

**DENEYSEL SEPSİS OLUŞTURULAN SIÇANLARDA  
ANTİBİYOTİK, KORTİKOSTEROİD VE VİTAMİN K  
KULLANIMLARININ İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER,  
HEMATOLOJİK PARAMETRELER VE YAŞAM  
SÜRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**SEÇKİN ÖZKANLAR**

**Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı  
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Fatih AKÇAY**

**Doktora Tezi - 2011**

TC  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı

DENEYSEL SEPSİS OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ANTİBİYOTİK,  
KORTİKOSTEROİD VE VİTAMİN K KULLANIMLARININ İNFLAMATUAR  
BELİRTEÇLER, HEMATOLOJİK PARAMETRELER VE YAŞAM SÜRELERİ  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SEÇKİN ÖZKANLAR

Tez Yöneticisi:

Prof. Dr. Fatih AKÇAY

Doktora Tezi

ERZURUM-2011

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı  
Doktora Programı

DENEYSEL SEPSİS OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ANTİBİYOTİK,  
KORTİKOSTEROİD VE VİTAMİN K KULLANIMLARININ İNFLAMATUAR  
BELİRTEÇLER, HEMATOLOJİK PARAMETRELER VE YAŞAM SÜRELERİ  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SEÇKİN ÖZKANLAR

Tez Savunma Tarihi : 08.07.2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fatih AKÇAY

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Kamil SEYREK

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Abdulkadir YILDIRIM

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Mesut B. HALICI

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Özgür KAYNAR

Prof. Dr. İsmail Ceylan  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>III</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>V</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b>	<b>VI</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>VII</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>VIII</b>
<b>ÖZET</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>X</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Tarihsel Gelişim	3
2.2. Sepsisle İlgili Tanımlamalar	3
2.3. Sepsis'in Etiyolojisi	5
2.4. Sepsisin Patofizyolojisi	6
2.5. Sepsis Medyatörleri ve Etkileri	11
2.5.1. Sitokinlerin Tarihsel Gelişimi	11
2.5.1.1. Sitokinlerin Biyokimyası	11
2.5.1.2. Sitokin Reseptörleri	13
2.5.1.3. Sepsis ve Sitokinler	15
2.5.1.4. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)	16
2.5.1.5. İnterlökin-1 (IL-1)	18
2.5.1.6. İnterlökin-6 (IL-6)	19
2.6. Akut Faz Proteinleri	20
2.6.1. C-Reaktif Protein	21
2.7. Kan Hücreleri	22
2.8. Kan Gazları ve Elektrolitler	23
2.9. Koagülasyon Testleri	24
2.10. Sepsiste Tedavi	25
2.10.1. Sepsiste Antibiyotik Kullanımı	25
2.10.2. Sepsiste Steroid Kullanımı	26
2.10.3. Sepsiste Vitamin K Kullanımı	26
2.10.4. Sepsiste Diğer Tedaviler	28
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b>	<b>30</b>
3.1. Deney Hayvanları	30
3.2. Deney Grupları	30
3.3. Cerrahi İşlemler ve Deney Protokolü	31
3.4. Numunelerin Toplanması	33
3.5. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	34
3.6. Analitlerin Tayin Yöntemleri	34
3.6.1. Serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve C-Reaktif Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	34
3.6.2. Kan Sayımı	35
3.6.3. Kan Gazları ve Elektrolitler	35
3.6.4. Koagülasyon Testleri	35
3.6.5. Mikroorganizma Kültürü ve İzolasyonu	36
3.7. İstatistik Analiz	36
<b>4. BULGULAR</b>	<b>37</b>

4.1. Sitokinler ve C-Reaktif Protein	37
4.2. Kan Sayımı	41
4.3. Koagülasyon Testleri	49
4.4. Kan Gazları ve Elektrolitler	53
4.5. Yaşam Süreleri ve Hayatta Kalma Oranları	62
4.6. Kan Kültürlerinde İzole Edilen Mikroorganizmalar	65
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>67</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b>	<b>77</b>

**TEŞEKKÜR**

Doktora eğitim ve öğretimim süresince, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tez çalışmamın her aşamasında büyük destek gördüğüm tez danışmanım çok değerli hocam Prof. Dr. Fatih Akçay'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Zekai Halıcı, Doç. Dr. Abdulkadir Yıldırım, Doç. Dr. Hamidullah Uyanık, Yrd. Doç. Dr. B. Mesut Halıcı, Yrd. Doç. Dr. Özgür Kaynar, Araş. Gör. H. Serkan Erol, Araş. Gör. Adem Kara, Araş. Gör. Nezahat Kurt, Araş. Gör. Elif Polat, Araş. Gör. Betül Özgeriş'e teşekkür ederim.

İlk doktora danışmanım rahmetli Prof. Dr. Leyla Yıldız'a ve doktora eğitimim boyunca değerli bilgilerinden yararlandığım Tıp Fakültesi Biyokimya Anabim Dalı'nda görevli hocalarıma teşekkür ederim.

Doktora süresince ve özellikle tez döneminde her zaman yanımda olan desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Doç. Dr. Yunusemre Özkanlar'a ve tüm eğitimimim süresince desteklerini hep içimde hissettiğim aileme sonsuz teşekkürler.

*Canım biricik kızım...İpeğime*

**KISALTMALAR****KAVRAM**

Sistemik inflamatuvar cevap sendromu  
 Çoklu organ fonksiyon bozukluğu  
 Patern tanıyan reseptör  
 Toll-like reseptör  
 Sitozolik nükleer faktör  $\kappa$ B  
 Tümör nekrozis faktör  
 Tümör nekrozis faktör alfa  
 İnterlökin  
 İnterlökin 1 beta  
 İnterlökin 6  
 Doku faktörü  
 Akut faz proteinleri  
 C-reaktif protein  
 Çekal ligasyon delme  
 Dissemine intravasküler koagülasyon  
 Protrombin zamanı  
 Aktiflenmiş pıhtılaşma süresi  
 Aktiflenmiş protrombin zamanı  
 Uluslar arası normalleştirilmiş oran  
 Total lökosit  
 Lenfosit  
 Nötrofil  
 Monosit  
 Eozinofil  
 Bazofil  
 Eritrosit  
 Hematokrit  
 Ortalama eritrosit hacmi  
 Hemoglobin  
 Ortalama eritrosit hemoglobin miktarı  
 Ortalama eritrosit, hemoglobin konsantrasyonu  
 Trombosit  
 Parsiyel oksijen basıncı  
 arsiyel karbondioksit zamanı  
 Bikarbonat iyonu  
 Anyon gap  
 Baz açığı

**KISALTMA**

SIRS  
 MODS  
 PRR  
 TLR  
 NF- $\kappa$ B  
 TNF  
 TNF- $\alpha$   
 IL  
 IL-1 $\beta$   
 IL-6  
 DF  
 AFP  
 CRP  
 CLP  
 DİK  
 PT  
 ACT  
 aPTT  
 INR  
 WBC  
 LYM  
 NEU  
 MON  
 EOS  
 BAS  
 RBC  
 HCT  
 MCV  
 HGB  
 MCH  
 MCHC  
 PLT  
 pO<sub>2</sub>  
 pCO<sub>2</sub> P  
 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
 AnGap  
 BE



**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<b>Şekil</b>	<b>İçerik</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.	SIRS, sepsis ve enfeksiyon arasındaki ilişki.	4
Şekil 2.	Sepsisin patofizyolojisi.	7
Şekil 3.	Sitokin reseptörlerinde sinyal iletimi.	14
Şekil 4.	Gruplardaki ortalama serum TNF- $\alpha$ seviyeleri.	38
Şekil 5.	Gruplardaki ortalama serum IL-1 $\beta$ seviyeleri.	38
Şekil 6.	Gruplardaki ortalama serum IL-6 seviyeleri.	39
Şekil 7.	Gruplardaki ortalama serum CRP seviyeleri.	39
Şekil 8.	Gruplardaki ortalama lökosit sayıları.	42
Şekil 9.	Gruplardaki ortalama eritrosit sayıları.	43
Şekil 10.	Gruplardaki ortalama hematokrit yüzdeleri.	43
Şekil 11.	Gruplardaki ortalama MCV miktarları.	44
Şekil 12.	Gruplardaki ortalama hemoglobin değerleri.	45
Şekil 13.	Gruplardaki ortalama MCH değerleri.	45
Şekil 14.	Gruplardaki ortalama trombosit sayıları.	46
Şekil 15.	Gruplardaki ortalama PT süreleri.	50
Şekil 16.	Gruplardaki ortalama INR değerleri.	50
Şekil 17.	Gruplardaki ortalama aPPT süreleri.	51
Şekil 18.	Gruplardaki ortalama ACT süreleri.	51
Şekil 19.	Gruplardaki ortalama kan pH'ları.	53
Şekil 20.	Gruplardaki ortalama pCO <sub>2</sub> basınçları.	54
Şekil 21.	Gruplardaki ortalama pO <sub>2</sub> basınçları.	54
Şekil 22.	Gruplardaki ortalama HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> miktarları.	56
Şekil 23.	Gruplardaki ortalama AnGap miktarları.	56
Şekil 24.	Gruplardaki ortalama BE miktarları.	57
Şekil 25.	Gruplardaki ortalama Na <sup>++</sup> miktarları.	59
Şekil 26.	Gruplardaki ortalama K <sup>+</sup> miktarları.	60
Şekil 27.	Gruplardaki ortalama Cl <sup>-</sup> miktarları.	60
Şekil 28.	Gruplardaki ölen hayvanların sepsis oluşturulduktan sonraki yaşam süreleri.	63
Şekil 29.	Gruplardaki hayvanların hayatta kalma oranları.	64
Şekil 30.	Gruplardaki hayvanların hayatta kalma oranlarının yaşam süreleri ile ilişkisi.	64

**TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo</b>	<b>İçerik</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b>	Septik şokta belirlenen patojenlerin görülme oranları.	6
<b>Tablo 2.</b>	Sitokinlerin etki şekline göre sınıflandırılması.	15
<b>Tablo 3.</b>	Akut yangısal hastalıklarda belirlenebilen akut faz proteinleri.	20
<b>Tablo 4.</b>	Deney gruplarının oluşturulması.	31
<b>Tablo 5.</b>	Kullanılan Alet ve Cihazlar.	34
<b>Tablo 6.</b>	Gruplardaki ortalama TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve CRP değerleri.	40
<b>Tablo 7.</b>	Gruplardaki ortalama lökosit değerleri.	47
<b>Tablo 8.</b>	Gruplardaki (n=6) ortalama eritrosit, hemoglobin ve trombosit değerleri.	48
<b>Tablo 9.</b>	Gruplardaki ortalama koagülasyon testleri sonuçları.	52
<b>Tablo 10.</b>	Gruplardaki ortalama kan gazları parametreleri.	58
<b>Tablo 11.</b>	Gruplardaki ortalama elektrolit parametreleri.	61
<b>Tablo 12.</b>	Gruplardaki ölen hayvanların ölüm saatlerinin ortalamaları.	62
<b>Tablo 13.</b>	Gruplardaki hayvanların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizma türleri ve sayıları.	66

## **ÖZGEÇMİŞ**

Trabzon'da 1980 yılında doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Trabzon'da tamamladı. Üniversite eğitimini 2000-2005 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesinde tamamladı. 2006 yılında Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda doktora programına başladı. 2006-2007 eğitim-öğretim döneminde 1 yıl İngilizce hazırlık okudu. Evli, bir çocuk annesidir.

**ÖZET****DENEYSEL SEPSİS OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ANTİBİYOTİK, KORTİKOSTEROİD VE VİTAMİN K KULLANIMLARININ İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER, HEMATOLOJİK PARAMETRELER VE YAŞAM SÜRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bu çalışmada, çekal-ligasyon-delme (CLP) yöntemiyle sepsis oluşturulan sıçanlarda imipenem, metilprednizolon ve vitamin K kullanımlarının TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, hemogram, koagülasyon testleri, kan gazları ve yaşam süreleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Her grupta 12 sıçan olmak üzere 7 grup oluşturuldu. Sadece operasyon yapılanlar Sham grubunu ve sepsis oluşturulanlar ise CLP grubunu oluşturdu. Diğer gruplardaki hayvanlara CLP yöntemi ile sepsis oluşturulduktan sonra imipenem (AB grubu), metil prednizolon (MP grubu), vitamin K (VK grubu), imipenem+metil prednizolon (AB+MP grubu) ve imipenem+vitamin K (AB+VK grubu) uygulamaları yapıldı. Her gruptan 6'şar hayvan 16. saatte sakrifiye edildi ve kan örnekleri alınarak analizler gerçekleştirildi. Kalan 6'şar hayvana 3 gün süresince ilaç uygulamalarına devam edildi ve yaşam süreleri kaydedildi. Serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinde en fazla artış CLP ve AB+VK gruplarında görülürken, AB+MP grubunda önemli artış kaydedilmedi. Sepsisli tüm gruplarda lenfopeni oluştu ve en şiddetli trombositopeni CLP ve MP gruplarında belirlendi. Sitokin seviyelerindeki artış, lenfopeni, trombositopeni, koagülasyon sürelerinde uzama, asidozis ve bikarbonat açığının hayvanlarda nötrofili, hiperoksemi ve hipokapni gibi kompenzatuvar mekanizmalar ile telafi edilmeye çalışıldığı görüldü. CLP, MP ve VK gruplarında hiç hayvan hayatta kalmazken, AB'de % 66,7, AB+MP'de % 66,7 ve AB+VK'de 33,3'ü yaşadı. AB grubunda ölüm saati  $20 \pm 4$  ve AB+MP grubunda ise  $31 \pm 8$ 'di. Sonuç olarak, sepsiste inflamasyon, immunsupresyon, koagülopati ve dolaşım yetmezliği gibi ölüme neden olan önemli pato-fizyolojik olayların şekillendiği anlaşıldı. İmipenem uygulamasının hayat kurtarıcı olduğu ve vücudun inflamatuvar cevabına yönelik düşük dozda metilprednizolon ilavesinin de yaşam sürelerini uzattığı belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Sepsis, sitokin, imipenem, metilprednizolon.

**ABSTRACT****INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ANTIBIOTIC, CORTICOSTEROID AND VITAMIN K ADMINISTRATIONS ON INFLAMMATORY MARKERS, HEMATOLOGIC PARAMETERS AND SURVIVAL TIMES IN EXPERIMENTAL SEPSIS IN RATS**

In this study, the effects of imipenem, methylprednisolone, and vitamin K administrations have been aimed to investigate on TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, hemogram, coagulation tests, blood gases and surviving time in septic rats induced by cecal-ligation-puncture (CLP) technique. 7 groups were formed including 12 rats each. The Sham group was constituted from the operated ones only and the CLP group was constituted from sepsis induced ones. To the animals in the other groups, after inducing the sepsis by CLP technique, imipenem (AB group), metil prednizolon (MP group), vitamin K (VK group), imipenem+methylprednisolone (AB+MP group) and imipenem+vitamin K (AB+VK group) have been administrated. Six animals from each group were sacrificed on the 16<sup>th</sup> hour and the analyses were accomplished taking blood samples. Drug administrations were continued for 3 days in the remaining 6 animals and surviving times were recorded. The highest increases in serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 levels were observed in CLP and AB+VK groups and no important increase in the AB+MP group was recorded. Lymphopenia was formed in all sepsis groups and the most severe thrombocytopenia was detected in CLP and MP groups. The increase in cytokine levels, lymphopenia, thrombocytopenia, prolongation of cogulation times, asidosis and bicarbonate excess have been trying to be compensated by the mechanisms such as neutrophilia, hyperoxemia and hypocapnia. No animals survived in CLP, MP and VK groups while 66.7 % of the animals in AB, 66.7 % in AB+MP and 33.3 % in AB+VK groups survived. The death time was  $20 \pm 4$  in AB and  $31 \pm 8$  in AB+MP group. In conclusion, pathophysiologic events that cause death occur in sepsis such as inflammation, immunosupression, coagulopathy and circulatory insufficiency. It has been determined that imipenem administration is life-saving and low dose methylprednisolone adjunction prolongs surviving time.

**Key Words:** Sepsis, cytokine, imipenem, methylprednisolone.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Louis Pasteur 1880 yılında septisemili 7 hastadan 6'sının ölmesi ve 7.'sinin hayatta kalmasından sonra 'Doğal cevap zafer kazandı' (*Natura medicatrix won the victory*) demiştir ve vücudun sepsiste doğal bir cevabının olduğunu ve ancak bu cevabın daha iyi anlaşılması sayesinde tedavide başarılı olunabileceğini vurgulamıştır.<sup>1</sup> Sir Isaac Newton 1687 yılında 'her etki kendisine eşit büyüklükte ve ters yönde bir tepki oluşturur' fizik kuralını bildirmiştir.<sup>2</sup> Bone 1996 yılında 'Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS' isimli bir makale yayınlamış ve Newton kuralını biyolojik sistemlerin tepkisi açısından değerlendirerek önemli yorumlar getirmiştir.<sup>3</sup> Bone vücudun enfeksiyona karşı olan cevabının (tepkisinin) fizik kurallarında olduğu gibi tek çeşit veya eşit büyüklükte olmadığını, bu nedenden dolayı yaşayan organizmalara ait biyolojik kuralların vücudun cevabı değerlendirilerek ele alınması gerektiğini ifade etmiştir. Vücudun enfeksiyona cevabı aşırı (overreaction), düşük (underreaction) veya dengeli (balanced reaction) şekillerde olabilir. Organizmanın sepsiste verdiği cevaplar temel olarak pro-inflamatuar, anti-inflamatuar ve her ikisinin birlikte olduğu karışık grup olarak sınıflandırılmaktadır.<sup>4,5</sup>

Pro-inflamatuar sitokinler immun cevabın başlaması ve sürdürülmesini sağlarlar. Anti-inflamatuar sitokinler ise inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınarak aşırı sistemik inflamasyonun kötü sonuçlarını önlerler.<sup>6</sup> Anti-inflamatuar cevap aşırı olduğunda immünsüpresyon şekillenmesi muhtemeldir. Sepsis yoğun bakım ünitelerindeki ölüm nedenlerinin başında gelmektedir ve heryıl binlerce insanın ölmesinin önüne geçilememektedir. Hiç durmadan artan antibiyotik tedavisi yöntemleri ve yoğun bakım alanındaki sürekli ilerlemelere rağmen sepsise bağlı mortalite oranları

yüksek olmaya devam etmektedir.<sup>7-10</sup> Etkene yönelik tedavinin yanı sıra vücudun cevabının da göz önünde bulundurulması tedavi şansını artırabilir. Sitokinler, lökositler, koagülasyon mekanizmaları, hipotansiyon, hipoperfüzyon ve asit-baz dengesi vücudun sepsise cevabını yansıtan en önemli pato-fizyolojik olaylardır. Bu çalışmada, çekal-ligasyon-delme (CLP) yöntemiyle sepsis oluşturulan sıçanlarda imipenem, metilprednizolon ve vitamin K kullanımlarının Tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), İnterlökin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), İnterlökin 6 (IL-6), hemogram, koagülasyon testleri, kan gazları ve yaşam süreleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihsel Gelişim

Puerperal septisemili hastaların kanında bakterilerin var olduğunu ilk kez Louis Pasteur 1880 yılında göstermiştir.<sup>1</sup> Bundan bir asır sonra, 1980 yılında, sepsis ve septik şok'un deneysel olarak çalışılabilmesi için hayvan modeli geliştirilmiştir.<sup>11</sup> 1992 yılında bilim adamları sepsisin terminolojisini tanımlamak üzere bir araya gelmişlerdir. 'American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine' tarafından gerçekleştirilen bu konsensüs toplantısında sepsisle ilgili tanımlamalar ve sınıflandırmalar yapılmıştır.<sup>12</sup> Sepsisin tedavisinde antibiyotik kullanımı ilk yıllardan beri önemini korumakla birlikte Gram negatif bakterilerin endotoksinine karşı anti-serum uygulamasının etkili olmasıyla sepsisin patofizyolojisi daha iyi anlaşılmıştır.<sup>4,13</sup> Son yıllarda, antibiyotik kullanımı ve destek tedaviye ilave olarak, endotoksinler, endojen pro-inflamatuar sitokinler, doğal antikoagülanlar, komplement prosesi ve lenfosit apoptozisine yönelik tedavi çalışmaları devam etmektedir.<sup>5</sup>

### 2.2. Sepsisle İlgili Tanımlamalar

Sepsis şiddetli enfeksiyonlarla ilişkili, mikrobiyal bir hasara cevap olarak oluşan, koagülasyon ve inflamasyonun birlikte karakterize olduğu kompleks bir sendromdur.<sup>8,14</sup> Sepsisle ilgili olarak 1992'deki konsensüs toplantısında yapılan tanımlamalar aşağıdadır.<sup>12</sup>

**Sistemik İnflamatuar Cevap Sendromu (SIRS):** Çeşitli klinik durumlara karşı gelişen geniş çaplı inflamatuvar cevaptır. Bu sendromda klinik olarak aşağıdakilerden iki ya da daha fazlası bulunur<sup>12</sup> (Şekil 1).



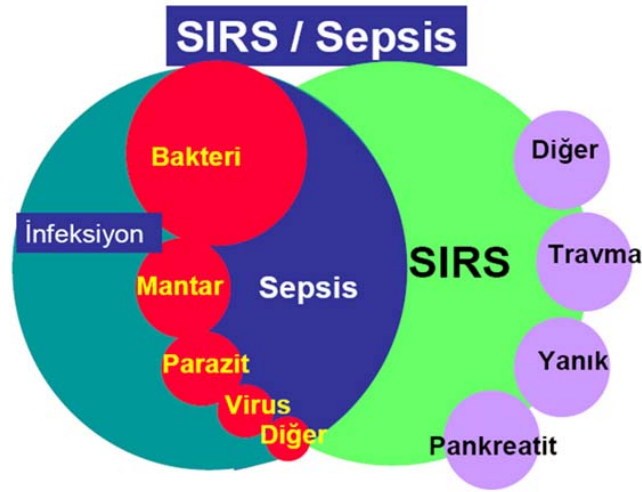
- Vücut sıcaklığı:  $> 38^{\circ}\text{C}$  ya da  $< 36^{\circ}\text{C}$ ,
- Nabız sayısı:  $> 90$  / dakika,
- Solunum sayısı:  $>20$  / dakika ya da  $\text{pCO}_2 < 32$  mmHg,
- Lökosit sayısı:  $> 12 \times 10^3/\mu\text{l}$  ya da  $< 4 \times 10^3/\mu\text{l}$ ,
- Periferik yaymada:  $> \% 10$  bant nötrofil oluşumu.

**Sepsis:** SIRS'in klinik bulgularıyla birlikte enfeksiyon görülmesidir.

**Şiddetli Sepsis:** Organ yetmezliği, hipoperfüzyon ya da hipotansiyon ile ilişkili durumların görülmesidir. Hipoperfüzyon sonucunda laktik asidoz, oligüri ve mental durum değişikliği oluşur.

**Septik Şok:** Hipotansiyonun olduğu ve yeterli kan dolaşımının yapılabildiği sepsis vakalarında ve perfüzyon anormalliğine bağlı olarak laktik asidoz, oligüri ve mental durum değişikliği gelişen durumlarda oluşur. Kalbin kasılma gücünü ve kan basıncını artırıcı ilaçlara ihtiyaç duyan hastalar septik şoktaki hastalardır.

**Multiple Organ Fonksiyon Bozukluğu Sendromu (MODS):** Homeostazis'in sağlanamadığı akut vakalarda birden çok organda yetmezlik oluşmuştur.



