



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL DİSSEMİNE
İNTRAVASKÜLER KOAGÜLASYONDA AKTİVE
PROTEİN C'NİN ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Abdullah ŞAHİN

KAYSERİ – 2007



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL DİSSEMİNE
İNTRAVASKÜLER KOAGÜLASYONDA AKTİVE
PROTEİN C'NİN ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Abdullah ŞAHİN

Danışman

Doç. Dr. Engin OK

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	III
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
RESİM LİSTESİ	VII
GRAFİK LİSTESİ	VIII
TEŞEKKÜR	IX
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Hemostaz	4
2.3. Etiyoloji	9
2.4. Patogenez	10
2.5. Klinik	14
2.6. Tanı	15
2.7. Tedavi	19
2.8. Prognoz	23
III. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Denekler	24
3.2. Anestezi	24
3.3. Deney Grupları	24
3.4. Deneysel DIC Modeli	26
3.5. APC İnfüzyonu	26
3.6. Değerlendirilecek Parametreler	26
3.7. Serum TNF- α ve IL-6 Düzeylerinin Tespiti	27

3.8. İstatistiksel Analiz	27
IV. BULGULAR	28
4.1. Trombosit Sayısı.....	28
4.2. PT.....	28
4.3. aPTT	29
4.4. Fibrinojen.....	29
4.5. AT III.....	29
4.6. D-dimer	30
4.7. PAI-1	31
4.8. IL-6 ve TNF- α Sonuçları.....	31
V. TARTIŞMA	37
VI. SONUÇLAR	46
VII. KAYNAKLAR	47
ONAY SAYFASI	59

KISALTMALAR

ADP	: Adenosin difosfat
APC	: Aktive protein C
aPTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
AT	: Antitrombin
DIC	: Yaygın damar içi pıhtılaşma
DMAH	: Düşük moleküler ağırlıklı heparin
FYÜ	: Fibrin yıkım ürünü
HK-II	: Heparin kofaktör-II
IL	: İnterlökin
ISTH/SSC	: International Society of Thrombosis and Haemostasis/Scientific and Standardization Committee
JMHW	: Japanese Ministry of Health and Welfare
kD	: Kilodalton
LPS	: Lipopolisakkarid
mg	: Miligram
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PAI	: Plazminojen aktivatör inhibitörü
PAP	: Plasmin-α2-antiplasmin
PT	: Protrombin zamanı
SIRS	: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
TAT	: Trombin –antitrombin
TAFI	: Trombinle aktive edilen fibrinoliz inhibitörü
TDP	: Taze donmuş plazma

- TF** : Doku faktörü
- TFPI** : Doku faktör yolu inhibitörü
- TNF** : Tümör nekrotize edici faktör
- t-PA** : Doku plazminojen aktivatörü
- u-PA** : Ürokinaz plazminojen aktivatörü
- µg** : Mikrogram

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo-1 : DIC ile ilişkili hastalıklar	10
Tablo-2 : DIC'in tanısal laboratuvar testleri	16
Tablo-3 : Trombosit, PT ve aPTT sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	29
Tablo-4 : Fibrinojen, AT III ve D-dimer sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	30
Tablo-5 : PAI-1, TNF- α ve IL-6 sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil-1	: Koagülasyon yolunun şematik görünümü.....	6
Şekil-2	: Trombinin koagülasyona ve inflamasyona etkisi.....	7
Şekil-3	: Fibrinolitik sistem şematik görünümü.....	9
Şekil-4	: DIC'in patogenezi	11
Şekil-5	: ISTH/SSC'ı komitesinin DIC için oluşturduğu tanısal algoritma.....	18

RESİMLER LİSTESİ

Resim-1 :	Femoral ven kateterizasyonu	25
Resim-2 :	Femoral venden LPS infüzyonu	25
Resim-3 :	Abdominal aortadan kan alınması	26

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik-1 : Trombosit sayılarının gruplar arası karşılaştırılması	32
Grafik-2 : PT değerinin gruplar arası karşılaştırılması	32
Grafik-3 : aPTT değerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	33
Grafik-4 : Fibrinojen değerinin gruplar arası karşılaştırılması	33
Grafik-5 : AT III'ün gruplar arası karşılaştırılması	34
Grafik-6 : D-dimerin gruplar arası karşılaştırılması	34
Grafik-7 : PAI-1 değerinin gruplar arası karşılaştırılması	35
Grafik-8 : IL-6 seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	35
Grafik-9 : TNF- α seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	36

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL DİSSEMİNE İNTRAVASKÜLER KOAGÜLASYONDA AKTİVE PROTEİN C'NİN ETKİSİ

ÖZET

Bu deneysel çalışma Ocak–Şubat 2007 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) gerçekleştirildi.

Amaç: Lipopolisakkarit (LPS) infüzyonu ile Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) oluşturulan sıçanlarda Aktive Protein C (APC)'nin antikoagülan, antitrombotik, profibrinolitik, antienflamatuar ve antiapoptotik etkisinden faydalanarak DIC'te ki hiperkoagülasyonu ve tüketim koagülopatisini önleyici etkisini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlıkları 280–320 gram arasında değişen 25 adet erkek Wistar–Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak sham, kontrol ve çalışma gruplarına ayrıldı. Sham grubuna (n=5) sadece serum fizyolojik verildi. Kontrol (n=10) ve çalışma (n=10) grubuna 30mg/kg'dan LPS 4 saat infüzyonla femoral venden verildi. Çalışma grubuna LPS uygulamasından 4 saat sonra 100µg/kg'dan rekombinant APC (Drotrecogin alfa [aktivated]; Xigris®; İstanbul, Türkiye) 4 saat infüzyonla verildi. Sıçanlar 8 saat sonra abdominal aortadan kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi. Alınan kan örneklerinden Trombosit, PT, aPTT, fibrinojen, AT III, D–dimer, PAI–1, TNF–α ve IL–6 çalışıldı.

Sonuçlar: Kontrol ve çalışma gruplarında trombosit sayıları, fibrinojen ve AT III değerleri sham grubundan anlamlı olarak düşüktü (P<0.05). Kontrol ve çalışma gruplarında PT, aPTT, D–dimer değerleri sham grubundan anlamlı olarak yüksekti (P<0.05). Sham grubuna göre, kontrol ve çalışma gruplarında PAI–1, IL–6 ve TNF–α düzeyleri daha yüksek görüldü (P<0.05).

Kontrol ve çalışma grupları arasında Trombosit sayılarında anlamlı fark yoktu (P=0.36). Kontrol ve çalışma grupları arasında fibrinojen ve AT III değerleri arasında anlamlı fark vardı (P<0.05). APC verilen grupta, PT ve aPTT değerlerinde kontrol grubuna göre uzama görüldü (P<0.05). D–dimer çalışma grubunda, kontrol grubuna göre daha

düşüktü (P=0.0001). Çalışma grubunda PAI-1, TNF- α ve IL-6 değerleri kontrol grubuna göre belirgin olarak daha düşük bulundu (P<0.05).

Sonuç: Bu çalışmada, LPS ile oluşturulan deneysel DIC modelinde, APC'nin, pıhtılaşma zamanında uzama dışında hematolojik parametreleri düzeltmesi ve proinflamatuvar sitokin salınımını azaltmasına bağlı DIC'te oluşan hiperkoagülasyon ve tüketim koagülapatisini önlenebileceği gösterildi. Bu sonuçlar DIC tedavisinde APC'nin yeri olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aktive protein C, Dissemine intravasküler koagülasyon, Lipopolisakkarit

EFFECTS OF ACTIVE PROTEIN-C IN EXPERIMENTAL DISSEMINATED INTRAVASCULAR COAGULATION MODEL ON RATS

ABSTRACT

This experimental study has been performed in Hakan Çetinsaya Experimental and Clinical Research Center (DEKAM) at Erciyes University Medical Faculty between January and February 2007

Aim: In this experimental study, activated protein C (APC) which has effects like anticoagulative, antithrombotic, profibrinolytic, antiinflammatory and antiapoptotic, have been used for prevention the coagulopathy in a disseminated intravascular coagulation (DIC) model, formed with lipopolysaccharide (LPS) infusion.

Material and Method: In this study, 25 male Wistar-Albino rats weighing 280–320 gram each were used. Rats were divided into three groups randomly as sham, control and study groups. In sham group (n=5), only normal saline were infused. In control (n=10) and study groups, 30mg/kg LPS infused for 4 hours from femoral vein. After four hours, 100µg/kg recombinant APC (Drotrecogin Alpha (activated), Xigris[®], Lilly, İstanbul, Turkey) was given during 4 hours in study group. Eight hours later blood samples were taken from abdominal aorta and the animals were sacrificed. Platelet count, PT, aPTT, fibrinogen, AT III, D-dimer, PAI-1, TNF-α, and IL-6 levels were studied.

Results: Platelet counts, fibrinogen and AT III levels were significantly lower in control and study groups than sham group (P<0.05). PT, aPTT, D-dimer PAI-1, IL-6, and TNF-α levels were significantly higher in control and study groups than sham group (P<0.05).

When compared, control and study group's platelet counts were not statistically different (P=0.36). However, the difference of the levels of fibrinogen and AT III were significant between these groups (P<0.05). The study group, showed more prolonged PT and aPTT when compared to control group (P<0.05). D-dimer levels were lower in study group than control (P=0.0001). Study group's PAI-1, TNF-α ve IL-6 levels were significantly lower than control group (P<0.05).

Conclusion: In this experimental DIC model which formed by LPS, have shown that APC prolonged blood clotting durations, readjusting hematologic parameters, also prevented coagulopathy by reducing proinflammatory cytokines. These results suggest that APC can take place in DIC treatment.

Key words: Activated protein C, Disseminated intravascular coagulation, Lipopolysaccharide

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaygın damariçi pıhtılaşması veya diğer adıyla dissemine intravasküler koagülasyon (DIC); sepsis, şok, şiddetli dehidratasyon gibi çeşitli olayların seyri sırasında koagülasyon mekanizmasının sistemik olarak aktive edilmesi sonucu damar içinde yaygın fibrin oluşumu ve birikimi, hemostatik elemanların parçalanması ve tüketimi ile karakterize bir sendromdur. Pıhtılaşma sisteminin aktive edilmesi sonucunda koagülasyon faktörleri ile trombositler tüketilir, proteaz inhibitörleri azalır, ve sonunda tromboz ile kanamanın birlikte görüldüğü klinik durum ortaya çıkar (1, 2, 3).

DIC tek başına bir hastalık olmayıp, daima, mevcut bir hastalığa ikincil olur. Özellikle sepsis, çeşitli enfeksiyonlar, malignensi, obstetrik ve vasküler hastalıklar, şiddetli travma, toksik ve immunolojik reaksiyonlardan sonra meydana gelebilir (4). Bu hastalıklara ikincil olarak gelişen DIC, monositlerden salgılanan doku faktörünün tetiklediği koagülasyon sistemi ve endotel hücrelerinde trombomodülin supresyonu ile yakın ilişkilidir (5, 6).

Özellikle bakteriyal toksinlerin, konakçı organizmanın hücrel savunma mekanizmalarını tetikleyerek tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi “erken yanıt sitokinleri” ile birlikte çok sayıda enflamatuvar mediatörü aktive ettikleri saptanmıştır. Bunlar arasında pek çok karmaşık ilişki ortaya çıkmakta, nötrofiller aşırı ve kontrolsüz biçimde aktifleşmekte, kompleman sistemi,

trombosit agregasyonu, araşidonik asit metabolizması uyarılmakta ve sonuç olarak hedef durumdaki mikrovasküler endotel hasarı meydana gelmektedir (7).

DIC'in en güçlü tetikleyicileri, gram negatif bakteri membramında bulunan endotoksinlerdir. Endotoksin, "Lipid A" diye bilinen bir lipid komponenti olan lipopolisakkarid (LPS) yapısındadır. LPS'nin başlattığı olaylar zincirinde makrofaj, monositler ve endotel hücrelerinden salınan mediatörler koagülasyon ve fibrinoliz sisteminin aşırı uyarılmasına sebep olur (8). Özellikle LPS ile oluşturulan DIC modeli, sepsisli hastalarda gelişen DIC modeliyle benzerdir (9).

Protein C, K vitaminine bağımlı zimojen olup trombin-trombomodülin kompleksi tarafından aktif formu olan aktive protein C (APC)'ye dönüştürülür. APC, faktör Va ve VIIIa'nın selektif yıkımı ile trombin oluşumunun düzenlenmesini sağlar, enflamatuvar cevabı sınırlandırır, sitokinlere bağılı endotel hücrelerindeki apoptotik cevabı azaltır. APC, koagülasyon ve inflamasyonu inhibe ederken, aynı zamanda plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1)'in inaktivasyonu ile fibrinolitik aktiviteyi artırır. Fibrinolitik aktivite dolaşımdaki mikrotrombüsleri temizleyerek organların kanlanmasını sağlar. Rekombinant human APC (drotrecogin alfa (aktive)), endojen APC'nin özelliklerine sahiptir, farmokinetik ve farmokodinamik özellikleri benzerdir. Drotrecogin alfa (aktive) çoklu organ yetmezliği olan yetişkin sepsisli hastaların tedavisinde kullanılmaktadır (10, 11).

DIC'te hiperkoagülasyona bağılı trombosit, pıhtılaşma faktörleri, fibrinojen tüketimi sonucunda pıhtılaşma bozukluğu oluşur. Bu hiperkoagülasyonu ve tüketim koagülopatisini durdurmak amacıyla değişik tedaviler uygulanmıştır. Bu çalışmada APC'nin antikoagulan, antitrombotik, profibrinolitik, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilerinden faydalanarak DIC'te ortaya çıkan hiperkoagülasyonun düzeltilmesi amaçlandı.

II. GENEL BİLGİLER

Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC), dolaşıma doğal antikoagülan mekanizmaların nötralize edemeyeceği miktarda prokoagülan maddelerin girmesiyle, yaygın damar içi pıhtılaşmanın geliştiği klinikopatolojik bir sendromdur. DIC'te intravasküler alanda yaygın fibrin birikimine bağlı doku iskemisi ve nekrozu gelişir. Pıhtılaşma faktörleri ve trombositlerin aşırı kullanımı ile sekonder fibrinolizis sonucu kanama görülür. Kanama, birçok organın kanlanmasını tehlikeye atarak, hemodinamik ve metabolik bozuklukla beraber çoklu organ yetmezliği gelişimine katkıda bulunur (12, 13).

DIC'te pıhtılaşma faktörleri ve trombositlerin tüketilmesi sonucu görülen kanama ilk semptom olmasına rağmen, mortalite ve morbiditenin asıl nedeni mikrovasküler trombozistir (14).

2.1. TARİHÇE

DIC çok eski zamanlardan beri biliniyordu. İlk bin yıllık dönemde dünyayı felakete sürükleyen veba, tromboz ve fibrinolizise bağlı kanama ve periferik gangren oluşması nedeniyle siyah ölüm olarak bildirilmiştir. Bu yüzyılda DIC ile ilgili bilgiler doğum sonrası kanamalarda bildirildi. 1834'de Blainville, hızlı beyin dokusu enjekte ettiği hayvanlarda ölümcül yaygın intravasküler trombozis oluşturmuştur. Kırk yıl sonra Nauyn deneysel çalışmasında, kan verdiği hayvanlarda benzer sonuçları gözlemişti. 1884'de Foa ve Pellacani, çeşitli organ ekstreleri infüze ettiklerinde hemoraji ve trombozis gördüler. 1957'de Krevans ve arkadaşları, insanlarda kan transfüzyonuna

bağlı hemolitik reaksiyonu ve fibrin yıkımını gösterdiler. Schneider, plesanta dokusu enjekte ettiği tavşanlarda kanama gördü ve bu durum doğumla ilgili DIC oluşum mekanizmasını aydınlattı. 1960'dan sonra Merskey, serum fibrin yıkım ürününü tanımlayan laboratuvar testleri geliştirdi. Sonraki çalışmalarda Marder grubu, fibrin yıkım ürünü oluşumu ile ilişkili fibrinojeni tanımladı. Corrigan ve arkadaşları, DIC ile ilişkili septisemi ve meningokoksemyi açıkladı. Mc Kay, 1965'de, DIC'i ayrı bir klinik antite olarak tarif etti. Colman, 1972'de, DIC ile ilgili bilgileri ve tecrübelerini toplayarak yayınladı. Merskey, DIC'in tanısal kriterlerine dikkat çekti. Bu kriterlerin altta yatan hastalığa ve laboratuvar bulgularına göre tanımlanması gerektiğini ifade etti (15).

İlk olarak 1979'da Japanese Ministry of Health and Welfare (JMHW) tarafından DIC için tanısal kriterler belirlendi. DIC'in tanısal kriterleri altta yatan hastalıklar, klinik ve laboratuvar bulguları temel alınarak belirlendi (16). 2001'de, International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH)/Scientific and Standardization Committee (SSC) tarafından DIC'in tanısal kriterleri yayımlandı. Bu kriterler doğrultusunda DIC, akut ve kronik olmak üzere iki grupta toplandı. Özellikle akut DIC için tanısal kriterler belirlendi (17).

2.2. HEMOSTAZ

Organlara besin, gaz, mineral, metabolik ürünler ve hormonların ulaştırılabilmesi için kan dolaşımının sağlıklı olması gerekir. Hemostaz, kanın dolaşımında sıvı halde kalmasını sağlayan fizyolojik mekanizmadır. Bu fizyolojik mekanizma, aynı zamanda herhangi bir hasar sonucu oluşan kanamayı durduran ve daha sonra kanayan damarın fonksiyonunu devam ettirmesi için oluşan pıhtıyı temizleyen, bir dizi iyi programlanmış işlemdir. Bu fonksiyonunu hemostaz–fibrinolitik aktiviteleri bir denge içinde çalıştırarak yerine getirir (18, 19).

