



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

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSSEL
İNTRAABDOMİNAL KAYNAKLI SEPSİS
MODELİNDE MET-RANTES'İN AKCİĞERLER
ÜZERİNE ETKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
DR. MEHMET AKİF YÜCEL**

KAYSERİ – 2006



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

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
İNTRAABDOMİNAL KAYNAKLI SEPSİS
MODELİNDE MET-RANTES'İN AKCİĞERLER
ÜZERİNE ETKİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
DR. MEHMET AKİF YÜCEL**

**DANIŞMAN
PROF. DR. ERDOĞAN M. SÖZÜER**

KAYSERİ – 2006

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	IV
TABLO LİSTESİ	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VII
RESİM LİSTESİ	VIII
GRAFİK LİSTESİ	IX
TEŞEKKÜR	X
ÖZET	XI
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sepsis Tanımlamaları.....	3
2.2. Sepsis’de Etiyoloji.....	6
2.3. Endotoksin.....	9
2.4. Sepsisin Fizyopatolojisi.....	11
2.5. Sepsis Mediatörleri ve Etkileri.....	13
2.6. Sitokin Biyolojisi.....	19
2.7. İnterlökin-6.....	21
2.8. Tömür Nekroz Faktör.....	23
2.9. Sepsiste Hemodinamik Durum ve Doku Oksijenasyonu.....	26
2.10. Sepsis ve Pulmoner Yetmezlik.....	28
2.11. Akut Respiratuar Yetmezlik Sendromunda Tanı Kriterleri.....	29
2.12. Akut Respiratuar Yetmezlik Sendromunun Fizyopatolojisi.....	29
2.13. Akut Respiratuar Yetmezlik Sendromunun İnflamatuar Mediatörleri	30
2.14. Miyeloperoksidaz Enziminin Özellikleri.....	33

2.15. Bronkoalveolar Lavaj.....	35
2.16. Rantes.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
4. BULGULAR	47
4.1. Biyokimyasal Bulgular	47
4.2. BAL Sıvısında Total Hücre Sayısı.....	48
4.3. Morfolojik Bulgular	49
4.4. Histopatolojik İnceleme Sonuçları.....	49
4.5. Kan Gazı Sonuçları	50
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR.....	64
7. KAYNAKLAR.....	66

ONAY SAYFASI

KISALTMALAR

ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AIDS	: Edinsel immün bağıklık sendromu
APACHE	: Akut fizyolojik ve kronik sağlık skorlaması
APTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
ARDS	: Erişkin sıkıntılı solunum sendromu
ATP	: Adenozin trifosfat
BAL	: Bronkoalveoler lavaj
BK	: Beyaz küre
cAMP	: Siklik adenosin monofosfat
cGMP	: Siklik guanosin monofosfat
CVP	: Santral venöz basınç
DIC	: Yaygın intravasküler koagülasyon
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşeme faktörü
FiO₂	: İnspiryum havasındaki oksijen oranı
GMCSF	: Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
H&E	: Hematoksilen – Eosin
HOCl	: Hipoklorik asit
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
INF	: İnterferon
LBP	: Lipopolisakkarid bağlayıcı protein
LPS	: Lipopolisakkarid
LT	: Lökotrien

MHC	: Majör histokompatibilite
MODS	: Multipl organ disfonksiyon sendromu
MPO	: Miyeloperoksidaz
NADPH	: Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat
NEK	: Nekrotizan enterokolit
PaCO₂	: Parsiyel karbondioksit basıncı
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PaO₂	: Parsiyel oksijen basıncı
PBF	: Trombosit aktive edici faktör
PG	: Prostoglandin
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
PT	: Protrombin zamanı
SIRS	: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
SVR	: Sistemik damar direnci
TNF	: Tümör nekrotize edici faktör
Tx	: Trombaksan

TABLULAR LİSTESİ

Tablo-1 : Enfeksiyon, SIRS, Sepsis, Septik Şok ve MODS'a ilişkin kriterler	4
Tablo-2 : Gram (-) sepsisin gelişmesi için risk faktörleri	8
Tablo-3 : Sepsisin mediatörleri ve etkileri	13
Tablo-4 : İnflamatuar özelliklerine göre bazı sitokinlerin sınıflandırılması	20
Tablo-5 : TNF'nin etkileri	26
Tablo-6 : Sepsiste nötrofil ve sitokinlere bağlı ALI/ARDS	34
Tablo-7 : BK, TNF- α ve IL-6 sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	48
Tablo-8 : BAL sıvısında total hücre sayımının sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	48
Tablo-9 : Akciğer dokusunda MPO sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	49
Tablo-10 : Tüm gruplar için histopatolojik skora sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	49
Tablo-11 : Kan gazı sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil-1	: SIRS, sepsis ve enfeksiyon arasındaki ilişki	3
Şekil-2	: SIRS'nun gelişmesi	6
Şekil-3	: Etyolojik etkenler	7
Şekil-4	: Septik şokun patogeneğinde sitokinlerin ve humöral faktörlerin etkileşimleri	8
Şekil-5	: Sepsisin fizyopatolojisi.....	9
Şekil-6	: Bakteriyel LPS şematik yapısı.....	10
Şekil-7	: Sepsiste TNF, IL-1, IL-6 fonksiyonları.....	11
Şekil-8	: Sepsis ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı	12
Şekil-9	: Bakteriyemiye izleyen ve akut akciğer hasarı ile sonuçlanan biyolojik olaylar zinciri	31
Şekil-10	: Aktive olmuş nötrofillerde reaktif oksijen metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olan reaksiyonlar	32

RESİMLER LİSTESİ

Resim-1 : Ağır sepsis göstergeleri.....	28
Resim-2 : İntraperitoneal LPS ve Met-rantes uygulanması.....	42
Resim-3 : Trakeanın ortaya çıkarılması.....	43
Resim-4 : BAL yapılışı	44
Resim-5 : Normal rat akciğerinin mikroskopik görünümü.....	54
Resim-6 : Sepsis grubunda akciğer kesitlerinde şiddetli hemorajinin mikroskopik görünümü	54
Resim-7 : Sepsis grubunda akciğer kesitlerinde hemoraji ve nötrofil hakimiyetinin mikroskopik görünümü.....	55
Resim-8 : Met-rantes grubunda akciğer kesitlerinde nötrofil hakimiyetinin mikroskopik görünümü.....	55
Resim-9 : Met-rantes grubunda akciğer kesitlerinde nötrofil hakimiyetinin mikroskopik görünümü.....	55

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik-1 : BK seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	51
Grafik-2 : TNF- α seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	52
Grafik-3 : IL-6 seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	52
Grafik-4 : Kan gazı pH seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	52
Grafik-5 : Kan gazı PO ₂ seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	53
Grafik-6 : Kan gazı PCO ₂ seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması	53
Grafik-7 : BAL sıvısında total hücre sayımı sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması.....	53
Grafik-8 : Akciğer dokusunda MPO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması .	54

TEŞEKKÜR

Çalıőmamda beni destekleyen ve yönlendiren Prof. Dr. Erdoğan M. SÖZÜER'e, eğitimimde emeği geçen Genel Cerrahi Anabilim Dalı Hocalarıma, çalışma arkadaşlarıma, çalıőmamın her aşamasında yanımda olan aileme ve değerli eşim Nalan YÜCEL'e içtenlikle teşekkür ederim.

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL İNTRAABDOMİNAL KAYNAKLI SEPSİS MODELİNDE MET-RANTES'İN AKCİĞERLER ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Bu deneysel çalışma Temmuz–Ağustos 2005 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) gerçekleştirildi.

Amaç: LPS ile indüklenen deneysel intraabdominal sepsis modeli çalışmasının amacı, bir kemokin reseptör antagonisti olan Met-Rantesin gelişen akciğer patolojilerine olan etkilerini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmada ağırlığı 220–290 gram arasında değişen 30 adet erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar her birinde 10'ar adet olacak şekilde Sham, Sepsis ve Met-Rantes grupları oluşturuldu. Sepsis grubuna 500 µgr / kgr dozda olacak şekilde LPS intraperitoneal olarak verildi. Met-Rantes grubuna aynı şekilde 500 µgr/kgr LPS uygulandıktan sonra 500 µgr/kgr dozunda Met-Rantes intraperitoneal olarak uygulandı. Uygulamaların başlangıcından 2 saat sonra ketamin anestezisi altında bronkoalveoler lavaj (BAL) yapıldı. Ayrıca beyaz küre (BK) sayısı, TNF-α IL-6 ve kan gazı analizleri için kan örneği alındı. BAL örneklerinden total hücre sayımı yapıldı. Sağ akciğer dokusundan myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, sol akciğer dokusundan histopatolojik değerlendirmeler yapıldı.

Sonuçlar:

Sepsis ve Met-Rantes gruplarında nötrofil sayıları Sham grubundan belirgin olarak yüksekti. Serum IL-6 düzeyleri karşılaştırıldığında sepsis ve Met-Rantes gruplarında sham grubuna göre belirgin olarak daha yüksek değerler görüldü (P<0.001).

Serum TNF-α seviyeleride benzer şekilde sepsis ve Met-Rantes gruplarında sham grubundan daha yüksek bulundu (P<0.001).

Met-Rantes grubunda , TNF-α ve IL-6 düzeylerinin azalması, Met-Rantesin etkisinin sonucu olarak değerlendirildi.

Miyeloperoksidaz aktivitesi sham grubuna göre sepsis ve Met-Rantes gruplarında anlamlı düzeyde yüksekti ($P<0.001$).

İnterstisiyel akciğer ödemi yönünden gruplar arasında herhangi bir fark izlenmedi ($P>0.05$). Alveoler hemoraji ve nötrofil infiltrasyon oranları sepsis grubunda metrantes grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek saptandı ($P<0.001$).

Kan gazları analizinde pH ve PaO₂ değerleri sepsis ve Met-Rantes gruplarında sham grubuna göre belirgin olarak düşüktü ($P<0.001$). Gruplar arasında PaCO₂ değerleri açısından istatistiksel olarak fark gözlenmedi ($P>0.05$).

Met-Rantes grubunda, TNF- α ve IL-6 düzeylerinin azalması, Met-Rantesin etkisinin sonucu olarak değerlendirildi. Bu iki parametrenin seri ölçümlerinin, sepsisin klinik gidişinin göstergesi olarak değerlendirilebileceği ve Met-Rantes kullanımı ile sepsiste proinflamatuvar sitokinlerin salınımının engellenebileceği gösterildi.

Sonuç:

Bu çalışmada LPS ile indüklenen akciğer hasarının Met-Rantes ile tedavi edilen sıçanlarda azaldığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Met-Rantes, TNF- α , IL-6, Sepsis, Akciğer Hasarı

EFFECTS OF MET-RANTES ON LUNGS IN AN EXPERIMENTAL INTRAABDOMINAL SEPSIS MODEL IN RATS

ABSTRACT

This experimental study has been performed in Hakan Çetinsaya Experimental and Clinical Research Center (DEKAM) at Erciyes University Medical Faculty between July and August 2005.

Aim: The aim of this experimental intraabdominal sepsis model study that induced by LPS is to investigate the effect of metranter which is a chemokine receptor antagonist, on lung pathology.

Materials and Methods: Thirty male Wistar – Albino rats weighing between 220 and 290 grams were used in the study. Rats were divided in to three groups as sham, sepsis and Met-Rantes groups. Every group was containing 10 rats in each. LPS at a dose of 500 µgrams / kgr was administired intraperitoneally in sepsis group. In metranter group, metranter was given at a dose of 500 µgrams / kgr following sepsis that induced by 500 µgrams / kgr LPS.

BAL performed under ketamine anesthesia and blood samples collected for white blood cell count, TNF- α , IL-6 and blood gases analysis two hours after the initial intervention.

Total cell count were studied from BAL samples. Myeloperoxidase (MPO) activity was measured from right lung tissue and histopathologic evaluation was performed from left lung samples.

Results:

Neutrophil count was significantly higher in sepsis and metranter groups than sham group (P<0.001). When compared, sepsis and Met-Rantes groups' blood IL-6 levels were significantly higher than sham group (P<0.001).

Blood TNF- α levels were also significantly higher in sepsis and Met-Rantes groups, when compared to sham group (P<0.001). MPO activity was higher in sepsis and Met-Rantes groups, when compared to sham group (P<0.001).

There was no difference regarding interstitial edema of the lungs between the groups ($P>0.05$). Alveolar hemorrhage and neutrophil infiltration rates were significantly higher in sepsis group when compared to metranes group ($P<0.001$).

When blood gases analysed pH and PaO₂ values were significantly lower in sepsis and Met-Rantes groups than sham group ($P<0.001$). PCO₂ levels were not statistically different among all groups ($P>0.05$).

In Met-Rantes group, decreased TNF- α and IL-6 levels associated as the result of Met-Rantes effects. The serial measurements of these two parameters showed that they can be used as the markers of sepsis and prevented by Met-Rantes.

Conclusion:

In this study, we demonstrate that development of lung injury due to sepsis that induced by LPS, is decreased in metranes treated rats.

Key words: Met-Rantes, TNF- α , IL-6, Sepsis, Lung Injury

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, mikroorganizma ve toksinlerine karşı organizmanın geliştirdiği sistemik yanıt olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde medikal uygulamadaki gelişmelere rağmen tüm dünyada önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir (1, 2, 3, 4). Yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastaların en yaygın sebebi septik şoktur (5). Septik şokun, yoğun bakım ünitelerinde en sık ölüm nedeni olduğu ve tüm ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada bulunduğu bildirilmektedir (6).

Sepsiste altta yatan nedenler arasında bakteriyel enfeksiyonlar bulunur. Genel olarak en fazla gram negatif bakteri ve bunların endotoksinleri tarafından oluşturulduğu kabul edilmektedir (7, 8). Endotoksin, sepsisteki olaylar dizisini başlatan anahtar moleküldür. Bu lipopolisakkarid deney hayvanlarına verildiğinde interstisyel pnömonitis (ARDS), akut tübüler nekroz, koagülopati ve hipoglisemi gibi letal etkiler izlenmiştir (9, 10). Yabancı mikroorganizmalar ve onların endotoksin gibi ürünlerinin konakçı organizmanın hücrel defans mekanizmalarını tetikleyerek tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi “erken yanıt sitokinleri” ile birlikte, çok sayıda inflamatuvar mediatörü aktive ettikleri saptanmıştır (11, 12). Bunlar arasında pek çok karmaşık ilişkiler ortaya çıkmakta, nötrofiller aşırı ve kontrolsüz biçimde aktifleşmekte, kompleman sistemi, trombosit agregasyonu, araziidonik asit metabolizması uyarılmakta ve sonuç olarak hedef durumdaki mikrovasküler endotel hasarı meydana gelmektedir (12).

Sayıları artan ve aktifleşen nötrofiller, başlangıçta kapiller oklüzyona ve buna bağlı iskemi-reperfüzyon hasarına neden olmakta, daha sonra açığa çıkan adezyon molekülleri ile nötrofiller mikrovasküler endotele yapışmakta ve lizozomlardaki enzimlerin aktivasyonu ile bazal membranı parçalamaktadır (13). Gelişen endotel hasarı

ve doku perfüzyonunda azalma neticesinde çeşitli organ fonksiyonlarında bozulma meydana gelmektedir. Fonksiyonu bozulan her organ ya da sistem, diğer organ ya da sistemlere yük oluşturmaktadır. Sonuçta organizma, multipl organ yetmezliği ile kaybedilmektedir. Fonksiyonu bozulan ya da yetmezliğe giren ilk organ genellikle akciğerdir. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda alveoler kapillerde yoğun nötrofil sekestrasyonunun olduğu gösterilmiştir (14).

TNF, IL gibi sitokinlerin ve nötrofillerin sepsis ve multipl organ yetmezliği sendromu fizyopatolojisindeki rollerinin belirlenmiş olması sepsiste klasik sağaltımın yanı sıra sistemik inflamatuvar yanıtın module edilmesine yönelik yaklaşımların popülarite kazanmasına yol açmıştır (7, 11). Sepsiste nötrofil davranışlarının düzenlenebilmesinin ARDS fizyopatolojisini anlamlı boyutta etkileyebileceği hipotezini destekleyen ve reddeden çalışmalara ait çelişkili sonuçlar vardır (14, 15, 16). Bu sonuçlar, klinikte sık karşılaşılan intraabdominal sepsiste ilk etkilenen organlardan biri olan akciğerler üzerine odaklanmamıza neden olmuştur.

LPS ve proinflamatuvar sitokinler, Rantes, TNF ve IL'ler mortaliteyi arttırmada sinerjizm gösterirler. Bundan dolayı sepsis süresince proinflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımı kötü gidişten sorumlu en önemli faktördür (17). Rantes, T lenfositleri, monositleri, bazofilleri, eozinofilleri ve NK hücreleri arasında farklı kimokin reseptörleri vasıtasıyla alışverişe aracılık eden sitokindir (18, 19, 20). T hücresi proliferasyonunu ve apoptozisi aktive eder. Rantes, CCR1, CCR3 ve CCR5 reseptörlerinin ligandıdır ve glomerülonefrit, adjuvan kaynaklı artrit, inflamatuvar barsak hastalığı ve pankreatit, akut renal transplant rejeksiyonu gibi inflamatuvar hastalıklarda, invivo artmış ekspresyonu görülmüştür (21).

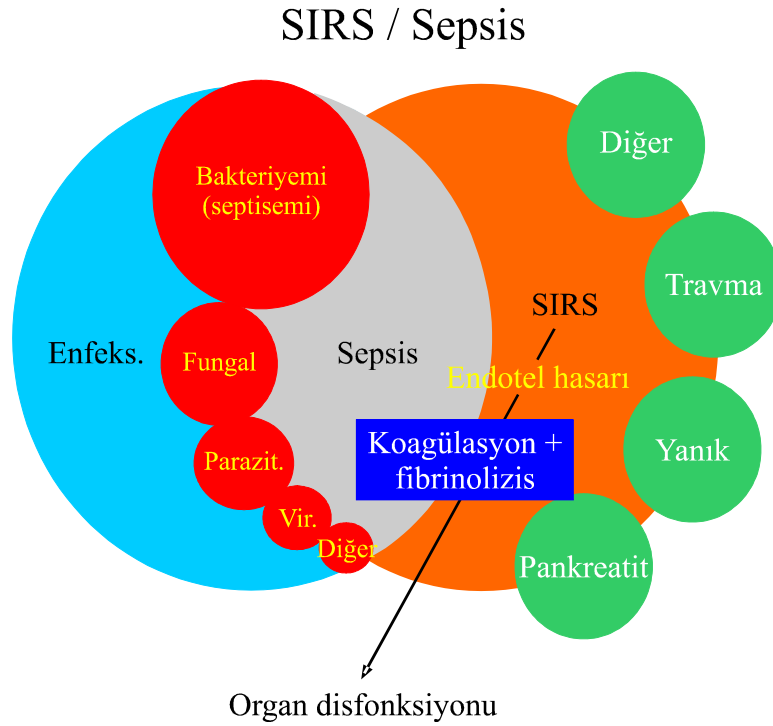
Met-Rantes, rekombine rantesin sentezi sırasında ürünün sonuna tek metionin eklenmesiyle ortaya çıkan Rantes antagonistidir (22).

Bu çalışmada, deneysel yolla sepsis oluşturduğumuz sıçanlarda, sepsis sonucu gelişen akciğer komplikasyonları üzerine Met-Rantes'in etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SEPSİS TANIMLAMALARI

Sepsise eşlik eden klinik tabloyu ilk kez, M.Ö. 400 yılında tanımlayan Hippocrates, “akut bir hastalıkta ekstremitelerin soğuması kötü bir belirtidir” ifadesini kullanmıştır (23). Bu tanımlamadan yaklaşık 24 asır sonra günümüzde, sepsis fizyopatolojisindeki gelişmelere karşın, terminolojideki karmaşanın sürdüğü gözlenmektedir. 1991 yılında Society of Critical Care Medicine ve American Collage of Chest Physicians’ın konsensus toplantısında enfeksiyon, bakteriyemi, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) , sepsis, septik şok ve multipl organ disfonksiyon sendromuna (MODS) ilişkin evrensel tanımlamalar geliştirilmiştir (Şekil 1) (Tablo 1) (24)



Şekil-1: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS), sepsis ve enfeksiyon arasındaki ilişki (24).

ENFEKSİYON	Mikroorganizma varlığına veya normalde steril olan konakçı dokunun bu organizmalarla invazyonuna karşı gelişen inflamatuvar yanıtla karakterli mikrobiyal fenomen
BAKTERİYEMİ	Kanda canlı bakteri varlığı
SIRS	Sistemik inflamatuvar yanıttır. Aşağıdakilerden iki veya daha fazlası ile karakterize olur. a-Rektal vücut ısısı :>38 °C veya <36 °C b-Kalp atım hızı >90 atım/dk c-Solunum hızı >20/sol/dk veya PaCO ₂ <32mmHg d-Lökosit sayısı>12000 hücre/mm ³ veya <4000 hücre/mm ³ yada %10 immatür (band) formda
SEPSİS	Dökümente edilmiş enfeksiyonla birlikte olan SIRS
CİDDİ SEPSİS	Organ disfonksiyonu, hipoperfüzyon veya hipotansiyonun eşlik ettiği sepsis. Hipoperfüzyon veya mental durumda akut bir değişikliği içerebilir, ama bunlarla sınırlı değildir.
SEPTİK ŞOK	Bilinen başka bir neden söz konusu olmaksızın sepsiste yeterli sıvı resüsitasyonuna karşın hipotansiyon (SAB<90mmHg veya SAB'da başlangıç değerine kıyasla 40 mmHg'lik bir düşüş) ile birlikte organ disfonksiyonu ve perfüzyon bozukluklarının (laktik asidoz oligüri veya mental durumda akut bir değişiklik) varlığı
MODS	Organ disfonksiyonlarının, homeostazisi sürdüremediği fizyolojik düzensizlik durumu

Tablo–1: Enfeksiyon, Bakteriyemi, Sistemik Inflamatuvar Yanıt Sendromu, Sepsis, Ciddi Sepsis, Septik Şok ve Multipl Organ disfonksiyon Sendromuna İlişkin Kriterler (24).

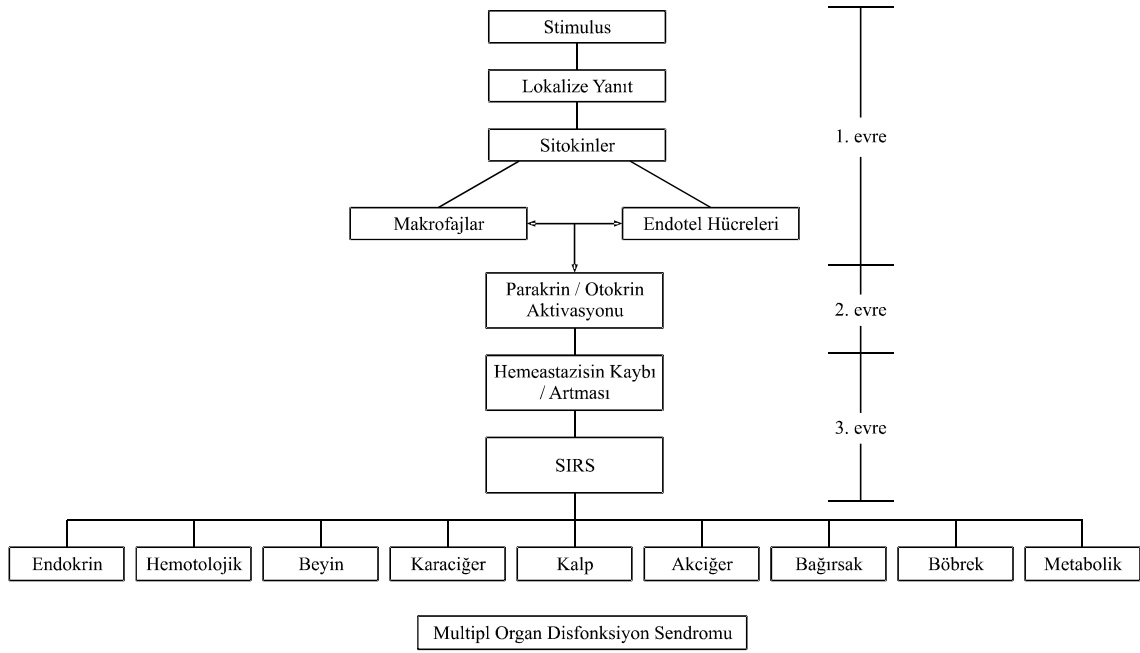
Vücutun kendini savunabilmesi ;

- İnvazyon ve doku hasarına karşı eksternal bariyerleri,
- Yabancı patojenler ve doku artıklarına karşı non spesifik sistemleri,
- Ajan patojenlere karşı antijen-spesifik yanıtları içeren 3 temel mekanizma ile sağlanmaktadır(25).