**Şekil 1.** SIRS, sepsis ve enfeksiyon arasındaki ilişki.

### 2.3. Sepsis'in Etiyolojisi

Sepsis bakteriyel, viral, fungal, paraziter ve diğer nedenler sonucunda gelişebilmektedir.<sup>15</sup> Olguların yarısında etken gösterilememesine rağmen antibiyotik uygulamalarından sonra tedaviye cevap vermesi etkenin bakteriyel kökenli olduğunu düşündürmektedir.<sup>15</sup> Amerika Birleşik Devletlerinde görülen sepsis vakalarının % 80'ini göğüs, karın, üro-genital sistem ve kan dolaşımı enfeksiyonları oluşturmaktadır.<sup>16-18</sup> Bakteriemi, pnömoni ve çeşitli organ enfeksiyonlarının görülme oranı artarken, abdominal enfeksiyonların görülme sıklığı sabit kalmaktadır. Ürogenital enfeksiyonlar ise azalmaktadır.<sup>16-18</sup>

Son yıllarda Gram pozitif bakterilerin neden olduğu sepsis vakalarında artış görülürken (%30-50), gram negatif bakterilerin neden olduğu sepsis vakalarında ise azalmaların olduğu dikkati çekmektedir (%25-30).<sup>16-18</sup> Virüs ve parazit kaynaklı enfeksiyonlar ise vakaların %2-4'ünde görülmüştür.<sup>16-18</sup> Daha önce antibiyotik kullanılan toplum kaynaklı sepsis vakalarının % 30'unda kültür sonuçlarının negatif çıktığı ifade edilmektedir<sup>19</sup> (Tablo 1).

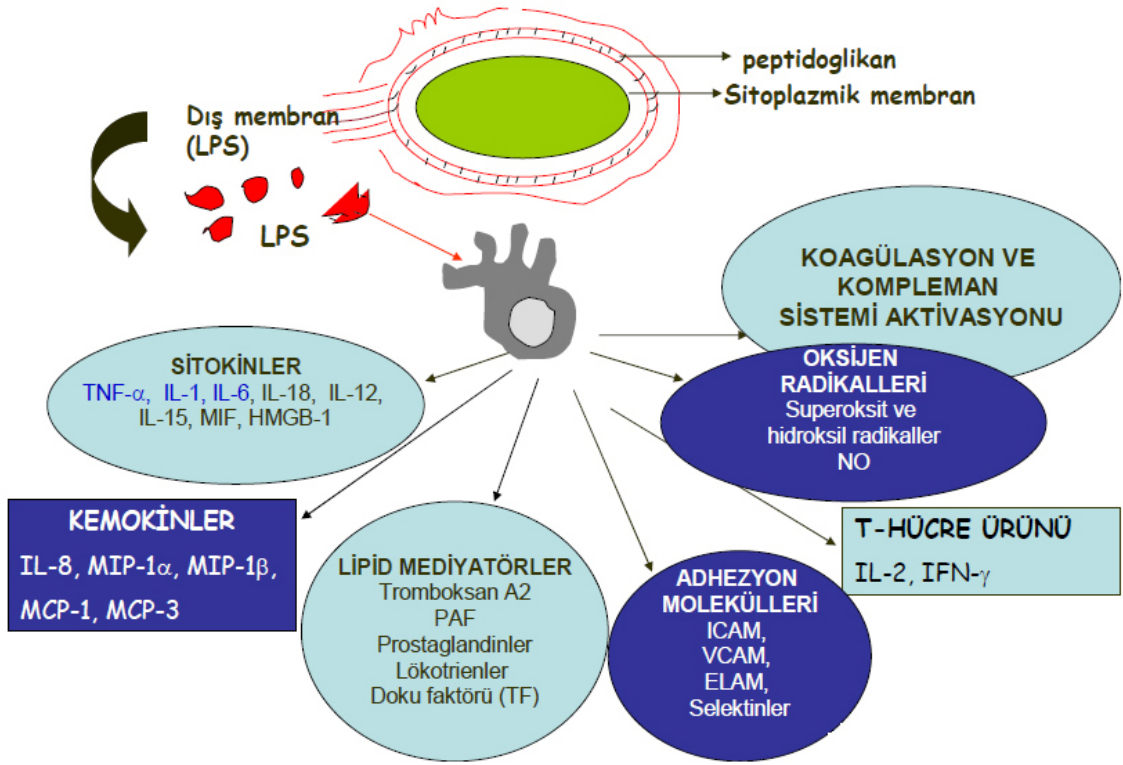
**Tablo 1.** Septik şokta belirlenen patojenlerin görülme oranları.

	Oran (%)
Gram-pozitif bakteriler	30-50
Metisilin-duyarlı <i>S. aureus</i>	14-24
Metisilin-dirençli <i>S. aureus</i>	5-11
<i>Staphylococcus spp.</i>	1-3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9-12
<i>Streptococcus spp.</i>	6-11
<i>Enterococcus spp.</i>	3-13
Anaeroblar	1-2
Diğer Gram-pozitif bakteriler	1-5
Gram-negatif bakteriler	25-30
<i>Escherichia coli</i>	9-27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8-15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2-7
<i>Enterobacter spp.</i>	6-16
<i>Haemophilus influenza</i>	2-10
Anaeroblar	3-7
Diğer Gram-negatif bakteriler	3-12
Mantarlar	
<i>Candida albicans</i>	1-3
<i>Candida spp.</i>	1-2
Mayalar	1
Parazitler	1-3
Viruslar	2-4

İnsanlarda sepsise neden olan organizmalar arasında Gram negatif bakterilere oranla Gram pozitif bakterilere ve mantarlara daha çok rastlanılırken, hayvan çalışmalarında ise Gram negatif bakterilere daha fazla rastlanılmaktadır.<sup>20,21</sup>

#### 2.4. Sepsisin Patofizyolojisi

Sepsis; vücuda giren mikroorganizmanın hücre duvarının ve/veya DNA'sının konakçı hücre üzerinde immün, inflamatuvar ve koagülasyon cevaplarının tetiklemesiyle gelişen sistemik bir cevaptır<sup>22-24</sup> (Şekil 2).



**Şekil 2.** Sepsisin patofizyolojisi

İnsanların ve hayvanların hayatta kalabilmeleri onların vücuda giren patojen mikroorganizma'ları hızlı ve yeterli bir şekilde tanımalarına ve vücudun cevap verebilme yeteneğine bağlıdır. Vücudun mikrobiyal organizmalara karşı verdiği bu cevap organizmanın çeşidine özgü olarak değişir.<sup>25</sup> Septik cevap pro-inflamatuar, anti-inflamatuar, humoral, hüresel ve dolaşım sisteminin dahil olduğu karmaşık olaylar zinciridir.<sup>9,26</sup>

Mikrobiyal popülasyon belli bir eşik değerini aştığı zaman şiddetli bir enfeksiyon gelişir ve bunun sonucunda kan dolaşımına yüksek miktarlarda bakteriyel antijenler girerek sepsisin başlamasına neden olur. Bu olay zararlı sonuçlara neden olabilen erken dönem inflamatuvar cevabın başlamasına neden olur. İmmun sistem mikroorganizma'ların ekstraselüler moleküllerini tanımak ve vücudun hızlı cevabını

başlatmak üzere programlanmıştır. Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler, virüsler ve mantarlar patojen ile ilişkili moleküler paternler olarak adlandırılan hücre duvarı moleküllerine veya nükleik asit dizilerine sahiptirler. Bu paternler Gram negatif bakterilerde lipopolisakkarid (endotoksin), Gram pozitif bakterilerde ise peptidoglikan, lipoteikoik asit ve mantar hücre duvarlarında bulunan ergosterol'dür.<sup>10,27-30</sup>

Patojen mikroorganizma'larda bulunan bu paternler immun sistemde yer alan hücrelerin yüzeyinde bulunan (pattern recognition receptors) patern tanıyan reseptörler (PRRs) tarafından tanınarak bu reseptörlere bağlanırlar ve böylece doğal immun sistem cevabı gelişir. PRR'ler birkaç reseptör ailesini içermekle birlikte sepsis ile ilişkili en önemli olanı Toll-like (TLR) reseptörlerdir. Farklı mikrobiyal yapılar farklı TLR'lere bağlanır. TLR-2, Gram pozitif bakterilerin lipoteikoik asidini ve peptidoglikanlarını tanıırken, TLR-4 Gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritlerini tanıyarak içinde CD14 'ün (*Cluster of differentiation 14*) de yer aldığı lipopolisakkarid reseptör kompleksine bağlanır. TLR-2 ve TLR-4'ün mikroorganizma'ların epitoplara bağlanması sonucunda sitozolik nükleer faktör  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)'nin aktivasyonunu sağlar ve aktive olmuş NF- $\kappa$ B sitoplazmadan nükleusa giderek sitokinlerin transkripsiyonunu başlatan bölgelere bağlanarak pro-inflamatuar sitokinlerin özellikle de TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ve anti-inflamatuar sitokinlerin (IL-10 gibi) transkripsiyonunu artırır. Pro-inflamatuar sitokinler nötrofiller ve endotel hücreleri üzerinde bulunan adezyon moleküllerinin aktivasyonunu artırır. Sitokinler nötrofilleri, monositleri, makrofajları ve trombositleri endotel hücrelerine bağlanması için aktive eder ve bu hücrelerden endotel hücrelerinde hasara yol açan proteazlar, oksidanlar, prostaglandinler ve lökotrienlerin salınmasına neden olarak vasküler permeabiliteyi artırır ve bunun sonucu olarak da proteinden zengin ödem sıvısının akciğerlerde ve diğer dokularda birikmesine sebep olurlar.<sup>10,24,27,28</sup>

Sepsisli hastalarda inflamasyon, koagülasyon ve fibrinoliz birbiriyle ilişkili önemli olaylar olup, bunlar arasındaki dengenin kurulabilmesi sepsisin tedavisinde başarıyı sağlar.<sup>31</sup>

İnflamasyon kompleks olaylar sonucunda meydana gelen bir durumdur. IL-1, IL-8 ve TNF gibi pro-inflamatuar medyatörler aktive olarak normal immun cevabı başlatırlar. Bu medyatörler lökositleri ve diğer sitokinleri uyaran trombosit aktive edici faktör gibi sekonder medyatörlere direkt ya da indirekt etki ederler. Sitokinler endotelial hücre adezyonu, pıhtılaşma, ateş, taşikardi, takipne, perfüzyon anormallikleri ve laktik asidoz gibi semptomların oluşmasına neden olan birçok sekonder medyatörün salınmasına neden olurlar. Aynı zamanda IL-6 ve IL-10 gibi anti-inflamatuar medyatörler TNF salınımını inhibe ederek inflamatuvar cevabı dengelerler.<sup>32</sup> Aktive olan T hücrelerinden salınan IL-4, TNF ve IL-1'i baskımlarken; monositler tarafından sentezlenen IL-10 da inflamatuvar medyatörleri ve prokoagulant aktiviteyi baskımlar. Bu denge sepsiste kaybolur ve kontrolsüz kuvvetli pro-inflamatuar cevap oluşur.<sup>31</sup> Endotelial hücre hasarı ve fonksiyon bozukluğu vasküler permeabilityi artırır. Bu da endotelin ve vazopresin gibi vazokonstriktörler ve nitrik oksit, bradikinin ve histamin gibi vazodilatörlerin salınmasına neden olur. Ayrıca hasara uğrayan hücrelerden miyokardiyal depresant faktör salınır. Bu maddeler kan akışının bozulmasına ve organlarda iskemiye neden olur. Azalan doku perfüzyonu hücre hasarı, lokal ödem ve kapillar sızıntıya neden olur. Doku perfüzyonu yeterli olsa bile endotoksinlerin etkisiyle hücrelerin oksijenlenmesi azalabilir.<sup>31</sup>

Koagülasyon prosesi birçok mekanizmlarla başlatılabilir. Sepsiste kan dolaşımında bulunan IL-1 ve TNF gibi sitokinlerin etkisiyle endotelial hücre yüzeyi zarar görür ve koagülasyon prosesini başlatan doku faktörü (TF) salınır.<sup>33</sup> TF plazma

fibrinojenini fibrine dönüştürerek pıhtı oluşumuna neden olan trombinin üretimini uyarır. Trombin trombosit aktivitesini artırır ve organlara kan akışını önleyen protrombotik duruma katkı sağlar. Trombin ve diğer koagülasyon faktörleri aynı zamanda sitokin salınımını, monositleri ve makrofajları aktive ederek sistemik inflamasyonun gelişmesine aracılık eder. Trombosit, eritrosit, lökosit, fibrin ve diğer hücre kalıntılarının mikroagregasyonu kılcal damarlarda tromboz ve kan akışında bozukluğa neden olur. Dokulara oksijen iletilmesi yetersiz sıvı replasmanından dolayı engellenir.<sup>31</sup>

Koagülasyona cevap fibrinolitik sistemin aktivasyonu ile sonuçlanır ve pıhtı yumakları çözülür ve mikrosirkülasyon korunur. Doku plazminojen aktivatörü fibrinolizden sorumlu primer enzimdir ve plazminojeni plazmine dönüştürür. Plazmin fibrin yumaklarının çözülmesinden sorumludur. Ayrıca plazminajen aktivatör inhibitör-1 ve trombin aktive fibrinoliz inhibitör aşırı fibrinoliz olmasını önleyen doğal koruyucu maddelerdir.<sup>33</sup> Enfeksiyon durumunda aşırı plazminojen aktivatör inhibitör-1 normal fibrinolitik cevabı bozar.<sup>34</sup> Fibrinolizin baskılanması ve koagülasyonun aktive edilmesi sonucunda kılcallarda aşırı fibrin ve pıhtı oluşmasına neden olarak organ yetmezliği gelişebilir.<sup>31</sup>

## 2.5. Sepsis Medyatörleri ve Etkileri

### 2. 5. 1. Sitokinlerin Tarihsel Gelişimi

Biyolojik olarak büyük öneme sahip olan sitokinlerin keşfi dört farklı dönemde olmuştur. Sitokinlerle ilgili ilk çalışmalar 1950’li ve 1970’li yıllar arasında yapılmış ve spesifik fonksiyonları olan bir çok hücrel proteinler tanımlanmıştır. Dünyada ilk kez Cohen <sup>23</sup> bu hücrel proteinleri ‘sitokin’ olarak tanımlamıştır. 1970’li yıllarda çeşitli sitokinler kısmen saflaştırılmış ve spesifik antikorlara karşı üretilmiştir. 1980’li yıllar sitokin araştırmaları için altın bir çağ olmuştur. Bu yıllarda bir çok sitokin keşfedilmiş, klonlanmış ve spesifik antikorlara karşı üretilmiştir. 1990’lı yıllarda yeni genetik tekniklerin (knock out ve transgenik hayvanlar gibi) geliştirilmesi sitokilerin biyolojik rollerinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmuştur.<sup>35,36</sup>

#### 2.5.1.1. Sitokinlerin Biyokimyası

Sitokinler hematopoietik hücrelerin, inflamatuvar ve immün cevabın gelişimi ve düzenlenmesinde aracılık eden peptid veya glikoprotein yapısında olan sinyal molekülleridir.<sup>37</sup> Yapılarında karbonhidrat ve disülfid köprülerinin bulunması sitokinlerin hem kararlı ve çözünebilir olmasını hem de parçalanmalara karşı dirençli olmasını sağlamaktadır.<sup>36,37</sup>

Sitokinler yapısal olarak dört farklı gruba ayrılmaktadır:

1. Dörtlü  $\alpha$ - Heliks Demeti: Bu gruptaki sitokinler bir antiparalel dörtlü  $\alpha$ -heliks demeti içerir (A, B, C ve D heliksleri, A-D heliksleri ve B-C çift heliksleri). A-D heliks çifti çoğunlukla uygun reseptörlerle iletişime giren bölgeye sahiptir. Bu grup kendi içinde iki alt gruba ayrılmaktadır.



a) Kısa zincir tipi: Bu grupta IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, granulosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), monosit/makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF), kök hücre faktör (SCF) ve interferon gama (IFN $\gamma$ ) bulunur.

b) Uzun zincir tipi: Bu grupta IL-6, IL-10, IL-11, IL-12, Epo, granulosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF), lökemi inhibitör faktör (LIF), onkostatın M (OSM), siliar nötrofilik faktör (CNTF), IFN $\alpha$  ve IFN $\beta$  bulunur.

2. Kısa zincir  $\alpha/\beta$  yapıları: Üç alt grubu vardır.

- a) Epidermal büyüme faktör (EGF)
- b) Kemokinler
- c) İnsülinle ilişkili sitokinler

3. Uzun zincir  $\beta$ -tabakalı yapılar: Üç alt grubu vardır

- a) TNF ailesi (TNF $\alpha$  ve TNF $\beta$ )
- b) IL-1 ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) ailesi
- c) Trombosit'ten elde edilen büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü  $\beta$  (TGF $\beta$ ) ve sinir büyüme faktörü (NGF) yer alır.

4) Mozaik Yapı: Bu gruptaki sitokinler heterojen yapıdadırlar.<sup>36,37</sup>

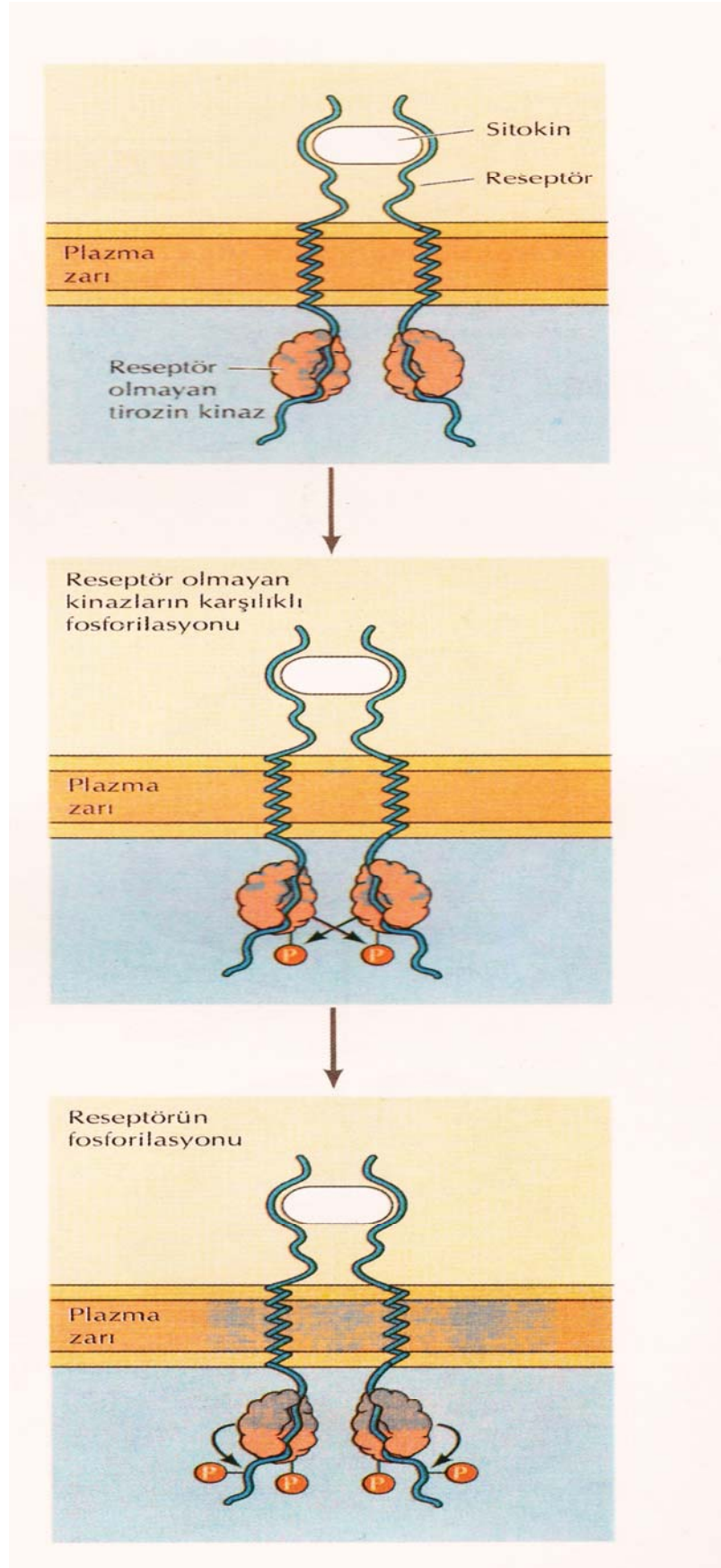
Sitokinler başta T hücreleri ve makrofajlar olmak üzere bir çok hücreden salınırlar, moleküler ağırlıkları 8-110 kDa arasında değişmektedir. Nanomolar ( $10^{-9}$ ) ve femtomolar ( $10^{-15}$ ) konsantrasyonlarda etkili olmaktadır. Salgılandıkları hücreden kan dolaşımı ile hedef hücrelere taşınan sitokinlerin endokrin, parakrin ve otokrin etkileri vardır. Sitokinler membranlardaki reseptörleri veya çözünebilir reseptörleri aracılığıyla etkili olmaktadır. Vücutta immun cevabın düzenlenmesi, inflamasyon,

hematopoez ve yara iyileşmesi gibi hemen hemen tüm genel sistemik olaylarda rol almaktadırlar.<sup>6,37</sup>

#### **2.5.1.2. Sitokin Reseptörleri**

Sitokinler kovalent olmayan bağlar ile etkileşimdedirler ve hücre içi protein-tirozin kinazları uyararak etki gösterirler. Sitokin reseptör süper ailesi olarak adlandırılan sitokin reseptörleri amino ucu hücre dışı ligand-bağlama bölgesi, bir transmembran  $\alpha$ -heliks ve karboksil ucu sitozolik bölgesini içerir. Sitokin reseptörlerinin sitozolik bölgelerinin bilinen herhangi bir katalitik aktiviteleri yoktur. Bunun yerine, ligand bağlanması sonucunda aktive olan reseptör olmayan protein-tirozin kinazlar ile etkileşime girerek işlev görürler.<sup>38</sup>

Ligand bağlanması reseptör dimerizasyonunu uyarması ve karşılıklı fosforillenmesi sonucunda bağlantılı bulunduğu reseptör olmayan protein-tirozin kinazların aktivasyonunu sağlar. Bunun sonucunda da aktive olan kinazlar reseptörü tirozin rezidülerinden fosforilleyerek aşağı yöndeki sinyal iletimi molekülleri için fosfotirozin bağlanma bölgeleri oluştururlar<sup>38</sup> (Şekil 3).



Şekil 3. Sitokin reseptörlerinde sinyal iletimi.

