



**DENEYSEL SEPSİS GELİŞTİRİLEN SIÇANLARDA  
UZUN DÖNEM PROBİYOTİK BAKTERİ KARIŞIMI  
UYGULAMASININ BAZI SİTOKİN PARAMETRELERİ  
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Sabiha AYDOĞDU**  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı**  
Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK

**Doktora Tezi - 2018**

TC.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL SEPSİS GELİŞTİRİLEN SIÇANLARDA UZUN  
DÖNEM PROBİYOTİK BAKTERİ KARIŞIMI  
UYGULAMASININ BAZI SİTOKİN PARAMETRELERİ  
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Sabiha AYDOĞDU**

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK**

**ERZURUM  
2018**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL SEPSİS GELİŞTİRİLEN SIÇANLARDA UZUN  
DÖNEM PROBİYOTİK BAKTERİ KARIŞIMI UYGULAMASININ  
BAZI SİTOKİN PARAMETRELERİ ÜZERİNE OLAN  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sabiha AYDOĞDU

**Tez Savunma Tarihi** : 26.04.2018

**Tez Danışmanı** : Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. M. Hamidullah UYANIK (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Zülal ÖZKURT (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Dr. Öğr. Üy. Serkan ÖRTÜCÜ (Erzurum Teknik Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Dr. Öğr. Üy. Çiğdem Eda BALKAN (Kafkas Üniversitesi)

**Onay**

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Duygu ARIKAN**  
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi**  
**ERZURUM - 2018**

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	III
<b>ÖZET</b> .....	IV
<b>ABSTRACT</b> .....	V
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	VI
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	VII
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	VIII
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Sepsis .....	3
2.1.1. Tanımlar ve Tarihçe .....	3
2.1.2. Skorum Sistemleri .....	9
2.1.3. Epidemiyoloji ve İnsidans.....	10
2.1.4. Risk Faktörleri.....	11
2.1.5. Etiyoloji.....	11
2.1.6. Sepsis Patofizyolojisi .....	13
2.2. Sitokinler ve İnflamasyondaki Rollerini .....	17
2.2.1. Çalışmada İncelenen İnflamatuvar Sitokinlerin Özellikleri.....	20
2.2.1.1. TNF- $\alpha$ .....	20
2.2.1.2. IL-1.....	21
2.2.1.3. IL-10 ve TGF- $\beta$ .....	22
2.3. Probiyotikler.....	23
2.3.1. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri .....	25
2.3.2. Probiyotiklerin Etki Mekanizması .....	27
2.3.3. Probiyotik Kullanımı İle İlgili Riskler .....	31
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	32
3.1. Tüm Deneysel Basamaklarda Kullanılan Gereçler ve Diğer Maddeler .....	32
3.2. Probiyotik Karışımı.....	34
3.3. Yöntem.....	34
3.4. ELISA Metodunun Uygulanması.....	38
3.5. İstatistiksel Analizler.....	42
<b>4. BULGULAR</b> .....	43
4.1. Pro-İnflamatuvar Sitokinlerin Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....	43
4.2. Anti-İnflamatuvar Sitokinlerin Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	45

<b>5. TARTIŞMA</b> .....	49
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	64
<b>KAYNAKLAR</b> .....	67
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	84
<b>EK-2. ETİK KURUL ONAYI</b> .....	85



## TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve kendisinden daha çok şey ğreneceğime inandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK'a en derin saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Tez hazırlık aşamasındaki desteklerinden dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ'ye ve hocalarım Prof. Dr. Osman AKTAş, Prof. Dr. Halil YAZGI, Prof. Dr. Hakan USLU, Prof. Dr. M. Hamidullah UYANIK, Yrd. Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ ve Yrd. Doç. Dr. Erkan ÖZMEN'e teşekkür ederim.

Bu tezin ortaya çıkmasına vesile olan, yapım ve yazım aşamasında bana her konuda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Murat Karameşe'ye çok teşekkür ederim.

Son olarak tez süreci sırasındaki yoğun çalışma dönemim boyunca sabır ve desteğini benden esirgemeyen eşime, aileme ve sevdiklerime teşekkür ederim.

Sabiha AYDOĞDU

## ÖZET

### **DeneySEL Sepsis Geliştirilen Sıçanlarda Uzun Dönem Probiyotik Bakteri Karışımı Uygulamasının Bazı Sitokin Parametreleri Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması**

**Amaç:** Probiyotikler, yeterli miktarlarda alındığında konakta yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanır. Bazı probiyotiklerin sahip olduğu immünomodülatör etki bunlardan biridir. Biz bu çalışmada, probiyotiklerin sepsiste bazı inflamatuvar sitokin düzeyleri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Materyal ve Metot:** Çalışmamızda *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Leuconostyoc sp.*, ve *Lactococcus sp.* cinsleri içerisinde yer alan 12 farklı canlı probiyotik bakteri içeren karışım kullanıldı. Çalışmada 80 adet dişi Wistar albino cinsi sıçan onarlı olmak üzere 8 gruba ayrıldı. Grup 1 ve Grup 2 sırasıyla kontrol ve sepsis grubu olarak değerlendirilerek oral probiyotik uygulaması yapılmadı. Grup 2, 3, 4, 7 ve 8'de yer alan deney hayvanlarında çekal bağlama ve delme yöntemi kullanılarak sepsis geliştirildi. Grup 3 ve 4'de yer alan deney hayvanlarına sepsis öncesi 21 gün süreyle, Grup 7 ve 8'dekilere ise sepsis sonrası tek doz olmak koşuluyla sırasıyla  $10^{10}$  ve  $10^{11}$  cfu/ml dozlarında hazırlanan karışımdan uygulandı. Grup 5 ve 6 da ise aynı dozlarda sepsis oluşturulmadan probiyotik uygulaması yapıldı. İşlem sonrasında alınan kan örneklerinde pro-inflamatuvar sitokinler olarak IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ , anti-inflamatuvar sitokinler olarak da IL-10 ve TGF- $\beta$  seviyeleri ELISA yöntemiyle ölçüldü.

**Bulgular:** TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerinde sepsis grubunda kontrol grubuna nazaran ciddi derecede artış ve 21 gün koruyucu tedavi uygulanan gruplarda ise sepsis grubuna nazaran ciddi derecede azalış tespit edilmiştir. Anti-inflamatuvar sitokinler olan IL-10 ve TGF- $\beta$  seviyeleri detaylı şekilde incelendiğinde 21 gün koruyucu tedavi uygulanan gruplarda sitokin seviyeleri kontrol grubu seviyesine erişememiş olsa da, sepsis grubuna nazaran ciddi derecede artış tespit edilmiştir. Sepsis işleminin ardından uygulanan probiyotik uygulaması hiçbir grupta anlamlı bir etki göstermemiştir.

**Sonuç:** Bulgularımıza göre probiyotikler, sepsisin klasik medikal tedavisine ek olarak destek amaçlı kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** İnflamasyon, sepsis, sitokin, probiyotik.

## ABSTRACT

### **Investigation of the Effect of Long-Term Probiotic Bacteria Mixture Application on Some Cytokine Parameters in Experimental Sepsis-Developed Rats**

**Aim:** Probiotics are defined as live microorganisms that provide beneficial effects on the host when applied in adequate amounts. The immunomodulatory effects of some probiotics are one of these. We aimed to investigate effects of probiotics on some inflammatory cytokine levels in sepsis.

**Material and Method:** The mixture including 12 different live probiotic bacteria contained within *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Leuconostyoc sp.*, and *Lactococcus sp.* was used in our study. Eighty female Wistar albino rats were divided into eight groups of ten rats each. Group 1 and 2 were evaluated as control and sepsis groups, respectively, and no probiotic application was made. Sepsis was developed in the experimental animals in Groups 2, 3, 4, 7 and 8 using cecal ligation and puncture. The probiotic mixture was given to rats in groups 3 and 4 for 21 days before sepsis, groups 7 and 8 a single dose after sepsis at  $10^{10}$  and  $10^{11}$  doses, respectively. Rats in groups 5 and 6, the same doses of probiotics was administered without sepsis. IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  as pro-inflammatory cytokines and IL-10 and TGF- $\beta$  levels as anti-inflammatory cytokines were measured by ELISA in post-treatment blood samples.

**Results:** In the group of sepsis in TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  levels, there was a serious increase compared to the control group and in 21 days of protective treatment groups, there was a serious decrease compared to the sepsis group. When the levels of anti-inflammatory cytokines IL-10 and TGF- $\beta$  were examined in detail, although the level of cytokine levels 21 days of protective treatment groups were not reached in control group, a serious increase was observed compared to the sepsis group. The application of probiotics following the sepsis procedure did not show any significant effect in any group.

**Conclusion:** According to our findings, probiotics can be used for supportive purposes in addition to classical medical treatment of sepsis.

**Key words:** cytokine, inflammation, probiotics, sepsis.



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b><math>\beta</math></b>	: Beta
<b>CD14</b>	: Cluster of differentiation 14
<b>CLP</b>	: Çekal Bağlama ve Delme (Cecal Ligation and Puncture)
<b>CRP</b>	: C-reaktif protein,
<b>DNBS</b>	: Dinitrobenzen sülfonik asit
<b>ICAM-1</b>	: İntraselüler adezyon molekülü
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin-1 beta
<b>IL-1Ra</b>	: İnterlökin-1 reseptör antagonisti
<b>IL-10</b>	: İnterlökin- 10
<b>KNS</b>	: Koagülaz negatif stafilokoklar
<b>LBP</b>	: Lipopolisakkarit bağlayan protein
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>MODS</b>	: Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu
<b>MRS</b>	: De Man Rogosa Sharpe
<b>NF <math>\kappa</math>-B</b>	: Nükleer Faktor- kappa-B
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>SIRS</b>	: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming büyüme faktörü beta
<b>TLR</b>	: Toll-like reseptör
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekrozis faktör- alfa
<b>TNF-R</b>	: Tümör nekrozis faktör reseptörü
<b>VCAM-1</b>	: Vasküler hücre adezyon molekülü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1.	Sıçanlara probiyotik bakteri karışımının oral gavaj yolu ile verilmesi .....	37
Şekil 3.2.	Sepsis gruplarına uygulanan CLP yöntemi .....	37
Şekil 3.3.	Ötenazi sonrası tüm gruplarda vena cava inferiordan kan alınması ..	38
Şekil 3.4.	Çalışmada kullanılan ELISA kitleri.....	39
Şekil 3.5.	Çalışmada kullanılacak standartların hazırlanışını gösteren şema ....	40
Şekil 4.1.	Tüm deney gruplarına ait İnterlökin-1- $\beta$ seviyeleri.....	43
Şekil 4.2.	Tüm deney gruplarına ait TNF- $\alpha$ seviyeleri .....	44
Şekil 4.3.	Tüm deney gruplarına ait IL-10 seviyeleri .....	46
Şekil 4.4.	Tüm deney gruplarına air TGF- $\beta$ seviyeleri.....	47

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> Sepsis için kabul edilen tanısal kriterler .....	6
<b>Tablo 2.2.</b> Toplantılara göre tanımlar ve değişiklikler.....	8
<b>Tablo 2.3.</b> İntraabdominal infeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan bakteriler.....	12
<b>Tablo 2.4.</b> Sepsis patogenezinde rol oynayan bakteriyel yapılar .....	14
<b>Tablo 2.5.</b> Sepsiste rol oynayan temel mediatörler .....	17
<b>Tablo 2.6.</b> İnflamatuar özelliklerine göre bazı sitokinlerin sınıflandırılması.....	20
<b>Tablo 2.7.</b> Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar .....	26
<b>Tablo 2.8.</b> Probiyotiklerin yararlı etkileri ve muhtemel etki mekanizmaları.....	28
<b>Tablo 2.9.</b> Suşların deneysel çalışmalarla kanıtlanmış etkileri .....	30
<b>Tablo 3.1.</b> Tez çalışmasında kullanılan deney grupları ve her gruba ait deney hayvanı sayıları .....	33
<b>Tablo 3.2.</b> Çalışmamızda kullanılan probiyotik karışımı içerisinde yer alan bakteriler ve suş kodları .....	34
<b>Tablo 3.3.</b> Elisa kitlerine ait kutu içerikleri.....	39

# 1. GİRİŞ

Sepsis ve septik şok bazı mikroorganizmaların ya da bu mikroorganizmalara ait toksik ürünlerin kan dolaşımı ile yayılması sonucu gelişen ve çok ciddi seyirli olabilen klinik bir tablodur. Sepsisin klinik özellik ve bulguları konağın immün sistemi ile mikroorganizma ve ürünleri arasındaki mücadelenin bir sonucudur. Sepsis konağın immün, inflamatuvar ve endokrin sistemlerini uyarır ve bu cevapların şiddeti klinik seyri belirler.<sup>1</sup>

Sepsis patogenezi hakkında yapılan araştırmalar göstermiştir ki; dokularda meydana gelen infeksiyon ve travmatik hasar immünolojik mekanizmaları aktive eder ve bazı mediatörler (özellikle sitokinler) salınarak inflamatuvar yanıtlar ortaya çıkar. Yakın zamanlı çalışmalarda sepsisin fizyolojisi daha iyi anlaşılmış, olayda rol alan sitokinler ve diğer mediatörler ile bunların etki mekanizmalarının tanımlanması sonucu vücutta zincirleme gelişen metabolik ve fizyolojik değişimler biraz daha netlik kazanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda sepsis sendromunun; salınan sitokinlerin büyük oranda sorumlu olduğu bir grup yanıtlar dizisi olduğu anlaşılmıştır.<sup>1,2</sup>

Sepsisle ilgili deneysel çalışmalar büyük bir ivme ile devam etmektedir. Konuyla ilgili hem çeşitli ilaçlar geliştirilmekte, hem de immunmodülatör maddelerde tedavi protokolleri oluşturulmaya çalışılmaktadır. Bu amaçlarla kullanılan ve etkileri araştırılan immünmodülatörlerden biri de probiyotik bakterilerdir.<sup>3</sup>

İnsan gastrointestinal sistem florasında bulunan probiyotikler, bağırsak yüzeyine yerleşerek patojen mikroorganizmaların tutunmasını engellemekte ve ürettikleri antimikrobiyal maddelerle de bu bakterilerin çoğalmalarını kontrol altına almaktadırlar. Probiyotik olarak özellikle *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Enterococcus* cinslerine ait türler kullanılsa da bunlar dışında *Bacillus*, *saccharomyces* ve *Aspergillus* türleri de probiyotik özellik göstermektedir. Probiyotik

bakterilerin türleri ve suşları arasında gösterdikleri etki bakımından anlamlı farklılıklar bulunmaktadır ancak en çok etkiye sahip probiyotik bakterilerin *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* suşlarının yer aldığı gruplar olduğu yapılan bilimsel çalışmalar ile gösterilmiştir.<sup>3,4</sup>

Günümüzde probiyotikler birçok hastalıkta ve patolojik durumda kullanılabilir, konağın immün sistemini güçlendirerek yararlı etkiler gösterirler. Yapılan *invivo* ve *invitro* çalışmalarda probiyotiklerin konak savunma mekanizmalarını harekete geçirerek immün cevabı düzenlediği gösterilmiştir. Probiyotiklerin günlük kullanım alanlarının yanı sıra son yıllarda immün sistem ile ilişkili farklı özellikleri incelenmeye başlanmıştır. Anti-inflamatuar etkilerinin yanı sıra anti-oksidan, anti-bakteriyel, anti-paraziter, anti-fungal, apoptotik, anti-karsinojenik ve buna benzer birçok önemli görevleri olduğu saptanan probiyotiklerin özellikle bağırsak dokusu ile ilgili yapılan deneysel modellemelerdeki (kolit, enterit ve inflamatuvar sendrom gibi) immün etkileri son yıllarda bilim dünyasındaki en popüler konular arasında yer almaktadır.<sup>3-5</sup>

Bizim çalışmamızda da, birçok önemli aktiviteye ve koruyucu etkiye sahip probiyotik bakterilerden bu kapsamda faydalanılmak istenmiş; polimikrobiyal sepsise bağlı ortaya çıkan inflamasyonda sepsisten önce ve sonra probiyotik bakteri alımının olumlu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bağırsak perforasyonu sonucu meydana gelen ve cerrahi kliniklerde sıkça karşılaşılan intraabdominal sepsis modelini oluşturabilmek için yaygın kabul gören çekal bağlama ve delme (CLP) işlemi deneysel yöntem ile sıçanlara uygulanmıştır.

Sepsis öncesi uzun dönem probiyotik kullanımı ve sepsis sonrası tek ve yüksek doz probiyotik uygulamasının TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 ve TGF- $\beta$  inflamatuvar parametreleri üzerine olan olumlu ya da olumsuz etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sepsis

#### 2.1.1. Tanımlar ve Tarihçe

Varlığının kanıtları antik çağlara kadar dayanan sepsis, tarihteki ilk tutanaklardan bu yana insanlarda ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. Sepsis, Yunanca “çürüme, kokuşma” anlamına gelen “sepo” kökünden gelir ve eski zamanlardan beri bakterilerin varlığında organik maddelerin, bitkilerin ve hayvanların çürümesi anlamında kullanılmıştır.<sup>6</sup>

Kaynaklara göre sepsis terimi ilk kez günümüzden 2700 yıl önce, Homeric’in şiirlerinde görülmektedir. MÖ. 400 yıllarında yaşamış büyük filozof ve hekim olan Hippocrates, Corpus Hippocraticum adlı kitabında sepsis teriminden bahsetmiş ve sepsisi vücudun tehlikeli ve korkutucu biçimde biyolojik çöküşü olarak tanımlamıştır.<sup>6,7</sup> Yunan asıllı hekim ve filozof olan Galen (MS. 129-199) sepsis teorisi hakkındaki çalışmaları ile tanınan tarihi bir şahsiyettir. Hieronymus ve Anthony van Leeuwenhoek (1632–1723) ise mikroorganizmaların birçok hastalığın nedeni olduğunu savunarak germ teorisinin gelişmesine imkân vermiştir. Ignaz Semmelweiss 19.yy’da sadece el yıkama ile puerperal sepsis oranını %3’ün altına indirmiştir.<sup>8-10</sup> Sepsis ve infeksiyon hastalıklarının tedavisinde ajanların kullanımı da yine çok eski çağlardan Hippocrates’e kadar dayanmaktadır. Hippocrates tedavide mür, şarap ve inorganik tuz kullanmıştır. Çinliler 2500 yıl öncesine kadar çıban ve karbonkül tedavisinde soya fasulyesi sütü kullanmışlardır. Joseph Lister (1827-1912) açık yarası olan hastalarda derideki çatlaklardan giren infeksiyöz ajanın sepsis oluşturduğunu düşünmüştür. Bu dönemlerde Lister karbolik asitle yaraların sarılmasını denemiş, sepsis gelişimi ve ölüm oranlarını düşürmüştür.<sup>10</sup>

Bu görüşlerden asırlar sonra günümüzde sepsis, mikroorganizma ile vücudun bağışıklık, inflamasyon ve koagülasyon sistemlerinin etkileşimi sonucu oluşan ve sistemik inflamatuvar yanıtta organ yetmezliklerine kadar ilerleyebilen ciddi bir klinik tablo olarak karşımıza çıkmaktadır.<sup>11,12</sup>

Sepsis, yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere tüm servislerde yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreden, bu nedenle acil ve agresif tedavi gerektiren bir durumdur. Tüm dünyayla birlikte ülkemizde de son 10 yılda görülme insidansı neredeyse iki katına çıkmış ve aynı zamanda ciddi mali kayıplara yol açmıştır.<sup>13</sup>

Sepsis ve tedavisinde yaşanan güçlüklerden birisi de konuyla ilgili kavram ve terminoloji karışıklığıdır. 1990'lı yıllardan günümüze kadar tekrarlayan toplantılar sonucu sepsis ile ilgili tanımlar, terminoloji ve çalışmalar aynı çatı altında toplanmaya ve netleştirilmeye çalışılmıştır. Konuyla ilgili 1991, 2001, 2012 ve son olarak 2016'da yapılan uluslararası konferanslarda belirli tanımlar ve tedaviyle ilgili kılavuzlar oluşturulmuş ve klinisyenlerin aynı dili konuşmalarına zemin hazırlanmıştır.<sup>14</sup>

İlk konsensus 1991 yılında American Collage of Chest Physicians (ACCP) ve Society of Critical Care Medicine (SCCM)'in konuyla ilgili belli standartlar geliştirmek adına bir araya gelmesiyle yapılmıştır. Bu toplantı 1992 yılında tekrarlanarak septisemi, sepsis sendromu ve refrakter şok tanımları sonlandırılarak; infeksiyon, bakteriyemi, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, sepsis, septik şok ve çoklu organ disfonksiyon sendromuna yönelik evrensel tanımlamalar geliştirilmiştir. Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) teriminin tıp literatürüne girişi bu toplantıyla olmuştur.<sup>15,16</sup>

2001 yılında ise SCCM, ACCP, American Thoracic Society (ATS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) ve Surgical Infection Society (SIS) topluluklarını bir araya gelmesi ile Sepsis-2 konsensus paneli yapılmış ve sepsis, ağır sepsis ve septik şok tanımları aynı kalmak suretiyle, sepsis belirti ve bulguları

genişletilmiştir. Ayrıca sepsis tanı kriterleri arasına C-reaktif protein (CRP), prokalsitonin, laktik asit, kreatinin, bilirubin gibi biyokimyasal ölçütlerdeki artışın da dâhil edilmesi önerilmiştir. 2012 toplantısı sonucunda ise 2001 konferansında kabul edilen kriterler üzerinde ufak değişiklikler yapılmıştır. Bu toplantılarda belirlenen tanımlar şöyledir;<sup>16,17</sup>

**İnfeksiyon:** Normalde steril olan vücut dokularına patojen veya potansiyel patojen mikroorganizmaların yerleşmesi ile oluşan patolojik olaylardır.