Hemostatik sistem 3 bölümden oluşur:

- 1– Primer hemostazis
- 2– Sekonder hemostazis (Koagülasyon sistemi)
- 3– Fibrinolitik sistem

1–Primer hemostazis

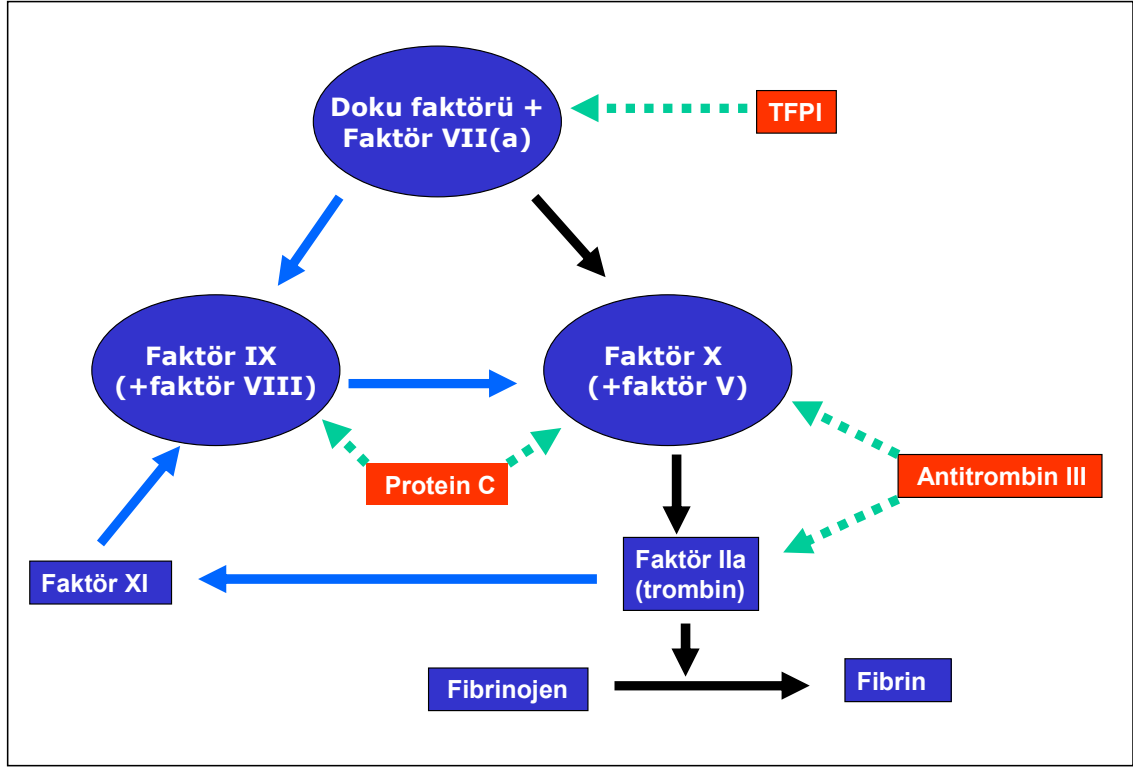
Trombosit, damar duvarı ve von Willebrand faktörün birlikte rol oynadığı bu süreçte primer trombosit tıkaçı oluşur. Damar yaralanmasına karşı ilk cevap

vazokonstrüksiyondur. Vazokonstrüksiyon ile kanama azaltılmaya çalışılırken, diğer taraftan bölgesel kan akımı yavaşlatılarak trombositlerin endotel yaralanma sonucu açığa çıkan kollajene yapışması kolaylaştırılır. Trombositin damar duvarına yapışabilmesi için, trombosit membran glikoprotein Ib reseptörü ve plazma proteini von Willebrand faktörü gerekir. Trombositler, damar duvarına yapıştığında yüzeyindeki kollojen reseptörleri (glikoprotein IIB/IIIa integren reseptörü) uyarılır ve yapısındaki çeşitli granüller ve tromboksan A₂, platelet aktive edici faktör (PAF) adı verilen vazokonstrüktif ve trombosit kümeleşmesini yapan maddelerin salınımı olur. Tromboksan A₂, PAF, ADP ve serotonin trombosit agonisti olarak trombositin aktive ederler ve daha fazla trombositin olay yerinde kümelenmesine neden olurlar. Trombosit kümelenmesi, özellikle trombosit yüzeyindeki glikoprotein IIB/IIIa'yı bağlayan fibrinojen aracılığıyla gerçekleşir. Bu kümelenme primer trombosit tıkaçı oluşturur ve primer hemostazı sağlar.

2– Sekonder hemostazis (koagülasyon sistemi)

Koagülasyon, dolaşımdaki proenzimlerin aktive proteazlara, enzimatik aktivasyon aşamalarının sonunda protrombinin, proteolitik bir enzim olan trombine dönüştüğü bir süreçtir. Geleneksel olarak pıhtılaşma sistemi, FX düzeyinde birleşen intrinsek ve ekstrinsek yollara ayrılır. Laboratuvar koşullarında intrinsek yol, Hageman faktör (FXII)'ün aktivasyonu ile başlar; ekstrinsek yol ise doku faktörü (Tissue Factor, TF) ile başlar. Bununla birlikte, bu ayırım, laboratuvar çalışmalarının yarattığı bir ayırımdır, gerçekte iki yol arasında bir çok bağlantı vardır. TF aynı zamanda intrinsek yolun aktivasyonunda da rol almaktadır (20).

TF (tromboplastin ve CD142 olarak bilinir) 47 kD ağırlığında bir transmembran hücre yüzey glikoproteinidir ve *in vivo* koagülasyon sisteminin temel başlatıcısıdır. TF'ün, kanda çok az bulunan FVII/FVIIa ile karşılaşması ile koagülasyon başlar. FVIIa–TF kompleksi, direkt etkiyle trombin ve fibrin oluşumunu sağlarken, alternatif yoldan da FIX üzerinden FX'nu aktive eder. FIXa ve FXa ise trombin üretimi ve fibrin oluşumuna yol açar (Şekil–1) (21, 22).



Şekil-1: Koagülasyon yolunun şematik gösterilmesi (22)

TFPI= Doku faktör yolu inhibitörü

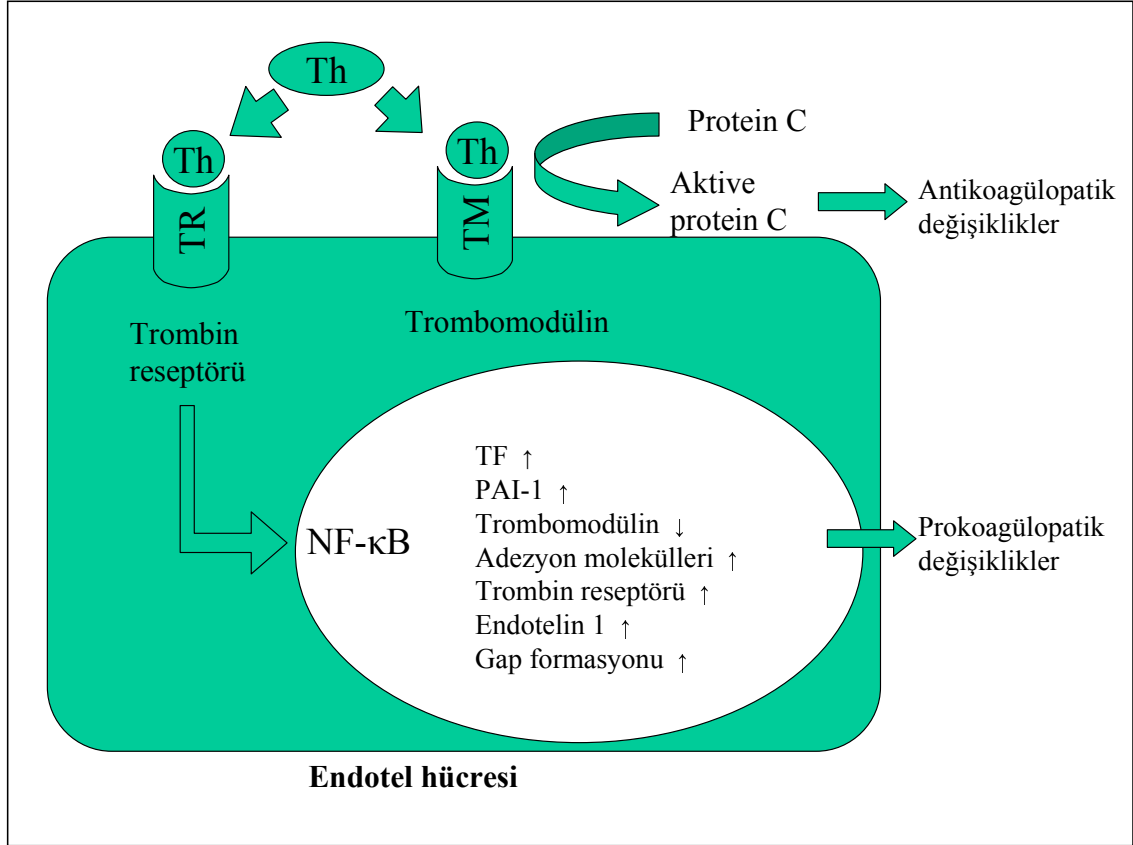
Düz siyah ok= Koagülasyonun primer yolu, Mavi ok= Koagülasyonun alternatif yolu,

Kesikli yeşil ok= Koagülasyonun baskılayıcı yollarını gösteriyor.

Trombin, koagülasyon sistemindeki son halkayı katalize etme dışında, koagülasyon sisteminin aktivasyonu ve denetiminde kilit rol oynayan bir faktördür. Trombin, protrombinin, faktör Xa/Va kompleksiyle iki parçaya bölünmesiyle ortaya çıkar. Trombin pek çok önemli biyolojik ürünün oluşmasına yardımcı olur. Fibrinojenden fibrin oluşumunu sağlaması yanında, pıhtılaşma faktörleri V, VIII, XI, XIII ve trombositleri aktive ederek pozitif geri dönüşümü artıran prokoagulan etki gösterir. Oluşan trombin düşük konsantrasyonda ise endotel hücresi tarafından inaktive edilir. Plazma konsantrasyonları daha da yükselirse, endotel hücre yüzeyi yetersiz kalır ve fibrinojen spontan olarak fibrin monomerlerine polimerize olur, FXIII bu monomerler ile çapraz birleşmeler yapar ve sonuçta sağlam bir ağ oluşur.

Trombinin prokoagulan etkisi yanında antikoagulan etkisi de vardır. Antikoagulan etkisini, endotel hücresindeki kofaktörü trombomodüline bağlanarak protein C aktivasyonu ile gösterir (18, 22). Trombinin büyüme faktörü ve sitokin benzeri etkileri de gösterilmiştir. Bu etki, transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör

kappa B (NF-κB) yoluyla. NF-κB sitokinleri, kemokinleri, büyüme faktörlerini, hücre adezyon moleküllerini ve birçok hastalıkta oluşan akut faz reaktanlarını kodlayan genlerin ekspresyonundan sorumludur (Şekil-2) (23).



Şekil-2: Trombinin koagulyasyona ve inflamasyona etkisi (23)

Th= Trombin, TR=Trombin reseptörü, TM= Trombomodülin, NF-κB= Nükleer faktör kappa B, TF= Doku faktörü, PAI-1= Plazminojen aktivatör inhibitörü-1

Koagülasyon sisteminin düzenlenmesi:

Koagülasyon sistemi aktive olduktan sonra, tüm damar sisteminde kanın pıhtılaşmasını önlemek için koagülasyonun sınırlanması gerekir. Bu sınırlama üç noktadan ayarlanır (Şekil-1).

Doku faktör yolu inhibitörü (Tissue Factor Pathway Inhibitor, TFPI):

Damar hasarı olduğunda TF'nin FVII/FVIIa kompleksine bağlanması ile tetiklenen koagülasyon sisteminin başlangıç evresindeki başlıca denetleyicidir. Endotel hasarı sırasında açığa çıkan TF ile aynı zamanda TFPI salınır. TFPI, FXa'yı direkt baskılar ve

TF–FVIIa katalitik kompleks oluşumunun feed–back inhibisyonunu düzenler. Böylece FXa–TFPI–FVIIa–TF kompleksi kontrolsüz tromboz oluşumunu engellemektedir. Normal şartlar altında TFPI'nın salınımı megakaryositler, endotel hücresi ve makrofajlarda olur (24).

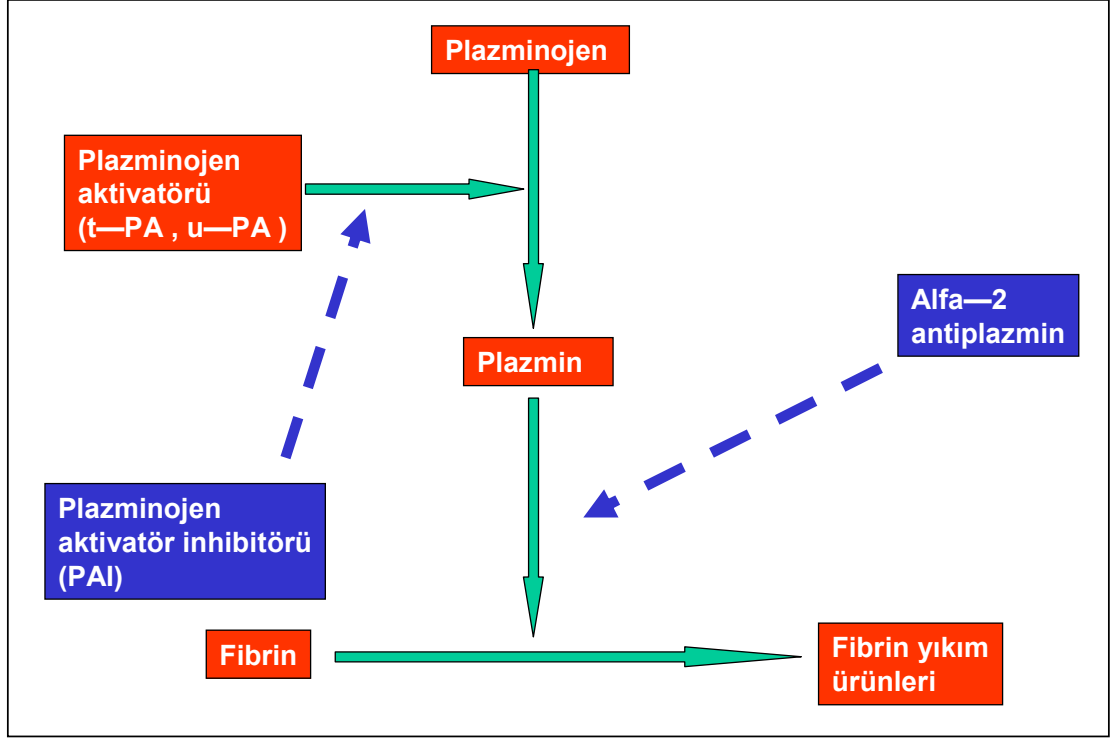
Antitrombin III (AT III): AT III alfa–2 globulin olup karaciğerde sentezlenir. Koagülasyon sisteminin enzimleri ya da faktörlerinin aktif serin bölgelerine bağlanarak, trombin ve FXa'yı inhibe eder. AT III'ün, heparin varlığında FXa ve trombin üzerine olan antikoagulan etkisi daha hızlı olur. Heparin–AT III kompleksinin bu etkisi heparinin etkin bir antikoagulan ilaç olarak kullanımının temelini oluşturur (22).

Heparin kofaktör II (HK–II): Spesifik bir trombin antagonisti olan plazma proteindir. Antitrombin gibi, aktivasyonu için heparine gereksinim vardır.

Protein C: Endotel hasarı sırasında ortaya çıkan trombomodülin, oluşan trombinle birleşerek antikoagulan mekanizmaların en etkili olan protein C–protein S sistemini başlatır. APC, faktör Va ve VIIa üzerine proteolitik etkiyle bu faktörleri baskılayarak ile koagülasyonu denetler. Ayrıca APC, faktör Va ve VIIa baskılaması ile kontrolsüz tromboz oluşumunu azaltır (22).

3–Fibrinolitik sistem:

Koagülasyonu sınırlandırıcı reaksiyonlar yanında, hemostaz sonrası damarların tıkanmamasını sağlayan fibrinolitik sistem vardır. Dolaşımda inaktif prekürsör enzim olarak bulunan plazminojen, plazminojen aktivatörleri ile plazmine dönüşür. Plazmin fibrini yıkar ve D–dimeri içeren fibrin yıkım ürünlerinin oluşmasına yol açar. Plazminojen aktivatörü olarak görev yapan iki molekül vardır. Bunlar doku plazminojen aktivatörü (tissue plasminogen activator (t–PA)) ve ürokinaz plazminojen aktivatörüdür (u–PA). Plazmin oluşumunu doku plazminojen aktivatörleri uyarırken, alfa–2 antiplazmin ve PAI–1 ile sınırlandırır (Şekil–3) (18, 22).



Şekil-3: Fibrinolitik sistemin şematik görünümü (22)

t-PA= Doku plazminojen aktivatörü, u-PA= Ürokinaz plazminojen aktivatörü

Düz yeşil oklar= Aktive edici sistemleri,

Kesik mavi oklar= Baskılayıcı sistemleri gösteriyor.

2.3. ETİYOLOJİ

Bir çok hastalıkta ve patolojik durumda DIC gelişebilir. DIC'in klinik yansıması sadece kanama şeklinde olabileceği gibi trombozla birlikte de olabilir. Kanamanın sebebi, koagülasyon sisteminin yaygın aktivasyonuna bağlı koagülasyon proteinleri ve trombositlerin tüketilmesidir (25).

Akut, subakut ya da kronik trombohemorajik hastalık olan DIC, çeşitli hastalıklara sekonder bir komplikasyon olarak meydana gelir (Tablo-1) (26).

Tablo-1: DIC ile ilişkili hastalıklar (26)

DIC ile ilişkili klinik durumlar	
Enfeksiyonlar <ol style="list-style-type: none">1. Bakteriler: Gram (-) bakteriler Gram (+) bakteriler2. Riketsiyea: Kayalık dağlar benekli humması3. Virüsler: Herpes4. Mantar: Akut histoplazmozis5. Parazitler: Malaria	Hemolitik süreçler <ol style="list-style-type: none">1. Masif kan transfüzyonu2. Hemolitik transfüzyon reaksiyonları3. Enfeksiyone sekonder akut hemoliz4. İmmun mekanizmalar
Malign Neoplazmalar <ol style="list-style-type: none">1. Solid tümörler (akciğer, prostat, over, pankreas, mide, meme)2. Lösemi ve lenfomalar (özellikle akut promyelositik lösemi)	Vasküler hastalıkları <ol style="list-style-type: none">1. Aortik anevrizma2. Dev hemanjiom (Kasabach-Merritt sendrom)3. Malign hipertansiyon4. Mikroanjiopatik bozukluklar
Travma ve Doku injurisi <ol style="list-style-type: none">1. Majör cerrahi (akciğer, prostat, açık kalp cerrahisi gibi)2. Majör travma3. Yanık4. Hipotermi5. Hipotermi6. Kafaya travması (beyin dokusu destrüksiyonu)	Karaciğer hastalıkları <ol style="list-style-type: none">1. Siroz2. Fulminan hepatik yetmezlik3. Gebelik akut yağlı karaciğeri4. LeVeen şanti5. Reye sendromu
Obstetrik Komplikasyonlar: <ol style="list-style-type: none">1. Abruptio Plesanta2. Plesanta Previa3. Plesanta Accreata4. Amnion sıvı embolisi5. İntrauterin ölü fetus6. Eklemsi7. Abortus (Hipertonik salin solusyonuyla)8. Hidatik Mol9. Ekstra uterin gebelik10. Septik abortus	Zehirlenmeler (Engerek ve diğer yılan zehirleri) Respiratuar distress sendromu Şok İlaç/terapotik ajanlar <ol style="list-style-type: none">1. Pıhtılaşma faktörü konsantreleri2. OKT3 monoklonal antikorları3. IL-2
	Diğerleri <ol style="list-style-type: none">1. Amiloidozis2. Otoimmün hastalıklar3. Renal vasküler bozukluklar4. Anafilaksi5. Akut Pankreatit6. Kawasaki hastalığı7. Ülseratif Kolit

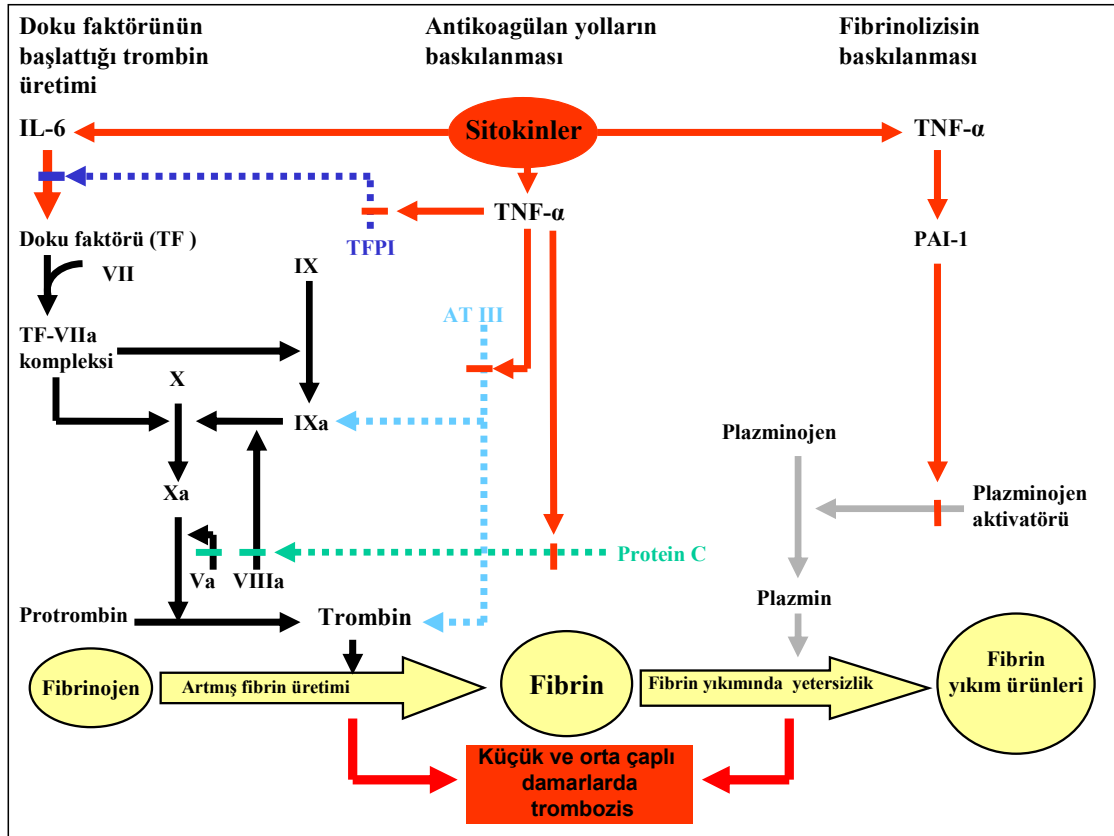
Bunlar arasında DIC'in en sık gözlemlendiği durumlar sepsis (vakaların 2/3'den sorumludur), obstetrik hastalıklar, kanser ve ağır travmalardır. Bu durumlarda DIC'i başlatan faktörler çoğunlukla birden fazladır ve bunlar birbirleriyle ilişkilidir (27).