### 2.5.1.3. Sepsis ve Sitokinler

İnflamatuar süreç pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinlerin salınmasını içerir. Pro-inflamatuar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınırlar, immün cevabın başlaması ve sürdürülmesinde önemli olduğu bilinmektedir. Anti-inflamatuar sitokinler inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınır ve SIRS, multiple organ yetmezlik sendromu (MODS), şok ve ölüme kadar giden aşırı sistemik inflamasyonun kötü sonuçlarını önlemek için lokalize olurlar.<sup>6</sup> Pro-inflamatuar, anti-inflamatuar ve çift etkili sitokinler Tablo 2’de gösterilmiştir.<sup>39-41</sup>

**Tablo 2.** Sitokinlerin etki şekline göre sınıflandırılması

Sitokinler		
Pro-inflamatuar	Anti-inflamatuar	Çift Etkili
TNF- $\alpha$	IL-1ra	IL-6
TNF- $\beta$	IL-4	
IL-1	IL-10	
IL-2	IL-11	
IL-17	IL-13	
INF- $\gamma$	TGF- $\beta$	

Sitokinlerin kan dolaşımında aşırı miktarlarda bulunması çok kuvvetli sistemik inflamasyona neden olur ve bunun sonucu olarak da sepsis görülür. Son gelişmelerle birlikte sepsis’in patofizyolojisine sitokinler de dahil edilmektedir ve sitokinlerin yeni tekniklerle analizleri gerçekleştirilmektedir. Buna göre de sepsiste dört sitokin öne çıkmaktadır. Bunlar TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8’dir. Bu dört sitokin sepsis sendromuyla ilişkisi çok yüksek olarak bulunmuştur.<sup>42</sup> Anti-inflamatuar sitokinler ve çözünebilir reseptörler sepsis süresince çok büyük miktarlarda üretilirler. Bunlar endotoksinlerin neden olduğu sepsisten ve şoktan hayvanları korumak için pro-inflamatuar sitokinlerin üretilmesini baskırlar.<sup>19</sup> Yapılan birçok çalışmada sepsisin

şiddeti arttıkça pro-inflamatuar sitokinlerin arttığı saptanmıştır. TNF- $\alpha$  ve IL-6'nın septik şokta artmasına karşılık, diğer nedenlere bağlı şoklarda ise değişmediği gösterilmiştir. TNF- $\alpha$ 'nın septik şokun başlangıcında yükseldiği ve daha sonra düştüğü, ancak ölen olgularda ise sürekli olarak yüksek düzeyde kaldığı belirlenmiştir. IL-6'nın, bakteriyemi ve ölüm riski olan hastalarda yükseldiği gözlenmiştir.<sup>39</sup>

#### 2.5.1.4. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

TNF- $\alpha$  çoğunlukla aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir. Çok eski yıllardan beri tanımlanmasına rağmen, son yıllarda klinik öneme sahip olmuştur. İlk kez 1975 yılında Carswell ve ark.<sup>43</sup> tarafından bu protein tanımlanmış ve TNF olarak isimlendirilmiştir. Fare ve tavşanlara basil (*Bacille-Calmette-Guerin*) ve lipopolisakkarid uygulanmış ve TNF üretimi sağlanmıştır. Sarkoma oluşturulan farelere TNF içeren serum uygulandığında, tümörde hemorajik nekroz oluşumu ve gerileme görülmüştür. Ayrıca, paraziter enfestasyona bağlı oluşan kaşeksi sendromu hakkında yapılan çalışmalar da TNF- $\alpha$ 'nın keşfini sağlamıştır.<sup>44</sup>

Tümör nekrozis faktör terimi TNF- $\alpha$  (kaşektin), TNF- $\beta$  (lenfotoksin) olarak bilinen iki sitokinle yakından ilişkilidir. Her iki sitokin de aynı hücre membran reseptörüyle iletişim kurar. TNF- $\alpha$  17 kDa, 157 amino asitten oluşurken TNF- $\beta$  25 kDa, 171 aminoasitten oluşan bir polipeptit'dir. Her iki TNF, patojenik hastalıkların medyatörleri arasında gösterilirken TNF- $\beta$ 'nin patobiyolojisi hakkında çok az bilgiye rastlanılmaktadır.<sup>45</sup>

TNF- $\alpha$  doğal ve kazanılmış bağışıklık ile hücre çoğalması ve ölümü gibi hayati önemi olan pro-inflamatuar bir sitokindir. Bu sitokin makrofajlar, monositler, T hücreleri, düz kas hücreleri, yağ dokusu hücreleri ve fibroblastlar tarafından üretilir.

TNF- $\alpha$  eritrositler hariç tüm hücrelerin membranlarındaki iki tip reseptörüne bağlanarak biyolojik cevap oluşturur. Bu reseptörler, tip I (tümör nekrozis faktör reseptör tip I, TNF-RI; p55) ve tip II (TNF-RII; p75) dir .<sup>46</sup>

TNF bakteriyel toksinlere, inflamatuvar ürünlere ve diğer invaziv etkenlere karşı (virüs, mantar ve parazit gibi) cevapta başta makrofajlar ve lenfositler olmak üzere diğer immun ve somatik hücrelerden de sentez edilmektedir.<sup>45</sup>

TNF- $\alpha$  infeksiyöz ve noninfeksiyöz inflamatuvar hastalıkların büyük bir çoğunluğunda var olan inflamasyonun ilk medyatörlerinden biridir.<sup>47</sup>

TNF- $\alpha$  en fazla mononükleer fagositlerden üretilmektedir. Şiddetli sepsiste TNF- $\alpha$  organ yetmezliğine neden olabilecek bir kapasiteye de sahiptir.<sup>42</sup> TNF monosit ve endotel hücrelerde doku faktörü oluşumunu uyararak koagülant aktiviteyi özellikle de aktive protein C ve S sistemini içeren antikoagülan mekanizmayı engelleyerek endotel hücrelerde trombomodilin oluşumunu bozarak etki eder.<sup>48</sup> Koyunlarda yapılan deneysel çalışmalarda, TNF- $\alpha$  verilmesi pulmoner hipertansiyon, hipoksemi, akciğer kapasitesinde azalma ve akciğerin mikrovasküler permeabilitesinde artışa neden olmuştur.<sup>49</sup>

İnsanlarda ve deneysel olarak sepsis oluşturulan hayvan modellerinde, bakteriyel endotoksinin verilmesinden sonra TNF- $\alpha$  üretimi hızlı bir şekilde arttığı ve endotoksin infüzyonundan sonraki 60-90 dakika sonra pik yaptığı tespit edilmiştir.<sup>50-52</sup> TNF- $\alpha$ 'nın bu şekilde plazmada hızlı bir şekilde artması diğer inflamasyon medyatörlerinin salınmasını kolaylaştırır.<sup>6</sup>

TNF- $\alpha$ 'nın inflamatuvar cevapta ve diğer inflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunda önemli rollere sahip olduğu görülmektedir. İn vitro çalışmalarda TNF- $\alpha$ 'nın IL-1 $\beta$ , IL-6

ve IL-8 içeren diğer sitokinlerin kuvvetli şekilde salınmasını başlatıcı etkiye sahip olduğu ve ayrıca morbitite ve mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir.<sup>53-57</sup>

İnsanlara rekombinant TNF- $\alpha$  infüzyonu yapıldıktan sonra ateş, hemodinamik anormallikler, lökopeni, karaciğer enzimlerinde ve koagülopatide artış ile birlikte SIRS'ın geliştiği bildirilmiştir.<sup>58</sup>

#### 2.5.1.5. İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1 çoğunlukla makrofajlar tarafından üretilen interlökindir. IL-1'in IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-1 $\gamma$  (IL-1 reseptör antagonist) olmak üzere üç formu olduğu belirtilmiştir. Bu üç interlökin aynı biyolojik aktiviteye sahiptir ve aynı reseptörü kullanırlar. IL-1, IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  moleküler ağırlıkları 17-17,5 kDa arasında değişmektedir.<sup>36,59</sup> IL-1 $\beta$  endotoksinle uyarılan monositler tarafından üretilen bu medyatörlerin en yaygın formu olup ve septisemili hayvanlarda tespit edilmiştir. IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin biyolojik aktiviteleri TNF- $\alpha$  ya benzemektedir.<sup>60,61</sup> IL-1 $\beta$  endotoksin stimule edici monositler tarafından diğer medyatörlere göre daha baskın üretilir ve hayvanlarda oluşan sepsiste de plazmasında tespit edilmiştir.<sup>60,61</sup>

İnsanlara IL-1'in her iki formunun infüzyonu yapıldıktan sonra ateş, hemodinamik anormallikler, eklemlerde ağrı, baş ağrısı, iştahsızlık ve nötrofili görülmüştür.<sup>36,60,61</sup> İnsanlara endotoksin infüzyonu yapıldıktan sonra IL-1 $\beta$ 'nin arttığı lakin TNF- $\alpha$ 'ya nispeten daha az miktarda olduğu tespit edilmiştir.<sup>50,51</sup>

Sağlıklı insanlarda miktarı belirlenemeyen IL-1 $\beta$  sepsisli hastaların plazmalarında rahatlıkla tespit edilmiştir. McAllister ve ark.<sup>62</sup> yapmış oldukları bir çalışmada Gram negatif bakteriyle kontamine eritrosit paketi verildikten sonra sepsis gelişen üç hastada sitokin ölçümlerini rapor etmişlerdir. Bu raporda, hastaların

dördüncü saatte IL-1 $\beta$  seviyelerinin pik yaptığı görülmüştür. Sağ kalan iki insanda IL-1 $\beta$  seviyesi daha sonra normale dönerken 22. saatte hayatlarını kaybeden insanlarda IL-1 $\beta$  miktarının değişmeden kaldığı bildirilmiştir. Plazmadaki IL-1 $\beta$  seviyesi sepsisli hastalarda çok düşük miktarda olduğu tespit edilirken, sepsisin şiddeti arttıkça miktarın da arttığı görülmüştür.<sup>62</sup>

#### **2.5.1.6. İnterlökin-6 (IL-6)**

IL-6, 21 kDa ağırlığında, moleküler konfigürasyonu tam olarak bilinmeyen pro-inflamatuar, anti-inflamatuar ve endokrin fonksiyonları olan pleiotropik bir sitokindir.<sup>41</sup> Glikoprotein yapıda olan IL-6; lenfositler, fibroblastlar ve monositleri içeren çoğu hücre tipleri tarafından üretilir. IL-6 reseptörleri 80 kDa ağırlığında protein bağlayan bölgeye 130 kDa ağırlığında sinyal iletimini sağlayan alt birimlerden oluşmaktadır. Protein bağlayan bölge, immunoglobulin bölgesi içermektedir. IL-6 reseptörleri diğer sitokin reseptörlerinden farklı olarak IL-6'nın etkinlerini arttırmaktadır. IL-6'nın B ve T lenfositlerinin aktivasyonunun başlatılması, karaciğerden akut faz proteinlerinin salınması ve hematopoezisin ayarlanması gibi görevleri vardır.<sup>36,63</sup> Bunlara ilaveten IL-6 koagülasyon sisteminin aktivasyonuna ve pirojen gibi olaylara neden olabileceği de bildirilmiştir.<sup>64</sup> IL-6'nın in vitro çalışmalarda TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin üretimini baskıladığı görülmüştür.<sup>65,66</sup>

Gram negatif bakteriyel enfeksiyonlar ve inflammatuar reaksiyonları takiben kan dolaşımında IL-6 miktarının arttığı tespit edilmiştir. Deney hayvanlarında yapılan bakteriyel sepsis çalışmalarında ve sepsisli hastaların serumlarında IL-6 tespit edilmiş ve çalışmalar göstermiştir ki IL-6'nın viral enfeksiyonlara karşı kısmen de olsa nötrofiller aracılığıyla koruyucu etkisi olabileceği öne sürülmüştür.<sup>36</sup> Sağlıklı insan



gönüllülere intravenöz endotoksin vererek yapılan bir çalışmada plazmada 1,5-2 saat içinde TNF- $\alpha$ 'nın ve 4. saatte de IL-6'nın yükseldiğini bildirilmiştir.<sup>67</sup>

## 2.6. Akut Faz Proteinleri

Akut faz proteinleri (AFP), inflamasyon sırasında inflamatuvar medyatörlere cevap olarak çoğunlukla karaciğerde üretilen glikoproteinlerdir. Birçok farklı dokuda etkili olan inflamatuvar sitokinler akut faz cevabın oluşması ve gelişmesinde düzenleyici rol oynamaktadır. Sebebi ne olursa olsun vücudumuzda sistemik bir inflamasyon geliştiğinde başta IL-6 olmak üzere IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuvar sitokinler salındıktan sonra karaciğerden AFP dolaşıma salınır ve serumda AFP'nin düzeyi yükselir.<sup>37,68,69</sup>

Akut faz proteinleri pozitif ve negatif olmak üzere ikiye ayrılır. İnflamasyon sırasında düzeyi artan akut faz proteinlerine pozitif, inflamasyon sırasında düzeyi azalanlara ise negatif akut faz proteinleri denir.<sup>68</sup> (Tablo 3)

**Tablo 3.** Akut yangısal hastalıklarda belirlenebilen akut faz proteinleri

Akut Faz Proteinleri	
Pozitif	Negatif
CRP	Prealbumin
Protein C	Albumin
Ferritin	Transferin
Amiloid A	
Fibrinojen	
Haptoglobulin	
Seroplazmin	
Komplement C3, C4	
$\alpha_2$ -Makroglobulin	
$\alpha_2$ -Globulinler	
$\alpha_1$ -Asit glikoprotein	
$\alpha_1$ -Antitripsin	
$\alpha_1$ -Globulinler	

Enfeksiyona bağlı durumlarda daha çok artış gösteren akut faz ajanlarından birisinde C-reaktif protein (CRP) dir. CRP 2001 yılı SIRS kriterlerine laboratuvar belirleyicileri olarak eklenmiştir.<sup>70,71</sup>

### **2.6.1. C-Reaktif Protein**

C-reaktif protein ilk kez 1930'da Tillet ve Frances<sup>72</sup> tarafından belirlenmiştir. CRP'nin sadece pnömokokal pnömonilerde değil farklı etkenlerin neden olduğu akut enfeksiyonlarda da tespit edildiği görülmüş ve bu parametre diğer AFP'leri gibi bedenin inflamatuvar durumlarda vermiş olduğu erken kimyasal cevap olduğu anlaşılmıştır.<sup>73,74</sup> CRP pnömokokların polisakkarid C'si ile tepki verdiği için CRP adını almıştır.<sup>75</sup>

C-reaktif protein hepatositler tarafından sentezlenir. Beş nonkovalent bağlı aynı alt üniteden oluşan pentametrik bir proteindir. Enfeksiyona ya da doku inflamasyonuna cevap olarak, CRP retimi başta IL-6, IL-1 ve TNF olmak üzere sitokinler tarafından uyarılır.<sup>76,77</sup>

C-reaktif protein gibi inflamasyon markerlerinin bazal seviyesinde küçük bir artış günümüzde birçok hastalığın tanınmasında önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır. 10 mg/l'nin altındaki CRP seviyesi düşük dereceli bir inflamasyon olarak ifade edilmesine karşılık, bu seviyenin üstündeki değerler klinik olarak önemli bir inflamasyon durumunu gösterir. Ayrıca, epidemiyolojik çalışmalar sayesinde demografik ve sosyoekonomik faktörlerin de CRP seviyesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bunlar yaş, cinsiyet, doğum ağırlığı, ırk, sosyoekonomik durum, vücut kitle indeksi, alkol alımı ve yağ asiti tketimeidir.<sup>41</sup>

C-reaktif protein; inflamasyon, enfeksiyon, sepsisin varlığı ve şiddetini gösteren klinik bir belirleyici olarak ta kullanılabilmektedir. Ayrıca bakteriyal ve viral

enfeksiyon ayırımını yapmakta da etkili olduğu gösterilmiştir. Enfeksiyon varlığında miktarı kanda 100 katına kadar çıkmaktadır. Plazma düzeylerindeki artış 24 saati bulabilmektedir. CRP'nin enfeksiyon dışı olaylarda da yüksek olması (otoimmün ve romatizmal hastalıklar, miyokard infarktüsü, malignansiler ve cerrahi sonrası dönem) özgünlüğünü etkilemektedir.<sup>78,79</sup> Aynı zamanda sıçanlarda CRP'nin diğer akut faz proteinlerine göre (serum haptoglobulin ve plazma fibrinojen) daha zayıf bir 'marker' olduğu da görülmüştür.<sup>80</sup>

## 2.7. Kan Hücreleri

Hematopoezis vücudun dışında embriyonun vitellüs kesesinde başlar. Fötal gelişimin başlangıcında karaciğer ve dalak başlıca hematopoetik organlardır. Memelilerde fötal gelişiminin ikinci yarısında kemik iliği ve periferik lenfoid organlar kan hücrelerinin üretildiği başlıca organlardır. Memelilerde erişkinlik dönemi boyunca tüm kan hücre tipleri sürekli olarak kemik iliğinin ekstrasvasküler bölgesinde primitif kök hücrelerden üretilir.<sup>68</sup>

Kendi kendine yenilenen multipotansiyel kök hücrelerden myeloid ve lenfoid kök hücreler oluşur. Lenfoid kök hücreden T-lenfositler veya kemik iliğinde oluşan ve antikor sentezinden sorumlu B-lenfositler oluşur. Dolaşımdaki T veya B lenfosit markerleri olmayan lenfoid hücreler, doğal öldürücü (natural killer) hücreler olarak isimlendirilir. Bazı interleokinler (IL-1, IL-4, IL-3 ve TNF gibi) hematopoezisi etkilerler.<sup>68</sup>

Sepsisin derecesine ve süresine göre lökosit sayılarında değişiklikler olur. Sepsisle ilgili konsensüs toplantısında lökosit sayısındaki değişikliklerin sepsisin tanısında kullanılabileceği bildirilmiştir.<sup>12</sup> Buna göre mikrolitrede 4.000'den az ya da

12.000'den fazla lökosit sayılarının elde edilmesi sepsis sırasında oluşan SIRS'in tanısının konulmasında kullanılabilir. Lökopeni ya da lökositoz görülmesi septik hastalarda bakteriyemi, septisemi, SIRS, sepsis, şiddetli sepsis, septik şok, septik şok yanıtı veya MODS oluşmasına göre değişir.<sup>81</sup> Brooks ve ark.<sup>82</sup> Çekal- ligasyon delme yöntemiyle deneysel olarak sepsis oluşturdukları sıçanlarda 18. saatte şiddetli lökopeni, lenfopeni, nötrofil ve trombositopeni ile birlikte nötrofil/lenfosit oranında artış belirlemişlerdir. Ayrıca, aynı çalışmada sağlıklı kontrol grubu ile Sham kontrol gruplarının karşılaştırılmasında iki grup arasında kan sayımı parametreleri açısından istatistiksel bir fark görülmediği de bildirilmektedir.<sup>82</sup> Sıçanlarda oluşturulan septik peritonitis modelinde, nötrofil göçünün neden olduğu organ yetmezliklerinin önlenmesine yönelik ilaç araştırmaları yapılmaktadır.<sup>83</sup> Septik şokta arteriyel sistolik kan basıncı ve ortalama arteriyel kan basıncı düşerek hipotansiyon ve dolaşım yetmezliği oluşur ve eritrosit sayısı ve hematokrit değerler de etkilenir.<sup>81</sup>

## **2.8. Kan Gazları ve Elektrolitler**

Oksijen ve karbondioksitin arter, ven veya kapillar kandaki kısmi basınçları kan gazları olarak tanımlanmaktadır ve aynı numunelerdeki pH'ya ise kan pH'sı denilmektedir.<sup>84</sup> Arteriyel veya venöz kanda oksijen ( $pO_2$ ) ve karbondioksit ( $pCO_2$ ) basınçları solunan havanın ve/veya dokulara oksijen dağılımının yeterli olup olmadığının takibi için ölçülür. Hipoksemi durumu solunum ya da solunum dışı nedenlerden kaynaklanabilir. Solunum dışı nedenlerin en önemlisi metabolik asidoz'dur. Metabolik asidozda şekillenen asidemiye kompensatuvar cevap oluştuğunda ise hiperoksemi oluşabilir.<sup>68</sup>

Vallée ve ark.<sup>85</sup> sepsisli hastalarda yaptıkları çalışmada düşük veya yüksek anyon gap'a sahip olanlarda pO<sub>2</sub> ve pCO<sub>2</sub> değerlerinde farklı bulgular elde edildiğini göstermişlerdir. Deneysel olarak E. coli verilerek oluşturulan sepsis modelinde, kan laktat seviyesi, pH ve pCO<sub>2</sub> değerlerinde bazı değişiklikler belirlenmiştir.<sup>86</sup> Kandaki elektrolit seviyelerinin değerlendirilebilmesi için asit-baz durumunun da bilinmesi gerektiği ifade edilmektedir. Sıvı kayıplarında ve metabolik bozukluklarda etkilenen en önemli elektrolitler Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup>'dur.<sup>68</sup>

## 2.9. Koagülasyon Testleri

Koagülasyon bozuklukları acil önlem alınması gereken önemli problemlerdir. Koagülasyon bozukluklarının belirlenmesi için birçok test yapılmaktadır. Trombosit sayılarına ilave olarak yapılan testler içinde, koagülasyon sürelerinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Protrombin zamanı (PT), ekstrasik (doku faktörü ve faktör VII) ve yaygın sistemin (faktör V, X, protrombin ve fibrinojen) değerlendirilmesini sağlar. Aktiflenmiş pıhtılaşma zamanı (ACT) faktör II, VII, IX ve X'da azalmaya neden olan bozuklukları araştırmak için kullanılabilir.<sup>68</sup>

Sepsiste yaygın inflamatuvar reaksiyonla birlikte koagülasyon anormallikleri oluşmaktadır. Sıçanlarda LPS verilmesi ile oluşturulan endotoksik şok tablosunda PT ve aktiflenmiş protrombin zamanlarında (aPTT) önemli derecelerde artış belirlenmiştir.<sup>87</sup> CLP yöntemi ile oluşturulan sepsiste, trombositopeni ve trombosit aggregasyon anormalliklerinin yanı sıra PT ve aPTT sürelerinde uzamalar belirlenmiş ve bu anormalliklerin önlenmesinde çeşitli tedavi seçenekleri araştırılmıştır.<sup>88</sup>

## 2. 10. Sepsiste Tedavi

Şiddetli sepsis ve septik şok tanısı konmuş hastaların tedavisinde hastalığın kaynağını kontrol altına almak ve komplikasyonları önlemek için hemodinamik ve solunum fonksiyonlarını sağlamak gerekmektedir.<sup>26,89</sup> Tedavide genel olarak akciğer ventilasyonu, geniş spektrumlu antibiyotikler, fizyolojik dozda kortikosteroidler ve aktive protein-C kullanılabileceği bildirilmektedir.<sup>90-94</sup>

### 2.10.1. Sepsiste Antibiyotik Kullanımı

Sepsis ve septik şokta, erken başlanmış ve doğru seçilmiş antibiyotik tedavisinin mortaliteyi azalttığı kanıtlanmıştır. Septik şok vakalarında ilk 1 saat içinde uygulanan antibiyotik tedavisi hayatta kalma olasılığı %79 iken bu oran tedaviye 5-6 saat geç başlanmasıyla % 42, tedavinin 9-12 saat gecikmesiyle de % 25'e düştüğü bildirilmektedir.<sup>95</sup>

Sepsis tanısı konulduktan sonra geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine başlanılmalı ve hastadan alınan örnekler mikrobiyolojik kültüre gönderilmelidir. Ampirik tedavinin temelini şüphelenilen enfeksiyon bölgesi, bulaşma yolu (toplum ya da hastane kaynaklı), mikroorganizmalar ve hastaya ait faktörler (immün yetmezlik gibi) oluşturur.<sup>96</sup>

Hastadan alınan örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre spesifik mikroorganizma belirlendiğinde dar spektrumlu antibiyotik tedavisine geçilmelidir.<sup>31</sup> Antibiyotiğin duyarlılık testine göre seçilmiş olması klinik olarak da etkili olacağı anlamını taşımaz. Enfeksiyona neden olan etkenin bir antibiyotiğe duyarlı olmasının yanı sıra o antibiyotikle karşılaşması ve karşılaştığı ortamdaki antibiyotik miktarının o etkeni yok edecek düzeyde olması gerekmektedir. Uygun antibiyotiği seçerken hastaya

ilişkin konak faktörleri (enfeksiyon odağı, nötropeni ve eşlik eden hastalık gibi) yanında antibiyotiğin farmakokinetik (emilim, dağılım ve atılım) ve farmakodinamik (antimikrobik etki şekli ve bakterisid etki) özelliklerini de göz önünde bulundurmak gerekir.<sup>97</sup>

### **2.10.2. Sepsiste Steroid Kullanımı**

Eskiden sepsis'in tedavisinde steroidal anti-İflamatuvar ajanların kullanımının etkili olmadığı düşünölmüştür. Fakat son zamanlarda düşük doz kortikosteroid kullanımının faydalı olabileceğini gösteren çalışmalar yapılmaktadır. Annane ve ark.<sup>90</sup> 7 gün süresince hidrokortizon ve fludrokortizon tedavisi alan sepsisli hasta grubunda mortalitenin önemli oranda azaldığını bildirmişlerdir. Bu hastaların kortikotropin stimulasyon testine göre adrenal yetmezlikli hastalar olduğu gösterilmiştir. Yıldız ve ark.<sup>98</sup> prednisolone verilen sepsisli grupta mortalite oranını % 40 olarak belirlerken, bu tedavinin verilmediğı grupta mortalite oranını % 55,6 olarak belirlemişlerdir. Sepsis ve septik şokta kortikosteroidlerin kullanımı üzerine yapılan çalışmaların meta-analizinin değerlendirildiğı bir derlemede, düşük doz kortikosteroidlerin 5-11 gün süre ile kullanımlarının mortalite oranını düşürdüğü ifade edilmektedir.<sup>99</sup>

### **2.10.3. Sepsiste Vitamin K Kullanımı**

Sepsisin patogeneğinde dissemine intravasküler koagölasyon (DİK)'in şekillenmesi önemli yer tutar. DİK koagölasyonun intravasküler olarak patojenlerin (virüs, bakteri ve endotoksinler gibi) etkisiyle aktive olur ve başta kapillar damarlarda oluşmak üzere fibrin yumakları oluşmaya başlar ve koagölasyon faktörlerinin ve trombositlerin harcanmasıyla beraber fibrinolizisin de meydana gelmesi ve kanda fibrin

yıkımlanma ürünlerinin birikmesiyle karakterize edinsel bir sendromdur. Damarlarda oluşan mikropıhtılar nedeniyle hayati organlara kan desteği sağlanamaz ve doku iskemisi oluşarak aynı anda MODS gelişebilmektedir. Bununla birlikte trombositlerin ve koagülasyon proteinlerinin tüketimiyle de hayatı etkileyen şiddetli kanamalar gelişebilmektedir.<sup>48</sup>

Sepsis'in ilk aşamasında koagülasyon ve son aşamasında da kanamaya eğilim (hemorajik diayatez) oluşmaktadır. Çetinkaya ve ark.<sup>100</sup> yapmış oldukları deneysel çalışmada sıçanlarda yaklaşık olarak 6. saatte burun kanamasının şekillendiği ve ayrıca hayvanların nekropsisinde de akciğerlerde kanamaların olduğu bildirilmiştir.

