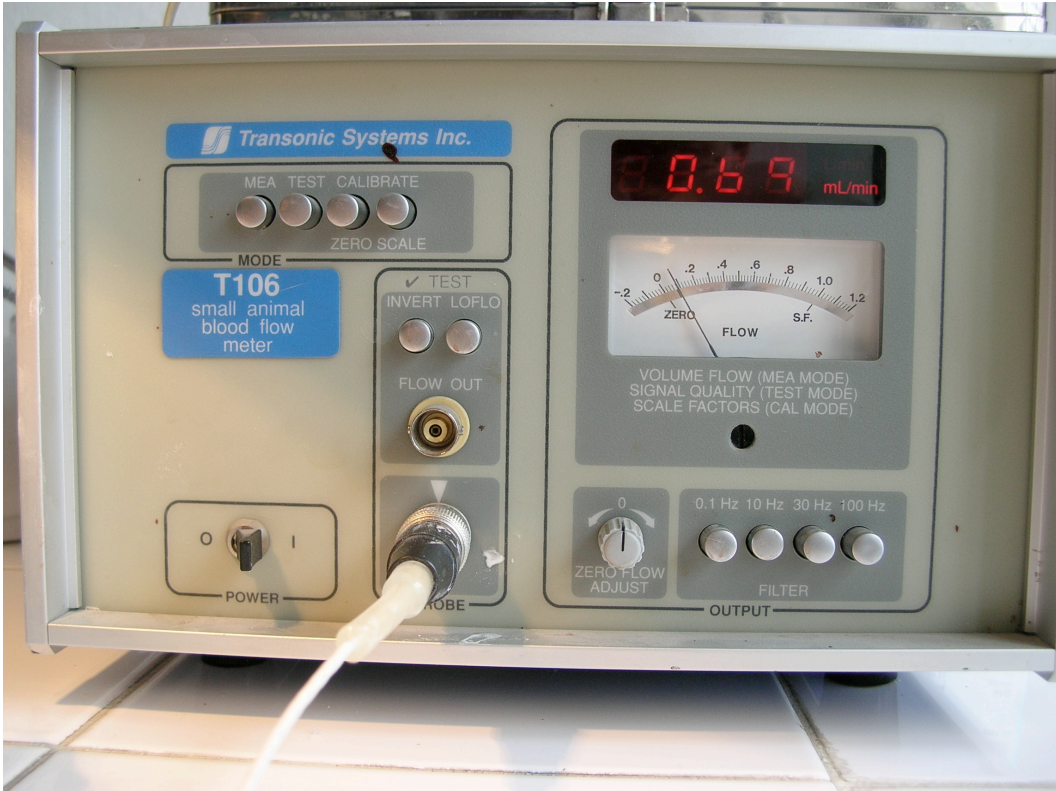


RESİM 3.2: Mezenterik arter



RESİM 3.3: Ultrasonik damar probu

Doppler esasına göre akım algılayan damar probunun takılı olduğu mezenterik arter (Perivascular Flow Probes, Transonic Systems)



RESİM 3.4: Akım hızı ölçüm cihazı

(Ultrasonic Volume Flowmeter T 106X, Transonic Systems)

3.3. Mezenterik Akım Vazopressör Yanıtının Ölçümü :

Mezenter akım ölçümü ve vazopressör ajana yanıtını saptamak için yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan 30 hayvan, ilgili saat dilimi dönemlerine göre, 24, 48 ya da 72. saatlerde incelenmeye alınmıştır. Vazopressör ajan olarak fenilefrin kullanılmıştır. Daha önce bahsedildiği şekilde, yine 400 mg/kg kloralhidrat anestezisini takiben, hayvanların jugüler venlerine cut-down açılarak, 18 no. kateter yerleştirilmiş, ardından yukarıda anlatılan şekilde re-laparotomi yapılarak mezenterik arter akımı ölçülmüş ve bazal değer olarak kaydedilmiştir. Daha sonrasında jugüler ven kateterinden sırasıyla 1, 3, 10 ve 30 µg fenilefrin verilerek, mezenterik arter akım değişiklikleri okunmuş ve her doz başına stabil oldukları en düşük değerler kaydedilmiştir. Fenilefrin dozları arasında, okunan en düşük akım değerinden, bir önceki değer en az %10 aşağısı değere yükselene dek yaklaşık 5-10 dakika beklenmiştir. Tüm dozlara ait akım değerlerinin kaydedilmesini takiben hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme :

Mezenterik kan akımlarının ve sağkalım oranlarının değerlendirilmesi için, önce iki yönlü varyans analizi yapılmış, gruplar arası anlamlılığın saptanmasının ardından, grup içi etkileşimler t-testi ile değerlendirilmiştir.

Doku MDA düzeylerinin gruplar arası dağılımının ve mezenterik kan akımıyla ilişkisinin gösterilmesinde, Spearman'ın non-parametrik korelasyon testleri kullanılmıştır.

Tekrarlanan fenilefrine infüzyonuna mezenterik kan akımı yanıtının incelenmesinde, tekrarlanan ölçümlerde iki yönlü ANOVA varyans analizi kullanılmıştır. Grup, zaman ve grup-zaman etkileşmelerinin anlamlı sonuçlanmasının ardından, gruplar arası karşılaştırma, Tukey tek yönlü varyans analiziyle gerçekleştirilmiştir.

Tüm testlerde, p değerinin %5' ten düşük olması ($p < 0,05$), anlamlılık durumu olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR :

4.1. Mezenterik akım ölçümleri :

Akımlar, yukarıda anlatıldığı şekilde ölçülüp kaydedildikten sonra, ilgili farenin ağırlığına bölünerek, birim kilogram başına dakikadaki kan akımı bulunacak şekilde düzeltilmiştir.

Düzeltilmiş mezenterik kan akımları, 24, 48 ve 72. saatlerde yapılan ölçümlerde ortalama değerler \pm standart sapma ml/dk/kg olarak TABLO 4.1' de gösterildiği şekilde saptanmıştır.

TABLO 4.1: Gruplara Göre, Düzeltilmiş Mezenterik Akım Ölçümleri

GRUPLAR	ÇBD + SF	ÇBD + Steroid	Sham + SF	Sham + Steroid
	ml / kg / dk			
24. saat	41 \pm 16	43 \pm 15	104 \pm 13	105 \pm 7
48. saat	34 \pm 7	45 \pm 10	105	106 \pm 9
72. saat	31 \pm 10	47 \pm 12	102 \pm 2	101 \pm 12

Yirmi dört, 48 ve 72. saatlerde, Sham cerrahi+SF grupları ile Sham cerrahi+Steroid grupları arasında fark olmadığı anlaşılmıştır.

Her üç saat döneminde, ÇBD+SF ve ÇBD+Steroid gruplarında, sham gruplarına göre akım anlamlı ölçüde düşmüştür ($p < 0,05$).

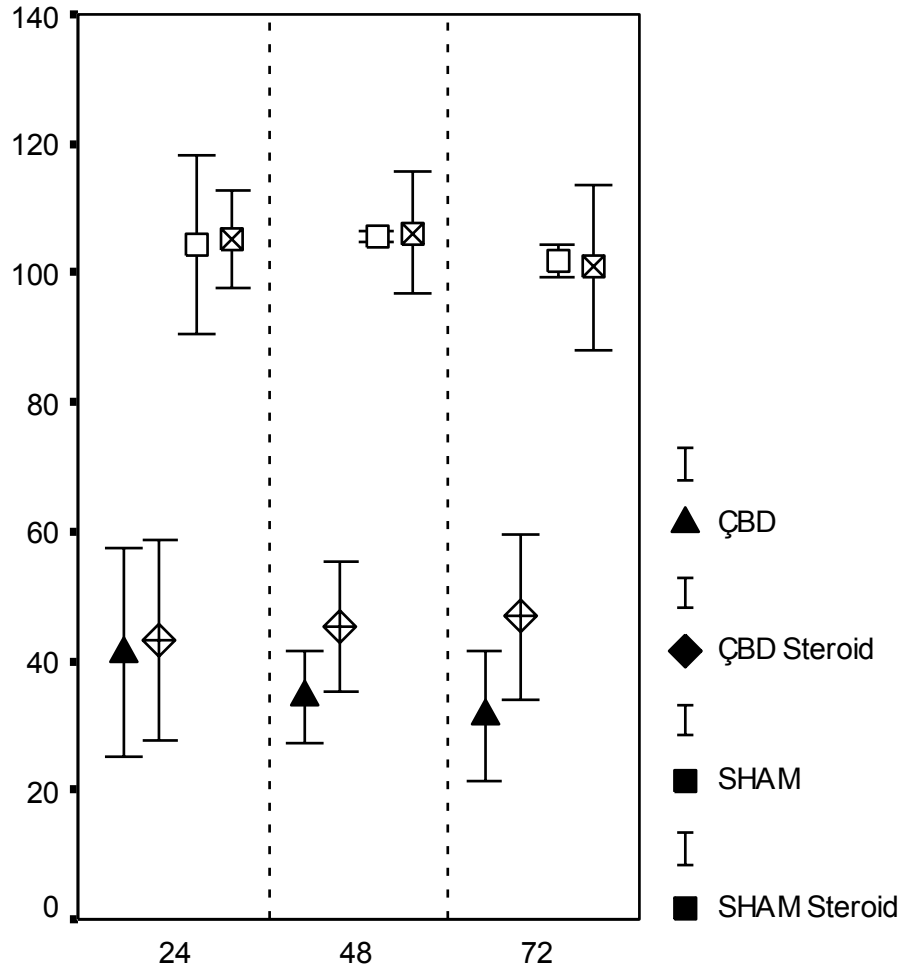
Yirmi dördüncü saatte ÇBD+SF ve ÇBD+Steroid grupları arasınada fark saptanmamıştır ($p = 0,82$).