2.4. PATOGENEZ:

DIC'in patogenezi son yıllarda yapılan çalışmalarla açıklık kazandı ve patogenezin aydınlanmasına bağlı olarak yeni tedavi stratejileri geliştirildi. DIC'in patogenezinde, TF aracılığıyla trombin oluşumu ve sistemik fibrin birikimi, aynı anda

fizyolojik antikoagülanların baskılanması ve PAI-1 yoluyla da fibrinolizisin bozulması yer alır (Şekil-4) (14).

Birkaç proinflatuar sitokin (IL-6, IL-1 ve TNF- α) DIC'te koagülasyon ve fibrinolizisin bozulmasına yol açar. IL-6 koagülasyon aktivasyonundaki temel sitokindir; TNF- α çoğunlukla fizyolojik antikoagülan yolları ve fibrinolizisi baskılar (14, 28, 29).



Şekil-4: DIC'in patogenezi (14)

IL= interlekin, TNF= Tümör nekrotizan faktör, AT III= Antitrombin III, PAI-1= Plasminojen aktivatörü inhibitörü -1, TFPI= Doku faktör yolu inhibitörü

Kesikli oklar= Antikoagülanları ve etkiledikleri yolları, —= Baskılanan yolları gösteriyor.

DIC'i tetikleyen faktörlerden bağımsız olarak fazla trombin ve plazmin oluşumu vardır. Bu nedenle etyolojiden bağımsız olarak DIC'de fibrin ve fibrin yıkım ürünlerinin (FYÜ) artması söz konusudur (30).

Trombin üretimi:

DIC'te trombinin sistemik üretiminden TF–FVIIa'nın aracılık ettiği ekstrinsik koagülasyon yolu sorumludur. Hayvan modellerinde TF ve FVIIa'nın inhibisyonu ile trombin üretimi tamamen baskılanmıştır. İntrinsik yolaktaki faktörler endotoksin uyarısının erken döneminde aktive olmazlar fakat ekstrinsik yolda aktivasyon görülmektedir (31). TF, vasküler endotel hücrelerinden ve proinflamatuvar sitokinlere yanıt olarak mononükleer hücrelerden ortaya çıkar (32). FVIIa, TF bağlanır ve protrombini trombine dönüştüren FXa'nın oluşumu için bir birleşik aktivasyon kompleksi oluşturur (3). İnsan ve hayvan deneylerinde TNF- α veya endotoksin verilmesiyle intrinsik yol aktivasyonu olmadan, FXa ile trombin oluştuğu gösterilmiştir. TF ve FVIIa'ya karşı antikorlar verilerek ekstrinsik yolağın engellenmesi, Baboon ve Şempazelerde endotoksin ve bakteri uyarısına bağlı trombin ve fibrin oluşumunu engellemiştir (33).

Koagülasyon inhibitörlerindeki defektler:

DIC'te en önemli fizyolojik üç antikoagülandan (Protein C, AT III ve TFPI) hiçbirinin fonksiyonu tam değildir.

Protein C sistemindeki zayıflama koagülasyon sistemiyle ilişkilidir. Protein C aktivasyonundaki azalma, proinflamatuvar sitokinler ile endotel hücrelerde trombomodülün oluşumunun baskılanması ve protein S (Protein C kofaktörüdür) serbest fraksiyonunda azalma sonucudur (14, 34). Protein C, Protein S ve AT III fibrinolizisi tetikleyerek prokoagülan durumun etkilerini sınırlar veya ortadan kaldırır. Trombin endotel yüzey reseptörü trombomodüline bağlanarak trombin–trombomodülün kompleksini oluşturur. Trombin–trombomodülün kompleksi, plazma serin proteazlarından protein C'yi aktive eder (35). Protein C, FXa ve FIXa'nın kofaktörü olan FVa ve FVIIIa'yı inaktive eder. Antikoagülan olan protein C, mikrovasküler trombüsü önleyen önemli bir moleküldür. Sepsisli hastalarda protein C miktarının azalması, mikrovasküler alanda trombin oluşumu ve inflamasyonu artırır. Gelişen bu olaylar endotel hücresinde fonksiyon kaybına sebep olur (36). Protein C aktivasyonunda görev alan protein S, üzerinde trombine duyarlı bir alan bulunan tek zincirli bir glikoproteindir. Protein C, FVIIIa'yı yıkarken, bu olayda protein S ve FV birlikte fosfolipite bağlı kofaktörler olarak görev alırlar (37). İnvitro çalışmalarda TNF- α 'ya

maruz kalan endotel hücrelerinde trombomodülin sentezinin azaldığı, prokoagülan durumun korunduğu gösterilmiştir (38).

AT III'ün plazma düzeyi, trombinin en önemli inhibitörüdür. AT III trombin, FVIIa, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa, kallikrein ve plasmin üzerine etkili bir plazma serin proteaz inhibitörüdür. Etkili olduğu faktöre birebir bağlanır ve enzim fonksiyonunu engeller (14). DIC gelişen hastalarda antitrombin plazma düzeyi düşük görülür (39). Antitrombin aktivasyonunun %90'nın altına düşmesi mortalite artışıyla birlikte (40). Trombin-antitrombin kompleksi (TAT) düzeyi DIC ve sepsis hastalarında artmıştır. Artmış trombin oluşumu TAT kompleksini artırırken, antitrombin miktarını azaltır. DIC seyirinde gelişen karaciğer fonksiyon kaybı plazma AT III miktarını düşürecektir. Bu mekanizmalar yanında, aktive granüositler tarafından salgılanan elastaz, dolaşımdaki AT III'ü parçalayarak miktarını daha da düşürecektir. AT III miktarı bu şekilde düşerken, serbest trombin miktarı artacak ve DIC gelişmesini hızlandıracaktır (14, 41, 42).

TF, DIC'te koagülasyonun tetikleyicisi olup, oluşan TF-FVII kompleksi TFPI ile inhibe edilir. TFPI, koagülasyon sisteminin hızlı fizyolojik baskılanması için gereklidir. Bununla birlikte DIC'li hastalarda TFPI'nin fonksiyonel defekti veya yetersizliği saptanmamıştır. TFPI, TNF- α yanıtının azaltılmasında etkisiz kalırken, IL-6 seviyesini düşürmektedir (43).

Fibrinolitik defekt:

Fibrinolitik aktivite, temel inhibitörü olan PAI-1 ile düzenlenmektedir. Fibrinolitik sistem veya plazminojen sistemi DIC'te koagülasyonun maksimum olduğu zaman baskılanmıştır. Bunun sebebi PAI-1 seviyesinin yüksek olmasıdır. (13, 44). Klinik çalışmalar, PAI-1 aracılığıyla fibrinolizisin suprese olduğunu ancak fibrin birikimine yanıt olarak bir miktar lokal fibrinolitik aktivite geliştiğini göstermektedir. Bu yeterli olmayıp sonuçta mikrosirkülasyonda fibrin artar (14, 25, 45). Fibrin artışına cevap olarak, t-PA, komşu endotel hücrelerden plazmini oluşturmak için salınmakta ve oluşan plazmin fibrini parçalamaktadır. Plazmin, fibrinolizin esas enzimidir. Doku ve ürokinaz tipi plazminojen aktivatörleri (t-PA ve u-PA) bir prokürsör olan plazminojenden oluşur ve α 2-antiplazmine bağlanarak plasmin- α 2-antiplazmin (PAP) kompleksini oluşturur. PAI-1 aktive olan plasminojenin önemli inhibitörüdür ve DIC

oluşumunda önemli bir yeri olduğu görülmektedir (46). Endotoksinde sonra t-PA, u-PA aktivitesi TNF- α düzeyine paralel olarak artar (45). Bunu takiben plazmin ve antiplasmin düzeyinde bir artış olur. PAI-1 artışıyla birlikte fibrinolitik aktivitede bir azalma ortaya çıkar (46). TNF- α 'nın, fibrinolitik sistemin indüksiyonundan sorumlu olduğu görülmektedir ancak bu fonksiyon koagülasyonu aktive etmesinden bağımsızdır. Deneysel endotoksemide fibrinolitik sistemin aktivasyonu TNF- α salınımını engeller (31).

2.5. KLİNİK BULGULAR

Klinik semptom ve bulgular genellikle altta yatan hastalıkla iç içe girmiştir. Klinik tabloda birbirine ters olaylar görülür, bir tarafta kanamaya eğilim varken, diğer tarafta yaygın koagülasyon belirtileri mevcuttur (12).

Genel olarak DIC iki tipe ayrılır.

1. Akut veya dekompanse DIC
2. Kronik veya kompanse DIC

Akut DIC gelişen hastalarda daha çok kanama eğilimi ön plandadır. Deride peteşiler, ekimozlar, damara giriş ve kateter yerlerinde sızıntı şeklinde kanamalar ile gastrointestinal, mukozal, akciğer ve beyin içi kanamalar görülebilir.

Kronik DIC bulunan hastalarda ise kompanzasyon olduğu için, daha çok trombotik komplikasyonlar görülür. Kanamalar minör deri ve mukoza kanamaları şeklinde olabilir (27, 30).

DIC seyrinde beklenen semptomlar:

Akciğerlerde: İlk semptom genellikle dispnedir. DIC'de birkaç gün içinde pulmoner mikroemboli sendromu gelişir. Bu sendrom pulmoner dolaşımda mikrotrombüs oluşumu ve alveollerde proteinden zengin ödem ile karakterizedir. Pulmoner dolaşımdaki yetersiz fibrinolitik aktivite önemli patojen faktör olarak görülmektedir. Bu mikrotrombüsler inflamasyon mediatörlerinin salınımına sebep olur. Hücre bütünlüğünün kaybı, alveol ve kapiller arasına proteinden zengin sıvının sızmasına ve fibrin oluşumuna sebep olur. Lökosit ürünleri, alveolekapiller membranın daha da hasarlanmasına ve pulmoner yetersizliğin gelişmesine neden olur. Mikroemboli sendromu ARDS gelişiminden sorumludur. Akciğerlerin kompliyansı ve fonksiyonel

rezidüel kapasiteleri azalmıştır. Alveolekapiller membranda kaçak olduğundan oluşan pulmoner ödeme diüretikler etkisiz kalır.

Böbreklerde: Böbrek glomerül kapillerlerinde fibrin birikimi idrar üretiminde azalmaya sebep olur. Oligürinin öncesinde bazen poliürik bir dönem olabilir. Tipik olarak, yaygın, bilateral kortikal nekroz gelişir. Bu nekroza mikroskopik ve makroskopik hematüri, oligüri ve artmış serum üre nitrojen ve kreatinini eşlik eder. DIC'e bağlı akut böbrek yetersizliğinde idrar osmolaritesi normaldir.

Beyinde: Serebral mikrovasküler trombozun en sık semptomu konfüzyon ve bilinç bulanıklığıdır. Fulminant DIC olgularında meninks kaynaklı kanamalar meningizm oluşturabilir. Koma, deliryum ve fokal nörolojik semptomlar, intrakranial veya intraspinal hematomu düşündürmelidir.

Deride: Venöz ve arteriyel mikrovasküler trombüsler nedeniyle hemorajik büller, parmak ucu nekrozu ve gangrenler gelişebilir. Trombosit sayısı çok düştüğünde, peteşi ve ekimozlar görülebilir.

Karaciğer: DIC gelişen hastaların %22–57'sinde karaciğer fonksiyon testleri bozulur ve sarılık gelişir. Enfeksiyon hastalıkları ve uzamış hipotansiyon hepatik yetmezliğe katkıda bulunur (12).

2.6. TANI

DIC tanısı koydurabilecek laboratuvar testi yoktur. DIC'in teşhisi altta yatan hastalık göz önünde bulundurularak ve laboratuvar bulguları değerlendirilerek yapılır (12, 28, 47). Laboratuvar testleri, DIC'in şiddeti veya mortalite ve morbidite açısından bir gösterge olabilir. DIC ile ilişkili hastalıkların bilinmesi, trombosit sayısında hızlı azalma, PT ve aPTT gibi pıhtılaşma testlerinde uzama, fibrinojende azalma, plazma fibrin yıkım ürünlerinde (D–dimer ve diğerleri) artma, AT III ve protein C gibi plazma koagülasyon inhibitörlerinde azalma görülür (14).

Laboratuvar tanısı

Yaygın damar içi pıhtılaşması testleri aşağıda sınıflandırılmıştır (Tablo 2) (29):

1. Trombosit sayısı
2. Koagülasyon faktörleri ve inhibitörleri

3. Damar içi fibrin oluşumu testleri ve fibrin yıkım ürünleri
4. Trombin oluşum belirteçleri
5. Fibrinolitik göstergeler

Tablo–2: DIC’in tanısal laboratuvar testleri (29)

Pro–koagülan aktivasyon testleri	Fibrinolitik aktivasyon testleri	İnhibitör tüketim testleri	Son organ hasarı veya yetmezliği testleri
Protrombin parçaları 1+2 ↑	D–dimer ↑	Antitrombin III ↓	LDH ↓
Fibrinopeptit A–B ↑	FYÜ ↑	α2–antiplazmin ↓	Kreatin ↓
TAT kompleksi ↑	Plazmin ↑	Protein C ve S ↓	Ph ↓
D–dimer ↑	PAP kompleksi ↑	TAT kompleksi ↓	PaO ₂ ↓
		PAP kompleksi ↓	

TAT=Trombin–Antitrombin, FYÜ=Fibrin yıkım ürünü, PAP=Plazmin– α2 antiplazmin, LDH= Laktik dehidrogenaz

1–Trombosit sayısı:

DIC teşhisinde oldukça duyarlı testtir, özgün değildir. DIC’te devamlı trombin oluşumu trombosit sayısı ile ilişkilidir. Trombinin tetiklediği trombosit kümelenmesi ile trombosit miktarı azalır (14).

2–Koagülasyon faktörleri ve inhibitörleri:

PT ve aPTT: Koagülasyon faktörlerinin eksikliğini göstermede önemli testlerdir. aPTT’nin normal değer aralığı geniş olduğu için sınırlı bir yararlılığı vardır (13). DIC’te koagülasyon faktörlerinin tüketimi, bunların plazma düzeylerinin düşük olmasının başlıca sebebidir. Bunun yanında, karaciğer fonksiyonlarının kaybı, vitamin K eksikliğine bağlı sentezlerinin azalması ve masif kanama nedeniyle kayıplar koagülasyon faktörlerinin plazma düzeyini düşüren diğer nedenlerdir (48). Koagülasyon faktörlerinin düşmesi, PT ve aPTT’nin uzamasına yol açar.

Fibrinojen DIC’in tanısında çok yararlı değildir, çünkü fibrinojen ayrıca bir akut faz reaktanı olduğu için, tüketime rağmen DIC seyrinin sonuna kadar normal kalabilir (47).

AT III ve protein C gibi koagülasyonun fizyolojik inhibitörlerinin azalmış plazma düzeyleri koagülasyon aktivasyonunun devam ettiğini gösterir. Şiddetli DIC'li hastalarda düşük plazma protein C konsantrasyonu kötü klinik sonuçlarla ilişkilidir (29).

3–Damar içi fibrin oluşumu ve fibrin yıkım ürünlerinin testleri:

Plazmada fibrin bulunması DIC teşhisi için mutlak gereklidir. Fibrin monomerleri bakılabilir ve damar içi fibrin oluşumunu doğrulayabilir. Fibrin yıkım ürünlerinin (FYÜ) ölçümü fibrinolitik sistemin aktivasyonunu gösteren önemli bir testir, ancak özgünlüğü sınırlıdır. FYÜ karaciğerde metabolize olup böbreklerden atıldığı için FYÜ düzeyi karaciğer ve böbrek fonksiyonlarına da bağlıdır. Serumda FYÜ'nin düzeyleri DIC'li hastaların %80–100'ünde yükselir. Bununla birlikte hızla dolaşımdan temizlendiği için FYÜ yokluğu DIC'i ekarte ettirmez (30, 49).

DIC için özgün olmayan bir diğer test de D–dimer'dir. D–dimer, trombin ve plazmin aktivitesini ölçmede önemlidir. D–dimer ölçümü, koagülasyon ve fibrinolizis aktivasyonunu doğrulamak için, FYÜ'nün ölçümünden daha duyarlıdır (29, 50).