**Bakteriyemi:** Kan dolaşımında canlı bakteri bulunmasıdır. Mikroorganizmanın varlığı kültürle gösterilebilir.

**Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS):** İnfeksiyona bağlı olsun olmasın çeşitli klinik durumlara karşı vücutta sistemik inflamatuvar yanıtının tetiklenmesi olayıdır. SIRS infeksiyon dışında cerrahi, travma, hematom, yanık, otoimmün bozukluklar, malignite, tromboz, pankreatit, tiroid krizi, adrenal yetmezlik gibi birçok klinik tabloda görülebilmektedir. SIRS tanısı koyulabilmesi için hastada aşağıdaki parametrelerden iki tanesinin bulunması yeterlidir.<sup>18,19</sup>

- Kalp atım hızı > 90/dk
- Vücut ısısı >38 °C veya < 36 °C
- Solunum sayısı > 20/dk veya PaCO<sub>2</sub> < 32 mmHg olması
- Lökosit sayısı >12000 /µL veya < 4000 /µL ya da %10'dan fazla immatür nötrofil granülositlerin dolaşımda var olması

**Sepsis:** SIRS tablosuna ait bulgulardan iki veya daha fazlasının bulunması ile birlikte kanıtlanmış veya muhtemel infeksiyon varlığı olarak tanımlanır. Sistemik inflamasyon bulguları doğrudan infeksiyona bağlı ise bu terim kullanılmalıdır. 2012'de yayınlanan sepsis tanımlamasında bir dizi tanı kriteri belirlenmiş olmakla birlikte bu



kriterlerin hiçbirisi sepsis tanısı için spesifik değildir.<sup>15</sup> Kanıtlanmış ya da şüpheli infeksiyon durumunda aşağıdaki tanısal kriterlere ( Tablo 2.1) bakılır:

**Tablo 2.1.** Sepsis için kabul edilen tanısal kriterler

---

**Genel değişkenler**

Ateş > 38.3 °C veya Hipotermi < 36 °C

Kalp atım hızı normal değere göre > 90/dk ya da yaşa göre normal değer 2 Standart Sapma (SS) yukarısı

Takipne > 30/ dk

Mental durumda bozukluk

Belirgin ödem ya da pozitif sıvı dengesi (24 saat boyunca >20 mL/kg)

Hiperglisemi (diyabet yokluğunda plazma glukozu >140 mg/dL ya da 7.7 mmol/L)

---

**İnflamatuvar değişkenler**

Lökositoz (Lökosit sayısı >12.000 / $\mu$ L)

Lökopeni (Lökosit sayısı <4000 / $\mu$ L)

Normal lökosit sayısı ve immatur formların %10'dan fazla olması

Plazma C-reaktif protein değerinde artış (normal değer 2 SS üzerinde)

Plazma prokalsitoninin normal değer 2 standart sapma üzerinde olması

---

**Hemodinamik değişkenler**

Arteriyal hipotansiyon (erişkinde sistolik kan basıncı <90 mmHg, ortalama arteriyal basınç <70 mmHg, veya sistolik kan basıncında >40 mmHg azalma veya normal yaş değerine göre iki SS daha düşük olması)

---

**Organ disfonksiyon değişkenleri**

Arteriyel hipoksemi (Parsiyel arteriyel oksijen basıncı (PO<sub>2</sub>)/ inspire edilen oksijen bölümü (FiO<sub>2</sub>); PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> <300)

Akut oligüri (uygun sıvı resusitasyonuna rağmen en az 2 saat boyunca idrar çıkışı <0.5 ml/kg/saat)

Kreatinin artışı (> 0.5 mg/dl ya da 44.2  $\mu$ mol/l)

Koagülasyon anormallikleri (INR (uluslararası normal oran) >1.5 ya da aPTT (aktive parsiyel tromboplastin zamanı) >60 saniye)

İleus (bağırsak hareketlerinin azalması veya durması)

Trombositopeni (trombosit sayısı <100.000 / $\mu$ l)

Hiperbilirubinemi (total bilirubin >4 mg/dL ya da 70  $\mu$ mol/l)

---

**Doku perfüzyon değişkenleri**

Hiperlaktatemi (>1 mmol/l)

Azalmış kapiller dolgunluk ya da deride beneklenme

---

**Ağır sepsis:** Sepsis ile birlikte bir veya daha fazla organ veya sistemde fonksiyon bozukluğu bulunmasıdır. İnfeksiyonla beraber aşağıdaki bulguların olması ağır sepsis dűřündürür:

- Sepsis indűklemesine bađlı hipotansiyon
- Normal değerlerin üzerinde laktat
- İdrar çıkışının 2 saatten daha fazla bir sűre için 0.5 ml/kg/saat'in altında olması
- Kreatinin dűzeyi > 2.0 mg/dl (176.8  mol/l)
- Üre dűzeyi > 50 mg/dl
- İnfeksiyon kaynağı olarak pnömoni yokluğunda  $PaO_2/FiO_2 < 250$  ile akut akciğer hasarı
- İnfeksiyon kaynağı olarak pnömoni varlığında  $PaO_2/FiO_2 < 200$  ile akut akciğer hasarı
- Bilirubin dűzeyi > 2 mg/dl (34.2  mol/l)
- Platelet sayısı < 100.000  l
- Koagülopati ( INR > 1.5 )

**Septik řok:** Sepsiste yeterli sıvı resusitasyonuna rađmen, hipotansiyon ile birlikte oligűri, laktik asidoz, akut mental deđiřiklik gibi perfűzyon bozukluđu belirtilerinin ve organ disfonksiyonu bulgularının devam etmesi durumudur. Bir diđer deyiřle yeterli sıvı replasmanına rađmen ađır sepsis durumunun devam etmesidir.

**Multiple Organ Disfonksiyon Sendromu (MODS):** Sepsis ve septik řok bulguları olan hastada organ fonksiyonlarının bozulduđu ve homeostazisin sűrdűrűlemediđi durumdur.

ESICM ve SCCM tarafından 2016 yılında dűzenlenen Sepsis-3 isimli toplantıda tanımlamalar yeniden gözden geçirilmiş ve bu toplantılar sonucunda sepsisin tanımı

“enfeksiyona karşı disregüle konak yanıtına bağlı organ disfonksiyonu” şeklinde değiştirilmiştir.<sup>14</sup>

Sepsis olgularının tanısı için yeni kriterlerde “kanıtlanmış enfeksiyonun yanında yaşamı tehdit eden organ yetmezliği” kriter olarak belirtilmektedir. Bu organ işlev bozukluğu “Sepsis-Related Organ Failure Assessment” (SOFA) skorunda 2 puan ve üzerinde artış olması ile karakterizedir.

Şiddetli sepsis tanımlaması ve SIRS kriterlerinin kullanılması günümüzde terk edilmiştir. Septik şok tanımında ise önceleri sepsis ile birlikte sıvı resusitasyonuna dirençli hipotansiyon kriteri aranmaktayken yeni kriterlerde “yeterli sıvı resusitasyonuna karşın ortalama arteriyel basınç değerinin 65 mmHg ve üzerinde tutulabilmesi için vazopressör gerekliliği ve serum laktat düzeyinin 2 mmol/l üzerinde olması” olarak tanımlanmıştır.<sup>14</sup> Toplantılarda yapılan tanım değişiklikler Tablo 2.2 'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.2.** Toplantılara göre tanımlar ve değişiklikler

TANIM		YORUM
<b>Sepsis-1, 1991</b>		
Sepsis	İnfeksiyonla birlikte SIRS	SIRS nonenfeksiyöz nedeni de olabilir. Ciddi enfeksiyonu olan tüm hastalarda organ işlev bozukluğu olmamasına rağmen SIRS olmasıdır.
Ciddi sepsis	Akut organ yetmezliği ile birlikte sepsis görülmesi	Sepsisin, sepsis- şiddetli sepsis -septik şok evrelerinin hepsinde enfeksiyon görülmesi gibi yanlış bir izlenim vardır. SIRS ile birlikte organ yetmezliği görülmesidir.
Septik şok	Sıvı resüsitasyonundan sonra kalıcı hipotansiyon ile sepsis	Metabolik kompanente (laktat) bakılmaksızın kan basıncının düşük olmasıdır.
<b>Sepsis-2, 2001</b>	Değişiklik yok	Sepsis ile ilişkili bulgu ve belirtilerin listesi genişletildi.
<b>Sepsis-3, 2016</b>		
Sepsis	Konağın infektif ajana uygunsuz yanıtıyla ilişkili olarak hayatı tehdit edici organ yetmezliği olmasıdır.	Enfeksiyonun organ yetmezliğine neden olması durumudur. Uygunsuz konak yanıtının tetiklenmesi şart değildir.
Septik şok	Yeterli hacimde sıvı resüsitasyonuna rağmen ortalama arter basıncının 65 mm Hg'nin üzerinde tutabilmesi için vasopressör gerekliliğinin olması ve serum laktat düzeyinin 2 mmol/L'nin üzerinde olması durumudur.	Hem dolaşım, hem de metabolik anormallikler göz önüne alınarak 'Ağır sepsis' terimi yenilendi. Yeni sepsis-3 kriterlerinin klinik sonuçları geliştirdiği doğrulanmalıdır.

### 2.1.2. Skorlama Sistemleri

Skorlama sistemleri; 1970'lerden bu yana üzerinde çalışılan, amaç olarak hastalığın ciddiyetini ve organ işlev bozukluğunun derecesini belirlemek, hastalıktan iyileşmeyi tahmin etmek, uygulanan tedavileri değerlendirmek, hastaları belirli standartlara göre değerlendirmek ve yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere servislerin performansını karşılaştırmak için yaygın olarak kullanılan sistemlerdir. Bu sistemlerde hastaya özel günlük ölçümlerden sağlanan veriler kullanılmaktadır.<sup>20</sup>

Yatış esnasında çoğu hastanın tanısı belirlenememiş olabildiğinden, tanıya dayalı skorlama sistemlerinin uygulanabilmesi pek mümkün değildir. Bu sebeple fizyolojiye dayalı skorlama sistemleri kullanılmaktadır. Bazı fizyolojik ölçümlerin ve verilerin kullanıldığı bu skorlar, hastalığın gidişatı ve mortalite riski ile paralellik gösterir.<sup>21-23</sup>

Fizyolojik ölçümlerdeki değişikliklere bağlı olarak hastalığın ciddiyetini tanımlayan; Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; APACHE), Basitleştirilmiş Akut Fizyoloji Skoru (Simplified Acute Physiology Score; SAPS), Çoklu Organ Yetmezliği Skoru (Multiple Organ Dysfunction Score; MODS), Mortalite Tahmin Modeli (Mortality Prediction Model; MPM), Lojistik Organ Disfonksiyon Skoru (Logistic Organ Dysfunction Score; LODS), Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru (Sepsis Related Organ Failure Assessment Score; SOFA) ve yine günümüzde diğer skorlardan daha başarılı ve kolay uygulanabilir olduğu belirtilen Hızlı Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru (Quick- Sepsis Related Organ Failure Assessment; qSOFA) sepsisin skorlama sistemlerindedir.<sup>14,21-23</sup>

### 2.1.3. Epidemiyoloji ve İnsidans

Tüm dünyada yüksek ölüm oranları ile seyreden sepsis yüksek tedavi maliyeti ile de her zaman ciddi bir sağlık problemi olmuştur. Klinik bulguların sebebi altta yatan başka hastalıklar olabileceğinden ve oluşan tablodan en az sepsis kadar bu hastalıklar da sorumlu olabileceğinden sepsis epidemiyolojisiyle ilgili veriler sınırlıdır.<sup>24</sup>

Sepsis insidansı bölgelere göre farklılık göstermekle birlikte, gelişmiş ülkelerde insidans yüksek olmasına rağmen mortalite oranları nispeten daha düşüktür. Son on yılda sepsis insidansı artarak devam etmektedir. Yapılan araştırmalarda sepsise bağlı mortalite oranları Amerika'da %28.3, Avrupa'da ise %41 bulunmuştur. Avustralya ve Yeni Zelanda'da yapılan çok merkezli başka bir çalışmada mortalite oranları %18-20 olarak bildirilmiştir.<sup>17,24-26</sup>

Uluslararası çok merkezli retrospektif bir çalışmada 1995 ve 2015 yılları arasında sepsis için her 100.000'de 437 kişi/yıl, ağır sepsis için ise her 100.000'de 270 kişi/yıl oranında küresel insidans belirlenmiştir. Fakat bu veriler sadece gelişmiş ülkelerin verilerini yansıtmaktadır.<sup>27</sup>

Araştırmalar göstermiştir ki; ırk ve cinsiyet farklılıkları da sepsis epidemiyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Örneğin afroamerikan erkeklerde sepsis insidansı daha yüksektir. Aynı zamanda erkeklerdeki risk (%59.6) kadınlardaki riskden (%58.8) daha yüksek bulunmuştur.<sup>28</sup> Bunun sebebi HIV ( Human Indeficiency Virus) enfeksiyonu, KOAH (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı), kronik alkolizm gibi durumların erkeklerde daha sık görülmesidir. Yine artan respiratuvar sendromlar sebebiyle kış aylarındaki sepsis insidansı daha yüksektir. Nozokomiyal enfeksiyonların daha sıklıkla görüldüğü yoğun bakım birimlerinde sepsis daha sık görülür.<sup>28-30</sup>

Ülkemizde sepsis epidemiyoloji ve insidansı ile ilgili gerçeği yansıtacak çalışmalar sınırlıdır. En büyük kapsamlı çalışma 1983-1989 yılları arasındaki olguların

değerlendirildiği Hacettepe Üniversitesi tarafından yapılan bir çalışmadır. Bu çalışmada yedi yıllık dönemdeki bakteriyemi etkenleri değerlendirilmiş ve sonucunda insidans 4.2/1000 ve mortalite %45 olarak bulunmuştur.<sup>31</sup>

ABD'deki oranlar ülkemiz nüfusuna uyarlanırsa, tahmini olarak yılda 100.000 civarında sepsis görülmesi beklenebilir.<sup>32</sup>

#### **2.1.4. Risk Faktörleri**

Sepsis için risk faktörlerinin bilinmesi önlenmesi açısından oldukça önem taşır. Hastaya ait ve tedaviye ait bazı risk faktörleri şöyledir: <sup>33</sup>

- Alta yatan malignite varlığı
- Yaş (Yenidoğan, >65 yaş)
- Primer hastalık (Siroz, Diyabet, KOAH, Konjestif Kalp Yetmezliği, Kronik Böbrek Yetmezliği)
- Konak savunma mekanizmalarının zayıflaması (Nötropeni, disproteinemiler, malignite, kortikosteroid kullanımı ve diğer immünosupresif tedaviler)
- Geniş travma ve yanıklar
- Lokalize infeksiyonlar
- Lohusalık, septik abortus
- Yakın geçmişte uygun olmayan antibiyotik tedavisi
- Yoğun bakım ünitesinde yatış
- İnvaziv cerrahi girişimler
- Parenteral mayi veya kan/kan ürünlerinin fazla miktarda verilmesi

#### **2.1.5.Etiyoloji**

Teorik olarak tüm mikroorganizmalar sistemik infeksiyon yanıtını başlatarak sepsis oluşturabilirler. Sepsis etiyojisinde en sık bakteriler, sonra mantarlar, viruslar ve parazitler etken olarak yer almaktadır. 1960-1980 yılları arasında gram negatif

bakteriler ağırlıklı rol oynarken, 1980'lerin ortalarında gram pozitif bakterilere bağlı sepsis sıklığında artışlar olmuş ve gram negatif kaynaklı sepsis ile aynı oranlara ulaşmıştır.<sup>34-36</sup> İzole edilen mikroorganizmalar kurumdan kuruma değişse de, sepsis nedeni olarak karşımıza en sık çıkan mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus*, koagülaz negatif stafilocoklar (KNS), enterokoklar, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, diğer Enterobacteriaceae üyeleri ve *Candida* türleri olarak bildirilmektedir.<sup>37,38</sup>

En sık üriner sistem, solunum sistemi enfeksiyonları, deri enfeksiyonları ve damar içi kateterler önemli sepsis kaynaklarıdır. İntraabdominal enfeksiyonlar ise gastrointestinal sistemin herhangi bir yerindeki perforasyon nedeniyle oluşan, genellikle polimikrobiyal ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde sıklıkla ağır sepsise neden olabilen enfeksiyonlardır.<sup>39</sup> İntraabdominal enfeksiyonlarda hem aerobik hemde anerobik bakteriler ortamda bulunmaktadır. Bu enfeksiyonlarda özellikle aerob bakteriler ortamda oksidasyon-redüksiyon potansiyellerini azaltıp anerob bakteriler için daha uygun ortam oluşmasına yol açarken, anaerob bakteriler ise kısa zincirli yağ asitleri üreterek nütrofillerin fonksiyonlarını bozarlar. İntraabdominal sepsiste birçok akut fizyolojik olaydan gram negatif bakteriler sorumlu iken, anaerob bakteriler ise özellikle abse oluşumundan sorumludur.<sup>37,39</sup> Mortalite oranları oldukça yüksek olan intraabdominal sepsis olgularında sık karşılaşılan etkenler Tablo 2.3' te belirtilmiştir;

**Tablo 2.3.** İntraabdominal enfeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan bakteriler

<b>Fakültatif Gram (-) Basil</b>	<b>Zorunlu Anaeroblar</b>	<b>Fakültatif Gram (+) Koklar</b>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Enterococcus sp.</i>
<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Bacteriodes sp.</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
<i>Proteus sp.</i>	<i>Fusobacterium sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>
<i>Enterobakter sp.</i>	<i>Clostridium sp.</i>	
<i>Morganella morganii</i>	<i>Peptococcus sp.</i>	
Diğer Enterik Gram (-) Basiller	<i>Lactobacillus sp.</i>	
Aerobik Gram (-) Basiller	<i>Peptostreptococcus sp.</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		

### 2.1.6. Sepsis Patofizyolojisi

Sepsis çok sayıda faktör arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan ve hala patofizyolojisi tam olarak açıklanamamış çok karmaşık bir tablodur. Hastanın immün sistemi ile enfeksiyona sebep olan mikroorganizma arasındaki ilişki ise bu tablonun temelini oluşturur. Normal şartlar altında patojen mikroorganizmaya karşı doku bütünlüğünü koruyan konak, immün cevabın herhangi bir nedenle bozulması sonucu patojene karşı vermesi gerekenden daha hafif bir yanıt verirse sepsis gelişip hasta kaybedilebilir. Hastanın immün sistemi düzgün ve dengeli bir yanıt ortaya koyarsa kompensatuar anti-inflamatuar yanıt gelişip iyileşme sağlanabilir. Ya da immün sistemin abartılı bir inflammatuar yanıt oluşturması sonucu daha ağır tablolar oluşarak hasta kaybedilebilir.<sup>2,40</sup>

Literatürde bu konak yanıtının genetik polimorfizmden etkilendiğini öne süren çalışmalar mevcuttur. Bazı hastaların belli bir patojenle sepsise yakalanırken diğerlerinin neden yakalanmadığı bu sayede açıklanabilmektedir.<sup>41</sup>

İmmün sisteme bakıldığında, mikroorganizmalar doğal bariyeri geçtikten sonra nötrofil, monosit, dendritik hücreler gibi bağışıklık sistemine ait hücrelerle karşılaşılır. Bu hücreler üzerindeki reseptör ve bazı moleküler yapılar mikroorganizmaların bazı antijenik yapılarını ve toksinlerini tanıyarak inflamasyonu aktive ederler ve bu sistemin aktive olmasıyla pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar mediatörler salınmaya başlar. Pro-inflamatuar sistemin ilk salınan mediatörleri IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6'dır. Anti-inflamatuar sistemin en belirgin mediatörleri ise IL-4, IL-10 ve PAF'tır. Salınan mediatörler inflamasyon mekanizmasında rol oynayan kompleman sistemi, koagülasyon sistemi, fibrinolitik sistemler ile bazı hormon sistemlerinin aktivasyonuna yol açar ve kompleks bir reaksiyon gelişir. Sepsis erken döneminde proinflammatuar süreç ve geç dönemlerde ise anti-inflamatuar süreç aktive olur. Sepsis patofizyolojisinde; patojen



mikroorganizmalar ve inflamatuvar yanıtı bağı sistemik inflamasyon, bozulmuş koagülasyon ve bozulmuş fibrinoliz yer almaktadır. Sonuç olarak ise homeostaz bozulur ve daha geç fazda organ yetmezlikleri ortaya çıkar.<sup>2,40,42</sup>

Mikroorganizmalara ait bazı antijenik yapıları ve toksinler inflamasyonu başlatabilir. Mikrobiyal patojenler içinde gram negatif hücre duvarı komponentleri (LPS, Lipid A) sepsisi tetikleyen moleküllerin başında gelmektedir. Bunun dışında bakterilere ait por oluşturan toksinler, peptidoglikanlar, lipoteikoik asit, gram pozitiflerin süperantijenleri, lipopeptitler, flagellin, mantarların hücre duvarı antijenleri, viral ve paraziter antijenler, enzimler ve diğer ekzotoksinler de sepsis döngüsünü başlatabilen diğer önemli hücresel yapı ve toksinlerdir (Tablo 2.4).<sup>42,43</sup>

**Tablo 2.4.** Sepsis patogenezinde rol oynayan bakteriyel yapılar

Bakteriyel yapı	Kaynak	Örnek
Endotoksin (LPS, lipid A)	Bütün Gram negatif bakteriler	<i>E. coli</i> sepsisi Meningokoksemi
Peptidoglikan Lipoteikoik asit	Bütün Gram pozitif bakteriler	
Ekzotoksinler	<i>S. aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>E. coli</i> <i>Aeromonas sp.</i>	$\alpha$ - hemolizin Streptolizin - O <i>E. coli</i> hemolizini Aerolizin
Süperantijenler	<i>S. aureus</i> <i>S. pyogenes</i>	Toksik şok sendromu toksini-1 Enterotoksin A-F Pirojenik ekzotoksin A+C, Streptokokal pirojenik ekzotoksin
Enzimler	<i>S. pyogenes</i> <i>Clostridium perfringens</i>	1L-1 $\beta$ konvertaz Fosfolipaz C

Dolaşımda bulunan LPS'lerin sepsis ile ilgili süreci başlatabilmesi için konak hücrede LPS-bağlayan protein (LBP) ve CD14 (cluster of differentiation 14) opsonik reseptörün bulunması gerekir. CD14 bulunduğu yere göre mCD14 (hücre membranında) veya sCD14 (dolaşımda) olmak üzere ikiye ayrılır. LPS-LBP kompleksi; dolaşımdaki monosit, makrofaj ve nötrofiller üzerinde bulunan CD14 reseptörüne bağlanır.<sup>1</sup> Hücre yüzeyinde CD14 reseptörü taşımayan dendritik hücreler, fibroblastlar, düz kas hücreleri ise sCD14 ile etkileşime girerek LPS ile uyarılır. CD14'ün keşfi ile konağın LPS'ye olan yanıtı daha iyi anlaşılmış olsa da mCD14'ün hücre içine bir uzanımı olmamasından dolayı LPS-LBP kompleksinin hücreleri hangi yolla aktive ettiğini tam olarak açıklamak mümkün olmamıştır. "Toll-like" reseptörler (TLR)'in keşfi ile bu belirsizlik ortadan kalkmış ve mekanizma netlik kazanmıştır. Makrofaj yüzeyinde bulunan CD14 vasıtasıyla bir dizi transformasyon genini uyarabilen bir reseptör ailesinin üyesi olan TLR uyarılır. Yapılan son çalışmalarda, memeli hücresinde en az 13 adet TLR bulunduğu, ekstrasellüler, transmembranöz ve intrasitoplazmik olmak üzere üç kısımdan oluştuğu tespit edilmiştir. TLR-4 ilk tanımlanan ve LPS bağlayan reseptördür. TLR-2 ise Gram pozitif bakterilerin peptidoglikanını bağlayan reseptördür.<sup>44</sup>

TLR, sitokin ve diğer mediatörlerin sentezine ve salınımına öncülük eden sinyal yollarını indüklemektedir. TLR'lerin aktivasyonu TNF- $\alpha$  ve IL-12 gibi önemli inflamatuvar mediatörlerin salınımını sağlamakla birlikte, mikrobiyal öldürme mekanizmalarının arttırılmasına da sebep olmaktadır. Diğer yandan da karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezi artar. Böylece kompleman ve koagülasyon sistemleri aktive olur. TLR'ler ayrıca Nükleer Faktor (NF)  $\kappa$ -B'yi indükleyen I $\kappa$ -B kinaz enzimini de aktive etmektedir. NF- $\kappa$ B inflamatuvar mediatörlerin gen ekspresyonunda gerekli olan redoks duyarlı bir transkripsiyon faktörüdür. Böylece sitokin sentezi için kopyalama

başlamış olmaktadır. Sonuç olarak monositlerden TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-12, IL-8 ve trombositleri aktive eden PAF açığa çıkmaktadır. IL-1 ve IL-6, T hücrelerinin aktivasyonu sağlayarak,  $\gamma$ -interferon, IL-2, IL-4, granülosit monosit koloni stimulan faktörlerin (GM-CSF) salgılanmasını uyarır.<sup>1,44-46</sup>

Bunlara ek olarak kemokinler (intraselüler adezyon molekülü-1 [ICAM-1], vasküler hücre adezyon molekülü-1 [VCAM-1], makrofaj inflamatuvar protein-1 $\alpha$  [MIP-1 $\alpha$ ]) ve nitrik oksit (NO) gibi mediyatörler de sepsis inflamatuvar yanıtında rol almaktadır. Salınan mediatörler lokal infeksiyonun yenilmesinde yararlı olurken, büyük miktarlarda sentezlenerek dolaşıma karışmaları durumunda yaygın endotel hücre hasarı na sebep olurlar. Endotelin zedelenmesi ise hemodinamik değişiklikler ve organ yetersizliği ile sonuçlanır.<sup>47</sup>

Sepsis patogenezindeki mediyatörler arasında en önemlisi TNF- $\alpha$ 'dır. Dolaşımdaki endotoksin düzeyleri ne kadar fazla ise TNF- $\alpha$  düzeyleri de o kadar fazladır ve klinik sonuç da o kadar kötüdür. TNF- $\alpha$ , lökosit yüzeyindeki adezyon moleküllerini aktive ederek nötrofillerin endotel hücrelerine yapışmasına sebep olur. Aktive olmuş nötrofillerin degranülasyonu sonucu, proteazlar ve toksik oksijen radikalleri açığa çıkarak endotel hücrelerinin zedelenmesini kolaylaştırır.<sup>42</sup> TNF- $\alpha$ ; ateş, lökositoz, taşikardi, hipotansiyon, kapiller sızıntı, miyokard depresyonu, oligürik böbrek yetmezliği, renal kortikal nekroz, asidoz ve yaygın damar içi koagülasyon oluşumunda rol alır.<sup>42,48</sup> Sepsiste rol alan mediatörler Tablo 2.5'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.5.** Sepsiste rol oynayan temel mediatörler

Konak hücre	Pro-inflamatuar mediatörler	Düzenleyici mediatörler	Anti-inflamatuar mediatörler
<b>Monosit/makrofaj</b>	TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8, IFN- $\gamma$ , doku faktörü, prostonoidler, lökotrienler, PAF, NO	IL-6, IL-12	IL-1Ra sTNFr TGF- $\beta$
<b>Nötrofiller</b>	İntegrin ekspresyonu, süperoksit, TNF- $\alpha$ , IL-1		BPI, defensinler, asikloksiasilhidrolaz
<b>Lenfositler</b>	IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$	IL-12	IL-4, IL-10, sIL-2r
<b>Endotel hücresi</b>	Selektin, VCAM, ICAM, NO, doku faktörü		
<b>Trombositler</b>	Serotonin, prostonoidler	PDGF	
<b>Plazma komponentleri</b>	Koagülasyon kaskadı, kompleman aktivasyonu, bradikinin	CRP, LBP	

TNF: tümör nekroz faktörü, IL: interlökin, INF: interferon, PAF: trombosit aktive eden faktör, NO: nitrik oksit, IL-1Ra: interlökin-1 reseptör antagonisti, sTNFr: solubl TNF reseptör, TGF-b: transforming büyüme faktörü, BPI: bakteriyel/permeabilite arttırıcı protein, sIL-2r: solubl IL-2 reseptör, PDGF: trombositten açığa çıkan büyüme faktörü, VCAM: damar hücre adezyon molekülü, ICAM: hücre içi adezyon molekülü, NO: nitrik oksit, CRP: C-reaktif protein, LBP: lipopolisakkarit bağlayıcı protein.