Kırk sekizinci saatte ÇBD+Steroid grubunda, ÇBD+SF grubuna kıyasla akımda anlamlı artış izlenmiştir ($p = 0.025$).

Yetmiş ikinci saatte ÇBD+Steroid grubunda, ÇBD+SF grubuna göre olan artış anlamlı şekilde artarak devam etmiştir ($p = 0.018$).

Bu bulgular ışığında, bu bölümden çıkan sonuç, ÇBD' nin mezenterik kan akımını anlamlı şekilde azalttığı ve düşük doz deksametazonun, sham cerrahi grubunda değişikliğe neden olmazken, ÇBD uygulanan grupta mezenterik kan akımındaki düşüşü engelleyici etkisinin, ikinci dozu takiben, yani 48. saat hayvanlarında ortaya çıkmış olduğudur.

Sham cerrahi ve ÇBD alt gruplarında, steroid tedavisinin mezenterik kan akımına etkisi GRAFİK 4.1' de gösterilmiştir.



GRAFİK 4.1: Sham cerrahi ve ÇBD alt gruplarında, steroid tedavisinin mezenterik kan akımına etkisi

4.2. Organ hasarının göstergesi, doku MDA düzeyleri :

Karaciğerde MDA ölçümlerinin saat dönemlerine göre gruplarda dağılımı ortalama değerler \pm standart sapma nmol/g yaş doku olarak TABLO 4.2.1’ de gösterildiği şekildedir.

TABLO 4.2.1: Gruplara Göre Karaciğer MDA Düzeyleri

GRUPLAR	ÇBD + SF	ÇBD + Steroid	Sham + SF	Sham + Steroid
	nmol / g			
24. saat	202 \pm 16	157 \pm 13	147 \pm 3	160 \pm 4
48. saat	159 \pm 9	153 \pm 5	134 \pm 10	163 \pm 14
72. saat	217 \pm 15	182 \pm 7	150 \pm 5	151 \pm 19

Buna göre gruplar arası ilişkide p değeri, ve buna bağlı anlamlılık durumları TABLO 4.2.2’ de gösterildiği şekildedir

TABLO 4.2.2: Karaciğer MDA Düzeylerinin Gruplar Arası Farklılıklarının Karşılaştırılması

GRUPLAR		24. saat	48. saat	72. saat
SHAM + SF	X SHAM + Steroid	0,06	0,1	0,8
ÇBD + SF	X ÇBD + Steroid	<0,01	0,1	<0,01
ÇBD + SF	X SHAM + SF	<0,01	0,01	<0,01
ÇBD + Steroid	X SHAM + Steroid	0,74	0,08	<0,01

p değerinin 0,05’ den küçük olması, ilgili gruplar arasında, anlamlı fark olduğunu göstermektedir. Bu değerler koyu olarak belirtilmiştir.

Tüm gruplarda karaciğer, akciğer ve periton MDA düzeylerinin alt gruplara göre karşılaştırmalı dağılımı GRAFİK 4.2.’ de gösterilmiştir.

Akciğerde MDA ölçümlerinin saat dönemlerine göre gruplarda dağılımı ortalama değerler \pm standart sapma nmol/g yaş doku, olarak TABLO 4.3.1’ de gösterildiği şekildedir.

TABLO 4.3.1: Gruplara Göre Akciğer MDA Düzeyleri

GRUPLAR	ÇBD + SF	ÇBD + Steroid	Sham + SF	Sham + Steroid
	nmol / g			
24. saat	112 \pm 10	98 \pm 5	94 \pm 3	100 \pm 3
48. saat	100 \pm 8	89 \pm 4	91 \pm 6	99 \pm 4
72. saat	87 \pm 4	85 \pm 5	91 \pm 6	87 \pm 0

Buna göre gruplar arası ilişkide *p* değeri, ve buna bağlı anlamlılık durumları TABLO 4.3.2’ de gösterildiği şekildedir

TABLO 4.3.2: Akciğer MDA Düzeylerinin Gruplar Arası Farklılıklarının Karşılaştırılması

GRUPLAR		24. saat	48. saat	72. saat
SHAM + SF	X SHAM + Steroid	0,1	0,2	0,5
ÇBD + SF	X ÇBD + Steroid	<0,01	<0,01	0,26
ÇBD + SF	X SHAM + SF	0,04	0,16	0,36
ÇBD + Steroid	X SHAM + Steroid	0,56	0,02	0,5

p değerinin 0,05’ den küçük olması, ilgili gruplar arasında, anlamlı fark olduğunu göstermektedir. Bu değerler koyu olarak belirtilmiştir.

Peritonda MDA ölçümlerinin saat dönemlerine göre gruplarda dağılımı ortalama değerler \pm standart sapma nmol/gr yaş doku, olarak TABLO 4.4.1’ de gösterildiği şekildedir.

TABLO 4.4.1: Gruplara Göre Periton MDA Düzeyleri

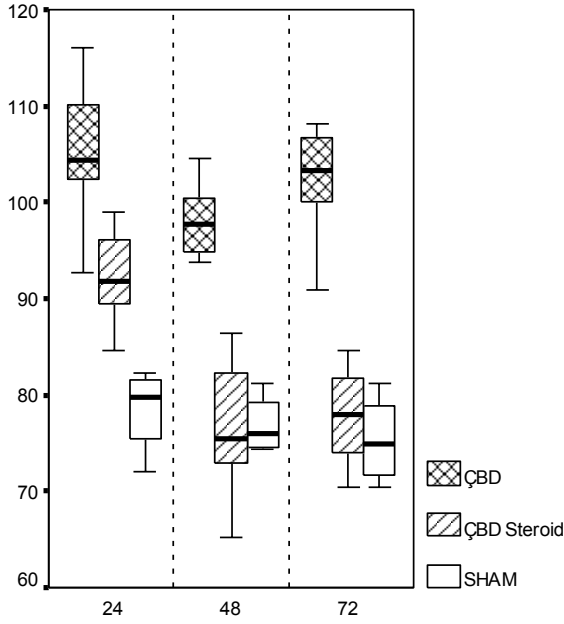
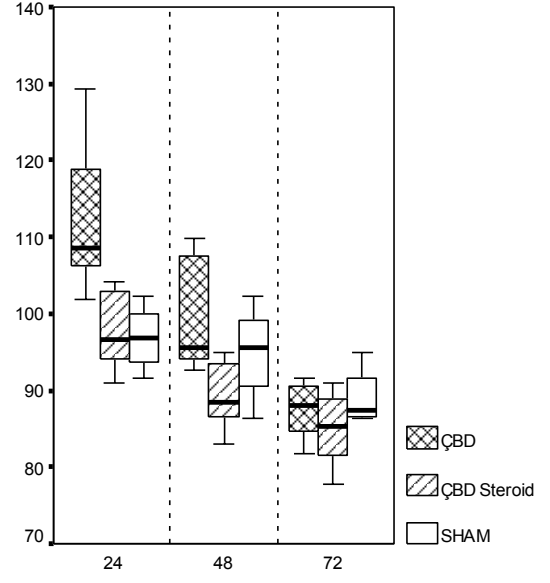
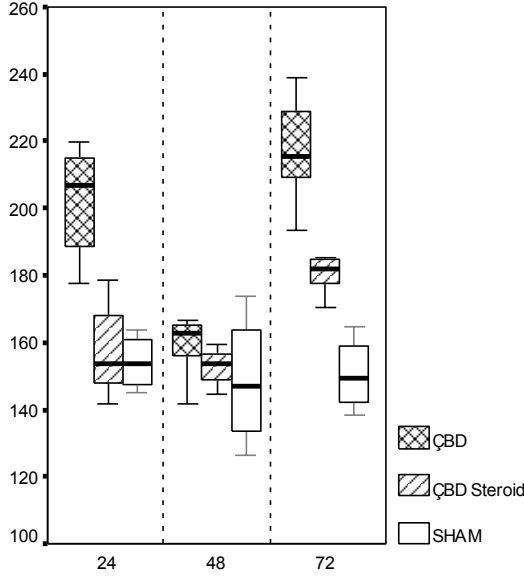
GRUPLAR	ÇBD + SF	ÇBD + Steroid	Sham + SF	Sham + Steroid
	nmol / g			
24. saat	105 \pm 7	92 \pm 5	77 \pm 7	79 \pm 1
48. saat	95 \pm 10	77 \pm 7	76 \pm 2	78 \pm 4
72. saat	102 \pm 6	78 \pm 5	75 \pm 2	75 \pm 8