K vitaminleri yapılarında poli-izopren yan zincirlerin bulunduğu naftokinon halkası taşımaktadırlar. Birçok pıhtılaşma faktörünün posttranslasyonel modifikasyonunda görev yapan K vitamini, glutamik asit kalıntılarının karboksilasyonunda kofaktördür. Karaciğerde protrombin ile bazı pıhtılaşma faktörlerinin (VII, IX ve X) sentezinde K vitamini gereklidir. İnaktif öncüller olarak sentezlenen pıhtılaşma faktörlerinin yapısındaki glutamik asit kalıntıları K vitamini bağımlı karboksilasyon tepkimesi ile karboksiglutamata çevrilmektedir. Endoplazmik retikulumda meydana gelen tepkimede K vitamininin hidrokinon türevi, oksijen ve karbondioksit gereklidir. Trombinin karboksiglutam kalıntıları pozitif yüklü kalsiyum iyonları ile şelat oluşturmaktadır. Pıhtılaşmada rolü olan trombositlerin membranlardaki fosfolipidlere bağlanan kalsiyum-protrombin kompleksi protrombinin trombine çevrilmesini hızlandırır.<sup>37,75</sup> K Vitamininin şiddetli sepsiste oluşan kanama olgularının tedavisinde faydalı mı yoksa zararlı mı olacağı hakkında bir literatür bilgisi bulunmamakla birlikte, yukarıdaki bildirimler göz önünde bulundurulduğunda sepsisin



erken ya da geç aşamalarındaki K vitamini uygulanmalarının farklı sonuçlar doğurabileceği hipotezi ileri sürülebilir.

#### **2.10.4. Sepsiste Diğer Tedaviler**

Sepsiste oluşan vazodilatasyon, intravasküler kan hacmi azlığı ve hipotansiyonun tedavisinde en etkili yol sıvı replasmandır. Etkili bir sıvı replasmanı kardiyak output, doku perfüzyonu, oksijen dolaşımı ve hayatta kalma oranını arttırmalıdır.<sup>101</sup> Sepsiste replasman tedavisinde kristaloidlerin kolloidlerden daha faydalı olduğu düşünüldüğünden dolayı, izotonik sodyum klorür solüsyonu hacim artışı için ilk seçenektir. Sepsiste oksijen doygunluğu, baz açığı ve kan pH'sı sonuçlarına göre ilk 6 saatlik dönemde erken tedavi başlatılmalıdır. Bu tedaviye agresif sıvı uygulaması, vazoaaktif ajanlar ve kan nakli dahil edilebilir. Sepsiste erken tedavi alan hastaların 28-60 günlük takibinde ölüm oranlarının düştüğü bildirilmiştir.<sup>101</sup>

Endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan endojen protein C sepsiste homeostaz'ın sağlanmasına katkı sağlamaktadır. Aktive protein C pıhtılaşma faktörleri tarafından trombin oluşturulmasını önler ve trombinin inhibe edilmesi trombositlerin ve nötrofillerin aktivasyonunu önleyerek inflamasyonu azaltır. Aktive protein C monosit aktivasyonunu ve pro-inflamatuvar sitokinleri baskılayarak anti-inflamatuvar etki gösterir. Sepsisli hastalarda aktive protein C kullanımı ölüm riskinde % 19,4'lük bir azalmaya neden olmuştur. Aktive protein C kullanımı ile ilgili en önemli risk faktörü hastaların % 3,5'inde şiddetli kanama oluşturmasıdır. Uluslararası normalleştirilmiş oranları (İNR) 3'ten daha büyük ya da trombosit sayısı  $30 \times 10^3/\mu\text{l}$ 'den daha az olan hastalarda bu ilacın kullanılmasında dikkatli olunması gerektiği bildirilmektedir.<sup>102</sup>

Van der Berghe ve ark.<sup>103</sup> kritik hastalarda yoğun insulin tedavisinin morbidite ve mortalite oranlarını düşürdüğünü bildirmektedirler. Ayrıca, sepsisli hastaların % 30-60'ında akut respiratuvar distres sendromu olduğundan dolayı, akciğerler erken tedavide hedef organ olarak değerlendirmeye alınmalıdır.<sup>89</sup> Akut akciğer hasarında ve respiratuvar distres sendromunda mekanik ventilatör ile uygulanan düşük tidal volümlü akciğerin ventilasyonunun ölüm oranını % 9 oranında düşürdüğü bildirilmiştir.<sup>104</sup>

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı (HADYEK) tarafından 2009/111 nolu karar ile etik kurallara uygunluk yönünden onaylanmıştır. Ayrıca, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurulu tarafından da 2011.2.1/8 nolu karar ile etik kurallara uygunluk yönünden onaylanmıştır. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP-2009/311 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Tez çalışmamız için Sprague-Dawley ırkı 250-300 gram arasında değişen 84 adet (42 erkek, 42 dişi) sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılan deney hayvanları, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarından temin edildi. Deneye başlamadan önce rastgele gruplara ayırdığımız sıçanlar standart şartlar altında (ortam Sıcaklığı 22 °C ve nem oranı % 50-60) çalışma gününe kadar barındırıldı ve beslendi.

#### 3.2. Deney Grupları

Çalışmamızda kullanılan 84 adet sıçan, kan örneklerinin toplanması ve yaşam sürelerinin takip edilmesi için rastgele seçildi. Her grupta 12 adet sıçan olmak üzere toplam 7 grup oluşturuldu (Tablo 4). Gruplardaki dişi ve erkek dağılımı eşit olarak yapıldı. Her gruptaki 12 hayvanın 6'sı deney protokolünün 16. saatinde kan örneklerinin alınması amacıyla ayrıldı. Bu hayvanlara deney protokolünün 1. saatinde 1 kez ilaç

uygulaması yapıldı ve 16. saatte sağ kalpten tüm kanın alınması yöntemiyle sakrifiye edildiler. Diğer 6 hayvan ise deney protokolü oluşturulduktan sonra yaşam sürelerinin (survival time) belirlenmesi için bir odaya alınarak 7 gün boyunca her saat kontrol edilerek takip edildi ve ölüm saatleri kaydedildi. Yaşam süreleri takip edilen bu hayvanlara 3 gün süreyle, 12 saat ara ile ilaç uygulamalarına devam edildi. Gruplardaki ölmeyen hayvanlar 7. günün sonunda (168. saat) derin anestezi altında servikal-dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edilerek deney sonlandırıldı.

**Tablo 4.** Deney gruplarının oluşturulması

Gruplar	Grubun İçeriği	Grubun Adı
Grup 1	Sham	Sham
Grup 2	Sepsis	CLP
Grup 3	Sepsis + Antibiyotik	AB
Grup 4	Sepsis + Metil prednizolon	MP
Grup 5	Sepsis + Vitamin K	VK
Grup 6	Sepsis + Antibiyotik + Metil prednizolon	AB+MP
Grup 7	Sepsis + Antibiyotik + Vitamin K	AB+VK

### 3.3. Cerrahi İşlemler ve Deney Protokolü

#### Sıçanlarda sepsis modelinin oluşturulması:

İki deney grubuna ayrılmış olan sıçanlara intramusküler (i.m.) olarak 0,5 mg/kg dozda ksilazin HCl (Rompun 20 mg/ml, Bayer, Almanya) ve i.m. olarak 2,5 mg/kg dozda ketamin HCl (Ketasol 100 mg/ml, Richter Pharma, Avusturya) enjekte edilerek anestezi altına alındı.

Anesteziye alınan sıçanlarda Singleton ve Wischmeyer<sup>105</sup> tarafından belirtilen çekal-ligasyon-delme “cecal-ligation-puncture” “CLP” tekniğine uygun olarak sepsis oluşturuldu. Bu teknikte kısaca abdominal bölgede orta hattın deri ve kaslar açılarak

batına ulaşıldı. Çekum dışarı çıkarılarak içerisinde fekal içerik olduğundan emin olduktan sonra çekum kör kesesinin %30'u, 0 numara ipek iplikle bağlandı. Bağlanan çekum kesesi 16 numara (gauge) iğne ile karşılıklı olarak delindi. Çekum delindikten sonra fekal içerik peritona bulaştırıldıktan sonra çekum tekrar batına yerleştirildi. Batına 2 cc serum fizyolojik verildi. İlk önce kaslar ve sonra deri 2.0 ipek iplikle dikilerek batın kapatıldı. Dikiş bölgesine iyot sürülerek hayvanlar gruplara göre kafeslere konuldu.

Sham grubundaki hayvanlar steril şartlar altında anesteziye alınarak batinları açıldı ve sadece barsaklar dışarı çıkartılıp tekrar yerine koyulduktan sonra batın kapatıldı.

CLP grubundaki hayvanlarda çekal-ligasyon-delme 'CLP' yöntemiyle sepsis oluşturuldu ve bu gruptaki hayvanlara herhangi bir tedavi yöntemi uygulanmadı.

AB grubundaki hayvanlarda CLP grubundaki sepsis modeli oluşturulduktan 1 saat sonra, hayvanlara antibiyotik olarak subkutan (s.c.) 7,1 mg/kg/12saat dozda 3 gün süre ile imipenem (Tienam 500 mg/flakon, Merck Sharp & Dohme, Fransa) uygulandı.

MP grubundaki hayvanlarda CLP grubundaki sepsis modeli oluşturulduktan 1 saat sonra, hayvanlara i.m. 0,5 mg/kg/12saat dozda 3 gün süre ile metil prednizolon (Prednol-L 20 mg/ampul, Mustafa Nevzat, Türkiye) uygulandı.

VK grubundaki hayvanlarda CLP grubundaki sepsis modeli oluşturulduktan 1 saat sonra, hayvanlara i.m. olarak 0,22 mg/kg/12saat dozda 3 gün süre ile vitamin K (Libavit K 20mg/ampul, menadion sodyumbisülfit, Liba, Türkiye) uygulandı.

AB+MP grubundaki hayvanlarda CLP grubundaki sepsis modeli oluşturulduktan 1 saat sonra, hayvanlara s.c. 7,1 mg/kg/12saat dozda 3 gün süre ile imipenem ve i.m. 0,5 mg/kg/12saat dozda 3 gün süre ile metil prednizolon uygulandı.

AB+VK grubundaki hayvanlarda CLP grubundaki sepsis modeli oluşturulduktan 1 saat sonra, hayvanlara s.c. 7,1 mg/kg/12saat dozda 3 gün süre ile imipenem ve i.m. olarak 0,22 mg/kg/12saat dozda 3 gün süre ile vitamin K uygulandı.

### **3.4. Numunelerin Toplanması**

Birinci deney grubundaki sıçanlar deneyin 16. saatinde ksilazin ve ketamin anestezisine alındıktan sonra sağ göğüs duvarı kalp hizasından ensizyonla göğüs boşluğu açıldı ve sağ ventriküle yerleştirilen enjektörle tüm venöz kan çekildi. Bir sıçandan ortalama olarak 10-15 ml kan elde edildi.

Sitokinler ve C-reaktif protein analizi için antikoagülsüz tüplere (Becton Dickinson Co. USA) yaklaşık 5 cc alınan kanlar soğutmalı santrifüj'de (Hettich 38R, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen Germany) +4 °C'de 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve elde edilen serumlar analiz edileceği güne kadar -80 °C'de saklandı.

Kan sayımı için EDTA'lı tüplere (Becton Dickinson Co. USA) yaklaşık olarak 2 ml kan alındı.

Kan gazları için lityum heparinli enjektörlere (72 IU, Plasti-Med Ltd. Sti., Türkiye) yaklaşık 1 ml kan alındı.

Koagülasyon testleri için lityum heparinli tüplere (Hema & Lab Sağlık Ürünleri Ltd. Sti., Türkiye) 1,8 ml kan alındı.

Mikrobiyolojik analizler için Bac/TAlert pediatrik kan kültürü şişelerine (bioMérieux, France) yaklaşık 1-2 ml kan koyuldu.

### 3.5. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Çalışma sırasında kullanılan alet ve cihazlara ait bilgiler tablo 5’de verilmiştir.

**Tablo 5.** Kullanılan Alet ve Cihazlar.

<b>CİHAZLAR</b>	<b>AİT OLDUĞU FİRMA</b>
Santrifüj	Hettich 38R, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen Germany)
Distile su cihazı	GFL 2001/2, Germany
Derin Dondurucu	Sanyo Ultra Low, Sanyo Electric Co Ltd. Japan
Otomatik pipet	Ependorf Research, Germany
Plate çalkalayıcı	Heidolph Rotomax 120, Germany
Karıştırıcı	Heidolph Reax Top, Germany
Plate Yıkayıcı	BIO-TEK ELx50, USA
Elisa microplate reader	BIO-TEK $\mu$ Quant, USA
Kan sayımı Cihazı	Abacus Junior Vet5, Diatron™, Hungary
Kan Gazları Cihazı	VetStat, Idexx, USA
Koagülasyon Cihazı	Intrumentation Laboratory ACL-TOP 700, USA
Kan Kültürü Cihazı	Bac/TAlert, bioMérieux, France

### 3.6. Analitlerin Tayin Yöntemleri

#### 3.6.1. Serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve CRP Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Serum TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  ve C-reaktif konsantrasyonları, katı faz sandwich ELİSA yöntemiyle Rat TNF- $\alpha$  Elisa Kit (İnvitrogen, Cat.No: KRC3012), Rat IL-6 Elisa Kit (RayBio Cat.No: ELR-IL6-001), Rat IL-1 $\beta$  Immunoassay Kit (İnvitrogen Cat.No: KRC0012) ve Rat C-Reaktif Protein Elisa Kit (BioVendor Cat.No: RH951CRP01R) kullanılarak, üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda ölçüldü.

### 3.6.2. Kan Sayımı

EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinin kan sayım analizi total kan sayım cihazında gerçekleştirildi (Abacus Junior Vet5, Diatron™, Hungary). Analizler cihazın kullanım kılavuzunda bildirilen tekniğe uygun olarak yapıldı. Cihazın aspire ettiği 25µl kan örneğinde 22 parametre hemogram analizi sonuçları elde edildi. Elde edilen sonuçlardan WBC (Total lökosit) LYM (Lenfosit), NEU (Nötrofil), MON (Monosit), EOS (Eozinofil), BAS (Bazofil), RBC (Eritrosit), HCT (Hematokrit), MCV (Ortalama eritrosit hacimi), HGB (Hemoglobin), MCH (Ortalama eritrosit hemoglobin miktarı) ve PLT (Trombosit) değerleri kullanıldı.

### 3.6.3. Kan Gazları ve Elektrolitler

Lityum heparinli enjektörlere alınan kan örneklerinde kan gazları ve elektrolit analizleri taşınabilir kan gazları analiz cihazında yapıldı (VetStat, Idexx, USA). Analizler cihazın kullanım kılavuzunda bildirilen tekniğe uygun olarak yapıldı. Her numune için ayrı kaset kullanıldı (Respiratory Cassettes, Idexx, USA). Kasetler cihaza yerleştirilip kalibre edildikten hemen sonra kan örnekleri alındı ve 10-20 saniye içinde cihaza verildi. Kan alındıktan sonra toplam 80-90 saniye içinde analizler gerçekleştirilmiş oldu. Elde edilen verilerden pH, pCO<sub>2</sub> (Karbondiosit basıncı), pO<sub>2</sub> (Oksijen basıncı), HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Bikarbonat), AnGap (Anyon gap), BE (Baz açığı), Na<sup>+</sup> (Sodyum), K<sup>+</sup> (Potasyum) ve Cl<sup>-</sup> (Klor) değerleri kullanıldı.

### 3.6.4. Koagülasyon Testleri

Protrombin zamanı (PT), uluslararası normalleştirilmiş oran (INR), aktiflenmiş kısmi protrombin zamanı (aPPT) ve aktiflenmiş pıhtılaşma zamanına (ACT) ait



analizler hemostasis test sisteminde (ACL700) yöntemine uygun olarak Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi hematoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. INR değeri test edilen PT sürelerinin normal sürelere bölünmesi ile elde edildi.

### **3.6.5. Mikroorganizma Kültürü ve İzolasyonu**

Bac/TAlert tüplerine alınan kanların analizi kan kültürü otomatize sistem cihazında (bioMérieux, France) yapıldı. Üreme olan tüplerden izole edilen mikroorganizmalar geleneksel yöntemlerle Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında tanımlandı.

### **3.7. İstatistik Analiz**

Tablo ve grafiklerde gruplarda elde edilen verilerin ortalamaları ve standart hataları (SEM) sunuldu. SEM'in hesaplanmasında standart sapma (SD)'nin gruplardaki hayvan sayılarının (n) kareköküne bölünmesi formülü kullanıldı ( $SEM=SD/\sqrt{n}$ ). Verilerin istatistik analizi Tek-yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testleri ile yapıldı. 0,05'ten küçük P değeri önemli kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sitokinler ve C-Reaktif Protein

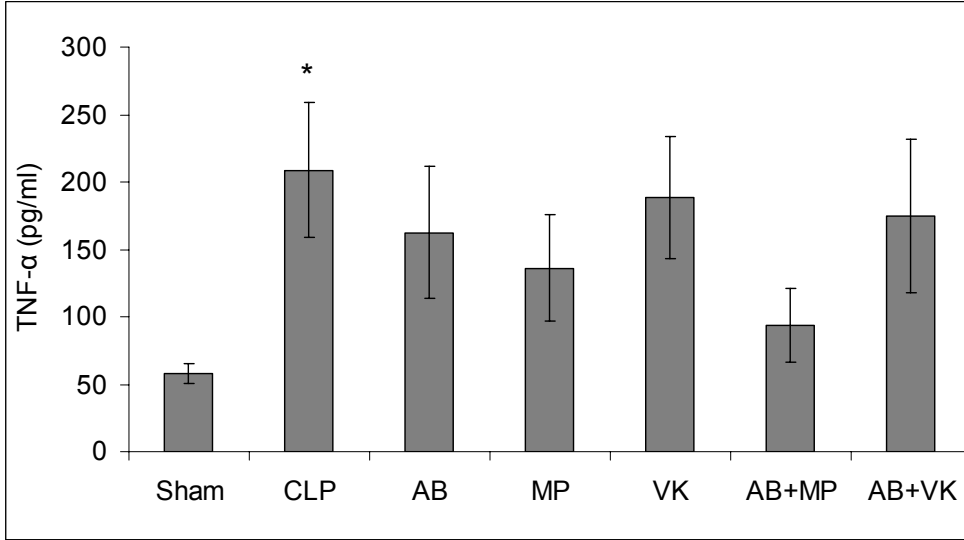
Gruplardaki ortalama serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve CRP değerleri Tablo 1’de gösterildi. Sepsis oluşturulan gruplardaki ortalama TNF- $\alpha$  değerlerinin Sham grubuna kıyasla göreceli olarak yüksek olduğu belirlendi (şekil 4). Sham grubuna kıyasla CLP grubunda istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ ) bir yükselmenin olduğu görüldü. Sepsis oluşturulan gruplar içerisinde, Sham grubunda en yakın TNF- $\alpha$  değerleri AB+MP grubundaydı.

Sepsis oluşturulan gruplardaki ortalama IL-1 $\beta$  değerlerinin Sham grubuna kıyasla göreceli olarak yüksek olduğu belirlendi (şekil 5). AB+VK grubunda Sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ ) bir yükselmenin olduğu tespit edildi. IL-1 $\beta$  değerindeki en az artışın AB+MP grubunda olduğu görüldü. AB+MP ile AB+VK grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) fark vardı.

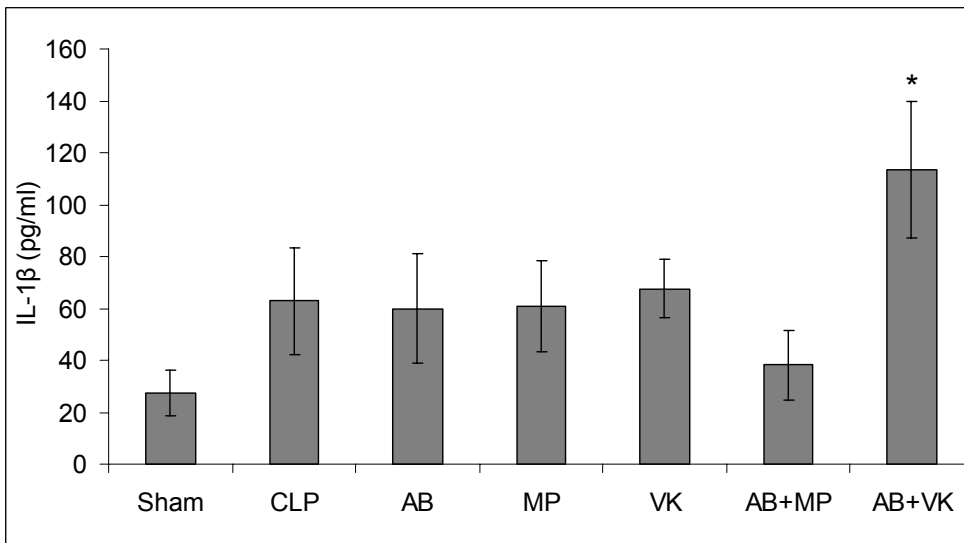
Sham grubundaki hayvanların kan serum örneklerinde IL-6 tespit edilmedi (şekil 6). Bu gruptaki hayvanlarda IL-6 seviyesi tespit edilebilecek limitlerin altındaydı. Sham grubunda IL-6 tespit edilmediği için bu grup ile diğer gruplar arasında istatistik karşılaştırma yapılamadı. Sepsis oluşturulan gruplardaki belirlenen IL-6 değerlerindeki artışlar IL-1 $\beta$ ’da tespit edilen artışlarla benzerlik gösterdi. IL-6 değeri AB+VK grubunda  $6124\pm 2468$  pg/ml ve AB+MP grubunda  $545\pm 122$  pg/ml olarak belirlendi.