Organizmanın yabancı patojenler veya doku artıklarına karşın nonspesifik bir defans mekanizmasını oluşturan inflamasyon: mekanik, kimyasal ve mikrobiyal stimuluslarla oluşan doku hasarlanmasına başlangıçta verdiği, hızla artan, hümmoral ve sellüler bir yanıtıdır (26). Söz konusu uyarılara karşı başlangıçta ortaya çıkan ve koruyucu bir fizyolojik yanıt olan lokal inflamasyon, bu lokal kontrolün kaybı veya aşırı bir aktivite oluşması sonucunda, klinikte SIRS olarak tanımlanan artmış bir sistemik yanıtı yol açmaktadır. SIRS; enfeksiyon (virüs, bakteri, protozoa, fungus) sonrasında gelişebildiği gibi; travma, otoimmün reaksiyonlar, siroz ve pankreatit benzeri nonenfeksiyöz etmenlerden de kaynaklanabilir (Şekil 1)(23, 24). Bone, SIRS gelişiminde 3 evre tanımlamıştır. (Şekil-1): I. Evre'de hasar bölgesinde, stimulusa yanıt olarak, başlıca etkileri inflamatuvar yanıtı uyarmak, yara onarımını artırmak ve retikuloendoteliyal hücre gereksinimi sağlamak olan sitokinleri üretir (24).

II. Evre'de lokal yanıtı artırmak amacıyla, sitokinlerin küçük bir miktarı dolaşıma girer. Makrofajlar ve trombositler sağlanırken, büyüme faktörlerinin üretimi stimüle edilir ve bir akut faz yanıtı başlayabilir. Bu evrede, sitokin yanıtının patolojik veya anormal olduğu düşünölmeyebilir. Aksine vücutun ana savunma hattının bir bölümü olarak kabul edilmelidir. Akut faz reaksiyonu proinflamatuvar mediyatörlerde azalma ve interlökin -1 reseptör antagonistleri (IL-1 ra) gibi endojen antagonistlerde eşzamanlı bir artma ile kontrol edilir. Bu sitokin yanıtı, normal koşullarda diğer sitokinleri, reseptör antagonistlerini ve antikorları içeren karmaşık bir mediatör ağı ile regüle edilmektedir. Bu mediyatörler sitokin üretimini azaltarak ve daha önce serbestleşen sitokinlere karşıt bir etki oluşturarak, başlamış olan inflamatuvar yanıtı kontrol altında tutarlar. Bu yolla yara iyileşmesi, enfeksiyonun kontrol altına alınması ve homeostazisin restore edilmesi sağlanabilir. Homeostazisin yeniden sağlanmasının başarısız olduğu durumlarda masif bir

sistemik reaksiyon oluşmasıyla III. Evre (SIRS) gelişir. Bu evrede sitokinlerin hakim olan etkileri koruyucu olmaktan çok yıkıcı olmaya başlar. İnflamatuar mediyatör seli, çok sayıda hümmoral kaskadı tetikleyerek mikrosirkulatuar bütünlüğün kaybı ile retiküloendotelial sistemde inatçı bir aktivasyona yol açar (26).



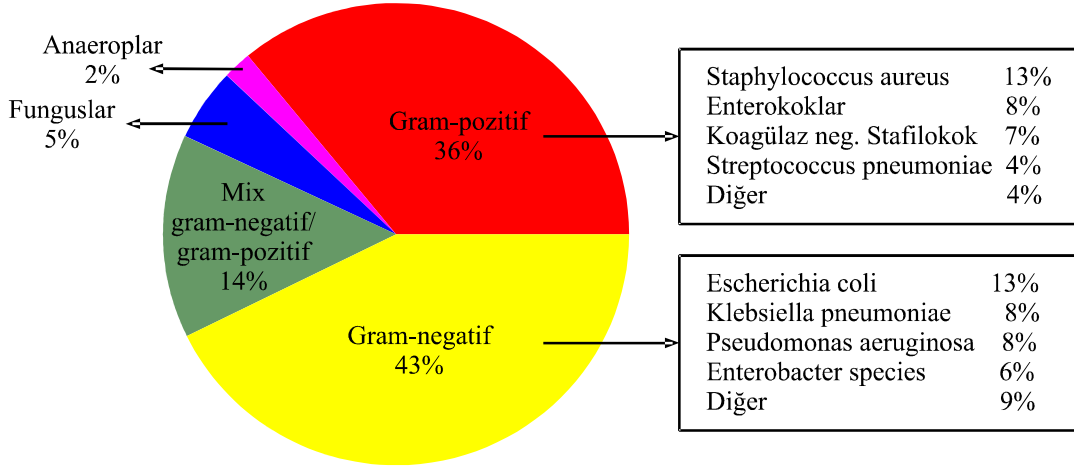
Şekil-2: Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromunun Gelişmesi (24).

2.2. SEPSİSTE ETİYOLOJİ:

Gram negatif bakteriler insanda alt gastrointestinal sistem florasında bulunmaktadır. Konak ve patojen arasındaki bariyer oldukça iyidir ve predispozan bir durum bulunmadıkça enfeksiyon beklenmez. Ne zaman bariyer aşılr (medikal veya cerrahi uygulamalar) gram negatif bakteriler daha önce kolonizasyonu olmayan dokulara yayılırlar, özellikle de büyümekte olan hücelere invazyon gösterir. Çoğu gram negatif enfeksiyonları üriner, genital, alt solunum yolları, peritoneal kavite, yumuşak doku ve cerrahi yaralanmalardan orjin almaktadır (Tablo 2) (27).

Her gram negatif enfeksiyonun görüldüğü bölgede bakteriyemi ortaya çıkmaz. Ancak gram negatif enfeksiyonlarda bakteriyemi bulunması halinde mortalite % 10 oranında artmakta, immün suprese hastalarda ise bu oran % 30'a çıkmaktadır (28).

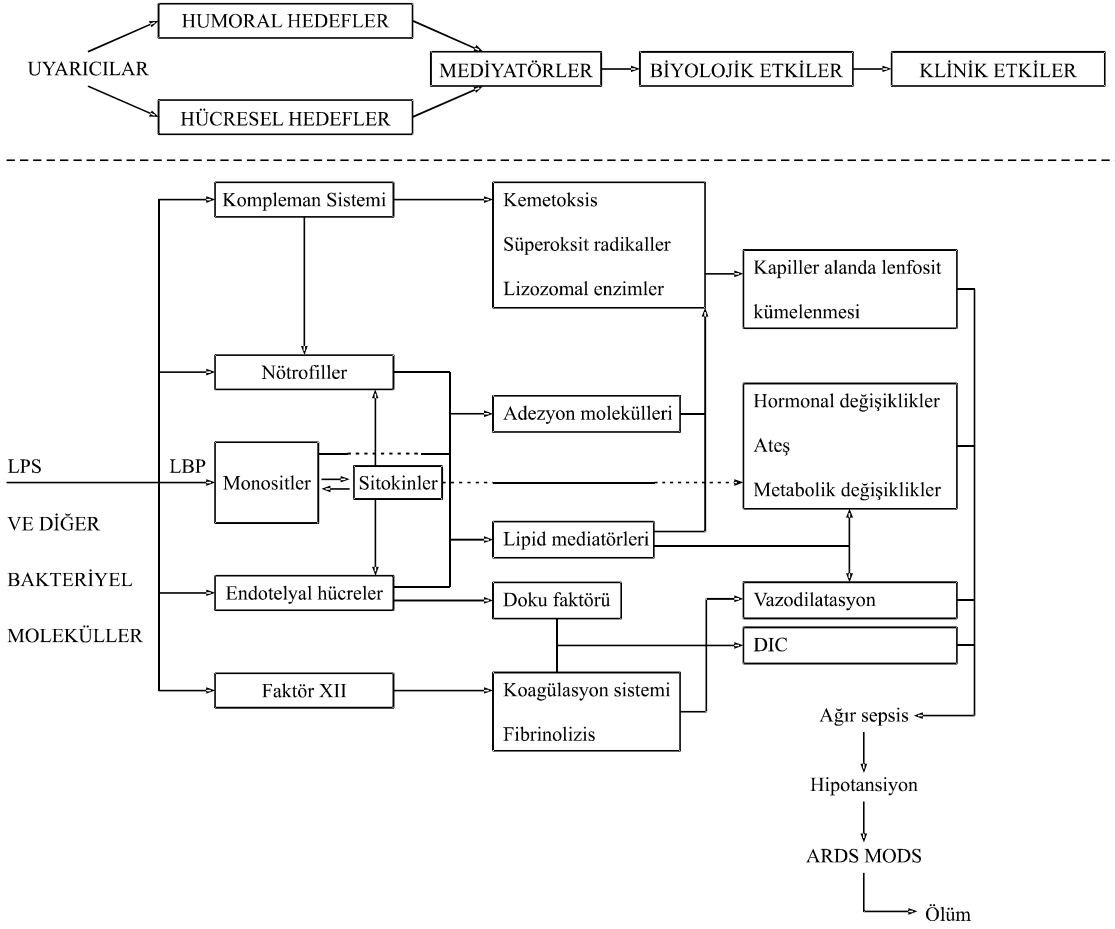
Gram negatif bakterilerin ana kaynağı barsaklardır. Bu mikroorganizmalar yanık, travma, obstrüksiyon, total parenteral nütrisyon, tıkanma sarılığı gibi pek çok patolojik durumda sağlam olan barsak duvarını geçerek mezenterik lenf nodülerine, portal ven yoluya karaciğere ve sistemik dolaşıma katılarak sepsise neden olurlar (Şekil-3) (29).



Şekil-3: Etiyolojik Etkenler (29).

Bakterilerin intakt barsak lümenini geçerek sistemik dolaşıma katılmasına “bakteriyel translokasyon” adı verilmektedir. Bu geçişin neden olduğu tüm olaylar aynı zamanda bir sepsis nedenidir. Öte yandan sepsisin ilerlemesi sırasında bakteriyel translokasyon devam etmektedir. Kısaca sepsisin kendisi bir bakteriyel translokasyon nedenidir (30).

Çoğunlukla gram negatif bakteriler olmak üzere pek çok mikroorganizma, makrofaj ve monositi uyararak sepsis kaskatının başlamasına neden olur. Başta makrofaj olmak üzere pek çok hücreden sitokin salınımı başlar. Organ yetmezliği ve ölüme kadar giden süreç içinde bir dizi karmaşık sitokin etkileşimleri, kompleman ve pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu, nötrofil aktivasyonu, ilerleyici biçimde yaygın hipoksi, reperfüzyon hasarı, endotel hasarı ve sonunda organ yetmezliği ile sonuçlanır. (29, 31).



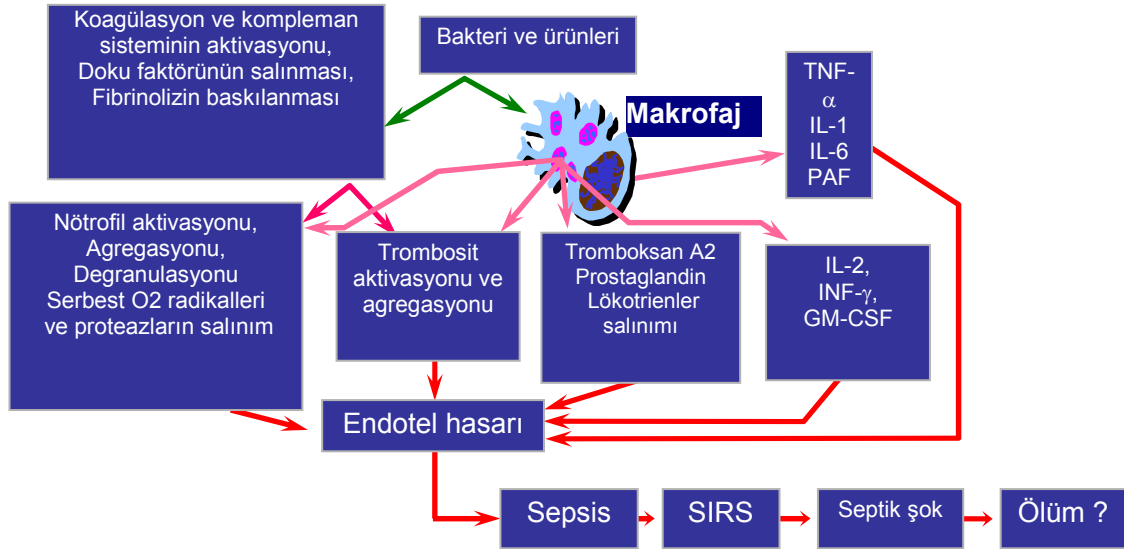
Şekil-4: Septik şokun patogeneğinde sitokinlerin ve humoral faktörlerin etkileşimleri (32).

Yaş	> 65 yaş
Diabet	
Kanser	
Üremi	
İmmüsupresyon	AIDS
	Kemoterapi
	Organ Transplantasyonu
	Eşlik eden enfeksiyon
Enstrümantasyon	Endotrakeal tüp
	Vasküler kateter
	Üriner kateter
Cerrahi	Gastrointestinal girişimler
	Genitoüriner girişimler
	Jinekolojik girişimler
Travma	

Tablo-2: Gram negatif sepsisin gelişmesi için risk faktörleri (32).

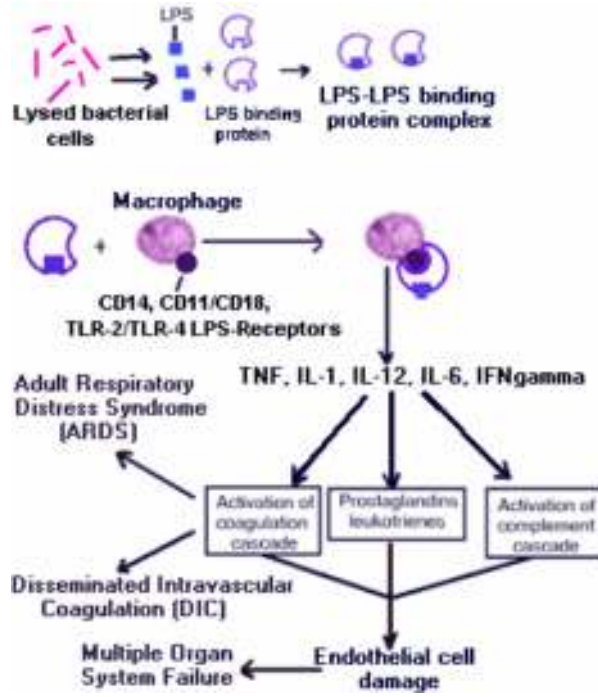
2.3. ENDOTOKSİN

Gram negatif bakterilerin hücre duvarı iki tabakadan oluşmuştur. Dıştaki tabakada proteinlere ilave olarak lipopolisakkarit (LPS) yapı içeren bir bölüm vardır. Bu bölüm, bakteriyemide toksisitenin asıl sorumlusudur ve polisakkarit O antijeni, Core antijeni ve Lipid A olmak üzere üç bölümden oluşur. Bir polisakkarid yan zincir olan O antijeni, core polisakkaridi aracılığıyla bir fosfolipid olan lipid A'ya bağlanır. O antijeni gram negatif bakteri suşlarına göre değişir ve belirgin serotipik farklılaşmadan sorumludur. Lipid A bölgesi toksisitenin ana sorumlusu olarak görülmektedir. Pek çok klinik ve deneysel çalışmada, lipopolisakkaridin intravenöz enjeksiyonunun sitokin kaskadını başlatan ana sorumlu olduğu ve sepsis sendromuna yol açtığı gösterilmiştir (32, 33).



Şekil-5: Sepsisin Fizyopatolojisi (7).

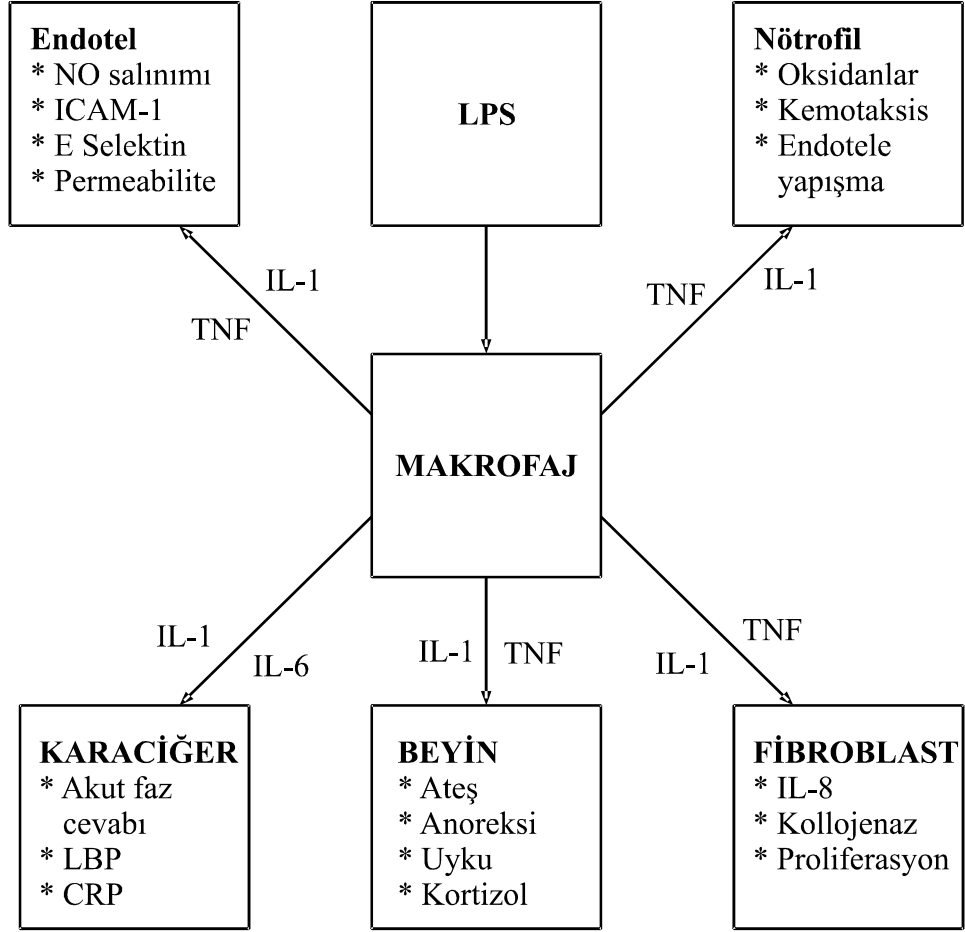
LPS rahatlıkla sistemik dolaşıma geçebilir ve makrofaj, monosit gibi hücreleri uyararak sepsis kaskadını başlatacak sitokinlerin salınımına yol açabilir. LPS'in Lipid A bölümü, lökositlerin membranlarına; CD14, CD11, CD18 ve "asetillenmiş düşük doz lipoprotein" gibi reseptörler aracılığıyla yapışır (34, 35). CD14, 55kDa ağırlıkta glikozilfosfoinoitol bağlı bir reseptördür. LPS'in Lipid A bölümü, öncelikle Lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP) ile birleşir. Oluşan LPS-LBP kompleksi CD14 reseptörüne yapışır. LBP 60 kDa ağırlığındadır ve esas olarak karaciğerde sentezlenir. LBP başlangıçta bir akut faz cevabı proteini olarak tanımlanmıştır. Ancak daha sonra normal serumda da bulunduğu ve LPS-CD14 birleşmesini katalize ettiği gösterilmiştir. (36).



Şekil-6: Bakteriye lipopolisakkaridin şematik yapısı (37).

Yapılan birçok çalışmada LPS'in patolojik düzeyde sitokin salınımına yol açtığı gösterilmiştir. Erken evrede LPS uyarımı ile oluşan üç sitokin salınımı önemlidir. Bu sitokinler sepsisin "Santral" mediatörleri olarak bilinen, TNF- α , IL-1 β ve IL-6'dır. Bu moleküller, diğer sitokinlerin salınımını başlatarak sepsisin ilerlemesine neden oldukları gibi araziidonic asit metabolizmasının ve kompleman sisteminin aktivasyonuna, integrin ve nitrik oksit üretiminde artışa da neden olurlar (37) (Şekil-6).

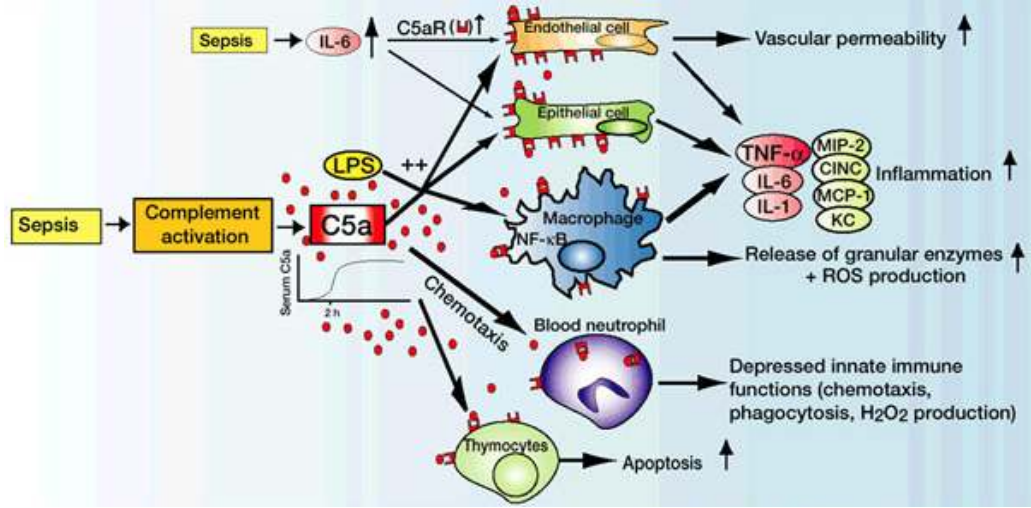
2.4. SEPSİSİN FİZYOPATOLOJİSİ



Şekil-7: Sepsiste TNF, IL-1 IL-6 Fonksiyonları (29).

DeneySEL endotoksemilerde plazmada sitokin seviyesindeki artmaya paralel olarak, klinik bulgulardan ateş, taşikardi, hipotansiyon, ortaya çıkar. Klinik bulgular sitokinlerin varlığı ile alakalı olup LPS infuzyonundan 90 – 120 dakika sonra ortaya çıkar (38). Ekzojen gram (-) bakteri endotoksini verilen deney hayvanlarında sırasıyla TNF α , IL-1, IL-6 ve IL-8 seviyelerinde artış saptanmıştır (39).

Endotoksinin yanı sıra enterotoksin, toksin-1, gram (+) veya mantar hücre duvarı ürünleri, viral ve fungal antijenler septik basamaklarda başlatıcı olarak görev alırlar (40). Sepsisin oluşması için nonenfeksiyöz uyarıcılar da benzer fizyolojik cevaba sebep olabilir. Sirkülasyonda endotoksinler; TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 ve trombosit aktive edici faktörün (PAF) mononükleer fagositler ve hücrelerden üretimine sebep olur. Bu mediatörler aracılığıyla koagülasyon ve kompleman sisteminin de aktive olduğu değişik çalışmalarda belirtilmiştir (29).



Şekil-8: Sepsis ve İnflamatuar mediatörlerin salınımı (41).

TNF- α , IL-1 ve PAF salınımından sonra araşidonik asit metabolize olur. Lökotrienler, tromboksan A₂ (TxA₂), prostoglandinler özellikle PGE₂ ve PGI₂ oluşur. IL-1 ve IL-6, T hücrelerini uyararak IL-2, IL-4 ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) üretimini aktive eder. Bu ajanların direkt etkisi daima vasküler endotel üzerindedir. Endotoksin, TNF α , PAF, Lökotrienler ve TxA₂ endotel permeabilitesini arttırmaları. Endotel hücreleri bunun yanı sıra EDRF ve endotelin-1 salınımına neden olur. EDRF düz kas gevşemesine ve trombosit agregasyonunun inhibisyonuna neden olur. Endotelin-1 ise potent bir vazokonstrüktördür (Şekil-7) (29).

Kompleman sisteminden özellikle C3a ve C5a vasküler anormalliklere, nötrofil aktivasyonuna sebep olur. Nötrofile bağlı hasar sonucu serbest oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler salınır. Mikroemboli formasyonu ve endotele yapışmada artış izlenir. Trombositlerin septik basamaklarda etkisi tam olarak açık değildir. Endotel hasarları iki yolla olur. Bunlar vazokonstrüksiyon ve nötrofil stimülasyonudur (Şekil-8) (41).