Buna göre gruplar arası ilişkide p değeri, ve buna bağlı anlamlılık durumları TABLO 4.4.2’ de gösterildiği şekildedir

TABLO 4.4.2: Periton MDA Düzeylerinin Gruplar Arası Farklılıklarının Karşılaştırılması

GRUPLAR		24. saat	48. saat	72. saat
SHAM + SF	X SHAM + Steroid	0,6	0,5	0,8
ÇBD + SF	X ÇBD + Steroid	<0,01	<0,01	<0,01
ÇBD + SF	X SHAM + SF	<0,01	0,04	<0,01
ÇBD + Steroid	X SHAM + Steroid	<0,01	0,8	0,64

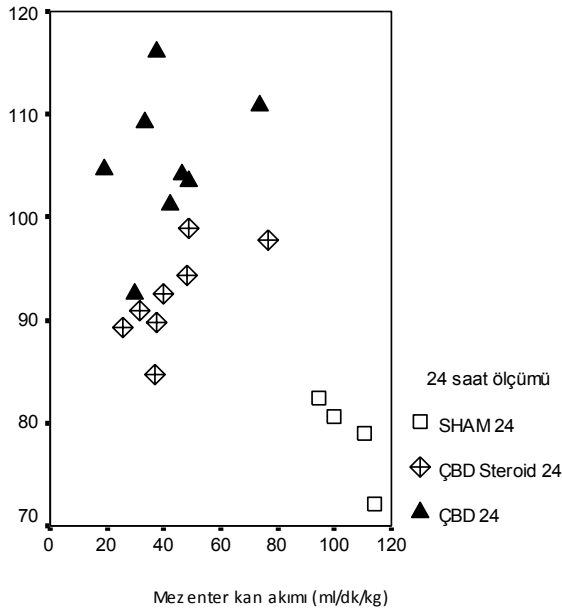
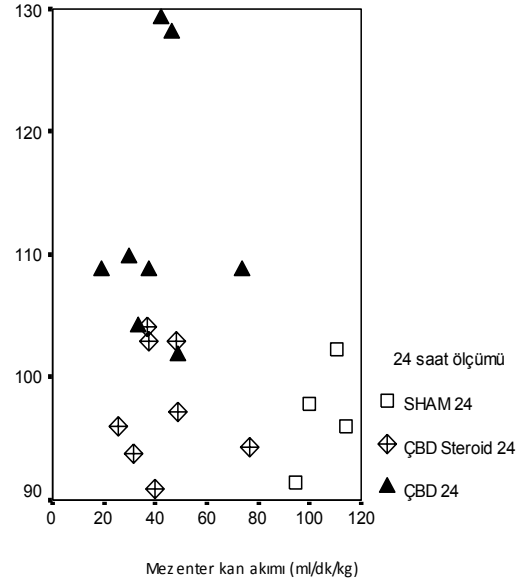
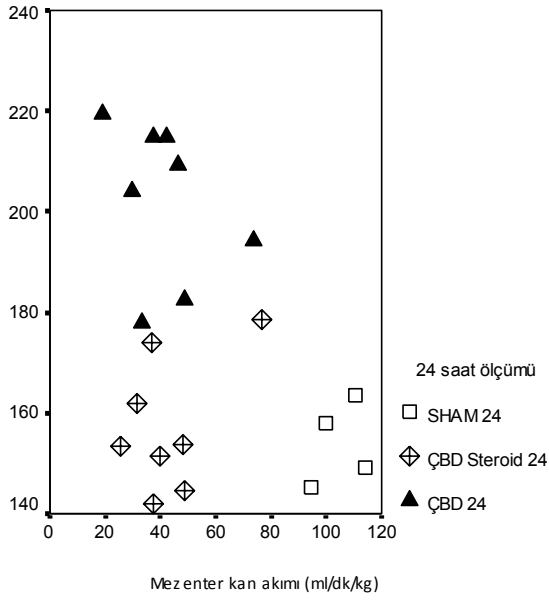
p değerinin 0,05’ den küçük olması, ilgili gruplar arasında, anlamlı fark olduğunu göstermektedir. Bu değerler koyu olarak belirtilmiştir.



GRAFİK 4.2 : 24, 48 ve 72. saatlerde, doku MDA düzeylerinin alt gruplara göre dağılımı.

Sham grupları arasında anlamlı farklılık olmaması nedeniyle, tek bir ortak SHAM grubu olarak gösterilmiştir.

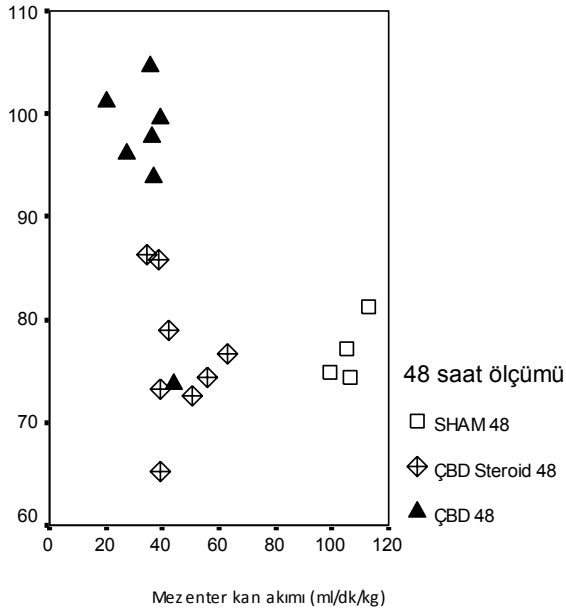
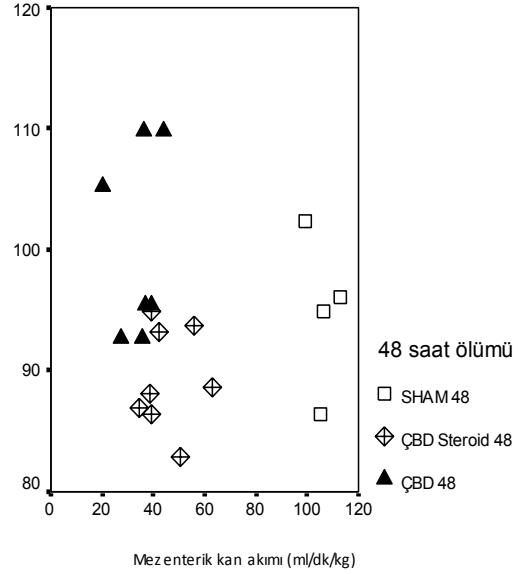
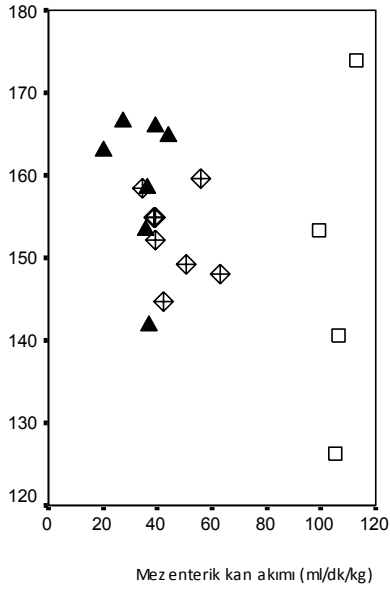
Doku MDA düzeyleriyle, mezenterik kan akımı değerleri arasındaki ilişki, tüm alt gruplara ve zaman dilimlerine göre incelenmiştir. Dağılım, aşağıda gösterilen şekilde gerçekleşmiştir. (GRAFİK: 4.3.1, 4.3.2, 4.3.3)



GRAFİK 4.3.1 : 24.saatte karaciğer, akciğer ve peritonda MDA düzeylerinin, mezenterik kan akımıyla karşılaştırılması

Yirmi dördüncü saatte karaciğer ve akciğer MDA düzeyleriyle, kan akımları arasında hiçbir grupta anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Periton MDA düzeyi ve kan akımı arasında, sadece SHAM grubunda anlamlı ilişki ($p < 0,01$) görülmüştür.