## 2.2. Sitokinler ve İnflamasyondaki Rollerini

Sitokinler; peptid ya da glikoprotein yapıda, ağırlıkları 20-40 kilodalton arasında değişen nispeten küçük moleküllerdir. Kanda erken dönemde tespit edilebilmelerine rağmen yarılanma ömürlerinin 12-24 saat gibi kısa olması klinik kullanımlarını sınırlar. Yapısal olarak hormona benzemekle birlikte hormon olarak kabul edilmezler, depolanmazlar, sistemik veya lokal etki gösterirler. Bağışık yanıt başta olmak üzere birçok biyolojik olayda rol oynarlar. En önemli görevlerinden biri immün yanıtı düzenlemeleridir. İmmün yanıtı şiddetlendirebilir veya azaltabilirler. Sitokinler genel

olarak inflamasyon, metabolizma, hücre büyümesi ve farklılaşması, fibrinojenezis ve homeostaz olaylarında merkezi rol oynarlar. Doğal bağışıklıkta sitokinler; mononükleer fagositer hücreler ve doğal öldürücü hücreler tarafından, kazanılmış bağışıklıkta ise genellikle T hücreleri tarafından üretilirler.<sup>49</sup>

Sitokin adı altında interlökinler, monokinler, lenfokinler, büyüme faktörleri, interferonlar ve kemokinlerden oluşan çeşitli gruplar bulunmaktadır. Sitokinler çok geniş bir yelpazedeki hücre tipleri tarafından üretilirler. Bu yüzden salgılandıkları hücrelere göre değişik isimler alırlar. Aktif T Lenfositler tarafından üretilen sitokinlere *lenfokin*, monosit ve makrofajlar gibi mononükleer fagositler tarafından üretilen sitokinlere ise *monokin* adı verilmektedir. Özellikle lökosit göçünden sorumlu küçük sitokinler ise *kemokin* olarak adlandırılırlar. Koloni Uyarıcı Faktörler (Colony Stimulating Factors; CSF) adı verilen ve kemik iliğindeki olgun olmayan lökositlerin büyüme ve farklılaşmasını uyaran diğer bazı sitokinler ise hem lenfositler hem de mononükleer fagositler tarafından yapılır. Sitokinler her ne kadar üretildikleri yere göre isimlendirilseler de günümüzde genel olarak sitokin adıyla anılmaktadırlar. Bu hücreler dışında alveoler epitel hücreleri, mast hücreleri, doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), B-hücreleri, eozinofiller, bazofiller, fibroblastlar gibi diğer hücreler tarafından da üretilirler. Günümüzde 100'ün üzerinde sitokinin varlığı bilinmektedir. Rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak pek çok sitokin üretilmektedir.<sup>49-50</sup>

Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:<sup>49-51</sup>

**1) Büyüme faktörleri** (Epidermal büyüme faktörü, EGF; İnsülin benzeri büyüme faktörü-1, IGF-1; İnsülin benzeri büyüme faktörü-2, IGF-2; Platelet orjinli büyüme faktörü, PDGF; Asidik fibroblast büyüme faktörü, aFGF; Bazik fibroblast büyüme faktörü, bFGF; Nöron büyüme faktörü, NGF; Nörolökin; Amfiregulin; Hepatosit büyüme faktörü, HGF vb.)

**2) Lenfokinler** (İnterlökin, IL-1 $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ ; IL-2; IL-3; IL-4; IL-5; IL-6; IL-7; IL-8; IL-9; IL-10; IL-11; IL-12; IL-13; IL-14; IL-15; IL-17; IL-18; IL-22; IL-33 vb.)

**3) Koloni sitimüle eden faktörler** (Granülosit/makrofaj koloni sitimüle eden faktör, GM-CSF; Granülosit-CSF; Multi-CSF; Eritropoietin, Lösemi inhibitör faktör)

**4) Transforme edici büyüme faktörleri** (TGF- $\alpha$ ; TGF- $\beta$ )

**5) Tümör nekroz faktörleri** (TNF- $\alpha$ ; TNF- $\beta$ )

**6) İnterferonlar** (IFN- $\alpha$ ; IFN- $\beta$ ; IFN- $\gamma$ ).

Sitokinler etki mekanizmalarına göre ise pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Bunlardan pro-inflamatuar sitokinler inflamasyonu uyarırken, anti-inflamatuar sitokinler inflamasyonu engeller ve iyileşmeyi artırır.<sup>40,52</sup>

İmmün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gerekli olan pro-inflamatuar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınırlar. İmmün cevapta rol oynayan temel pro-inflamatuar sitokinlerin en önemlileri TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8'dir. Bunlardan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ilk salgılanan sitokinlerdir ve immün hücrelerin göç ve aktivasyonunu destekleyen diğer sitokinlerin salgılanmasını sağlamaktadırlar. İkincil veya bunlara yardımcı sitokinler ise IL-6 ve IL-8 dir. Anti-inflamatuar sitokinler ise inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınarak inflamatuar cevabın kontrolü ve down regülasyonunu düzenlerler. Anti-inflamatuar sitokinlerin en önemlileri ise IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, TGF- $\beta$ 'dir. Bazı sitokinler ise hem pro-inflamatuar hem anti-inflamatuar etki gösterebilirler.(Tablo 2.6)<sup>1,52</sup>

Organizma, mediatörleri serbestleştiren mekanizmayı kontrol altında tutabilir ve inhibe edecek maddeleri üretebilir, fakat olay kontrol altına alınmazsa ve sitokin cevabı dengelenmezse endotel yapısı bozulur ve aşırı geçirgen hale gelir, böylece mediatörler sistemik dolaşıma katılıp ulaştıkları kapillerlerde yeni inflamatuar olaylara

sebeplerdir. Bu reaksiyonların sonucu olarak inflamasyon ve sepsis klinik tablosu ortaya çıkar.<sup>53</sup>

**Tablo 2.6.** İnflamatuar özelliklerine göre bazı sitokinlerin sınıflandırılması

<b>Pro-İnflamatuar</b>	<b>Anti-İnflamatuar</b>	<b>Çift Etki</b>
TNF- $\alpha$	IL-4	IL-6
TNF- $\beta$	IL-10	TNF- $\beta$
IL-1	IL-11	
IL-2	IL-13	
IL-8	TGF- $\beta$	
IL-12		
IL-15		
IL-17		
IL-18		
INF- $\gamma$		

### **2.2.1. Çalışmada İncelenen İnflamatuar Sitokinlerin Özellikleri**

#### **2.2.1.1. TNF- $\alpha$**

Nonglikolize bir transmembran proteini olan TNF'nin monosit ve makrofajlardan salınan TNF- $\alpha$  (kaşektin) ve aktive T lenfositlerden salınan TNF- $\beta$  (lenfotoksin) olmak üzere iki formu vardır. Her iki TNF molekülü de genellikle pro-inflamatuar işlev gösterirler. Pro-inflamatuar sitokinler içerisinde en erken salınan mediatör olan TNF- $\alpha$  sepsisin patogeneğinde en güçlü ve en sorumlu sitokin olma özelliği taşır.<sup>54</sup>

TNF- $\alpha$ 'nın TNF-RI (P55) ve TNF-RII (P75) isimli iki adet reseptörü vardır. Bu iki reseptör yapısal olarak benzer fakat fonksiyonel olarak farklı özellik gösterip TNF- $\alpha$ 'nın biyolojik etkilerini düzenler. Bu iki reseptör birçok hücre üzerinde beraber bulunmasına rağmen, yapılan çalışmalarda TNF- $\alpha$ 'nın biyolojik olarak etkin bir sinyal oluşturabilmesi için TNF-RI üzerinde etki göstermesi gerektiği bildirilmiştir.<sup>54</sup>

TNF- $\alpha$ 'nın yarılanma ömrü 15-18 dakika olarak belirtilmiştir, bu yüzden 4 saat içerisinde plazma düzeyleri düşmeye başlar, fakat bu kısa süre içinde birçok hemodinamik ve metabolik değişikliğe yol açar, aynı zamanda diğer sitokinlerin

salınımını uyarır. TNF- $\alpha$ 'nın biyolojik özellikleri IL-1 ile benzerlik gösterir. İnfeksiyon bölgesine nötrofil ve monosit göçünü sağlamak temel fonksiyonudur. Kemik iliğinden nötrofillerin salınımını sağlamakta, endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırarak, nötrofil migrasyonunu başlatmaktadır. Ayrıca süperoksit üretimini ve lizozim salınımını yönetmektedir. Akut faz reaktan proteinlerinin sentezini arttırmak, koagülasyon ve kompleman sistemini aktive etmek biyolojik etkileridir.<sup>55</sup>

TNF- $\alpha$ , IL-1 başta olmak üzere diğer sitokinlerin salınımını uyarır, dokunun hemorajik nekrozunu ve protein yıkımını indükler. Akciğerde permeabilite artışına ve akciğer ödemeine neden olur. Kaşeksiden sorumlu esas sitokindir.<sup>48</sup> Sistemik inflamasyona katılan akut faz reaksiyonunu stimüle eden TNF- $\alpha$ 'nın ayrıca apoptotik hücre ölümünü indüklediği ve tümör oluşumu ve viral replikasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>48,52,55</sup>

### **2.2.1.2. IL-1**

Biyolojik etkileri bakımında TNF- $\alpha$ 'ya benzeyen IL-1'in endojen pirojen olarak tanımlanması ilk olarak 1940'lı yıllarda olmuştur. Çok küçük dozlarda bile ateşe neden olduğu belirlenen bu molekülün daha sonraları lenfositleri aktive edici bir faktör olduğu anlaşılmış ve bu moleküle interlökin denmesi kabul görmüştür.<sup>56</sup>

IL-1'in birbirinden %30 oranında farklılık gösteren iki ayrı formu vardır. Bunlar iki ayrı gen ürünüdür ve IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  olarak adlandırılırlar. İki molekülün biyolojik etkileri benzerdir. Sinyal iletimi ve etkilerini IL-1Rtip1 ve IL-1Rtip2 olarak tanımlanmış iki farklı reseptör aracılığıyla gösterirler. Bazı hücrelerde ise ekstra bir gen bölgesi IL-1RA (interlökin 1 reseptör antogonisti) olarak adlandırılan üçüncü bir proteini kodlar. Bu protein inaktif olmasına rağmen IL-1 reseptörlerine bağlanmak için diğer iki molekülle yarışır ve inhibitör etkisi gösterir.<sup>57</sup>



IL-1 sentezi monositler ve makrofajlar başta olmak üzere B ve T lenfositler, doğal öldürücü hücreler, nötrofiller, endotel hücreleri, fibroblastlar ve keratinositler gibi birçok hücre tarafından yapılmaktadır. Hücre hasarı, aktive kompleman parçaları, bakteri membran ürünleri, immün kompleksler, diğer sitokinlerin varlığı gibi uyaranlarla salınımları tetiklenir. IL-1 $\alpha$  sadece aktive edici bir uyaran sonrası dendritik hücrelerden salındığından serumda saptanması zorken, IL-1 $\beta$  kolaylıkla saptanabilmektedir.<sup>58,59</sup>

Yapıları ve reseptörleri farklı olmasına rağmen aynı transkripsiyon faktörlerini aktive etmelerinden dolayı IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ile benzer şekilde ve sinerjistik etki gösterir. Tek farkları IL-1 $\beta$ 'nin TNF- $\alpha$  'nın aksine apoptozu önleyici etki göstermesidir.<sup>58-60</sup>

IL-1 $\beta$ 'nin biyolojik etkileri arasında sınırlı inflamasyon, mononükleer hücrelerde ve endotel hücrelerinde pıhtılaşma sistemlerini aktive etmesi, yüzey moleküllerini artırarak lökositlerin yapışmasına aracılık etmesi, kemokin sentezini artırma (özellikle IL-6) ve lökositleri aktive etmesi sonucu hipotansiyon ve lökosit işgaline sebep olduğu belirlenmiştir. Bu etkilerle birlikte vücut sıcaklığında artış, akut faz reaktanları sentezinde artış ve TNF- $\alpha$  ile birlikte kaşekside artışa yol açtığı gösterilmiştir. Sepsisli hastaların çoğunda IL-1 $\beta$ 'nin önemli ölçüde arttığı ve sepsisin şiddeti ile doğru orantılı olduğu belirlenmiştir. Sepsisin önemli bir belirteci olmasına rağmen yarılanma ömrünün çok kısa olmasından dolayı (8 dakika) tanısal etkinliği TNF- $\alpha$  ve IL-6 ya göre daha düşüktür.<sup>59-61</sup>

### **2.2.1.3. IL-10 ve TGF- $\beta$**

IL-10 ve TGF- $\beta$  sepsis sırasında aşırı pro-inflamatuar yanıtın önlenmesinde rol oynayan iki kilit anti-inflamatuar sitokindir.<sup>52,57</sup>

IL-10 monosit, makrofaj, doğal öldürücü hücreler, T ve B lenfositler gibi farklı hücreler tarafından üretilir ve aşırı bağışık yanıtları kısıtlar. Özellikle TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6,

IFN- $\gamma$  ve IL-12 gibi sitokinlerin salınımını kısıtladığı bilinmektedir. Ayrıca B lenfositler için büyüme ve farklılaşma faktörüdür. IL-10 seviyelerinin TNF- $\alpha$  ile birlikte artması ise sepsiste kötüye gidişle ilişkilendirilmiştir ve septik şokun belirteci olarak gösterilmiştir.<sup>52,57</sup>

TGF- $\beta$  ise temelde hücre proliferasyonu (bölünmesi), hücre farklılaşması, adezyon, morfogenez gibi hücreyel olayların kontrolünde rol oynar. IL-10 ile benzer şekilde TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin salınımını baskılar. Bilinen en güçlü immünsüpresif moleküllerden biridir. TGF- $\beta$  immün sistemin Th<sub>1</sub> ve Th<sub>2</sub> gibi efektör T hücrelerini ayrıca sitotoksik T hücrelerini baskılayarak, T regülatör hücreleri ise aktive ederek aşırı inflamatuar yanıtları baskılamaktadır.<sup>62</sup>

### **2.3. Probiyotikler**

Son yüzyılda, sağlıklı bir yaşam sürdürme ve hastalıklara karşı korunmada bağırsak florasının yeri ve önemi daha iyi anlaşılmıştır ve günümüzde mikrofloranın desteklenmesi gerektiği görüşü tüm dünyada yaygın kabul görmektedir. Bu görüşün temeli; 1908'li yıllarda Bulgar köylülerin uzun ve sağlıklı yaşamasının sırrını fermente süt ürünleri tüketmelerine bağlı olduğunu söyleyen Metchnikoff'a kadar dayanır. Metchnikoff bu ürünlerde bulunan çubuk şeklindeki bakterilerin kolondaki popülasyonu olumlu etkilediğini belirterek o yıllarda probiyotik kavramına farkındalık kazandırmıştır.<sup>63-65</sup>

Probiyotik kelimesi bugün kullanıldığı anlamıyla ilk kez 1974 yılında Parker tarafından kullanılmıştır.<sup>64</sup> 1994 yılında Brüksel'de düzenlenen probiyotik konulu uzmanlar toplantısında ise probiyotik "sağlığa koruyucu etki gösteren, sindirim, solunum ve üreme sistemleri üzerine olumlu etkileri olan, canlı, bir ya da birkaç belli mikroorganizma tarafından oluşturulmuş kültürler" olarak tanımlanmıştır.<sup>63</sup>

Kelime anlamı olarak "yaşamsal, canlı için" anlamına gelen probiyotik, günümüzde Dünya Sağlık Örgütü ve Birleşmiş Milletler Yiyecek ve Tarım Örgütü heyeti tarafından yapılan tanımlamayla "yeterli ve uygun oranlarda alındıklarında insan sağlığına yararlı etki sağlayan canlı mikroorganizma içerikleri" şeklinde tanımlanmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların çoğunluğunu bakteriler oluşturmakla birlikte, bazı küfler ve mayalar da bu grupta yer almaktadır.<sup>3,63,65</sup>

Probiyotik mikroorganizmaların birçoğu intestinal flora elemanı olup; yaşlılık, hastalık, ilaç kullanımı gibi durumlarda miktarları azalabilir. Ya da florada etkin olabilecek seviyenin altında yani daha az miktarlarda bulunabilirler. Florada var olsa dahi probiyotik bakterilerin olumlu etkilerinin gözlenebilmesi için kesin olmamakla birlikte gıdalarla  $10^6$ - $10^8$  kob/g arasındaki miktarlarda alınması gerektiği, ancak bu miktarlarda kalın bağırsağa ulaşarak etkinliklerini gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu yüzden gıda üreticileri probiyotik ürünlerde  $10^6$  kob/g'ın üzerindeki değerleri hedeflemektedir. İlerleyen yıllarda yapılacak çalışmalar ışığında, kullanılan mikroorganizmalara, probiyotik üründen beklenen etkiye ve ürünün bileşimine göre bu limitlerin değişebileceği öngörülmektedir.<sup>66</sup>

Probiyotikler sindirim sisteminde tutunarak aktive göstermelerine rağmen yavaş çoğalırlar ve uzun süre kolonize olamazlar. Bu süreçte metabolik olarak aktif durumdadırlar, ama olumlu etkilerinin görülebilmesi için süre değişmekle birlikte kullanımlarına belli aralıklarla uzun süre devam edilmelidir.<sup>67</sup>

Günümüzde, probiyotikler, prebiyotikler ve fonksiyonel gıdalara olan ilgi sürekli artmaktadır. Probiyotiklerin immün sisteme olan etkileri ise günümüzde en popüler konular arasındadır. Özellikle probiyotiklerin insan sağlığına faydaları ve immünmodülasyona yönelik bilimsel çalışmalara her geçen gün yenisi eklenmektedir.<sup>68,69</sup>

### 2.3.1. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri

Probiyotik bakteriler mide asidine diğer bakterilere göre daha dayanıklı, safra tuzlarına ve lizozim enzimine daha dirençli bakterilerdir. *Lactobacillus* türleri, genellikle ince bağırsakta fazla sayıda bulunurken, *Bifidobacterium*'lar kalın bağırsakta sayıca fazladır. Probiyotik bakteriler glikozun yıkımı sonucu ürettikleri asetik asit, laktik asit, bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddelerle bağırsaklarda istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını kontrol eder ve intestinal floranın dengesini sağlarlar. Gram (+) bakteriler, bakteriyosinlere daha duyarlıdır. Sağlıklı kişilerin bağırsak florasında probiyotik bakterilerin sayısı zaman içerisinde sabitlenir fakat; fazla antibiyotik kullanımı, stres, yorgunluk, uygun olmayan beslenme, fazla alkol alımı, çeşitli hastalıklar ve bağırsak ameliyatları gibi durumlar, bu bakterilerin azalmasına neden olmaktadır. Probiyotik bakterilerin önemli özelliklerinden biri de, bağırsak duvarına tutunabilme yetenekleridir. Bu tutunma olayı biyolojik etki gösterebilmeleri için mutlaka olması gereken bir özelliktir. Probiyotik bakteriler, bağırsak duvarına tutunarak patojen mikroorganizmaların tutunmasını engellerler. Ayrıca sindirim sırasında bağırsak hareketlerinden çok fazla etkilenmeden hızla üreyerek orjinal popülasyonda azalmayı önlerler. Konak intestinal florasını düzenleyerek, mukozal ve sistemik bağışıklığı güçlendiren, sağlığa yararlı etkiler sağlayan probiyotiklerin en önemli ve en yaygın grubunu laktik asit bakterileri oluşturmaktadır (*Lactobacillus sp.*, *Pediococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Leuconostoc sp.*, *Lactococcus sp.*, *Propionibacterium sp.*). Yoğurt yapımında kullanılan *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* dışındaki bütün laktik asit bakterileri bağırsak florası elemanlarıdır. *Bifidobacterium* türleri ise (özellikle *Bifidobacterium bifidus*, *Bifidobacterium longum* ve *Bifidobacterium breve*) laktik asit bakterileriyle birlikte en yaygın olarak kullanılan probiyotik bakterilerdir.<sup>68,70-71</sup>

Bu iki grup dışında diğer bazı bakteri cinsleri ile küf ve maya türlerinin de probiyotik karaktere sahip olabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Tropikal bir meyvenin kabuğundan izole edilen *Saccharomyces boulardii*'nin probiyotik özelliklerine sahip olduğunun keşfedilmesi buna bir örnektir.<sup>70</sup> Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların listesi Tablo 2.7'de gösterilmiştir.<sup>68,70-71</sup>