Septik basamaklarda etkili olan diğer ajanlar adezyon molekülleri, kininler, miyokardial depresan faktör, β endorfin ve ısı şok proteinleridir. Adezyon molekülleri ve trombin endotel hasarını artırır. Buna karşılık IL-4, IL-8 ve ısı şok proteinlerinin bu hasara karşı koruyucu etkileri mevcuttur (7) (Tablo3).

2.5. SEPSİS MEDIATÖRLERİ VE ETKİLERİ

MEDIATÖR	MAJÖR ETKİ
TNF -α	<ul style="list-style-type: none">* Stimule makrofajların sekresyon etkisini attırarak, IL-1, IL-6, IL-8, PAF, Lökotrienler, TxA₂, Prostaglandinlerin salınımını uyarır.* T hücreleri üzerine düşük uyarıcı etki* Kemik iliğinde polimorfonükleer lökosit (PMNL) üretimini stimule eder ve PMNL'lerin fagositik aktivitesini arttırır* Endotel hücrelerin, PMNL'in, eozinofillerin, bazofillerin, monositlerin yapışma etkisini arttırır ve özellikle adezyon moleküllerini stimüle eder.* Koagulasyon ve kompleman sistemini aktive eder.* Damar duvarına toksik etkileri olup mikrovasküler permeabiliteyi arttırır.* Lipoprotein lipaz aktivitesini ve yağ dokusunda asetat etkisini azaltır* Kollajen salınımını stimule eder, fibroblastları arttırır.* Kas hücrelerinin transmembran potansiyelini azaltır, kardiyak miyozitlerin ksalmasını deprese eder.* Histokompatibilite sınıf 1' i indükler.*Hipotalamusu etkileyerek ateşe sebep olur.
İNTERLÖKİN-1	<ul style="list-style-type: none">*TNFα, IL-6, IL-8, PAF, lökotrien, TxA₂ ve prostoglandinlerin salınımını arttırır ve kendi üretimini de indükler.* İstirahattaki T hücrelerini etkiler ve lenfosit üretimine neden olur. B hücre proliferasyonunu ve antikor üretimini arttırır, insulin üreten beta hücrelerine sitotoksik etkisi vardır.

	<ul style="list-style-type: none"> * Endotel hücresi, bazofillerin, monositlerin adezyon etkisini arttırır. PMNL'nin adezyon ve birikimini arttırır. Endotel prokoagulan aktivitesini; plazminojen aktivatör ve inhibitörün salınımını arttırır. *TNF-α ile sinerjistik etki gösterir. *Lipoprotein lipaz aktivitesini süprese eder. *Sinoviyal hücrelerden kollajenaz salınımını destekler. * Fibroblast proliferasyonunu etkiler. * ACTH salınımını arttırır. * Hipotalamus üzerinden ateşe sebep olur.
İNERLÖKİN-2	<ul style="list-style-type: none"> * TNF-α ve İnterferon-γ salınımını arttırır. *Uyarılmış T hücrelerinin proliferasyonunu sağlar. *Arteriyel basınç, sistemik vasküler rezistans ve ejeksiyon fraksiyonunu azaltır, kardiyak outputu arttırır.
İNERLÖKİN-4	<ul style="list-style-type: none"> * Lenfositlerin endotel hücrelerine adezyonunu arttırır. * Hemopoetik faktörlerin farklılaşması ve büyümesini regüle eder. * Makrofajların antijen ekspresyonunu başlatır. * Stimule monositlerden salınan IL-8'i süprese eder. * Endotel hücrelerindeki TNF-α ve IL-1 uyarımlı antijen sunumunu sinerjistik olarak arttırır.
İNERLÖKİN-6	<ul style="list-style-type: none"> * B ve T helper hücreleri gibi hareket eder. IL-1 ile beraber timosit artımına ve TNF-α ile T hücre proliferasyonuna yardım eder. * PMNL hücrelerinin aktivasyonu ve birikimini destekler. * Akut faz reaktanlarının salınımını uyarır.
İNERLÖKİN-8	<ul style="list-style-type: none"> * Hem nötrofiller hem lenfositler için kemotaktik etkisi vardır. * Endotel lökosit adezyonunu inhibe eder.
PAF	<ul style="list-style-type: none"> * TNF-α, Lökotrien, TxA₂ salınımını stimüle eder.

	<ul style="list-style-type: none"> * Lökosit ve serbest radikal üretimini sağlar. * Trombosit agregasyonunu destekler ve tromboza neden olur * Mikrovasküler permeabiliteyi değiştirir ve sıvı kaybına neden olur. * Endotel hücrelerinde kalsiyum giriş ve çıkışını stimüle eder. * Endotel hücrelerinde albumin difüzyonunu artırır. * Kalp üzerinde (-) inotropik etkilidir. Arteriyel basıncı azaltır. * Hiperglisemi, hiperlaktikasidemi yapar. * Duodenum ve jejunumda ülserasyona neden olur. * Kan-beyin bariyer hasarı ve vazokonstriksiyona neden olur, nörotoksiktir.
LÖKOTRIENLER	
LTB₄	<ul style="list-style-type: none"> * Nötrofil kemotaksisi ve endotel adezyonuna neden olur. * Eozinofil için zayıf kemotaktiktir. * Vasküler geçirgenliği artırır.
LTC₄	<ul style="list-style-type: none"> * Prostaglandin salınımını stimüle eder.
LTD₄ ve LTE₄	<ul style="list-style-type: none"> * Damar geçirgenliğini artırır, interendotel hücre porlarının çapını artırır. * Koroner kan akımı ve miyokardial kontraktiletiyi azaltır. * Pulmoner damar rezistansını artırır. * Mezenterik kan akımını azaltır. * Zayıf vazokonstriktör etkisi vardır. * Epinefrin ve norepinefrinin vazokonstriktör etkisini artırır.
TROMBOKSAN A₂	<ul style="list-style-type: none"> * EDRF salınımını artırır. * Prostaglandin üretimini stimüle eder. * Trombosit agregasyonu ve nötrofil birikimine neden olur. * Vasküler yatakta geçirgenliği artırır.

	<ul style="list-style-type: none"> * Vasküler yatakta vazokonstriksiyon ve pulmoner bronkokonstriksiyona neden olur.
PROSTOGLANDİNLER	
PGE₂	<ul style="list-style-type: none"> * IL-1 üretimini ve timositlerin IL-1'e cevabını inhibe eder. * Düşük dozda TNF-α salınımını artırır. Yüksek dozda TNFα salınımını suprese eder.
PGE₂	<ul style="list-style-type: none"> * T ve B hücrelerinin mitogenezi inhibe eder. * Vazodilatasyon yapar, kan akımını artırır. * Doku perfüzyonunda yararlı etkisi vardır, doku hasarının şiddetini azaltır. * Prostaglandinle beraber, serotonin ve bradikininin damar geçirgenliği üzerindeki etkisini artırır. * Kas katabolizmasını artırır. * İntrasellüler cAMP seviyesini artırır. * Hipotalamus üzerinden ateş yapar.
PGI₂	<ul style="list-style-type: none"> * Trombosit agregasyon ve inhibisyonunu inhibe eder. * Fibrinolitik aktivitesi vardır. * Trombüs oluşumunu inhibe eder. * Vasküler yatakta vazodilatasyon ve kan akımını artırır. * Sepsisin erken döneminde doku perfüzyonunu artırıcı olumlu etkisi vardır. * Düz kas gevşemesini sağlar.
INTERFERON-γ	<ul style="list-style-type: none"> * TNF-α ve IL-6 salınımını artırır. * TNF-α ile beraber sitostatik ve sitotoksik etkisi vardır. * IL-2 üretimini artırır. * B hücrelerini aktive ederek antikor üretimine neden olur. * Lenfositlerin endotel hücrelerine adezyonunu artırır. * PMNL'lerin adezyonunu, birikimini ve fagositik aktivitesini artırır. * Makrofajların mikrobisidal fonksiyonunu artırır.

	<ul style="list-style-type: none"> * Histokompatibilite I ve II'yi indükler. * Granulosit monosit koloni stimulan faktörün üretimini antogonize eder. * Hipotalamus üzerinden ateşe sebep olur.
GMCSF	<ul style="list-style-type: none"> * PMNL'in fagositoz, degranülasyon ve sitotoksik etkisini stimule eder. * Makrofaj olgunlaşması ve makrofaj aktivitesini artırır.
EDRF	<ul style="list-style-type: none"> * Düz kas damarlarını gevşetir. * Trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe eder. * Damar düz kas mitogenezini inhibe eder.
ENDOTELİN-1	<ul style="list-style-type: none"> * Şiddetli vazokonstriksiyon yapar. * Glomerülerin rezistansını arttırarak renal hipoperfüzyon ve hipofiltrasyona neden olur. * EDRF ve prostasiklin salınımını artırır. * Damar düz kas hücrelerinin mitogenezini artırır.
C3a	<ul style="list-style-type: none"> * Mast hücre degranülasyonu ve vazodilatatör mediatör salınımını artırır. * TxA₂ ve prostasiklin salınımını artırır. * Düz kas kontraksiyonuna ve mukus sekresyonuna sebep olur.
C5a	<ul style="list-style-type: none"> * Mast hücre degranülasyonu ve vazodilatatör mediatör salınımını artırır. * TxA₂, prostosiklin ve TNF-α salınımını destekler. * PMNL'lerin aktivasyonunu, migrasyonunu, yapışmasını ve agregasyonunu indükler. * Kapiller akımı artırır, sistemik vasküler direnci deprese eder. * Zayıf hipotansif etkisi vardır.
PMNL	<ul style="list-style-type: none"> * Direkt ve indirekt olarak mediatör salınımını arttırıcı etkisi vardır.

	<p>* Trombosit agregasyonu üzerine değişken etkisi vardır.</p> <p>* Degranülasyon boyunca serbest oksijen radikalleri ve lizozomal enzimlerin salınımına neden olur:</p> <p>A) Vasküler endotel, mitokondri ve kollajen hasarına neden olur.</p> <p>B) Eritrosit fragilitesi, intravasküler hemoliz, damar düz kas kontraksiyonuna neden olur.</p> <p>C) Düz kasların α adrenerjik agonist duyarlılığını artırır.</p> <p>D) EDRF'nin etkisini artırıcı etki gösterir.</p> <p>* Agregasyon boyunca mikroemboliye sebep olur. Arteriyel oklüzyona neden olur.</p> <p>* Endotel duvarına yapışma boyunca;</p> <ul style="list-style-type: none"> – Konsantrasyona bağlı olarak zarar görmüş damar endotelin tonusu üzerinde değişik derecelerde etki gösterir. – Zarar görmüş damar endotelinde doza bağlı düz kas gevşemesine neden olur. – EDRF'ye benzeyen nötrofil orjinli gevşeme faktörünü salar. – İnterendotelyal hücelere göç eder ve bu bölgelerde birikir.
TROMBOSİTLER	<p>* EDRF ve prostosiklin salınımını artırır.</p> <p>* Transforme büyüme faktörü $\beta 1$, serotonin ve TxA_2 üretimini sağlar. Aynı zamanda nötrofillerce metabolize edilen 12 hidroksiasit salınımına neden olur.</p> <p>* Vazokonstriksiyonu sağlar.</p> <p>* Nötrofilleri stimüle eder.</p>
TRANSFORME BÜYÜME FAKTÖRÜ $\beta 1$	<p>* Makrofajları yaralı bölgeye taşır ve IL-1 salınımını sağlar.</p> <p>* Makrofajlardan oksijen radikallerinin salınımını baskılar.</p> <p>* Lökositlerin endotele yapışmasını artırır.</p> <p>* $TNF-\alpha$'ya bağlı inflamasyonu suprese eder.</p>

	<ul style="list-style-type: none"> * Hücre büyümesi, tamir metabolizması ve ekstrasellüler matriks üretimini arttırır. * Barsak düz kas hücrelerinin çift kollajen üretimini sağlar.
BRADİKİNİN	<ul style="list-style-type: none"> * EDRF ve prostasiklin salınımını sağlar.
TROMBİN	<ul style="list-style-type: none"> * PAF salınımını ve regülasyonunu sağlar. * EDRF ve prostasiklin salınımını sağlar. * IL-8 aktivasyonunu sağlayarak koagülasyonu etkiler * Fibrinojen tüketimini arttırır, pulmoner vazokonstriksiyon etkisi vardır. * Protein C aktivatörüdür
MİYOKARDİAL DEPRESAN FAKTÖR	<ul style="list-style-type: none"> * Geri dönüşümlü miyokard depresyonuna ve ventriküler genişlemeye sebep olur. * Ventriküler ejeksiyon fraksiyonunu azaltır. * Ventriküler diastolik basınç üzerine değişken etki gösterir.
β Endorfin	<ul style="list-style-type: none"> * Glukoza bağlı hiperinsülinemiye sebep olur. * Hipotansif etkisi vardır
ISI ŞOK PROTEİNLER	<ul style="list-style-type: none"> * Hipertermi ve oksidatif stres sonrası hücre hasarını önler.

Tablo-3. Sepsisin mediatörleri ve etkileri (7).

2.6. SİTOKİN BİYOLOJİSİ

Sitokinler, nonspesifik immün sistemin temel haberleşmeyi sağlayan proteinleridir. Sitokinler, protein veya glikoprotein yapısında moleküllerdir. Hücre büyümesi ve değişimi, doku tamiri ve yeniden yapılanması, immün cevabın düzenlenmesinde hücreler arasında kimyasal haberleşmeyi sağlarlar (42). Doğal immünyetede sitokinler; mononükleer fagositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilirler. Kazanılmış immünyetede ise, T hücreleri tarafından üretilirler. TNF- α , IL-1 ve IL-6 doğal immün cevapta en önemli sitokinlerdir (42, 43). Bu sitokinler tek başlarına immün cevabın düzenlenmesinde rol oynamazlar, fakat yardımcı T hücre cevabına neden olarak edinsel immünyetenin gelişmesine ve yayılmasına neden olurlar. Sitokin

biyolojisinin önemi arttıkça, cerrahi hastalardaki önemi de artmaya başlamıştır. Yara iyileşmesi, iskemi ve reperfüzyon injürisi ve septik şok gelişimi gibi inflamatuvar durumlarda sitokinlerin oynadığı rol ve önemleri artık tamamen anlaşılmıştır. İnsan genomunun açıklığa kavuşturulmasıyla birlikte, bilinen sitokin sayısında dramatik bir artış olmuştur. İnterferon α/β 'nın kronik hepatit-C enfeksiyonunda kullanılması, son dönem böbrek yetmezliğinde meydana gelen anemide eritropoetin kullanılması ve kemoterapiye bağlı nötropeni tedavisinde GMCSF kullanılması sitokin terapi rejimlerine verilebilecek örneklerdir (42, 43).

Sitokinler farklı hücre tiplerinde farklı etkiler göstermektedirler. Bir sitokin diğerlerinin sentez ve salgılanmasını arttırıp veya azaltarak, immün ve inflamatuvar cevabı baskılayabilir veya aktive edebilir. Sitokinler hedef hücrelerde, hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak aynı hücreden sitokin sekresyonu (otokrin), bitişik hücrelerde (parakrin) veya uzak hücrelerde (endokrin) aktivasyona neden olabilirler (43).

Sitokinler etki mekanizmalarına göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak adlandırılırlar. Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınırlar, immün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler. İnsan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler, TNF- α ve IL-1'dir. Sekonder veya bunlara yardımcı sitokinler ise, IL-6 ve IL-8'dir (44).

Bunun zıttı olarak anti-inflamatuvar sitokinler ise inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınırlar. İnflamatuvar cevabın kontrolü ve down regülasyonunu düzenlerler (45) (Tablo-4).

Proinflamatuvar	Anti-inflamatuvar	Çift etki
TNF α	IL-4	IL-6
TNF β	IL-10	TGF β
IL-1	IL-11	
IL-2	IL-13	
IL-8		
IL-12		
IL-15		
IL-17		
IL-18		
INF- γ		

Tablo-4: İnflamatuvar özelliklerine göre bazı sitokinlerin sınıflandırılması (35).

Monosit, makrofaj, granüllü lokosit, endotel hücresi, dendritik hücre, keratinosit, T ve B lenfosit, mast hücresi, tümör hücresi ve diğer pek çok hücre sitokin sentezleme ve salgılama yeteneğine sahiptir (45, 46). Sitokinler, genellikle geçici olarak etki gösterirler. Normal koşullar altında düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Özellikle zar bağımlı reseptörler sitokinlerin biyolojik aktivitelerini düzenlerler. Dört çeşit reseptör ailesi tanımlanabilir. Bunlar:

1. İmmunglobulin reseptör ailesi (IL-1 reseptörleri)
2. Hemopoetin süper ailesi (örneğin IL-2, IL-6, INF α ve CSF reseptörleri).
3. TNF reseptör ailesi (örneğin TNF α reseptörleri)
4. Yedi zar geçişli alfa helikal reseptörleri içeren kemokin reseptör ailesi(β adrenerjik reseptörü) (47).

Birçok sitokin reseptörleri iki veya daha fazla zar geçişli polipeptid zinciri içerir. Bunlar sinyal iletim kompleksi şeklinde çalışırlar. Bunun yanında, çözünebilir sitokin reseptörleri hücre bağımlı reseptörlerle rekabet içindedir ve sitokin sinyallerini ayarlarlar. Çözülebilir sitokin reseptör seviyeleri infeksiyon hastalarında (örneğin sepsis) ve infeksiyon hastalıkları dışında (örneğin romatizmal hastalıklar) yükselir (45). Bu çözünebilir reseptörler geçirgen zarın ve sitoplazmik aralığın yok edilmesiyle ortaya çıkan mRNA şeklinde de olabilir. Çözünebilir sitokin reseptörlerinin sitokin konsantrasyonuna oranı, çözünür sitokin-reseptör kompleksinin oluşumunda önemli rol oynar. Örneğin düşük konsantrasyonda bulunduğu, çözünebilir reseptörler sitokin taşıyıcısı olarak görev yapar. Bu da sitokinlerin biyolojik aktivitesini stabilize eder ve etkinliğini uzatır. Bunun yanı sıra bu reseptörler yüksek konsantrasyonda bulunduğu zaman (örneğin bakteriyel enfeksiyonlar sırasında), sitokinlerin aktivitesini engellerler. Bazı sitokinlerin biyolojik hareketi IL-1 reseptör antagonisti gibi reseptör antagonistleri tarafından düzenlenir. Sitokinlerin etkileri reseptör sayısı ve afinitesi, ikincil haberci, gen kopyalaması, sitokin üretimi ve salınması veya metabolizması ile düzenlenir.

2.7. İNTERLÖKİN-6

İnterlökin-6 (IL-6); çeşitli hücreler üzerinde çok sayıda biyolojik aktivitesi olan bir sitokindir. IL-6 geni, insan 7. kromozomunda lokalizedir. “ β cell growth faktör”, “plazmasitom growth faktör” ve “hepatosit stimulating faktör” olarak da adlandırılır.

Aktive T ve B hücreleri, monositler, endotel hücreleri, epitel hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, hepatositler, nöroglial hücreler gibi çok değişik hücreler tarafından sentezlenir. IL-1, IL-2, TNF, interferonlar, platelet-derived growth faktör, IL-6 sentezini artırırken; IL-4, IL-10, IL-13 inhibe eder. IL-1, TNF- α ile birlikte sinerjik etki ile T hücre stimülasyonu yapar. T hücrelerinin, sitotoksik T hücrelerine farklılaşması da dahil olmak üzere differansiasyon, aktivasyon ve büyümesinde görev alır (48).

IL-6 reseptörleri, 80 kDa ağırlığında protein bağlayan bölge ve 130 kDa ağırlığında sinyal iletimini sağlayan alt birimlerden oluşur. Protein bağlayan bölge immünglobulin bölgesi içerir. IL-6 reseptörleri; ayrıca dış ortama salınırlar. Dolaşımda bulunan IL-6 reseptörleri diğer sitokin reseptörlerinden farklı olarak IL-6'nın etkilerini arttırlar (49, 50) .

IL-6'nın IL-1 gibi ateş ve akut faz cevabında rolü vardır. Doku hasarı ve inflamasyon durumunda, hepatositleri aktive ederek C-reaktif protein, fibrinojen, haptoglobulin, amiloid gibi akut faz proteinlerinin sentezini uyarır. IL-6, IL-1 ile birlikte proinflamatuvar protein olarak sınıflandırılır. Hipotalamik ateş merkezini uyarak endojen pirojen olarak aktive eder.

IL-6'nın en önemli biyolojik etkinliği, B lenfosit matürasyonunu stimüle etmesidir. IL-6'nın etkisi ile B lenfositler immünglobulin sentezleyebilen olgun plazma hücrelerine farklılaşırlar. B hücrelerinde immünglobulin (Ig) sentezinde artış, T hücre aktivasyonu ve akut faz proteinlerinde artışa yol açması proinflamatuvar, proinflamatuvar sitokinleri baskılaması da antiinflamatuvar özelliğidir. Hematopoezi ve trombopoezi uyarır. IL-6, nötrofil aktivatörüdür. Kemik iliği kök hücrelerinin matürasyonunda diğer sitokinlerle sinerjistik etki gösterir (49, 50).

Pek çok malign plazmasitom hücresi otonomik aktivite ile IL-6 üretir ve bunu otokrin büyüme faktörü olarak kullanır. IL-6, bundan başka B lenfositlerinin plazma hücrelerine dönüşümünü uyarak monoklonal antikor üretimine neden olmaktadır. Bu etkilerine ek olarak invitro deneyler göstermiştir ki; IL-6 T hücrelerinin ve timositlerin aktivatörü olarak rol oynar. IL-6'nın endokrin etkisi ise kortizol salınımını uyarır. IL-6'nın interferonlar gibi antiviral etkinliği'de mevcuttur ve klas-I majör histokompatibilite (MHC) yapımını arttırır. IL-6, TNF ve IL-1'e benzer, antitümör etkisi de vardır (51) .

Sağlıklı kişilerde serum IL-6 düzeyleri saptanamamakla birlikte, sepsis, travma, alkolik siroz, greft rejeksiyonu, otoimmün hastalıklar gibi inflamatar durumlarda düzeyleri artar. Anemi ve trombositopeni tedavisinde kemikiliği aktivatörü olarak kullanılır. Ayrıca düşük plazma seviyesi myelomanın, yüksek plazma seviyesi plazmasitomanın, sinovyal sıvıdaki artışı romatoid artrit, BOS' taki artışı ise viral ya da bakteriyel menenjitin, idrardaki artışı ise organ transplantasyonu sonrası doku reddinin başladığını gösterir. İlk kez 1989 yılında sepsisli hastalarda IL-6 düzeyinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (48, 52).

Sağlıklı gönüllülere endotoksin enjeksiyonundan sonra, IL-6 seviyeleri hızla artar ve 3. saatte pik yapar. Daha sonra azalmaya başlayarak 8 saat sonra bazal seviyelerine döner (53). Bakteriyel enfeksiyonlarda, bakteriyel hücre komponentlerine cevap olarak ya da diğer sitokinlerin (TNF α ve IL-1 β) stimülasyonu ile salınır. IL-6 düzeyleri ile sepsise bağlı mortalite ve morbidite arasında direkt bir korelasyon vardır. Sepsiste, IL-6 yüksekliğinin kötü bir prognoz kriteri olduğu kabul edilmektedir (54).

IL-6 konsantrasyonları sepsiste diğer sitokinlerden daha sık ve yaygın olarak rol almaktadır. Plazma IL-6 düzeyi sitokinlerin aktivasyonunda marker olarak kullanılabilir. Konakçı inflamatar cevabı ve hastalığın yaygınlığı ile korelasyon gösterir. Yapılan bir çok klinik çalışma bunu destekler niteliktedir (54, 55). Plazma IL-6 konsantrasyonu, sepsis ve sitokinlerin aktivasyonunda iyi bir indikatördür. IL-6 artışı ile organ sistem disfonksiyonları ve mortalite oranları artmaktadır (54).

2.8. TNF

TNF gram negatif bakterilere konak cevabının temel mediyatörüdür. Ayrıca diğer bulaşıcı organizmalara karşı da önemli rol oynar. TNF yüksek konsantrasyonlu LPS'ye bağlı doku yaralanmasında, damar içi pıhtılaşmada ve septik şokta temel mediyatördür. TNF'ün temel hücrel kaynağı LPS'nin uyardığı mononükleer fagositlerdir. Ayrıca bu protein antijen ile uyarılmış T hücreleri, aktive edilen doğal öldürücü hücreler ve aktive edilmiş mast hücreleri tarafından salgılanır. Aktive olan hücrelerin TNF sentez ve salgılası çok sayıda ardışık olayı içerir. T hücreleri tarafından üretilen interferon γ , reseptör defekti olan farelere verildiğinde, TNF- α üretiminin ve ölümün azaldığı çalışmalarda gösterilmiştir (56, 57).