ÇBD + Steroid grubunda, periton MDA düzeyi ile kan akımı arasında tersine sınırdaki ilişki görülmüştür. ($p = 0,049$)



GRAFİK 4.3.2 : 48.saatte karaciğer, akciğer ve peritonda MDA düzeylerinin, mezenterik kan akımıyla karşılaştırılması

Kırk sekizinci saatte karaciğer, akciğer ve periton MDA düzeyleriyle, kan akımları arasında hiçbir grupta anlamlı doğrusal korelasyon saptanmamıştır.

4.3. Mezenterik Akım Vazopressör Yanıtının Ölçüm

Sonuçları:

TABLO 4.5.1: Gruplara Göre Fenilefrinin Tekrarlanan Dozlarına, Mezenterik Akım Yüzde Değişim Yanıtı

GRUPLAR	1 µg	3 µg	10 µg	30 µg
	Fenilefrinle akım düşüşünün % değişim ortalaması ± standart sapma			
ÇBD 24	16,2 ± 1,4	19,2 ± 4,7	23,7 ± 2,1	40,2 ± 0,3
ÇBD + Steoid 24	16,5 ± 2,4	23,4 ± 3	25,7 ± 6,5	40 ± 10,9
ÇBD 48	14,5 ± 3	17,4 ± 6,1	21,8 ± 2	38,6 ± 1,2
ÇBD + Steroid 48	21,5 ± 3,9	30,3 ± 4,3	37,2 ± 11,2	54,3 ± 4,6
ÇBD 72	12,7 ± 1,8	17,4 ± 2,3	21 ± 0,9	37,3 ± 1,4
ÇBD + Steroid 72	21,1 ± 4,4	28,9 ± 10,4	40,2 ± 6,8	53 ± 3,9
SHAM	30,5 ± 1	43,4 ± 1,7	63,7 ± 2	82,4 ± 1,8

Tüm fenilefrin dozları ve zaman dilimlerinde, ÇBD ve ÇBD + Steroid grupları, fenilefrine verdikleri vazokontrüksiyon yanıtları açısından SHAM gruplarından anlamlı şekilde farklı olarak saptanmıştır ($p < 0,01$).

Fenilefrinin 1 µg dozunda, ÇBD + Steroid grubundaki yanıt, ÇBD grubundan 24.satte farklı değilken ($p = 0,97$), 48 ve 72. saatlerde, anlamlı şekilde farklı olarak izlenmiştir ($p < 0,01$).

3 µg dozunda, her iki ÇBD alt gruba arasında fark izlenmemiştir ($p = 0,91$), ancak 48 ve 72. saatlerdeki farklılaşma dikkat çekicidir ($p = 0,05$ ve $0,06$).

10 µg dozunda, ÇBD + Steroid grubunda yanıt, ÇBD grubundan 24.satte farklı değilken ($p=0,99$), 48 ve 72. saatlerde, anlamlı şekilde farklı olarak izlenmiştir ($p=0,03$ ve $p<0,01$).

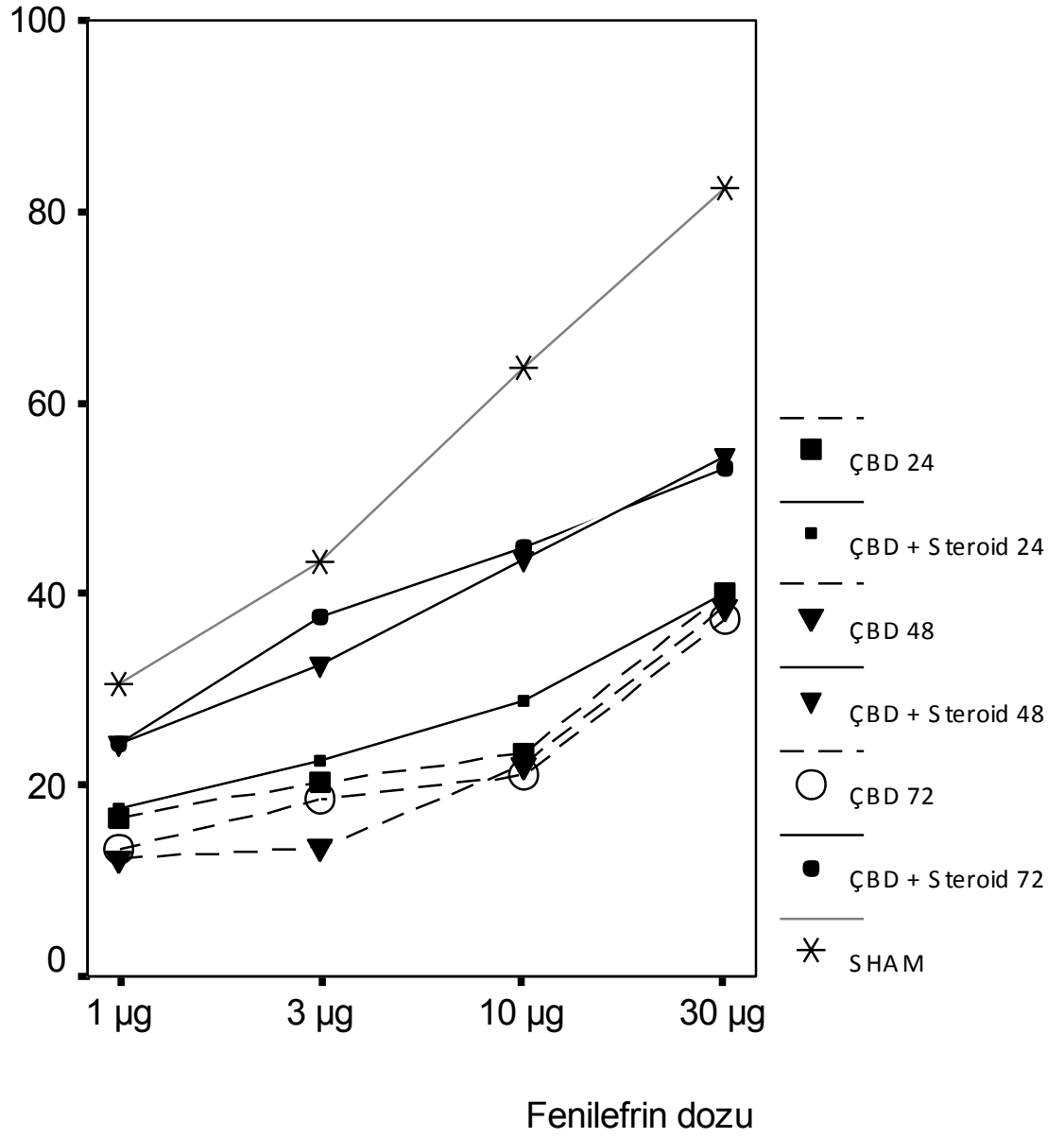
30 µg dozunda, her iki ÇBD alt grubu arasında 24 ve 48. saatlerde anlamlı fark görülmemiştir, ancak 48. saatte farklılaşma eğilimi dikkat çekmiştir ($p=0,06$). 72. saat değerleri, her iki grup arasında anlamlı şekilde farklı olarak saptanmıştır ($p=0,03$). Bu sonuçlara göre fenilefrinin infüzyonunun tekrarlanan dozlarındaki akım değişim yüzde değerlerinin anlamlılıklarını gösteren p değerleri TABLO 4.5.2' de gösterildiği şekilde saptanmıştır.

Tüm gruplarda, tekrarlanan fenilefrin dozlarında görülen mezenterik akım değişiklikleri GRAFİK 4.4' te gösterilmiştir.

TABLO 4.5.2 : Tekrarlanan fenilefrin dozlarında, mezenterik kan akımı değişiminin gruplara göre anlamlılığı.