**Tablo 2.7.** Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. cellebiosus</i>
	<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. lactis</i>
	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. reuteri</i>
	<i>L. brevis</i>	<i>L. casei</i>
	<i>L. curvatus</i>	<i>L. fermentum</i>
	<i>L. plantarum</i>	<i>L. johsonli</i>
	<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. helveticus</i>
	<i>L. salivarius</i>	<i>L. gasseri</i>
<i>Bifidobacterium sp.</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>B. bifidum</i>
	<i>B. infantis</i>	<i>B. breve</i>
	<i>B. thermophilum</i>	<i>B. longum</i>
<i>Bacillus sp.</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. pumilus</i>
	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. lentus</i>
	<i>B. cereus</i>	<i>B. coagulans</i>
<i>Pediococcus sp.</i>	<i>P. cerevisiae</i>	<i>P. acidilactici</i>
	<i>P. pentosaceus</i>	
<i>Streptococcus sp.</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>S. thermophilus</i>
	<i>S. intermedius</i>	<i>S. lactis</i>
	<i>S. diacetylactis</i>	
<i>Bacteriodes sp.</i>	<i>B. capillus,</i>	<i>B. suis</i>
	<i>B. ruminicola,</i>	<i>B. amylophilus</i>
<i>Propionibacterium sp.</i>	<i>P. shermanii,</i>	<i>P. freudenreichii</i>
<i>Leuconostoc sp.</i>	<i>L. mesenteroides</i>	
Küfler	<i>Aspergillus niger,</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
Mayalar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
	<i>Candida torulopsis</i>	

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kullanılabilmesi için deneysel ve klinik çalışmalarla probiyotik özelliklerinin belirlenmesi gerekir, bu yüzden her mikroorganizma probiyotik olarak kullanılamaz. Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların belli kriterlere sahip olması beklenir. İnsan orjinli olma,

nonpatojenik ve nontoksijenik olma, intestinal mukozaya adezyon, adaptasyon ve iyi kolonize olabilme, patojen mikroorganizmalara karşı antogonist etki, antimikrobiyal madde üretme ve antibiyotiklere dirençli olma, immün sistemi stimüle etme ve immün cevabı düzenleme, kullanım ve saklama sırasında özelliklerini koruyabilme ve konak sağlığına olumlu etki yapma bu kriterlerin başlıcalarıdır.<sup>72-74</sup>

### **2.3.2. Probiyotiklerin Etki Mekanizması**

Probiyotikler konak için yararlı etkilerini; patojen mikroorganizmaların sayılarını azaltmak, mikrobiyal metabolizmayı (enzimatik aktiviteyi) değiştirmek ve bağışıklık sistemini iyileştirmek-düzenlemek olarak belirlenmiş 3 mekanizma üzerinden gösterirler.<sup>73,75-77</sup>

Son yıllarda probiyotik bakteriler ve bu bakterilerin insan ve diğer canlılar üzerindeki yararlı etkilerinin araştırıldığı çalışmalar hız kazanmıştır. Yapılan çalışmalar neticesinde de probiyotiklerin doğrudan ya da dolaylı olarak sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin sayısı her geçen gün artmakta ve klinikte kullanım alanlarına bir yenisi eklenmektedir. Probiyotik adı altında sayıca fazla ve etkileri birbirinden farklı birçok tür yer aldığından hangi patojenlere ya da hastalıklara karşı hangi probiyotiklerin etkili olduğunu belirlemek adına daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir. Neredeyse çalışılan her etki suşlara özel olduğundan herhangi bir tür için tüm suşları sindirim sisteminde kolonize olur ve probiyotik etki gösterir demek mümkün değildir.<sup>78</sup> Probiyotiklerin deneysel veriler ışığında kanıtlanmış sağlık üzerindeki yararlı etkileri ve muhtemel etki mekanizmaları şunlardır (Tablo2.8, Tablo 2.9);<sup>3-5,67,73-77</sup>

**Tablo 2.8.** Probiyotiklerin yararlı etkileri ve muhtemel etki mekanizmaları

<b>Probiyotiklerin sağlık üzerine yararlı etkileri</b>	<b>Probiyotiklerin etki mekanizmaları</b>
<b>Ürogenital enfeksiyonları önleme</b>	Organik asitler (laktik asit, asetik asit vd.) ve antimikrobiyal bileşikler ( $H_2O_2$ , bakteriyosin vb.) üreterek patojen bakterilerinin gelişimini engellemek Üriner ve vajinal bölge hücrelerine bağlanmak Koagregasyon yeteneğine sahip olmak
<b>Patojen bakterilere karşı direnç</b>	Besinler ve reseptörler açısından patojen bakteriler ile rekabet etmek Bağırsak sisteminde patojenler için uygun olmayan koşulları sağlamak (pH, kısa zincirli yağ asitleri ve bakteriyosinler vb.) Çeşitli yüzey proteinleri ile patojenleri mukozal yüzeyden uzaklaştırmak Mucus üretimini artırmak Antitoksin maddeler üretmek Bağırsak florası üzerinde yararlı etki sağlamak
<b>Bağırsak sisteminin düzenlenmesi</b>	Bağırsak florasının kompozisyonunu değiştirmek Mukozal ve sistemik immün aktiviteyi artırmak Epitel hücrelerinin yaşam sürelerini artırmak Bariyer bütünlüğünü sağlamak Bağırsak bakterilerinin aşırı çoğalmasını engellemek
<b>Bağışıklık sisteminin düzenlenmesi</b>	Konağın immün yanıtını düzenlemek Sekretuar IgA salınımını artırmak B lenfosit yapımını artırmak Fagositik etkinliği artırmak Apoptoz sayısını artırmak Dendritik hücre fonksiyonunu modüle etmek IL-10, TGF- $\beta$ ve PGE2 ekspresyon ve salınımını arttırmak TNF- $\alpha$ , IL-1 ve INF- $\gamma$ ekspresyonunu azaltmak Regülatör T hücrelerini aktive etmek Natural killer hücre aktivitesini arttırmak

---

<b>Antikanserojenik etkide bulunması</b>	<p>Kolonda fizikokimyasal şartların değiştirilmesini sağlamak (zararlı bakterilerin gelişimini engellemek, fekal safra asidi seviyesini azaltmak ve kolonik kriptlerde çoğalmayı azaltmak)</p> <p>Mutajenleri bağlamak ve mutajenik bileşiklerin emilimini azaltmak</p> <p>Anti-kanserojenik ya da Anti-mutajenik bileşikler üretmek.</p> <p>Tümör oluşumunu ve gelişimini kontrol eden apoptozun uyarılmasını sağlamak</p> <p>Bağırsak bakterilerinin oluşturduğu mutajen ve kanserojen etkiye sahip (<math>\beta</math>-glukuronidaz, nitroredüktaz vb.) fekal mikrobiyal enzimlerin inhibisyonunu sağlamak</p>
<b>Bazı alerjik hastalıkların kontrolü</b>	<p>Peptitlere karşı duyarlılığı azaltmak</p> <p>Antijenik etkiye sahip maddelerin dolaşım sistemine geçişini engellemek</p>
<b>Bazı solunum yolu hastalıklarının kontrolü</b>	<p>Akciğerlerde fagositik hücre sayısı ve aktivitesini artırmak</p> <p>Akciğerlerde doğal öldürücü hücre aktivasyonunu artırmak</p> <p>Antijene duyarlı olmayan Treg hücrelerini indükleyerek alerjik hava yolu enflamasyonunu azaltmak</p>
<b>Enfeksiyöz ishallerin önlenmesi ve tedavisi</b>	<p>Rotavirus ve diğer viral kaynaklı ishallerin tedavisinde doğal florayı stabilize etmek</p> <p>Virusun mukozaya tutunumunu inhibe etmek.</p> <p>Konağın bağırsak epitelinde müsin kodlayan genlerin etkinliğini artırarak mukusun bariyer etkinliğini artırmak</p> <p>Bakteri adezyonunu artırarak viral atılımı artırmak</p> <p>Viral atılım süresini kısaltmak</p> <p>Toll-like reseptörlerini uyararak epitel hücrelerin onarılmasını sağlamak</p> <p>Tight junction bölgelerini güçlendirmek ve sitokin salınımı artırmak</p>
<b>Kolesterolün asimilasyonu</b>	<p>Safra tuzları varlığında, kolesterolü asimile edebilmek</p> <p>Kolesterolü hücre duvarına bağlamak ya da hücre zarının yapısına katmak</p> <p>Kolesterolü koprostanol'e dönüştürmek</p>
<b>Laktoz toleransı azaltma</b>	<p>Bakteriyel <math>\beta</math>- galaktosidaz enzimi ile laktozun sindirimini sağlamak</p>

---



**Tablo 2.9.** Suşların deneysel çalışmalarla kanıtlanmış etkileri

<b>Probiyotik türü/suş</b>	<b>Etki Mekanizması</b>
VSL#3	Bariyer fonksiyonlarını güçlendirir.
<i>Bifidobacterium breve</i>	Antikor teşekkülü artar.
<i>Bifidobacterium lactis</i>	Hücre aracılıklı (Fagositik aktivite ve natural killer) aktivite artar.
<i>Lactobacillus casei</i>	Dentritik hücre fenotipi ve fonksiyonu değişir.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
<i>Bifidobacterium longum</i>	Antioksidatif (oksidatif ortamda yaşamları artar),
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Linoleik asid peroksidasyonunu inhibe eder, serbest radikalleri temizlerler.
<i>Lactobacillus fermentum</i>	
<i>Escherichia coli</i> Nissle	
<i>Lactobacillus casei</i>	Patojenik suşların epitel hücrelerine tutunmasını önler.
<i>shirota</i>	
<i>Lactobacillus reuteri</i>	
<i>Enterococcus faecium</i>	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Antimikrobiyal faktör (organik asitler, hidrojen peroksit, bacteriosin luminal pH'ı düşürür.)
<i>Lactobacillus paracasei</i>	
<i>Streptococcus bovis</i>	
<i>Bifidobacterium animalis</i>	
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	
<i>Bifidobacterium infantis</i>	
<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Sitokin teşekkülü (proinflamatuarlarda artış veya azalma)
<i>Lactobacillus breve</i>	
<i>Lactobacillus casei</i>	
<i>Lactobacillus fermentum</i>	
<i>Lactobacillus reuteri</i>	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
<i>Lactobacillus salivarius</i>	
<i>Bifidobacterium lactis</i>	
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	Oral toleransın uyarılması ve devamlılığı (humoral ve sellüler yanıtları baskı altında tutarlar)
<i>Lactobacillus paracasei</i>	

VSL#3: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*

### 2.3.3. Probiyotik Kullanımı İle İlgili Riskler

Laktik asit bakterilerinin kullanımının uzun bir geçmişi olmasına rağmen, bazı diğer türlerin probiyotik olarak kullanımı ile ilgili bilimsel çalışmalar devam etmektedir. Nadir de olsa literatürde probiyotik kullanımına bağlı infeksiyonlar ve özellikle sepsis olgularına raslanmaktadır.<sup>79</sup>

Laktik asit bakterilerinin primer safra tuzlarını serbest dekonjuge ve ikincil dehidroksile safra tuzlarına çevirebilme özelliklerinden dolayı diyare ve bağırsak lezyonlarına yol açabilecekleri, hatta kanserojen etkiye sebep olabilecekleri belirtilmiştir. Ayrıca hemolitik aktivite gösteren türlerin anemiye sebep olabilmeleri risk faktörleri arasındadır.<sup>73</sup>

Probiyotik bakterilerin bağışıklık sistemini kuvvetlendirirken aşırı T helper-1 yanıtına sebep olmaları durumunda bağırsakta inflamatuvar hastalıklara sebep olabilmeleri ve bağırsak kanseri riskini artırabilmeleri mümkün olmaktadır.<sup>80</sup>

En önemli risk faktörlerinden biri de antimikrobiyal direnç genlerinin özellikle patojen mikroorganizmalar başta olmak üzere diğer türlere aktarılmasıdır. Aslında birçok laktik asit bakterisi antibiyotiklere intrensek direnç gösterir ve bu genlerin aktarılamayacağı belirtilmektedir. Fakat bazı kültürlerde plazmidlerde kodlanmış ve diğer canlılara aktarılabilir direnç genlerine rastlanmıştır. Bu özellik intrensek olması durumunda istenilen bir özellik iken, aktarılabilir olması durumunda birçok farklı gıda ürünüde kullanılabileceğinden direncin yayılmasında potansiyel kaynak olma ihtimalini doğurmaktadır.<sup>81</sup>

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Tüm Deneysel Basamaklarda Kullanılan Gereçler ve Diğer Maddeler

- Dişi Wistar albino sıçan (80 adet – ATADEM)
- Tiyopental Sodyum (0.5 gr)
- Operasyon seti (Wertheim)
- 1 ml'lik enjektör (Hayat)
- 10 ml'lik enjektör (Hayat)
- 20 ml'lik enjektör (Hayat)
- 3/0 ipek sütür (Doğsan)
- 4/0 steril sentetik emilebilir sütür (Prolene)
- EDTA'lı kan tüpleri (Vacusera)
- Mikrosantrifüj tüpleri (Eppendorf)
- Oral gavaj kanülü (Instech)
- MRS Broth (Thermo Fisher Scientific)
- Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS) (Merck)
- Probiyotik karışımı (Enzibody)
- Rat TNF- $\alpha$  ELISA Kit (Cusabio)
- Rat IL-1 $\beta$  ELISA Kit (Cusabio)
- Rat IL-10 ELISA Kit (Cusabio)
- Rat TGF- $\beta$  ELISA Kit (Elabscience)
- Mikropipet seti (Gilson)
- Vorteks (Yellow line)
- Rotator (Pelco)
- Su banyosu (Nüve)
- Steril Laminar Kabin (Nüve)
- -80 Soğutucu (Nüve)
- -20 Soğutucu (Uğur)
- Buzdolabı (Beko)
- Soğutmalı Santrifüj (Beckman Coulter)
- Otomatik ELISA Yıkayıcı (Biotek)
- Otomatik ELISA Okuyucu (Thermo Fisher Scientific)

Bu tez çalışması, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğüne bağlı Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM)'nin 19.04.2016 tarihli ve Karar no:48 sayılı etik onayı alınarak gerçekleştirildi. Çalışma sırasında, 1964 Helsinki Deklerasyonu'ndaki laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanımına dair kurallar özenle uygulandı. Bu tez çalışması aşamasında deney hayvanlarına ait uygulamalar ATADEM laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Deney hayvanları, tez çalışması boyunca sabit oda ısısı ve nem ortamında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyotlar halinde, tabanı odun talaşı ile kaplanmış standart kafeslerde, her kafeste 10 hayvan olacak şekilde yaşatıldı. Deney süresince deney hayvanları standart pellet sıçan yemi ve su ile beslendi.<sup>82</sup>

Tez çalışmamızda, 12 haftalık, ağırlıkları 220-300 gr aralığında değişen toplamda 80 adet dişi Wistar albino cinsi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar rastgele onarlı gruplar halinde 8 gruba ayrıldı (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** Tez çalışmasında kullanılan deney grupları ve her gruba ait deney hayvanı sayıları

Grup	Özellik	Sayı
Grup 1	Kontrol grubu	10
Grup 2	Sepsis grubu	10
Grup 3	21 gün $10^{10}$ cfu probiyotik uygulanan septik grup	10
Grup 4	21 gün $10^{11}$ cfu probiyotik uygulanan septik grup	10
Grup 5	21 gün $10^{10}$ cfu probiyotik uygulanan sağlıklı grup	10
Grup 6	21 gün $10^{11}$ cfu probiyotik uygulanan sağlıklı grup	10
Grup 7	Sepsis sonrası tek doz $10^{10}$ cfu probiyotik uygulanan grup	10
Grup 8	Sepsis sonrası tek doz $10^{11}$ cfu probiyotik uygulanan grup	10

### 3.2. Probiyotik Karışımı

Tez çalışmamızda deney hayvanlarına uyguladığımız probiyotik karışımı, toplamda 12 farklı canlı probiyotik bakterinin 1:1 oranında bir araya getirilmesi ile hazırlanmış özel bir preparat idi (Enzibody®, Kenz BioTech, USA). Tablo 3.2’de suş numaraları verilen 12 farklı canlı probiyotik bakteri (7 tür *Lactobacillus sp.*, 3 tür *Bifidobacterium sp.*, 1 tür *Leuconostoc sp.* ve 1 tür *Lactococcus sp.*) Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (ATCC – American Type Culture Collection)’dan temin edildikten sonra ayrı ayrı olarak MRS Broth (Thermo Fisher Scientific, A.B.D.) besiyerinde 1 gece 37°C inkübasyona bırakılarak üretildiler. MRS Broth (De Man Rogosa Sharpe) besiyerleri 15 dakika 3000 rpm’de santrifüj edilerek üreyen bakteri kolonilere dibe çöktürüldü ve besiyerinden ayrıldı. Süpernatantlar, 3 kez soğuk fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandılar ve pH=7.2 oluncaya kadar PBS içinde bekletildiler. İzole edilen tüm bakteriler, 1:1 oranında karıştırıldılar ve karışımın final konsantrasyonu  $1 \times 10^{13}$  cfu olarak ayarlandı. Deneyde kullanılan  $10^{10}$  ve  $10^{11}$  cfu/ml yapılan literatür taramaları sonucunda karar verilen dozlar olup, final konsantrasyonunun sırasıyla 1/100 ve 1/1000 oranında dilüe edilmesi ile elde edilmiştir. Hazırlanan probiyotik karışımı, deneylerde kullanılacağı güne kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir.

### 3.3. Yöntem

Grup 1’deki 10 adet deney hayvanı “kontrol” grubu olarak değerlendirilerek bu gruba deney süresi boyunca herhangi ilaç ve cerrahi uygulama yapılmamıştır. Hayvanlar düzenli olarak su ve besin tüketimi gerçekleştirmiş ve deney günü diğer hayvanlar ile beraber ötenazi edilerek kan örnekleri toplanmıştır.

Grup 2’deki 10 adet deney hayvanı “sepsis” grubu olarak değerlendirilmiş ve bu gruba çekal bağlama ve delme (CLP-Cecal Ligation and Puncture) tekniği ile intraperitoneal deneysel sepsis modellemesi uygulanmıştır. Bu gruptaki sıçanlar,

öncelikle eter ile ardından 25 mg/kg tiyopental sodyum ile anestezi altına alındılar. Sıçanların karın kısımları tıraş edilip temizlendikten sonra, ventral orta hattın 2 cm'lik insizyon açıldı. Çekum bulunarak yan duvarından 3/0 ipek sütür ile bağlama yapıldı ve 16'lık gavaj enjektör ucu ile ilioçekal valvin hemen altından çekum 2 kez perforasyon edildi. Çekum, peritoneal kavitenin içine tekrar yerleştirildi. Önce kaslar, ardından deri 4/0 steril sentetik ve emilebilir sütür ile kapatıldı. Yara bölgesi düzenli olarak steril %1'lik lidokain solüsyonu ile muamele edildi.

Grup 3 ve 4'teki 20 adet deney hayvanına farklı dozlarda ( $10^{10}$  ve  $10^{11}$  cfu/ml) probiyotik karışımı 21 gün boyunca düzenli olarak her hayvana 100 mg/kg olacak şekilde oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. 21 günlük probiyotik uygulamasını takip eden gün yukarıda detaylı şekilde anlatılan CLP sepsis modellemesi uygulanarak 20 adet sıçan sepsis modeline maruz bırakılmıştır.

Grup 5 ve Grup 6'daki 20 adet deney hayvanına farklı dozlarda ( $10^{10}$  ve  $10^{11}$  cfu/ml) probiyotik karışımı 21 gün boyunca düzenli olarak her hayvana 100 mg/kg olacak şekilde oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Bu gruptaki hayvanlar "probiyotik uygulaması gerçekleştirilen sağlıklı hayvanlar" olarak değerlendirildiğinden, herhangi bir cerrahi müdahale yapılmadan deney günü diğer hayvanlarla beraber yüksek doz anestezi verilerek ötenazi edilmiş ve kan örnekleri toplanmıştır.

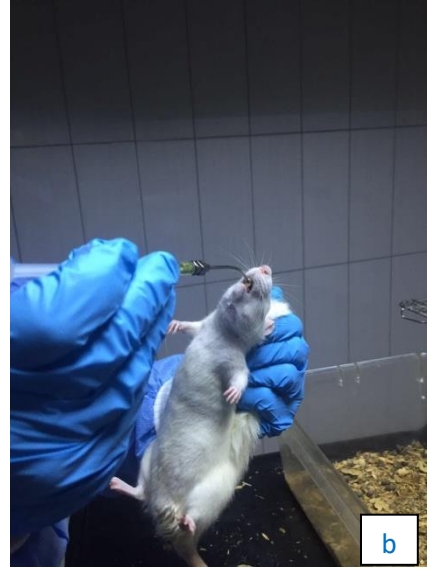
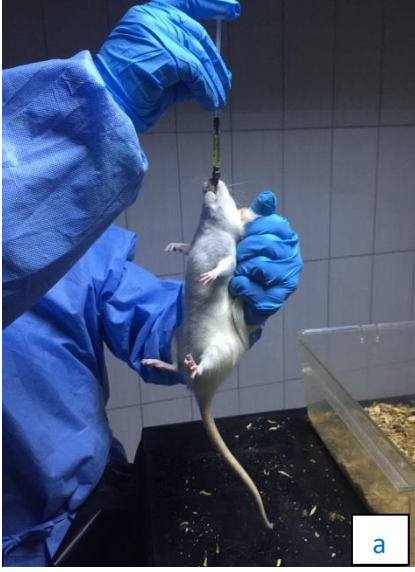
Grup 7 ve 8'deki 20 adet deney hayvanına ise probiyotik karışımının sepsis sonrası etkinliğinin olup olmadığını saptamak amacıyla, sepsis yapıldıktan sonra herhangi bir probiyotik uygulaması yapılmamıştır. Bu grupta bulunan hayvanlarda probiyotik karışımının sepsis modellemesinde "survival rate" üzerine olan etkilerinin saptanabilmesi amacıyla sepsis işleminden 6 saat sonra tek ve yüksek doz (500 mg/kg) probiyotik uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu gruptaki hayvanlara sepsis işlemi yukarıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır. Sepsis işlemlerinin tamamlanmasının

ardından sıçanlar 72 saat boyunca takip edildi. Yetmiş iki saat sonunda yüksek doz tiyopental sodyum anestezisi ile sıçanlar ötenazi edilerek, vena cava inferiordan alınan kan örnekleri EDTA içeren tüplere konuldu. Tüpler 4000 rpm’de soğutmalı santrifüj ile 10 dakika boyunca santrifüj edildi ve serum örnekleri mikrosantrifüj tüplerine alınarak deneysel çalışmaların yapılacağı güne kadar -80°C’de saklandı.

Alınan kan örneklerinden, ELISA metodu uygulanarak inflamasyon olayı ile ilişkili bazı immün parametreler ölçüldü. Pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinlerden TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-10 ve IL-1 $\beta$  seviyeleri ELISA metodu ile tespit edildi ve inflamasyon sürecine olan etkileri ortaya konulmaya çalışıldı.