TNF, sepsis patogenezinde ilk suçlanan sitokindir. TNF- α ve TNF- β birbiri ile yakın ilişkili olan benzer biyolojik aktiviteleri paylaşan proteinlerdir. TNF- α , monosit ve makrofajlar tarafından üretilir. TNF- β ise, aktive edilmiş T lenfositleri tarafından üretilir (57).

TNF α 'nın biyolojik aktivite göstermesi için TNF RI ve TNF RII olmak üzere iki adet reseptörü vardır. Bu iki reseptör birçok hücre üzerinde beraber bulunur. Deneysel çalışmalar göstermiştir ki TNF- α 'nın biyolojik etkin bir sinyal oluşturabilmesi için en önemli reseptörü TNF RI'dır (58). TNF RI ile ilgili sinyallerin oluşturduğu olaylar; apoptoz, ölümcül şok, E selektin sekresyonu ve akut graft versus host hastalığıdır. TNF RII reseptörlerinde önemli görevleri vardır. Apoptoz, lenfosit çoğalması ve deri nekrozu gibi olaylarda hücrel sinyal iletiminde önemli rol oynar. Bazı çalışmalarda TNF RI septik şoktan ölen hastalarda, hayatta kalan hastalara oranla daha yüksek seviyelerde bulunmuştur (59).

TNF- α 'nın vücuttaki biyolojik etkileri çok çeşitlidir. Düşük konsantrasyonlarda TNF, lökosit ve endotel hücrelerinin parakrin ve otokrin düzenlenmelerine lokal olarak etki eder. Düşük konsantrasyonlarda TNF- α 'nın biyolojik etkileri şu şekilde özetlenebilir

1. TNF- α vasküler endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörü oluşturmasına yol açarak endotel yüzeyine lökosit adezyonuna neden olur. TNF- α nötrofilleri uyarmada güçlü bir araçtır. Aynı zamanda eozinofil ve mononükleer fagositleride aktive eder.
2. TNF- α mononükleer fagositlerden ve diğer hücrelerden sitokin üretimini uyarır.
3. TNF- α virüslere karşı koruyucu etki gösterir. Sınıf I major histokompetibilite (MHC) antijenlerinin çoğalmasına ve virüsten etkilenen hücrelerin immün yanıtla parçalanmasına neden olur (60).

TNF- α 'nın bu etkileri mikroplara karşı immün cevapta kritik öneme sahiptir. Eğer yetersiz TNF- α salınımı olursa, yetersiz infeksiyon yanıtı oluşur. TNF- α 'nın üretimi için gerekli uyarı güçlü ise fazla miktarda sitokin üretir. Gram negatif bakteriyel sepsislerde aşırı TNF- α dolaşım kollapsı ve yaygın damar içi pıhtılaşmaya neden olmaktadır. TNF- α 'nın nötralizan antikörleri endotoksik ya da septik şokta mortaliteyi önler. TNF- α 'nın yüksek konsantrasyonlarında ölümcül etkileri şunlardır:

1. TNF- α miyokardiyal kontraksiyonu engelleyerek doku kanlanmasını bozar. Bu etkinin mekanizması, argininden nitrik oksit ve sitrullin dönüşümünü sağlayan kardiyak miyozitlerdeki nitrik oksit sentetaz enziminin aktivitesini artırılmasıdır.
2. TNF- α vasküler düz kas hücrelerinin tonusunu azaltarak, kan basıncı ve doku oksijenasyonunu azaltır. TNF- α 'ya direkt etkisiyle ya da prostasiklin ve nitrik oksit yapımına neden olarak vazodilatatör etki oluşturur.
3. TNF- α damar içinde trombüs oluşumuna neden olarak doku kanlanmasını azaltır. Bu etkiyi pıhtılaşma sistemi ve nötrofilleri, mononükleer fagositik hücreleri ve endotel hücrelerini aktive ederek yapar.
4. TNF- α ciddi metabolik bozukluğa neden olur. Kan glukoz konsantrasyonunu yaşamla bağdaşmayacak şekilde düşürür. Bunu kas hücrelerinde aşırı glukoz tüketimine ve karaciğer tarafından glukoz üretiminde yetmezliğe neden olarak yapar (60).

TNF- α , sepsisin patogenezinde birincil sitokindir. Beutler ve Cerami bu olayı kronik inflamasyonlu hastalarda ciddi kilo kaybına neden olan faktörleri incelerken, monositlerden bir faktörün bundan sorumlu olduğunu bulmuşlardır. Bu proteine kaşektin adını vermişler, daha sonra bu proteinin TNF- α 'nın protein yapısına benzediğini bulmuşlardır (61). Yapılan bir çalışmada, kaşektin TNF- α 'nın sepsis patogenezindeki rolünü keşfedebilmek için LPS'in etkilerine dirençli bir fare grubu kullanılmıştır. LPS verilen hayvanların kanlarında yapılan incelemede TNF- α konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Daha sonra LPS dirençli farelere TNF- α verildiğinde sepsise benzer bir tablo görülmüştür (62).

TNF- α 'nın plazma ve serum düzeyleri sepsisli hastalarda yüksektir. TNF düzeyiyle yaşam oranı arasında ters bir ilişki vardır. Sağlıklı bireylere endotoksin enjeksiyonundan sonra 60-90 dakika içinde TNF düzeylerinde artış saptanır (63). Lipopolisakkaridin letal etkisine duyarlılığı artıran BCG, *Corynebacterium parvum* ve *Mycobacterium lepraemurium* gibi fakültatif intrasellüler organizmalar TNF biyosentezini de artırır (64).

Anti TNF antikorları ve TNF inhibitörlerinin LPS'ın letal etkisine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ancak pasif bağışıklama LPS verilmesinden önce uygulandığı zaman, yani TNF'ün arttığı dönemde etkilidir (65).

Bu veriler; TNF- α 'nın gram negatif bakteriyel sepsisteki konak yanıtının en önemli komponenti olduğunu desteklemektedir. Endotoksin enjekte edilen çeşitli deney hayvanlarında, anti TNF- α antikörlerinin mortaliteyi azaltması, TNF- α 'ya karşı pasif immünizasyonun diğer inflamatuvar sitokinlerin sekresyonu engellemesi, bu mediatörlerin TNF- α aktivitesi sonucunda salgılandıklarını göstermektedir (66).

İnflamatur	Renal
Ateş	Oligürik böbrek yetmezliği
Lökosit mobilizasyonu	Renal Kortikal Nekroz
Kardiovasküler	Metabolik – Hormonal
Taşikardi	Asidoz
Hipotansiyon	Kemik rezorpsiyonu
Myokard depresyonu katabolik kapiller sızıntı	Kaşeksiye yol açan durum
	↑ Hipofizer hormonlar ve stres yapımı
Santral Sinir Sistemi	Hematolojik
İştahsızlık	Eritropoez ve myelopoezin inhibisyonu
Ateş	Lökopeni
Başağrısı	DIC

Tablo-5: TNF'nin etkileri (62).

2.9. SEPSİSTE HEMODİNAMİK DURUM VE DOKU OKSİJENASYONU

Ağır sepsis, septik şok ve MODS önemli hemodinamik değişiklikler ile birlikte. Ağır sepsis ve septik şok olgularında başlangıçta çoğunlukla sistemik damar direncinde (SVR) ve damarların vazoaaktif maddelere yanıtında azalma ile seyreden hiperdinamik sirkülasyon; geç döneminde de ağır myokard depresyonu ve kan akımının dağılımına sekonder hipodinamik sirkülasyon gözlenir (67).

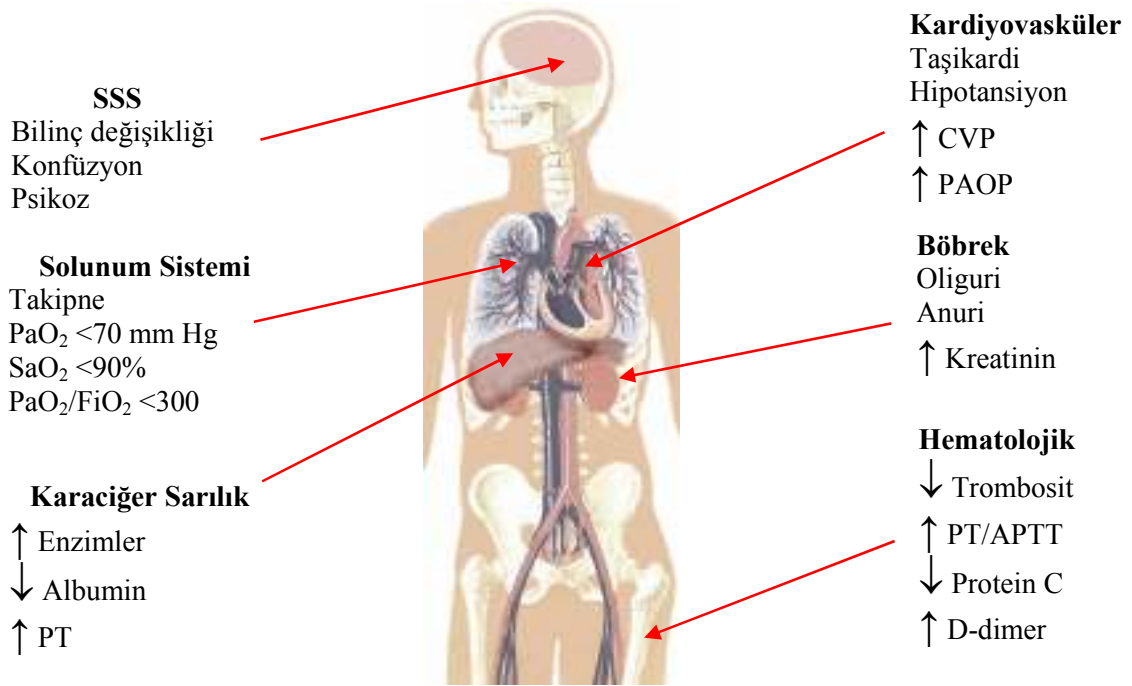
Sepsiste meydana gelen SVR'deki azalmanın başlangıçta en önemli nedeni diffüz arteriolar vazodilatasyondur. Fakat klinik ilerledikçe nötrofil ve trombosit mikroembolileri ve vazokonstriksiyon ile bazı vasküler yatakların tıkanması ve kanın tıkalı olmayan dilate arteriollere doğru akması SVR'deki azalmaya katkıda bulunur (67).

Hipotansiyon ve şok, gram negatif bakteriyel sepsisin iki önemli klinik bulgusudur. Arteriolar düz kas hücre seviyesinde vasküler tonus ve vasküler bütünlüğün kaybı, kapiller endotelin hiperpermeabilitesi ve intravasküler volümün transuda tarzında kaçağı komplikasyonların temel sebeplerini oluşturmaktadır. Septik hasarın yaptığı değişikliklere organizmanın verdiği fizyolojik ve metabolik cevap hastanın klinik gidişatında oldukça önemlidir. Vasküler tonusun azalması ve kapiller kaçış nedeniyle venöz bölümde hareketlenme, kardiyak outputta ve kalp hızında artış görülür. Bu cevaplar sonucunda ateş, flushing, taşikardi oluşur (sıcak şok). İleri safhalarda vasküler tonusta azalma, venöz dönüşte azalma ve bunlara bağlı olarak dolaşım yetmezliği görülür. Spesifik miyokardiyal disfonksiyon ve preloaddaki azalmaya bağlı kalp yetmezliği ortaya çıkar. Bunlara bağlı periferik vazokontrüksiyon ve hipotansiyon gelişir (soğuk şok). Sepsisteki bu vasküler tonustaki regülasyon bozukluğu nitrik oksit, LPS ve inflamatuvar sitokinlerin ortaya çıkmasına neden olur. Tüm bunlar sinerjistik etkiyle endotele zarar vererek nitrik oksit sentez ve salınımına zemin hazırlarlar. Nitrik oksit daha sonra çözünebilir guanilat siklaz üzerinden düz kas hücrelerini etkileyerek cGMP artımına neden olur. Bu da düz kas gevşemesine ve vasküler tonusun azalmasına neden olur. Bu reaksiyon hem sepsisli hastalarda hem de deneysel sepsislilerde izlenmiştir (67).

Sepsiste bütün organlarda patolojik değişiklikler görülebilir. En fazla organ hasarı akciğerler, karaciğer, böbrek, kalp ve barsaklarda görülür (Resim-1) (68). Bu değişiklikler bakteriyel invazyon, bakteriyel toksinler ve enzimlerin direkt etkisi, mediatörler aracılığıyla oluşan etki, perfüzyon bozukluğu ve DIC sonucu gelişen değişikliklerdir. Histopatolojik değişiklikler ise konjesyon, ödem, fibrin trombüsleri, hemoraji ve nekroza kadar giden lezyonlarla karakterizedir. Akciğerde hemorajik değişikliklere sık rastlanır ve ağır solunum yetmezliğine yol açar. Akciğerlerden sonra ikinci sıklıkla lezyonlar barsaklarda akut iskemik enterokolit, karaciğerde zonal nekrozlar şeklinde gelişir. Diğer organlarda da hemoraji ve nekrotik değişiklikler gözlenir (68).

Sepsis ve endotoksemide oksijen kullanımında, doku seviyesinde ölçülebilen defekt görülür. Yapılan çalışmalarda kompanse endotoksemide oksijen dağılımı artar fakat oksijenin dokulara alınımında zorluk görülür. Hücre boyutunda anaerobik metabolizma artar ve serum laktat seviyesi yükselir. Anaerobik koşullarda oksijen alımı,

oksijen dağılımından bağımsız hale gelir. Çünkü dokular yalnızca kendilerinin enerji gereksinimini karşılayacak kadar oksijeni tüketirler. Hipoksi ve yetersiz volüm replasmanı düşük kardiyak outputlu septik hastalarda, doku hasarına yol açar. Septik hastalarda vucuttaki kan dağılımı kalp, beyin, iskelet kasları, dalak ve böbreklere doğru eğilim göstermektedir. Özellikle taşıyan dokularda oksijen dağılımında defekt görülmekte, bu hipoperfüzyon sonucu lokal alanlarda doku nekrozu ve buna bağlı sistemik organ yetmezlikleri görülmektedir (69).



Resim-1: Ağır Sepsis Göstergeleri (68).

2.10.SEPSİS VE PULMONER YETMEZLİK

Günümüzdeki gelişmelere paralel olarak destek tedavisinin ilerletilmesine rağmen ARDS sonucu mortalite hala yüksektir. ARDS, multiorgan yetmezliğinin pulmoner komponentidir ve sepsisin sistemik cevabı şeklinde ortaya çıkar (70).

Solunum yetmezliği sepsiste erken ve sık meydana gelir, kalıcı olmaya meyillidir. LPS ve trombinin her ikisi de endotelial yüzeyde IL-1 üretimini indükler. IL-1 de araşidonik asit metabolitleri ve PAF'ın endotelial sentezini indükler. LPS, komplemanı aktive eder. Kompleman yıkım ürünleri TNF- α üretimini indükler. Bunun sonucu araşidonik asit metabolitleri ve PAF'ın sentezi uyarılır, sonuçta akciğer hasarı oluşur (70).

ARDS gelişiminde TNF- α , PAF, C5a, IL-8 ve tromboksan önemli rol oynar. Nötrofillerin endotelden geçişi ve intertisyumunda degranülasyon ve endotel bütünlüğünün bozulmasına, alveoler boşluklarda sıvı ve inflamatuvar hücre birikimine yol açar. Bozulmuş gaz değişimi hipoksiye yol açar. Hipoksi ve artmış pulmoner tromboksan sentezinin birleşimi pulmoner vasküler direnci artırır. Ancak sistemik vasküler direnç düşer. Sepsisteki solunumsal olayların sonucu interstisyel ödem ve pulmoner hipertansiyondur (71).

2.11. ARDS'DA TANI KRİTERLERİ

ARDS'ye ait spesifik bir klinik bulgu yoktur. Fakat bazı kriterler tanı için önemlidir. Bunlar;

1. Daha önceden bulunan kronik pulmoner hastalık veya sol ventrikül yetmezliği,
2. Pulmoner veya sistemik bir hastalık hikayesi,
3. Solunum hızının dakikada 20'den fazla oluşu,
4. Akciğer filminde diffuz pulmoner infiltrasyonun görülmesi,
5. Fizyolojik ölçümlerde hipokseminin ($FiO_2 > 0,6$ iken $PaO_2 < 50$ mmHg altında), azalmış torasik kapasitenin (< 50 l/cmH₂O) ve artmış şant fraksiyonunun saptanması şeklinde tanımlanır (72).

2.12. ARDS'UN FIZYOPATOLOJİ

Alveoler-kapiller membran boyunca sıvı akımı Starling dengesi ile hesaplanmaktadır. Burada membran boyunca sıvı geçişi zarın geçirgenliği ile her iki taraftaki hidrostatik ve kolloid osmatik basınca bağlıdır.

Modifiye denge formülü $Q_f = K_f (\Delta P - \sigma \Delta \pi)$ ' dir. Burada;

K_f = Kapiller zarın iletim ve sıvı geçirgenliği

ΔP ve $\Delta \pi$ = Alveoler ve kapiller lümen arasında hidrostatik ve osmatik basınç gradiyenti

σ = Sabit değer olup suya göre proteinin kapiller membrandaki geçirgenlik kat sayısı olup akciğerler için 0, 8'dir.

ARDS'de σ sıfıra yaklaşmakta ve osmatik basınç etkisi negatife yaklaşmaktadır. Hidrostatik basınç gradiyenti daha fazla osmatik gradiyente karşı koyamamakta ve alveole doğru akım görülmemektedir.

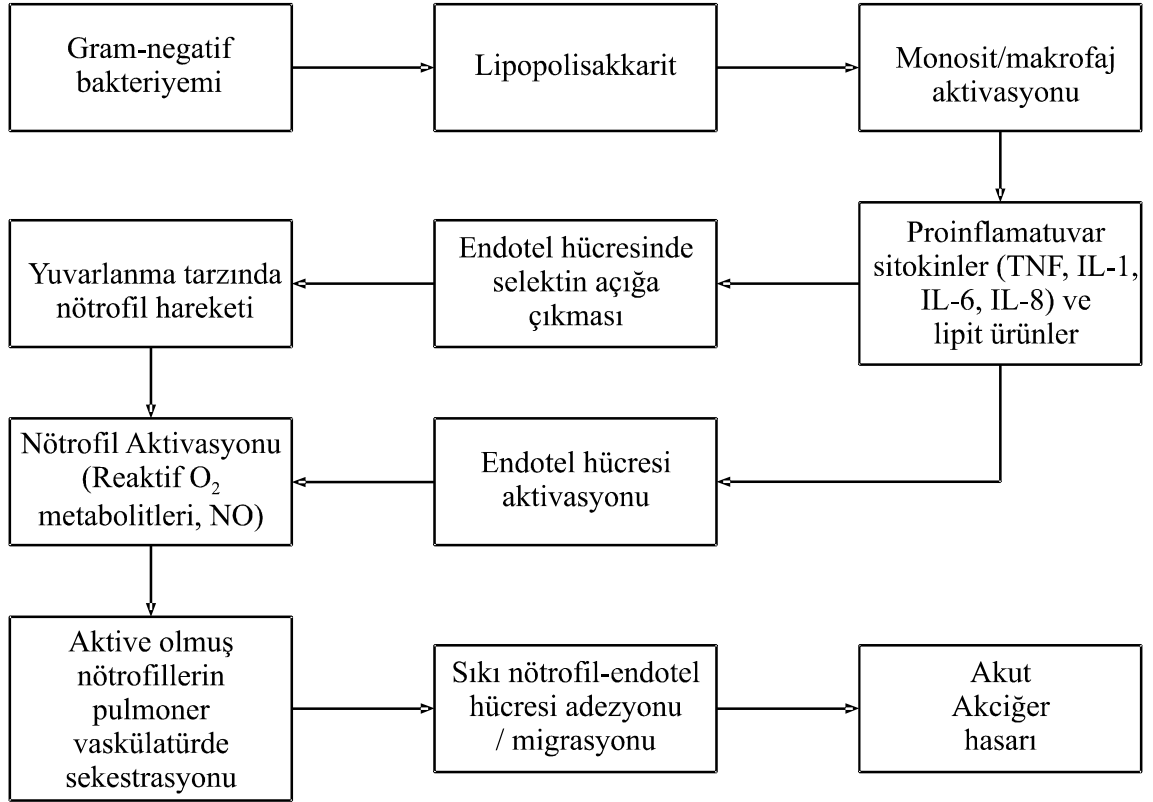
Kompensatuar mekanizmanın gelişmesi (pulmoner lenf drenajının artması) ile intertisyel ödem gelişmekte ve alveoller proteinöz sıvı ile dolmaktadır. Normal alveoler stabilleştirici madde olan sürfaktan üretim ve fonksiyonu etkilenmektedir. İntraalveoler protein koagülasyonu ve buna bağlı alveoler epitel hücrelerinin (Tip I pnömositler) nekrozu görülür. Bunun yanısıra sürfaktan üreten Tip II pnömositlerde hiperplazi ve fibroblast gibi intertisyel inflamatuvar hücrelerde birikme görülür. Fibrozis olaydan sonraki 7 gün içinde başlar. Bununla eş zamanlı olarak da pulmoner dolaşımda (vazokonstrüksiyon ve pulmoner hipertansiyon ile beraber) trombotik ve mikroembolik hadise görülür (72).

Küçük hava yolu kompresyonu ve alveoler kollaps nedeni ile akciğer volümünde düşme görülür. Komplians azalır ve fibrozis ilerler. Alveolde yeni şantlar açılır ve hipoksemi gelişir. Daha sonra pulmoner kapiller yatakta obliterasyon ve buna bağlı ventilasyon perfüzyon bozukluğu ve ölü boşlukta artma görülür (72).

2.13. ARDS'İN İNFLAMATUAR MEDIATÖRLERİ

Yapılan araştırmalara rağmen ARDS'deki kapiller geçirgenlikteki artışın nedenleri halen belirsizliğini korumaktadır. Tüm kardiyak çıkışı perfüze edebilen tek organ olan akciğer sepsis anında özellikle splanknik orijinli dolaşımdaki maddelerden etkilenerek zarar görür (73). Multisistem organ yetmezliği ve sepsis sendromunda endotoksinler merkezi bir rol oynar. Bu endotoksinler gram (-) ve gram (+) bakteri ürünleridir. Ancak kültürde bir üreme görülmeyebilir (74).

Akciğer hasarı durumunda lökositler, plateletler, nörojenik faktörler ve mediatörlerin etkisi ortaya çıkmaktadır. Bu mediatörler içerisinde prostoglandinler, lökotrienler, alveoler makrofajlar, oksijen radikalleri ve komplementler bulunur. Fakat etkileri hala net belirlenememiştir. Komplemente bağlı nötrofil birikimi (özellikle kapillerlerdeki) akciğer hasarındaki mekanizmada önemlidir. Gram (-) bakteriyel enfeksiyonların neden olduğu güçlü sistemik inflamasyonda ve sonuçta ortaya çıkan vasküler hasarda rol oynadığı kabul edilen olaylar zinciri Şekil-3'de şematize edilmiştir (75).