					p	
Fenilefrin Dozu	1 µg	24.saat	ÇBD 24	X	SHAM 24	<0,01
			ÇBD + Steroid 24	X	SHAM 24	<0,01
			ÇBD 24	X	ÇBD + Steroid 24	0,97
		48.saat	ÇBD 48	X	SHAM 48	<0,01
			ÇBD + Steroid 48	X	SHAM 48	<0,01
			ÇBD 48	X	ÇBD + Steroid 48	0,02
		72.saat	ÇBD 72	X	SHAM 72	<0,01
			ÇBD + Steroid 72	X	SHAM 72	<0,01
			ÇBD 72	X	ÇBD + Steroid 72	<0,01
	3 µg	24.saat	ÇBD 24	X	SHAM 24	<0,01
			ÇBD + Steroid 24	X	SHAM 24	<0,01
			ÇBD 24	X	ÇBD + Steroid 24	0,91
		48.saat	ÇBD 48	X	SHAM 48	<0,01
			ÇBD + Steroid 48	X	SHAM 48	0,03
			ÇBD 48	X	ÇBD + Steroid 48	0,05
		72.saat	ÇBD 72	X	SHAM 72	<0,01
			ÇBD + Steroid 72	X	SHAM 72	<0,01
			ÇBD 72	X	ÇBD + Steroid 72	0,06
	10 µg	24.saat	ÇBD 24	X	SHAM 24	<0,01
			ÇBD + Steroid 24	X	SHAM 24	<0,01
			ÇBD 24	X	ÇBD + Steroid 24	0,99
		48.saat	ÇBD 48	X	SHAM 48	<0,01
			ÇBD + Steroid 48	X	SHAM 48	<0,01
			ÇBD 48	X	ÇBD + Steroid 48	0,03
72.saat		ÇBD 72	X	SHAM 72	<0,01	
		ÇBD + Steroid 72	X	SHAM 72	<0,01	
		ÇBD 72	X	ÇBD + Steroid 72	<0,01	
30 µg	24.saat	ÇBD 24	X	SHAM 24	<0,01	
		ÇBD + Steroid 24	X	SHAM 24	<0,01	
		ÇBD 24	X	ÇBD + Steroid 24	1	
	48.saat	ÇBD 48	X	SHAM 48	<0,01	
		ÇBD + Steroid 48	X	SHAM 48	<0,01	
		ÇBD 48	X	ÇBD + Steroid 48	0,06	
	72.saat	ÇBD 72	X	SHAM 72	<0,01	
		ÇBD + Steroid 72	X	SHAM 72	<0,01	
		ÇBD 72	X	ÇBD + Steroid 72	0,03	

p değerinin 0,05' den küçük olması, ilgili gruplar arasında, anlamlı fark olduğunu göstermektedir. Bu değerler koyu olarak belirtilmiştir



GRAFİK 4.4 : Tekrarlanan fenilefrin dozlarında, gruplara göre akım yüzde değişim yanıtları.

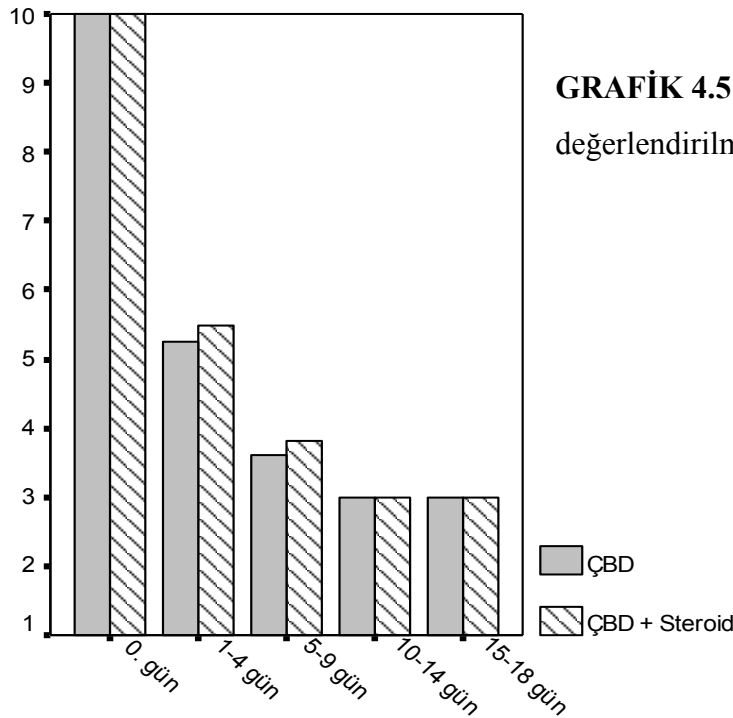
4.4. Sağkalım grupları :

ÇBD cerrahi uygulanan 10 adet ve ÇBD cerrahi + Steroid uygulanan 10 adet fareden oluşan grupların, her ikisinin de 18 günlük mortalite oranları %70 (7/10) olarak gerçekleşmiştir.

18 günlük izleme bakıldığında, sağkalım farklılığı görülmemiştir. İzlem süresi dört eşit döneme bölünerek yapılan değerlendirmede sağkalım süreleri aşağıdaki şekilde izlenmiştir:

	1-4 gün	5-9 gün	10-14 gün	15-18 gün
Yaşayan hayvan sayısı ± standart sapma				
ÇBD	5,2 ± 1,9	3,6 ± 0,5	3 ± 0	3 ± 0
ÇBD+Steroid	5,5 ± 1,9	3,8 ± 0,4	3 ± 0	3 ± 0

İlk dört günde, deksametazon tedavisinin, mortaliteyi anlamlı olarak azalttığı (p=0,03) dikkat çekmektedir. Steroidin bu etkisi ikinci beş günlük dilimde azalmakta (p=0,2) ve 10. gün sonrasında kaybolmaktadır. Sağkalımın ÇBD ve ÇBD+Steroid gruplarında değerlendirme sonuçları GRAFİK 4.5' te gösterilmiştir.



5. TARTIŞMA :

Sepsis patofizyolojisinde, daha önceden EDRF olarak tanımlanmış bir son ürün olan NO' in dikkat çekici şekilde arttırdığının gösterilmesinin ardından, inflamasyon sürecinin baskılanması düşüncesi, araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir (37, 49, 57). İnflamasyonun baskılanması amacıyla başta steroidler olmak üzere, hemen tüm anti-inflamatuvar ajanlar denenmiştir. Steroidlerin alışıldık immün baskılayıcı dozlarında kullanılmasıyla klinikte görülen kötüye gidişin ardından, NO' in biyosentez aşamalarının açığa çıkması, farklı NOS' ların varlığının anlaşılması, arayışları doğrudan nitrik oksit sentezinin baskılanmasına yöneltmiştir (10, 13, 19). Seksenli yılların sonlarından günümüze değin pek çok deneysel çalışmayla NO yapımının ya da etkisinin baskılanmasına çalışılmış, tekil olarak bakıldığında birbirine zıt olan, oysa bir bütünün parçalarının oluşturulduğunu gösteren sonuçlar alınmıştır.

Nitrik oksit sentazın, doğal analogu olan L-arjinin türevleriyle baskılanma çalışmaları, sonuçta, sepsis sürecinde organizmanın zararı yönünde etkiler gösteren iNOS' in baskılanırken, koruyucu etkileri baskın olan eNOS' in baskılanmaması gerektiğini ortaya koymuştur. L-arjinin analogları farklı NOS türleri üstünde farklı seçicilikte baskılama yapmaktadır ve sepsisin diğer yolakları üstüne bilinen başkaca etkileri yoktur. Öte yandan glukokortikoidler NOS türleri içinde iNOS' a seçici etki göstermenin yanı sıra inflamasyon sürecinde etkileri olabilen COX 2, Lipooksijenaz gibi başka bazı enzimleri de baskılamaktadır. Nitrik oksitin sepsiste damar endoteline etkileri ortadayken, İskit ve arkadaşlarınca, NO' in tam tersine güçlü bir vazokonstüktör endojen olduğu bilinen endotelinin etkisinin sepsisin geç döneminde baskılanmasıyla olumlu sonuçların gözleendiği deneysel çalışma, sepsisin farklı dönemlerinde, farklı klinik

durumlara, farklı ajanlarla etki edilmesi gerekliliği hipotezini destekleyen bir kanıt olmuştur (24, 25).

Sepsis patofizyolojisine yoğun olarak yönelinen son 30 yıllık dönemin ilk yarısında, klinik sepsis tablolarının üçte ikisinden Gram (-) mikroorganizmaların sorumlu olması, araştırmacıları, benzer tabloların hayvan deneylerinde oluşturulmaya çalışıldığı endotoksin/lipopolisakkarid uygulamasına götürmüştür (13, 16, 22, 26, 30).

Günümüzde hem klinikte sepsis hastalarında Gram(-)' lerin etkisi azalmış, hem de endotoksemik sepsis modellerinin, insan sepsis kliniğiyle tam olarak örtüşmediği savı ağırlık kazanmıştır (23, 46, 63). Cerrahi yoğun bakım hastalarının hemen hepsinde karın içi enfeksiyon ön plandayken, diğer grup septik hastalarda da dolaşım bozukluğuna ikincil mezenter kan akımında azalmayla gerçekleşen intestinal bakteri translokasyonu önemli rol oynamaktadır. Filos ve arkadaşlarının, Pringle manevrasıyla oluşturdukları iskemi-reperfüzyon hasarı sonrasında, mezenterik lenf nodlarında bakteri translokasyonunun olduğunu gösterdikleri deneysel çalışma, bunun değerli bir kanıtıdır (16, 45).

İnsandaki polimikrobiyal sepsis tablosunun benzerini deneysel olarak oluşturmanın en doğal şeklinin ÇBD yöntemi olduğu düşüncesi, bizim çalışmamızda da ağırlık kazanmıştır (31, 44, 46, 63).