4–Trombin oluşumu ve koagülasyon aktivasyonu ile ilgili belirleyiciler:

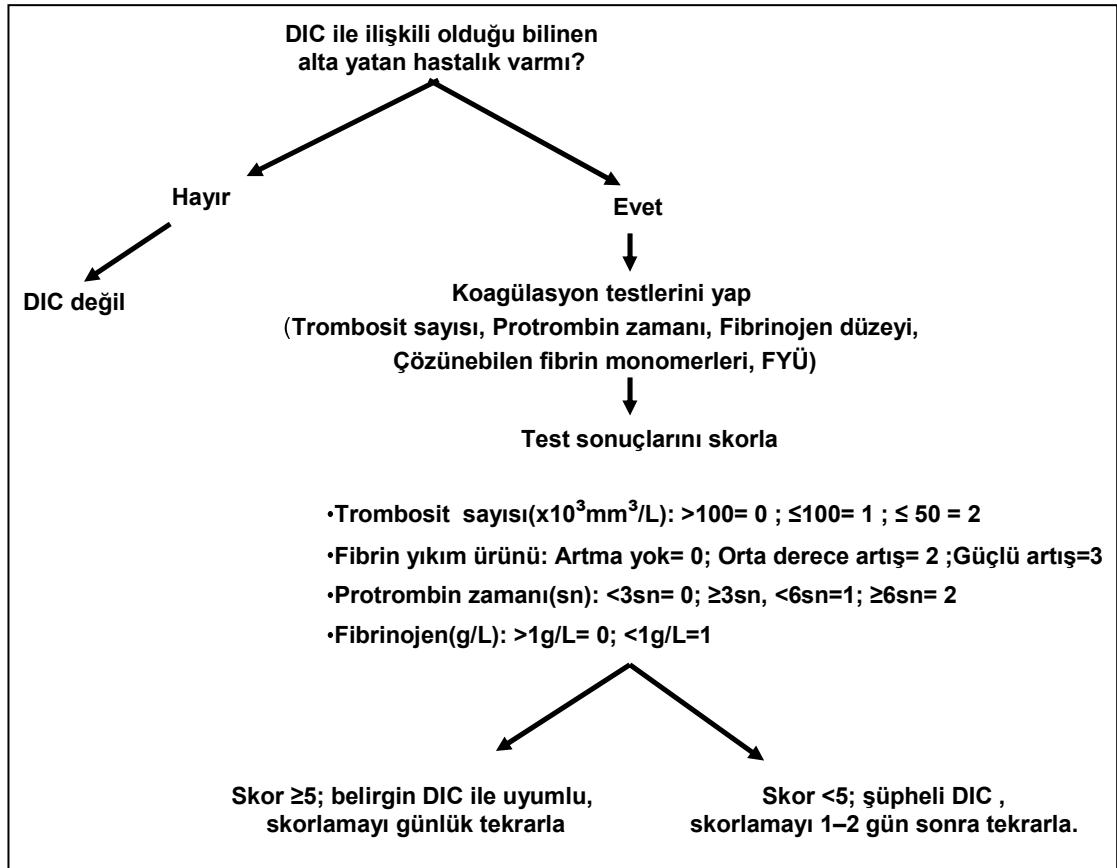
Bu belirleyiciler protrombin aktivasyon parçaları (FI+II), FIX ve FX'dur (51). Bunların dışında TAT kompleksi, fibrinopeptit–A, B ölçümleri bu gruba konulabilir (52).

5–Fibrinolitik göstergeler:

Artmış fibrinolitik aktivite değişik testlerle gösterilebilir. Bununla birlikte, artmış fibrinolitik aktivite, artmış koagülasyon aktivitesi için yetersiz kalır. FYÜ teorik olarak fibrinolitik aktivite için bir indikatör gibi görülmeye, oluşan fibrin miktarı ile oldukça ilişkilidir. DIC'li hastalarda plazminojenin plazmine dönüşmesi ve α_2 –antiplazminin de hızla PAP kompleksini oluşturması sonucu, her ikisinin de düzeyleri düşer (49). Fakat α_2 –antiplazmin konsantrasyonunun az oluşu ve hızlı yıkımı, fibrinolitik aktivitenin tam olarak gösterilmesini engelleyen bir faktördür. DIC olan hastalarda yetersiz fibrinolitik aktivitenin göstergesi yüksek miktardaki PAI–1'dir. PAI–1'in yüksek bulunması DIC için kötü prognostik bir göstergedir (53).

Pratikte DIC teşhisi:

Yukarıdaki testlerin bir çoğu klinik araştırma ve çalışmalarda kullanılmaktadır. DIC'in tanısı trombosit sayısı, pıhtılaşma zamanlarının (PT, aPTT) ölçümü, antitrombin düzeyi ve/veya pıhtılaşma faktörleri, D-dimer ve FYÜ düzeyleri ile değerlendirilerek konulur. Tekrarlayan sürekli ölçümler, tek bir ölçümden daha değerlidir. Trombosit sayısının düşmesi ve tekrarlayan ölçümlerde daha da azalması DIC için özgün olmayan fakat duyarlı bir bulgudur. Pıhtılaşma zamanlarının uzaması koagülasyon faktörlerinin tüketimini gösterir. Antitrombin ve protein C ölçümleri (bunlar koagülasyon sisteminin en önemli inhibitörleridir) DIC'in seyrinin belirlenmesinde yardımcıdır. Bu testlerin ve kliniğin bir arada değerlendirilmesi bir çok olguda DIC tanısını kesinleştirmez. DIC tanısı için laboratuvar testleri ve klinik bulgulara göre Uluslararası Tromboz ve Hemostaz Birliği alt komitesi (ISTH/SSC) 2001 yılında tanısal algoritma geliştirdi (Şekil-5) (3, 17, 12).



Şekil-5: The International Society of Thrombosis and Hemostasis komitesinin DIC için oluşturduğu tanısal algoritma (17)

DIC=Yaygın damar içi pıhtılaşma, FYÜ=Fibrin yıkım ürünü

2.7. TEDAVİ

DIC'in heterojen özelliği, kontrollü çalışmalarda tek başına bir yöntemle tedavisini zorlaştırmaktadır. DIC'in bulguları temelde tetikleyici hastalığa bağlıdır ve bu durum tedavisini daha da zorlaştırmaktadır. DIC'in patofizyolojisi göz önüne alındığında tedavi prensipleri formüle edilebilir. Bunlardan ilki ve en önemlisi, tetikleyici faktörü göz önüne almaktır. Diğeri, artmış trombin üretiminin mikrovasküler tromboza neden olduğu ve bunun da mortalite ve morbidite ile ilişkisi öğrenilmesinden sonra, bu sürecin antikoagülan kullanılarak durdurulmasıdır (30).

Altta yatan hastalığın tedavisi

DIC tedavisinde temel prensip altta yatan primer hastalığın kontrol altına alınmasıdır. Sepsiste enfeksiyon tedavisi, travma hastasında iyi bir doku debritleme veya ölü fetusun boşaltılması, şok varsa düzeltilmesi gibi. Hastanın kardiyak, solunum, böbrek fonksiyonlarının optimize edilmesi yanında sıvı elektrolit dengesinin sağlanması çok önemlidir. Oksijenizasyon ve şok durumunun düzeltilmesi öncelik taşır. Tetikleyici mekanizma ortadan kaldırıldıktan sonra mevcut olan kanama sonlandırılabilir.

DIC'te bir yandan primer hastalık kontrol altına alınmaya çalışılırken diğer yandan trombosit konsantreleri (trombositopenide), taze donmuş plazma (TDP) ve kriyopresipitat (hipofibrinojenemide) transfüzyonu ile dolaşımda düzeyleri azalmış faktörler ve trombositler normal değerlere getirilmeye çalışılır (47).

Trombosit ve plazma yerine koyma tedavisi

Trombositopeni ve koagülasyon faktörlerinin düşük düzeyleri DIC'li hastalarda kanama riskini artırır. Trombosit ve plazma tedavisi aktif kanaması olan, invaziv uygulamaya veya cerrahi müdahaleye gereksinim gösteren hastalarda endikedir. Yerine koyma tedavisi TDP, kriyopresipitat, faktör konsantreleri, trombosit konsantreleri ve kan değişimini kapsar (29).

TDP, koagülasyon proteinleri ve inhibitörlerinin (protein C, protein S ve AT III) bir kaynağıdır. Koagülasyon faktörleri aşırı azalmış olan hastalarda eksikliği düzeltmek için TDP (10–20ml/kg) gerekebilir. Oysa, kriyopresipitat verilmesi, DIC'te azalmış üç koagülasyon proteini olan fibrinojen, faktör VIII ve von Willebrand faktörün konsantrasyonlarının artmasını sağlar. Kriyopresipitat desteği fibrinojeni 100mg/dL'nin

üstünde tutacak şekilde ayarlanmalıdır (29). Kemik iliği yetmezliği olan vakalardan farklı olarak, $20.000/\text{mm}^3$ 'e yakın trombosit değerleri DIC'li hastalarda kabul edilebilir değerlerdir. Ancak kanama ve $50.000/\text{mm}^3$ 'ün altında trombosit sayısında trombosit replasmanı yapılmalıdır (54)

Endotel hücre koruyucu tedavi

Endotel hücresi, sepsis ve DIC hastalarında, mikrovasküler tromboz ve inflamasyon oluşumunda büyük rol oynar. Normal endotelin antikoagulan, antiadhezif ve vazodilatör görevleri vardır. Sepsiste ve DIC oluşturan diğer durumlarda endotel bütünlüğü bozulduğu için endotel aktif hale geçer ve prokoagulan ve proadezif özellikler gösterir (55).

Endotel fonksiyon bozukluğunun DIC gelişiminde en etkin patojen olması, DIC'in karakteristiği olan mikrovasküler trombozu açıklar. Mikrovasküler dolaşımda birim kan volümüne düşen endotel hücre yüzeyi, büyük damarlarla karşılaştırıldığında yüzlerce kat fazladır. Endotel, TNF- α , IL-6 ve IL-1 tarafından aktive edilmektedir. Güncel yaklaşım, endotel hücresini aktive eden majör yolları baskılayarak, mikrovasküler trombozu engellemek yönündedir (47).

Antikoagulan tedavi

Fizyolojik antikoagulan mekanizmaları artırmak DIC tedavisinde tercih edilmesine karşın heparinin yararları tartışmalıdır. Deneysel çalışmalar ve kontrolsüz vaka serilerinde heparinin DIC'te koagülasyonu inhibe ettiğinin gösterilmesine karşılık, kontrollü klinik çalışmalarda heparinin klinik olarak anlamlı herhangi bir yararlı etkisi gösterilememiştir (12, 29, 54). İlk görüşler heparinin koagülasyon faktörlerinin seviyelerini iyileştirdiği yönündeydi, ancak karşıt görüşler şiddetli kanamayı artırdığı ve hastalarda hepatik ve renal yetmezliğe neden olduğunu savundular (12).

Heparin, antitrombine bağlanarak aktive olur. Antitrombin ise trombin ve FXa'yı baskılayan etkin bir fizyolojik antikoagülandır. DIC'te antitrombin düzeyi düşük olduğu için heparinle yapılan tedaviye yanıt etkin olmayabilir. Heparin tedavisi için endikasyon ve değişik dozlarının etkisini karşılaştıran kontrollü çalışmalar mevcut olmayıp, kullanılması zorunlu ise $15\text{Ü}/\text{kg}/\text{saat}$ dozunda devamlı infüzyonla uygulanması önerilmektedir (30, 56). Bazı yazarlar, 4-6 saatte, $80-100\text{Ü}/\text{kg}$ dozunda

ciltaltı uygulamayı önerirler (30, 57). Trombotik belirtiler (organ yetmezliği, parmak ucu nekrozu ve purpura fulminans) olan DIC'te heparin kullanımı mantıklıdır. Heparin, ağır kafa travması, masif karaciğer yetmezliği, uygunsuz kan transfüzyonu ve obstetrik kazalarda endike değildir. Kanıta dayalı tıp ölçütlerinde, sepsise bağlı DIC'te heparin kullanımı ile ilgili evre I çalışma yoktur (30).

Tedavi veya profilakside düşük molekül ağırlıklı heparinlerin (DMAH) kullanımının en az heparin kadar etkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (58). DMAH'nın subkutan uygulanması, monitarizasyona gereksinim olmaması ve daha az kanama riski nedeniyle fraksiyone heparine tercih edilmektedir, ancak etkinliğini değerlendirmek için anti faktör Xa düzeyinin ölçülmesi gerekir. Bu test her merkezde yapılmadığı için, etkinlik, klinik olarak değerlendirilmektedir. DIC'te DMAH etkinliği, yaşa bağlı farmokokinetiği ile ilişkili geniş çalışmaların henüz tamamlanmamış olması nedeniyle belirlenememiştir (59).

Koagülasyon inhibitörleri

1-Protein C konsantreleri

Protein C, vitamin K'ya bağımlı 62kD molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Karaciğerde sentezlenir, yarı ömrü 6–8 saattir. Endotel hasarında ortaya çıkan trombomodülin ve oluşan trombinle birleşerek protein C antikoagülan sistemini aktive eder. Aktive olan protein C, kofaktörü olan 69kD moleküler ağırlıklı protein S ile birleştikten sonra, faktör FVa ve VIIIa'yı inaktive eder. Bu şekilde trombin oluşumunu önler, kontrolsüz tromboz oluşumunu azaltır (60, 61, 62). APC antikoagülan ve antitrombotik etkisi yanında, profibrinolitik etkisini PAI-1 üzerinden gösterir (70). Antienflamatuar etkisini, endoteldeki protein C reseptörüne bağlandığında proinflammatuar sitokinlerin sentezinde azalmaya neden olan NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu azaltarak yapar. Aktif protein C, adezyon moleküllerinin ve sitokinlerin üretiminde azalma yaparak antienflamatuar etki gösterirken, apoptozu önleyen moleküllerin üretimini de artırır (59, 63, 64). Sonuçta sitokin üretimini, nötrofil aktivasyonunu, lökosit adezyon ve yuvarlanmasını engelleyerek inflamasyonu düzenler (59, 60).

Rekombinant APC, şiddetli sepsisli hastalarda mortaliteyi azalttığı gösterilen ilk biyolojik ajandır. Rekombinant APC ile yapılan çalışmalarda, purpura fulminanslı erişkin ve çocuk hastalarda APC'nin süreci geri döndürücü ve iyileştirici etkileri olduğu

belirlenmiştir (65). Food and Drug Administration (FDA) rekombinant APC'yi şiddetli sepsis ve yüksek ölüm riski taşıyan hastalar için onaylamış, ancak ölüm riski düşük, şiddetli sepsisli, tek organ yetmezliği olan veya APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) skoru 25'in altında olan hastalarda önermemiştir. APC için majör komplikasyon kanama riskidir (66).

2-AT III konsantreleri

AT III, pıhtılaşma sırasında oluşan trombinin inaktivasyonunda görevli güçlü bir serin proteaz inhibitörüdür. Ayrıca FIXa, FXa, FXIa, FXIIa, kallikrein ve FVIIa-TF kompleksinin inaktivasyonunda görev alır (34).

Hem dışardan verilen heparin, hem de endotel hücresi üzerinde bulunan heparan sülfat gibi glikozaminoglikanlar AT III'ü aktive eder. Heparin, AT III'ün heparan sülfata bağlanmasını inhibe eder ve heparin yokluğunda AT III endotel hücresine bağlanır ve endotel hücre yüzeyinin intrinsik trombojenik aktivitesini engeller. Bunun yanında serbest trombin pıhtılaşmayı artırır, endotel hücresi yüzeyindeki trombomodülin ile kompleks oluşturarak protein C aktivasyonunu hızlandırır (67).

DIC'de AT III plazma miktarı azalır. Bunun sebebi, AT III'ün proteolitik enzimlerle yıkılması ve trombin-antitrombin kompleksinin oluşması ve tüketilmesidir. AT III aktivasyonunun azalması kötü prognozu gösterdiği için, AT III replasmanı DIC olgularında önemlidir. Çoğu randomize klinik çalışmalarda AT III kullanımının mortaliteyi azalttığı ve yaşayan hastalarda DIC süresini kısalttığı gösterilmiştir (54, 67, 68). Buna karşın, ağır septik şok ve organ yetmezliği olan 2114 hastayı kapsayan çok merkezli randomize kontrollü bir çalışmada mortalitede anlamlı bir azalma olmadığı bildirilmiştir (65)

Antifibrinolitik ajanlar

Tarihsel olarak bu tip ilaçlar ciddi kanamaya yol açmışlardır. Aminokaproik asit ve Tranexamik asit plazminojen aktivatörünün inhibisyonu ve antiplazmin aktivitesiyle fibrinolizisi inhibe eder. DIC'te, diğer yöntemler başarısız olduğunda veya plazmin artışı kanıtlandığında bu ajanlar verilebilir. Bu ilaçların etki mekanizması, fibrinolizisi azaltmak ve fibrinojen seviyesini artırmak yoluyla kanamanın kontrolüdür. Bu ilaçlar, daha önce var olan trombüsü yıkamazlar. Kanamayı azaltmada etkinliği çok net

değildir. Bu tedavi hastayı hiperkoagüle hale getirebilir. Heparin sıklıkla bu tip ilaçlarla kombine edilir (69).

Araştırılmakta olan tedavi yöntemleri

Gabexate mesylate: Trombin ve plazmin içeren serin proteazın sentetik bir inhibitörüdür. Kontrollü çalışmalarda henüz denenmemiştir.

Rekombinant doku plazminojen aktivatörü(rtPA): Pıhtıya özgü fibrinolizisi tetikleyerek periferel perfüzyonu artırır. Özellikle trombüse bağlı organ yetmezliğinde yararlıdır. Direkt hemodinamik etkileri ile az da olsa kanamaya sebep olabilir.

Plazmaferez: Dolaşımda bulunan endotoksin, sitokin ve enflamatuvar hücre toksinlerini temizler. Çok kan ürünü gerektiği durumlarda sıvı dengesini kontrol altında tutmak açısından faydalı olabilir.

Hirudin: Sülük salyasından elde edilen antikoagülandır. Trombinin en güçlü baskılayıcısıdır ve lokal kanamayı saatlerce engelleyebilir. Ancak klinik çalışmalarda henüz değerlendirilmemiştir.

Glukokortikoidler: Dolaşımda protein C'ye karşı antikor mevcutsa glikokortikoidlerin antienflamatuvar ve immunosupresif etkileri DIC tedavisinde değerlendirilebilir (69).

2.8. PROGNOZ

DIC'li hastalarda son derece değişken olan prognoz, altta yatan nedene, intravasküler pıhtılaşmanın şiddetine, mononükleer fagositik sistemin aktivitesine ve fibrinoliz miktarına ve organ disfonksiyonuna bağlıdır. Mortalite %31–86 arasında değişmektedir (12, 70).

II. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM), Ocak–Şubat 2007 tarihleri arasında Etik Kurul onayı ile yapıldı. Çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklendi (Etik Kurul Karar Tarihi: 07.02.2006, Karar No: 01/72).