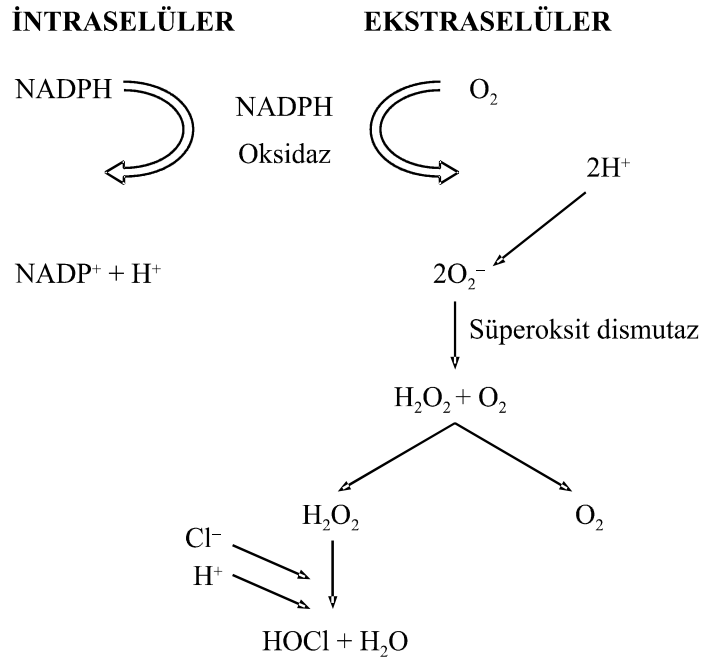
Şekil-9: Bakteriyemiye izleyen ve akut akciğer hasarı ile sonuçlanan biyolojik olaylar zinciri (75)

Bakteriyemiye izleyen biyolojik olaylar zincirinin sunulduğu bu şemada kimyasal mediatörleri ve bir seri kompleks “hücre yüzeyi adezyon reseptörleri”ni içeren ardışık basamakların sonunda, aktive olmuş nötrofillerin endotel ile sıkı adezyonunun pulmoner mikrovasküler hasara yol açtığı ifade edilmiştir. Normal koşullar altında nötrofiller sellüler defansın ilk adımı olarak çeşitli mekanizmaları kullanarak mikroorganizmaları uzaklaştırır ve tahrip ederler. Nötrofilin savunma sistemleri hücre içerisindeki lokalizasyonlarına dayanılarak iki başlık altında toplanabilir. Bunlardan ilki reaktif oksijen metabolitlerini oluşturan membran kökenli sistem, diğeri ise NADPH’dan ekstrasellüler moleküler oksijene elektron transferini sağlayan membran kökenli NADPH oksidaz enzimidir (75).

NADPH oksidaz enzimi süperoksit metabolitlerinin sentezinde rol oynamaktadır. Açığa çıkan süperoksit metabolitlerinden süperoksit dismutaz enzimi aracılığı ile hidrojen peroksit; hidrojen peroksitten de MPO enzimi aracılığı ile uzun ömürlü bir oksidan olan hipoklorik asit sentez edilmektedir (Şekil-10). Bu reaksiyonlar sonucunda aşırı reaktif anstabil oksijen metabolitlerinin peroksidasyon yoluyla komşu

hücrelerin lipid membranlarını parçalayabildikleri gösterilmiştir. Hücre sitoplazmasında ATP ve kalsiyum düzeylerini değiştirerek normal aktin metabolizmasını önleyen oksijen metabolitlerinin, endotel hücresinin formunda değişikliğe yol açarak ARDS için karakteristik olan kapiller kaçaklara neden oldukları belirlenmiştir (75).

Nötrofilik granüllerden oluşan sitozolik sistemin ise proteolitik enzimler, bakterisidal proteinler, lizozim ve laktoferrinden oluşan geniş bir enzim ailesini kapsadığı gösterilmiştir. Başta elastaz, jelatinaz ve kollejenaz olmak üzere birçok proteolitik enzimin kollajen, elastin ve bazal membrandan oluşan konakçı dokusunda harabiyet oluşturduğu, bu bağ dokusu elemanlarının bir kısmının veya tümünün destrüksiyonu yoluyla ARDS'deki ilerlemiş akciğer hasarı için karakteristik olan histolojik bulgulara yol açtığı kanıtlanmıştır (76, 77, 78).



Şekil-10: Aktive olmuş nötrofillerde reaktif oksijen metabolitlerinin açığa çıkmasına neden olan reaksiyonlar. (NADPH : Nikotin Amid Adenin Dinükleotid Fosfat, H₂O₂: Hidrojen Peroksit, O₂: Süperoksit Radikali, HOCl: Hipoklorik Asit (76)

İnsanlardaki sepsis çalışmalarında ve eksperimental modellerde hasarlanan dokularda hakim hücrenin nötrofiller olduğu, organ disfonksiyonunun derecesi ile nötrofil sayısı ve nötrofil ürünlerinin konsantrasyonu arasında bir korelasyon bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca bazı eksperimental sepsis modellerinde nötrofil azalmasının yararlı olabileceği belirlenmiştir. Oysa sepsis sırasında ajan patojenin ve mikrobiyal toksinlerin

fagositozu ve klirensindeki rolleri nedeniyle nötrofillerin konakçının yanıtında önemli oldukları kesinlik kazanmıştır. Ayrıca nötrofil sayısındaki düşüşlere ve fonksiyonundaki anormalliklere artmış bir enfeksiyon riskinin eşlik ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle sepsisli hastalarda konakçının savunma mekanizmalarının güçlendirilmesi amacıyla fagositik hücrelerin modüle edilmesinin yararlı olabileceği öne sürülmüştür (79).

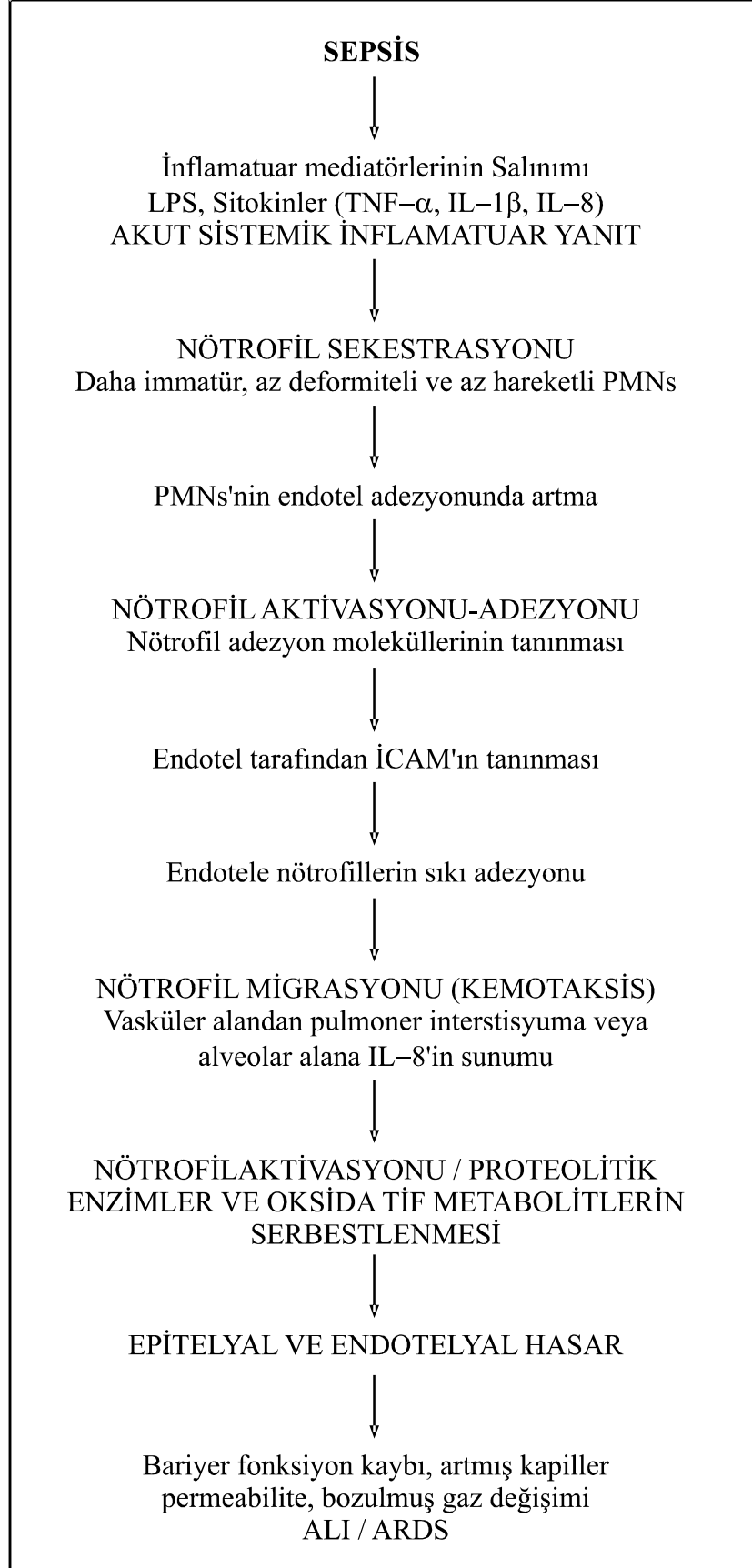
2.14. MİYELOPEROKSİDAZ ENZİMİNİN ÖZELLİKLERİ

Miyeloperoksidaz (MPO) fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir. Polimorfonükleer lökositlerin azurofil granüllerinde fazla miktarda bulunur. Diğer inflamatuvar hücreler olan monosit ve makrofajlarda çok az miktarda bulunur veya hiç bulunmaz. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun kantitatif bir göstergesi olarak ölçülmesinde kullanılan ve duyarlı bir gösterge oluşturan MPO aktivitesi giderek artan bir popülarite kazanmaktadır (80).

MPO'nun görevi nötrofiller tarafından fagosite edilen bakterileri sindirecek ürünleri oluşturan bazı tepkimeleri katalizlemektir (81).

MPO moleküler ağırlığı 140 kDa olan bir kan proteindir. İki çift alt birim içeren tetramer yapıda bir enzimdir. Oldukça stabil bir yapısı vardır. Alt birimlerinden ikisi ağır (55.000–62.000 Da), ikisi de hafif (10.000–15.000 Da) alt birim olarak adlandırılır. Ağır olanların her birine bir hem prostatik grubu ve bir de karbonhidrat grubu bağlıdır (82).

Nötrofiller savunma sisteminin en önemli bakterisidal silahıdır. Bu etkileri hipoklorik asit (HOCl) üretimini katalize etmeleri sonucu ortaya çıkan hidrojen peroksit ve klor iyonundan gelen güçlü bir antioksidan olmalarına bağlıdır. İnflamasyon durumunda MPO ekstrasellüler ortama salınır. Bunun ölçümü nötrofil aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır. Bir başka deyişle dokulardaki nötrofillerin çokluğunun bir göstergesidir (83).



Tablo-6: Sepsiste nötrofil ve sitokinlere bağlı ALI /ARDS (77)

2.15. BRONKOALVEOLER LAVAJ (BAL)

Günümüzde rutinde yer alan, güvenle uygulanır hale gelmiş olan solunum yolları ve akciğer patolojilerinin aydınlatılmasında vazgeçilmez bir tanı yöntemi olarak değerlendirilen BAL diğer tüm tıbbi prosedürler gibi bir gelişim sürecinden geçerek bugünkü konumuna ulaşmıştır. BAL küçük hava yolları ve alveolleri yıkayarak elde edilen sıvıda hücrelerin ve çeşitli solubl maddelerin incelenmesi anlamına gelir. İşlem son 15 yılda akciğer hastalıklarında çok kullanılan bir araştırma yöntemi haline gelmiştir (84).

BAL sıvısı kendi içerisindeki hücrelerin yaşamını birkaç saat sürdürmesine yetecek gerekli kültür ortamına sahiptir. Lavaj örnekleri +4°C’de birkaç gün, -20°C’de daha uzun bir süre saklanabilir. Enzim ve protein çalışmaları yapılacaksa ve 3 aydan uzun bir süre saklamak gerekiyorsa -70°C’de saklanmalıdır.

BAL’ın çoğunlukla kullanıldığı hastalıklar ve klinik durumlar şunlardır:

1. Sigara ile ilişkili hastalıklar,
2. İnterstisyel akciğer hastalıkları,
 - a) Sarkoidoz,
 - b) Hipersensitivite pnömonitisi,
 - c) Eozinofilik granüloma,
 - d) İdiopatik akciğer fibrozisi,
3. Kollajen hastalıkların akciğer tutulumları,
4. ARDS,
5. Kistik fibrozis,
6. AIDS,
7. Pulmoner alveoler proteinozis,
8. Astım,
9. Primer veya metastatik akciğer kanserleri,
10. Akciğer enfeksiyonları,
11. İnorganik ve organik tozlar,
12. Bazı ilaçların akciğerlere etkileri.

Akciğerlerdeki ve hava yollarındaki olayları göstermede serum yada plazmada yapılan çalışmalar BAL kadar spesifik değildir. Sonuç olarak BAL üzerinde yapılan birçok spesifik çalışma göstermiştir ki BAL akciğer hasarını göstermede spesifik bir indikatördür. Güvenilir ve spesifik bir yöntem olarak teşhis kriterleri arasındaki yeri gün geçtikçe artmaktadır (85, 86).

2.16. RANTES

Rantes, geniş ve çeşitli proinflamatuvar hücre tiplerini bütünlendirme ve aktive etme yeteneğine sahip olan geniş sitokin ailesi üyelerinden biridir. Bunlar 8–10 kDa'lık küçük polipeptidlerdir ve sistein atıklarının aminoterminallerinin aralıklı dizilmesine dayanarak sınıflandırılan CxC veya CC kemokinleridir. CxC kemokinleri öncelikle nötrofilleri aktive eder. CC kemokinleri ise birçok lökosit tiplerine etkir. Rantes, in vitro ortamlarda monositlerin, eozinofillerin, T hücrelerin (özellikle CD4, CD45RO) kemotaksisini ve aktive edilmesini sağlar ama nötrofillere etki etmez. Bu sonuçlar, Rantes'lerin allerjenlerin geç faz deri reaksiyonları veya allerjik astım gibi hastalıklardaki rolünü göstermektedir. Bu hipotez, geniş rantes grubunun eozinofilden oldukça zengin nazal polip dokularında bulunmasıyla kuvvetlenmektedir (87).

Rantes'lerin köpek cildi üzerine enjekte edilmesi ile invivo geniş eozinofilik infiltrat oluşturduğu gösterilmiş ve kombine immün defisitli fare modellerine enjekte edilen insan ranteslerinin, T lenfositlerini göç ettirdiği gözlenmiştir. MIP-1 α , (makrofaj inflamatuvar protein) invitro rantesle örtüşen bir hücre tipi spesifitesine sahiptir ve mast hücre degranülasyonu ile inflamatuvar bir cevap oluşturduğu invivo gösterilmiştir. Bu iki CC kemokinin genel bir reseptörü kopyalanmıştır ve 7 transmembran G-protein bağlı reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu reseptörün rekombinan ekspresyonu her iki kemokinle uyarıldığında fonksiyonel bir cevap geliştirebildiğini göstermiştir (88).

Kemokinler, 7 transmembranlı alanda G-protein çifti reseptör familyasını lökositlerin yüzeyine bağlar. Reseptörlerin yaklaşık 20 farklı türü tanımlanmıştır, ancak bunların sadece 5–6 tanesi akut inflamatuvar tepkide rol oynar. İnflamasyon bölgesindeki ligand profili ile birlikte dolaşan lökositlerin yüzeyindeki tanımlanan reseptör türleri, bölgeye özel olabilen inflamatuvar infiltrasyonun yapısını tam olarak belirler (19, 20).

Rekombinant rantes'deki başlangıç metioninin tutulması ve uzamasıyla agonist aktive göstermeyen bir protein oluşturur. Üstelik fonksiyonel bir antagonist gibi davranır. Açığa çıkan bu madde, CC reseptör 1'e (CCR1) bağlanarak bir reseptör antagonisti gibi davranır. Met-Rantes, kemotaksiste rantes ve MIP1 α 'yı benzer potensle inhibe eder. Rantes'in aminoterminalindeki tek bir aminoasitle uzaması, diğer kemokinler için tanımlanan aminoterminal delesyonlarıyla oluşturulan antagonistlerden daha potent bir antagonist oluşturur. CC kemokini olan monosit kemoatraktan proteini-1 (MCP-1)'in aminoterminalinden 2-8 artığın kesilmesi ile hücre kemotaksisini inhibe eden bir antagonist oluşturur. Bu varyantın, ligandın aktif formu için baskın negatif represör gibi davrandığı ileri sürülmüştür. Ancak Met-Rantes'in direk bağlanması gösterildiği ve her iki kemokini bağlamak için yarışabildiği için Met-Rantes, ortak MIP α /Rantes reseptörü üzerinde yarışmalı inhibitör olarak davranır. Tek aminoasit değişikliği, IL-4, IL-6 ve GM-CSF gibi diğer sitokinlerin antagonistlerini üretmiştir. Bu sitokinler heterodimer reseptör komplekslerine bağlanırlar. Detaylı çalışmalar yan zincirin ligand ve reseptör arasındaki bağlanma başlangıcında gerektiğini ve sinyal cevabı oluşturmak için gereken yan zincirlerin birbirinden ayrılmış olduğunu göstermiştir. Reseptörün sinyal kısmı bağlanma bölgesine zarar vermeden çıkarıldığında mutant antagoniste dönüşür (87).

Bağlanma ve sinyal farklılığında gereken artıklar işaretlenirse de Rantes için mutagenез verisi elde edilememiştir. Kemokinler ve C5a gibi diğer kemotaktik peptidler 7 transmembran G protein bağlı reseptörlere bağlanırlar ve sinyal iletirler. C5a, reseptörüyle iki ayrı kısımdan etkileşir. C5a aminoterminalinin reseptöre bağlanması ligandda fonksiyonel aktivasyon oluşturmak için karboksiterminaldeki ikinci kısım ile tam olarak etkileşmeyi sağlayan konformasyonel değişiklik oluşturur. Tek bir aminoasit eklenmesiyle biyoaktivitede bu kadar belirgin bir değişikliğin olması, Rantes'in aminoterminalinin önemini vurgular. Sekansın bir artıkle uzaması, reseptörün G protein aracılı sinyal iletimi için gerekli bölümüyle fonksiyonel etkileşim oluşturma yeteneğini yok eder. Ancak proteinin yapısını baştanbaşa etkilemediği için yüksek potent bir antagonist oluştururken, reseptör bağlanması bozulmaz. Bu hazır molekülle yapılacak *in vivo* çalışmalar, lökositlerin inflamasyon alanlarına gidişinde rol alan Rantes reseptörlerini bloke ederek inflamasyonun inhibe edilmesinde çok değerli bilgiler verecektir (87, 88).

Bhatia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, farelerde serulin hiperstimülasyonu ile oluşturulan pankreatitte CCR1 antagonisti olan Met-Rantesin akciğer tahribatını ve pankreatik tahribatı azaltmada etkileri olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada pankreasdaki MPO aktivitesi metranterli grupta düşmüş, pankreasın histopatolojik incelemesinde de pankreatit üzerinde nötrofil infiltrasyonunu ve uzak organ hasarını azalttığı görülmüştür (89).

Stojanovic ve arkadaşları sıçanlarda allogenik ince barsak transplantasyonu sonrasında 5 gün Met-Rantes vererek, akut rejeksiyonda endotelial hücrelerdeki mukozal perfüzyondaki harabiyeti azalttıklarını göstermişlerdir (90).

Met-Rantes, kemokin reseptörleri CCR1 ve CCR5 üzerinden eozinofil fonksiyonlarını antagonize eder. Bu etkisi ile allerjik hastalıkların ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılabilir (91). Chvatchko ve arkadaşlarının hayvan modellerinde yaptıkları çalışmada; kemokinlerin bir çok inflamatuvar hücrenin toplanmasında ve allerjik cevabın gelişiminde sitokinlerin önemli rol oynadığını göstermişlerdir (92).

Sıçanlarda trinitrobenzene sulfonik asit verilerek oluşturulan kolitte, Met-Rantesin akut safhada verilmesi ile akut fazdan kronik faza geçişinde CCR1 ve CCR5 reseptörlerini antagonize ederek inflamatuvar hadiseyi hem mikroskopik hem de makroskopik azalttığı gösterilmiştir (93).

Kemokinler, glomerüler inflamasyon, mezengial proliferasyon ve sklerozda önemlidirler. Deneysel glomerülofritlerde sıçan glomerüllerinde IL-1, IL-6 ve TNF- α gösterilmiştir. Anders ve arkadaşlarının rat modelinde yaptıkları çalışma ile glomerülofritte, Met-Rantes kullanarak, Kemokin Ligand (CCL) tutulumu ile Rantesin etkileri bloke olmuş, böylece glomerüle lökosit infiltrasyonunu inhibe etmiş ve proteinüriyi belirgin şekilde azaltmıştır. Böylece glomerüler proliferasyon ve glomerüler makrofaj infiltrasyonunun azaldığı gösterilmiştir (94).

Astmatik, atopik hastalarda Rantes, MCP-3, MCP-4 ve eotaxin gibi CC kemokinler, eozinofillerin birikiminde kritik rol oynarlar. Bu kemokinlerin hepsi CCR3 denilen ve esas olarak eozinofiller üzerinde eksprese olan ortak bir reseptör üzerinden etki ederler. Modifiye bir kemokin olan Met-Rantes, benzer şekilde CCR3 reseptörlerini bloke eder ve kemokinlere eozinofil kemotaktik cevabını önler (95). Astımın immün sistem aracılı bir hastalık olduğunun anlaşılması ile etiyoloji ve patogeneizde büyük ilerlemeler sağlanmıştır. Solunum yolu enfeksiyonları astım patogenezinde, bronş duvar

inflamasyonu ve immün sistem üzerine uzun dönem etkileri ile katkıda bulunmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarının tipi, sitokin profilinin indüklenmesinde kritik rol alır. Respiratuar sistem virüsü de dahil olmak üzere özellikle viral enfeksiyonlar, sitokin profilinin indüklenmesinde adjuvan olarak hareket ederler. Hava yollarının viral enfeksiyonlarında, primer hedef bronşial epiteldir. Bronşial epitelde viral enfeksiyonda salınımı artan proinflamatuvar sitokinlerin özellikle IL-8, IL-6, GM-CSF, Rantes, IL-10 ana kaynağıdır. Bu sitokinlerde eozinofilik inflamasyonun oluşumunda önemlidir. Elsner ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, alerjik astma, rinokonjunktivit ve atopik dermatitte, eozinofillerin intrinsik aktivitelerini Met-Rantes kullanarak azaltmışlardır (95).

Hiperkolesterolemik hayvan modellerinde Met-Rantes kullanarak, damar duvarında lökosit birikimini ve inflamasyonunu azaltarak aterosklerotik plak formasyonunun azaldığı gösterilmiştir (96).

Sıçanlarda renal transplantasyonun reddinde, böbrekte oluşan tübüler ve damar hasarının metranes kullanarak azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada vasküler, tübüler hasar grubu ve tedavi edilmeyen grup ayrı ayrı değerlendirilmiş ve böbrekte interstisyel inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (97).

Pernisiyöz anemi gelişen otoimmün gastritli hastalarda CCR5 antagonizm etkisi ile metranes, tedavi amacıyla kullanılmış ve otoimmün gastrit gelişimini önlediği gösterilmiştir (98).

Virüsler, kemokinleri ve kemokin reseptörlerini hayatta kalmalarını ya da yayılımlarını kolaylaştıracak doku çevresi oluşturmak için kullansalar da, viral kemokinlerin inflamatuvar ya da immün bir olaya maruz kalan insana fayda sağlamak için modifiye edilebilmesi akla uygundur. Böylece inflamatuvar ve immün hastalıkların tedavisi için, viral kaynaklı kemokinlerin kullanılması ile heyecan verici olasılıklar ortaya çıkmış ve viral genomlar yeni tuzak ya da antiinflamatuvar kemokinler için aktif olarak araştırılmaya başlanmıştır. HIV enfeksiyonu üzerinde ilk kez 1995 'de Cocchi ve arkadaşlarının yüksek kemokin düzeylerinin HIV replikasyonunu inhibe ettiğini göstermesinden sonra, HIV enfeksiyonunda kemokin bağımlı mekanizmalar üzerinde durulmaya başlandı. Yüksek riskli olduğu halde HIV seronegatif kalan erkeklerin serumunda Rantes, MIP-1 α , MIP-1 β gibi kemokinlerin düzeyinin yüksek olduğunun

gösterilmesi, bu kemokinlerin HIV girişi için kullanılan ortak reseptörlere bağlanarak virüs girişini önleyebileceğini gösterdi. CCR5'in ligandı olan Rantes, HIV-CCR5 ilişkilerini bloke edebilmektedir (99).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM), Temmuz–Ağustos 2005 tarihleri arasında Etik Kurul onayı ile yapıldı. Çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklendi. (Etik Kurul Karar Tarihi: 04.01.2005, Karar No:05/36).

3.1. Denekler

Çalışmada ağırlıkları 220–290 gram arasında değişen 30 adet erkek Wistar-albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak sham, kontrol ve çalışma gruplarına ayrıldı. Sıçanlar, araştırma öncesinde su ve standart laboratuvar diyeti ile beslendiler.