Sepsiste bozulan mezenterik dolaşımın, steroidlerle, NOS inhibitörleriyle, sitokin baskılanmasıyla düzeltilebileceği, ya da azalmış olan vazopressör ilaç yanıtının arttırılabileceği, daha önce deneysel modellerde gösterilmiştir (6, 30, 40, 68). Ancak bu sonuçların klinik çalışma sonuçlarında aynı oranda gözlenemiyor olması, farklı ilaç, doz ve zamanlamalarla benzer çalışmaların yapılması gerekliliğini doğurmuştur (39).

Son dönemlerde yapılan düşük doz steroid uygulamalarıyla gerçekleştirilen sepsis modellerinde, kimi inflamatuvar sitokinlerin azaldığının gösterilmesi, (42) sadece NO sentezini baskılaması

açısından değil, inflamasyon sürecinde NO' den bağımsız bazı sitokinlerin de azaldığının gösterilmesinden ötürü, çalışmamızın planlanmasında etkili olmuştur. Düşük doz deksametazon olarak 0,1 mg/kg ile 1 mg/kg arasında dozlar kullanan değişik çalışmaların çoğunluğunda, sepsis ile ilintili kimi parametrelerin düzeldiği bildirilmiştir. Steroidlerin, inflamatuvar süreçte NO dışında başka yollara da baskılayıcı etkisinin olduğu bilindiğine göre, cevaplanması gereken soru, hem vasküler parametreleri, hem de organ hasarını düzelteren, sağkalımı olumlu etkileyen dozun hangisi olduğu ve ne zaman uygulanacağıdır.

Çalışmamızda, ÇBD uygulamasının mezenter kan akımını belirgin şekilde düşürdüğü ($p<0,01$), düşük doz deksametazon tedavisinin ilk doz sonrasında etkisi olmazken, takip eden ikinci ve üçüncü dozlardan sonra akımın anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($p<0,05$). Bu sonuç, deksametazonun iNOS' in yapımını baskılayarak, erken dönemde yaygın sistemik vazodilatasyona bağlı, mezenterik kan akımının yaşamsal organlara yönlendirilmesini azaltmasıyla gerçekleşmiş olabileceği gibi, yine iNOS' un etkisiyle geç dönemde oluşan yaygın vazokonstüksiyonu çözücü etkisiyle de açıklanabilir. Çalışmamızda prednizolonun 48. ve 72. saat incelemelerinde göze çarpan koruyucu etkisi de bunu düşündürmektedir. Öte yandan sadece mezenterik arter akım ölçümlerine dayanılarak kan basıncı tablolarının öngörülemediği, bu nedenle sepsisin hiperdinamik ya da hipodinamik dönemine özgül bir değişimden söz edilemeyeceği yaklaşımı doğru olur. ÇBD ile oluşturulan sepsis modellerinde geç dönemin başlangıcı, Wang ve arkadaşlarının (64) çalışmalarında 24 saat, Fujimura ve arkadaşlarının çalışmalarında 16 saat olarak saptanmıştır (18).

Steroidlerin, sepsis patofizyolojisinde koruyucu görevler üstlenen eNOS' i baskılamadığı zaten bilinmektedir. Ancak uygulanacak tedavinin, savunma yapılanmasında yaşamsal önemi olan immünoglobulin yapımının azaltmaması gereklidir, bunun anlamı

COX 2 enziminin baskılanmaması gerekliliğidir. Bu noktadan hareketle, çalışmamızda deksametazonun düşük dozu olarak, iNOS yapımını baskıladığı, ancak COX 2'yi etkilemediği gösterilmiş olan 1 mg/kg kullanılmıştır (66).

Normal fizyolojik koşullarda, serbest oksijen radikallerinin yapımıyla, bunların anti-oksidanlarca temizlenmesi arasında homeostatik bir denge söz konusudur. Sepsiste, endotel hasarı ve organ yetmezliğinin etkisiyle, fazla miktarda oluşan serbest radikallerin temizlenmesi azalır. Malonil dialdehit (MDA), hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, oksidatif stresin göstergesi olan serbest oksijen radikallerindendir (8). Doku MDA düzeylerinde artış, deneysel sepsis modellerinde ortaya konmuştur (32). Sepsisin erken döneminde MDA düzeylerinin, hemodinamik değişikliklerden bağımsız olarak, TNF- α , IL-1 gibi sitokinlerin endotel üzerine olan doğrudan etkisiyle artmaya başladığı gösterilmiştir (64). Çalışmamızda, karaciğer, akciğer ve periton dokularından elde edilen MDA düzeyleri değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada ÇBD işlemi, değerlendirilen tüm organlarda MDA düzeyini anlamlı olarak arttırmıştır ($p<0,01$). Bu artış, karaciğer ve periton dokularında 72 saat boyunca devam ederken, akciğer dokularında 24. saatten sonra kaybolmuştur. Deksametazon uygulaması, ilk 24 saatlik dönemde, tüm organlarda MDA düzeyini anlamlı şekilde düşürmüştü, ancak ilerleyen saatlerde, farklı organlarda farklı etkiler göstermiştir. Deksametazon tedavisi, karaciğer dokularında 24 ve 72. saat gruplarında anlamlı düşüş sağlarken, 48. saatte bu etki izlenmemiştir. Akciğer dokularında ise 24. saatten sonra zaten azalma eğiliminde olan MDA düzeyleri, deksametazon ile daha da baskılanarak, sham grubundaki düzeylerin de altına inmiştir. Bu durum, kompanse edilebilir mekanizmalar kullanılarak, yaşamsal önemi daha öncelikli olan akciğerlere gönderilen kanın arttırılması ve bu nedenle oksidatif stresin karaciğer ve peritona oranla daha az olmasıyla açıklanabilir. Sepsiste, oksidatif stresin

göstergesi olarak doku MDA düzeylerinde artış izlenmesi ve bu artışın, NO yapımının veya etkisinin baskılanmasıyla, ya da doğrudan anti-oksidatif ajanların kullanılmasıyla, azaldığı daha önce gösterilmiştir (51).

Çalışmamızda tüm gruptaki hayvanların, mezenterik akım değerleri ve doku MDA düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde, aralarında bir bağlantı görülmemiştir. Deksametazon tedavisi, hem kan akımını arttırdığı, hem de MDA düzeylerini düşürdüğü halde, beklenilenin aksine, kan akımı göreceli olarak yüksek olan hayvanın MDA düzeyinin de düşük olacağı öngörüsü gerçekleşmemiştir. Bu durum, deksametazonun olumlu etkilerini, farklı hayvanlarda farklı zamanlarda gösteriyor olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmanın bu kısmındaki örneklem sayısının yeterli olmadığı tartışılabilir, ancak sham grubundaki hayvanlarda da benzer bir akım-MDA bağlantısının kurulamamış olması, hemodinamik bozukluk ve organ hasarı ilişkisi seyrinin tek düze olmadığını hatırlatmaktadır.

Sepsisin, özellikle şok tablosunun eşlik ettiği, hipotansiyon ve dolaşım bozukluğuyla seyreden geç dönemde, endojen ve eksojen vazopressörlere verilen yanıt deneysel modellerle *in vivo* (7, 26, 30, 45) ve *in vitro* (55, 68) olarak değerlendirilmiş, ortak sonuç olarak gözlenen yanıtızsızlık halinin, gerek aşırı miktarda yapılan NO' in vazodilatasyonu baskın kılıcı etkisinden, gerekse süregelen vasküler hasar sonucu olduğu düşünülmüştür. Bu yanıtızsızlık hali yine iNOS' ın baskılandığı pek çok çalışmada giderilebilmiştir (30).

Biz de bu çalışmayla, sepsis modelinde vazopressör ajanlara yanıtızsızlık halinin, erken dönemde deksametazon tedavisiyle azaltılabileceğini gösterdik. Farklı dozlarda fenilefrinin damardan uygulanmasıyla, mezenterik arter akımı değişiminin ölçülmesi sonucunda, 24. saat gözlemlerinde değişiklik görülmezken, 48. ve 72. saat gözlemlerinde, deksametazon uygulamasının damar yanıtını anlamlı şekilde arttırarak akımı azalttığı gözlenmiştir.

Tekrar vurgulamak gerekirse, düşük doz prednizolonun MDA düzeylerini düşürücü etkisi özellikle 24. saatte görülüp sonrasında azalırken, vasküler yanıtı zırlığı düzeltici etkisi 48. saatte başlamaktadır.

Steroid tedavisinin gözlenen tüm olumlu etkilerine karşın sağkalım üzerine etkisi olmadığı görülmüş, bu durum sepsis odağına yönelik mutlak tedavinin yapılmamış olmasına bağlanmıştır. Deneysel sepsiste, kaynak kontrolünün sağkalıma etkisinin önemi, sınırlı sayıdaki çalışmada daha önce vurgulanmıştır (62).