**Tablo 3.2.** Çalışmamızda kullanılan probiyotik karışımı içerisinde yer alan bakteriler ve suş kodları

<b>Bakteri</b>	<b>Suş</b>
<i>Bifidobacterium infantis</i>	ATCC-15697
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	ATCC-25867
<i>Bifidobacterium longum</i>	ATCC-1570
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC-43121
<i>Lactobacillus casei</i>	ATCC-393
<i>Lactobacillus paracasei</i>	ATCC-25302
<i>Lactobacillus helveticus</i>	ATCC-15009
<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC-14917
<i>Lactobacillus bifidus</i>	ATCC-11863
<i>Lactobacillus brevis</i>	ATCC-14869
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	ATCC-8293
<i>Lactococcus lactis</i>	ATCC-19435

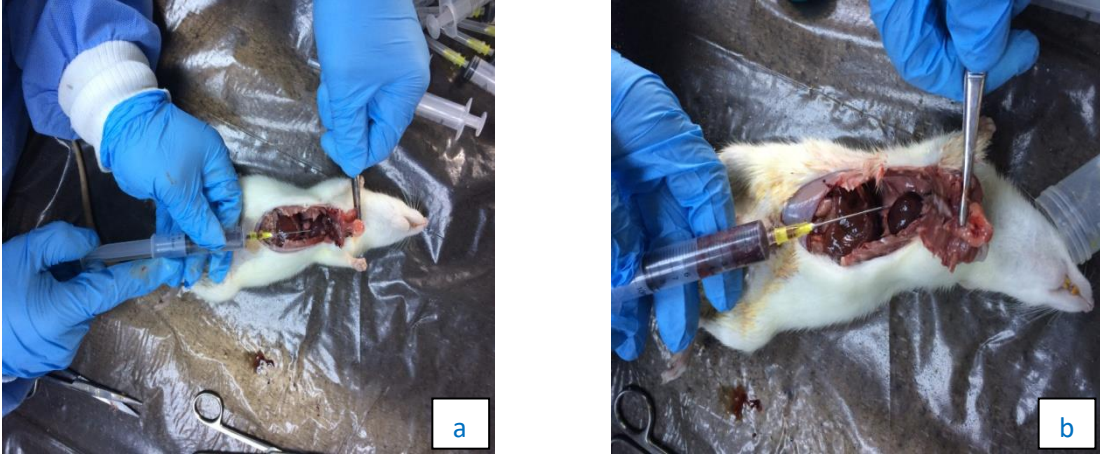


Şekil 3.1.Sıçanlara probiyotik bakteri karışımının oral gavaj yoluyla verilmesi



Şekil 3.2. Sepsis gruplarına uygulanan CLP yöntemi





**Şekil 3.3.** Ötenazi sonrası tüm gruplarda vena cava inferiordan kan alınması

### **3.4. ELISA Metodunun Uygulanması**

Deneyin yapılacağı güne kadar  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen serum örnekleri öncelikle  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ardından  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve son olarak oda ısısında bekletilerek kademeli olarak çalışmaya uygun hale getirildi.

- Serum TNF- $\alpha$  düzeyi; Rat TNF- $\alpha$  Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) kiti ile saptandı (birim değeri pg/ml) (Rat TNF- $\alpha$  ELISA Kit, Katalog Numarası: CSB-E11987r, Cusabio, A.B.D ).
- Serum IL-1 $\beta$  düzeyi; Rat IL-1 $\beta$  ELISA kiti ile saptandı (birim değeri pg/ml) (Rat IL-1 $\beta$  Immunoassay Kit, Katalog Numarası: CSB-E08055r, Cusabio, A.B.D).
- Serum IL-10 düzeyi; Rat IL-10 ELISA kiti ile saptandı (birim değeri pg/ml) (Rat IL-6 ELISA Kit, Katalog Numarası: CSB-E04595r, Cusabio, A.B.D).
- Serum TGF- $\beta$  düzeyi; Rat TGF- $\beta$  ELISA kiti ile saptandı (birim değeri pg/ml) (Rat TGF- $\beta$  ELISA Kit, Katalog Numarası: E-EL-R0084, Elabscience Biotechnology Ltd., A.B.D).



**Şekil 3.4.** Çalışmada kullanılan ELISA kitleri

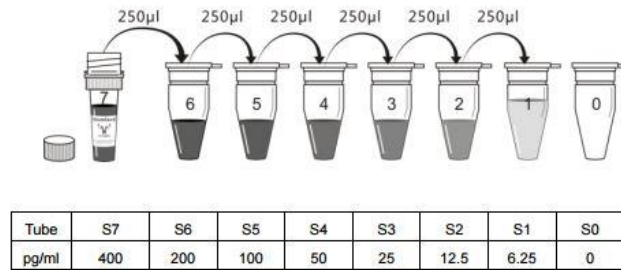
**Tablo 3.3.** ELISA kitlerine ait kutu içerikleri

<b>Reaktörler</b>	<b>Miktarlar</b>
ELISA plakası	1 adet (96 kuyucuklu)
Standartlar (Liyofilize formda)	2 adet
Biyotin antikor (100x konsantrasyonda)	1 x 120 µl
HRP-avidin (100x konsantrasyonda)	1 x 120 µl
Biyotin antikor dilüenti	1 x 15 ml
HRP-avidin dilüenti	1 x 15 ml
Örnek dilüenti	1 x 50 ml
Yıkama solüsyonu (25x konsantrasyonda)	1 x 20 ml
TMB substrat	1 x 10 ml
Stop solüsyonu	1 x 10 ml
Yapışkan strip (96 kuyucuklu plakaya uygun)	4 adet
Çalışma prosedürü	1 adet

Çalışmaya başlamadan önce örnekler en az 2 saat oda ısısında bekletildi ve çalışmaya başlamadan önce standartlar ve diğer kimyasal ajanların hazırlıkları yapıldı. Deney esnasında kullanılacak ve kutu içeriğinde yer alan (Tablo 3.3) kimyasalların hazırlanışları aşağıda detaylandırılmıştır;

- **Biyotin antikoru (1x);** 100 kat dilüe edilmesi gerekmektedir. Bu dilüsyonun yapılması için 10 µl Biyotin antikoru ve 990 µl Biyotin antikor dilüenti kullanılmıştır.
- **HRP-avidin (1x);** 100 kat dilüe edilmesi gerekmektedir. Bu dilüsyonun yapılması için 10 µl HRP-avidin ve 990 µl HRP-avidin dilüenti kullanılmıştır.
- **Yıkama Solüsyonu (1x);** Yıkama solüsyonunun hazırlanması için 20 µl Yıkama solüsyonu (25x), 500 ml deiyonize su veya distile su içerisine dilüe edilmiştir.

Yine çalışmaya başlamadan hemen önce, çalışmada kullanılacak standartların hazırlanması işlemleri gerçekleştirilmiştir. Standart örneğin yer aldığı tüp, 6000-10.000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildikten sonra 1.0 ml Standart dilüenti içerisinde çözdürülmüş ve sonuçta 400 pg/ml stok solüsyonu elde edilmiştir. S0, S1, S2, S3, S4, S5 ve S6 olarak numaralandırılan standart tüplerinin her birine 250 µl Örnek dilüenti pipetlendi ve stok solüsyondan 250 µl alınarak 2-katı dilüsyon işlemi son tüpe gelene dek gerçekleştirildi (Şekil 1). Dilüe edilmeyen standart en yüksek konsantrasyona sahip standart (400 pg/ml) olurken, sadece örnek dilüentinin içinde yer aldığı standart (S0) ise sıfır standart olarak adlandırılmaktadır.



Şekil 3.5. Çalışmada kullanılacak standartların hazırlanışını gösteren şema

## **ELISA Prosedürü**

- Tüm örnekler, kimyasallar ve standartlar hazırlandıktan sonra, 96 kuyucuklu mikrolakada yer alan standart ve örnek kuyucuklarına, standart ve örnekler sırası ile 100 µl olarak pipetlendi.
- 96 kuyucuklu mikrolakanın üzeri, yapışkan strip ile düzgün bir şekilde kaplanarak 2 saat, 37°C’de inkübasyona bırakıldı.
- Tüm kuyucuklarda yer alan standart ve örnekler, yıkama işlemi yapılmadan pipet yardımı ile uzaklaştırıldı.
- 100 µl Biotin antikoru (1x) tüm kuyucuklara eklendi ve yeni bir yapışkan strip ile mikrolaka kaplanarak 1 saat, 37°C’de inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyonun ardından tüm kuyucuklardaki sıvı çekilerek 3 kez art arda yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkama işleminde her kuyucuğa 200 µl yıkama solüsyonu pipetlendi ve 2 dakika beklenerek yıkama solüsyonu tekrar çekildi. Bu işlem otomatik olarak Biotek Automated ELISA Washer isimli (Biotek, A.B.D) yıkama cihazı ile gerçekleştirildi.
- Yıkama işlemini takiben, 100 µl HRP-avidin (1x) tüm kuyucuklara eklendi ve yeni bir yapışkan strip ile mikrolaka kaplanarak 1 saat, 37°C’de inkübasyona bırakıldı.
- Bir üst basamakta detaylandırılmış yıkama işlemi yine otomatik makine yardımıyla bu kez 5 defa olacak şekilde gerçekleştirildi.
- Yıkama işleminin ardından, 90 µl TMB substrat tüm kuyucuklara eklendi ve yeni bir yapışkan strip ile mikrolaka kaplanarak 30 dakika, 37°C’de inkübasyona bırakıldı. Işığa duyarlı bir ajan olduğundan dolayı bu işlem esnasında mikrolaka ve kimyasal ışıktan korundu.

- İnkübasyonun ardından, 50 µl Stop solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve mikrolaka hafifçe çalkalandı.
- Çalışma tamamlandıktan sonra 5 dakika içinde optik yoğunluk (OD-Optical Density) hesaplanması için mikrolaka Thermo marka ELISA Reader (Thermo Fisher Scientific, A.B.D.) kullanılarak 450 nm dalga boyunda okutma işlemleri gerçekleştirildi.
- Tüm ELISA kitleri için yukarıda detaylandırılan ELISA prosedürü uygulanmış ve elde edilen veriler ELISA Reader cihazına ait yazılım vasıtası ile kaydedilmiştir.
- Sonuçlar, absorbans değerleri üzerinden hesaplanan “sınır değeri” (cut-off) dikkate alınarak elde edilmiştir.

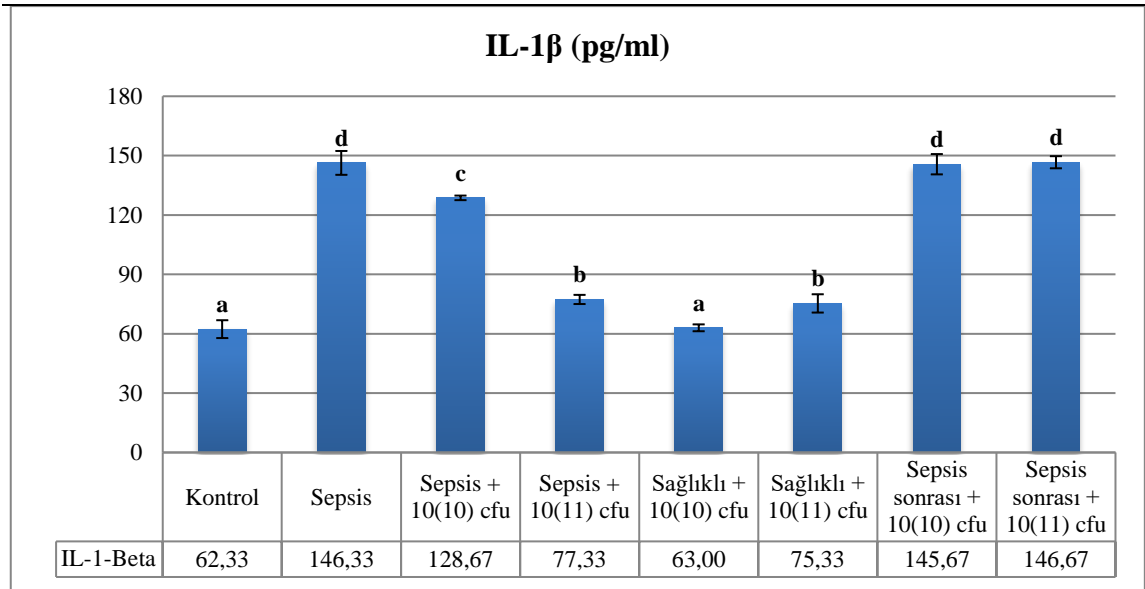
### **3.5. İstatistiksel Analizler**

Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilerek gruplar arasındaki farklılıklar tespit edilmeye çalışıldı. Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, istatistiksel analizlerin yapılabilmesi amacıyla “Statistical Package for Social Sciences” (SPSS) versiyon 20.0 (SPSS 17.0, IBM, Chicago, IL, A.B.D) programı kullanıldı. İstatistiksel analizlerde Kruskal-Wallis ve one-way ANOVA testleri kullanıldı. Sonuçlar, %95’lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Pro-İnflamatuar Sitokinlerin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tez çalışmamızda pro-inflamatuar sitokinler olarak IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyeleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar ve detaylı analizler sonucunda Şekil 4.1’de görülen tüm deney gruplarına ait IL-1 $\beta$  seviyeleri ve Şekil 4.2’de görülen tüm deney gruplarına ait TNF- $\alpha$  seviyeleri tespit edilmiştir.

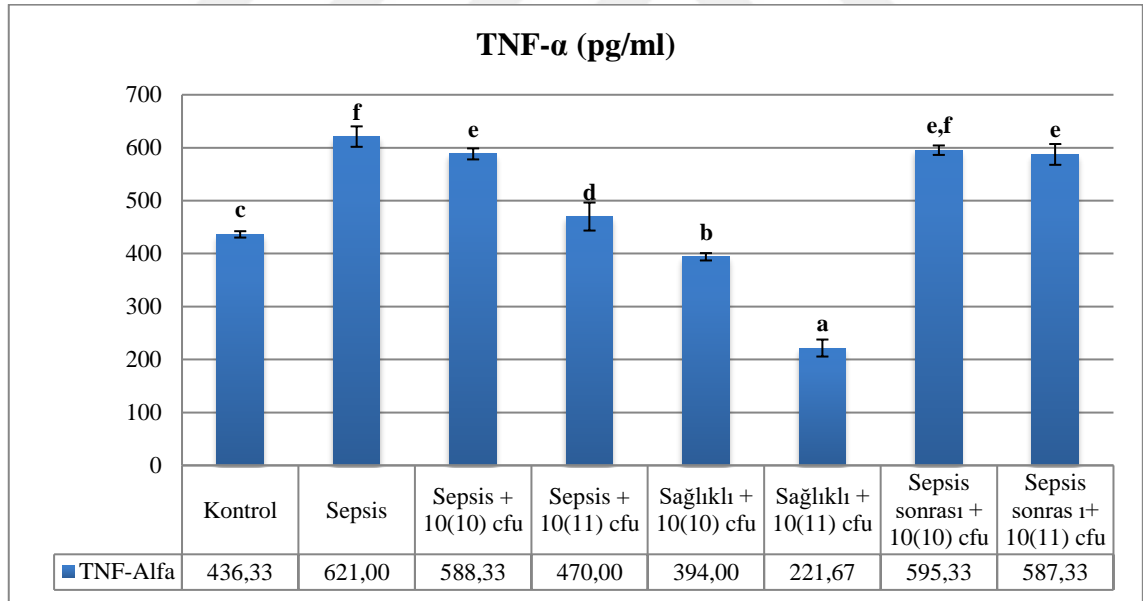


**Şekil 4.1.** Tüm deney gruplarına ait İnterlökin-1- $\beta$  seviyeleri

Bir pro-inflamatuar sitokin olan IL-1 $\beta$  seviyeleri deney grupları arasında bazı seviyelerde istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklılıklar göstermiştir. Sepsis modellemesi uygulanan grupta IL-1 $\beta$  seviyesi ciddi derecede artarken (146 pg/ml), sepsis geliştirilmeden önce 21 gün boyunca koruyucu olarak probiyotik uygulaması yapılan gruplarda ise anlamlı olarak azalmıştır ( $p < 0.05$ ). Sepsis modellemesi yapılmayan sağlıklı gruplarda ise uygulanan probiyotik dozuna bağlı farklılıklar gözlemlenmiştir.  $10^{10}$  cfu uygulanan sağlıklı gruptaki IL-1 $\beta$  seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık göstermez iken ( $p > 0.05$ ), diğer gruplarla

karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklılık gözlemlenmiştir ( $p<0.05$ ). Bunun yanı sıra, yüksek doz probiyotik uygulanan ( $10^{11}$  cfu) gruba ait IL-1 $\beta$  seviyesi ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artış göstermiştir ( $p<0.05$ ).

Deney sonuçları incelendiğinde, koruyucu nitelikte kullanılan probiyotik uygulaması kontrol grubu ve diğer gruplar arasında IL-1 $\beta$  seviyesi yönünden farklılıklar gösterirken, sepsis sonrası tek doz uygulanan probiyotik karışımı, sepsis işlemi ardından ciddi derecede yükselen IL-1 $\beta$  seviyesinde herhangi bir azalmaya sebebiyet vermemiştir ve ortaya istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde bir farklılık çıkmamıştır ( $p>0.05$ ). Herhangi bir deney modeli uygulanmaksızın yalnızca 21 gün boyunca probiyotik verilen gruplarda ise kontrol grubuna nazaran ciddi bir IL-1 $\beta$  artış ve/veya azalışı tespit edilmemiştir.



**Şekil 4.2.** Tüm deney gruplarına ait TNF- $\alpha$  seviyeleri

Tez çalışmamızda değerlendirdiğimiz diğer bir pro-inflamatuar sitokin olan TNF- $\alpha$  seviyelerine ait tüm veriler Şekil 4.2’de sunulmuştur. Sepsis modellemesi uygulanan grupta TNF- $\alpha$  seviyesi ciddi derecede artarken (621 pg/ml), koruyucu olarak

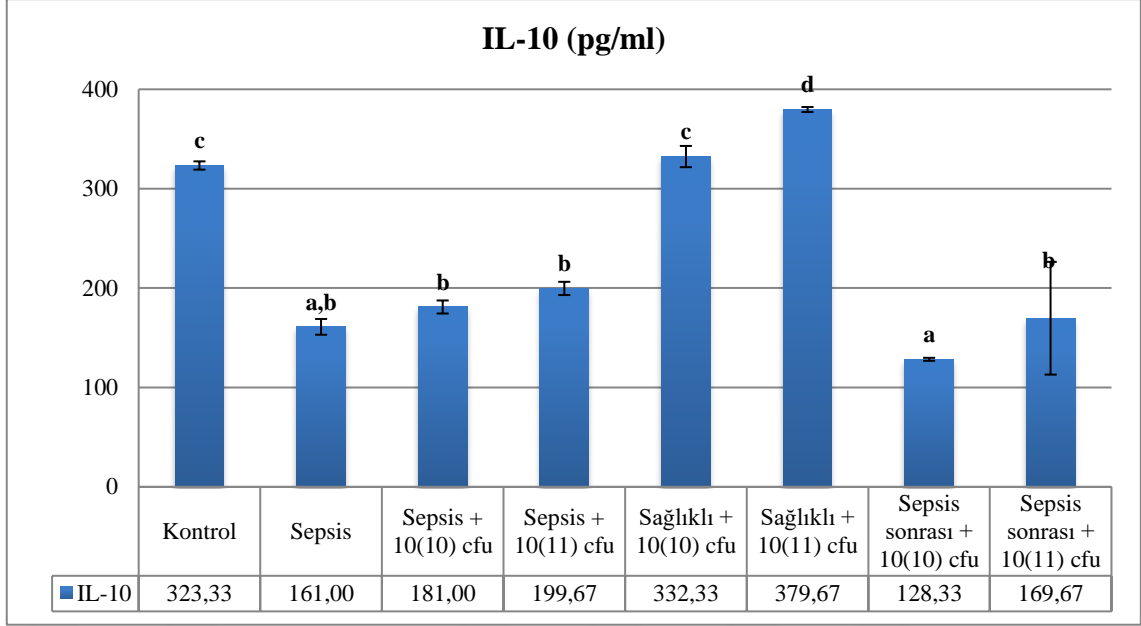
probiyotik uygulaması yapılan gruplarda ise doza bağılı olarak anlamlı bir şekilde TNF- $\alpha$  seviyesi gerilemiştir (sırasıyla 588 ve 470 pg/ml) (**p<0.05**). Sepsis modellemesi yapılmayan sağılıklı gruplarda ise uygulanan probiyotik dozuna bağılı farklılıklar gözlemlenmiştir. Probiyotik dozuna bağılı olarak sağılıklı gruptaki TNF- $\alpha$  seviyeleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ciddi derecede azaldığı tespit edilmiştir (**p<0.05**). Deney sonuçları incelendiğinde, koruyucu nitelikte kullanılan probiyotik uygulaması; kontrol grubu ve diğıer gruplar arasında TNF- $\alpha$  seviyesi yönünden farklılıklar gösterirken, sepsis işleminin ardından uygulanan probiyotik uygulaması herhangi bir değışikliğe sebep olmamıştır ( $p>0.05$ ). IL-1 $\beta$  seviyelerinde olduğı gibi, sepsis sonrası tek doz uygulanan probiyotik karışımı, sepsis işlemi ardından ciddi derecede yükselen TNF- $\alpha$  seviyesinde herhangi bir azalmaya sebebiyet verememiştir ve ortaya istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde bir farklılık çıkmamıştır ( $p>0.05$ ).

Pro-inflamatuar sitokinler olan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyeleri detaylı şekilde incelendiğinde sepsis grubunda kontrol grubuna nazaran ciddi derecede artış ve 21 gün oral probiyotik uygulanan gruplarda ise sepsis grubuna nazaran ciddi derecede azalma tespit edilmiştir. Bu durum; mevcut probiyotik karışımının inflamasyon sürecinin başlangıcında ve devamında önemli rol oynayan pro-inflamatuar sitokinlerin aşırı salınımını baskıladığı şeklinde açıklanabilir.

#### **4.2. Anti-İnflamatuar Sitokinlerin Sonuçlarının Değıerlendirilmesi**

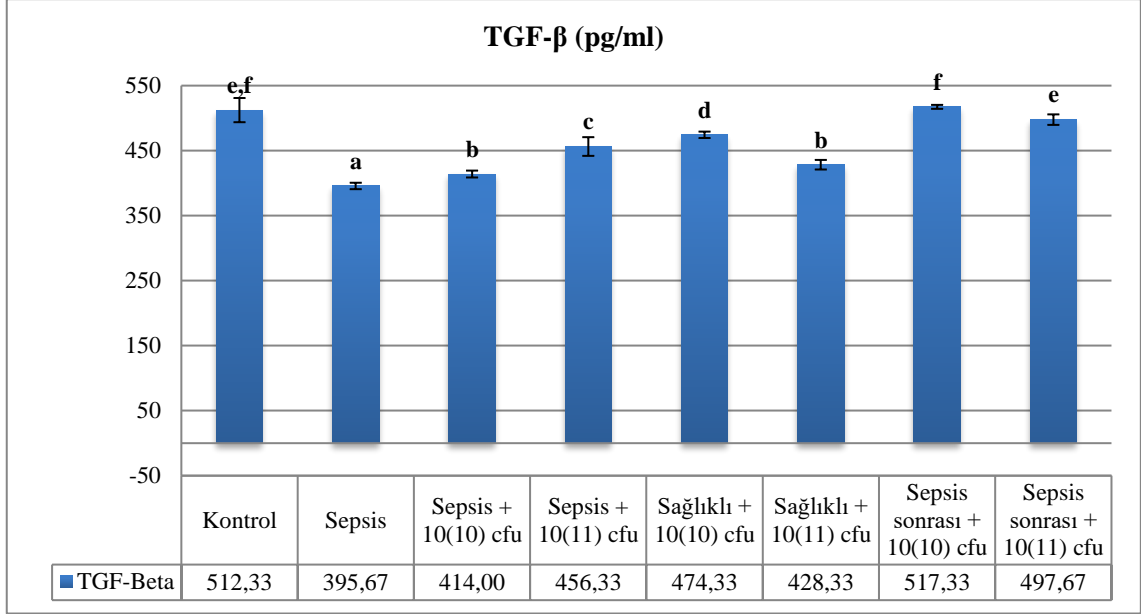
Tez çalışmamızda anti-inflamatuar sitokinler olarak IL-10 ve TGF- $\beta$  seviyeleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar ve detaylı analizler sonucunda Şekil 4.3'de görülen tüm deney gruplarına ait IL-10 seviyeleri ve Şekil 4.4'de görülen tüm deney gruplarına ait TGF- $\beta$  seviyeleri tespit edilmiştir.