3.2. Anestezi

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

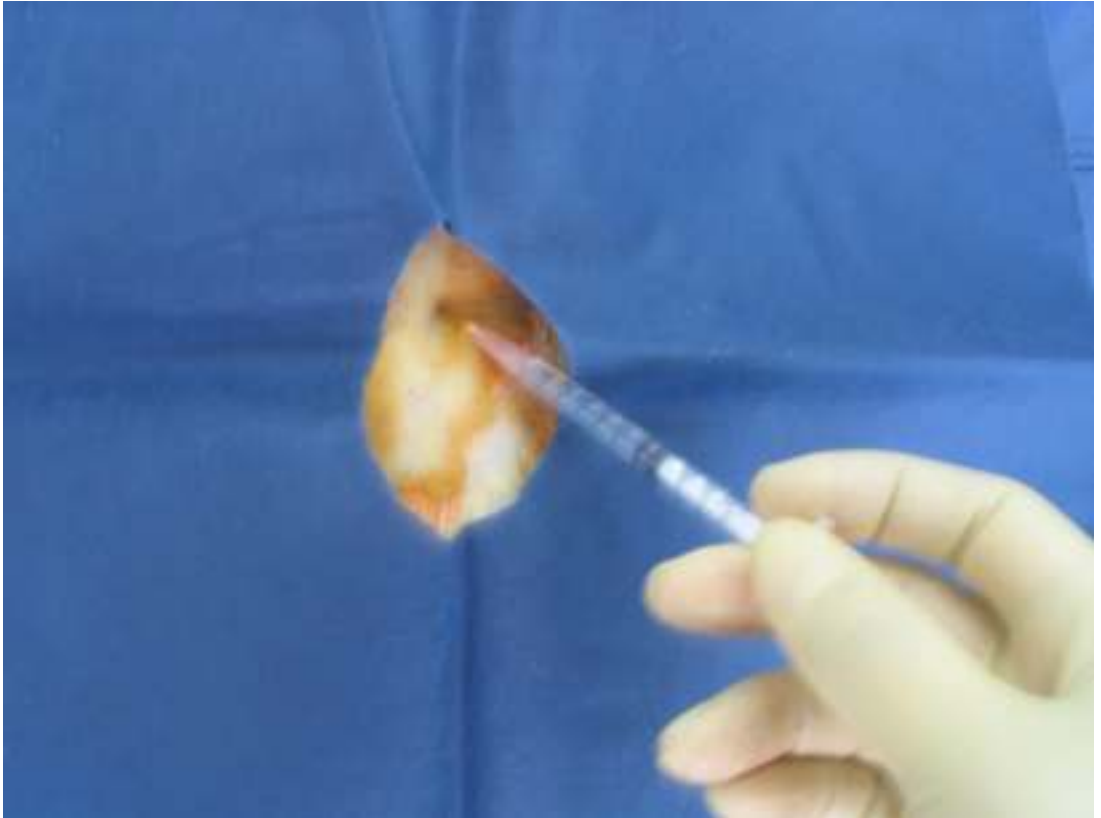
3.3. Deney Grupları

1. Sham Grubu (n=10) : Bu gruptaki sıçanlara sadece laparotomi yapıldı.
2. Sepsis Grubu (n=10) : İntraperitoneal tek doz LPS (500 µgr / kg) verilerek, intraabdominal sepsis oluşturuldu.
3. Sepsis + Met–Rantes Grubu (n=10) : İntraperitoneal LPS verilerek sepsis oluşturulup, 1 saat sonra tek doz intraperitoneal Met-Rantes (500 µgr / kg) (Rabbit–Anti–Mouse, Rantes, Cederlane Laborat Catalog 9187AP) verildi.

Tüm gruplara 2 saat sonrasında bronkoalveolar lavaj yapıp, kan ve doku örnekleri alındı.

3.4. İnteraabdominal sepsis oluşturulması

Çalışmadan 2 saat önce 100 ml serum fizyolojik içinde süspanse edilen LPS den 500 μ gr / kg LPS tek doz intraperitoneal verilmiştir. Sepsis oluşturulan ve 1 saat sonra Met-Rantes verilen denekler 2. saatin sonunda, karın cildi traş edilip, % 70 lik alkol ile dezenfekte edilerek intraperitoneal ketamin verilmesi ile anestezi sağlandı. Sıçanlar spontan solunuma bırakıldı. Orta hat insizyonla yapılan laparotomi sonrasında, sağ ventrikülden alınan kan rneği ile TNF- α , IL-6, beyaz küre ve kan gazı Biyokimya Anabilim Dalında alışıldı. BAL yapılıp lavaj sıvısında hücre sayımı yapıldı. Sağ akciğer dokusu % 0.9'luk NaCl ile yüzeyel yıkama ve kurutma işlemlerinin ardından miyeloperoksidaz ölçümü için kullanıldı. Sol akciğer dokusu ise % 10'luk formol içerisine konulup Patoloji Anabilim Dalında histopatolojik inceleme yapıldı.



Resim-2: İnteraperitoneal LPS ve Met-Rantes uygulanması

3.5. Bronko alveoler Lavaj

Denekler 2 saati doldurduktan sonra ketamin ile anestezi sağlanıp trakea ortaya çıkarılıp trakeaya 20 no kateter konuldu (Resim-3). Kateter 2/0 ipekle distalden bağlanarak lavaj sıvısının yukarı kaçması engellendi. Kanülden salin ile (10X2ml) bronşial yıkama yapıldı (Resim-4). Belirtilen bronkoalveoler lavaj sıvısı 500 g(1800 RPM) de 10 dakika 4 C’de santrifüj edildi, hücre pelleti fosfat buffer solusyonunda (PBS) suspanse edildi ve yıkandı.

BAL sıvısında total hücre sayısı Coulter Analyzer (Coulter Corporation 1800 SW, Miami, USA) cihazında ölçüldü. Hücreler, nötrofil, lenfosit, makrofaj olmak üzere ayırma tabi tutulabilmek için sitosantrifüj edilip Wright ile boyandı.



Resim-3: Trakeanın ortaya çıkarılması



Resim-4:Bronkoalveolar lavaj yapılışı

3.6. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Tüm deneklere 2 saati doldurduktan sonra ketamin anestezisi altında bronkoalveolar lavajı takiben sternotomi yapıldı. Sağ ventrikülden TNF- α , IL-6 ölçümü için düz tüpe 2 ml, total beyaz küre sayısını belirlemek için etilendiamintetraasetikli (EDTA) tüpe 1 ml ve kan gazı ölçümü için sitratlı insülin enjektörü içine 0,2 ml kan örneği alındı. Kanda total beyaz küre sayısı ve nötrofil, lenfosit, monosit hücrelerinin

yüzdesi Coulter Hematology Analyzer (Coulter Beckman HMX, Miami, USA) cihazı ile ölçüldü. Hazırlanan preparatlar giemsa ile boyandı. Sol akciğer histopatolojik inceleme için % 10'luk formol ile tespit edildi. Sağ akciğer ise % 0.9 sodyum klorür ile yüzeysel yıkama ve kurutma işlemlerinin ardından MPO aktivitesi ölçümü için kullanıldı.

3.7. Kan gazı ölçümü

Kan gazı ölçüm (Rapid lab-348, Bayer) cihazında yapıldı.

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

Serum TNF- α ve IL-6 düzeyi için kan örnekleri 4000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrıştırıldı. Serum örnekleri eppendorf tüplerine konularak analiz gününe kadar -70 C'de saklandı. Serum IL-6 düzeyi Rat IL-6 Elisa kiti ile saptandı. (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 saptandı. (Birim değeri pg/ml)(Rat TNF- α Enzyme Immunometric Assay Kit, Biosource, Catalog KRC 3011, USA)

3.9. Akciğer Dokusunda MPO Ölçümü

Akciğer dokusunda Miyeloperoksidaz ölçümü tayininde Bradley ve arkadaşları tarafından geliştirilen metod kısmen modifiye edilerek kullanıldı(102).

Metodun prensibi, peroksidaz substratı olarak bilinen O-dianisidinin H₂O₂ varlığında MPO tarafından oksitlenerek sarı-turuncu renkte bir ürün oluşturması ve renk şiddetinin 460 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Çalışma günü, -70°C'de bekletilen akciğer dokusu çıkarıldı, çözdürüldü ve 3-4 kez soğuk serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra süzgeç kağıdı içerisinde kurulandı ve tartıldı. Buz içerisinde HETAB (hekzodesiltrimetilamonyum bromide) içeren potasyum fosfat tamponuyla (pH:6.0) homojenize edilen doku süpernatantları, D-dianisidin ve H₂O₂ bulunan ortama alındı. Spektrofotometrede 460 nm dalga boyundaki O-dianisidin artışları 10 dakika süreyle izlendi.

Bir ünite MPO (Ü/ml) standart deney şartlarında (25°C) dakikada bir mikromol H₂O₂'nin degradasyonunu katalizleyen enzim miktarı olarak tanımlandı (73). Oksitlenen O-dianisidinin ekstraksiyon katsayısı (t:1. 13 x 10⁴ M⁻¹ em⁻¹) kullanılarak MPO aktivitesine geçildi. MPO üniteleri, gram yaş doku ağırlığı başına verildi (Ü/g doku).

3.10. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme gruplardan habersiz bir araştırmacı tarafından yapıldı. %10'luk formol içinde tespit edilen sol akciğer doku işleminin ardından parafine gömüldü. Parafin bloklardan akciğerin orta zonuna uyacak şekilde kesitler alındı. Hemotoksilen-Eozin ile boyanıp x10'luk objektif kullanılarak mikroskop altında incelendi.

Kapiller ve alveollerdeki nötrofil sayısı, alveoler ve interstisiyel ödem ile alveoler hemorajinin değerlendirilmesinde;

0=patolojik bulgu yok,

1=hafif,

2=orta derecede,

3=şiddetli bulgu şeklinde skorlama sistemi kullanıldı.

Skorlama yapılırken kesitler ortalama 10 saha olarak kabul edildi.

0=patolojik bulgu yok,

1=ortalama 3 sahanın altı,

2=ortalama 3-6 saha,

3=ortalama 6 sahanın üstü) (74).

3.11. İstatistiksel Analiz

Sham, sepsis, sepsis + Met-Rantes gruplarının patolojik değerlerinin incelenmesi için Pearson Ki-kare testi kullanıldı.

Kanda ve BAL sıvısında total hücre sayısı ve hücre yüzdelerinin dağılımı ile IL-6 ve MPO değerlerinin incelenmesi için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında farkı karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel analiz, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (11.0 version) programında yapıldı. P<0.001 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular:

4.1.1. Beyaz Küre Sonuçları

Her üç grup beyaz küre sonuçları ile değerlendirildiğinde; sepsis grubunda belirgin bir artış olduğu görüldü. Sepsis grubundaki bu artışın sham ve Met-Rantes grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($P<0.001$) (Tablo-7) (Grafik-1). Met-Rantes grubunda, sepsis grubuna göre azalmanın oluşu istatistiksel olarak anlamlı değerlendirildi ($P<0.001$). Bu azalma, met-rantesin fizyolojik bir etkisinin (Tablo-7) sonucu olarak yorumlandı.

4.1.2. TNF- α Sonuçları:

Her üç grup TNF- α sonuçları ile değerlendirildiğinde; Sepsis grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü ($P<0.001$) (Tablo-7) (Grafik-2). Met-Rantes grubunda, sepsis grubu ile karşılaştırıldığında azalmanın oluşu istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi. Met-Rantes grubundaki bu azalma, Met-Rantesin olumlu etkisinin sonucu olarak değerlendirildi.

4.1.3. IL-6 Sonuçları:

Her üç grup IL-6 sonuçlarıyla değerlendirildiğinde; Sham grubuna göre, sepsis ve Met-Rantes grubunda belirgin artış olduğu görüldü. Sepsis grubuna göre Met-Rantes grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi ($P<0.001$) (Tablo-7) (Grafik-3). Bu azalma Met-Rantesin olumlu etkisinin sonucu olarak değerlendirildi.

	Sham	Sepsis	Sepsis + Met-	P*	P**	P***
--	------	--------	---------------	----	-----	------

	(Ortalama \pm SD)	(Ortalama \pm SD)	Rantes (Ortalama \pm SD)			
BK (10 ³ / ml)	8,800 \pm 5,000	13,620 \pm 6,000	11,100 \pm 3,000	<0.001	<0.001	<0.001
TNF- α (pg / ml)	29,400 \pm 4,700	679,50 \pm 71,00	231,41 \pm 15,15	<0.001	<0.001	<0.001
IL-6 (pg / ml)	49,240 \pm 5,000	924,40 \pm 41,00	721,100 \pm 308,70	<0.001	<0.001	<0.001

Tablo-7: Beyaz küre, TNF- α ve IL-6 sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

* Sham ve sepsis grubunun karşılaştırılması

** Sham ve Sepsis Met-Rantes grubunun karşılaştırılması

*** Sepsis ve Sepsis + Met-Rantes grubunun karşılaştırılması

4.2. BAL Sıvısında Total Hücre Sayımı:

Her üç grup BAL sıvısında total hücre sayımı sonuçları ile değerlendirildiğinde sham grubuna göre sepsis ve Met-Rantes grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü (P<0.001) (Tablo-8). Met-Rantes ile tedavi edilen grupta, sepsis grubuna göre azalmanın oluşu istatistiksel olarak anlamlı değerlendirildi (P<0.001).

	SHAM (ORTALAMA \pm SD)	SEPSİS (ORTALAMA \pm SD)	SEPSİS + MET-RANTES (ORTALAMA \pm SD)	P*	P**	P***
BAL 10 ⁶ x ml	1,7134 \pm 0,019	3,8080 \pm 0,027	2,420 \pm 0,055	<0.001	<0.001	<0.001

Tablo-8: BAL sıvısında total hücre sayımı sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

* Sham ve sepsis grubunun karşılaştırılması

** Sham ve Sepsis Met-Rantes grubunun karşılaştırılması

*** Sepsis ve Sepsis + Met-Rantes grubunun karşılaştırılması

4.3. Morfolojik Bulgular

4.3.1. Akciğer Dokusunda MPO Ölçümü

Akciğer dokusunda MPO düzeyleri karşılaştırıldığında sham grubuna göre, diğer iki grupta istatistiksel artış tespit edildi ($P<0.001$). Met–Rantes grubunda, sepsis grubuna göre akciğer dokusunda MPO aktivitesinde azalma oluşu istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu azalma; Met–Rantesin etkisinin sonucu olarak yorumlandı ($P<0.001$) (Tablo–9) (Grafik–8).

	SHAM (ORTALAMA ± SD)	SEPSİS (ORTALAMA ± SD)	SEPSİS + MET–RANTES (ORTALAMA ± SD)	P*	P**	P***
MPO (U/g doku)	0,8860 ± 0,0196	1,6780 ± 0,0220	1,2470 ± 0,309	<0.001	<0.001	<0.001

Tablo–9: Akciğer dokusunda MPO sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

* Sham ve sepsis grubunun karşılaştırılması

** Sham ve Sepsis Met–Rantes grubunun karşılaştırılması

*** Sepsis ve Sepsis + Met–Rantes grubunun karşılaştırılması

4.4. Histopatolojik İnceleme Sonuçları:

Gruplar	Sham				Sepsis				Sepsis+Met– Rantes				p*	P**	P***
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3			
Değerlendirme	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	p*	P**	P***
Alveoler İnterstisyel Ödem	9	1	–	–	7	2	1	–	8	2	–	–	>0.05	>0.05	>0.05
Alveoler Hemoroji	9	1	–	–	–	1	7	2	1	8	1	–	<0.001	<0.001	<0.001
Nötrofil İnfiltrasyonu	1 0	–	–	–	–	1	5	4	2	5	3	–	<0.001	<0.001	<0.001

Tablo–10: Tüm gruplar için histopatolojik skorlama sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

Alveoler interstisyel ödem açısından gruplar değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P>0.05$).

Alveoler hemoraji açısından, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülürken, Met–Rantes grubunun sepsis grubu ile karşılaştırıldığında alveoler hemorajinin azaldığı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($P<0.001$) (Resim–6)(Resim–7).

Nötrofil infiltrasyonu açısından her üç grupta istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi. Met–Rantes ile tedavi edilen grupta nötrofil infiltrasyonunun sepsis grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($P<0.001$) (Resim–8)(Resim–9).

4.5. Kan Gazı Sonuçları:

4.5.1. Ph Sonuçları: PH değerleri sepsis grubunda, sham ve Met–Rantes grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($P<0.001$). Sepsis grubu, sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak azalma görülürken ($P<0.001$), Met–Rantes grubu ile karşılaştırıldığında azalma istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülür ($P<0.001$) (Tablo–11).

4.5.2. PO₂ Sonuçları: PO₂ değerleri sepsis grubunda sham ve Met–Rantes grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi ($P<0.001$) (Tablo–11).

4.5.3. PCO₂ Sonuçları: PO₂ değerleri her üç grup arasında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($P>0.05$) (Tablo–11).

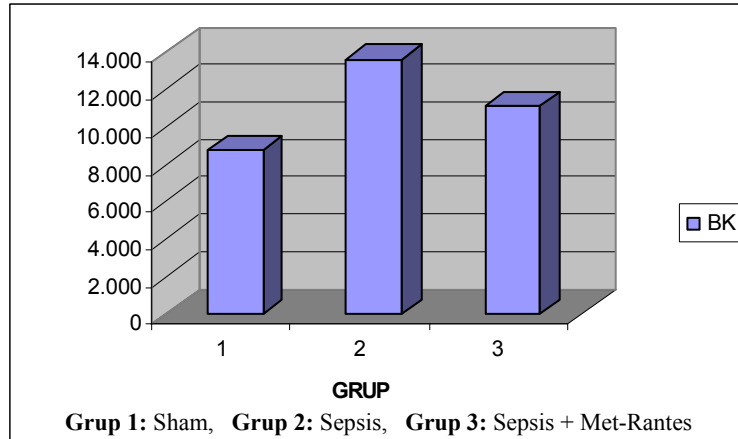
	SHAM (ORTALAMA ± SD)	SEPSİS (ORTALAMA ± SD)	SEPSİS + MET-RANTES (ORTALAMA ± SD)	P*	P**	P***
PH	7,39 ± 0,035	7,29 ± 0,02	7,32 ± 0,02	<0.001	<0.001	<0.001
PO ₂	92,90 ± 2,18	66,20 ± 5,03	82,20 ± 5,61	<0.001	<0.001	<0.001
PCO ₂	36,50 ± 1,60	50,60 ± 3,47	43,00 ± 2,44	>0.05	>0.05	>0.05

Tablo-11: Kan gazı sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

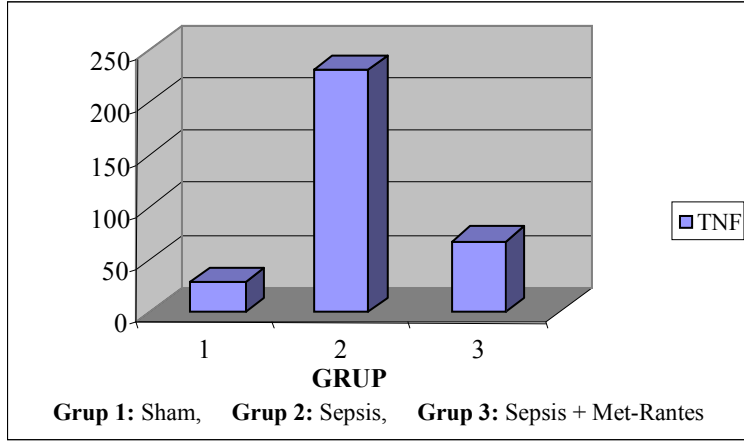
* Sham ve sepsis grubunun karşılaştırılması

** Sham ve Sepsis Met-Rantes grubunun karşılaştırılması

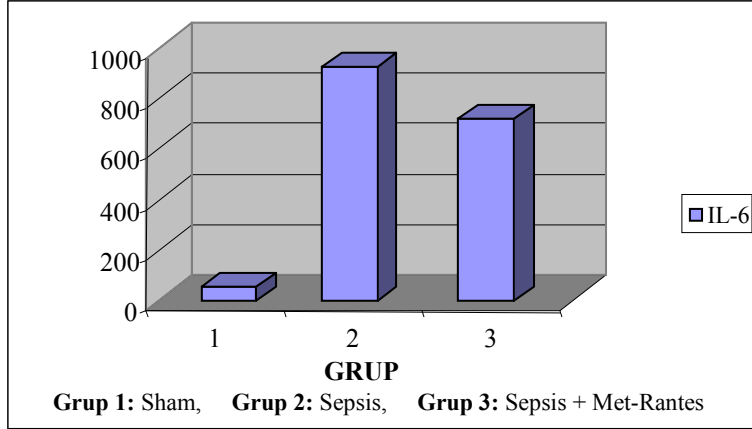
*** Sepsis ve Sepsis + Met-Rantes grubunun karşılaştırılması



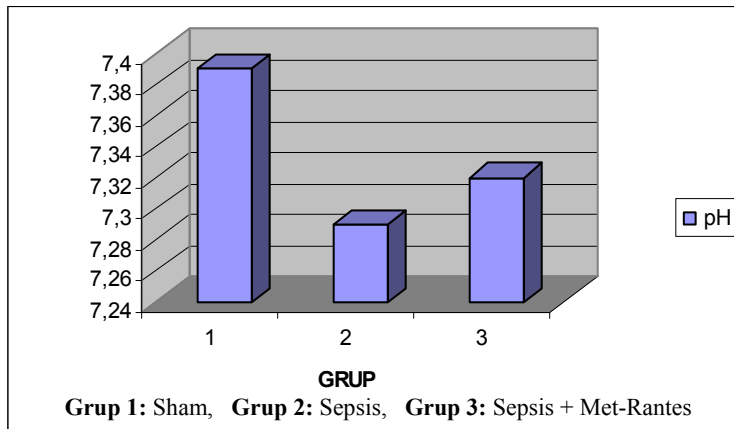
Grafik-1: Beyaz Küre seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması



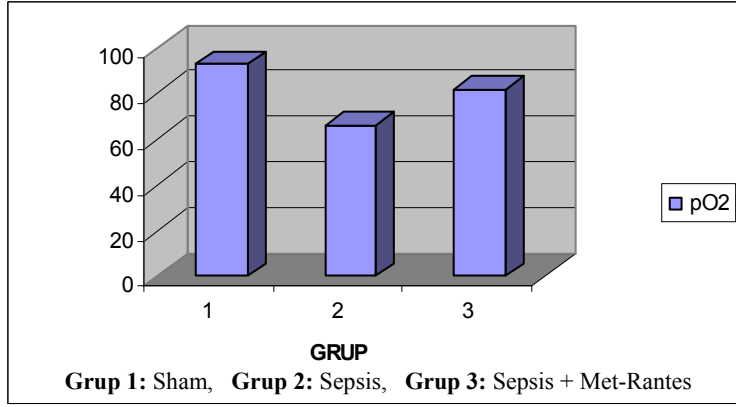
Grafik-2: TNF- α seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması



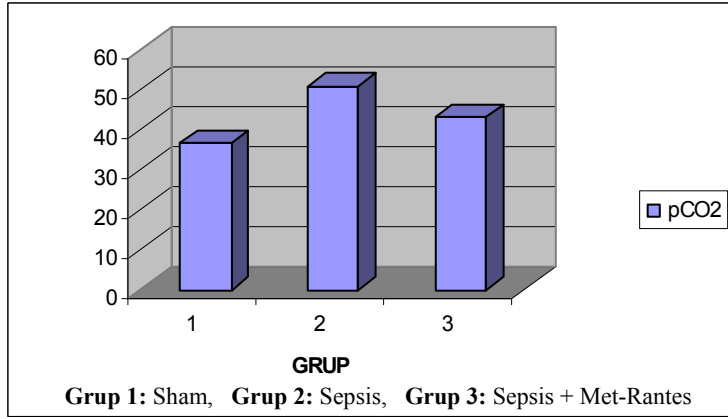
Grafik-3: IL-6 seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması



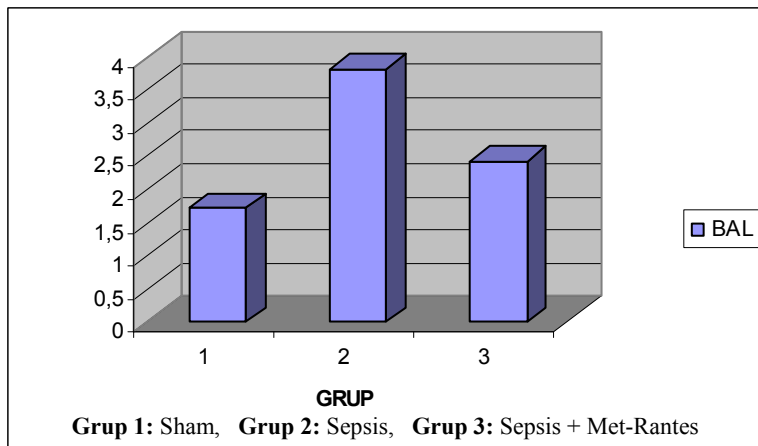
Grafik-4: Kan Gazı pH seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması



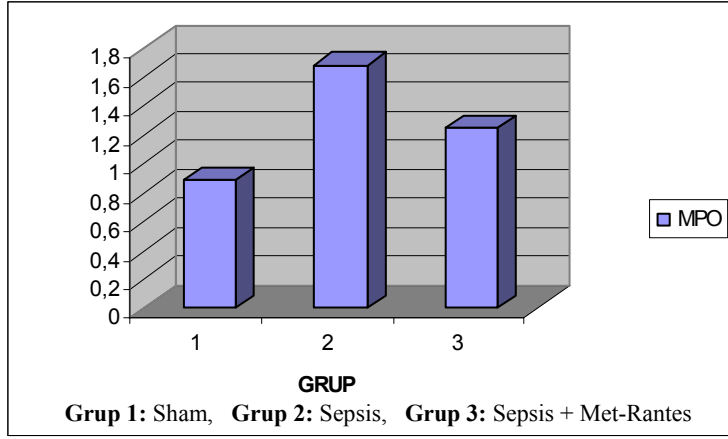
Grafik-5: Kan Gazı PO₂ seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması



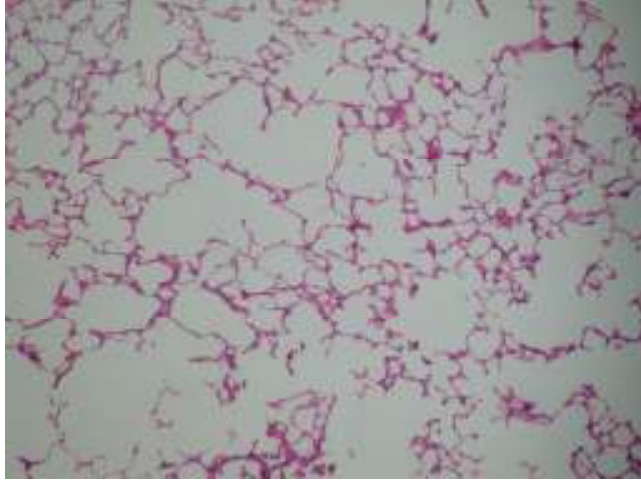
Grafik-6: Kan Gazı PCO₂ seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması



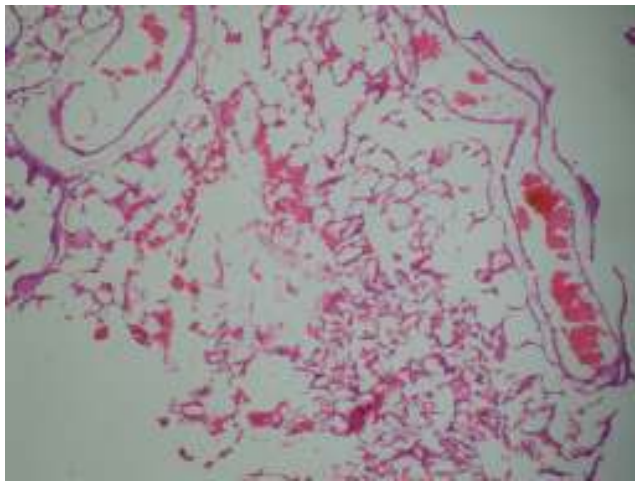
Grafik-7: BAL sıvısında total hücre sayımı sonuçlarının gruplar arasında karşılaştırılması



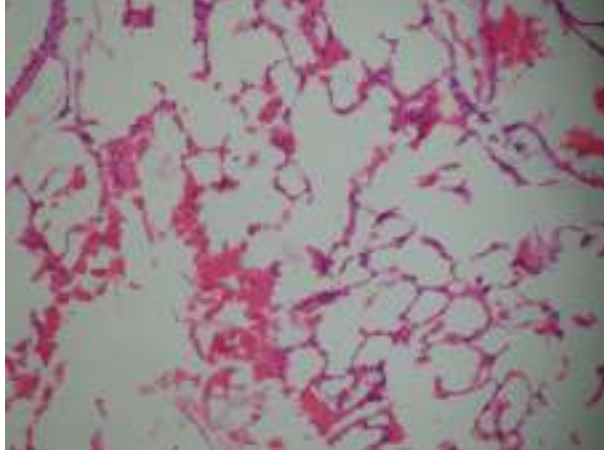
Grafik-8: Akciğer dokusunda MPO düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması



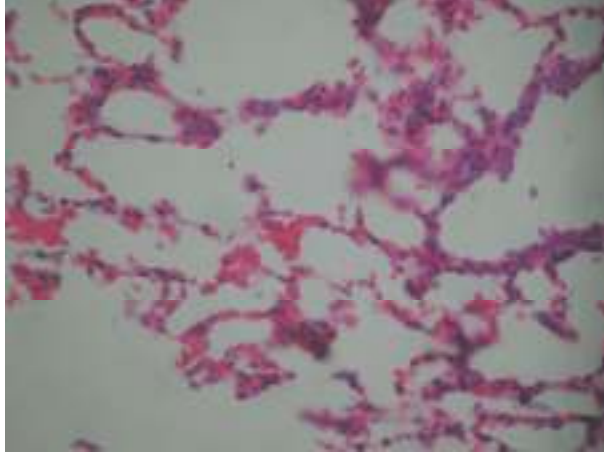
Resim-5: Normal sıçan akciğerinin mikroskopik görünümü (H&EX100)



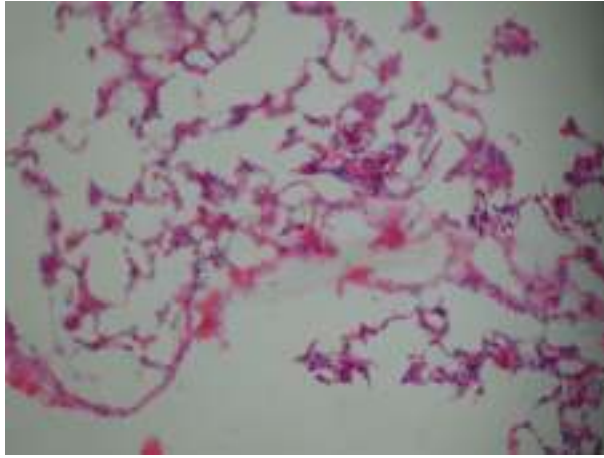
Resim-6: Sepsis grubunda Akciğer kesitlerinde şiddetli hemorajinin mikroskopik görünümü (H&E100)



Resim-7: Sepsis grubunda Akciğer kesitlerinde şiddetli hemoraji ve nötrofil hakimiyetinin mikroskopik görünümü (H&E200)



Resim-8: Met-Rantes grubunda Akciğer kesitlerinde nötrofil infiltrasyonun mikroskopik görünümü (H&E200)



Resim-9: Met-Rantes grubunda akciğer kesitlerinde nötrofil infiltrasyonun mikroskopik görünümü (H&E200)

5. TARTIŞMA

Sepsis, yıllar boyunca tıp dünyasının tedavisi güç ve mortalitesi yüksek sorunlarından birisi olmuştur. Acil olarak tedavi edilmesi gereken sepsis ve septik şok günümüzde hala önemli ölçüde mortaliteye (% 46 – 82) sahip klinik bir tablodur. Pek çok hastada klinik tablo SIRS'tan başlayarak sepsis, ağır sepsis, septik şok ve MODS'a kadar uzanan sürekli, şiddeti gittikçe artan klinik ve patofizyolojik bir süreçtir. Bu nedenle de mortalitesi yüksek olan bu durumun erkenden tanımlanarak, acil ve etkin bir tedavinin uygulanması ile yaşama şansı önemli ölçüde artırılabilir (6, 24).

Standart sepsis tedavisi, antibiyotik kullanımı, infeksiyon odağının cerrahi olarak çıkarılması, diyaliz, mekanik ventilasyon, vazoaaktif ilaçların kullanımı gibi çok yönlü bir yaklaşımı içerir. Bu yaklaşımların doğru ve zamanında uygulanması bile septik şoka bağlı yüksek mortaliteyi önleyememektedir. Öte yandan, invaziv girişimlerin artışı, kanser kemoterapisindeki gelişmeler, AIDS hasta sayısının artışı gibi nedenlerle son yıllarda hastanelere sepsis için yüksek risk taşıyan hastaların varlığı daha çok gözlenmektedir. Bu durum, yeni tedavi arayışlarını gündeme getirmiş ve bu konuda birçok araştırma yapılmaya başlanmıştır.

Bu yeni tedavi yaklaşımlarının temeli bakteri toksinleri ve konaktan salınan mediatörlerin nötralize edilmesi yolu ile sendromun ilerleyişini durdurmak veya yavaşlatmak esasına dayanır. Bu amaçla yürütülen çalışmalarda bakteri toksinleri (endotoksin), TNF ve IL'ler gibi inflamatuvar yanıtta rol oynayan sitokinler, nötrofil gibi inflamatuvar hücreler, nitrik oksit, trombosit aktive edici faktör (PAF), bradikinin gibi inflamatuvar yanıtın çeşitli elemanları hedef olarak alınmış; laboratuvar çalışmalarının yanı sıra klinik çalışmalar da yürütülmektedir.

Laboratuvar hayvanlarında sepsis oluşturmak amacıyla kullanılabilir modelleri ilk defa Wichterman ve arkadaşları sınıflandırmışlardır (100).

Bunlar:

- 1) Canlı modellerinin intravenöz infüzyonu (E. Coli),
- 2) Peritoneal kaviteye fekal materyal veya canlı mikroorganizmanın uygulanması,
- 3) Ekstremitelere, yumuşak dokulara enfekte materyal implantasyonu ile abses oluşturulması,
- 4) Cerrahi girişim ile gastrointestinal traktustaki normal bariyerlerin hasarlanması şeklindedir.

Sepsisin ideal hayvan modeli basit ve tekrar edilebilir olmalıdır. Kullanılan hayvanlar sitokine destekli klinik bulgu vermeli ve bakteriyolojik sonuçlar elde edebilmelidir. Hastalık lokalize bir enfeksiyondan başlayıp artmalı, sistemik sepsis ve multipl organ disfonksiyonuna ilerlemelidir (60).

İntraabdominal sepsise bağlı akciğer komplikasyonlarının araştırıldığı çalışmamızda pahalı olmamaları, kolay sağlanabilmeleri, yaş, cinsiyet ve genotipik kökenlerinin kontrol edilebilmesi, aynı diyetle beslenmeleri ve spesifik bir patojen içermemeleri nedeniyle sıçanlarda çalışılması tercih edilmiştir.

En basit endotoksikoz model herhangi bir girişim yapılmadan intraperitoneal veya intravenöz bolus LPS dozu verilerek hazırlanır. Genel olarak dört çeşit uygulama söz konusu olup; bunlar aşağıda belirtilmişlerdir (35, 60).

- Küçük LPS dozu kullanılan modeller
- Agresif intravasküler hacim resusitasyonu sağlanan modeller
- Sürekli LPS infüzyonu uygulanan modeller
- İntraperitoneal LPS enjeksiyonu uygulanan modeller

Çalışmamızda tek doz intraperitoneal bolus LPS verilerek sepsis oluşturuldu.

Bakteriyel sepsis esnasında oluşan sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna akciğer komplikasyonları yaygın olarak eşlik eder. Sepsiste nötrofil davranışlarının manipule edilmesinin ARDS fizyopatolojisini anlamlı boyutta etkileyebileceğini

gösteren çalışmalara ait çelişkili sonuçlar, klinikte sık karşılaşılan intraabdominal sepsiste ilk etkilenen organlardan biri olarak akciğerler üzerine odaklanmamıza neden olmuştur.

Alveoler makrofajlar akciğerlerdeki fagositozdan sorumlu olan primer hücreler olup yabancı materyallerin temizliği, solunum sistemindeki enfeksiyon ve mikroorganizmaların inaktivasyonundan sorumludurlar. Bu nedenle, geniş ve çeşitli proinflamatuvar hücre tiplerini bütünleme ve aktive etme yeteneğine sahip olan Rantes antagenisti olan Met-Rantesin sepsisin akciğer komplikasyonları üzerinde ne derecede etki yaratabileceğini araştırdık.

Met-Rantes, diğer kemokin antagonistlerinin aksine deneysel sepsis modeli üzerinde denenmemiştir. Literatürde Met-Rantesin uygulama şekli deneysel çalışmalarda daha çok intraperitoneal (101, 102, 103,) klinik çalışmalarda intravenöz (104, 105, 106) olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda Met–Rantesin intraperitoneal uygulama dozu, yapılan deneysel çalışmalarda akciğer hasarını önlemede kullanılan doz (0–5 mg / kg) aralığından LPS verilmişinden 1 saat sonra, tek doz 500 µgr/kg dozunda uygulandı.

Literatürde, farelerde caerulein hiperstimülasyonu ile oluşturulan akut pankreatitte kemokin reseptör antagonisti olan Met–Rantes'in akciğer ve pankreatik tahribat üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, Met–Rantes serulin enjeksiyonundan 1 saat sonra ya da 30 dakika önce, akciğer hasarını önlemede kullanılan doz (0–5 mg / kg) aralığından intraperitoneal yol ile verilmiştir (88).

Kanda beyaz küre sonuçları açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılık olduğu görüldü ($P<0.001$) (Tablo–7). Sepsis grubunda belirgin bir artış olmasına rağmen, Sepsis + Met–Rantes grubunda sepsis grubuna göre düşme görüldü. Literatürde Met-Rantesin sepsis modeli üzerinde uygulandığı çalışmaya rastlanmamıştır. Feuerstein ve arkadaşları sıçanda LPS eriyiği vererek oluşturdukları gram (–) sepsisinde, lökosit sayısının zamana bağlı olarak iki katı kadar arttığını, bazı hayvanlarda ise $4000 / \text{mm}^3$ 'ün altına düşerek lökopeni geliştiğini göstermişlerdir (67). Friedland ve ekibi sıçanlarda yaptığı deneysel E. Coli menenjit modelinde lökosit sayılarının 2. saatten sonra arttığını ve bu artışın TNF ile birlikte olduğunu saptamıştır (70). Bağışıklık sisteminin baskılandığı enfeksiyon modellerinde Granülosit Koloni

Stimüle Edici Faktör (G-CSF)'ün yararlı etkilerinin olduğu görülmüştür. Bu etkiler arasında dolaşımdaki nötrofil sayısının artışı, hayatta kalış süresinin uzaması, ortalama arteriyel kan basıncının yükselmesi ve endotoksin klirensinin artışı sayılabilir (11).

Kemokin antagonistleri multipl skleroz tedavisinde kullanılmışlardır. Adezyon molekülleri üzerinden etki ederek inflamatuvar hücrelerin santral sinir sistemine girmesinde rol alırlar. Aktif multipl skleroz lezyonlarında MIP-1 α , MIP-1 β ve Rantes gibi kemokinlerin ekspresyonu görülmektedir. Bu nedenle gelecekte kemokin antagonistleri, multipl skleroz tedavisinde yerini alacaktır (107).

Sepsis ve endotoksemide nötrofil fonksiyonlarının negatif yönde etkilendiği önceden beri bilinmektedir. Goya ve arkadaşlarının sıçanlarda oluşturduğu deneysel sepsis modelinde ARDS oluşturarak, BAL sıvısında alveoler makrofajların sayıca artmasına rağmen nötrofil adezyonunun arttığı, kemotaksisin süprese olduğu ve oksijen üretiminin deprese olduğu gösterilmiştir (108). Enfeksiyon odağına nötrofil göçünün konu alındığı bir başka çalışmada Mercer-Jones ve arkadaşları, farelerde çekal ligasyon perforasyon sonrasında peritoneal makrofajların, savunmanın birinci, nötropeni ile sonuçlanacak şekilde peritoneal kaviteye göç eden nötrofillerin ise savunmanın ikinci basmağını oluşturduklarını, bir seri nötrofilin ise karaciğer ve akciğerde sekestre olduğunu saptamışlardır(109).Wright ve arkadaşları sepsis indüksiyonundan 48 saat sonra nötrofillerin azalmasını, sepsis sırasında konakçının kan nötrofil konsantrasyonunu sürdürme ve immün efektör hücrelerin artmış gereksinimini karşılama konusunda yetersiz kalmalarından kaynaklandığını ifade etmişlerdir(110).

TNF'nin septik şok veya endotoksinemide esas rol oynayan mediatör olduğuna ilişkin görüşler, deney hayvanlarında ve insanlarda gerçekleştirilen bir dizi araştırmaların sonuçlarına dayanmaktadır. Sağlıklı bireylere endotoksin enjeksiyonundan sonra 60-90 dakika içinde TNF düzeylerinde artış saptanır (Şekil-8). TNF toksik bir moleküldür. TNF'nin etkileri endotoksik şokta gelişen doku yıkımı ve metabolik bozuklukları taklit eder. İnsanlarda septik şokta dolaşımdaki TNF konsantrasyonu yüksektir ve TNF düzeyiyle yaşam oranı arasında ters bir ilişki vardır (71). Anti TNF antikoları ve TNF inhibitörlerinin LPS'in letal etkisine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Nekrotizan enterokolitli (NEK) hastaların %71'inde TNF 'nin yüksek, IL-6 ise evre 2 ve evre 3'de yüksek bulunmuş; TNF'nin erken belirti, IL-6'nın

kötü prognoz göstergesi olduğu ileri sürülmüştür. NEK'le beraber sepsis varlığında IL-6 10 kata kadar yükselir ve bu artış mortalite indikatörü olarak kabul edilmiştir (111).

Hayvan deneylerinde TNF ve IL-1 antagonistlerinin uygulamaları yayınlanmış olmakla birlikte henüz az sayıda klinik araştırma mevcuttur. TNF antagonistleri hayvanlara verildiğinde hayatta kalış süresini uzattığı gösterilmiştir. Fare monoklonal anti-TNF antikoru ile gerçekleştirilen çok merkezli bir faz III çalışmada ara değerlendirmede şoklu hastalarda mortalitenin azaldığına ilişkin veriler elde edilmiştir. Sepsisli hastalarda proinflamatuvar sitokin olan TNF- α yüksekliğinin klinik gidişin göstergesi olarak kullanılabilceği ve seri ölçümlerin yararlı olacağı kanısı çalışmalarla gösterilmiştir (112).

Bizim çalışmamızda gruplar arasında TNF- α düzeyleri açısından önemli farklar olduğu görüldü. Sham grubuna göre, sepsis ve Sepsis + Met-Rantes grubunda belirgin artış görüldü. Sepsis + Met-Rantes grubunda, Sepsis grubuna göre TNF- α düzeyinin belirgin ölçüde azalması Met-Rantesin etkisinin sonucu olarak değerlendirildi (P<0.001) (Tablo-7).

IL-6, sağlıklı gönüllülere endotoksin enjeksiyonundan sonra hızla yükselir ve 3. saatte pik yapar. IL-6 seviyelerinin ölçümü sepsis tanısında anlamlıdır. Hayvan sepsis modellerinde yapılan çalışmalarda, IL-6'nın bakteriyel LPS toksisitesini azalttığı gösterilmiştir. IL-6, anemi ve trombositopeni tedavisinde kemik iliği aktivatörü olarak kullanılır. Ayrıca düşük plazma seviyesi myelomanın, yüksek plazma seviyesi plazmasitomanın, sinoviyal sıvıdaki artışı romatoid artrit, BOS'daki artışı viral yada bakteriyel menenjitin, idrardaki artışı ise organ transplantasyonu sonrası doku reddinin başladığını gösterir (49, 55).

Doellner ve arkadaşlarının yenidoğan sepsisinin tanısında yaptıkları çalışmada, IL-6 değerlerinin erken tanıda çok değerli olduğunu bildirmişlerdir. 41 intraabdominal sepsisli hastadaki endotoksin, TNF- α , IL-1 ve IL-6 seviyelerini ölçülmüştür. IL-6 seviyelerini ölüm gelişen hastalarda yüksek bulmuştur. Böylece IL-6 seviyesinin kötü prognozu belirlemede APACHE II (Acute Physiological Assesment Chronic Healt Evaluation) skorlamasından daha iyi olduğunu savunmuştur (113).

Blackwell ve arkadaşları, bakteriyemisi olduğu düşünölen 100 hastada plazma IL-6 konsantrasyonunun, bakteriyemi ve buna bağlı enfeksiyonlardan ölümlerinde yol gösterici olabileceğini göstermişlerdir. IL-6, inflamatuvar sitokin olması yanında bir hemopoetik faktör ve β hücre diferansiasyonu gibi biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve bu nedenle IL-6'nın immün sistem aktivasyonunda önemli sitokinlerden biri olduğunu göstermişlerdir (114). Bizim çalışmamızda IL-6 düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklar olduğu tesbit edildi. Sham grubuna göre, sepsis ve sepsis + Met-Rantes grubunda belirgin IL-6 artışı olduğu göröldü. Sepsis + Met-Rantes grubunda, sepsis grubuna göre IL-6 düzeylerindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu göröldü ($P < 0.001$) (Tablo-7).

Sıçanlarda LPS indüksiyonu ile oluşturulmuş akciğer nötrofil birikimine Anti - Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör Antibody'nin etkisi araştırılmıştır. Akciğer inflamasyon yanıtında IL-1 β ve IL-6 en çok üzerinde durulan sitokinlerdir (115).

Akciğer hasarı sırasında sitokin üretimi ile makrofaj, lenfosit ve nötrofil aktivasyonu paralel olarak gelişir. Bu araştırmalarda akciğer dokusunda MPO aktivitesi ve BAL sıvısında hücre diferansiasyonu ve nötrofillerin yüzdelere bakılmış ve verilerin Anti - Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör Antibody ile tedavi edilen akciğer dokusunda nötrofil seviyesinin baskılandığı gösterilmiştir (115).

Akciğer dokusunun patolojik incelenmesinde, pulmoner ödem ve hemoraji açısından farklılık gözlenmemiştir. Anti-Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör Antibody ile tedavi edilen grupta, BAL'da nötrofil yüzdesinin ve MPO aktivitesinin LPS enjekte edilen gruba göre azaldığı gözlenmiştir (115).

Miller ve arkadaşları, intratrakeal LPS verilmesi sonrasında ekstrinsik koagülasyon kaskadının blokajını F-7a verilmesi ile engellemişler. Böylece BAL sıvısındaki inflamatuvar mediatörlerin, sitokin düzeylerinin, TNF ve IL-6 artışı engellenmiştir. Böylece akciğer hasarı engellenmiş ve BAL sıvısındaki IL-6 düzeyi yüksek olgularda mortalitenin; IL-6 düzeyi düşük olgulara göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir (116).

Meduri ve arkadaşlarının yaptıkları benzer bir çalışmada, BAL sıvısında TNF- α , IL-1 ve IL-6 düzeylerinin yaşayan olgularda daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle, ARDS'nin erken fazında BAL sıvısında inflamatuvar sitokin düzeylerinin belirlenmesi prognostik olabilir (117).

Griswold ve Maier'in birlikte yaptığı çalışmada endotoksin ile indüklenen, akciğer hasarı sırasında nötrofil fagositozuna bakılmıştır. Sonuçta, BAL nötrofillerinin düşük adheransa sahip olduğu görülmüştür. BAL, nötrofil fagositozundaki bu depresyonun hasarlı akciğerdeki bakteriyel klirenste düşüş ve ARDS ve pulmoner sepsis riskindeki artış ile açıklanmıştır (118).

Bizim çalışmamızda, BAL sıvısında total hücre sayımı sonuçları karşılaştırıldığında, sham grubuna göre sepsis ve sepsis + Met-Rantes grubunda anlamlı artış olduğu görüldü. Sepsis + Met-Rantes grubunda, sepsis grubuna göre azalmanın oluşu anlamlı olarak değerlendirildi ($P < 0.001$) (Tablo-8).

Nötrofillerin azurofil granüllerinde bulunan nötrofil sekestrasyonunun kantitatif ölçülmesinde duyarlı gösterge MPO aktivitesidir. MPO aktivitesi ile nötrofil histolojik skorlaması arasında lineer bir ilişki bulunduğunu kanıtlayan çalışmacıların verileri ile sepsis grubunda elde ettiğimiz verilerin birbiri ile uyumlu olduğu görüldü (80, 85, 88). MPO aktivitesi akciğer dokusunda ölçüldüğünde, sepsis ve sepsis + Met-Rantes grubunda artmış olduğu görüldü. Sepsis + Met-Rantes grubu, sepsis grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu görüldü ($P < 0.001$) (Tablo-9). Literatürde Sepsis modelinde akciğer dokusunda MPO aktivitesinin araştırıldığı metranter ile ilgili çalışmaya rastlanılmadı.