3.1. Denekler

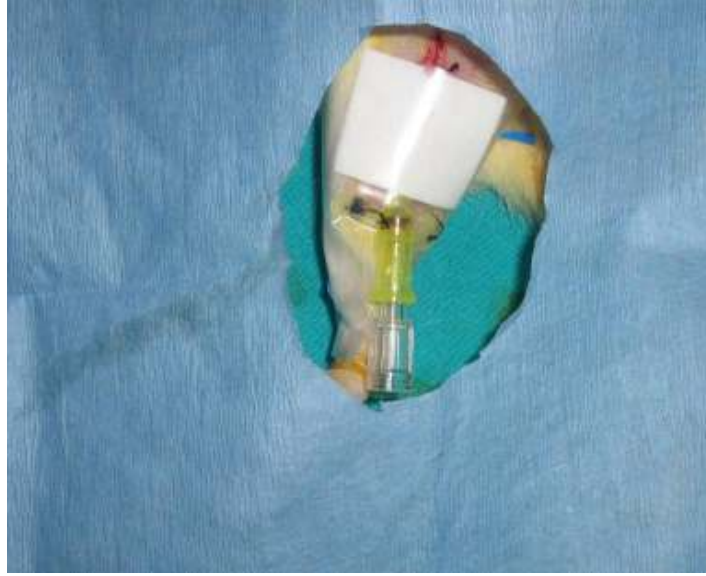
Çalışmada ağırlıkları 280–320 gram arasında değişen 25 adet, erkek, Wistar–Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak sham, kontrol ve çalışma gruplarına ayrıldı. Sıçanlar, deneyden bir hafta önce laboratuvar koşullarına alınarak, 20°C barındırıldı ve standart sıçan diyetiyle beslendi.

3.2. Anestezi

Çalışma öncesinde su içmelerine izin verilmek koşulu ile 12 saat aç bırakılan sıçanların tümünde cerrahi girişim, enjeksiyonlar, kan örneklerinin alınması intramusküler 50mg/kg ketamin ve 10mg/kg xylazin anestezisi altında yapıldı.

3.3. Deney Grupları

1. Sham (Taklit) grubu (n=5): Femoral ven kateterizasyonu yapıldı (Resim–1).



Resim-1: Femoral ven kateterizasyonu

2. Kontrol grubu (n=10): Femoral ven kateterinden 10ml %0,9'luk NaCl ile sulandırılan 30mg/kg LPS 4 saat boyunca sürekli infüzyonla verilerek DIC oluşturuldu (Resim-2).



Resim-2: Femoral venden LPS infüzyonu

3. Çalışma grubu (n=10): Femoral venden 30mg/kg LPS 4 saat boyunca sürekli infüzyonla verildi. Kan örneği alınarak DIC skoru ≥ 5 olan sıçanlara rekombinant APC verildi. Rekombinant APC (Drotrecogin alfa [aktivated]; Xigris®; Lilly, İstanbul, Türkiye) 100µg/kg'dan 4 saat sürekli infüzyonla diğer femoral venden verildi.

Sekiz saat sonra abdominal aortadan kan örnekleri plastik şırıngaya alınarak sıçanlar sakrifiye edildi.

3.4. Deneysel DIC modeli

LPS (Escherichia coli 055:B5 LPS B; Difco Laboratuar, Detroid, Michigan, USA) deneysel çalışmadan önce 10ml serum fizyolojik ile çözüldü. Deneysel DIC oluşturmak için 10mL serum fizyolojik ile sulandırılan 30mg/kg LPS femoral venden 4 saat boyunca sürekli infüzyonla verildi.

3.5. APC infüzyonu:

Femoral venden 30mg/kg LPS 4 saat infüzyonla verilen sıçanlardan kan örnekleri alındı. Sonuçları ISTH/SCC'nin DIC tanısal kriterlerine göre değerlendirildi. DIC skoru ≥ 5 olan sıçanlara 100 μ g/kg'dan Drotrecogin alfa (aktive) 4 saat boyunca sürekli infüzyonla diğer femoral venden verildi.

3.6. Değerlendirilecek parametreler

Tüm deneklerin kan örnekleri, ketamin hidroklorid anestezisi altında, orta hat laparomi yapılarak abdominal aortadan alındı (Resim-3).



Resim-3: Abdominal aortadan kan alınması

Trombosit sayısını belirlemek için etilendiamintetraasetikli (EDTA) tüpe 1ml; PT, aPTT, plazma fibrinojen, D-dimer ve AT III ölçümü için %3.8 trisodyum sitratlı tüpe 2ml; TNF- α , IL-6 ölçümü için düz tüpe 2ml; PAI-1 ölçümü için %3.2 trisodyum sitratlı tüpe 1ml kan örneği alındı.

Koagülasyon ve fibrinolizis parametreleri

Kanda trombosit sayısı Coulter hematology analyzer (Coulter Bechman HMX, Miami, USA) cihazı ile ölçüldü.

Koagülasyon parametreleri ölçümü için, %3.8 trisodyum sitratlı tüpteki kan örnekleri 3000 devir/dakika, 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. PT (Simplastin® HTF, Biomerieux, Nort Carolina, USA), aPTT (Platelin® LS, Biomerieux, Nort Carolina, USA), Fibrinojen (Fibriquik®, Biomerieux, Nort Carolina, USA), D-dimer (D-dimer®, Biomerieux, Nort Carolina, USA) ve AT III (Antitrombin III®, Biomerieux, Nort Carolina, USA) değerlerinin ölçümü için ticari kitleri kullanıldı. Tüm parametreler MDA® II cihazı ile ölçüldü.

PAI-1 ölçümü için %3.2 trisodyum sitratlı tüpteki örnekler 3000 devir/dakikada 20dk santrifüj edilerek plazmaları ayrıştırıldı. Ayrıştırılan plazmalar plastik tüplere (eppendorf) konularak -70°C'da saklandı. Plazma PAI-1 değeri ELISA kiti ile ölçüldü (birim değeri ng/ml) (Rat PAI-1 Activite Assay Product No. PI92 Oxford Biomedical, USA).

3.7. Serum TNF- α ve IL-6 düzeylerinin tespiti

Serum TNF- α ve IL-6 düzeyi için kan örnekleri 4000 devir/dk, 10 dk santrifüje edilerek serumları ayrıştırıldı. Serum örnekleri eppendorf tüplerine konularak analiz gününe kadar -70°C'da saklandı. Serum IL-6 düzeyi rat IL-6 ELISA kiti ile ölçüldü (birim değeri pg/ml). (Rat IL-6 Enzyme KRC 0061 Immunometrik Assay Kit, Biosource, Catalog, USA). Serum TNF- α düzeyi rat TNF- α ELISA kiti ile ölçüldü (birim değeri pg/ml) (Rat TNF- α Enzyme Immunometric Assay Kit, Biosource, Catalog KRC 3011, USA).

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Ölçülebilen veriler $X \pm Sd$ olarak tanımlandı. Dağılımın normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testiyle bakıldı. Grupları arasındaki farklılığa OneWay Anova testi ile bakıldı. Hangi grubun farklı olduğu ise Scheffe prosedürü ile test edildi. İki grup arasındaki farklılığa ise Student t testi ile bakıldı.

İstatistik, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (11.0 version) programında yapıldı. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

Bu deneysel çalışmada DIC oluşturulduktan sonra rekombinant APC (Drotrecogin alfa (activated)) verilen sıçanlardan elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

4.1. Trombosit sayısı:

Her üç grup trombosit sonuçları değerlendirildiğinde; kontrol grubunda ($233.9 \pm 60.3 \times 10^3 / \text{uL}$), sham grubuna ($859.2 \pm 179.7 \times 10^3 / \text{uL}$) göre azalma görüldü. Kontrol grubundaki azalma sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır ($P=0.0001$). Bu sonuç DIC'te trombositlerin tüketildiğini gösterdi. Çalışma grubu ($295.1 \pm 59.37 \times 10^3 / \text{uL}$) ile sham grubu ($859.2 \pm 179.7 \times 10^3 / \text{uL}$) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.0001$). Kontrol ve çalışma grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($233.9 \pm 60.3 \times 10^3 / \text{uL}$ ve $295.1 \pm 59.37 \times 10^3 / \text{uL}$) ($P=0.36$) (Tablo-3) (Grafik-1).

4.2. PT:

Her üç grup PT sonuçları değerlendirildiğinde; sham grubunda ortalama 13.6sn olan PT değeri, kontrol grubunda 19,5sn'ye uzadı ve bu uzama istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.007$). PT'de ki uzama, ISTH/SSC tarafından belirlenen DIC tanı kriterleriyle uyumluydu. PT'de ki uzama, çalışma grubunda (ortalama 23.7sn), kontrol ve sham gruplarına göre daha fazla idi (13.6sn, 19.5sn ve 23.7sn) ($P=0.019$, $P=0.0001$) (Tablo-3) (Grafik-2). Kontrol grubuna göre çalışma grubunda PT'deki uzamanın devam etmesi APC'nin antikoagülan etkisinin sonucudur.

4.3. aPTT:

Her üç grup aPTT sonuçları değerlendirildiğinde; tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (P=0.0001). Sham grubunda ortalama 24sn olan aPTT değeri kontrol grubunda 34.3sn'ye uzadı. aPTT değerleri çalışma grubunda (ortalama 43.6sn) kontrol grubuna göre daha fazla uzadı ve istatistiksel olarak anlamlıydı (P=0.002). Bu uzama PT'de olduğu gibi, APC'nin antikoagülan etkisinin sonucudur. aPTT çalışma grubunda, sham grubuna göre daha fazla uzadı ve istatistiksel olarak anlamlıydı (24sn, 43.6sn) (P=0.0001) (Tablo-3) (Grafik-3)

Tablo-3: Trombosit, PT ve aPTT sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

	Sham grubu n:5 (X±Sd)	Kontrol grubu n:10 (X±Sd)	Çalışma grubu n:10 (X±Sd)	F	P
Trombosit (10³/uL)	859.2±179.7 ^{bc}	233.9±60.3 ^a	295.1±59.3 ^a	81.4	0.0001
PT (sn)	13.6±1.1 ^{bc}	19.5±2.8 ^{ac}	23.7±3.6 ^{ab}	18.6	0.0001
aPTT (sn)	24.0±1.0 ^{bc}	34.3±5.5 ^{ac}	43.6±5.5 ^{ab}	26.1	0.0001

a: Sham grubuna farklı olan grubu gösterir

b: Kontrol grubuna farklı olan grubu gösterir

c: Çalışma grubuna farklı olan grubu gösterir

4.4. Fibrinojen:

Her üç grup fibrinojen sonuçları değerlendirildiğinde; Sham grubuna göre (233.0±10.0) kontrol grubunda azalma (81.4±27.1mg/dL) görüldü (P=0.0001). Fibrinojen değerleri kontrol grubu (81.4±27.1mg/dL) ile çalışma grubu karşılaştırıldığında, çalışma grubu lehine artma (145.7±33.2mg/dL) görüldü (P=0.0001). Sham grubu ile çalışma grubu fibrinojen değerleri arasında istatistiksel olarak fark vardı (233.0±10.0mg/dL ve 145.7±33.2mg/dL) (P=0.0001). (Tablo-4) (Grafik-4).

4.5. AT III:

Her üç grup AT III sonuçları değerlendirildiğinde; Sham grubuna göre kontrol grubunda azalma görüldü (%94.9±1.3 karşın %52.3±4.5), istatistiksel olarak anlamlıydı

(P=0,0001) (Tablo–4) (Grafik–5). Bu durum DIC’te AT III’ün tüketildiğini gösterdi. Kontrol grubu ile çalışma grubunun AT III değerleri karşılaştırıldığında artma (%52.3±4.5 karşın %82.0±12.6) vardı ve istatistiksel olarak anlamlıydı (P=0.0001). APC ile tedavi edilen grupta AT III düzeyinde artma görülmesi, APC’nin antitrombotik etkisine bağlı olabilir. Sham grubu ile çalışma grubu AT III değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı (%94.9±1.3 ve %82.0±12.6) (P=0.04).

4.6. D–dimer:

Her üç grup D–dimer sonuçları değerlendirildiğinde; Sham grubuna göre kontrol grubunda artma görüldü ve bu artma istatistiksel olarak anlamlıydı (0.3±0.08UgFEU/mL, 5.8±2.2UgFEU/mL, P=0.0001) (Tablo–4) (Grafik–6). D–dimer, kontrol grubuna göre (5.8±2.2UgFEU/mL) çalışma grubunda (2.0±1.0UgFEU/mL) anlamlı azalma vardı (P=0.0001). Bu azalma APC’nin antitrombotik etkisine bağlı olarak yeni fibrin oluşumunun engellemesiyle açıklanabilir. Sham grubu ile çalışma grubu D–dimer değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (0.3±0.08UgFEU/mL, 2.0±1.0 UgFEU/mL) (P=0.155). APC’nin FYÜ’lerini azalttığı ve normal değerlerine çok yakın değerler elde edilmesine neden olduğu görülmektedir.

Tablo–4: Fibrinojen, AT III ve D–dimer sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

	Sham grubu n:5 (X±Sd)	Kontrol grubu n:10 (X±Sd)	Çalışma grubu n:10 (X±Sd)	F	P
Fibrinojen (mg/dL)	233.0±10.0 ^{bc}	81.4±27.1 ^{ac}	145.7±33.2 ^{ab}	50.2	0.0001
AT III (%)	94.9±1.3 ^{bc}	52.3±4.5 ^{ac}	82.0±12.6 ^{ab}	50.3	0.0001
D–dimer (UgFEU/mL)	0.3±0.08 ^b	5.8±2.2 ^{ac}	2.0±1.0 ^b	25.6	0.0001

- a: Sham grubuna farklı olan grubu gösterir
b: Kontrol grubuna farklı olan grubu gösterir
c: Çalışma grubuna farklı olan grubu gösterir

4.7. PAI-1:

PAI-1'in sham grubunda (0 ± 0 ng/dL) anlamlı değer elde edilememesi nedeniyle, kontrol grubu ile çalışma grup sonuçları değerlendirildi. PAI-1 kontrol grubunda (21.4 ± 5.1 ng/dL) artma, çalışma grubunda (13.9 ± 2.5 ng/dL) azalma görüldü. Bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.001$) (Tablo-5) (Grafik-7). PAI-1 kontrol grubunda artması DIC'i tetikleyen proinflamatuvar sitokinlere bağlı olabilir. Çalışma grubundaki belirgin azalma APC'nin net etkisidir.

4.8. IL-6 ve TNF- sonuçları:

IL-6 ve TNF-'da sham grubunda (0 ± 0 pg/dL) anlamlı değer elde edilemedi.

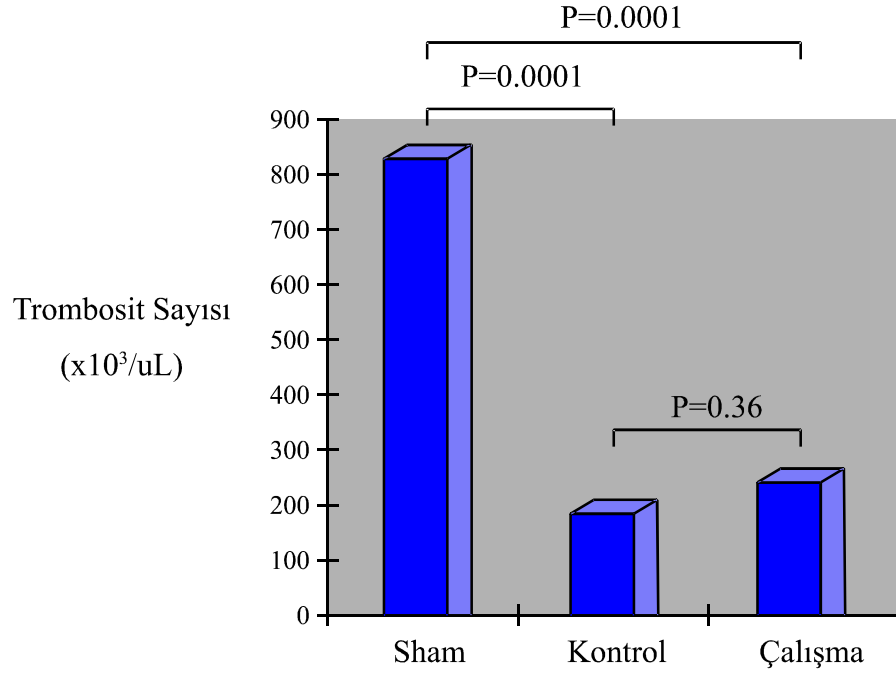
Her iki grup IL-6 sonuçları ile değerlendirildiğinde; çalışma grubu ile kontrol grubu arasınada istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (4666.0 ± 427.9 pg/dL ve 1132.0 ± 239.8 pg/dL) ($P=0.0001$) (Tablo-5) (Grafik-8).

Kontrol ile çalışma grubu TNF- sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü (169 ± 45 pg/dL, 32.9 ± 17.7 pg/dL) ($P=0.0001$) (Tablo-5) (Grafik-9).

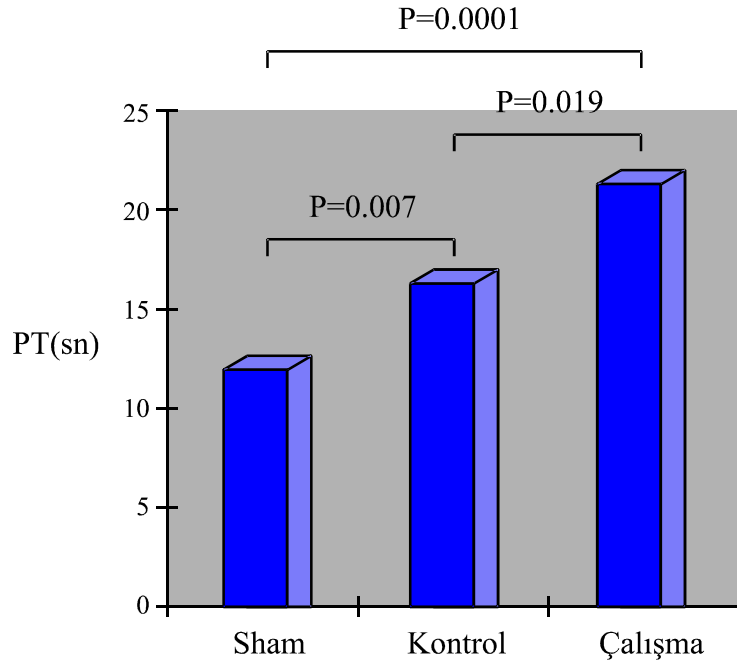
Her iki grubun IL-6 ve TNF- sonuçlarındaki anlamlı fark ($P<0.005$) APC'nin antienflamatuvar etkisini ortaya koymaktadır.