Sepsis oluşturulan CLP, AB, VK, AB+MP ve AB+VK gruplarında ortalama CRP değerlerinin Sham grubuna kıyasla göreceli olarak düşük olduğu belirlendi (şekil 7). AB+MP grubunda Sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ ) bir düşmenin olduğu görüldü. MP grubundaki CRP değerinin Sham grubundaki değere

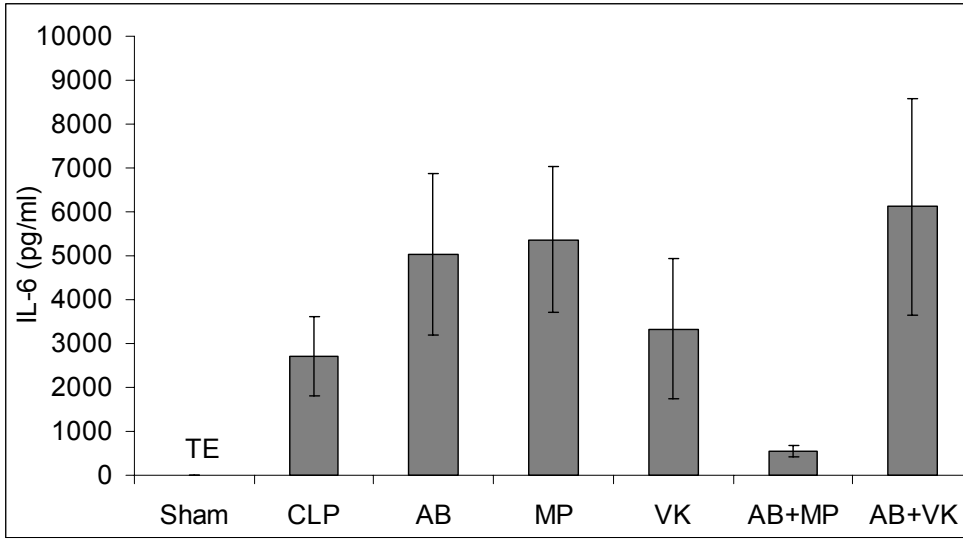
yakın olduğu dikkati çekti. Ayrıca, MP ile AB+MP grupları arasında da istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ ) fark vardı.



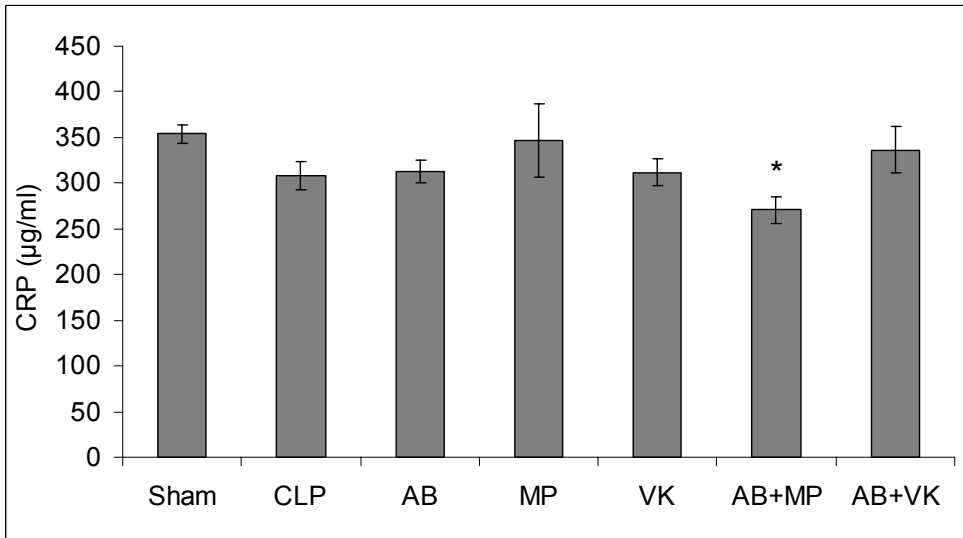
**Şekil 4.** Gruplardaki ortalama serum TNF- $\alpha$  seviyeleri ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P<0,05$ .



**Şekil 5.** Gruplardaki ortalama serum IL-1 $\beta$  seviyeleri ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P<0,05$ .



**Şekil 6.** Gruplardaki ortalama serum IL-6 seviyeleri ( $\pm$ : SEM). TE: Tespit Edilemedi. IL-6 seviyeleri Sham grubunda belirlenemediği için istatistik karşılaştırma yapılmadı.



**Şekil 7.** Gruplardaki ortalama serum CRP seviyeleri ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P < 0,05$ .

**Tablo 6.** Gruplardaki ortalama TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve CRP değerleri.

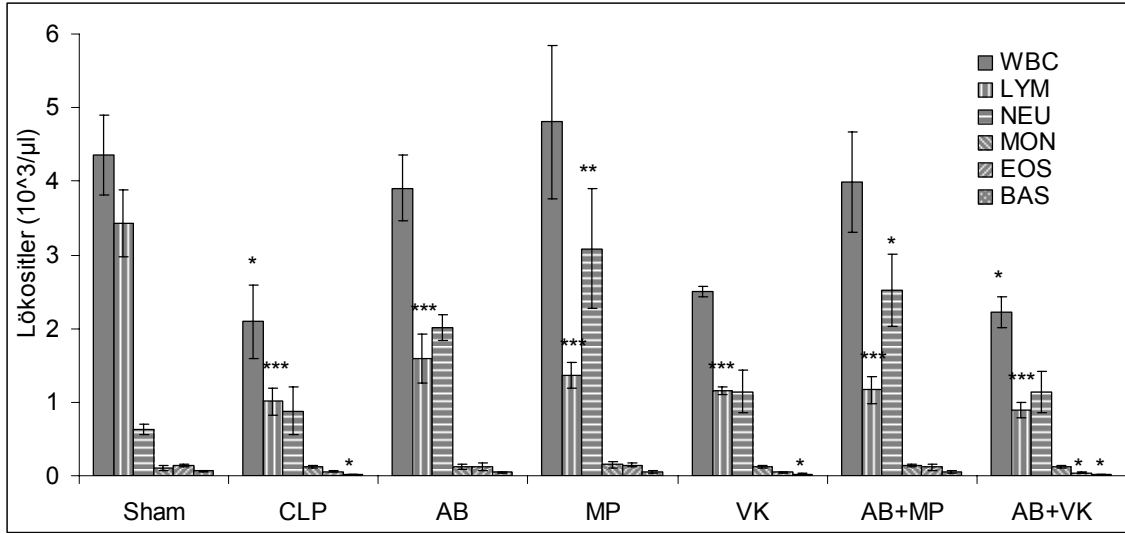
Gruplar	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6	CRP ( $\mu$ g/ml)
	pg/ml)	(pg/ml)	(pg/ml)	
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$
Sham (n=6)	58 $\pm$ 7	28 $\pm$ 9	TE	354 $\pm$ 10
CLP (n=6)	209 $\pm$ 50	63 $\pm$ 21	2710 $\pm$ 915	308 $\pm$ 16
AB (n=6)	162 $\pm$ 49	60 $\pm$ 21	5037 $\pm$ 1829	313 $\pm$ 13
MP (n=6)	136 $\pm$ 40	61 $\pm$ 18	5364 $\pm$ 1667	346 $\pm$ 40
VK (n=6)	189 $\pm$ 45	68 $\pm$ 11	3333 $\pm$ 1601	312 $\pm$ 15
AB+MP (n=6)	94 $\pm$ 28	38 $\pm$ 13	545 $\pm$ 122	271 $\pm$ 15
AB+VK (n=6)	175 $\pm$ 57	114 $\pm$ 26	6124 $\pm$ 2468	337 $\pm$ 26
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>				
Sham—CLP	<0,05	ö.d.	-	ö.d.
Sham—AB	ö.d.	ö.d.	-	ö.d.
Sham—MP	ö.d.	ö.d.	-	ö.d.
Sham—VK	ö.d.	ö.d.	-	ö.d.
Sham—AB+MP	ö.d.	ö.d.	-	<0,05
Sham—AB+VK	ö.d.	<0,05	-	ö.d.
CLP—AB	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	<0,05
MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB+MP—AB+VK	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.

İstatistiksel değerlendirmede 0,05'ten küçük P değeri önemli kabul edildi. ö.d.: Önemli değil. TE: Tespit edilmedi. Sham grubunda IL-6 tespit edilmediği için, bu grupta istatistik değerlendirme yapılmadı. Sham: Negatif kontrol grubu, CLP: Sepsis kontrol grubu, AB: Antibiyotik grubu, MP: Metil predinizon grubu, VK: Vitamin K grubu, AB+MP: Antibiyotik+Metil predinizon grubu, AB+VK: Antibiyotik+Vitamin K grubu.

## 4.2. Kan Sayımı

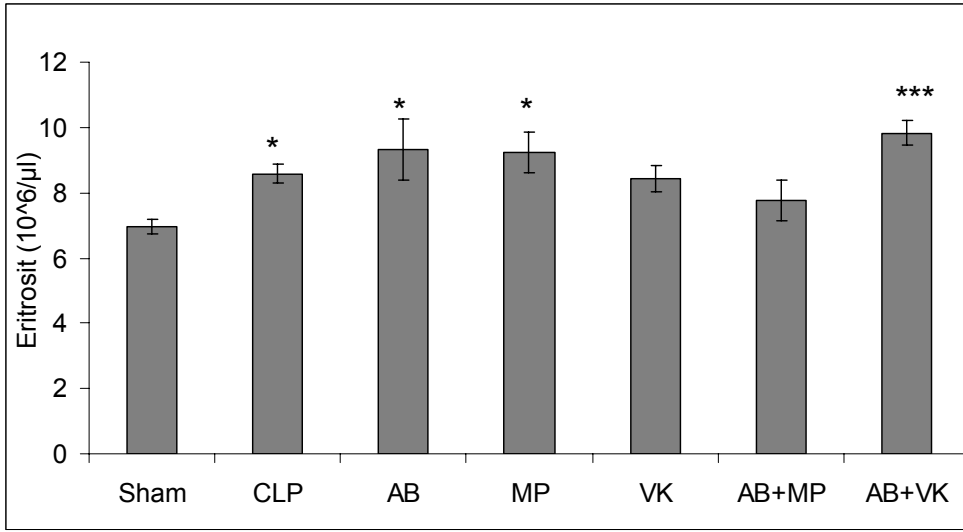
Gruplardaki ortalama lökosit değerleri Tablo 7’de ve Şekil 8’de gösterildi. Sham grubuna kıyasla, CLP ve AB+VK grubunun total lökosit sayılarının düşük olduğu belirlendi ( $P<0,05$ ). AB ve AB+MP gruplarının total lökosit sayılarında değişiklik olmazken, MP grubunda hafif bir yükselme görüldü. Ayrıca, MP ve AB+MP gruplarındaki total lökosit sayıları CLP grubundan yüksekti ( $P<0,05$ ). MP grubu ile VK ve AB+VK grupları arasında da fark ( $P<0,05$ ) vardı.

Sepsis oluşturulan tüm grupların lenfosit sayılarında Şiddetli bir düşme ( $P<0,001$ ) dikkati çekti. Sham grubuna kıyasla, MP ( $P<0,01$ ) ve AB+MP ( $P<0,05$ ) gruplarının nötrofil sayılarında istatistiksel olarak önemli yükselmeler belirlendi. Ayrıca, AB ( $P<0,05$ ) ve MP ( $P<0,01$ ) gruplarındaki nötrofil sayıları CLP grubundan daha yüksekti. VK ve AB+VK gruplarındaki nötrofil sayıları MP grubundan daha düşüktü ( $P<0,05$ ) vardı. AB+MP grubu ile VK ve AB+VK grupları arasında da fark ( $P<0,05$ ) vardı. Monosit sayılarında gruplar arası herhangi bir istatistiksel fark tespit edilmedi. Sham grubuna kıyasla, AB+VK grubunun eozinofil sayısında bir düşme ( $P<0,05$ ) belirlendi. Ayrıca, MP grubuna kıyasla, CLP, VK ve AB+VK gruplarındaki eozinofil sayıları daha düşüktü ( $P<0,05$ ). Sham grubuna kıyasla, CLP, VK ve AB+VK gruplarının bazofil sayılarında düşme ( $P<0,05$ ) olduğu belirlendi. Ayrıca, AB, MP ve AB+MP gruplarının bazofil sayıları CLP grubundan daha yüksekti ( $P<0,05$ ) vardı. AB+VK ile AB ve AB+MP grupları arasında önemli fark ( $P<0,05$ ) vardı. VK ve AB+VK gruplarının bazofil sayıları MP grubundan daha düşüktü ( $P<0,05$ ).

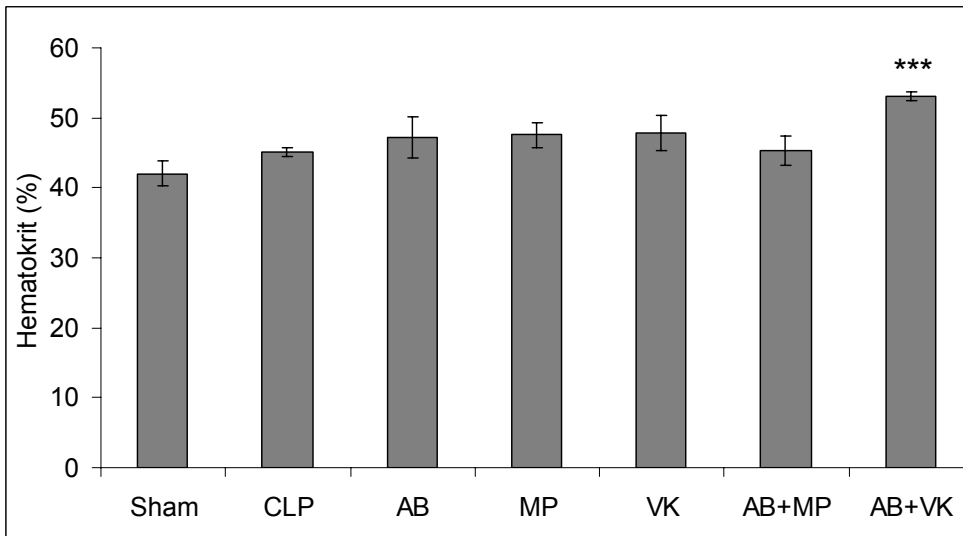


**Şekil 8.** Gruplardaki ortalama lökosit sayıları ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P<0,05$ , \*\*:  $P<0,01$  ve \*\*\*:  $P<0,001$ . WBC: Total Lökosit, LYM: Lenfosit, NEU: Nötrofil, MON: Monosit, EOS: Eozinofil ve BAS: Bazofil.

Gruplardaki ortalama eritrosit, hemoglobin ve trombosit değerleri Tablo 3'te gösterildi. Sham grubuna kıyasla, CLP ( $P<0,05$ ), AB ( $P<0,05$ ), MP ( $P<0,05$ ) ve AB+VK ( $P<0,001$ ) gruplarının ortalama eritrosit sayılarında artış belirlendi (Şekil 9). Ayrıca, AB+MP grubu ile AB+VK grupları arasında da önemli fark ( $P<0,05$ ) olduğu görüldü. Hematokrit değerlerinde de eritrosit sayılarında belirlenen artışlara benzer artışlar vardı (Şekil 10). Sham grubuna kıyasla AB+VK grubunun hematokrit değerlerinde istatistiksel olarak önemli ( $P<0,001$ ) bir artış tespit edildi. Ayrıca, AB+VK grubuna ait hematokrit değerinin CLP, AB, MP ve AB+MP gruplarından yüksek ( $P<0,05$ ) olduğu görüldü.



**Şekil 9.** Gruplardaki ortalama eritrosit sayıları ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P < 0,05$  ve \*\*\*:  $P < 0,001$ .



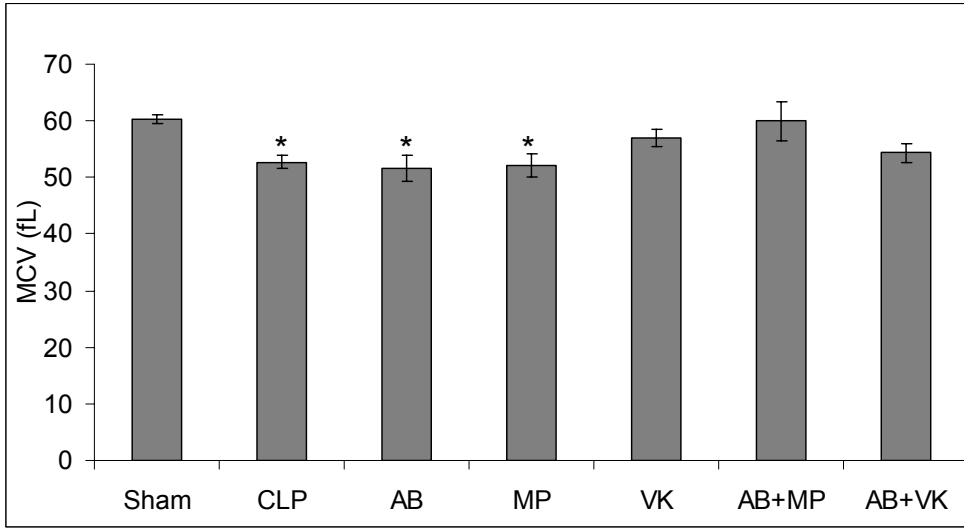
**Şekil 10.** Gruplardaki ortalama hematokrit yüzdeleri ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*\*\*:  $P < 0,001$ .



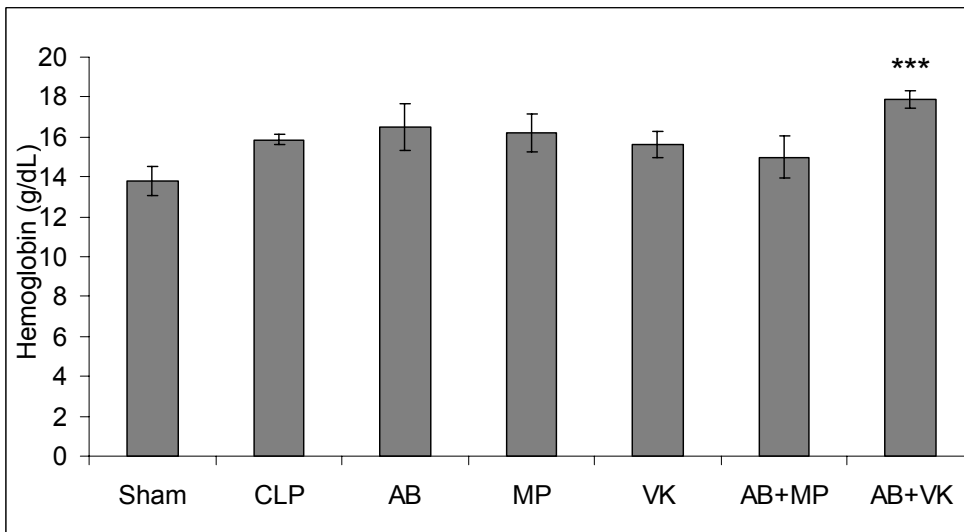
Sham ve AB+MP gruplarına kıyasla, CLP, AB ve MP gruplarının ortalama eritrosit hacimlerinin düşük ( $P<0,05$ ) olduğu belirlendi (Şekil 11). Sham ve AB+MP grupları birbirine yakın değerlere sahipti.

Hemoglobin miktarlarında hematokrit ve eritrosit sayılarında belirlenen artışlara benzer artışlar görüldü (Şekil 12). Sham grubuna kıyasla, AB+VK grubunun hemoglobin miktarında istatistiksel olarak önemli ( $P<0,001$ ) bir artış tespit edildi. Ayrıca, AB+MP ile AB+VK grupları arasında da istatistiksel fark ( $P<0,05$ ) vardı. Sham ve AB+MP gruplarında tespit edilen değerlerin birbirine yakın olduğu dikkati çekti.

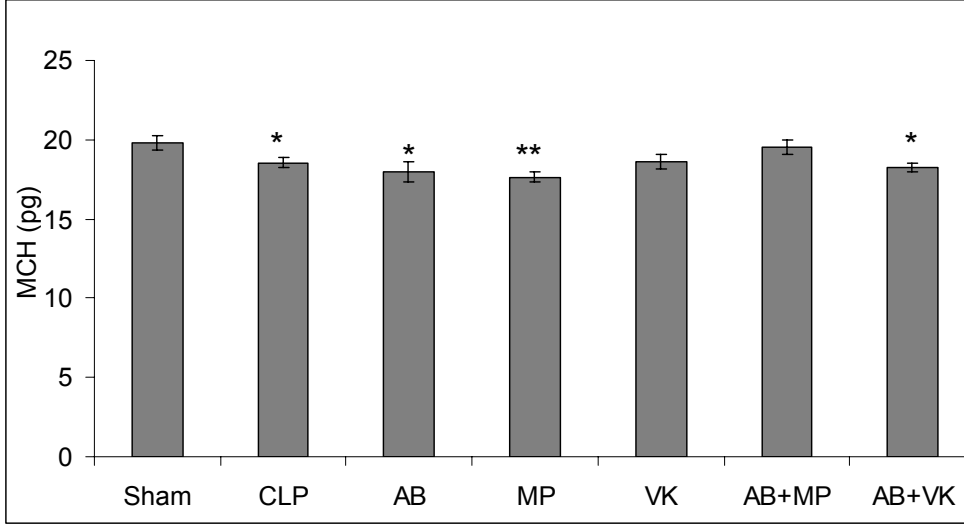
Sham grubuna kıyasla, CLP ( $P<0,05$ ), AB ( $P<0,05$ ), MP ( $P<0,01$ ) ve AB+VK ( $P<0,05$ ) gruplarının ortalama eritrosit hemoglobin miktarları düşüktü (Şekil 13). Ayrıca, AB+MP grubundaki ortalama eritrosit hemoglobin miktarın AB ve MP gruplarına kıyasla daha yüksek ( $P<0,05$ ) olduğu belirlendi. Sham grubu ile AB+MP gruplarında belirlenen değerlerin birbirine yakın olduğu görüldü.



**Şekil 11.** Gruplardaki ortalama MCV miktarları ( $\pm$ : SEM). MCV: ortalama eritrosit hacmi. Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P < 0,05$ .