**Şekil 4.3.** Tüm deney gruplarına ait IL-10 seviyeleri

Bir anti-inflamatuar sitokin olan IL-10 seviyeleri deney grupları arasında bazı seviyelerde istatistiksel açıdan anlamlı derecede farklılıklar göstermiştir. Sepsis modellemesi uygulanan grupta IL-10 seviyesi tüm gruplar arasında en düşük seviyede (161 pg/ml) tespit edilmiştir. Ancak; koruyucu olarak probiyotik uygulaması yapılan sepsisli sıçanların olduğu gruplarda anlamlı olarak IL-10 seviyesi artmıştır ( $p < 0.05$ ). Bu artış istatistiksel açıdan anlamlı olsa da, kontrol grubuna ait IL-10 seviyeleri düzeyine erişim gerçekleşmemiştir. Sepsis modellemesi yapılmayan sağlıklı gruplarda ise uygulanan probiyotik dozuna bağlı farklılıklar gözlemlenmiştir.  $10^{10}$  cfu uygulanan sağlıklı gruptaki IL-10 seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık göstermez iken ( $p > 0.05$ ), diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Deney sonuçları incelendiğinde, koruyucu nitelikte kullanılan probiyotik uygulaması kontrol grubu ve diğer gruplar arasında IL-10 seviyesi yönünden farklılıklar gösterirken, sepsis işleminin ardından uygulanan probiyotik uygulaması herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır.



**Şekil 4.4.** Tüm deney gruplarına ait TGF- $\beta$  seviyeleri

Tez çalışmamızda kullandığımız probiyotik karışımının, bir diğer anti-inflamatuar sitokin olan TGF- $\beta$  seviyeleri üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, tüm gruplara ait TGF- $\beta$  seviyeleri Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Kontrol grubuna ait TGF- $\beta$  seviyesi 512 pg/ml seviyelerinde tespit edilmiştir. Buna ilaveten, sepsis modellemesi yapılan gruba ait TGF- $\beta$  seviyelerinde ciddi derecede azalma (395 pg/ml) ortaya çıkmıştır ( $p<0.05$ ). Sepsis'in sebebiyet verdiği inflamasyon sürecinde anti-inflamatuar sitokinler üzerine etkili olabileceğini düşündüğümüz bu probiyotik karışımı doza bağlı olarak TGF- $\beta$  seviyelerinde artışa (sırasıyla 414 ve 456 pg/ml) sebebiyet vermiştir ( $p<0.05$ ). Sağlıklı sıçanlara uygulanan probiyotik karışımının TGF- $\beta$  seviyeleri üzerine olan etkileri yine Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Karışım; bu gruplarda da doza bağlı olarak TGF- $\beta$  seviyelerini kontrole göre azaltmış, ( $p<0.05$ ) sepsis grubuna göre ise artırmıştır.

Deney sonuçları incelendiğinde, koruyucu nitelikte kullanılan probiyotik uygulaması kontrol grubu ve diğer gruplar arasında TGF- $\beta$  seviyesi yönünden farklılıklar gösterirken, sepsis işleminin ardından uygulanan probiyotik uygulaması

herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır. Sepsis sonrası uygulanan bu bakteri karışımı mevcut inflamasyon sürecine herhangi bir etki edemediğinden dolayı hem yukarıda bahsi geçen pro-inflamatuar sitokinler hem de anti-inflamatuar sitokinlere etki edememiş ve bu durumda da sitokin seviyelerinin hiçbirinde bu gruplarda anlamlı değişiklikler gözlemlenmemiştir.



## 5. TARTIŞMA

Sepsis, bazı mikroorganizmaların ya da bu mikroorganizmalara ait toksik ürünlerin kan dolaşımı ile yayılması sonucu birçok hemodinamik değişikliğe yol açabilen ve organ yetmezliğine kadar gidebilen tablodan sorumlu ciddi bir infeksiyon hastalığıdır. Gelişen yoğun bakım şartlarına rağmen yüksek seyreden ölüm oranları, sepsis mekanizmasının daha ayrıntılı irdelenmesini zorunlu hale getirmiştir. Sepsis patogeneğinde temel rol oynayan sitokinler, kabaca pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar mediatörler şeklinde sınıflandırılabilirler.<sup>40,52</sup>

Sepsis patofizyolojisinde en potent mediatör olarak bilinen TNF- $\alpha$ , sepsiste en iyi incelenen pro-inflamatuar sitokin haline gelmiştir.<sup>50</sup> Ağır sepsis ve septik şok hastalarında da korele bir şekilde plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri yüksek seyretmektedir.<sup>49,50</sup> Yapılan bazı çalışmalarda böyle bir ilişki olmasına rağmen hayatta kalma süresi açısından bir ilişki olmadığı belirtilmiştir.<sup>83,84</sup> Bazı çalışmalarda ise TNF- $\alpha$  düzeylerinin hayatta kalış süresi ve mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.<sup>49,85</sup>

Sepsis ve inflamasyon olayıyla ilgili deneysel çalışmalarda sıklıkla incelenen bir diğer pro-inflamatuar sitokin IL-1'dir. Yapılan çalışmalarda TNF- $\alpha$  ile benzer etkiler gösteren IL-1'in serum düzeyleri sepsis gruplarında yüksek bulunmuştur.<sup>86-90</sup> Sepsiste TNF- $\alpha$  ve IL-1'in etkisinin bloke edilmesi sonucu, komplikasyonların önlendiği ve daha iyi sonuçlar alındığı gösterilmiştir.<sup>91</sup>

Önemli anti-inflamatuar sitokinlerden olan IL-10 ve TGF- $\beta$ 'nın yüksek konsantrasyonlarının inflamasyon prognozunu iyileştirebildiğine, düşük konsantrasyonlarının ise inflamasyon başlangıcına eşlik ettiğine dair kanıtlar mevcuttur.<sup>92,93</sup> Serumdaki artmış TNF- $\alpha$ +IL-1 $\beta$ +IL-6/IL-10 seviyeleri ise sepsis skoru ve mortalite ile korelasyon göstermektedir ve kötü prognoza işaret eder. Sepsisten ölen hastalarda bu oran, yaşayan hastalara oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir.<sup>94,95</sup>

Bir diğerk anti-inflamatuar sitokin olan TGF- $\beta$  ise IL-10'a benzer şekilde monositlerin ve makrofajların işlevlerini inhibe eder ve pro-inflamatuar sitokinlerin salınımını azaltır. Bununla birlikte, TGF- $\beta$ , IL-10'dan daha az güçlüdür ve IL-1 üretimi üzerinde çok daha az etkiye sahiptir.<sup>57,62,96</sup>

Yapılan çalışmalardan anlaşılacağı üzere sepsiste inflamatuvar mediatörlerin aşırı ve düzensiz üretimi söz konusudur ve bu inflamasyon olaylarında plazma pro-inflamatuar sitokinlerde artış ve anti-inflamatuar sitokinlerde azalma şeklinde sitokin dengesizliği (IL-1 ve TNF- $\alpha$  miktarında artış ile IL-10 miktarında azalma) görülmektedir.<sup>97</sup> Bu bilgiler ışığında biz de planladığımız ve yürüttüğümüz bu çalışmada, oluşturulan deneysel sepsis modelinde immünmodülatör etkileri bulunan probiyotiklerin, inflamatuvar yanıtta rol oynayan sitokin parametreleri üzerine olan etkisini değerlendirmeyi amaçladık ve çalışma gruplarımızda pro-inflamatuar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ , anti-inflamatuar sitokinlerden ise IL-10 ve TGF- $\beta$  bakmayı tercih ettik.

Yöntem olarak ise ilk defa Wichterman ve arkadaşları<sup>98</sup> tarafından tanımlanan; intraabdominal sepsisi en iyi taklit eden ve konağın sistemik immün yanıtının değerlendirilmesinde en uygun yöntem olan çekal bağlama ve delme işleminden oluşan deneysel model tercih ettik. Bakteri yükünün fazla olduğu çekumun, pasajını engellemeyecek şekilde bağlanıp delinerek, bir miktar gaitanın dışarı çıkmasını sağladıktan sonra bu hali ile batına geri yerleştirilmesi şeklinde yapılan çekal bağlama ve delme yöntemi günümüzde en çok kabul gören deneysel sepsis modelidir. Bu yöntem klinikte barsak perforasyonu sonucu oluşmuş mikst intestinal floranın neden olduğu inflamasyonu birebir taklit etmektedir.<sup>84,98</sup>

Sepsis ve inflamasyona yönelik günümüz tedavi yöntemlerinin çoğu belli protokoller dahilinde destek ve semptomatik yaklaşım yöntemleridir ve tıbbi küratif bir

yaklaşım bulunmamaktadır. Sepsisin birçok faktörden oluşan birbirini tetikleyen fizyopatolojik yolağında herhangi bir basamağı engelleyerek sürecin ilerlemesine müdahale edilebilir. Bu fizyopatolojik süreçlerdeki değişikliklere yönelik deneysel çalışmalar sürmektedir.<sup>99</sup>

Biz de, bu süreçlerden bir kısmına dâhil olan inflamatuvar sitokinler üzerinden, probiyotiklerin pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin parametrelerine olan etkilerini araştırmayı amaçladık.

İnsan normal florasının, gastrointestinal motiliteyi düzenleyerek ve birçok farklı immün mekanizmayla vücut fonksiyonları üzerine etkileri bulunmaktadır. Hospitalizasyon sürecinde, hem hastalıklar nedeniyle hem de kullanılan ilaçlara bağlı olarak bu kommensal florada bozulmalar meydana gelmektedir.<sup>100</sup>

Günümüzde giderek önemi artan üzerine yoğun çalışmalar yapılan probiyotik mikroorganizmalar etkilerini endojen flora ve immün sistemi direkt ya da indirekt olarak uyararak gösterirler. Probiyotiklerin etki alanlarına bakıldığında gastrointestinal sistemle ilgili yararlarının ön planda olduğu görülmekle birlikte immün sistemle ilgili tüm süreçlerde de aktif rol oynadıkları bilinmektedir.<sup>5</sup>

Güncel literatürde probiyotiklerin anti-karsinojenik, anti-alerjik, anti-mikrobiyal, anti-toksijenik, anti-oksidatif, bağışıklık sistemini düzenleyici, kolesterol düzenleyici, hipertansiyon önleyici, kan şekeri düzenleyici, kalp hastalıklarını önleyici, sindirim sistemi hastalıklarını tedavi edici etkilerini destekleyen birçok çalışma mevcuttur. Faydalı etkilerinin görülmesi ve immün sistemi düzenlemeleriyle ilgili her bir suşun kendine has etki sağlayan fonksiyonları olabileceği gibi, çoklu etki mekanizmalarında olabileceği belirtilmektedir. Probiyotikler bu mekanizmalarla mukozanın IgA ve IgM tepkisinin teşviki, lenfosit üretiminin artırılması, fagositik aktivitenin artırılması,

sitokin ve T hücre sentezinin tetiklenmesi, Th<sub>1</sub> ve Th<sub>2</sub> dengesinin düzenlenmesi gibi olaylarda rol alırlar. <sup>5,67,80,101,102</sup>

Tüm probiyotik organizmalar veya ürünler, test edilen türlerin güvenliğine sahip değildir. Bu sebeple potansiyel probiyotiklerin farklı özellikleri üzerinde çalışılmalı, süre ve kullanım dozlarıyla ilgili bilimsel çalışmalar yapılmalıdır.<sup>103</sup>

Yapılan çalışmalar bize, birbirinden çok farklı dozlarda ve sürelerde probiyotiklerin kullanıldığını göstermektedir. Probiyotik aktivitenin insanlarda anlamlı olarak ölçülebilmesi için günlük 10<sup>9</sup>-10<sup>11</sup> cfu/ml gibi yüksek yoğunlukta bakteri alımı gerektiğinden<sup>104</sup> biz de çalışmamızda sıçanları literatürle uyumlu olarak Karamiş ve ark.'ın<sup>105</sup> probiyotik bakterilerin immünmodülatör etkilerini araştırdıkları çalışmasında olduğu gibi gün 1x10<sup>10</sup> ve 1x10<sup>11</sup> cfu/ml canlı bakteri içeren probiyotik karışım ile besledik. Uzun dönem kullanım etkilerini tespit etmek için gün sayısını 21 olarak belirledik.

Hayvan modelleri ve insan klinik deneyleri, probiyotiklerin, sitokin salınımını etkilediği ve inflamasyonu azalttığını göstermektedir.<sup>106,107</sup> Probiyotik desteğinin IFN- $\gamma$  düzeyine olan etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, destek alan ve almayan gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir sonuç elde edilmese de,<sup>108</sup> probiyotiklerin IFN- $\gamma$  düzeyini önemli olarak düşürdüğünü kanıtlayan daha fazla çalışma bulunmaktadır.<sup>109-114</sup>

Literatürde probiyotiklerin IgA'yı arttırdıklarını gösteren çalışmalar mevcuttur.<sup>105</sup> Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada,<sup>115</sup> soya sütü kefir kullanımının intestinal IgA sekresyonunu artırdığı ve sarkom tümörünün büyümesini yavaşlattığı saptanmıştır. Jain ve ark.<sup>116</sup> *Lactobacillus casei* içeren hint yoğurdu verdikleri farelerde, IgA sentezinin bağırsak salgılarında arttığını bildirmişlerdir. Nonpatojen bir maya olan *Saccharomyces boulardii*'nin sıçan ince bağırsağında IgA sekresyonunu uyardığı; *Lactobacillus rhamnosus*'un intestinal mukozada IgA ve diğer immünoglobulinleri salgılayan

hücrelerin sayısını arttırdığı, lokal interferon salınımını etkilediği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.<sup>117,118</sup>

İnflamasyon sırasında genel olarak makrofajlar ve lenfositler, pro-inflamatuar sitokinlerden olan TNF- $\alpha$  ve IL-1 üretimine sebep olmaktadır. Deneysel bir modellemeyle inflamasyon-sepsis oluşturulmuş pek çok çalışmada, hasta olan grubun sağlam gruba kıyasla daha yüksek TNF- $\alpha$  ve IL-1 düzeyine sahip olduğu bildirilmiştir.<sup>119-121</sup> Bizim çalışmamızda da sepsis grubuna ait TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeylerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (p<0.05).

Literatürde probiyotik kullanımının sepsis üzerine direkt etkisinin araştırıldığı çalışma sayısı azdır. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar kritik hastalarda oral probiyotik kullanımının hastane ile ilişkili infeksiyonların insidansını ve sepsis riskini azalttığını bildirmektedir.<sup>122-127</sup>

Forestier ve ark.<sup>122</sup> 8 aylık randomize, çift kör, plasebo-kontrollü çalışmalarında hastane infeksiyonu gelişme riski olan yoğun bakım hastalarını 102 probiyotik ve 106 plasebo olarak gruplandırmışlardır. Çalışmada nazogastrik tüp yöntemiyle probiyotik desteği olarak günde iki kez 10<sup>9</sup> cfu/ml *Lactobacillus casei rhamnosus* verdikleri gruba plasebo grubu arasında *Pseudomonas aeruginosa* kolonizasyonu/enfeksiyonu gelişim riskini değerlendirmişlerdir. Gastrik aspiratlardan 3 günde bir yaptıkları kültür sonuçlarına göre, probiyotik kullanımının *Pseudomonas aeruginosa* kolonizasyonu ve infeksiyonunu anlamlı derecede azalttığı ve böylece bu bakteriye bağlı sepsis gelişimi riskinin azaldığı sonucuna varmışlardır.

Kotzampassi ve ark.<sup>123</sup> probiyotik kullanımının infeksiyon, SIRS, ağır sepsis ve mortalite üzerine olan etkilerini test ettikleri çalışmalarında 65 hastayı 35 probiyotik ve 30 plasebo olarak iki gruba ayırmışlardır. Probiyotik grubuna 15 gün boyunca 12 gram



*Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracassei*, *Lactobacillus plantarum* ( $10^{11}$  cfu/ml) ve ekstra inulin, pektin içeren ticari kapsül vermişlerdir. Çalışma sonucunda probiyotik kullanımının mekanik ventilasyonlu, ağır ve çoklu travmalı hastalarda infeksiyon, sepsis, ağır sepsis ve mortalite oranlarını anlamlı derecede düşürdüğünü rapor etmişlerdir.

Shimizu ve ark.<sup>124</sup> sinbiyotiklerin SIRS üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmada CRP değerleri 10 mg/dl üzerinde olan, SIRS tanısı almış 29 hastaya günlük 3 gram ( $10^8$  cfu/ml) *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei* ve bir prebiyotik olan galaktooligosakkarit (10 gram) vermişlerdir. SIRS tanısı almış 26 hastayı ise probiyotik almayan grup olarak belirlemişlerdir. İki grubun fekal bakteriyolojik kültürlerini karşılaştırdıklarında patojenik mikroorganizmalar açısından önemli bir fark gözlenmezken, faydalı bakterilerin destek alan grupta arttığını vurgulamışlardır. Sepsise bağlı komplikasyonları değerlendirdiklerinde ise; enterit, pnömoni ve bakteriyemi insidansının destek alan grupta anlamlı derecede azaldığını, mortalite ve MODS oranlarının ise azaldığını fakat istatistiksel açıdan yeterli olmadığını belirtmişlerdir.

Morrow ve ark.<sup>125</sup> ventilatör ilişkili pnömoni gelişimine probiyotik profilaksisinin etkisini inceledikleri çalışmalarında, mekanik ventilasyon desteğindeki 68 hastaya enteral probiyotik olarak günde iki kez  $10^9$  cfu/ml *Lactobacillus rhamnosus* ticari kapsül vermişler, plasebo kontrol grubunda ise probiyotik almayan 70 hastayı değerlendirmişlerdir. Çalışma sonunda grupları karşılaştırdıklarında probiyotik kullanımının ventilatör ilişkili pnömoni gelişme riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığını vurgulamışlar. Ayrıca probiyotik alan hastalarda *Clostridium difficile*'e bağlı diyarelerde önemli azalma olduğunu da rapor etmişlerdir.

Tan ve ark.<sup>126</sup> şiddetli beyin travmalı hastalarda probiyotik kullanımının serum Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> sitokin seviyelerine etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, probiyotik

grubuna günde  $3 \times 10^9$  cfu/ml *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* içeren probiyotik desteği vermişler. Sonuç olarak 21 günlük çalışmayı tamamlayan probiyotik desteği almış 43 hasta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CRP ve IFN- $\gamma$  seviyelerinin probiyotik alan grupta daha düşük olduğu, IL-10 ve IL-4 seviyesinin ise arttığı vurgulanmıştır. Çalışmada probiyotik desteği ayrıca yoğun bakımda kalış süresini anlamlı derecede azaltmıştır.

Machairas ve ark.<sup>127</sup> probiyotiklerin profilaktik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* ile deneysel sepsis modeli oluşturmadan önce deney gruplarından birine sadece  $3 \times 10^7$  cfu/ml *Lactobacillus plantarum*, diğer gruba ise *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii* ve *Bifidobacterium lactis* bakterilerini içeren karışımdan  $3 \times 10^7$  cfu/ml uygulamışlardır. Deney sonucunda *Lactobacillus plantarum* ile ön tedavinin önemli derecede koruyucu etki gösterdiğini, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  miktarını azaltarak IL-10 seviyelerini arttırdığını rapor etmişlerdir. Kombine probiyotik tedavisinin ise benzer şekilde, fakat daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Yukarıda incelenen çalışmaların hepsinde probiyotik desteğinin enfeksiyonların önlenmesi açısından faydalı olduğu ve bu sayede sepsis insidansında önemli azalmalar meydana geldiği ortaya konulmuştur. Bazı çalışmalarda ise probiyotik kullanımının kritik hastalardaki enfeksiyonların önlenmesi ile ilgili herhangi bir yararı olmadığı gösterilmiştir. Barraud ve ark.<sup>128</sup> yoğun bakım ünitesindeki 167 hastada yaptıkları çift kör, kontrollü randomize çalışmalarında, mekanik ventilasyon desteğindeki hastalara *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* bakterilerini içeren ticari kapsül probiyotik vermişlerdir ( $2 \times 10^{10}$  cfu/ml). 28 günlük çalışma sonunda plasebo ve kontrolle karşılaştırıldığında

probiyotik desteği alan grupta herhangi bir yan etki gelişmemiş fakat mortalite oranlarında da herhangi bir farklılık saptamamışlardır.

Jain ve arkadaşları<sup>129</sup> benzer şekilde 90 yoğun bakım hastasında yaptıkları randomize kontrollü çalışmalarında, hastalara günde iki kez *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus thermophilus* ve ek olarak bir prebiyotik olan oligofruktoz içeren ticari kapsül ( $4 \times 10^9$  cfu/ml) vermişlerdir. Bir haftalık terapinin ardından sinbiyotik desteği alan grubun nazogastrik aspiratlarında patojenik bakteri veya çoklu mikroorganizma üremelerinde önemli düşüşler gözlemlenmelerine rağmen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sepsis oranları ve mortalite açısından anlamlı bir farklılık saptayamamışlardır.

Knight ve ark.<sup>130</sup> yoğun bakımda mekanik ventilasyon desteği alan 259 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada; 130 hastaya günde iki kez *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* ( $10^{10}$  cfu/ml) ve ekstra inulin, pektin içeren ticari kapsül, diğer 129 hastaya ise plasebo uygulamışlardır. Çalışma sonucunda orofaringeal kolonizasyonun kullandıkları sinbiyotikten etkilenmediğini, gruplar arasında da ventilatör ilişkili pnömoni gelişmesi ve mortalite açısından azalmalar olduğunu, fakat anlamlı sayılabilecek bir farkın oluşmadığını belirtmişlerdir.

Probiyotiklerin inflamasyon olayında etkili olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan deneysel çalışmalarda, probiyotik desteğinin TNF- $\alpha$  ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur. Bu çalışmalarda lactobasil ve bifidobacter karışımları,<sup>113</sup> *Lactobacillus brevis*,<sup>131</sup> *Lactobacillus fermentum*<sup>132</sup> gibi suşlar kullanılmıştır. Pagnini ve ark. probiyotiklerin immün sistem üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında VSL#3 probiyotik desteği alan grubun, destek almayan gruba kıyasla daha düşük TNF- $\alpha$  düzeyine sahip olduğunu bildirmişlerdir.<sup>133</sup> Benzer şekilde Khailova ve ark.<sup>134</sup> CLP

yöntemiyle peritonit oluşturdukları ratlarda IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  düzeylerine hem serumda hemde kolon dokularında bakmışlar ve ekspresyonlarının *Lactobacillus rhamnosus* ( $1 \times 10^9$  cfu/ml) ve *Bifidobacterium longum* ( $1 \times 10^7$  cfu/ml) ile beslenen gruplarda anlamlı derecede düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Nardone ve ark.<sup>135</sup> *Lactobacillus paracasei* ile beslenen ratlarda *Enterococcus sp.* ve *Enterobacteriaceae* kolonizasyonunun azaldığını, *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacter sp.* ve *Bacterioides sp.* kolonizasyonunun ise arttığını gösterdikleri çalışmalarında, serum IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  düzeylerinin anlamlı oranda düştüğünü ve bunun sonucu olarak inflamasyonun gözle görülür derecede azaldığını ortaya koymuşlardır. Salim ve ark.<sup>136</sup> akut intestinal iskemi ve reperfüzyon hasarı oluşturdukları farelerde, sistemik inflamatuvar parametrelerden IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  serum düzeylerini ve miyeloperoksidaz aktivitesini değerlendirmişler, öncesinde probiyotik karışımı (VSL#3) verdikleri grupta bu inflamatuvar parametrelerin ve doku hasarının anlamlı düzeyde düşük olduğunu, aynı şekilde iki hafta probiyotik verilen grupta inflamatuvar parametreler ve akut intestinal iskemiye bağlı doku hasarının, üç gün probiyotik verilen gruba göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Arribas ve ark.<sup>137</sup> lipopolisakkarit ile septik şok oluşturdukları ratlarda 2 hafta süreyle  $10^8$  cfu/ml *Lactobacillus fermentum* ile besledikleri grupta pro-inflamatuvar TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerini daha düşük olarak bulmuşlardır. McCarthy ve arkadaşları<sup>138</sup> kolite meyilli IL-10 üretmeyen fareleri *Lactobacillus salivarius* ( $4-7 \times 10^9$  cfu/ml), *Bifidobacterium infantis* ( $4-7 \times 10^8$  cfu/ml) ve plasebo olmak üzere 10'arlı gruplar oluşturarak randomize etmişlerdir. Çalışmaları sonunda probiyotikle beslenen her iki grupta plaseboyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak kolitte iyileşme gözlemlenmiş ve Th<sub>1</sub> tipinde pro-inflamatuvar sitokin seviyelerinde azalma rapor etmişlerdir.