Tablo-5: PAI-1, IL-6 ve TNF- sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

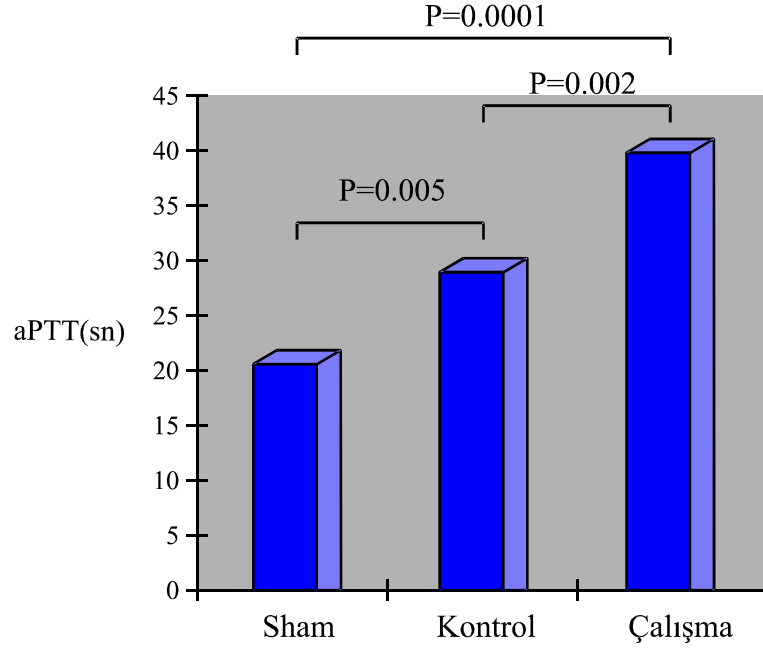
	Kontrol grubu n:10 (X±Sd)	alışma grubu n:10 (X±Sd)	t	P
PAI-1 (ng/dL)	21.4±5.1	13.9±2.5	4.0	0.001
IL-6 (pg/dL)	4666.0±427.9	1132.0±239.8	22.7	0.0001
TNF- (pg/dL)	169±45	32.9±17.7	8.8	0.0001



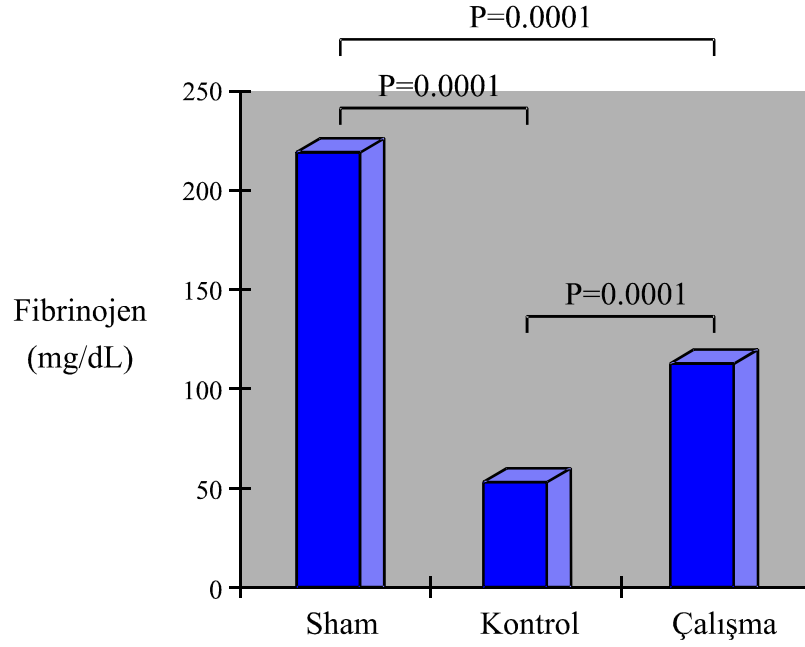
Grafik-1: Trombosit sayısının gruplar arasında karşılaştırılması



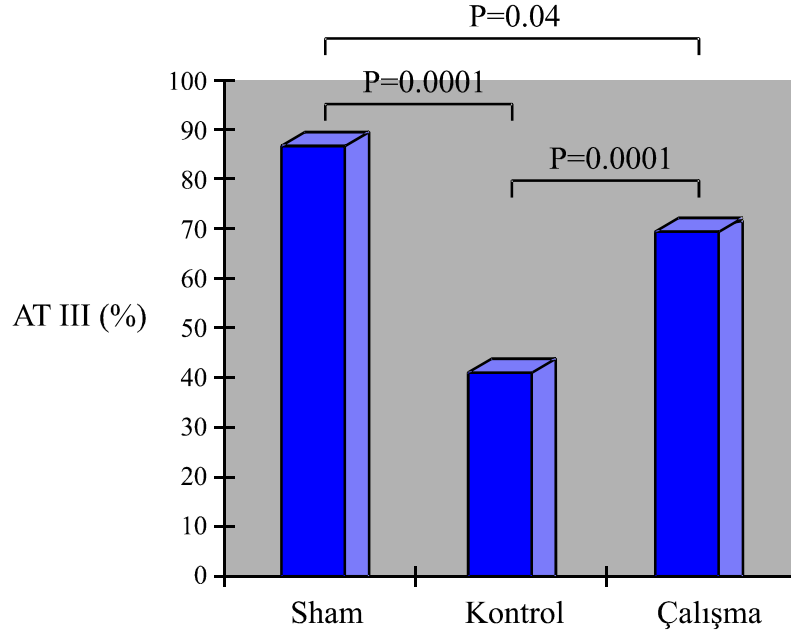
Grafik-2: PT'nin gruplar arasında karşılaştırılması



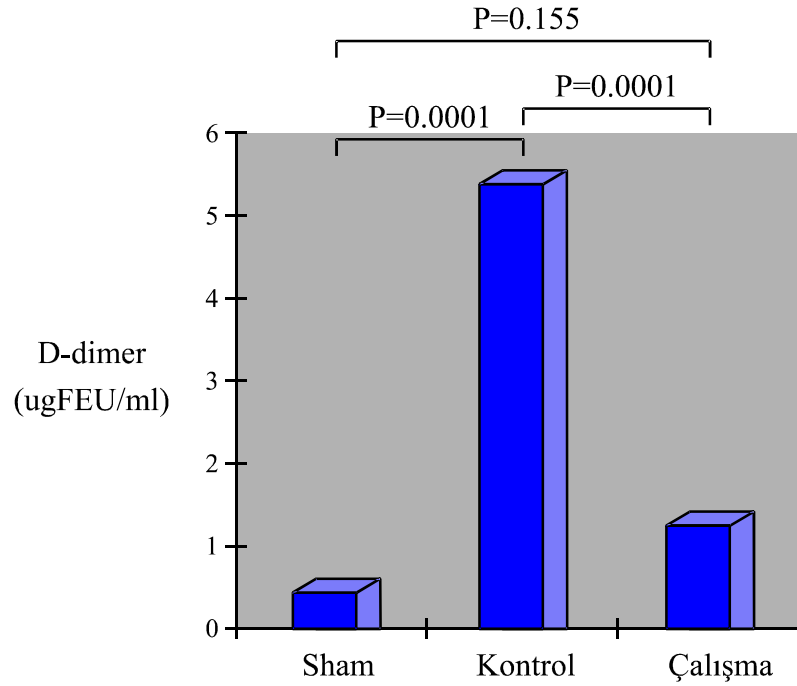
Grafik-3: aPTT'nin gruplar arasında karşılaştırılması



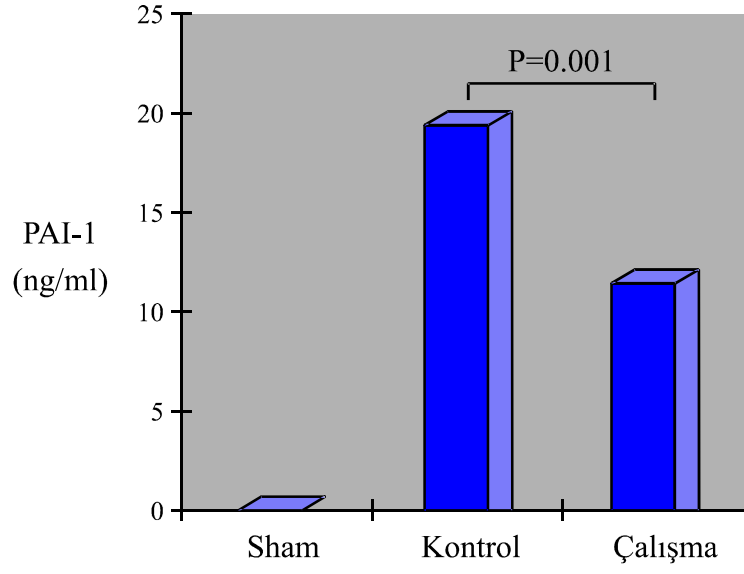
Grafik-4: Fibrinojenin gruplar arasında karşılaştırılması



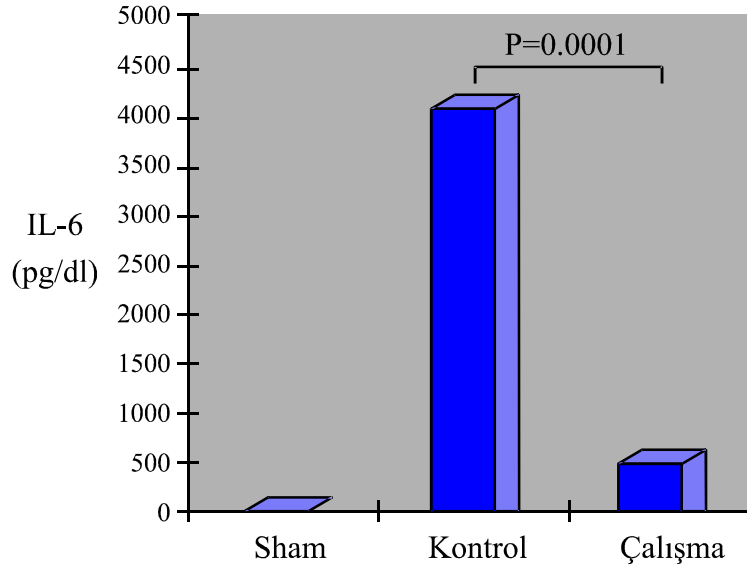
Grafik-5: AT III'ün gruplar arasında karşılaştırılması



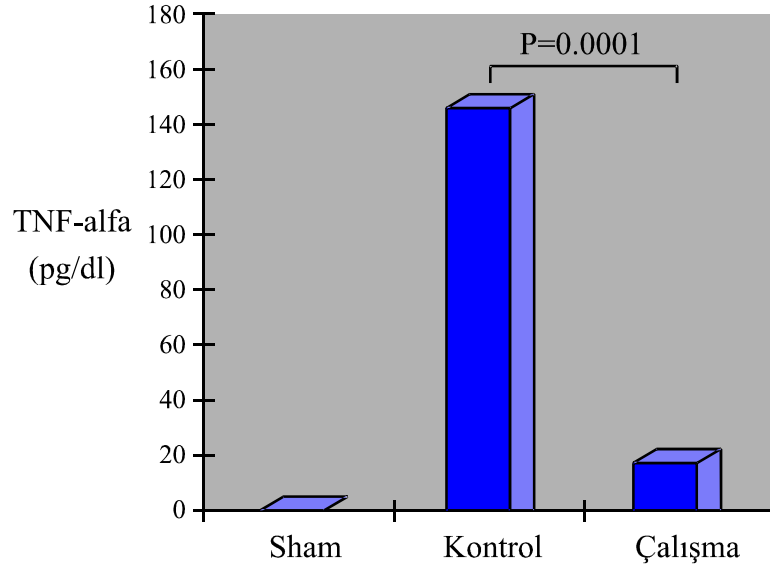
Grafik-6: D-dimer gruplar arasında karşılaştırılması



Grafik-7: PAI-1'nin gruplar arası karşılaştırılması



Grafik-8: IL-6 gruplar arasında karşılaştırılması



Grafik-9: TNF- α gruplar arasında karşılaştırılması

V. TARTIŞMA

Yoğun bakım ünitelerinde ısrarla üzerinde durulması gereken bir konu da koagülopatilerdir. Günümüzde akut travma, şok ve özellikle gram (-) sepsis nedeniyle izlenen olgularda ortaya çıkan organ hasarlanması ve kontrol edilemeyen kanamalarda, koagülasyon sistemine ait patolojilerin önemi bilinmektedir. DIC bunlardan en önemli ve ciddi olanıdır. DIC çok farklı nedenlere bağlıdır ve tek bir ajanla tedavisi güçtür. Bu nedenle, patofizyolojisi göz önüne alınarak bir çok tedavi stratejileri geliştirilmiştir. Tedavi planlanırken ilk olarak DIC'e sebep olan primer hastalığın tedavisi, azalan pıhtılaşma faktörlerinin ve trombositlerin yerine konulması, antikoagülan ajanlar ve antikoagülan yolların düzenlenmesini içeren bir dizi yaklaşımı gerektirir (71). DIC'te pıhtılaşma ve kanamanın beraber görülmesi tedavileri zorlaştırmakta, karşıt tedaviler, çelişik bir mantık zemini oluşturmaktadır. Kullanılan tedaviler karşıtı olan durumu artırır mı? Buna benzer sorular artırılabilir ancak, günümüzde bu ve bezeri soruların yanıtları netlik kazanmamıştır.

DIC'i oluşturan başlıca dengesizlikler *invivo* kan koagülasyon sisteminin aşırı aktivasyonu ve bunun ardından ikincil fibrinolitik aktivasyonla ilgilidir. Fibrinolitik aktivasyonun derecesi altta yatan hastalığa göre değişir. Akut promyelositik lösemiye bağlı gelişen DIC'te fibrinolitik aktivite artmış olmasına rağmen, sepsise bağlı gelişen DIC'te fibrinolitik aktivite azalmıştır. Azalmış fibrinolitik aktivite ile çoklu organ yetmezliği arasında yakın ilişki vardır, azalmış fibrinolitik aktivite organın mikrodolaşımında yaygın fibrin çöküşüne neden olur (mikrotrombüs) ve eğer fibrin,

fibrinolitik aktivite ile temizlenmez ise organın kanlanması bozularak organ yetmezliği gelişir (72, 73).

Kagülasyonu tetikleyen primer faktör TF'dir. Periferik kan hücreleri ve endotel normal şartlar altında TF üretmez. TF endotel hasarlanması sonucu salınır. Ayrıca travma, iskemi, ağır metabolik stres, tümör, vasküler lezyonlar, infeksiyonlar ve obstetrik problemlerden sonra da dolaşıma salınmaktadır. Gando ve arkadaşları TF'yi sepsisli hastalarda, travma geçirenlere göre daha yüksek değerlerde buldular (74). Sepsisli hastalarda yüksek TF koagülasyon sistemini tetikleyerek DIC gelişme riskini artırmaktadır.

TF-FVIIa birleşerek koagülasyon sistemini tetikler ve sonuçta trombin ve fibrin oluşur. Antikoagülan mekanizmalar, koagülasyon sisteminin bölgesel aktivasyonu sistemik olmadan koagülasyonu sınırlandırır. Koagülasyon sistemik olduğunda, antikoagülan mekanizmaların yetersiz kaldığı noktada trombosit ve pıhtılaşma faktörlerinin tüketilmesi sonucu kanama, diğer taraftan orta ve küçük damarlarda fibrin birikimine bağlı trombus, trombüse bağlı organlarda iskemi ve sonunda organ yetmezliği gelişir. DIC'te de TF ile başlayan koagülasyon sisteminin aktivasyonu, TF-FVIIa birleşiminin baskılanması, FXa baskılayıcıları ve trombin baskılayıcıları kullanılarak bir noktadan durdurulması amaçlanmaktadır (75).

TF ile başlayan koagülasyon sisteminin aktivasyonunda ilk baskılayıcı TFPI'dir. Sitokinlerin tetiklediği DIC'te TFPI aktivitesi ve Xa-TFPI kompleksi düzeylerinde dikkate değer değişiklik olur ancak tanısal olarak TFPI ölçümünün yeri yoktur. TNF- α , fizyolojik antikoagülan yolları baskılamak için TFPI salınımını da baskılar (76). APC verilerek TNF- α düzeylerinin düşmesi söz konusu etkinin azaltılmasına ve TFPI etkinliğinin düzelmesine neden olabilir. DIC'in önlenmesinde TFPI ve anti-TF uygulanması faydalı olabilir. Creasey ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, E. Coli sepsisli primat modellerinde rekombinant TFPI uygulamasıyla intravasküler koagülasyon, şok ve mortalitede anlamlı düşüş gösterilmiştir (77). Ancak rekombinant TFPI etkinliği konusunda daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre APC ile beraber rekombinant TFPI uygulamasının etkisinin daha fazla olacağı öngörülebilir.

DIC tek başına bir hastalık olmayıp, daima bir klinik durumla ilişkilidir. Deneysel hayvan çalışmalarında DIC oluşturmak için çok değişik modeller kullanılmıştır. En sık kullanılan modeller, Endotoksin (10mg/kg) veya LPS (30mg/kg) infüzyon şeklinde verilerek DIC oluşturulmasıdır. Bu çalışmada LPS infüzyonu (30mg/kg) uygulanarak DIC oluşturuldu (78, 79). LPS, gram (-) bakteri hücre duvarı komponenti olup, toksinler arasında etkisi en iyi bilinendir. LPS'nin konak hücreleri ile etkileştiğinde, monosit, makrofaj ve diğer hücreler tarafından sitokin üretimine, kompleman ve koagülasyon sisteminin aktivasyonu neden olur (80)

Sepsiste oluşan DIC ile LPS ile oluşturulan DIC modelinin patofizyolojisi benzerdir. LPS ile oluşturulan DIC'in patofizyolojisinde, monosit ve endotel hücresinden salgılanan TNF- α , IL-6 ve IL-1 koagülasyon sistemini tetiklerler (81, 82). LPS ile oluşturulan DIC'te fibrinolitik aktivite baskılanır, bu durum PAI-1 yükselmesiyle açıklanır (83). TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler koagülasyon aktivasyonuna ve fibrinoliziste bozulmaya yol açarak DIC gelişimine aracılık eder (83, 84). Ayrıca endotel hücrelerinden trombomodülin salınımı azalarak protein C aktivasyonunu baskılar (82). Bu sitokinlerin etkisiyle fibrinolizisin baskılanması sonucu mikrotrombüs oluşumu artar. Dolaşımda artan mikrotrombüsler organların kanlanmasını bozarak çoklu organ yetmezliği gelişimine neden olur. Sitokinler DIC gelişiminde majör rol oynar ve özellikle organ yetmezliğinin eşlik ettiği sepsis tablosunda bu daha belirgindir (85). Bu sebepten koagülopatinin düzeltilmesinin tedavi üzerine ve dolayısıyla morbidite ve mortalite üzerine olumlu katkısı olacağı düşünülmüştür. Hayvan çalışmalarında, DIC'in düzelmesi, organ fonksiyonlarında düzelme ve sağkalımda artma ile sonuçlanmıştır (86-88). PROWESS (The Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis) çalışmasında, septik hastalarda fizyolojik bir antikoagülan olan APC uygulamasının mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (89). Böylece sepsis tedavisinin planlanmasında koagülasyon sisteminin düzenlenmesi anahtar rolü üstlenmiştir (85).

Madoiwa ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmada 117 sepsise bağlı, 1627 sepsis dışı nedenlere bağlı gelişen DIC'in fibrinolitik göstergelerini karşılaştırdılar. Sepsise bağlı gelişen DIC'te diğer nedenlere bağlı gelişen DIC'e göre fibrinojen, fibrin yıkım ürünü ve D-dimer düzeylerini daha yüksek buldular. Ayrıca sepsise bağlı DIC gelişen hastalarda PAI-1 düzeyleri de yüksekti (90).

DIC, sepsisli hastalarda mortalite oranını etkileyen önemli bir faktördür. Gogos ve arkadaşlarının serisinde DIC gözlenilmeyen sepsisli hastaların mortalite oranı %28 iken, DIC'in eşlik ettiği sepsisli hastalarda mortalite oranı %62 olarak bildirilmiştir (91). Dhainaut ve arkadaşları, 454 hasta üzerinde yaptıkları retrospektif analizde DIC olan (ISTH tanı skoru ≥ 5) hastalarda mortalite oranı %43 iken, rekombinant APC verilen hastalarda bu oranı %30.5 buldular. Sepsisli hastalarda DIC geliştiğinde rekombinant APC'nin yüksek ölüm riskinde azalma yönünde olumlu fayda sağladığını, ISTH skorunda da azalma olduğunu bildirmişlerdir (88).