Son dönemlerde kimi araştırmacılar, steroidlerle yapılan klinik ve laboratuvar çalışmalarla, sepsise bağlı görece adrenal yetmezlik olgusunun altını çizmişler, bunun steroid tedavisinin başlatılmasında belirleyici olabileceğine değinmişlerdir. Hamrahian ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmayla, sepsisli hastalarda glukokortikoid salınımının belirgin ölçüde arttığını, ancak bu durumun sadece total kortizol düzeyi ölçen çalışmalarda gözden kaçtığını, çünkü adrenal fonksiyonları normal olsa bile, mevcut hipoproteinemi durumuna bağlı total kortizol düzeyinin düşük olabileceğini, bu durumun gereksiz glukokortikoid kullanımıyla sonuçlanabileceğini belirtmişlerdir (20). Bu konuda deneysel ve klinik çalışmaların çoğu, sepsis tablosunda adrenal yetmezlik olgusunun kaçınılmaz olduğu, ve kortikotropin stimülasyon testine yanıt veren olgularda da steroid tedavisinin olumlu sonuçlarının gözleendiği, bundan ötürü vazopressör bağımlı septik şok tablosunda düşük doz steroidlerin verilmesi gerektiği sonucuna varmıştır (4, 11, 31). Organizmanın fizyolojik anti-inflamatuarları olan glukokortikoidlerin, sepsis gibi bir kontrolsüz inflamasyon durumunu kontrol etmek için ne ölçüde devreye girdiği bilinmemektedir. Bu kilit sorunun yanıtını bulmaya yönelik çarpıcı çalışmalardan biri, Duma ve arkadaşlarının, endotoksemik ratlarda gerçekleştirdiği çalışmalardır. Bu çalışmalarla, nitrik oksitin, glukokortikoidlerle yarıştığı ve onların reseptörlerine bağlanmasını engellediği hem in vivo, hem de in vitro olarak

gösterilmiştir (13, 19, 55). Oluşan bu görece adrenal yetmezlik tablosu, sepsiste NO' in yapımı aşamasında baskılanması gerekliliğine işaret etmektedir.

Bizim çalışmamızda, düşük doz deksametazonun sepsiste etkileri, adrenal durum gözetilmeksizin araştırılmış ve çalışma öncesinde öngörüldüğü şekilde mezenterik kan akımı, dokularda oksidatif stres ve vasküler yanıtızsızlık üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir.

Bu çalışmayla, sepsiste steroid tedavisinin özellikle, kan akımı ve MDA düzeylerine etkisinin bireye bağımlı şekilde farklı zamanlamalarda gerçekleştiğinin gösterilmiş olması, sepsis kliniğinin standart dışı duruşunu ön plana çıkarmış, böylelikle literatürde bugüne dek steroidlerle NO yapımının baskılanmasını, yalnızca pro-inflamatuvar sitokin düzeylerinin ölçümüyle anlamsız olarak değerlendirmenin (33) yeterli olmayabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER :

Fareler üzerinde gerçekleştirilen, polimikrobiyal karın içi sepsis modelinde, 1 mg/kg/gün deksametazon tedavisi:

- Azalan mezenter kan akımını arttırmıştır.
- Farklı ardaşık dozlarda uygulanan fenilefrine vasküler yanıtızsızlık halini kısmen düzeltmiştir.
- Oksidatif strese bağı organ hasarını azaltmıştır.
- Sağkalım oranını değıştirmemiş, ancak ilk dört günlük dönemde mortaliteyi yavaşlatmıştır.

Çalışmamızda, sepsisin erken döneminde başlatılan deksametazon tedavisinin, mezenterik kan akımına olan olumlu sonuçları, geç dönemin başlarında alınmıştır. Klinik çalışmalarda telkin edilen, steroid tedavisine başlamak için vazopressör bağımlı şok döneminin beklenmesi öngörüsü göz ardı edilmiştir.

Daha uygun hemodinamik monitörizasyon şartlarının oluşturulabileceğı hayvan modellerinde, sadece erken ve sadece geç dönemde, farklı steroid dozlarıyla hemodinamik değışkenlere paralel olarak organ kan akımlarının düzeltilebileceğini, kaynak kontrolünün de yapılacağı gruplarda, steroidlerin sağkalımı olumlu etkileyeceğini göstermeyi hedefleyen çalışmaların gerekli olduğu düşüncesindeyiz. Bunun yanı sıra sepsiste vasküler yataktaki değışikliklerin nitrik oksitle olan ilişkisinin, eş zamanlı nitrik oksit sentaz gen ekspresyonu saptanmasını içeren daha ileri çalışmalarda desteklenebileceğı kanısını taşıyoruz.

7. KAYNAKLAR

- 1) *Albuszies G, Radermacher P, Vogt J, ve ark. Effect of increased cardiac output on hepatic and intestinal microcirculatory blood flow, oxygenation, and metabolism in hyperdynamic murine septic shock. Crit Care Med., 33(10):2332-2338, 2005*
- 2) *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med. , 20(6) : 864-874, 1992*
- 3) *Anane D, Sébille V, Bellissant E ve ark. Effect of low doses of corticosteroids in septic shock patients with or without early acute respiratory distress syndrome. Crit Care Med, 34:1, 22-30, 2006*
- 4) *Annane D, Se´bille V, Charpentier C ve ark. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. JAMA, 288:862-71, 2002*
- 5) *Baykal A, İskit AB, Hamaloğlu E ve ark. Melatonin modulates mesenteric blood flow and TNF alfa concentrations after lipopolysaccharide challenge. Eur.J.Surg., 166,722-727, 2000*
- 6) *Baykal A, Kavuklu B, İskit AB. ve ark. Experimental Study of the Effect of Nitric Oxide Inhibition on mesenteric blood flow and Interleukin-10 levels with a lipopolysaccharide challenge. World J. Surg. 24, 1116–1120, 2000*
- 7) *Baykal A, İskit AB, Kaynaroğlu V ve ark. Effects of adrenaline or endotoxin tolerance states on mesenteric blood flow in endotoxaemia. Aust N Z J Surg. , 69(2):134-137, 1999*
- 8) *Beckman JS, Beckman TW, Chen J ve ark. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl Acad Sci U S A. , 87(4):1620-1624, 1990*

- 9) Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF. *Ve ark., Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med., 344:699-709, 2001*
- 10) Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. *Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. Chest , 112:235-243, 1997*
- 11) Briegel J, Forst H, Haller M *ve ark. Stress doses of hydrocortisone reverse hyperdynamic septic shock: a prospective, randomized, double-blind, single-center study. Crit Care Med, 27:723-732, 1999*
- 12) Dinarello CA. *Biologic basis for interleukin-1 in disease. Blood., 15;87(6):2095-2147, 1996*
- 13) Duma D, Silva-Santos JE, Assreuy J. *Inhibition of glucocorticoid receptor binding by nitric oxide in endotoxemic rats. Crit Care Med, 32:11, 2304-2310, 2004*
- 14) Eichacker PQ, Parent C, Kalil A. *ve ark. Risk and the efficacy of antiinflammatory agents: retrospective and confirmatory studies of sepsis. Am J Respir Crit Care Med. 1;166(9):1156-1157., 2002*
- 15) Ferlazzo V, D'Agostino P, Milano S. *Anti-inflammatory effects of annexin-1: stimulation of IL-10 release and inhibition of nitric oxide synthesis. Int Immunopharmacol. 3(10-11):1363-1369, 2003*
- 16) Filos K, Kirlilisis I, Spiliopoulou I *ve ark. Bacterial translocation, endotoxemia and apoptosis following Pringle maneuver in rats. Injury, 35:35-43, 2004*
- 17) Fry DE, Pearlstein L, Fulton RL, *Multiple system organ failure. The role of uncontrolled infection. Arch Surg., 115(2):136-140, 1980*
- 18) Fujimura N, Sumita S, Aimonio M. *ve ark. Effect of free radical scavengers on diaphragmatic contractility in septic peritonitis. Am J Respir Crit Care Med., 162(6):2159-2165, 2000*
- 19) Galigniana MD, Piwien-Pilipuk G, Assreuy J. *Inhibition of glucocorticoid receptor binding by nitric oxide. Mol Pharmacol., 55(2):317-323, 1999*