Lammers ve ark.<sup>139</sup> ileoanal anastomozu olan hastalarda yaptıkları çalışmada, probiyotik kullanımı sonucunda IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, mRNA ve polimorfonükleer

lökosit sayısında azalma tespit etmişlerdir. Menard ve ark.<sup>140</sup> pro-inflamasyonu olan hastalarda probiyotik tedavisinin IFN- $\gamma$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerini düşürdüğünü, indüklenbilir nitrik oksit sentezinde ve jelatinaz aktivitesinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Nam Su ve ark.<sup>141</sup> bebek dışkılarından izole ettikleri 22 probiyotik bakteri suşunun probiyotik ve anti-inflamatuar etkilerini test ettikleri çalışmalarında hücre kültürü metoduyla LPS ile indükledikleri makrofajlarda pro-inflamatuar sitokin seviyelerini değerlendirmişlerdir. Özellikle *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus gasseri* suşlarını 10<sup>8</sup> cfu/ml dozlarında ön tedavi olarak kullandıklarında, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  sitokin seviyelerinin sadece LPS grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Philippe ve ark.<sup>142</sup> 5'erli grup deneysel kolit oluşturdukları farelerde özellikle *Bifidobacterium lactis* ile besledikleri grubun kontrol grubuna göre daha düşük TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Habil;<sup>143</sup> LPS ile indüklenmiş monosit ve makrofajlarda *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei strain Shirota*, *Lactobacillus salivarius* ve *Lactobacillus plantarum* probiotik bakterileriyle tedavinin monosit ve makrofajardan salınan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerini düşürdüğünü belirtmiştir.

Bizim çalışmamızda da sepsis öncesi uzun dönem probiyotik karışımı verdiğimiz gruplarda doza bağımlı olarak TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerinde anlamlı düşüşler gözlenmiştir. Çalışmamızda, öncesinde 3 hafta süreyle probiyotik ile beslediğimiz, sonrasında CLP yöntemiyle sepsis oluşturduğumuz sıçanlarda serum TNF- $\alpha$  düzeylerini, kontrol ve sepsis grubuyla karşılaştırarak değerlendirdik. Sepsis modellenmesi uygulanan grupta TNF- $\alpha$  seviyesi ciddi derecede artarken (621 pg/ml), koruyucu olarak probiyotik uygulaması yapılan gruplarda ise doza bağımlı olarak anlamlı bir şekilde TNF- $\alpha$  seviyesi gerilemiştir (sırasıyla 588 ve 470 pg/ml). Sepsis

modellemesi yapılmayan sağlıklı gruplarda ise uygulanan probiyotik dozuna bağlı farklılıklar gözlemlenmiştir. Probiyotik dozuna bağlı olarak sağlıklı gruptaki TNF- $\alpha$  seviyeleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ciddi derecede azaldığı tespit edilmiştir.

IL-1 $\beta$ 'yi değerlendirdiğimizde, sepsis modellemesi uygulanan grupta IL-1 $\beta$  seviyesi ciddi derecede artarken (146 pg/ml), koruyucu olarak probiyotik uygulaması yapılan gruplarda ise anlamlı olarak gerilemiştir (sırasıyla 128 ve 77). Sepsis modellemesi yapılmayan sağlıklı gruplarda ise uygulanan probiyotik dozuna bağlı farklılıklar gözlemlenmiştir.  $10^{10}$  cfu/ml uygulanan sağlıklı gruptaki IL-1 $\beta$  seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık göstermez iken, diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, yüksek doz probiyotik uygulanan ( $10^{11}$  cfu/ml) gruba ait IL-1 $\beta$  seviyesi ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış göstermiştir.

Pro-inflamatuar sitokinler olan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyeleri detaylı şekilde incelendiğinde sepsis grubunda kontrol grubuna nazaran ciddi derecede artış ve 21 gün koruyucu probiyotik uygulanan gruplarda ise sepsis grubuna nazaran ciddi derecede azalış tespit edilmiştir. Bu durum; yapılan çalışmalar ve literatürle uyumlu olarak mevcut probiyotik karışımının inflamasyon sürecinin başlangıcında ve devamında önemli rol oynayan pro-inflamatuar sitokinlerin aşırı salınımını baskıladığı şeklinde açıklanabilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, probiyotiklerin bağırsak geçirgenliğini, salgısal IgA cevabını, sindirim sisteminin bariyer görevini, büyüme faktörü- $\beta$ , IL-10 ve IgE'nin üretimini düzenleyerek özellikle inflammatuar bağırsak hastalıklarında (IBS) ve alerji gelişiminin önlenmesinde etkili olduklarını ortaya koymuştur.<sup>105,144,145</sup>

Pro-inflamatuar sitokin salgılanmasını engelleyen anti-inflamatuar bir sitokin olan IL-10, mukozal inflamasyonu yavaşlatmaktadır.<sup>146</sup> Farelerde IL-10'un

inaktivasyonu, proinflatuar sitokinlerin üretimini artmasına neden olmaktadır.<sup>147,148</sup> Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, kolit oluşturulmuş hasta grubun, kolit oluşturulmamış sağlam gruba kıyasla daha düşük IL-10 düzeyine sahip olduğu bulunmuştur.<sup>110</sup> Yapılan pek çok çalışmada, probiyotik desteği verilen kolitli sıçanlarda IL-10 düzeyinin, verilmeyen gruba kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı yüksek değerlerde olduğu belirtilmiştir.<sup>112,149-152</sup> Yoldaş'ın;<sup>153</sup> DNBS (dinitrobenzen sülfonik asit) yöntemiyle kolit oluşturduğu fareler üzerinde yaptığı başka bir çalışmada da, VSL#3 probiyotik karışımını 10 gün süre ile 10<sup>9</sup> cfu/ml gün dozunda uygulamıştır. DNBS kolit grubu en düşük IL-10 seviyesine sahipken, probiyotik desteği alan diğer gruplarda istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar saptamamıştır. IL-10 seviyesinin probiyotik kullanımına bağlı farklılık göstermemesi durumunu, probiyotik desteği verdikleri gruplarda 10 gün süre ile yapılan desteğin yetersiz olabileceği ve daha güçlü antiinflatuar etkinin gözlenebilmesi için kullanılan probiyotik dozunun arttırılabileceği sonucuna bağlamıştır. Şenol ve ark.<sup>154</sup> kefir tedavisinin kolit üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında ratları kontrol, kefir kontrol, kolit ve kefir tedavisi alan kolit grubu olmak üzere 4 gruba ayırmışlar ve kefir alan gruba günlük 5 ml *Lactobacillus* türleri, *Leuconostoc* türleri, *Streptococcus thermophilus* ve kefir mayası içeren karışım vermişlerdir. Kefir tedavisi alan grupla diğer gruplar arasında IL-10 seviyesi açısından anlamlı bir fark saptamamış olmalarına rağmen, kefir tedavisi alan kolit grubunda TNF- $\alpha$  seviyelerinde anlamlı düşüşler gözlemlemişlerdir. Meng ve ark.<sup>155</sup> ise *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Enterococcus faecalis* suşlarından oluşan probiyotik karışımının etkisini araştırdıkları çalışmalarında ratları benzer gruplara ayırmışlar ve kolit oluşturdukları gruplarda probiyotik karışımının inflamasyon üzerine etkisini incelemişlerdir. Rat başına iki hafta süreyle günlük 2 ml probiyotik karışımı

alan gruplarda serumda ve kolon dokusunda TNF- $\alpha$  düzeylerinde anlamlı azalma ve IL-10 düzeylerinde anlamlı artış tespit etmişlerdir.

Perdigon ve ark.<sup>156</sup> *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii sp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşlarından oluşan probiyotik karışımının mukozal immün sisteme etkisinin araştırdıkları çalışmalarında farelerde IL-10 seviyesinde artma bildirmişlerdir. Benzer şekilde Karameşe ve ark.<sup>105</sup> benzer bir probiyotik karışımının immünmodulator etkilerini araştırdıkları çalışmalarında ratları kontrol, 12 gün boyunca  $10^{11}$ ,  $10^{10}$  ve  $10^9$  cfu/ml miktarlarında probiyotik alan olmak üzere dört gruba ayırmışlar ve özellikle  $10^{11}$  cfu/ml dozunda alan grup olmak üzere tüm gruplarda IL-10 seviyesinin arttığını bildirmişlerdir. Jeon ve ark.<sup>157</sup> *Lactobacillus casei* ve *Bifidobacterium breve* suşlarının T hücre gelişimi üzerine ve immün etkilerini araştırdıkları çalışmalarında fareleri üç ay boyunca belirtilen probiyotiklerle beslemişler ve özellikle *Bifidobacterium breve*'nin T hücre gelişimini ve IL-10 seviyesini arttırdığını rapor etmişlerdir.

Yapılan çalışmalar, özellikle bifidobacterium türlerinin IL-10 seviyesinde daha fazla artışa sebep olduğunu ve inflamasyonu geriletmediğini göstermektedir.<sup>158,159</sup> Mahony ve ark.<sup>159</sup> çalışmalarında 77 IBS tanılı hastayı randomize etmiş, probiyotik verilen hastaları lactobasillus ve bifidobacterium alanlar olarak 2 gruba ayırmışlardır. Çalışma sonucunda bifidobacterium alan grupta semptomların azalmasının yanısıra IL-10/IL-12 oranında da belirgin düzelme olduğunu bildirmişlerdir. Steidler ve ark.<sup>160</sup> genetik olarak IL-10 üreten probiyotikleri kullanarak anti-inflamatuar etkiyi göstermişlerdir.

Yapılan çalışmalar subkutan probiyotik uygulamasının ve probiyotik bakteri izole DNA'sının verilmesinin de kolit üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Sheil ve ark.<sup>161</sup> yaptıkları çalışmada IL-10'dan yoksun fare modelinde *Lactobacillus salivarius* subkutan verildiğinde kolit semptom ve bulgularının hafiflediğini, proinflamatuar



sitokinlerin azaldığını ve TGF- $\beta$  miktarının arttığını rapor etmişlerdir. Chen ve ark.<sup>162</sup> *Lactobasillus acidophilus* suşunun inflamasyon üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, bir fare patojeni olan *Citrobacter rodentium* bakterisini oral yolla farelere vererek inflamasyon oluşturmadan önce fareleri 2 hafta süreyle günlük  $10^9$  cfu/ml *Lactobasillus acidophilus* ile beslemişler ve çalışma sonucunda serum ve kolon TGF- $\beta$  değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda IL-10 seviyesi tüm gruplar arasında sepsis grubunda en düşük seviyede (161 pg/ml) tespit edilmiştir. Ancak; koruyucu olarak probiyotik uygulaması yapılan sepsisli sıçanların olduğu gruplarda anlamlı olarak IL-10 seviyesi artmıştır (sırasıyla 181 ve 199). Bu artış istatistiksel açıdan anlamlı olsa da, kontrol grubuna ait IL-10 seviye düzeyine (323) erişim gerçekleşmemiştir. Sepsis modellenmesi yapılmayan sağlıklı gruplarda ise uygulanan probiyotik dozuna bağlı farklılıklar gözlemlenmiştir.  $10^{10}$  cfu/ml uygulanan sağlıklı gruptaki IL-10 seviyesi (332), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık göstermez iken, diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir.  $10^{11}$  cfu probiyotik uygulanan sağlıklı gruptaki IL-10 seviyesi ise (379), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak artmıştır.

Çalışmamızda incelediğimiz bir diğer anti-inflamatuar sitokin TGF- $\beta$  kontrol grubunda 512 pg/ml seviyelerinde tespit edilmiştir. Buna ilaveten, sepsis modellenmesi yapılan gruba ait TGF- $\beta$  seviyelerinde ciddi derecede azalma (395 pg/ml) ortaya çıkmıştır. Sepsis'in sebebiyet verdiği inflamasyon sürecinde anti-inflamatuar sitokinler üzerine etkili olabileceğini düşündüğümüz probiyotik karışımı koruyucu etki beklediğimiz gruplarda doza bağlı olarak TGF- $\beta$  seviyelerinde artışa (sırasıyla 414 ve 456 pg/ml) sebebiyet vermiştir. Sağlıklı gruplarda probiyotik karışımı doza bağlı olarak

TGF- $\beta$  seviyelerini kontrole göre azaltmış (474 ve 428), sepsis grubuna göre ise artırmıştır.

Anti-inflamatuar sitokinler olan IL-10 ve TGF- $\beta$  seviyeleri detaylı şekilde incelendiğinde 21 gün probiyotik uygulanan gruplarda sitokin seviyeleri kontrol grubu seviyesine erişememiş olsa da, sepsis grubuna nazaran ciddi derecede artış tespit edilmiştir. Bu durum; literatürle uyumlu olarak mevcut probiyotik karışımının inflamasyon sürecinde önemli rol oynayan anti-inflamatuar sitokinlerin salınımını arttırdığı şeklinde açıklanabilir.

Deney sonuçları incelendiğinde, koruyucu nitelikte kullanılan probiyotik uygulaması kontrol grubu ve diğer gruplar arasında sitokin seviyeleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterirken, sepsis işleminin ardından uygulanan probiyotik uygulaması hiçbir grupta anlamlı bir etki göstermemiştir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sepsis, mikroorganizma ve konak immün yanıtı arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan mortalitesi oldukça yüksek sistemik bir inflamasyon olayıdır. Günümüzde sepsisin tedavisi büyük oranda medikal tedavidir. Ancak medikal tedavi yanında alternatif olarak, sepsiste etkinliği olabileceğini düşündüğümüz probiyotik karışımının inflamasyona olan etkisini inceledik.

Probiyotikler sağlığa yararlı etkileri gün geçtikçe kanıtlanan ve bu sebeple giderek daha fazla alanda kullanılan faydalı mikroorganizmalardır. Her ne kadar sonuçları henüz bilimsel açıdan istenilen düzeyde olmasa da, araştırmacılar, kullanımları son derece güvenli, maliyetleri de bir o kadar ucuz olan bu flora üyelerinin immün sistem üzerine olumlu etkiler sağlayabileceği konusunda hemfikirdir. Özellikle kötü prognozla ilişkilendirilmiş pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini baskılamaları ve anti-inflamatuar süreci modüle etmeleri probiyotiklerin bu alandaki en önemli etkilerindedir. Biz de çalışmamızda CLP ile sepsis modeli oluşturduğumuz sıçanların serumlarında çeşitli inflamatuvar sitokin düzeylerini değerlendirdik ve uzun dönem probiyotik uygulamasının olumlu sonuçlarını gördük. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar şöyledir;

1. Sepsis grubunda IL-1 $\beta$  seviyesi kontrol grubuna göre ciddi derecede artmıştır.
2. Deneysel sepsis oluşturmada önce 21 gün probiyotik uygulanan gruplarda IL-1 $\beta$  seviyesi sepsis grubuna göre doza bağımlı olmak üzere (özellikle 10<sup>11</sup> cfu/ml ) istatistiksel açıdan önemli derecede azalmıştır.
3. Sağlıklı gruplarda 10<sup>10</sup> cfu/ml probiyotik uygulanan sağlıklı gruptaki IL-1 $\beta$  seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık göstermemiştir.

4. Yüksek doz probiyotik uygulanan ( $10^{11}$  cfu/ml) sağlıklı gruba ait IL-1 $\beta$  seviyesi ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede artış göstermiştir.
5. Sepsis sonrası tek ve yüksek doz probiyotik uygulaması IL-1 $\beta$  sitokin seviyeleri üzerine etki edememiştir.
6. Deneysel sepsis modellemesi uygulanan grupta TNF- $\alpha$  seviyesi ciddi derecede artmıştır.
7. Sepsis öncesi 21 gün probiyotik uygulaması yapılan gruplarda TNF- $\alpha$  seviyesi, sepsis grubuyla karşılaştırıldığında ise doza bağlı olarak (özellikle  $10^{11}$  cfu/ml) anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır.
8. Probiyotik dozuna bağlı olarak sağlıklı gruptaki TNF- $\alpha$  seviyeleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ciddi derecede azaldığı tespit edilmiştir.
9. Sepsis sonrası uygulanan tek ve yüksek doz probiyotik uygulaması TNF- $\alpha$  seviyeleri üzerinde anlamlı bir etkiye sebep olmamıştır.
10. Sepsis modellemesi uygulanan grupta IL-10 seviyesi tüm gruplar arasında en düşük seviyede tespit edilmiştir.
11. Sepsis öncesi koruyucu olarak probiyotik uygulaması yapılan sepsisli sıçanların olduğu gruplarda kontrol grubu seviyesine erişim gerçekleşmese de anlamlı olarak IL-10 seviyesi artmıştır.
12. Sağlıklı gruplarda  $10^{10}$  cfu/ml probiyotik alan grubun IL-10 seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık göstermez iken diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir.

13. Sağlıklı  $10^{11}$  cfu/ml probiyotik alan grubun IL-10 seviyesi tüm gruplar arasında en yüksek ölçülmüştür.
14. Sepsis işleminin ardından yapılan probiyotik uygulaması IL-10 seviyelerinde anlamlı herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır.
15. Deneysel sepsis modellemesi yapılan gruba ait TGF- $\beta$  seviyelerinde ciddi derecede azalma belirlenmiştir.
16. Sepsis öncesi kullanılan probiyotik karışımı doza bağlı olarak TGF- $\beta$  seviyelerinde sepsis grubuna göre anlamlı derecede artışa sebep olmuştur.
17. Sağlıklı sıçanlara uygulanan probiyotik karışımının TGF- $\beta$  seviyeleri üzerine olan etkileri incelendiğinde, bu gruplarda da doza bağlı olarak TGF- $\beta$  seviyeleri kontrole göre azalmış, sepsis grubuna göre ise artmıştır.
18. Sepsis işleminin ardından yapılan probiyotik uygulaması TGF- $\beta$  seviyelerinde anlamlı herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır.

Bulgularımıza göre probiyotik kullanımı sepsis patolojisinde kötüye gidişle ilişkilendirilmiş pro-inflamatuar sitokinlerin seviyelerini azaltmış, anti-inflamatuar sitokin seviyelerini ise artırarak inflamasyon sürecine olumlu etkide bulunmuştur. Yaptığımız çalışma sonucu tüm organ ve sistemleri etkileyen, özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere tüm servislerde önemli bir mortalite sebebi olan sepsisin önlenmesinde klasik medikal tedavilere ek olarak probiyotik desteğinin kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Fakat bu konuda deney hayvanlarıyla yapılan çalışmaların yanısıra gönüllü insanlardan oluşan farklı denek gruplarıyla, kullanılan probiyotik içeriğinin standartlaştırılması ve etkilerinin tam olarak belirlenebilmesi açısından daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği görüşündeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 2002, 420:885-891.
2. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*, 2003, 348:138-150.
3. Bergonzelli GE, Blum S, Brussow H, Corthesy-Theulaz I. Probiotics as a treatment strategy for gastrointestinal diseases? *Digestion*, 2005, 72:57-68.
4. Ashraf R, Shah N.P. Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2014, 54:938-956.
5. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila- Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Jour of Biotechnology*, 2000, 84:197-215.
6. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word “sepsis”. *Intensive Care Med*, 2006, 32:2077.
7. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin*, 2009, 25:83-101.
8. Johnson GB, Brunn GJ, Samstein B, Platt JL. New insight into the pathogenesis of sepsis and the sepsis syndrome. *Surgery*, 2005, 137:393-395.
9. Majno G. The ancient riddle of sigma eta psi iota sigma (sepsis). *J Infect Dis*, 1991, 163:937-945.
10. Francoeur JR. Joseph Lister: surgeon scientist (1827–1912). *J Invest Surg*, 2000, 13:129-132.
11. Matot I, Sprung C.L. Definition of sepsis. *Int Care Med*, 2001, 27:3-9.
12. Vincent JL. Update on sepsis: pathophysiology and treatment. *Acta Clinica Belgica*, 2000, 55:79-87.

13. Kumar G, Kumar N, Taneja A, Kaleekal T, Tarima S, McGinley, et al. Nation wide trends of severe sepsis in the 21st century (2000–2007). *Chest*, 2011, 140:1223-1231.
14. Lam SM, Lau AC, Lam RP, Yan WW. Clinical management of sepsis. *Hong Kong Med J*, 2017, 23:296-305.
15. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med*, 2013, 39:165-228.
16. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 2003, 31:1250-1256.
17. Gül F, Arslantaş MK, Cinel İ, Kumar A. Changing definition of sepsis. *Turk J Anesthesiol Reanim*, 2017, 45:129-138.
18. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med*, 2008, 34:17-60.
19. Robertson CM, Coopersmith CM. The systemic inflammatory response syndrome. *Microbes infect*, 2006, 8:1382-1389.
20. National Institute of Health Consensus Development Conference. *Crit Care Med*, 1983, 11:466-469.
21. Bouch DC, Thompson JP. Severity scoring systems in the critical ill. *Continuing Education in Anaesthesia Crit Care & Pain*, 2008, 8:181-185.
22. Kalaycıoğlu N, Kaplan ME, Ünsel M. Yoğun Bakımda Prognostik Faktörler ve Skoring Sistemleri. *Yoğun Bakım Der*, 2006, 6:147-159.
23. Kılıç YA. Yoğun Bakım Skoring Sistemleri: Neden, Nasıl, Biz Neredeyiz? *Yoğun Bakım Der*, 2002, 2:26-31.

24. Hartman ME, Linde-Zwirble WT, Angus DC, Watson RS. Trends in the epidemiology of pediatric severe sepsis. *Pediatr Crit Care Med*, 2013, 14:686-693.
25. Levy MM, Artigas A, Phillips GS, et al. Outcomes of the surviving sepsis campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*, 2012, 12:919-924.
26. Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, et al. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA*, 2014, 311:1308–1316.
27. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated Sepsis. Current estimates and limitations. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193:259-272.
28. Marc Moss. Epidemioloji of sepsis: race, sex, and chronic alcohol abuse. *Clin Infect Dis*, 2005, 41:490-497.
29. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive care med*, 2002, 28:108-121.
30. Danai PA, Sinha S, Moss M, et al. Seasonal variation in the epidemiology of sepsis. *Crit Care Med*, 2007, 35:410-415.
31. Uzun O, Akalin HE, Hayran M, Unal S. Factors influencing prognosis in bacteremia due to gram-negative organisms: evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. *Clin Infect Dis*, 1992, 15(5):866-873.
32. Vardar F. Sepsis ve septik şok epidemiyolojisi ve tanımlamalar. *ANKEM Derg*, 2009, 23(Ek 2):254-257.