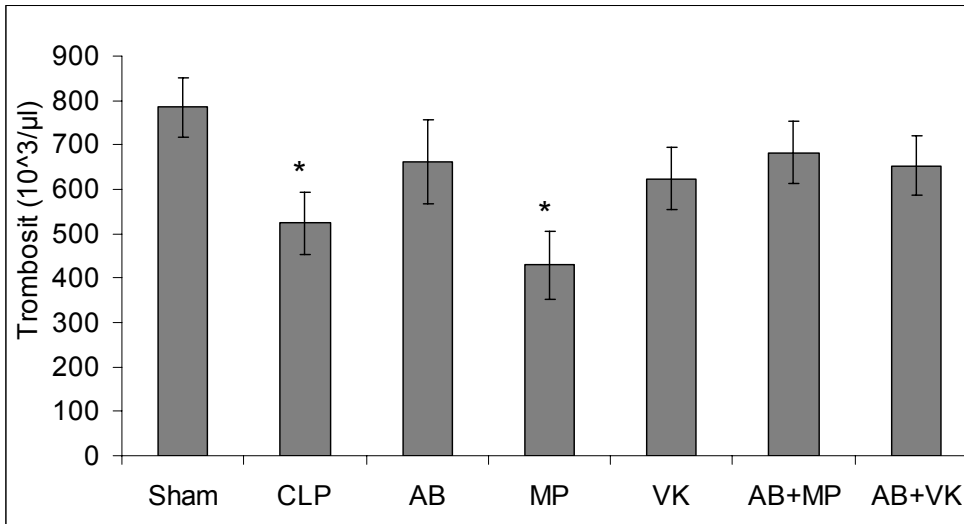
**Şekil 12.** Gruplardaki ortalama hemoglobin değerleri ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*\*\*:  $P < 0,001$ .



**Şekil 13.** Gruplardaki ortalama MCH değerleri ( $\pm$ : SEM). MCH: ortalama eritrosit hemoglobin miktarı. Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi.

\*:  $P < 0,05$  ve \*\*:  $P < 0,01$ .

Sepsis oluşturulan tüm gruplardaki ortalama trombosit sayılarının düşük seviyelerde olduğu belirlendi (Şekil 14). Sham grubuna kıyasla, CLP ve MP gruplarındaki trombosit sayılarının düşük ( $P<0,05$ ) olduğu görüldü. Ayrıca, MP ve AB+MP grupları arasında da istatistiksel bir fark ( $P<0,05$ ) olduğu belirlendi. Sepsis oluşturulan gruplardaki trombosit sayılarındaki düşmeler değerlendirildiğinde, en az düşmelerin antibiyotik uygulanan gruplarında olduğu dikkati çekti.



**Şekil 14.** Gruplardaki ortalama trombosit sayıları ( $\pm$ : SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P<0,05$ .

**Tablo 7.** Gruplardaki ortalama lökosit değerleri.

Gruplar	WBC	LYM	NEU	MON	EOS	BAS
	(10 <sup>3</sup> /μl)	(10 <sup>3</sup> /μl)	(10 <sup>3</sup> /μl)	(10 <sup>3</sup> /μl)	(10 <sup>3</sup> /μl)	(10 <sup>3</sup> /μl)
	$\bar{X} \pm SEM$	$\bar{X} \pm SEM$	$\bar{X} \pm SEM$	$\bar{X} \pm SEM$	$\bar{X} \pm SEM$	$\bar{X} \pm SEM$
Sham (n=6)	4,4±0,5	3,4±0,5	0,6±0,1	0,10±0,04	0,14±0,01	0,07±0,01
CLP (n=6)	2,1±0,5	1±0,2	0,9±0,3	0,12±0,03	0,06±0,01	0,02±0
AB (n=6)	3,9±0,4	1,6±0,3	2±0,2	0,12±0,04	0,12±0,05	0,05±0,01
MP (n=6)	4,8±1	1,4±0,2	3,1±0,8	0,16±0,04	0,15±0,03	0,06±0,01
VK (n=6)	2,5±0,1	1,2±0,1	1,1±0,3	0,13±0,02	0,05±0,01	0,02±0
AB+MP (n=6)	4±0,7	1,2±0,2	2,5±0,5	0,14±0,02	0,12±0,05	0,05±0,01
AB+VK (n=6)	2,2±0,2	0,9±0,1	1,1±0,3	0,12±0,01	0,04±0,01	0,02±0
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>						
Sham—CLP	<0,05	<0,001	ö.d.	ö.d.	ö.d.	<0,05
Sham—AB	ö.d.	<0,001	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—MP	ö.d.	<0,001	<0,01	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—VK	ö.d.	<0,001	ö.d.	ö.d.	ö.d.	<0,05
Sham—AB+MP	ö.d.	<0,001	<0,05	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—AB+VK	<0,05	<0,001	ö.d.	ö.d.	<0,05	<0,05
CLP—AB	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.	<0,05
CLP—MP	<0,05	ö.d.	<0,01	ö.d.	<0,05	<0,05
CLP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+MP	<0,05	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	<0,05
CLP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	<0,05
MP—VK	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05	<0,05
MP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+VK	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05	<0,05
VK—AB+MP	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB+MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.	<0,05

WBC: Total Lökosit, LYM: Lenfosit, NEU: Nötrofil, MON: Monosit, EOS: Eozinofil ve BAS: Bazofil. İstatistiksel değerlendirmede 0,05'ten küçük P değeri önemli kabul edildi. ö.d.: Önemli değil. Sham: Negatif kontrol grubu, CLP: Sepsis kontrol grubu, AB: Antibiyotik grubu, MP: Metil predinizonon grubu, VK: Vitamin K grubu, AB+MP: Antibiyotik+Metil predinizonon grubu, AB+VK: Antibiyotik+Vitamin K grubu.

**Tablo 8.** Gruplardaki (n=6) ortalama eritrosit, hemoglobin ve trombosit değerleri.

Gruplar	Eritrosit (10 <sup>6</sup> /μl)	HCT (%)	MCV (fL)	HGB (g/dl)	MCH (pg)	PLT (10 <sup>3</sup> /μl)
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$
Sham (n=6)	7±0,2	42±1,8	60,3±0,8	13,8±0,7	19,8±0,4	785±67
CLP (n=6)	8,6±0,3	45,1±0,7	52,8±1,2	15,9±0,3	18,6±0,4	526±71
AB (n=6)	9,3±0,9	47,3±2,9	51,6±2,3	16,5±1,2	17,9±0,6	661±94
MP (n=6)	9,2±0,6	47,6±1,8	52±2	16,2±0,9	17,6±0,3	429±77
VK (n=6)	8,4±0,4	47,9±2,5	57±1,6	15,6±0,7	18,6±0,4	624±71
AB+MP (n=6)	7,8±0,6	45,3±2,1	60±3,4	15±1,1	19,5±0,5	683±70
AB+VK (n=6)	9,8±0,4	53,1±0,6	54,3±1,6	17,9±0,4	18,2±0,3	654±68
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>						
Sham—CLP	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05	<0,05
Sham—AB	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.
Sham—MP	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,01	<0,05
Sham—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—AB+VK	<0,001	<0,001	ö.d.	<0,001	<0,05	ö.d.
CLP—AB	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+VK	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+MP	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.
AB—AB+VK	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05	<0,05
MP—AB+VK	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB+MP—AB+VK	<0,05	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.

HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, HGB: Hemoglobin, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobini ve MCHC: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu. İstatistiksel değerlendirmede 0,05'ten küçük P değeri önemli kabul edildi. ö.d.: Önemli değil. Sham: Negatif kontrol grubu, CLP: Sepsis kontrol grubu, AB: Antibiyotik grubu, MP: Metil predinizonon grubu, VK: Vitamin K grubu, AB+MP: Antibiyotik+Metil predinizonon grubu, AB+VK: Antibiyotik+Vitamin K grubu.

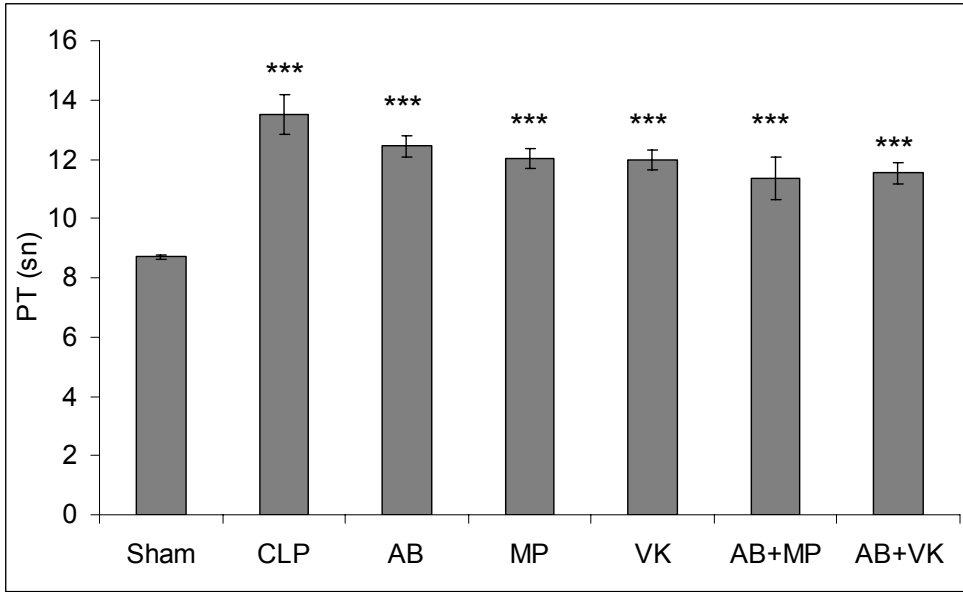
### 4.3. Koagülasyon Testleri

Gruplardaki ortalama koagülasyon testleri sonuçları Tablo 9’da gösterildi. Sepsis oluşturulan gruplardaki ortalama PT sürelerinin Sham grubuna kıyasla uzadığı ( $P<0,001$ ) belirlendi (Şekil 12). Ayrıca, CLP grubu ile MP, VK, AB+MP ve AB+VK grupları arasında da istatistiksel bir fark ( $P<0,05$ ) vardı. En fazla uzama CLP grubunda ve en az uzama ise AB+MP grubundaydı.

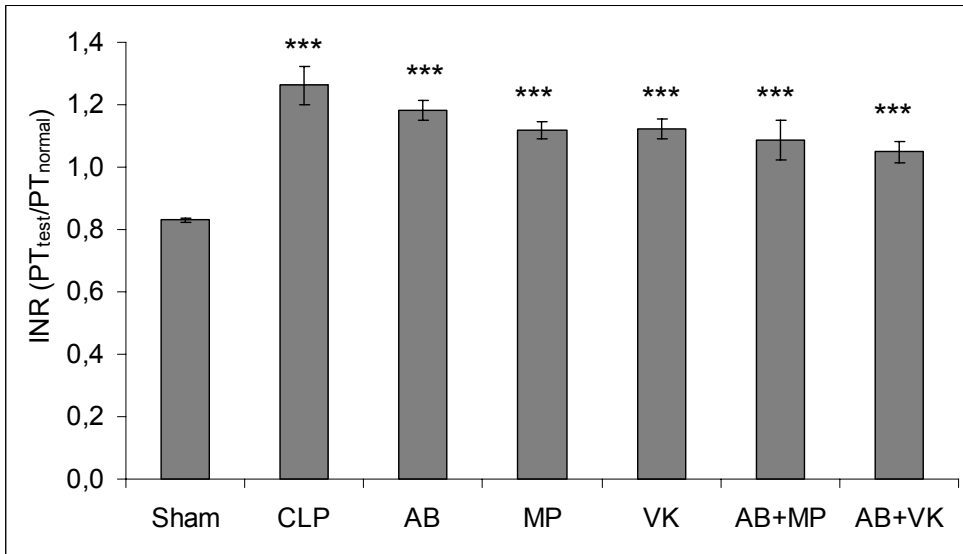
Tüm gruplarda ortalama INR oranlarında da PT sürelerinde elde edilen sonuçlara benzer bulgular tespit edildi (Şekil 13). Sepsis oluşturulan gruplardaki ortalama INR oranlarının Sham grubuna kıyasla uzadığı ( $P<0,001$ ) görüldü.

Sepsis oluşturulan gruplardaki ortalama aPPT sürelerinin Sham grubuna kıyasla göreceli olarak uzadığı belirlendi (Şekil 17). CLP grubundaki ortalama aPPT süresi Sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksekti ( $P<0,05$ ). Diğer gruplarda ise istatistiksel olarak önemli olmayan yükselmeler vardı ( $P>0,05$ ).

Sepsis oluşturulan tüm gruplardaki ortalama ACT sürelerinin Sham grubuna kıyasla kısaldığı ( $P<0,001$ ) görüldü (Şekil 18). Sepsisli gruplar içinde en kısa ACT süresi CLP grubunda ve en uzun ACT süresi ise AB+MP grubundaydı. Ayrıca, CLP grubu ile AB+MP ve AB+VK grupları arasında da istatistiksel bir fark ( $P<0,05$ ) vardı.

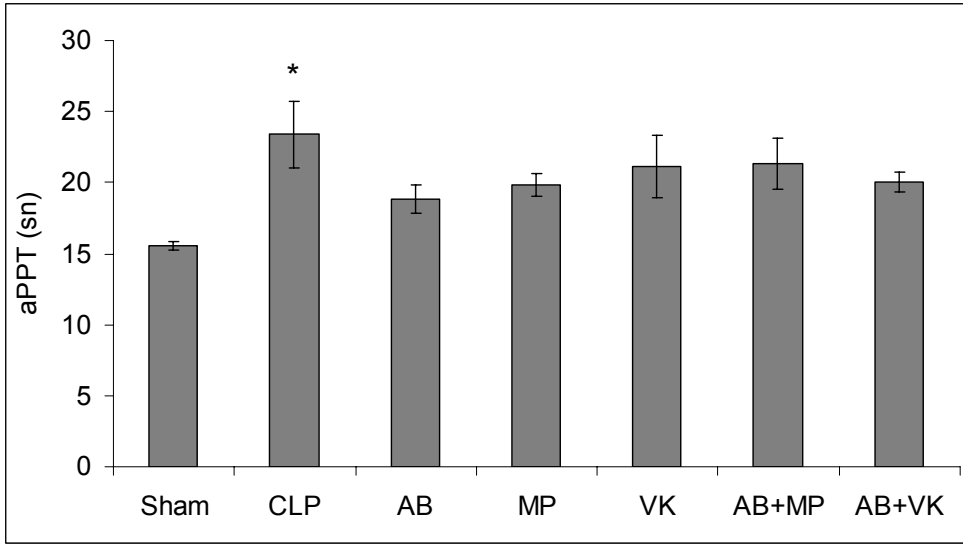


**Şekil 15.** Gruplardaki ortalama PT süreleri ( $\pm$ :SEM). PT: protrombin zamanı. Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*\*\*:  $P < 0,001$ .

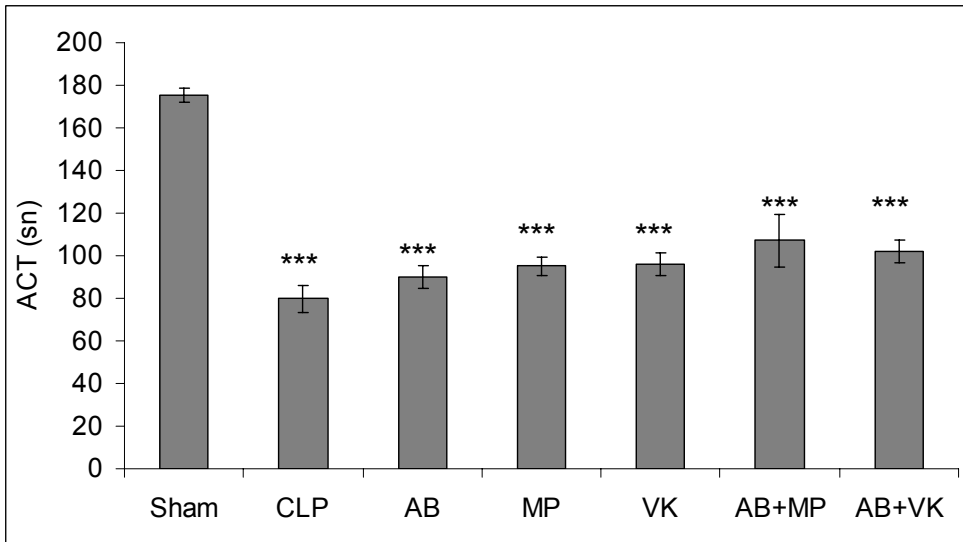


**Şekil 16.** Gruplardaki ortalama INR değerleri ( $\pm$ :SEM). INR: uluslararası normalleştirilmiş oran. Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*\*\*:  $P < 0,001$ .





**Şekil 17.** Gruplardaki ortalama aPPT süreleri ( $\pm$ :SEM). aPPT: aktiflenmiş kısmi protrombin zamanı. Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*:  $P < 0,05$ .



**Şekil 18.** Gruplardaki ortalama ACT süreleri ( $\pm$ : SEM). ACT: aktiflenmiş pıhtılaşma süresi. Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*\*\*:  $P < 0,001$ .

**Tablo 9.** Gruplardaki ortalama koagülasyon testleri sonuçları.

Gruplar	PT	INR	aPPT	ACT
	(sn)	(PT <sub>test</sub> /PT <sub>normal</sub> )	(sn)	(sn)
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$
Sham (n=6)	8,7±0,1	0,8±0,01	15,6±0,3	175,5±3,3
CLP (n=6)	13,5±0,7	1,3±0,06	23,4±2,3	79,8±6,3
AB (n=6)	12,5±0,4	1,2±0,03	18,8±1	89,9±5,4
MP (n=6)	12±0,3	1,1±0	19,9±0,8	95,1±4,2
VK (n=6)	12±0,3	1,1±0	21,1±2,2	95,9±5,2
AB+MP (n=6)	11,4±0,7	1,1±0,06	21,4±1,8	107,3±12,3
AB+VK (n=6)	11,5±0,4	1±0	20±0,7	102±5,3
İstatistiksel Değerlendirme				
Sham—CLP	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001
Sham—AB	<0,001	<0,001	ö.d.	<0,001
Sham—MP	<0,001	<0,001	ö.d.	<0,001
Sham—VK	<0,001	<0,001	ö.d.	<0,001
Sham—AB+MP	<0,001	<0,001	ö.d.	<0,001
Sham—AB+VK	<0,001	<0,001	ö.d.	<0,001
CLP—AB	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—MP	<0,05	<0,05	ö.d.	ö.d.
CLP—VK	<0,05	<0,05	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+MP	<0,05	<0,05	ö.d.	<0,05
CLP—AB+VK	<0,05	<0,05	ö.d.	<0,05
AB—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB+MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.

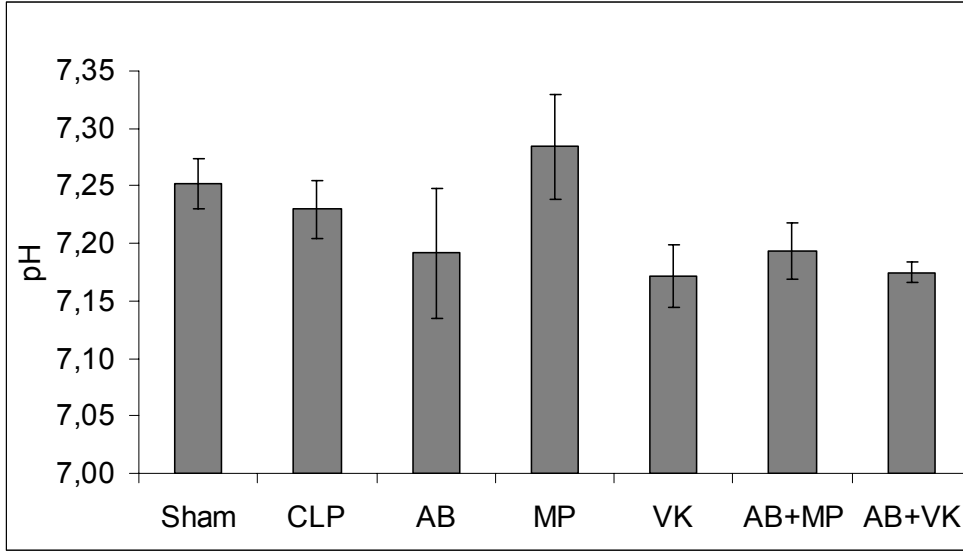
PT: protrombin zamanı, INR: uluslar arası normalleştirilmiş oran, aPPT: aktiflenmiş kısmi protrombin zamanı ve ACT: aktiflenmiş pıhtılaşma zamanı. İstatistiksel değerlendirmede 0,05'ten küçük P değeri önemli kabul edildi. ö.d.: Önemli değil. Sham: Negatif kontrol grubu, CLP: Sepsis kontrol grubu, AB: Antibiyotik grubu, MP: Metil prednizolon grubu, VK: Vitamin K grubu, AB+MP: Antibiyotik+Metil prednizolon grubu, AB+VK: Antibiyotik+Vitamin K grubu.

#### 4.4. Kan Gazları ve Elektrolitler

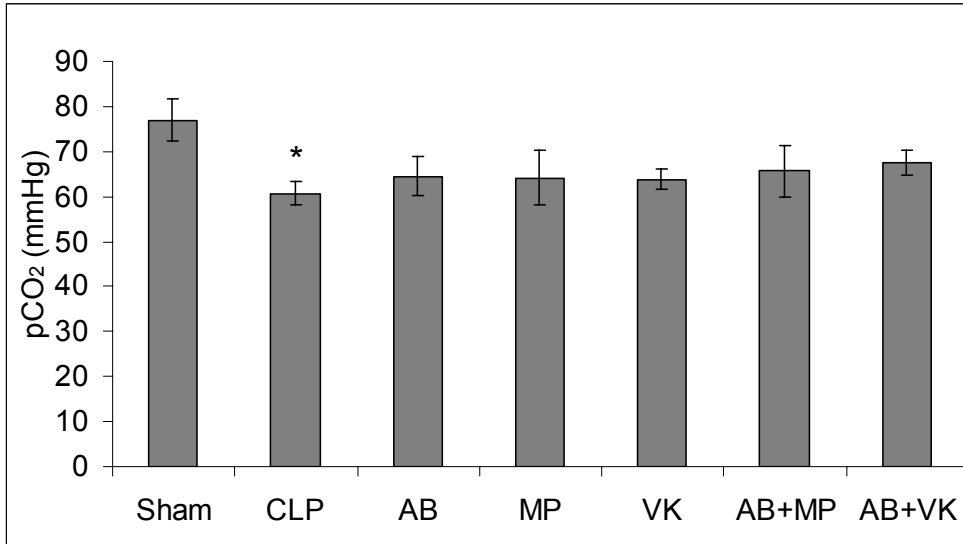
Gruplardaki ortalama kan gazları analizi sonuçları Tablo 10'da gösterildi. Ortalama pH değerlerinde gruplar arası istatistiksel bir fark tespit edilmedi (Şekil 19). Sham grubuna kıyasla, istatistiksel önemi olmayan en yüksek pH değeri MP grubunda ve en düşük pH değeri de AB+VK grubundaydı.

Sepsis oluşturulan gruplardaki  $pCO_2$  basınçlarındaki seviyelerin düşük olması dikkati çekti (Şekil 20). Sham grubuna kıyasla, CLP grubundaki ortalama  $pCO_2$  basıncında istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ ) bir düşme vardı.