Trombositopeni akut DIC'in önemli bir bulgusu olup, kanama ve aşırı trombin üretimiyle ilgilidir (92, 93). Şiddetli trombositopenide kemik iliğinden trombosit üretimi artsa da, ömürleri kısadır (92, 94). Trombosit değerlerinin düşmesi artmış kanama riskiyle beraberdir. Bu çalışmada DIC gelişen kontrol ve çalışma grubu sıçanlarda trombosit değerleri düşmüştür. Rekombinant APC verilen grupta trombosit değerleri kontrol grubuna göre daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P=0.36$). Trombosit sayısının görece yüksekliği APC'nin antikoagülan etkisiyle trombin oluşumunu baskılamış olmasına bağlı olabilir. Bilindiği gibi trombin, trombosit aktivasyonuna neden olmaktadır. DIC'li hastalarda düşük olan trombosit sayısının yükselme eğilimi göstermesi tedavinin başarılı olduğunu ve damar içi pıhtılaşmanın kontrol altına alınmaya başladığını gösterir (95).

Trombositopeninin yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda kötü prognozla birlikte olduğu ve yoğun bakım ünitesinde yatış süresini uzattığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (96). Bu çalışmada DIC gelişen deneklerde trombosit sayısına rağmen APC verilmesinin nicelik olarak faydalı etkisi oldu. DIC veya şiddetli trombositopenili hastalarda APC tedavisi kanama riskinde ılımlı artışa sebep olsa da, sağkalıma katkısı nedeniyle durum dengelenmektedir. PROWESS çalışmasında trombosit sayısı $<30.000/\mu\text{L}$ olan hastalara yüksek kanama riskinden dolayı rekombinant APC verilmedi ve bu hastalar çalışma dışı bırakıldı (89).

APC, FVa ve FVIIIa'ı baskılayarak antikoagülan etki gösterir. Antikoagülan etki PT ve aPTT'nin uzamasına neden olur. PT ve aPTT'nin duyarlılığının düşük olması DIC tanısında güvenli olmadığını gösterebilir (97). Bu çalışmada, DIC oluşturulan gruplarda PT ve aPTT'de uzama görüldü. APC verilen grupta PT ve aPTT değerleri anlamlı

olarak daha uzundu. Bu etki rekombinant APC'nin FVa ve FVIIIa'ı inaktive etmesi sonucu ortaya çıkan antikoagulan özelliğine bağlıdır. Aoki ve arkadaşları APC ve heparinin DIC üzerine etkilerini karşılaştırdıkları deneysel çalışmada, heparinin aPTT'yi daha fazla uzattığını göstermişlerdir (98).

Akut faz reaktanı olan fibrinojen, DIC'in bir göstergesi olarak skorlama sistemlerinde kullanılmaktadır (99). Fibrinojen seviyeleri şiddetli enfeksiyonların erken evresinde artarken, koagülopati evresinde azalır. Şiddetli enfeksiyonda ve özellikle sepsiste DIC gelişmediği sürece fibrinojen seviyelerinde azalma görülmeyebilir (14) Akut faz reaktanı olma özelliğinden ve sepsisin farklı evrelerinde değişik miktarlarda tüketilmesi nedeniyle sepsisli hastalarda fibrinojen seviyeleri hakkında birbirleriyle çelişkili veriler bulunmaktadır. Yan ve arkadaşlarının serisinde sepsisli hastaların %51'inde hipofibrinojenemi bildirilmiştir (100). Wada ve arkadaşlarının 560 DIC'li hasta üzerinde yaptıkları çalışmada fibrinojen yüksekliği ile organ yetmezliği arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (101). Fibrinojen seviyesi yüksek olan hastalarda sekonder fibrinolizisin daha yavaş olduğunu gözlemlemişler ve bunu da organ yetmezliği ve kötü sağkalımla ilişkilendirmişlerdir (101). Wada ve arkadaşlarının çalışmasının aksine, bu çalışmada, DIC gelişen deneklerde fibrinojen düzeylerinde azalma görüldü. APC tedavisi ile fibrinojen değerlerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda artma görüldü. Fibrinojen değerinde yükselme APC'nin antikoagulan ve özellikle antienflamatuar etkisiyle açıklanmalıdır. Olasılıkla yeni trombin oluşumunun engellenmesinin de katkısı olmuştur. Çünkü trombin, fibrinojenin fibrine dönüşümünü sağlamaktadır.

Antitrombin fizyolojik antikoagulan olarak fonksiyon görmektedir ve antienflamatuar etkisi de vardır (102–104). Antitrombin DIC tanısında önemli bir belirleyicidir ve DIC geliştiğinde AT III düzeyinde azalma görülür (105). Azalmış AT III'ün yerine konulması mortalite ve organ fonksiyonlarının korunması açısından önemlidir. Fourier ve arkadaşları, randomize, çift kör, plasebo–kontrollü bir çalışmada, septik şok ve DIC gelişen 34 olguya AT III verdiler. Tedavi edilmeyen grupta plazma AT III oranı azalırken, tedavi edilen grupta normal düzeyde kalmıştır (106). PROWESS çalışmasında AT III düzeyi hastaların %81.7'sinde düşük olarak ölçülmüştür (96). AT III ile yapılan en geniş kapsamlı çalışma Warren ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Hastaların yaklaşık yarısında AT III seviyeleri normal seviyelerin altında ölçülmüştür,

ancak AT III eksikliğinin yerine konulmasının hayatta kalma üzerine olumlu etkisi gösterilememiştir (107). Çalışmamızda DIC oluşturulan deneklerde AT III düzeyi azaldı. DIC'te aşırı trombin üretimine bağlı TAT kompleksi artarken antikoagülan AT III düzeyinde azalma beklenebilir. APC verildikten sonra AT III düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzelmeler gözlendi. AT III düzeyindeki bu artma sitokinlerin doğal antikoagülan mekanizmalar AT III, protein C ve TFPI zerindeki baskılayıcı etkisinin APC tarafından ortadan kaldırılmasıyla açıklanabilir. APC antienflamatuar etkisiyle sitokin salınımını engeller ve sitokinlere bağlı oluşan hiperkoagülasyon ortadan kalkar. APC, antitrombotik etkisiyle trombin ve sonuçta TAT oluşumunu engeller. Ayrıca artmış AT III, APC'nin antikoagulan ve antienflamatuar etkisini desteklemiş ve biri diğerinin etkisini artırmış olabilir. Yapılan bazı çalışmalarda sepsis ve septik şokun klasik tedavi yöntemleri yanında, AT III ve APC'nin beraber kullanılmasının mortalite oranlarını anlamlı derecede azalttığı ve yaşam sürelerini uzattığı bildirilmiştir (89, 103, 107).

Fibrinolitik yol ektravaskler ve intravasküler alanda ihtiyaç dışı biriken fibrinlerin temizlenmesidir. Fibrinolizis esnasında plazminojen, t-PA ve u-PA tarafından plazmine çevrilir. Plazminojenin azalması ve dolaşımda plazmin varlığı fibrinolitik sistemin aktivasyonunu gösterir. Plazmin oluşan pıhtıyı eriterek fibrin yıkım ürünlerini ortaya çıkarır. DIC esnasında TF-FVIIa uyarısı ile trombin oluşurken, bu oluşumun kontrolünü sağlayan antitrombin ve protein C yolu baskılanır (108, 109). Fibrinolitik sistemin kontrolsüz aktivasyonu plazmada fibrin yıkım ürünlerinin artması ile sonuçlanır. DIC tanısında FY yüksekliği önemlidir. FY lmnn içerisinde yer alan D-dimer, çapraz bağlanmış bantların parçalanmasını gösterir ve spesifiktir. DIC'te D-dimer seviyesinde artış, fibrinojen seviyesinde azalma gözlenir. D-dimer, fibrinin plazmin aracılıklı yıkımı ile ortaya çıkar. Plazmada D-dimer düzeyinin yüksek olması artmış pıhtı oluşumunu yansıtır (110, 111).

D-dimer diğer testlerle birlikte DIC tanısı konulmasında yardımcı bir parametredir (78). Yan ve arkadaşlarının çalışmasında 70 sepsisli hastanın tamamında D-dimer değerleri yüksek bulunmuştur ve düşük fibrinojen, yüksek D-dimer seviyesinin yüksek mortaliteye neden olduğu gösterilmiştir (100). Benzer şekilde PROWESS çalışmasında da hastaların %99.7'sinde D-dimer düzeylerinde artış gözlenmiştir (96). Bu çalışmada da LPS infüzyonu ile DIC oluşturulan deneklerde D-

dimer değerleri yüksek bulundu. Ancak APC uygulaması sonrası D–dimer değerlerinde anlamlı azalma gözlemlendi ($P=0.0001$). Trombüs oluşumunun engellenmesi, fibrinolizisteki bozukluğun ve organ fonksiyonlarının bozukluğunun düzelmesine bağlı D–dimer düzeylerindeki düzelmeyi açıklar. Bu sonuç Aoki ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmayla uyumluydu. Aoki ve arkadaşlarının çalışmasında, DIC nedeniyle bozulan karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında APC verilmesiyle düzelmeye (98). D–dimerdeki düzelmeyi, trombin oluşumunun APC tarafından baskılanmasına bağlamak mümkündür. Ayrıca, antikoagülan etkinin belirteçleri olan PT ve aPTT’de uzama pıhtı oluşumunun azalması ve bunun sonucunda da yıkımın azalmasının göstergesi olarak kabul edilebilir.

PAI–1, t–PA ve u–PA’nın özgün baskılayıcısıdır. Endotel hücrelerinden ve aktive trombositlerden salınır. LPS uygulamasından sonra proinflatuar sitokinlerin artmasına bağlı endotelden PAI–1 salınımını artırır (98). Levi ve arkadaşları DIC’li hastalarda yaptıkları klinik çalışmada, PAI–1’nin yüksek plazma düzeyinin artmış mortalite ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (112). Aoki ve arkadaşları düşük doz APC ile heparinin etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada, heparinin PAI–1 üzerine hiçbir etkisinin olmadığını, buna karşın, APC’nin PAI–1 üzerine inhibitör etkisini göstermişlerdir. APC’nin hem antikoagülan hem de PAI–1 nötralizan etkisi LPS ile oluşturulan DIC’te düzelmeye yardımcı olur (113). Ayrıca artmış PAI–1 aktivitesi DIC’te gelişen çoklu organ yetmezliğine katkıda bulunur. APC ile PAI–1 baskılanması DIC’e bağlı gelişen çoklu organ yetmezliğine düzeltici yönde katkı sağlar veya organ yetmezliğinin ilerlemesini durdurur (105, 114). Çalışmamızda LPS infüzyonuyla PAI–1 düzeyindeki artma, APC infüzyonu ile anlamlı bir şekilde azaldı ($P=0.001$). PAI–1’de ki azalma, APC’nin antiinflatuar, antitrombotik etkisiyle endotelden TF salınımını baskılaması, koagülasyonun aktivasyonunu engelleyip trombin oluşumunu durdurmasıyla veya PAI–1 salınımını uyaran trombosit aktivasyonunu azaltmasıyla ortaya çıkan bir sonuçtur. APC, PAI–1 seviyesini azaltarak organların kanlanmasını artırır, organ yetmezliğini ve bunun getirdiği komplikasyonları ortadan kaldırabilir.

İn vitro çalışmalarda APC’nin antiinflatuar etkileri (115) renal ve hepatik iskemi/reperfüzyon injurisinde (116, 117), sepsis modellerinde (118) ve akut nekrotizan pankreatitte (119) tanımlanmıştır. LPS ile oluşturulan enflatuar yanıtın düzenlenmesinde NF– κ B’nin nükleer translokasyonunda belirgin azalma gösterilmiştir

(115). APC'nin aktivitesi hem apoptozisi hem de NF- κ B baskılar. APC'nin NF- κ B baskılamasına bağlı prokoagulan özellikler ortadan kalkar (119). Prokoagulan özelliklerin ortadan kalkması hiperkoagülasyonu ve tüketim koagülapatisini ortadan kaldırır. NF- κ B baskılanması ile ortaya çıkan trombin ve antienflamatuar etkiler, akut faz reaktanları kodlayan genlerin ekspresyonunun engellenmesine bağlıdır (23).

İnvitro ve invivo çalışmalar sonucunda LPS ile oluşturulan DIC modellerinde TNF- α ve IL-6 düzeylerinde artma görüldü (120). Asakura ve arkadaşlarının çalışmasında, LPS verilen sıçanlarda ilk dört saatin sonunda TNF- α ve IL-6 düzeylerinde artma görüldü (82). Çalışmamızda da LPS verildikten sonra anlamlı şekilde TNF- α ve IL-6 düzeylerinde artma oldu (P=0.0001). LPS ile oluşturulan DIC modellerine IL-6'nın tetiklediği hiperkoagülasyonu engellemek için, IL-6'a karşı anti IL-6 antikorlarının koagülasyon aktivasyonunu engellediğini bildiren çalışmalar vardır (82, 121).

DIC'te ortaya çıkan trombüs oluşumunda proinflamatuar sitokinlerin (TNF- α ve IL-6) önemli rolü vardır. IL-6 ve diğer sitokinler aktive mononükleer ve endotel hücrelerinden TF salgınmasına neden olurlar ve sonuçta koagülasyon başlar ve trombin oluşur. Üç doğal antikoagulan sistem (TFPI, AT III ve Protein C) TNF- α tarafından baskılanır. Bunun sonucunda intravasküler fibrin birikimi olur çünkü fibrinolizis TNF- α tarafından uyarılan PAI-1 tarafından baskılanır. PAI-1, plazmojen aktivatörlerini baskılayarak plazmin oluşumunu engeller. Sonuçta mikrovasküler alanda fibrin birikimine bağlı organ perfüzyonu bozulur (14). TNF- α trombomodülin sentezini de azaltarak APC aktivasyonunu engeller. Sepsisin deneysel modellerinde aktive olmuş protein C'ye karşı antikor verilmesi DIC'in mortalitesini artırmaktadır. APC verilmesi ise mortaliteyi düşürmektedir (38).

Bu deneysel çalışmada TNF- α 'nın LPS verilmesiyle belirgin olarak yükseldiği gösterildi. Ancak APC verilmesi TNF- α düzeylerinde düşüslere neden oldu (P=0.0001). APC verilmesine bağlı bu belirgin düşüş etkin bir antienflamatuar etkiyi göstermesi yanı sıra, TNF- α 'nın olumsuz tüm etkilerinin ve özellikle fibrinolizisteki düzensizliğin ortadan kalkmasına neden olduğu, D-dimer düzeylerinin belirgin bir şekilde normale yaklaşmasıyla da gösterilmiş oldu. Bu etki IL-6 düzeyleriyle ilgili olabilir fakat IL-

6'nın fibrinolizisin düzelmesiyle daha az ilişkili olduğu ve IL-6'nın DIC için başlatıcı olduğu daha önceden yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (122, 123).

Sonuç olarak DIC, primer hastalığa ikincil olarak ortaya çıkan, koagülan sistem dışında trombosit, lökosit, endotel hücre etkileşimleri ve aktivasyonlarının, çeşitli enflamatuar sitokinlerin büyük önem taşıdığı, klinikte kanama ve tromboembolik olayların eş zamanlı izlendiği bir sendromdur. Tanısı hiçbir zaman sadece anormal laboratuvar testlerinin varlığı ile konulmamalı, altta yatan başlatıcı bir hastalığın varlığı ve uygun klinik bulgular aranmalıdır. Laboratuvar olarak tanısı trombosit sayısı, pıhtılaşma zamanlarının (PT, aPTT) ölçümü, antitrombin düzeyi ve/veya pıhtılaşma faktörleri, D-dimer ve FYÜ düzeyleri değerlendirilerek konulur. Tekrarlayan sürekli ölçümler tek bir ölçümden daha değerlidir. Tedavi altta yatan hastalığın düzeltilmesi ve iyi bir destekleyici bakımın sağlanmasıdır. Heparin, DMAH ve Antitrombin konsantrelerinin yeri özel hasta grupları ile sınırlıdır.

APC kullanılmasının sepsiste mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir, ancak kanama APC için korkulan bir sonuçtur. Yaygın damar içi pıhtılaşmalara bağlı görülen kanamalarda, kanamayı artıran bir doğal antikoagülanın kullanımı çelişik gözükmektedir. Bu soruya ve çelişkiye yanıt olması için yapılan bu deneysel çalışmamızın sonuçları APC'nin DIC gelişen durumlarda kullanılabileceğini göstermiştir. Bu sonuçların DIC gelişen hastalarda da kullanılabilmesi için klinik çalışmalara gerek vardır.

VI. SONUÇLAR

Bu deneysel çalışmanın sonuçları aşağıdaki başlıklarda toplanabilir.

1. Trombosit sayısı DIC oluşturulan grupta belirgin olarak azaldı. APC verilen grupta trombosit değerlerinde istatistiksel olmamakla beraber artma oldu.
2. PT ve aPTT sonuçları değerlendirildiğinde, her üç grupta belirgin artış olduğu görüldü. Sham ve DIC grubuna göre APC grubundaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık.
3. Fibrinojen seviyesi DIC oluşturulan gruplarda azaldı ancak APC verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi.
4. AT III düzeyi DIC oluşturulan kontrol grubunda azaldı, APC verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü.
5. D-dimer değerleri DIC oluşturulan kontrol grubunda belirgin olarak yüksek, APC verilen çalışma grubunda ise istatistiksel olarak düşük bulundu.
6. PAI-1 değerleri DIC ve APC grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi. APC sonrası PAI-1 değerinde belirgin azalma tespit edildi.
7. Serum TNF- α değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. DIC grubuna göre APC grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi.
8. Serum IL-6 değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. DIC grubuna göre APC grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi.

VII. KAYNAKLAR

1. Levi M. Disseminated intravascular coagulation: what's new? *Crit Care Clin* 2005; 21:449–467.
2. Bick RL. Disseminated intravascular coagulation current concepts of etiology, pathophysiology, diagnosis and treatment. *Hematol Oncol Clin N Am* 2003; 17:149–176.
3. Levi M, de Jonge E, Meijers J. The diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Blood* 2002; 16:217–223.
4. Massimo F, Giuseppe L, Franco M. Recent acquisitions in the pathophysiology, diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation. *Thromb J* 2006; 4:1–9.
5. Osterud B, Bjorklid E. The tissue factor pathway in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001; 27:605–617.
6. Moore KL, Andreoli SP, Esmon NL, Esmon CT, Bang NU. Endotoxin enhances tissue factor and suppresses thrombomodulin expression of human vascular endothelium in vitro. *J Clin Invest* 1987; 79:124–130.
7. Poll T, Deventer SJH. Cytokines and cytokines in the pathogenesis of sepsis. *Inf Dis Clin North Am* 1999; 13:413–427.