- 20) Hamrahan AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med.* , 350(16):1629-1638, 2004
- 21) Harris RL, Musher DM, Bloom K ve ark. Manifestations of sepsis. *Arch Intern Med.*, 147(11):1895-1906, 1987
- 22) Hickey MJ, Sharkey KA, Sihota EG ve ark. Inducible nitric oxide synthase-deficient mice have enhanced leukocyte-endothelium interactions in endotoxemia. *FASEB J.*, 11(12):955-964, 1997
- 23) Hubbard WJ, Choudhry M, Schwacha MG ve ark. Cecal ligation and puncture. *Shock.*, 24 :1:52-57, 2005
- 24) İskit AB, Güç MO. A new therapeutic approach for the treatment of sepsis. *Medical Hypotheses* 62,342–345, 2004
- 25) İskit AB, Güç MO. Timing of endothelin and nitric oxide inhibition is crucial for survival in septic shock. *Br. J. Surg.* 87, 937. 2000
- 26) İskit AB, Sungur A., Gedikoğlu G. ve ark. The effects of bosentan, aminoguanidine and l-canavanine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. *Eur. J. Pharmacol.* 379,73–80, 1999
- 27) İskit AB, Şenel I, Sökmensüer C ve ark. Endothelin receptor antagonist bosentan improves survival in a murine caecal ligation and puncture model of septic shock. *Eur J Pharmacol.* 506(1):83-88, 2004
- 28) Johnson D, Mayers I., Multiple organ dysfunction syndrome: a narrative review. *Can J Anaesth*, 48(5):502-509, 2001
- 29) Kalil AC, Coyle SM, Um JY, ve ark. Effects of drotrecogin alfa (activated) in human endotoxemia. *Shock*, 21:222–229, 2004
- 30) Kavuklu B, İskit AB, Güç MO, ve ark. Aminoguanidine attenuates endotoxin-induced mesenteric vascular hyporeactivity. *Br J Surg.*, 87(4):448-453, 2000
- 31) Koo DJ, Jackman D, Chaudry IH ve ark. Adrenal insufficiency during the late stage of polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 29:3, 618-622, 2001

- 32) Köksal GM, Sayılğan C, Aydın S ve ark. *Correlation of plasma and tissue oxidative stresses in intra-abdominal sepsis. Surg Res.,122(2):180-3, 2004*
- 33) Lefer AM. *Nitric oxide donors in endotoxic and septic shock: Evidence against Nitric Oxide as a mediator of shock. Sepsis, 1:101-106, 1998*
- 34) Levy M, Flink MM, Marshall JC, ve ark. *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med , 31(4) : 1250-1256, 2003*
- 35) Lucas CE, Ledgerwood AM. *The cardiopulmonary response to massive doses of steroids in patients with septic shock. Arch Surg,. 119:537-541, 1984*
- 36) Marshall JC, Cook DJ, Christou NV ve ark. *Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. Crit Care Med., 23(10):1638-1652, 1995*
- 37) Meduri GU. *An historical review of glucocorticoid treatment in sepsis. Disease pathophysiology and the design of treatment investigation. Sepsis, 3:21-38, 1999*
- 38) Metrangolo L, Fiorillo M, Friedman G, *Early hemodynamic course of septic shock. Crit Care Med. , 23(12): 1971-1975, 1995*
- 39) Mineci PC, Deans KJ, Banks SM ve ark., *Meta-Analysis: The effect of steroids on survival and shock during sepsis depends on the dose., Ann Intern Med., 141:47-56, 2004*
- 40) Navaratnam RL, Morris SE, Traber DL. ve ark. *Endotoxin (LPS) increases mesenteric vascular resistance (MVR) and bacterial translocation (BT). J Trauma., 30(9):1104-13,1113-1115, 1990*
- 41) Nishio K, Akai Y, Murao Y ve ark. *Increased plasma concentrations of adrenomedullin correlate with relaxation of vascular tone in patients with septic shock. Crit Care Med., 25(6):953-957, 1997*
- 42) Oppert M, Schindler R, Husung C. *Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduces cytokine levels in early*

- hyperdynamic septic shock. Crit Care Med, 33:11, 2457-2464, 2005*
- 43) Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. *Novel strategies for the treatment of sepsis. Nat Med, 9:517-524, 2003*
- 44) Sachdeva K, Yan B, Chichester CO. *Lipopolysaccharide and cecal ligation/puncture differentially affect the subcellular distribution of the pregnane X receptor but consistently cause suppression of its target genes CYP3A. Shock., 19(5):469-474, 2003*
- 45) Sautner T, Wessely C, Riegler M. *ve ark. Early effects of catecholamine therapy on mucosal integrity, intestinal blood flow, and oxygen metabolism in porcine endotoxin shock. Ann Surg., 228(2):239-248, 1998*
- 46) Sayek İ. *Animal models for intra-abdominal infection. Hepatogastroenterology., 44(16):923-926, 1997*
- 47) Schwandner R, Dziarski R, Wesche H, *ve ark. Peptidoglycan and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. J Biol Chem. 18;274(25):17406-17409, 1999*
- 48) Sesler CN, Perry JC, Varney KL. *Management of severe sepsis and septic shock. Curr Opin Crit Care 10:354-363, 2004*
- 49) Stoiser B, Knapp S, Thalhammer F *ve ark. Time course of immunological markers in patients with the systemic inflammatory response syndrome: evaluation of sCD14, sVCAM-1, sELAM-1, MIP-1 alpha and TGF-beta 2. Eur J Clin Invest., 28(8):672-678, 1998*
- 50) Szabo C, Thiemermann C, Wu CC *ve ark. Attenuation of the induction of nitric oxide synthase by endogenous glucocorticoids accounts for endotoxin tolerance in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A. 4;91(1):271-275, 1994*
- 51) Şenel G, Toklu H, Kapucu C. *Melatonin protects against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. Surg Today,35:52-59, 2005*
- 52) Takala J. *Determinants of splanchnic blood flow. Br.J.Anaesth., 77:50-58, 1996*

- 53) Taniguchi T, Koido Y, Aiboshi J ve ark. *Change in the ratio of interleukin-6 to interleukin-10 predicts a poor outcome in patients with systemic inflammatory response syndrome. Crit Care Med., 27(7) : 1262-1264, 1999*
- 54) Tanrıverdi P, Yüksel BC, Raşa K ve ark. *The effects of selective nitric oxide synthase blocker on survival, mesenteric blood flow and multiple organ failure induced by zymosan. J Surg Res., 124(1):67-73, 2005*
- 55) Tarım MA, Sayek İ, Erdemli İ. *Effect of dexamethazone on hepatic vascular response in experimental sepsis. ANZ J Surg., 75(1-2):76-79, 2005*
- 56) *The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. Effect of high-dose glucocorticoid therapy on mortality in patients with clinical signs of systemic sepsis. N Engl J Med. 10;317(11):659-65, 1987*
- 57) Thiernemann C, Szabo C, Mitchell J ve ark. *Vascular hyporeactivity to vasoconstrictor agents and haemodynamic decompensation in haemorrhagic shock is mediated by nitric oxide. Proc. Natl.Acad. Sci. 90, 267-271, 1993*
- 58) Thiernemann C, Vane JR. *Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharide in the rat. Eur. J. Pharmacol. 182, 591-595, 1990*
- 59) Thiernemann C. *Nitric oxide and septic shock. Gen.Pharmac. 29:2, 159-166, 1997*
- 60) Tsao CM, Ho ST, Chen A. ve ark. *Low-dose dexamethasone ameliorates circulatory failure and renal dysfunction in conscious rats with endotoxemia. Shock., 21(5):484-491, 2004*
- 61) Ueda S, Nishio K, Minamino N ve ark. *Increased plasma levels of adrenomedullin in patients with systemic inflammatory response syndrome. Am J Respir Crit Care Med., 160(1):132-136, 1999*

- 62) van Till JW, Lamme B, van Esch TJ. *Surgical therapy attenuates abdominal and extra-abdominal inflammation in experimental peritonitis. Eur Surg Res. 38(2):76-82, 2006*
- 63) Villa P, Sartor G, Angelini M, ve ark. *Pattern of cytokines and pharmacomodulation in sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin. Clin Diag Lab Immunol., 2(5):549-553, 1995*
- 64) Wang P, Chaudry IH. *Mechanism of hepatocellular dysfunction during hyperdynamic sepsis., Am J Physiol. 270:927-938, 1996*
- 65) Wenzel RP, Pinsky MR, Ulevitc RJ ve ark.. *Current understanding of sepsis. Clin Infect Dis 22: 407, 1996*
- 66) Wu CC, Croxtal JD, Perretti M. ve ark. *Lipocortin 1 mediates the inhibition by dexamethasone of the induction by endotoxin of nitric oxide synthase in the rat. Proc. Natl. Acad. Sci., 92:3473-3477, 1995*
- 67) Yıldız O, Doğanay M, Aygen B, ve ark. *Physiological-dose steroid therapy in sepsis., Crit Care. , 6(3):251-259, 2002*
- 68) Yorgancı K, Sayek İ, İsmailoğlu B. ve ark. *Detrimental effects of nitric oxide on mesenteric circulation during endotoxaemia and its reversal by aminoguanidine Eur J Surg , 166: 888–893, 2000*
- 69) Young LS. *Sepsis syndrome. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York : Churchill Livingstone, 690-705, 1995*
- 70) Zingarelli B, O'Connor M, Wong H ve ark. *Peroxynitrite-mediated DNA strand breakage activates poly-adenosine diphosphate ribosyl synthetase and causes cellular energy depletion in macrophages stimulated with bacterial lipopolysaccharide. J Immunol. 1;156(1):350-358, 1996*