33. Pittet D, Li N, Woolson RF, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: a 6-year validated, population-based model. *Clin Infect Dis*, 1997, 24:1068-1078.
34. Martin MA, Silverman HJ, et al. Gram-negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Clin Infect Dis*, 1992, 14:1213-1228.
35. Franson TR, Labrecque DR, Buggy BP, et al. Serial bilirubin determinations as a prognostic marker in clinical infections. *The AJMS*, 1989, 297:149-152.
36. Paz HL, Martin AA. Sepsis in an aging population. *Crit Care Med*, 2006, 34:234-235.
37. Sawyer RG, Spengler MD, Adams RB, Pruett TL. The peritoneal environment during infection. The effect of monomicrobial and polymicrobial bacteria on pO<sub>2</sub> and pH. *Ann Surg*, 1991, 213:253-260.
38. Anane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet*, 2005, 365:63-78.
39. Kuethe JW, Midura EF, Rice TC, Caldwell CC. Peritoneal wash contents used to predict mortality in a murine sepsis model. *J Surg Res*, 2015, 199:211-219.
40. Horn DL, Morrison DC, Opal SM, et al. What are the microbial components implicated in the pathogenesis of sepsis? report on a symposium. *Clin Infect Dis*, 2000, 31:851-858.
41. Somec R, Amaglio N, Spierer, Rechavi G. Genetic predisposition to infectious pathogens: a review of less familiar variants. *The Ped Inf Dis J*, 2003, 22:457-461.
42. Karaali R, Tabak F, Sepsis patogenezi. *Klinik Gelişim Der*, 2009, 22:71-76.
43. Pugin J. Recognition of bacteria and bacterial products by host immune cells in sepsis. In: Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine, Vincent JL (Ed). Berlin, Springer-Verlag, 1996:11.

44. Medzhitov R, Janeway CJ. Innate immunity. *The New Eng Jour of Med*, 2000, 343:338-344.
45. De Gaudio AR, Rinaldi S, Chelazzi C, Borraconi T. Pathophysiology of sepsis in the elderly: clinical impact and therapeutic considerations. *Curr Drug Targets*, 2009,10:60-70.
46. Russell JA. Management of sepsis. *The New Eng Jour of Med*, 2006, 355:1699-1713.
47. Opal SM, Girard TD, Ely EW. The immunopathogenesis of sepsis in elderly patients. *Clin Infect Dis*, 2005, 41:504-512.
48. Blackwell TS. Sepsis and cytokines: current status. *Br Jour Anaesth*, 1996, 77:110-117.
49. Fijen JW, Muller Kobold AC, et al .Leukocyte activation and cytokine production during experimental human endotoxemia. *Euro J Inter Med*, 2000, 11:89-95.
50. Al-Kharfy KM, Kellum JA, Matzke G. Unintended immunomodulation: part I; Effect of common clinical conditions on cytokine biosynthesis. *Shock*, 2000, 13:333-345.
51. Güneş H. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. *Tr J of Biology*, 1999, 23:283-292 .
52. Chaudhry H, Zhou J, Zhong Y, et al. Role of cytokines as a double-edged sword in sepsis. *In Vivo*, 2013, 27:669–684.
53. Peters K, Unger RE, Brunner J, Kirkpatrick CJ. Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis. *Cardiovasc Res*, 2003, 15;60:49-57.
54. Shalaby MR, Sunday A, Loetscher MB, et al. Binding and regulation of cellular function by monoclonal antibodies against human tumor necrosis factor receptors. *J Exp Med*, 1990, 172:1517-1520.

55. Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine & Growth Factor Rev*, 2003, 14:185-191.
56. Atkins E. Pathogenesis of fever. *Physiol Rev*, 1960, 40:580-646.
57. Machado JR, Soave DF, et al. Neonatal sepsis and inflammatory mediators. *Hindawi Pub Corporation Mediators of Inf*, 2014,1:269681.
58. Palomo J, Dietrich D, Martin P, et al. The interleukin (IL)-1 cytokine family- Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. *Cytokine*, 2015, 76:25-37.
59. Shaikh P. Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation: A review. *Int J of Pharm Life Sci*, 2011, 2:1247-1263.
60. Creasey AA, Chang ACK, Fengen L, et al. Tissue factor pathway inhibitor reduces mortality from Escherichia Coli septic shock. *J Clin Invest*, 1993, 91:2850-2860.
61. Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, et al. Interleukin 1 induce a shock like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibitors. *J Clin Invest*, 1988, 81:1162-1172.
62. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 2006, 24:99-146.
63. Malago JJ, Koninkx J FJ G, Marinsek-Logar R. *Probiotic bacteria and enteric infections*. New York, Springer, 2011:1-9.
64. Parker RB. The other half of antibiotic story. *Anim Nut Health*, 1974, 29:4-8.
65. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*, 1989, 66:365-378.
66. Champagne CP, Gardner NJ. Challenges in the Addition of Probiotic Cultures to Foods. *Crit Rev in Food Sci Nutr*, 2005, 45:61-84.

67. Marco ML, Pavan S, Kleereberzem M. Towards understanding molecular modes of probiotic action. *Curr Opin Biotechnol*, 2006, 17:204-210.
68. Gültekin M. Probiyotikler. *ANKEM Derg*, 2004, 18(ek2):87-89.
69. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Jour of applied microbiol*, 2006, 100:1171-1185.
70. Vollard EJ, Clasener HAL. Colonization resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994, 38:409-414.
71. Gürsoy O, Kınık Ö, Gönen İ. Probiyotikler ve gastrointestinal sağlığa etkileri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2005, 35:136-148.
72. Desai A. Strain Identification, Viability and Probiotics Properties of *Lactobacillus casei*. PhD Thesis, Australia: Victoria University, 2008.
73. Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 82:279-289.
74. Gürsoy O, Akalın AS. Antibiyotik kullanımına bağlı diyarenin tedavisinde ve önlenmesinde probiyotikler. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2004, 34:131-134.
75. Isolauri E. The role of probiotics in paediatrics. *Current Paediatrics*, 2004, 14:104-109.
76. Singh VP, Sharma J, Babu S, et al. Role of probiotics in health and disease: a review. *J Pak Med Assoc*, 2013, 63:253-257.
77. Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, et al. Probiotic Mechanisms of Action. *Ann Nutr Metab*, 2012, 61:160-174.
78. Walker WA. Mechanisms of action of probiotics. *Clin Infect Dis*, 2008, 46:87-91.
79. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr*, 2006, 83:1256-1264.

80. Comanne D, Hughes R, Shortt C, Rowland I. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. *Mutation Research*, 2005, 591:276-289.
81. Zhou JS, Pillidge CJ, Gopal PK, Gill HS. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Int J Food Microbiol*, 2005, 98:211-217.
82. General Assembly of the World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *J Am Coll Dent*. 2014, 81:14-18.
83. Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin*, 2000, 16:193-213.
84. Ebong S, Call D, Nemzek J, et al. Immunopathologic alterations in murine models of sepsis of increasing severity. *Inf and immunity*, 1999, 67:6603-6610.
85. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, et al. Pro-versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis*, 2000, 181:176-180.
86. Zhang A, Pan W, Gao J, et al. Associations between interleukin-1 gene polymorphisms and sepsis risk: a meta-analysis. *BMC Med Genet*, 2014, 15:8.
87. Kurt AN, Aygun AD, Godekmerdan A, et al. Serum IL-1beta, IL-6, IL-8, and TNF-alpha levels in early diagnosis and management of neonatal sepsis. *Mediators Inflamm*, 2007, 31397.
88. Fida NM, Al-Mughales J, Farouq M. Interleukin-1alpha, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in children with sepsis and meningitis. *Pediatr Int*, 2006, 15:118-124.

89. Pruitt JH, Copeland EM 3rd, Moldawer LL. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism in sepsis, systemic inflammatory response syndrome, and septic shock. *Shock*, 1995, 3:235-251.
90. Opal SM, Fisher CJ Jr, Dhainaut JF, Vincent JL, et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The interleukin-1 receptor antagonist sepsis investigator group. *Crit Care Med*, 1997, 25:1115-1124.
91. Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 1999, 285:248-251.
92. Ji QW, Guo M, Zheng JS, et al. Downregulation of T helper cell type 3 in patients with acute coronary syndrome. *Arch Med Res*, 2009, 40:285-293.
93. Kilic T, Ural D, Ural E, et al. Relation between proinflammatory to anti-inflammatory cytokine ratios and long-term prognosis in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome. *Heart*, 2006, 92:1041-1046.
94. Sönmezer M, Tülek N. Bakteriyeel infeksiyonlarda ve sepsiste biyobelirteçler. *Klimik Derg*, 2015, 28:96-102.
95. Kellum JA, Kong L, Fink MP, et al. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Arch Intern Med*, 2007, 167:1655-1663.
96. Jung B, Chung J, Zhou W, Lee T, et al. Inhibitory effects of pentacyclic triterpenoids from *Astilbe rivularis* on TGFBIp-induced inflammatory responses in vitro and in vivo. *Chem Biol Interact*, 2016, 254:179-190.
97. Koca TT. Bağırsak mikroflorasının inflamatuvar hastalık patogenezindeki yeri. *Arch Med Jour Rev*, 2015, 24:78-91.

98. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock: a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res*, 1980, 29:189-201.
99. Bertsen AD, Soni N. Oh's Intensive Care Manual. In: A Raffaele De Gaudio (Ed.) *Severe Sepsis* 7th ed. London, United, Elsevier, 2014:69:716-723.
100. Coşkun T. Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağ ve Hast Derg*, 2006, 49:128-148.
101. Sharma R, Kapila R, Dass G, Kapila S. Improvement in Th1/Th2 immune homeostasis, antioxidative status and resistance to pathogenic *E. coli* on consumption of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* fermented milk in aging mice. *Age (Dordr)*, 2014, 36:9686.
102. De Vries MC, Vaughan EE, Kleerebezem M, De Vos WM. *Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *Int Dairy Jour*, 2006, 16:1018-1028.
103. Pavan S, Desreumaux P, Mercenier A. Use of mouse models to evaluate the persistence, safety, and immune modulation capacities of lactic acid bacteria. *Clin Diag Lab Immunology*, 2003, 10:696-701.
104. Nutrition Discussion Forum. Efficacy studies of probiotics: a call for guidelines. *BJN*, 1999, 82:73-75.
105. Karameşe M, Aydın H, Sengul E, et al. The immunostimulatory effect of lactic acid bacteria in a rat model. *Iran J Immunol*, 2016, 13:220-228.
106. McFarland LV. Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. *World J Gastroenterol*, 2010, 16:2202-2222.
107. Ohland CL, Macnaughton WK. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 298:807-819.

108. Zheng B, Van Bergenhenegouwen J, Van de Kant HJG, et al. Specific probiotic dietary supplementation leads to different effects during remission and relapse in murine chronic colitis. *Benef Microbes*, 2016, 7:205-213.
109. Zhao H, Huang XY, Zuo ZQ, et al. Probiotics increase T regulatory cells and reduce severity of experimental colitis in mice. *World J Gastroenterol*, 2013, 19:742-749.
110. Martin R, Chain F, Miquel S, et al. The commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* is protective in DNBS-induced chronic moderate and severe colitis models. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20:417-430.
111. Toumi R, Soufli I, Rafa H, et al. Probiotic bacteria *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* attenuate inflammation in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2014, 27:615-627.
112. Lee HS, Han SY, Bae EA, et al. Lactic acid bacteria inhibit proinflammatory cytokine expression and bacterial glycosaminoglycan degradation activity in dextran sulfate sodium-induced colitic mice. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8:574-580.
113. Roselli M, Finamore A, Nuccitelli S, et al. Prevention of TNBS-induced colitis by different *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains is associated with an expansion of gamma delta T and regulatory T cells of intestinal intraepithelial lymphocytes. *Inflamm Bowel Dis*, 2009, 15:1526-1536.
114. Mariman R, Kremer B, Van Erk M, et al. Gene expression profiling identifies mechanisms of protection to recurrent trinitrobenzene sulfonic acid colitis mediated by probiotics. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18:1424-1433.
115. Liu JR, Wang SY, Lin YY, Lin CW. Anti-tumor activity of milk kefir and soymilk kefir in tumor bearing mice. *Nutr Cancer*, 2002, 44:183-187.



116. Jain S, Yadav H, Sinha PR. Probiotic dahi containing *Lactobacillus casei* protects against *Salmonella enteritidis* infection and modulates immune response in mice. *J Med Food*, 2009, 12:576-583.
117. Buts JP, Bernasconi P, Vaermann JP, et al. Stimulation of secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci*, 1990, 35:251-256.
118. Benno Y, He F, Hosada M, et al. Effect of *Lactobacillus GG* yoghurt on human intestinal micro-ecology in Japanese subjects. *Nutr Today*, 1996, 31:9-11.
119. Mueller C. Tumour necrosis factor in mouse models of chronic intestinal inflammation. *Immunology*, 2002, 105:1-8.
120. Yan Y, Kolachala V, Dalmaso G, et al. Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis. *PLoS One*, 2009, 4:e6073.
121. Egger B, Bajaj-Elliott M, MacDonald TT, et al. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cytokine profile and dose dependency. *Digestion*, 2000, 62:240-248.
122. Forestier C, Guelon D, Cluytens V, et al. Oral probiotic and prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infections: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study in intensive care unit patients. *Crit Care*, 2008, 12:R69.
123. Kotzampassi K, Giamarellos-Bourboulis EJ, Voudouris A, et al. Benefits of a synbiotic formula (Synbiotic 2000Forte) in critically ill trauma patients: early results of a randomized controlled trial. *World J Surg*, 2006, 30:1848-1855.
124. Shimizu K, Ogura H, Goto M, et al. Synbiotics decrease the incidence of septic complications in patients with severe SIRS: a preliminary report. *Dig Dis Sci*, 2009, 54:1071-1078.

125. Morrow LE, Kollef MH, Casale TB. Probiotic prophylaxis of ventilator-associated pneumonia: a blinded, randomized, controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182:1058-1064.
126. Tan M, Zhu JC, Du J, Zhang LM, Yin HH. Effects of probiotics on serum levels of Th1/Th2 cytokine and clinical outcomes in severe traumatic brain-injured patients: a prospective randomized pilot study. *Crit Care*, 2011, 15:R290.
127. Machairas N, Pistiki A, Droggiti DI, et al. Pre-treatment with probiotics prolongs survival after experimental infection by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in rodents: An effect on sepsis-induced immunosuppression. *Int J Antimicrob Agents*, 2015, 45:376-384.
128. Barraud D, Blard C, Hein F, et al. Probiotics in the critically ill patient: a double blind, randomized, placebo-controlled trial. *Intensive Care Med*, 2010, 36:1540-1547.
129. Jain PK, McNaught CE, Anderson AD, et al. Influence of synbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* La5, *Bifidobacterium lactis* Bb 12, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomised controlled trial. *Clin Nutr*, 2004, 23:467-475.
130. Knight DJ, Gardiner D, Banks A, et al. Effect of synbiotic therapy on the incidence of ventilator associated pneumonia in critically ill patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Intensive Care Med*, 2009, 35:854-861.
131. Ueno N, Fujiya M, Segawa S, et al. Heat-killed body of *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17:2235-2250.

132. Peran L, Camuesco D, Comalada M, et al. *Lactobacillus fermentum*, a probiotic capable to release glutathione, prevents colonic inflammation in the TNBS model of rat colitis. *Int J Colorectal Dis*, 2006, 21:737-746.
133. Pagnini C, Saeed R, Bamias G, et al. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107:454-459.
134. Khailova L, Frank DN, Dominguez JA, Wischmeyer PE. Probiotic administration reduces mortality and improves intestinal epithelial homeostasis in experimental sepsis. *Anesthesiology*, 2013, 119:166-177.
135. Nardone G, Compare D, Liguori E, Di Mauro V, et al. Protective effects of *Lactobacillus paracasei* F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299:669-676.
136. Salim SY, Young PY, Lukowski CM, Madsen KL, et al. VSL#3 probiotics provide protection against acute intestinal ischaemia/reperfusion injury. *Benef Microbes*, 2013, 4:357-365.
137. Arribas B, Rodríguez-Cabezas ME, Comalada M, et al. Evaluation of the preventative effects exerted by *Lactobacillus fermentum* in an experimental model of septic shock induced in mice. *Br J Nutr*, 2009, 101:51-58.
138. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, Sheil B, et al. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance. *Gut*, 2003, 52:975-980.
139. Lammers KM, Vergopoulos A, Babel N, Gionchetti P, et al. Probiotic therapy in the prevention of pouchitis onset: decreased interleukin-1beta, interleukin-8, and interferon- gamma gene expression. *Inflamm Bowel Dis*, 2005, 11:447-454.

140. Ménard S, Candalh C, Bambou JC, et al. Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining anti-inflammatory properties after intestinal transport. *Gut*, 2004, 53:821-828.
141. Oh NS, Joung JY, Lee JY, Kim Y. Probiotic and anti-inflammatory potential of *Lactobacillus rhamnosus* 4B15 and *Lactobacillus gasseri* 4M13 isolated from infant feces. *PLoS One*, 2018, 13:e0192021.
142. Philippe D, Favre L, Foata F, Adolfsson O, et al. *Bifidobacterium lactis* attenuates onset of inflammation in a murine model of colitis. *World J Gastroenterol*, 2011, 17:459-469.
143. Habil YN. Probiotic modulation of immune responses in an *in vitro* mucosal co-culture model. School of Biomedical and Biological Sciences, Faculty of Science and Technology. Doctor of Philosophy, Baghdad, Iraq: University of Plymouth, 2013.
144. Kalliomäki M, Antoine JM, Herz U, Rijkers GT, et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: prevention and management of allergic diseases by probiotics. *J Nutr*, 2010, 140:713-721.
145. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2001, 357:1076-1079.
146. Wirtz S, Neufert C, Weigmann B, et al. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc*, 2007, 2:541-546.
147. Kuhn R, Lohler J, Rennick D, et al. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*, 1993, 75:263-274.

148. Rennick DM, Fort MM. Lessons from genetically engineered animal models. XII. IL-10-deficient (IL-10(-/-) mice and intestinal inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000, 278:829-833.
149. Foligne B, Nutten S, Grangette C, et al. Correlation between in vitro and in vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. *World J Gastroenterol*, 2007, 13:236-243.
150. Dotan I, Rachmilewitz D. Probiotics in inflammatory bowel disease: possible mechanisms of action. *Curr Opin Gastroenterol*, 2005, 21:426-430.
151. Marcinkiewicz J, Ciszek M, Bobek M, et al. Differential inflammatory mediator response in vitro from murine macrophages to lactobacilli and pathogenic intestinal bacteria. *Int J Exp Pathol*, 2007, 88:155-164.
152. Philippe D, Heupel E, Blum-Sperisen S, et al. Treatment with *Bifidobacterium bifidum* 17 partially protects mice from Th1-driven inflammation in a chemically induced model of colitis. *Int J Food Microbiol*, 2011, 149:45-49.
153. Yoldaş H. Deneysel Kolit Modelinde Probiyotik Ve Omega-3 Yağ Asitlerinin İnflamatuar Yanıta Etkileri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme Ve Diyetetik Anabilim Dalı. Doktora tezi, Ankara: Başkent Üniversitesi, 2016.
154. Senol A, Isler M, Sutcu R, Akin M, et al. Kefir treatment ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *World J Gastroenterol*, 2015, 21:13020-13029.
155. Meng WY, Qing ZY, Bing X, Luo Jun L. Treating TNBS-Induced colitis in rats with probiotics. *Turk J Gastroenterol*, 2011, 22:486-493.
156. Perdigon G, Maldonado Galdeano C, Valdez JC, Medici M. Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system. *Eur J Clin Nutr*, 2002, 56:21-26.

157. Jeon SG, Kayama H, Ueda Y, Takahashi T, et al. Probiotic *Bifidobacterium breve* induces IL-10-producing Tr1 cells in the colon. *PLoS Pathog*, 2012, 8:e1002714.
158. Helwig U, Lammers KM, Rizzello F, et al. Lactobacilli, bifidobacteria and *E. coli* nissle induce pro- and anti-inflammatory cytokines in peripheral blood mononuclear cells. *World J Gastroenterol*, 2006, 12:5978-5986.
159. O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, et al. Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology*, 2005, 128:541-551.
160. Steidler L, Hans W, Schotte L, Neiryneck S, et al. Treatment of Murine Colitis by *Lactococcus lactis* Secreting Interleukin-10. *Science*, 2000, 289:1352-1355
161. Sheil B, McCarthy J, O'Mahony L, et al. Is the mucosal route of administration essential for probiotic function? Subcutaneous administration is associated with attenuation of murine colitis and arthritis. *Gut*, 2004, 53:694-700.
162. Chen CC, Louie S, Shi HN, Walker WA. Preinoculation with the probiotic *Lactobacillus acidophilus* early in life effectively inhibits murine *Citrobacter rodentium* colitis. *Pediatr Res*, 2005, 58:1185-1191.

## EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı : Sabiha AYDOĞDU Doğum tarihi : 31.08.1986 Doğum yeri : Ankara Medeni hali : Evli, 1 çocuk Uyruğu : T.C. Adres : Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel : 0442 231 6709 Faks : 0449 231 6709 E-mail : sabiha_sens@hotmail.com</p>
Eğitim
<p>Lise : Çorum Anadolu Lisesi (2000) Lisans : Atatürk Üniversitesi KKEF Biyoloji (2004-2009) Yüksek lisans : Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2009-2012) Doktora : Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2012-2018)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce : İyi derecede (YDS 70, YÖKDİL 73,750) Almanca : ..... Rusça : .....</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
<p>..... .....</p>
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>..... .....</p>

## EK-2. ETİK KURUL ONAYI



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1600096361  
Konu : HADYEK Kararı.

20.04.2016

### TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 18.03.2016 tarihli ve 42190979-300-E.1600067162 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 19.04.2016 tarih ve 2 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 48 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 19.04.2016

Toplantı Sayısı : 2

**KARAR N0 48:** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ülkü ALTOPARLAK'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında ve Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Deneysel Sepsis Geliştirilen Sıçanlarda Uzun Dönem Probiyotik Bakteri Karışımı Uygulamasının Bazı Sitokin Parametreleri Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 18.03.2016 tarih ve 42190979-300-E.1600067162 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Devriş ÖZDEMİR  
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum  
Tel: +90 442 2317222  
Elektronik Ađ: <http://www.ataturk.edu.tr/birim/veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: [ataun@hs01.kep.tr](mailto:ataun@hs01.kep.tr)

Bölge: Mehmet KOCA  
Faks: +90 442 2317244  
E-Posta: [vet@hs01.ataturk.edu.tr](mailto:vet@hs01.ataturk.edu.tr)





**"2016.14.2/g" ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARLARI OTURUM TARİHİ: 26.04.2016**

2/g-Enstitümüz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Sabiha AYDOĞDU'nun tez konusu başlığının değiştirilmesine ilişkin Anabilim Dalı Başkanlığının tarih 25.04.2016 ve E.1600100334 sayılı yazısı görüşüldü.

Sabiha AYDOĞDU'nun tez konusuna ilişkin tez başvuru formu, tez öneri formu ve etik kurul raporu dikkate alınarak Anabilim Dalı Başkanlığınca teklif edildiği şekli ile "**DeneySEL Sepsis Geliştirilen Sıçanlarda Uzun Dönem Probiyotik Bakteri Karışımı Uygulamasının Bazı Stokin Parametreleri Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması**" olarak belirlenmesine, kararın öğrenciye ve Anabilim Dalı Başkanlığına bildirilmesine mevcudun oy birliğiyle karar verildi.

Müdür  
Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

Müdür Yrd.  
Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM

Müdür Yrd.  
Doç. Dr. Reva BALCI AKPINAR

Üye  
Prof. Dr. Mehtap TAN

Üye  
Prof. Dr. Hayati Murat AKGÜL

Üye  
Doç. Dr. Meltem ÇETİN  
(Katılmadı)

Hilmi DIYARBAKIR  
Enstitü Sekreteri (Raportör)