Akciğerlerin histopatolojik incelenmesinde ödem açısından gruplar arasında fark olmadığı gözlemlendi ($P > 0.05$) (Tablo-10). Sepsis grubunda belirgin olarak alveoler hemoraji görüldü ($P < 0.001$). Met-Rantes grubunda alveolar hemorajinin belirgin olarak azaldığı saptandı. Sepsis + Met-Rantes grubunda nötrofil infiltrasyonunun sepsis grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($P < 0.001$).

Bizim çalışmamızdaki, MPO aktivitesi, BAL sıvısındaki hücre sayım sonuçları, akciğerlerin histopatolojik incelemesi Babayiğit'in yaptığı, sıçanlarda çekal ligasyon-perforasyon yöntemi ile oluşturulan intraabdominal sepsis modelinde, β glukanın

akciğer patolojilerine etkisinin araştırıldığı çalışmadaki veriler ile uyumlu olduğu görüldü (119).

Farelerde caerulein hiperstimülasyonu ile oluşturulan akut pankreatitte, metranthesin akciğer ve pankreatik tahribat üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma ile akciğer, MPO seviyesi ve pulmoner mikrovasküler geçirgenlik önemli ölçüde azalmıştır. Bu çalışmada, akut pankreatitte lokal ve uzak organ tahribat gelişiminde aktive edilen lökositler ve özellikle nötrofillerin önemli olduğu ve antinötrofil serumla nötrofil hareketinin ve infiltrasyonunun azaltılması ile pankreatik ve uzak organ hasarını azalttığı gösterilmiştir (89).

Çalışmamızda kan gazı sonuçları karşılaştırıldığında, pH ve PO₂ değerleri, sham grubuna göre sepsis ve sepsis + Met-Rantes grupları arasında anlamlı fark olduğu görülürken (P<0.001) PCO₂ değerleri açısından üç grup arasında anlamlı fark olmadığı saptandı (P>0.05).

Son yıllarda mikrobiyal toksinlerin nötralizasyonu ve SIRS mediyatörlerinin modülasyonuna yönelik yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu tedavi yöntemlerinin çoğu hayvan deneylerinde bir miktar başarıya ulaşmış, insan deneylerinde Faz III aşamasına gelmiştir. Diğer potansiyel immünoterapik yöntemler inflamatuvar yanıt ve sepsis mediatörlerinin modülasyonuna yöneliktir. Bu bakımdan anti-TNF antikoları, adezyon moleküllerine karşı antikolar, solübl TNF- α reseptörleri, IL-1 reseptör antagonistleri (IL-1ra), anti-IL-6, anti-IL-8, C5a antikoları ve GCSF yoğun olarak araştırılmaktadır.

Bu çalışmada Met-Rantes ile tedavi edilen sepsisli sıçanlarda, sepsise bağlı oluşan akciğer patolojilerinin şiddetinin azaldığı görüldü. Met-Rantes bu etkisini inflamasyonun erken yanıt sitokinlerinin etkilerini artırıp, akciğer dokusunda nötrofil seviyesini baskılayarak, nötrofil inflamasyonunu azaltarak göstermiştir. Bu çalışma ile antiinflamatuvar sitokinlerin etkilerinin arttırılmaları ile hastalığın klinik bir göstergesi olabileceğini ve prognozun belirlenmesinde önemli rol oynayabileceğini düşünmekteyiz

6. SONUÇLAR

Sıçanlarda intraperitoneal LPS verilerek oluşturulan sepsis sonrası intraperitoneal 500 µgr/kg uygulanan Met-Rantes'in sepsisin akciğer komplikasyonlarını önlemesi üzerine oluşturduğu etkileri, sepsis indüksiyonundan 2 saat sonra değerlendirildi.

1. Beyaz küre sonuçları açısından her iki grupta belirgin artış görülmesine rağmen; Met-Rantes grubunda sepsis grubuna göre azalmanın oluşu anlamlı olarak değerlendirildi.
2. BAL sıvısı total hücre sayımı sonuçları değerlendirildiğinde, sepsis grubunda belirgin artış olduğu görüldü. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Met-Rantes grubunda sepsis grubuna göre azalmanın oluşu istatistiksel olarak anlamlıydı.
3. Serum TNF- α değerleri açısından değerlendirildiğinde Sepsis grubunda Sham ve Met-Rantes grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış görüldü Sepsis + Met-Rantes grubundaki azalmanın Sepsis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.
4. Serum IL-6 değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü. Sepsis grubuna göre Met-Rantes ile tedavi edilen gruptaki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.
5. Nötrofillerin akciğer üzerindeki etkilerinin kantitatif bir değerlendirilmesi olan MPO aktivitesinin, sepsis ve Met-Rantes ile tedavi edilen grupta arttığı görüldü. Met-Rantes grubunda sepsis grubuna göre akciğer dokusu miyeloperoksidaz aktivitesindeki azalma, istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.

6. Akciğer dokusunun histolojik incelenmesinde alveolar interstisyel ödem açısından gruplar arasında fark gözlenmedi. Alveolar hemoraji açısından sepsis grubunda belirgin artış gözlenirken, Met-Rantes ile tedavi edilen grupta alveoler hemorajinin belirgin olarak azaldığı görüldü. Nötrofil infiltrasyonun, sepsis grubunda belirgin arttığı gözlemlendi. Met-Rantes ile tedavi edilen grupta nötrofil infiltrasyonunun sepsis grubuna göre belirgin olarak azaldığı saptandı.

Sonuç olarak; bu çalışma ile Met-Rantesin Sıçanlarda Sepsise bağlı akciğer komplikasyonlarının şiddetini azalttığı, bu etkisini de akut inflamasyonu presipite eden olaylar kaskadını başlatmada aktif rol oynayan, erken yanıt sitokinleri olan TNF, IL-1 IL-6 üretimini azaltarak yaptığı gözlemlendi. Bu çalışma ile akciğer dokusunun histopatolojik incelemesi, BAL sıvısında hücre sayımı ve MPO aktivitesinin birlikte kullanımının sepsiste oluşan akciğer patolojilerini değerlendirmede oldukça etkili olduğu görülmüştür. Akciğerin histopatolojik incelemesinin MPO aktivitesine göre daha anlamlı ve değerli bir yöntem olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Andrew B, Brian G and Timothy R. Shock Principles of Surgery, Ed. Seymour I. Schwartz, Eight Edition. Mc Graw–Hill, New York 2004; 85–105.
2. Çakmakçı M, Sayek İ. Şok. Temel Cerrahi, Sayek İ. Güneş Kitabevi, Ankara 1996; 118–141.
3. Korucu B. Dolaşım Şoku. Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, 1996; 97–114.
4. Tekin E. Genel Cerrahi tanı ve tedavi ilkeleri, Ed. Atilla Ergin, 1. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 2000; 97–107.
5. Jakobs R, Koliner M, Shelhamer JH, Parrillo JE. Blood histamine concentrations are not elevated in humans with septic shock. Critical Care Medicine. 1989; 17:30–35.
6. Parillo JE. Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock. N Engl J Med. 1993; 328:1471–1477.
7. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. An Intern Med. 1991; 115:457–69.
8. Raetz CRH, Ulevitch RJ, Wright SD, Sibley CH. Extraordinary signal transduction. Faseb J 1991; 5: 2652–60.
9. Morrison DC, Ryan JL. Bacterial Endotoxins and Host Immune Responses. Adv. Immunol 1979; 28:293–450.
10. Young LS, Proctor RA, Buetler B et al. University of California/Davis Interdepartmental Conference on Gram Negative Septicemia. Rev. Infect Dis 1991; 13:666–87.

11. Kar A. Sıçanlarda intra-abdominal sepsis modelinde uygulanan granülosit-koloni stimulan faktörün akciğerler üzerine etkisi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak. Genel Cerrahi A.D.Tıpta Uzmanlık Tezi 1999
12. Poll T, Deventer SJH. Cytokines and cytokines in the pathogenesis of sepsis. *Inf Dis Clin North Am* 1999; 13:413–427.
13. Dunn DL. Gram negative bacterial sepsis and sepsis syndrome. *Surg Clin North Am* 1994; 74:621–623.
14. Vincent JL. New therapies in Sepsis. *Chest* 1997; 112:330–338.
15. Fink MP, Sullivan O, Menconi MJ et al. Effect of Granulocyte Colony Stimulating Factor on Systemic and Pulmonary Responses to Endotoxin in Pigs. *J Trauma* 1993; 34:571–578.
16. Damm JV, Mantovani A. From cytokines to cytokines.Cytokine Growth Factor.2005;16:549–51.
17. Haskill, Peace A, Morris J et al. Identification of Three Related Human GRO Genes Encoding Cytokine Functions. *Pro. Natl. Acad. U. S. A.*1990; 87: 7732–7736.
18. Wells, TNC, Power and Proud Foot, A.E.I. *Trends Pharmacol. SCI.*1998; 19:376–80.
19. Baggiolini M.Chemokines and leukocyte traffic. *Nature*1998; 392:565–68.
20. Luster AD. Chemokines and chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N.Eng J Med.*1998;338;436-45.
21. Lukacs MW, Strieter RM, Chensue SW et al. Activation and Regulation of Chemokines in Allergic Airway Inflammation. *J. Leukoc Biol* 1996; 59:13–17.
22. Proudfoot AEI, Power CA, Hoogewerf AJ. Extension of recombinant human of Rantes by the retention of the initiating methionine produces a potent antagonist. *J Biol Chem.* 1996;271:599–603.
23. Davies MG, Hagen PO. Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Br J Surg* 1997; 84:920–35.

24. Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American Collage of Chest Physicans. Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101:1644–55.
25. Baker CC, Huynh MD. Sepsis in the critically ill patient. Curr Probl Surg 1995; 32:1013–83.
26. Collins FM. Cellular Antimicrobial Immunity.CRC Crit Rev Microbiol. 1978; 7:27-91.
27. Lazaron V, Barke R.A. Gram (–) bacterial sepsis and the sepsis syndrome. Urol Clin North Am 1999; 26:687–699.
28. Perl TM, Dvorak L, Hwang T et al. Long–term survival and function after suspected gram negatif sepsis. JAMA. 1995; 274:338–45.
29. Bone RC.Sepsis syndrome.New insights into its pathogenesis and treatment.Infect Dis Clin North Am.1991;5:793-805.
30. Edmiston CE Jr, Condon RE. Bacterial translocation. Surg Gyn Obst. 1991; 173:73–78.
31. Davies MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. Br J Surg.1997;84:920–35
32. Parillo JE. Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock. N Engl J Med 1993; 328:1471–77.
33. Dunn DL. Gram Negative Bacterial Sepsis and Sepsis Syndrome. Surg Clin North. Am. 1994; 74:621–35.
34. Wright SD. Multipl receptors for endotoxins. Cur Opin Immunol. 1991; 3:83–90.
35. Wright SD, Tobias P, Ulevitch R et al. LPS binding protein opsonizes LPS–bearing particles for recognition by a novel receptor on macrophages. J Exp Med 1989; 170:1231–41.
36. Koçdar HE. Deneysel sepsis modelinde pentoksifilin myeloperoksidaz, nitrik oksit ve tümör nekroz faktör salınımı üzerine etkileri. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fak. Tıpta Uzmanlık Tezi 1998.

37. Marsh CB, Wewers MD. The pathogenesis of sepsis. Factors that modulate the response to gram-negative bacterial infection. *Clin Chest Med* 1996; 17:183-97.
38. Grandel U, Grimminger F. Endothelial responses to bacterial toxins in sepsis. *Crit Rev Immunol* 2003; 23:267-99.
39. Hoch RC, Rodriguez R, Manning T et al. Effects of accidental trauma on cytokine and endotoxin production. *Crit Care Med* 1993; 21:639-45.
40. Tracey KJ, Lowry SF, Cerami A. Cachectin/TNF-alpha in septic shock and septic adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Des Dis* 1998; 138:1377-79.
41. Giroir BP. Mediators of septic shock: New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit. Care Med* 1993; 21:780-86.
42. Fijen JW, Jones CR, Kobold AC et al. Leukocyte activation and cytokine production during experimental human endotoxemia. *Eur J Intern Med* 2000; 11:89-95.
43. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med* 2000; 28:3-12.
44. Thijs LG, Hack CE. Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med* 1995; 21:56-63.
45. Alkharfy KM, Kellum JA, Matzke GR. Unintended immunomodulation : part II. Effects of pharmacological agents on cytokine activity. *Shock* 2000; 13:346-60.
46. Cohen S, Cohen MC. Cytokine function: a study in biologic diversity. *Am J Clin Pathol* 1996; 105:589-98.
47. Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16:193-213.
48. Munoz C, Misset B, Fitting C et al. Dissociation between plasma and monocyte-associated cytokines during sepsis. *Eur J Immunol*. 1991; 21:2177-84.
49. Oppenheim JJ, Taub DD. Chemokines, inflammation and the immune system. *The Immunol* 1994; 1:229-46.

50. Meisner M. Biomarkers of sepsis : clinically useful? *Curr Opin Crit Care*. 2005; 11:473–80.
51. Torpy DJ, Bornstein SR, Chrousos GP. Leptin and interleukin–6 in sepsis. *Horm Metab Receptör* 1998; 30:726–29.
52. Grobmyer SR, Barie PS, Nathan CF et al. Secretory leukocyte protease inhibitor, an inhibitor of neutrophil activation, is elevated in serum sepsis and experimental endotoxemia. *Crit Care Med* 2000; 28:1276–82.
53. Dandona P, Nix D, Wilson MF et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin. Endocrinol. Metab.* 1994; 79:1605–08.
54. Blackwell TS, Chirstman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth* 1996; 77:110–17.
55. Molloy RG, Mannick JA, Rodrick ML. Cytokines, sepsis and immunomodulation. *Br J Surg*. 1993; 80:289–97.
56. Car BD, Eng VM, Schnyder B et al. Interferon gamma receptor deficient mice are resistant to endotoxic shock. *J Exp Med* 1994; 179:1437–44.
57. Kamijo R, Le J, Shapiro D et al. Mice that lack the interferon gamma receptör have profoundly altered responses to infection with *Bacillus Calmette–Guerin* and subsequent challenge with lipopolysaccharide *J Exp Med* 1993; 178:1435–40.
58. Barbara JA, Smith WB, Gamble JR et al. Dissociation of TNF– α cytotoxic and proinflammatory activities by p55 receptor and p75 receptor–selective TNF– α mutants. *Embo J* 1994; 13:843–850.
59. O’Brien DP, Briles DE, Sanz I et al. Tumor necrosis factor alpha receptor–I is important for survival from *Streptococcus pneumoniae* infections. *Infect Immun* 1999; 62:595–601.
60. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram–negative sepsis. *Br J Surg* 2001; 88:22–30.
61. Beutler B, Cerami. A. Cachectin : more than a tumor necrosis faktor. *N Engl J Med* 1987; 316:379–85.

62. Beutler B, Krochin N, Milsark IW et al. Control of cachectin(tumor necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. *Science*. 1986;23; 977–80.
63. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR et al. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *New Engl J Med*. 1988; 318:1481–86.
64. Beutler B, Grau GE. Tumor Necrosis Factor in the pathogenesis of infectious diseases. *Crit Care Med*. 1993; 21:423–35.
65. Beutler B, Milsark IW, Cerami A. Passive immunization with cachectin/tumor necrosis faktor (TNF) protects mice from the lethal effect of endotoxin. *Science* 1985; 229:869–71.
66. Giroir BP. Mediators of septic shock: New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit Care Med*. 1993; 21: 780–86.
67. Feuerstein G, Hallenbeck JM, Vanotta B. Effect of gram–negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF– α , circulating blood cells and the survival of rats. *Circ Shock* 1990; 30:205–278.
68. Doğanay M. Sepsis In: Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi İstanbul: Nobel Kitabevi*; 2002:621–36.
69. Ridings PC, Windsor AC, Sugerman HJ et al. Benefical cardiopulmonary effects of pentoxifylline in experimental sepsis are lost once septic shock is established *Arch Surg* 1994; 129:1144–52.
70. Friedland IR, Jafari H , Ehrett S et al. Comparison of endotoxin release by different antimicrobial agents and the effect in experimental *Escherichia coli* meningitis. *J Infect Dis* 1993; 168:657–62.
71. Billiau A, Vandekerckhove F. Cytokines and their interactions with other inflammatory mediators in the pathogenesis of sepsis and septic shock. *Eur J Clin Invest*. 1991; 21:559–73.
72. Shale DJ. The adult respiratory distress syndrome–20 years on. *Thorax* 1987; 42:641–45.

73. Elmas H. Capillary permeability in septic patients . Crit Care Med 1984; 12:629–32.
74. Rounce C, Ramsay G. Intraabdominal infection: Pulmoner Failure. World J Surg 1990; 14:196–203.
75. Sessler CN, Bloomfield GL, Fowler AA. Current concepts of sepsis and acute lung injury. Clin Chest Med 1996; 17:223–35.
76. Tate RM, Repine JE. Neutrophils and the adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis 1983; 128:552–59.
77. Windor AC, Mullen PG, Fowler AA et al. Role of the neutrophil in adult respiratory distress syndrome. Br J Surg 1993; 80:10–17.
78. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants myeloperoxidase and bacterial killing. Blood 1998; 92:3007–17.
79. Hefin AC, Brigham KL. Prevention by granulocyte depletion of increased vascular permeability of sheep lung following endotoxemia. J Clin Invest 1981; 68:1253–60.
80. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assesment of inflammation in rat and hamster models. Gastroenterology. 1984; 87:1344–50.
81. Schultz J, Corlin R, Oddi F et al. Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. Arch. Biochem Biophys 1965; 111:73–79.
82. Andrews PC, Krinsky NI. Human myeloperoxidase and hemi-myeloperoxidase. Methods Enzymol 1986; 132:369–78.
83. Welbourn. CR, Goldman G, Paterson IS. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of neutrophil. Br J Surg. 1991; 78:651–55.
84. Fink MP, O’Sullivan BP, Menconi MJ et al. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on systemic and pulmonary responses to endotoxin in pigs. J Trauma. 1993; 34:571–78.
85. Goya T, Abe M, Shimura H.Characteristics of alveolar macrophages in experimental septic lung. J Leukoc Biol. 1992; 52:236–43.

86. Modig J, Samuelsson T, Hallgren R. The predictive and discriminative value of biologically active products of eosinophils, neutrophils and complement in bronchoalveolar lavage and blood in patients with adult respiratory distress syndrome. *Resuscitation* 1986; 14:121–34.
87. Shapiro L, Gelfand JA. Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy. *New Horizons* 1993; 1:13-22
88. Elsner J, Petering H, Hochstetter R et al. The CC Chemokine antagonist Met-RANTES inhibits eosinophil effector functions through the chemokine receptors CCR 1 and CCR. *Eur J Immunol* 1997; 27:2892–98.
89. Bhatia M, Proudfoot A.E, Christmas S, et al Treatment with Met-rantes reduces lung injury in caerulein-induced pancreatitis. *Br J Sur* 2003; 90:698–704.
90. Stojanovic T, Bedke J, Grone HJ. Met-RANTES inhibition of mucosal perfusion failure in acute intestinal transplant rejection-role of endothelial cell-lekocyte interaction. *J Vasc Res* 2002; 39:51–8.
91. Ajubor MN, Hogoboam CM, Kunkel SL et al. The chemokine RANTES is a crucial mediator of the progression from acute to chronic colitis in the rat. *J Immunology* 2001; 166:552–68.
92. Chvatchko Y, Proudfoot AE, Buser R et al. Inhibition of airway inflammation by amino-terminally modified RANTES /CC chemokine ligand 5 analogues is not mediated through CCR3. *J Immunol.* 2003; 171:5498–506.
93. Küçük C, Sözüer E, Gürsoy Ş. Treatment with Metrantes reduces translocation in experimental colitis. *Am J Surg* 2006; 191:77–83.
94. Anders HJ, Frink M, Linde Y et al. CC Chemokine ligand 5/RANTES chemokine antagonists aggravate glomerulonephritis despite reduction of glomerular leukocyte infiltration. *J Immunol.* 2003; 170:5658–66.
95. Elsner J, Petering H, Kimmig D et al. The CC Chemokine receptor antagonist Met-Rantes inhibits eosinophil effector functions. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 118:462–65.

96. Veillard NR, Kwak B, Pelli G et al. Antagonism of RANTES receptors reduces atherosclerotic plaque formation in mice. *Circ Res* 2004 ; 94:253–61.
97. Grone HJ, Weber C, Weber KS et al. Met–RANTES reduces vascular and tubular damage during acute renal transplant rejection: blocking monocyte arrest on recruitment *FASEB J.* 1999; 13:1371–83.
98. Field J, Marshall AC, J Hertzog P et al. Chemokine receptor CCR 5 is not required for development of experimental autoimmune gastritis. *Clin Immunol.* 2003; 109:238–47.
99. Cocchi F, De Vico AL, Garzino–Demo et al. Identification of Rantes, MIP–1 α and MIP–1 β as the major HIV suppressive factors produced by CD 8 T cells. *Science.* 1995; 270:1811–15.
100. Wichterman KA, Chaudry IH, Baue AE. Studies of peripheral glucose uptake during sepsis. *Arch Surg* 1979; 114:740–5.
101. Barton EB. Protective role of interleukin 6 in the LPS galactosamine septic shock model. *Infekt immun.*1993; 61:1496–99.
102. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD et al Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol.* 1982; 78:206–09.
103. Thijs LG, Hack CE. Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med* 1995; 21:258–63.
104. Fein AM, Calalang–Colucci MG. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in sepsis and septic shock. *Crit Care clin.*2000; 16: 289–317.
105. Abraham E. Clinical sepsis trials. *Chest.* 1994; 105:53–55.
106. Van der Poll T, Malefyt PW, Coyle SM et al. Antiinflammatory cytokine responses during clinical sepsis and experimental endotoxemia: sequential measurements of plasma soluble IL–1receptor type II, IL–10 and IL–13. *J Infec Dis.* 1997; 175:118–22.
107. Wong ML, Bongiorno PB, Rettori V et al. Interleukin (IL)–1 β , IL–1 receptor antagonist, IL–10 and IL–13 gene expression in the central nervous system and anterior pituitary during systemic inflammation. Pathophysiological implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:227–32.

108. Goya T, Abe M, Shimura H. Characteristics of alveolar macrophages in experimental septic lung. *J Leukoc Biol.* 1992; 52:236–43.
109. Mercer–Jones MA, Heinzelmann M, Peyton JC et al. Inhibition of neutrophil migration at the site of infection increases remote organ neutrophil sequestration and injury. *Shock* 1997; 8:193–99.
110. Wright SD. Multiple receptors for endotoxin. *Curr Opin Immunol.* 1991; 3: 83–90.
111. Creasey AA, Chang AC, Feigen L et al. Tissue factor pathway inhibitor reduces mortality from *Escherichia coli* septic shock. *J. Clin Invest* 1993; 91:2850–60.
112. Casey LC., Balk RA., Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med.* 1993; 119:771–78.
113. Doellner H., Arntzen KJ., Haereid PE, et al. Interleukin–6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. *J Pediatr.* 1998; 132:295–99.
114. Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and Cytokines. Current Status. *Br J Anaesth.* 1996; 77:110–17.
115. Makita H, Nishimura M, Miyamoto K et al. Effect of Anti-macrophage migration inhibitory factor antibody on LPS induced pulmonary neutrophil accumulation. *Am J Respir. Crit Care Med.* 1998; 158:573–79.
116. Miller DL, Welty–Wolf K, Carraway MS et al. Extrinsic coagulation blockade attenuates lung injury and proinflammatory cytokine release after intratracheal LPS. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002; 26:650–8.
117. Meduri GU, Kohler G, Headley S. Inflammatory cytokines in the BAL of patient with ARDS. *Chest.* 1995; 108: 1303–14.
118. Griswold J and Maier RV. Neutrophil phagocytosis during endotoxin-induced lung injury. *J Surg Res.* 1988; 44:417–24.
119. Babayiğit H. Deneysel Sepsis modelinde β -Glukanın akciğer patolojilerine etkisi. Erciyes Üniv. Tıp Fak. Tıpta Uzmanlık Tezi, 2003.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Mehmet Akif YÜCEL'e ait "Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel İntraabdominal Kaynaklı Sepsis Modelinde Met-Rantes'in Akciğerler Üzerine Etkisi" adlı çalışma, jürimiz tarafından **Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda** Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih :

İmza

Başkan İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza

Üye İmza