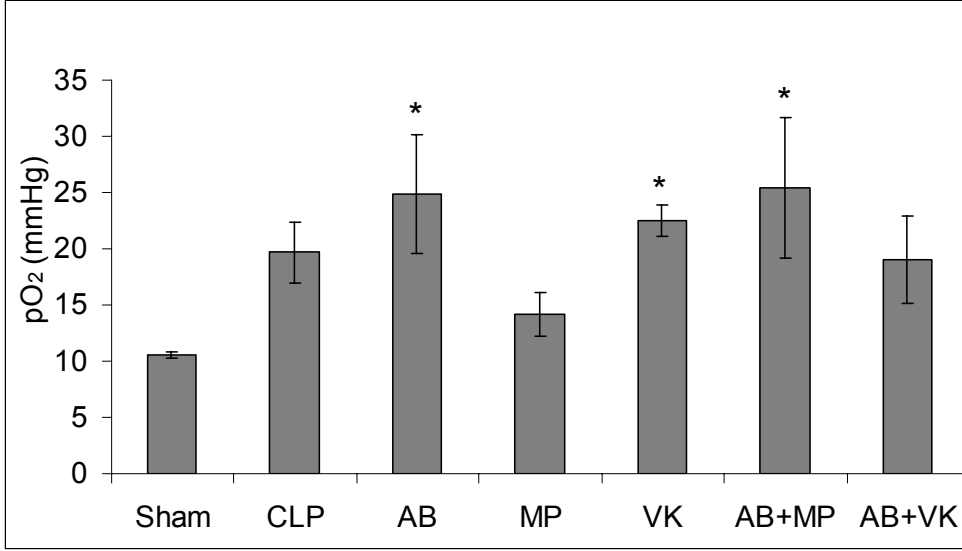
Ortalama  $pCO_2$  basınçlarında elde edilen verilere zıt olarak, sepsis oluşturulan gruplardaki ortalama  $pO_2$  basınçlarındaki seviyeler yüksekti (Şekil 21). AB, VK ve AB+MP gruplarındaki ortalama  $pO_2$  basınçlarında Sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ ) bir yükselmenin olduğu belirlendi. En yüksek  $pO_2$  değeri AB ve AB+MP gruplarındaydı.



**Şekil 19.** Gruplardaki ortalama kan pH'ları (±: SEM).



**Şekil 20.** Gruplardaki ortalama pCO<sub>2</sub> basınçları (±: SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi.\*: P<0,05.

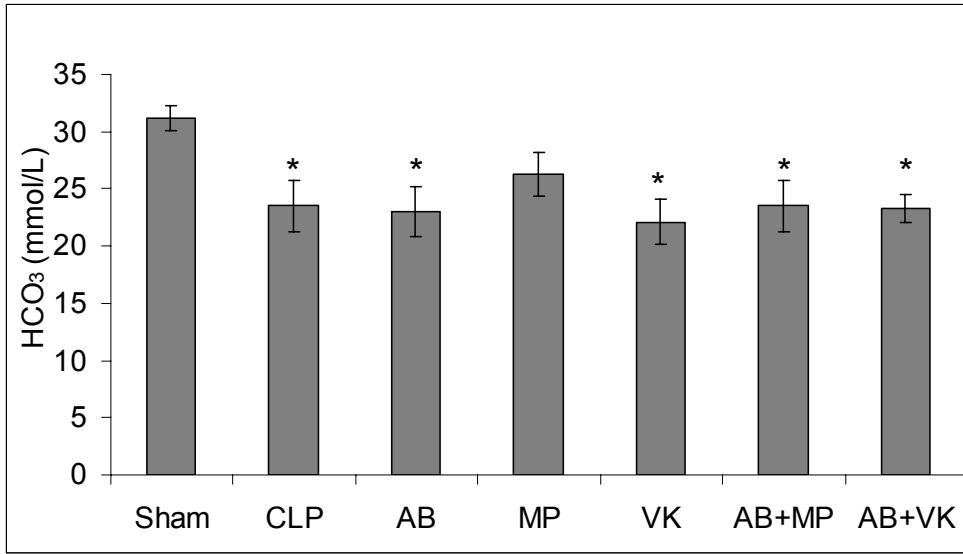


**Şekil 21.** Gruplardaki ortalama pO<sub>2</sub> basınçları (±: SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi.\*: P<0,05.

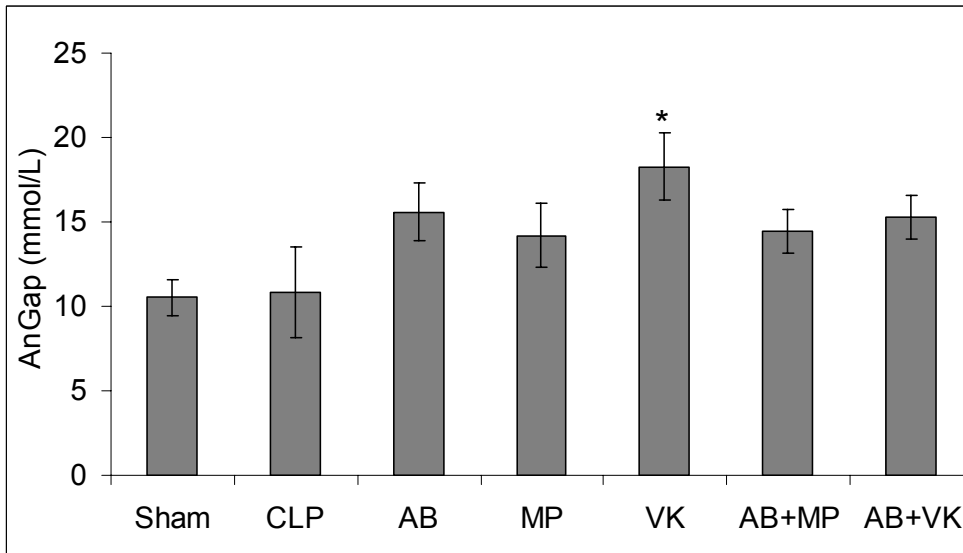
Sham grubuna kıyasla, sepsis oluşturulan gruplardan CLP, AB, VK, AB+MP ve AB+VK gruplarındaki ortalama  $\text{HCO}_3^-$  miktarlarında anlamlı ( $P<0,05$ ) düşmelerin olduğu görüldü (Şekil 22). MP grubunda ise istatistiksel olarak önemli olmayan ( $P>0,05$ ) bir düşme olduğu belirlendi.

Sham grubuna kıyasla, VK grubunda ortalama AnGap miktarında önemli ( $P<0,05$ ) bir yükselmenin olduğu görüldü (Şekil 23). AB, MP, AB+MP ve AB+VK gruplarında ise istatistiksel olarak önemli olmayan ( $P>0,05$ ) yükselmelerin olduğu tespit edildi.

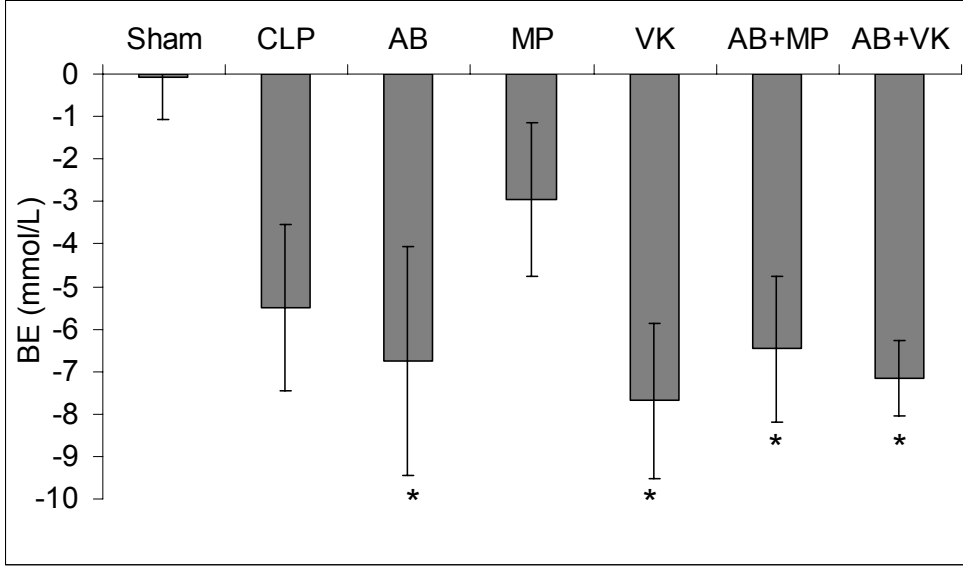
Sepsis oluşturulan gruplardan AB, VK, AB+MP ve AB+VK gruplarında Sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ( $P<0,05$ ) baz açıklarının olduğu görüldü (Şekil 24). CLP ve MP gruplarında da istatistiksel olarak önemli olmayan ( $P>0,05$ ) bir baz açığı vardı. Sham grubunda elde edilen baz açığının 0'a yakın olduğu dikkati çekti.



**Şekil 22.** Gruplardaki ortalama HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> miktarları (± SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi.\*: P<0,05.



**Şekil 23.** Gruplardaki ortalama AnGap miktarları (± SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi.\*: P<0,05.



**Şekil 24.** Gruplardaki ortalama BE miktarları ( $\pm$ : SEM). BE: baz açığı. Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi.\*:  $P<0,05$ .



**Tablo 10.** Gruplardaki ortalama kan gazları parametreleri.

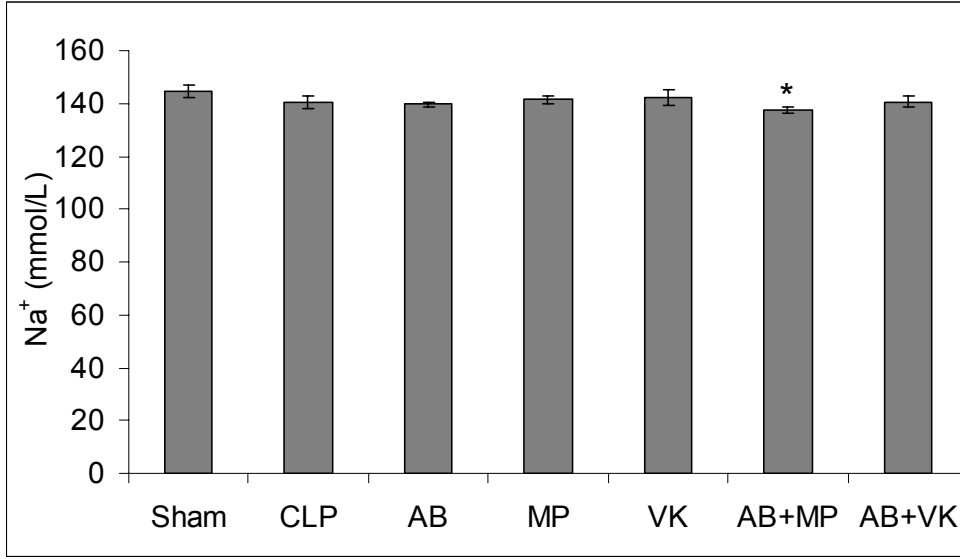
Gruplar	pH $\bar{X} \pm \text{SEM}$	pCO <sub>2</sub> (mmHg) $\bar{X} \pm \text{SEM}$	pO <sub>2</sub> (mmHg) $\bar{X} \pm \text{SEM}$	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l) $\bar{X} \pm \text{SEM}$	AnGap (mmol/l) $\bar{X} \pm \text{SEM}$	BE (mmol/l) $\bar{X} \pm \text{SEM}$
Sham (n=6)	7,25±0,02	77±4,6	10,5±0,3	31,2±1,1	10,5±1,1	-0,1±1
CLP (n=6)	7,23±0,03	60,7±2,6	19,7±2,7	23,5±2,2	10,9±2,7	-5,5±2
AB (n=6)	7,19±0,06	64,5±4,3	24,8±5,3	23,1±2,2	15,6±1,7	-6,8±2,7
MP (n=6)	7,28±0,05	64,2±6	14,2±2	26,3±1,9	14,2±1,9	-3±1,8
VK (n=6)	7,17±0,03	63,8±2,2	22,5±1,4	22,1±2	18,3±2	-7,7±1,8
AB+MP (n=6)	7,19±0,02	65,7±5,7	25,4±6,2	23,5±2,3	14,4±1,3	-6,5±1,7
AB+VK (n=6)	7,18±0,01	67,5±2,6	19±3,9	23,3±1,3	15,3±1,3	-7,2±0,9
<b>İstatistiksel Değerlendirme</b>						
Sham—CLP	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05	ö.d.	ö.d.
Sham—AB	ö.d.	ö.d.	<0,05	<0,05	ö.d.	<0,05
Sham—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—VK	ö.d.	ö.d.	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Sham—AB+MP	ö.d.	ö.d.	<0,05	<0,05	ö.d.	<0,05
Sham—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.	<0,05
CLP—AB	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	<0,05	ö.d.
CLP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB+MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.	ö.d.

İstatistiksel değerlendirilmede 0,05'ten küçük P değeri önemli kabul edildi. ö.d.: Önemli değil. Sham: Negatif kontrol grubu, CLP: Sepsis kontrol grubu, AB: Antibiyotik grubu, MP: Metil prednizolon grubu, VK: Vitamin K grubu, AB+MP: Antibiyotik+Metil prednizolon grubu, AB+VK: Antibiyotik+Vitamin K grubu.

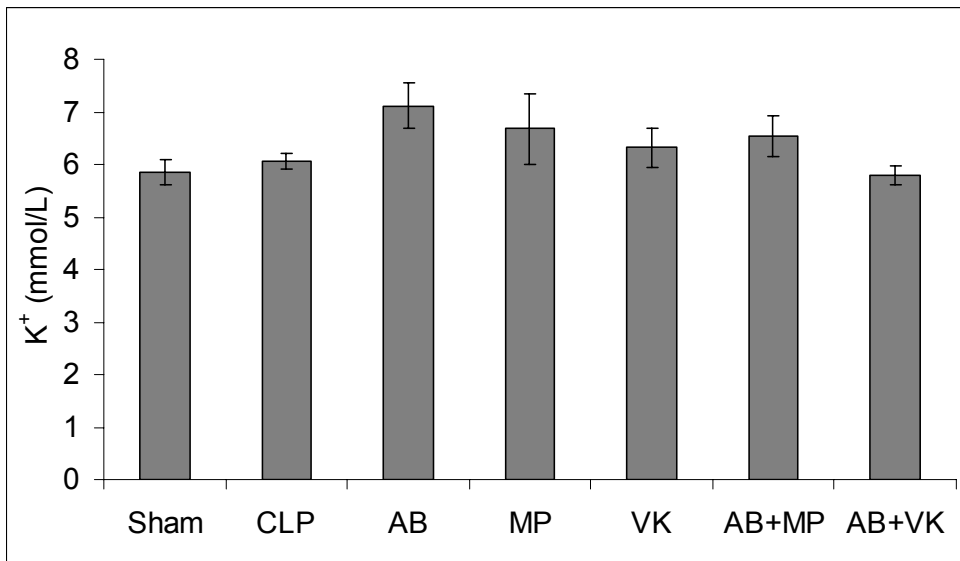
Gruplardaki ortalama kan elektrolit analizi sonuçları Tablo 11’de gösterildi. AB+MP grubundaki ortalama  $\text{Na}^+$  değerlerinde Sham grubuna kıyasla bir düşme ( $P<0,05$ ) olduğu tespit edilirken, diğer sepsis oluşturulan gruplardaki düşmelerin anlamlı olmadığı görüldü (Şekil 25).

Sepsis oluşturulan gruplardan AB, MP ve AB+MP gruplarındaki ortalama  $\text{K}^+$  miktarlarında istatistiksel önemi olmayan artışlar vardı (Şekil 26).

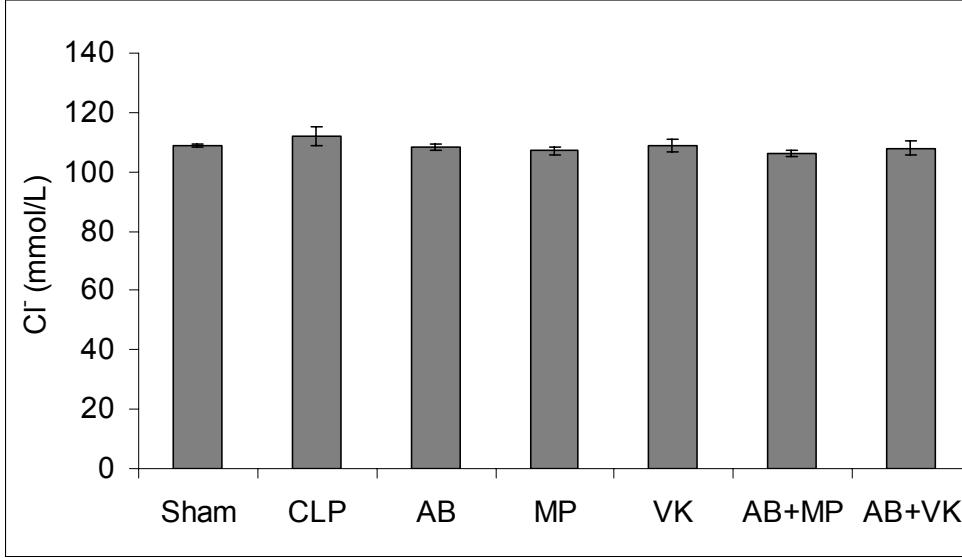
Sepsis oluşturulan gruplarda ortalama  $\text{Cl}^-$  konsantrasyonunda Sham grubuna kıyasla önemli bir değişiklik tespit edilmezken, CLP ve AB+MP grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olduğu görüldü (Şekil 27).



**Şekil 25.** Gruplardaki ortalama Na<sup>+</sup> miktarları (±: SEM). Grafik üzerinde Sham grubu ile çalışma grupları arasındaki istatistiksel fark gösterildi. \*: P<0,05.



**Şekil 26.** Gruplardaki ortalama K<sup>+</sup> miktarları (±: SEM).



Şekil 27. Gruplardaki ortalama Cl<sup>-</sup> miktarları (±: SEM).

**Tablo 11.** Gruplardaki ortalama elektrolit parametreleri.

Gruplar	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	Cl <sup>-</sup> (mmol/L)
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$
Sham (n=6)	144±2,4	5,9±0,2	109±0,7
CLP (n=6)	140±2,3	6,1±0,1	112±3,1
AB (n=6)	140±1	7,1±0,4	108±1
MP (n=6)	141±1,3	6,7±0,7	107±1,3
VK (n=6)	143±3	6,3±0,4	109±2,2
AB+MP (n=6)	138±1,1	6,5±0,4	106±1
AB+VK (n=6)	141±2	5,8±0,2	108±2,3
İstatistiksel Değerlendirme			
Sham—CLP	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—AB	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
Sham—AB+MP	<0,05	ö.d.	ö.d.
Sham—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
CLP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	<0,05
CLP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.
MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+MP	ö.d.	ö.d.	ö.d.
VK—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.
AB+MP—AB+VK	ö.d.	ö.d.	ö.d.

İstatistiksel değerlendirmede 0,05'ten küçük P değeri önemli kabul edildi. ö.d.: Önemli değil. Sham: Negatif kontrol grubu, CLP: Sepsis kontrol grubu, AB: Antibiyotik grubu, MP: Metil predinizonon grubu, VK: Vitamin K grubu, AB+MP: Antibiyotik+Metil predinizonon grubu, AB+VK: Antibiyotik+Vitamin K grubu.

#### 4.5. Yaşam Süreleri ve Hayatta Kalma Oranları

Sepsis oluşturulduktan sonra hayvanların yaşam süreleri (ölüm saatleri) Şekil 28'de gösterildi. Sham grubunda sepsis oluşturulmadı ve hiç ölüm görülmedi. Sepsis oluşturulan gruplardan CLP'de 6, AB'de 2, MP'de 6, VK'da 6, AB+MP'de 2 ve AB+VK'da 4 hayvan öldü. Gruplardaki diğer hayvanlar yaşadı. Gruplardaki ölen hayvanların ölüm saatleri ortalamaları CLP'de  $24,5 \pm 4,3$ , AB'de  $20 \pm 4$  MP'de  $22,2 \pm 2,4$ , VK'da  $20,2 \pm 2,5$ , AB+MP'de  $31 \pm 8$  ve AB+VK'da  $20,8 \pm 0,5$ 'ti (Tablo 12). CLP, MP ve VK gruplarındaki hayvanların tamamının öldüğü dikkati çekti. AB ve AB+MP gruplarında 2'şer hayvan ölmesine rağmen, AB+MP grubundaki ölen hayvanların ölüm saatlerinin AB grubundan daha sonra olduğu görüldü.

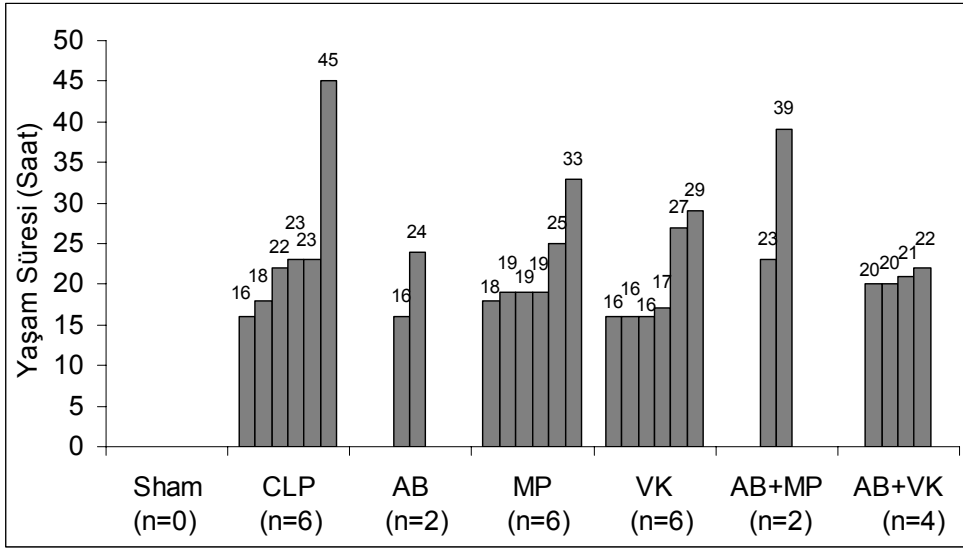
**Tablo 12.** Gruplardaki ölen hayvanların ölüm saatlerinin ortalamaları.

	Sham (n=0)	CLP (n=6)	AB (n=2)	MP (n=6)	VK (n=6)	AB+MP (n=2)	AB+VK (n=4)
Ölüm Saati	0	$24,5 \pm 4,3$	$20 \pm 4$	$22,2 \pm 2,4$	$20,2 \pm 2,5$	$31 \pm 8$	$20,8 \pm 0,5$

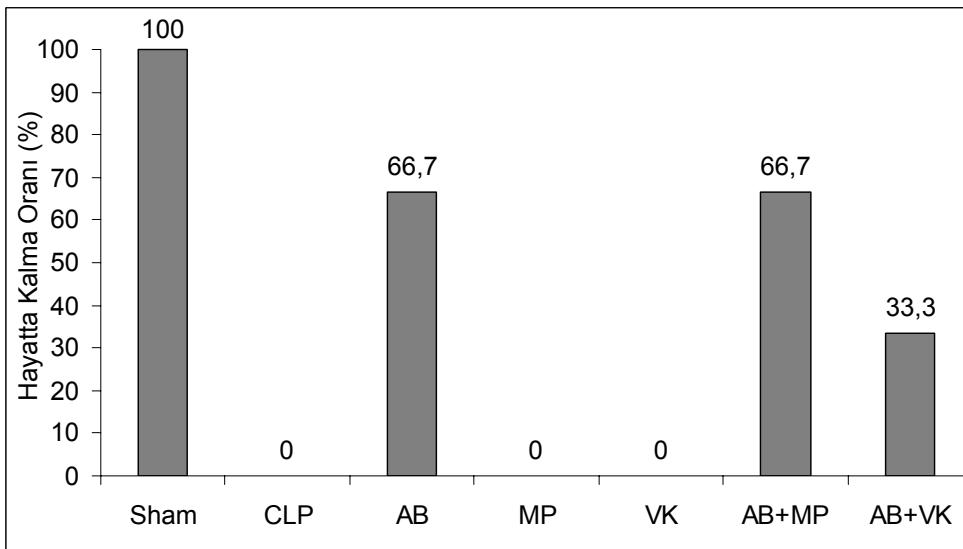
Gruplardaki hayvanlardan 7. günün sonunda hala yaşayan hayvanların grubun tamamına oranları Şekil 29'da gösterildi. Sham grubundaki hayvanların tamamı yaşadı. AB, AB+MP ve AB+VK gruplarındaki hayatta kalma oranları sırasıyla % 66,7, % 66,7 ve 33,3'tü. AB ve AB+MP gruplarındaki hayatta kalma oranlarının aynı olması dikkati çekti.