8. Koscove EM. Sepsis and septic shock. In: Brillman JC, Quenzer RW (eds). *Infectious Disease in Emergency Medicine*. Lippincott–Raven Publishers, Philadelphia 1998, pp. 129–146.
9. Carey MJ, Rodges M. Disseminated intravascular coagulation. *Biomedical Progress* 2001; 14:21–24.
10. Dhainaut JF, Yan SB, Claessens YE. Protein C/activated protein C pathway: overview of clinical trial result in severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32:194–201.
11. Lyseng–Williamson KA, Perry CM. Drotrecogin alfa (activated). *Drugs* 2002; 62:617–630.
12. Seligsohn U, Hoot WK. Disseminated Intravascular Coagulation. In: Beutler E, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT (eds). *Willams Hematology*. 7th edition. Mc Graw–Hill, Pensilvellia 2006, pp. 1959–1981.
13. Pugh M, Catherina L. DIC Screening in the Newborn. *Neonatal Network* 1997; 16:57–60.
14. Levi M, ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999; 341:586–592.
15. Kitchens CS. Disseminated intravascular coagulation. In: Kitchens CS, Alving BM, Kessler CM (eds). *Consultative hemostasis and thrombosis*. First edition WB. Saunders company, Philadelphia 2002, pp. 165–178.
16. Wada H. Disseminated intravascular coagulation. *Clinica Chimica Acta* 2004; 344:13–21.
17. Taylor FB, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation—on behalf of the Scientific Subcommittee on disseminated intravascular coagulation (DIC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). *Thromb Haemost* 2001; 86:1327–1330.
18. Mazza JJ. *Manual of Clinical Hematology*. Third edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; pp.186–95.

19. Hoffman M, Monrejo DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001; 85:958–65.
20. Kolde HJ. *Haemostasis* (2nd ed.). Pentapharm, Switzerland 2004.
21. Bach RR. Initiation of coagulation by tissue factor. *CRC Crit Rev Biochem* 1988; 23:339–368.
22. Levi M, van der Poll T. *Haemostasis and Coagulation*. In: Norton AJ, Bellinger RR, Chang AE, Lowry SF, Mulvihill SJ, Pass HI, Thompson RW (eds). *Surgery basic science and clinical evidence* Springer-Verlag, New York 2001, pp. 161–176.
23. Butenas S, Mann KG. *Blood Coagulation*. *Biochemistry* 2002; 67:5–15.
24. Tapper H, Herwald H. Modulation of hemostatic mechanisms in bacterial infectious diseases. *Blood* 2000; 1:2329–37.
25. Levi M, de Jonge E, van der Poll T. New treatment strategies for disseminated intravascular coagulation based on current understanding of the pathophysiology. *Ann Med* 2004; 36:41–49.
26. Rocha E, Paramo JA, Montes R, Panizo C. Acute generalized, widespread bleeding. Diagnosis and management. *Haematologica* 1998; 83:1024–1037.
27. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Çeviren: Çevikbaş U). Hemapoetik ve lenfoid sistem. *Temel Patoloji*. Altıncı baskı, Nobel tıp kitapevi, İstanbul 2000, s.340–392.
28. Levi M. Pathogenesis and treatment of DIC in septic patients. *J Crit Care* 2001; 16:167–177.
29. Ho LWW, Kam PCA, Thong CL. Disseminated intravascular coagulation. *Current Anaesthesia & Critical Care* 2005; 16:151–61.
30. Bakhshi S. Diagnosis and Treatment of Disseminated Intravascular Coagulation *Indian Pediatrics* 2003; 40:721–30.
31. Gondo S, Nanzaki S, Sasaki S, et al. Activation of the extrinsic coagulation pathway in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 1998; 26:2005–2009.

32. Wada H, Wakita Y, Shiku H, et al. Tissue factor–induced blood coagulation: Tissue factor expression in endothelial cells in health and disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995; 6:26–31.
33. Biemond BJ, Levi M, ten Cate H, et al. Complete inhibition of endotoxin induced coagulation activation in chimpanzees with a monoclonal Fab fragment against factor VII/VIIa. *Thromb Haemost* 1995; 73:223–230.
34. Taylor FB, Chang A, Ferrell G, et al. C4b–binding protein exacerbates the host response to *Escherichia coli*. *Blood* 1991; 78:357–63.
35. Vincent JL. Microvascular endothelial dysfunction: a renewed appreciation of sepsis pathophysiology. *Crit Care* 2001; 5:1–5.
36. Esmon CT. The normal role of activated protein C in maintaining homeostasis and its relevance to critical illness. *Crit Care* 2001; 5:7–12.
37. Bernard GR, Ely W, Wright TJ. Safety and dose relationship of recombinant human activated protein C for coagulopathy in severe sepsis. *Crit Care Med* 2001; 29:2051–2059.
38. Tak PP, Firestein GS. NF κ B: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107:7–11.
39. De Palo V, Kessler C, Opal SM. Success or failure in phase III sepsis trials: comparisons between the drotrecogin alfa (activated) and antitrombin III clinical trials. *Advances in sepsis* 2001; 1:114–124.
40. Ilias W, List W, Decruyenaere J, et al. Antitrombin III in patients with severe sepsis: a pharmacokinetic study. *Intensive Care Med* 2000; 26:704–715.
41. Kessler CM, Tang Z, Jacobs HM, Szymanski LM. The suprapharmacological dosing of antitrombin concentrate for staphylococcus aureus–induced disseminated intravascular coagulation in guinea pigs: substantial reduction in mortality and morbidity. *Blood* 1997; 89:4393–401.
42. Mesters RM, Mannuchi PM, Coppola R, Keller T, Osterman H, Kienast J. Factor VIIa and antithrombin III activity during severe sepsis and septic shock in neutropenic patients. *Blood* 1996; 88:881–6.

43. Bajaj MS, Birktoft JJ, Ster SA, Bajaj SP. Structure and biology of tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost* 2001; 86:959–972.
44. Levi M, ten Cate H, Bauer KA, et al. Inhibition of endotoxin-induced activation of coagulation and fibrinolysis by pentoxifylline or by monoclonal anti-tissue factor antibody in chimpanzees. *J Clin Invest* 1994; 93:114–120.
45. Gondo S, Nakanishi Y, Tedo I. Cytokines and plasminogen activator inhibitor-1 in posttrauma disseminated intravascular coagulation: relation ship to multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 1995; 23:1835–1842.
46. Thijs LG. Coagulation abnormalities in sepsis. *Biomedical Progress* 2001; 14:24–60.
47. Carey MJ, Rodgers M. Disseminated Intravascular Coagulation. *Biomedical Progress* 2001; 14:21–24.
48. Boldt J, Müller M, Heesen M, et al. Does long-term continuous administration of pentoxifylline affect platelet function in the critically ill patient? *Intensive Care Med* 1996; 20:644–650.
49. Albert J, Blomqvist H, Gardlund B, et al. Effect of antitrombin concentrate on haemostatic variables in critically patients. *Acta Anesthesiol Scand* 1992; 36:745–752.
50. Nakamura Y, Tomura S, Tachibana K, et al. Enhanced fibrinolytic activity during the course of hemodialysis. *Clinical Nephrology* 1992; 38:90–96.
51. ten Cate H, Bauer KA, Levi M, et al. The activation of factor X and protrombin by recombinant factor VIIa in-vivo is mediated by tissue factor. *J Clin Invest* 1993; 92:1207–1212.
52. Takahashi H, Wada K, Niwano H, et al. Comparison of protrombin fragment 1+2 with thrombin-antithrombin III complex in plasma of patients with Disseminated Intravascular Coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1992; 3:813–901.
53. Gando S, Tedo I, Kubo M, et al. Posttrauma coagulation and fibrinolysis. *Crit Care Med* 1992; 20:594–600.

54. Faust SN. Disseminated intravascular coagulation and purpura fulminans secondary to infection. *Bailliere's Clinical Haematology* 2000; 13:179-97.
55. Aird WC. Endothelial cell dynamics and complexity theory *Crit Care Med* 2002; 30:180–185.
56. Baglin T. Disseminated Intravascular Coagulation: Diagnosis and treatment. *Br Med J* 1996; 312:683–687.
57. Bick RL. Disseminated Intravascular Coagulation: objective clinical and laboratory diagnosis, treatment and assessment of therapeutic response. *Semin Thromb Hemostas* 1996; 22:68–88.
58. Sakuragawa N, Hasegawa H, Maki M, et al. Clinical evaluation of low molecular weight heparin (FR-860) on disseminated intravascular coagulation (DIC) multicenter co-operative double-blind trial comparison with heparin. *Thromb Res* 1993; 72:475–500.
59. Celkan T. Çocukluk çağında kalıtsal nedenli tromboz. *Türk Pediatri Arşivi* 2003; 38:131–45.
60. İba T, Kidokora A, Fukunaga M, et al. Activated Protein C improves the visceral microcirculation by attenuating the leukocyte–endothelial interaction in a rat lipopolysaccharide model. *Crit Care Med* 2005; 33:368–372.
61. La Rosa SP, Opal SM. Clinical trial of novel anticoagulants for severe sepsis: A Tale of three molecules. *Advances in Sepsis* 2004; 4:17–23.
62. Esmon CT, Xu J, Gu JM, et al. Endothelial protein C receptor. *Thromb Haemost* 1999; 82:251–8.
63. Uchiba M, Okajima K. Antithrombin III (AT III) prevents LPS-induced pulmonary vascular injury: Novel biological activity of AT III. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23:583–90.
64. McMaster P, Shann F. The use of extracorporeal techniques to remove humoral factors in sepsis. *Pediatric Critical Care Medicine* 2003; 4:2–7.

65. Levi M, de Jonge E, van der Poll T. Plasma and plasma components in the management of disseminated intravascular coagulation. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2006; 19:127–42.
66. Joyce DE, Gelbert L, Ciaccia A, et al. Gene expression profile of antithrombotic protein C defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis. *J Biol Chem* 2001; 276:199–203.
67. Fuse S, Tomita H, Yoshida M, et al. High dose intravenous antitrombin III without heparin in the treatment of DIC and failure in for children. *Am J Hematol* 1996; 53:18–21.
68. Minnema MC, Chang ACK, Jansen PM, et al. Recombinant human antitrombin III improves survival and attenuates inflammatory response in baboons lethally challenged. With E. Coli. *Blood* 2000; 95:1117–1123.
69. Kruger D. Acute systemic disseminated intravascular coagulation managing a complex medical condition. *JAAPA* 2006;19:28–32.
70. Karadoğan İ. Yaygın damar içi pıhtılaşması sendromu. II. Hematoloji İlk Basamak Kursu Bildiri Özet Kitabı, Kemer–Antalya 2002. s.37–45.
71. Hambleton J, Leung LL, Levi M. Coagulation: Consultative Hemostasis. *Hematology* 2002; 335–340.
72. Asakura H, Suga Y, Aoshima K, et al. Marked difference in pathophysiology between tissue factor and lipopolysaccharide–induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Crit Care Med* 2002; 30:161–164.
73. Munoz MC, Montes R, Hermida J, et al. Effect of the administration of recombinant hirudin and/or tissue–plasminogen activator (t–PA) on endotoxin–induced disseminated intravascular coagulation model in rabbits. *Br J Haematol* 1999; 105:117–121.
74. Gondo S, Nanzaki S, Sasaki S, Kemmotsu O. Significant correlations between tissue factor and thrombin markers in trauma and septic patients with disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 1998; 79:1111–5.

75. Hoppener MR, Büller HR. New anticoagulants and thromboprophylaxis. *Br J Surg* 2005; 92:259–261.
76. Levi M, de Jonge E, van der Poll T. Sepsis and disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Thrombolysis* 2003; 16:43–7.
77. Creasey AA, Chang ACK, Feigen L, Wun TC, Taylor FB Jr, Hinshaw LB. TFPI reduces mortality from *E. Coli* septic shock. *J Clin Invest* 1993; 91:2850–2860.
78. Taylor FB Jr, Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 2001; 86:1327–1330.
79. Harris RL, Musher DM, Bloom K, et al. Manifestation of sepsis. *Arch Intern Med* 1987; 147:1895–1906.
80. Septic Shock. In: Salyers AA, Whitt DD (eds). *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*. ASM Press, Washington DC 1994, pp. 56–60.
81. Dempfle CE: Coagulopathy of sepsis. *Throm Haemost* 2004; 91:213–224.
82. Asakura H, Takahashi Y, Kubo AS, et al. Immunoglobulin preparations attenuate organ dysfunction and hemostatic abnormality by suppressing the production of cytokines in lipopolysaccharide–induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Crit Care Med* 2006;34:2421–2425.
83. Biemond BJ, Levi M, Ten Cate H, et al. Plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor I release during experimental endotoxaemia in chimpanzees: Effect of interventions in the cytokine and coagulation cascades. *Clin Sci* 1995; 88:587–597.
84. van der Poll T, Buller HR, ten Cate H, et al. Activation of coagulation after administration of tumor necrosis factor to normal subjects. *N Engl J Med* 1990; 322:1622–1627.
85. Jagneaux T, Taylor DE, Kantrow SP. Coagulation in Sepsis. *Am J Med Sci*. 2004; 328:196–204.

86. Taylor FB Jr, Chang A, Esmon CT, D'Angelo A, Vigano-D'Angelo S, Blick KE. Protein C prevents the coagulopathic and lethal effects of Escherichia coli infusion in the baboon. *J Clin Invest* 1987; 79:918–925.
87. Welty-Wolf KE, Carraway MS, Miller DL, et al. Coagulation blockade prevents sepsis-induced respiratory and renal failure in baboons. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164:1988–96.
88. Dhainaut JF, Yan SB, Joyce DE, et al. Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost* 2004; 2:1924–33.
89. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001; 344:699–709.
90. Madoiwa S, Nunomiya S, Ono T, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 promotes a poor prognosis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol* 2006; 84:398–405.
91. Gogos CA, Lekkou A, Papageorgou O, et al. Clinical prognostic markers in patients with severe sepsis: a prospective analysis of 130 consecutive cases. *J Infect* 2003; 47:300–306.
92. Trevor B. Disseminated intravascular coagulation: diagnosis and treatment *BMJ* 1996; 312:683–686.
93. Siegal T, Seligsohn U, Agahi E, Modan M. Clinical and laboratory aspects of DIC: A study of 118 cases. *Thromb Haemost* 1978; 39:122–34.
94. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991; 115:457–469.
95. Rodger LB, Frenkel BA, Frenkel EP. Disseminated intravascular coagulation: clinical and pathophysiological mechanisms and manifestations. 15 th International congress of Thrombosis. Stockholm. Abstract Books 1998; 13:66–69.
96. Vanderschueren S, De Weerd A, Malbrain M, et al. Thrombocytopenia and prognosis in intensive care. *Crit Care Med* 2000; 28:1871–1876.
97. Rodge LB. Syndromes of disseminated intravascular coagulopathy in obstetrics, pregnancy and gynecology. *Hemat Onc Clin N Am* 2000; 10:999–1044.

98. Aoki Y, Oto M, Katsuura Y, Komoriya K, Nakagaki T. Effect of activated human protein C on disseminated intravascular coagulation induced by lipopolysaccharide in rats. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* 2000; 50:809–815.
99. Martin MA. Epidemiology and clinical impact of gram-negative sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1991; 5:739–752.
100. Yan SB, Helterbrand JD, Hartman DL, et al. Low levels of protein C are associated with poor outcome in severe sepsis. *Chest* 2001; 120:915–922.
101. Wada H, Mori Y, Okabayashi K, et al. High plasma fibrinogen level is associated with poor clinical outcome in DIC patients. *Am J Hematol* 2003; 72:1–7.
102. Fourrier F, Jourdain M, Tournoy A. Clinical trial results with antithrombin III in sepsis. *Crit Care Med* 2000; 28:38–43.
103. Roemisch J, Gray E, Hoffmann JN, Wiedermann CJ. Antithrombin: a new look at the actions of a serine protease inhibitor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13:657–670.
104. Mammen EF. Antithrombin: its physiological importance and role in DIC. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24:19–25.
105. Okajima K, Uchiba M. The inflammatory properties of antithrombin III: New therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24:27–32.
106. Fourier F, Chopin C, Huart JJ, et al. Double-blind, placebo-controlled trial of antitrombin III concentrates in septic shock with disseminated intravascular coagulation. *Chest* 1993; 104:882–888.
107. Warren BL, Eid A, Singer P, et al. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 286:1869–1878.
108. de Jonge ELM, Christiaan SP, van Deventer SJH. Current Drug treatment strategies for disseminated intravascular coagulation. *Drugs* 1998; 55:767–777.
109. Kreuz WVA, Fischer D, Schlosser R, Volk WR, Ettingshausen LE. Neonatal sepsis. A challenge in hemostaseology. *Semin Thromb Hemost.* 1999; 25:531–534.

110. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989; 264:4743–4746.
111. Henneke P, Golenbock DT. Innate immune recognition of lipopolysaccharide by endothelial cells. *Crit Care Med* 2002; 30:207–213.
112. Levi M, ten Cate H, van der Poll T. Disseminated intravascular coagulation: State of the art. *Thromb Haemost* 1999; 82:695–705.
113. Aoki N, Matsuda T, Saito H, et al. A comparative double-blind randomized trial of activated protein C and unfractionated heparin in the treatment of disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol* 2002; 75:540–547.
114. Gando S, Nakanishi Y, Tede I. Cytokines and plasminogen activator inhibitor-1 posttrauma disseminated intravascular coagulation: Relationship to multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 1995; 23:1835–1842.
115. White B, Schmidt M, Murphy C, et al. Activated protein C inhibits lipopolysaccharide induced nuclear translocation of nuclear factor kB (NF-kB) and tumor necrosis factor (TNF-alpha) production in the THP-1 monocytic cell line. *Br J Haematol* 2000; 110:130–134.
116. Mizutani A, Okajima K, Uchiba M, et al. Activated protein C reduces ischemia/reperfusion induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation. *Blood* 2000; 95:3781–3787.
117. Yamaguchi Y, Hisama N, Okajima K, et al. Pretreatment with activated protein C or active urinary thrombomodulin attenuates the production of cytokine -induced neutrophil chemoattractan following ischemia reperfusion. *Hepatology* 1997; 25:1136–1140.
118. Murakami K, Okajima K, Uchiba M. Activated protein C attenuates endotoxin-induced pulmonary vascular injury by inhibiting activates leukocytes in rats. *Blood* 1996; 87:642–647.
119. Yamanel L, Mas MR, Cömert B, et al. The effect of activated protein C on experimental acute necrotizing pancreatitis. *Critical Care* 2005; 9:184–190.

120. White B, Schmidt M, Murphy C, et al. Activated protein C inhibits lipopolysaccharide induced nuclear translocation of nuclear factor kB (NF-kB) and tumor necrosis factor (TNF-alpha) production in the THP-1 monocytic cell line. *Br J Haematol* 2000; 110:130-134.
121. Johnson K, Aerden L, Choi Y, et al. The proinflammatory cytokine response to coagulation and endotoxin in whole blood. *Blood* 1996; 87:5051-5060.
122. van der Poll T, Levi M, Hack CE. et al. Elimination of interleukin 6 attenuates coagulation activation in experimental endotoxemia in chimpanzees. *J Exp Med* 1994; 179:1253-1259.
123. Marshall JC. Inflammation, coagulopathy and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 2001; 29:99-106.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Abdullah ŞAHİN'in Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı "**Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Dissemine İntravasküler Koagülasyonda Aktive Protein C'nin Etkisi**" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih :28/06/2007

imza

Başkan : Prof.Dr. Yücel ARITAŞ



Üye : Prof.Dr. Zeki YILMAZ



Üye :Prof.Dr.Erdoğan M.SÖZÜER



Üye : Prof.Dr. Halit MADENOĞLU



Üye : Doç. Dr. Engin OK