Gruplardaki hayvanların hayatta kalma oranlarının yaşam süreleri ile ilişkisi Şekil 30'da gösterildi. Sepsis oluşturulduktan sonraki 7. gün hala yaşayan hayvanlar sakrifiye edildi ve bu süre grafik üzerinde yaşam süresi olarak gösterildi. Ölümünün

çoğunlukla 16. ve 25. saatler arasında yoğunlaştığı dikkati çekmektedir. AB ve AB+MP gruplarında aynı hayatta kalma oranları olmasına karşılık yaşam süresinin AB+MP grubunda daha uzun olduğu görülmektedir. VK grubunda görülen ölümlerin 16. saatte yoğunlaşarak, bu gruptaki hayatta kalma oranının diğer gruplara göre daha hızlı bir şekilde azaldığı anlaşıldı. AB+VK grubunda da ölümlerin hızlı şekillenmesine karşılık, bu gruptan 2 hayvanın ölmemesi, hayatta kalma oranının % 33,3'te kalmasına neden oldu.

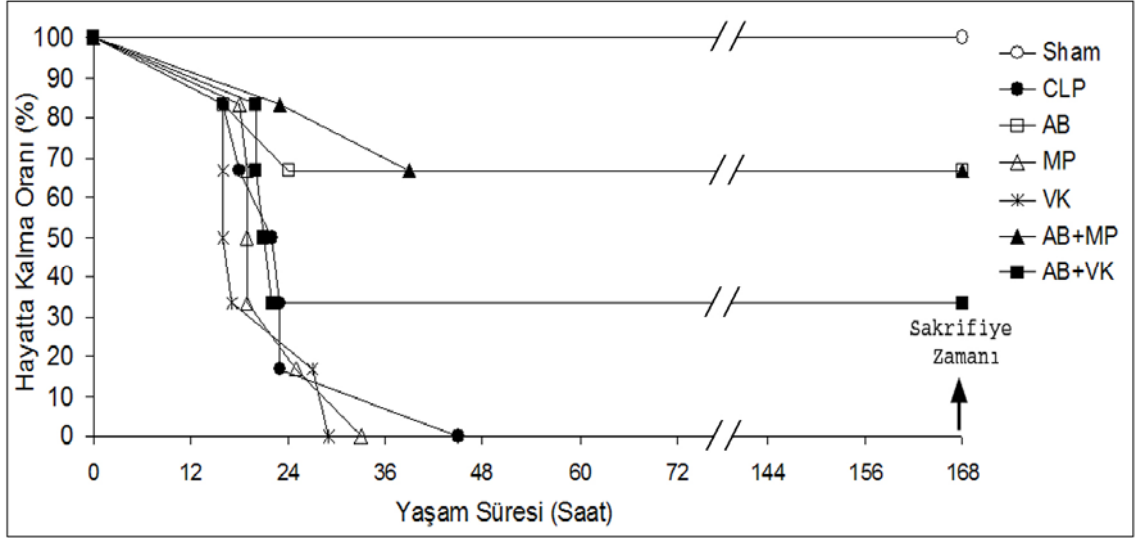


**Şekil 28.** Gruplardaki ölen hayvanların sepsis oluşturulduktan sonraki yaşam süreleri (Ölüm saati). Sham grubunda batın açıldı-kapatıldı, sepsis oluşturulmadı ve ölüm görülmedi. Sepsis oluşturulan gruplardan CLP’de 6, AB’de 2, MP’de 6, VK’da 6, AB+MP’de 2 ve AB+VK’da 4 hayvan öldü.



**Şekil 29.** Gruplardaki hayvanların (n=6) hayatta kalma oranları.





**Şekil 30.** Gruplardaki hayvanların (n=6) hayatta kalma oranlarının yaşam süreleri ile ilişkisi. Sepsis oluşturulduktan sonraki 7. gün (168. saat) hala yaşayan hayvanlar sakrifiye edildi.

#### 4.6. Kan Kùltürlerinde İzole Edilen Mikroorganizmalar

Gruplardaki hayvanlardan kan kùltürü şişelerine alınan kan örneklerinden izole edilen mikroorganizma türleri ve sayıları Tablo 13'de gösterildi. Sham grubunda sadece bir hayvandan alınan örnekte bakteriyolojik üreme tespit edildi. Bu örnekte *Enterococcus spp.* ve *Klebsiella pneumonia* olmak üzere iki tür mikroorganizma izole edildi. Sepsis oluşturulan gruplardaki hayvanlardan CLP, MP ve VK gruplarındaki tüm hayvanların örneklerinde en az bir mikroorganizma üredi. Bu gruplarda en çok *E. coli* ve *Enterococcus spp.* izole edildi. MP grubunda sadece *E. coli* ürediği belirlendi. Bazı örneklerde birden fazla mikroorganizma üredi. Sepsis oluşturulan gruplardan AB grubunda 5, AB+MP ve AB+VK gruplarında ise 4'er hayvanın kan kùltürü örneklerinde üreme olduğu dikkati çekti.

**Tablo 13.** Gruplardaki hayvanların kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizma türleri ve sayıları.

	Sham (n=6)	CLP (n=6)	AB (n=6)	MP (n=6)	VK (n=6)	AB+MP (n=6)	AB+VK (n=6)
Üreme olan kan kültürü şişesi	1	6	5	6	6	4	4
<i>E. coli</i>	-	4	3	6	4	1	3
Enterococcus spp.	1	3	2	-	3	1	2
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	-	1	-	-	2	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1	-	-	-	-	-	-
Klostridium spp.	-	-	1	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	-	1	-	-

Gruplardaki bazı hayvanlardan alınan kan kültürü şişelerinde hiç üreme olmazken, bazılarında birden fazla mikroorganizma ürediği için, elde edilen toplam sayılarda gruptaki normal hayvan sayılarından farklı sayılar elde edildi. Sham: Negatif kontrol grubu, CLP: Sepsis kontrol grubu, AB: Antibiyotik grubu, MP: Metil prednizolon grubu, VK: Vitamin K grubu, AB+MP: Antibiyotik+Metil prednizolon grubu, AB+VK: Antibiyotik+Vitamin K grubu.

## 5. TARTIŞMA

İnsanlarda kesici-delici aletlerle yaralanmalar, barsak perforasyonları veya herhangi bir lokal bakteriyal odağın generalize olması gibi nedenlerle oluşabilen sepsis önemli klinik bir problemdir. Sepsis'in etiyolojisinde septik peritonitis de önemli bir yere sahiptir. İlk deneysel peritonit çalışması 1905 yılında Kindborg tarafından farelerin peritonuna letal doz pnömokok enjeksiyonu verilerek yapıldı.<sup>106</sup> Bu tarihten günümüze kadar çeşitli deneysel peritonitis ve sepsis modelleri kullanılarak araştırmalar devam etti. Sıçanlarda CLP yöntemiyle oluşturulan septik peritonitis modeli insanlarda karşılaşılan sepsis ve septik şok tablosunun araştırılması için geliştirilen deneysel bir yöntemdir.<sup>105</sup> Bu yöntemde çekumun delinmesiyle ilk önce çekal içerik peritona sızar, burada oluşan fekal kontaminasyon ve bakteriyal kolonizasyon sonrasında bakteriyemi, diğer organların etkilenmesi ve vücudun doğal cevabı neticesinde de septisemi oluşur. Bu çalışmada çekal ligasyon ve delme yöntemi kullanarak deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda sitokin cevabı, hemogram, koagülasyon testleri, kan gazları analizi ve yaşam süreleri birlikte değerlendirilerek antibiyotik, kortikosteroid ve vitamin K uygulamalarının etkinliği araştırıldı. Elde edilen veriler CLP oluşturulan ve herhangi bir ilaç verilmeyen hayvanlarda pro-inflamatuar sitokin seviyelerindeki artış başta olmak üzere önemli laboratuvar değişikliklerin oluştuğunu gösterdi. İlaç uygulanan gruplarda elde edilen farklı laboratuvar bulgular yaşam süreleri ile karşılaştırılarak yorumlandı.

Sepsis ve septik şok hasar bölgesinden uzaktaki organlarda fonksiyon bozukluğu ile birlikte organ yetmezliklerinin gelişmesine neden olabilen ağır bir sendromdur.<sup>107</sup> Sitokinler hücrelere işaret veren ve pek çok dokuda uygun reseptörlere bağlanarak bağışıklık cevabını yöneten küçük pleiotropik proteinlerdir.<sup>7</sup> Sepsis'te pro-inflamatuar

sitokinlerin ortaya çıkmasından belli bir süre sonra sitokin fırtınası şeklinde anti-inflamatuar sitokinlerin ağır basması immünsüpresyon ile karşımıza çıkmaktadır.<sup>5,108</sup> Sepsisin patogenezinde sitokinlerin önemli bir yer teşkil etmesinden dolayı çalışmamızda CLP yöntemiyle sepsis oluşturulan sıçanlarda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerindeki değişiklikleri saptadık. Fijen ve ark.<sup>109</sup> deneysel olarak LPS verdikleri gönüllü insanlarda TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 ve IL-10 seviyelerinde yarım saat ile 3 saat arasında değişen sürelerde pik yükselmelerin olduğunu göstermişlerdir. Doğrudan LPS enjeksiyonu sonrasında sitokin üretilme süresi ile doğal bakteriyel enfeksiyon sonrası açığa çıkan LPS ile sitokin üretilme süreleri arasında belli bir fark olması beklenir. Bakteriyel kontaminasyon sonrası sepsis oluşabilmesi için belirli bir inkubasyon süresine gerek vardır. Bizim çalışmamızda, CLP yöntemiyle peritonitis oluşturduktan 16 saat sonra yapılan ölçümlerde sitokin seviyelerinde artışlar belirlendi. Singleton ve Wischmeyer<sup>105</sup> deneysel olarak şiddetli sepsis oluşturdukları sıçanlarda TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerindeki artışları 6. saatte belirlemişlerdir. Maier ve ark.<sup>110</sup> CLP ve kolon ascendens stent yöntemleri ile oluşturdukları iki ayrı abdominal sepsis modelinde 18. saate kadar TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-10 seviyelerindeki artışları göstermişlerdir. Aynı çalışmada, CLP yöntemindeki IL-6 seviyesindeki artışın 12. ve 18. saatlerde düşmeye başladığı da bildirilmiştir.

Bu çalışmada proinflamatuar sitokinlerden olan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerinde Sham grubuna kıyasla artışlar belirlendi. TNF- $\alpha$  seviyesindeki en fazla artış CLP grubunda olmasına karşılık IL-1 $\beta$  seviyesindeki en fazla artış AB+VK grubundaydı. İmipenem uygulamasına vitamin K ilavesi sitokin seviyesinde daha fazla bir artışa neden oldu. Sepsis sırasında trombositlerin ve koagülasyon proteinlerinin tüketimiyle ilk önce şiddetli kanama olması beklenir.<sup>48</sup> Ayrıca vitamin K uygulaması inflamasyonun

şiddetini arttırabilir. Sham grubuna kıyasla TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerindeki en düşük değerlerin AB+MP grubunda belirlenmesi, bu gruptaki hayvanlarda tedavi ile inflamasyonun şiddetinin azaltıldığını ve metilprednizolon'un etkisini gösterdi. AB+MP ve AB gruplarında aynı oranda hayatta kalan hayvan olmasına rağmen, ölen hayvanların ölüm saatlerinin daha sonra olması tedavide imipeneme ilave olarak metilprednizolon kullanımının katkı sağlayabileceği fikrini desteklemektedir.

Hem pro-inflamatuar hem de anti-inflamatuar bir sitokin olan IL-6 seviyesinde de pro-inflamatuar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'dakilere benzer bulgular elde edildi. Sham grubundaki hayvanların hiç birinde IL-6 belirlenmedi ve AB+MP grubunda da çok düşük seviyelerde belirlendi. Sham grubundaki hayvanların IL-6 seviyelerinin çalışmada kullanılan ticari kit ile belirlenemeyecek kadar düşük seviyelerde olduğu düşünüldü. AB+MP grubundaki IL-6 seviyelerinin diğer gruplara kıyasla daha düşük olması, TNF- $\alpha$  ve IL-1'deki düşük seviyeler ile ilgili olabileceğini düşündürdü. Pro-inflamatuar cevaba yanıt olarak anti-inflamatuar cevabın verildiği anlaşıldı. Ayrıca, hafif enfeksiyonun daha düşük seviyede sitokin yanıtı oluşturacağı da beklenmelidir.<sup>5</sup>

<sup>105</sup> Singleton ve Wischmeyer<sup>105</sup> sıçanlarda deneysel olarak yaptıkları bir çalışmada, enfeksiyonun şiddeti ile sitokin yanıtının direkt olarak ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada ise şiddetli sepsis oluşturulan hayvanların sitokin seviyelerinin gruplara göre farklılık göstermesi tedavide kullanılan ilaçların olumlu ya da olumsuz etkileri olarak değerlendirildi.

C-reaktif protein insanlarda inflamasyonun monitörize edilebilmesi için kullanılan faydalı bir test olmasına rağmen, rodentlerde inflamasyonun bir markeri olarak kullanımı henüz belirsizliğini korumaktadır.<sup>80</sup> Giffen ve ark.<sup>80</sup> akut inflamasyon oluşturdukları ratlarda IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerindeki artışların 20. ve 25. saatlerde pik

yaptığını belirlemişler ve bundan 5-15 saat sonra CRP seviyesinde pik artış olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada haptoglobulin seviyesindeki artışın CRP ile aynı saatte başladığını fakat daha yüksek bir artışın olduğunu ve haptoglobulin seviyesindeki bu artışın 21 gün süresince devam etmesine rağmen CRP seviyesindeki artışın devam etmediğini de kaydetmişlerdir. Bu çalışmada Sham grubuna kıyasla sepsis oluşturulan grupların CRP seviyesinde bir artış belirlenmedi ve hafif düşmeler kaydedildi. Çalışmamızdaki sepsisli hayvanlarda belirlenen sitokin ve CRP seviyeleri 16. saatte alınan kan serum örneklerinde aynı zamanda ölçüldüğünden dolayı, CRP seviyesinde oluşabilecek artışların bu saatlerde henüz başlamadığı anlaşıldı.

Sepsis nedeniyle oluşan SIRS'ta lökopeni ( $4 \times 10^3/\mu\text{l}$ 'den az) veya lökositoz ( $12 \times 10^3/\mu\text{l}$ 'den fazla) görülebilir.<sup>12</sup> Bu çalışmada elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, Sham kontrol grubuna kıyasla CLP grubunda lökopeni ( $2,1 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) tablosunun olduğu tespit edildi. Buradaki lökopeninin lenfopeni ve bazopeni yönünde olduğu kaydedildi. Vücutta oluşan herhangi bir yangısal olay durumunda, marjinal depoda (lenfoid organlarda) bulunan lökositlerin kanda miktarlarının artması beklenir. Peritonitis şekillendiğinde ise lokal inflamasyon bölgesine mononükleer hücre infiltrasyonu olur.<sup>83</sup> CLP yöntemiyle deneysel olarak sepsis oluşturulan bir çalışmada sıçanlarda 18. saatte şiddetli lökopeni, lenfopeni, nötrofil ve nötrofil/lenfosit oranında artış bildirilmektedir.<sup>82</sup> Fijen ve ark.<sup>109</sup> deneysel olarak LPS verdikleri gönüllü insanların sitokin seviyeleri ve lökosit aktivasyonları arasında bir ilişkinin olduğunu göstermişlerdir. İnsanlarda deneysel olarak verilen LPS infüzyonu sonrasında ise ilk önce lökopeni ve daha sonra lökositoz olduğu da bildirilmektedir. Denek olarak kullanılan bu insanlarda lenfopeni, nötrofil ve monositopeni tablosu olduğu not edilmiştir. Bizim çalışmamızda AB, MP, VK ve AB+MP gruplarında lenfopeni

görülmesine rağmen lökopeni tespit edilmedi. Bu gruplarda lenfopeni ile birlikte oluşan şiddetli nötrofil, lökopeni oluşmamasının sebebini açıklamaktadır. Bu gruplardan farklı olarak, AB+VK ve CLP gruplarında nörofil belirgin değildi ve lökopeni oluştu. Ayrıca AB+VK grubunda eozinopeni de vardı. En belirgin nötrofil tablosu MP ve AB+MP gruplarında görülmesinin nedeni ise her iki gruba da metilprednizolon uygulanması ile ilgili olabilir. Steroidlere bağlı olarak oluştuğu ifade edilen stres lökogramda tespit edilen nötrofil ve lenfopeni tablosu bu gruplarda elde edilen bulgularla uyumludur.<sup>68</sup> Diğer taraftan, nötrofil göçünün neden olduğu organ yetmezliklerinin önlenmesine yönelik ilaç araştırmaları yapılmaktadır.<sup>83</sup> Metilprednizolon verilen hayvanlarda kanda nötrofil miktarlarının yüksek olması bu gruplardaki hayvanlarda nötrofil göçünün daha az olabileceği ve tedavide metilprednizolonun bu yönden bir katkısının olabileceği hipotezini akla getirmektedir.

AB grubunda görülen lenfopeni diğer gruplara göre daha az şiddetliydi. Sepsis oluşturulan gruplar içinde, en yüksek lenfosit seviyesinin AB grubunda görülmesi antibiyotik olarak uygulanan imipenem'in patojen bakteriler üzerine direkt etkisini göstermektedir. Lökositlerdeki değişiklikler ile AB ve AB+MP gruplarındaki hayatta kalma oranları birlikte değerlendirildiğinde, bu gruplardaki lenfosit ve nötrofil sayılarındaki yanıtının hayatta kalma ve ölüm saatleri ile ilişkisinin olabileceği görülmektedir. Septik hastalarda karşılaşılan bakteriyemi, septisemi, SIRS, sepsis, şiddetli sepsis, septik şok, septik şok yanıtı ve MODS gibi klinik durumlarda farklı lökosit sayılarının tespit edilmesi mümkündür.<sup>12,81</sup>

Çalışmamızda sepsisli gruplardaki sitokin seviyelerindeki artışlar ile birlikte nötrofil ve lenfopeni tespit edildi. TNF- $\alpha$  değeri AB, MP ve AB+MP gruplarında en az artış göstermiştir. Bu gruplardaki total lökosit sayısı Sham grubuna yakın değerlerde



olmasına karşılık nötrofil seviyelerinde artış ve lenfosit seviyelerinde azalma vardı. CLP grubunun TNF- $\alpha$  değerinde artış tespit edildi ve bu grupta lökopeni belirlendi. Buna benzer olarak IL-1 değeri AB+VK grubunda en fazla olmasına karşılık bu grupta da lökopeni belirlendi.

Sham grubuna kıyasla, CLP, AB, MP ve AB+VK gruplarının ortalama eritrosit sayılarında belirlenen artışlar, bu gruplardaki hematokrit ve hemoglobin değerlerindeki artışla paralellik göstermektedir. Septik şokta hipotansiyon ve dolaşım yetmezliği sonucu hemakonsantrasyon olması mümkündür.<sup>81</sup> Operasyon sonrası hayvanlara intraabdominal olarak 2cc serum fizyolojik verilmesine rağmen, oluşan peritonitis de hipovolemiye katkı sağlayabilir. En şiddetli eritrositopeni ve hemakonsantrasyon AB+VK grubunda belirlendi. Bu gruptaki hayvanlarda görülen ölüm zamanlarının erken dönemde olması ve antibiyotik uygulamasına rağmen hayatta kalma oranlarının düşük olması dikkat çekmektedir. Ayrıca eritrosit ve hematokrit değerler yönünden AB+MP ve AB+VK grupları arasında istatistiksel fark belirlenmesi önemli bir bulgu olarak kaydedilmiştir.

Sepsis'in patofizyolojisinde prokoagülant ve proinflammatuar aktiviteler arasındaki ilişkinin araştırılması önem taşımaktadır. Sepsisli hastalarda koagülasyon arnormallikleri olmaktadır. Koagülasyon ve inflamasyon'un tedavisinde çeşitli ilaç çalışmaları denenmektedir. Aktive protein C ve Fruktoz-1,6-bifosfat gibi trombin oluşmasını ve trombosit agregasyonunu önleyen tedaviler kullanılabilir.<sup>88,102</sup> Bu çalışmada sepsis oluşturulan tüm gruplardaki ortalama trombosit sayılarının düşük seviyelerde olduğu belirlendi. Herhangi bir tedavi uygulanmayan CLP grubundaki ortalama trombosit sayısındaki önemli düşme sepsisin patofizyolojisinde koagülasyon mekanizmalarının önemini ortaya koymuştur. Metilprednizolon uygulanan

hayvanlardaki trombosit sayılarının en düşük seviyelerde kaydedilmesi, antibiyotik verilmeden antiinflamatuvar uygulamanın trombosit sayılarını olumsuz etkilediğini göstermektedir. Nitekim, imipenem uygulanan üç gruptaki (AB, AB+MP ve AB+VK) hayvanlarda elde edilen trombosit sayılarının imipenem uygulanmayanlardan sayısal olarak yüksek olması da bunu desteklemektedir. Deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda yapılan bir araştırmada, trombosit sayılarında düşmenin yanı sıra PT, aktiflenmiş kısmi tromboblastin zamanı ve fibrinojen değerlerinde de yükselmeler bildirilmiştir. <sup>88</sup> Pıhtılaşma mekanizmaları ile ilgili olan bu değerlerdeki değişiklikler DIC'e neden olur.

Bu çalışmada sepsis oluşturulan gruplarda görülen ortalama PT ve INR sürelerinin Sham grubuna kıyasla uzamasının trombosit sayılarındaki azalmalar ve pıhtılaşma faktörlerindeki azalmalar ile ilişkili olduğu söylenebilir. Aynı gruptaki aPPT süreleri de incelendiğinde, CLP grubunda istatistiksel önemi olan uzama tespit edilmesine karşılık diğer gruplarda istatistiksel anlamı olmayan uzamaların olduğu görülmektedir. ACT testi genellikle heparin gibi antikoagülatif ilaç uygulamalarının takibinde ilacın koagülasyon bozukluklarına neden olup olmadığının takip edilmesi için ölçülen bir parametredir. Sepsis gruplarının ACT sürelerinde Sham grubuna kıyasla şaşırtıcı bir şekilde kısalmaların olduğu görülmektedir. CLP grubunda herhangi bir ilaç uygulanmamasına rağmen Sham grubuna kıyasla ACT süresindeki kısalmalar sepsisin bir bulgusu olarak kaydedilmiştir. Plazmalar çalışmanın 16. saatinde elde edildi. PT süresindeki uzamaya karşılık ACT süresindeki kısalma koagülasyon ürünlerindeki azalmaya karşılık pıhtılaşma aktiflendiğinde sürenin kısalması halen pıhtılaşma mekanizmalarındaki anormalliğin devam ettiğini gösterdi. Ayrıca VK ve AB+VK gruplarında koagülatif olarak vitamin K uygulaması yapılmasına rağmen, bu gruplarda CLP grubundan daha kısa ACT sürelerinin elde edilmemesi de beklenmeyen bir

bulgudur. Vücudun enfeksiyona inflamatuvar ve prokoagülant yanıtı birbiri ile yakından ilişkilidir.<sup>111</sup> Sepsisin tedavisinde kullanılan aktive protein C anti-koagülatif bir ilaçtır.<sup>92,112</sup>

TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler koagülasyonu aktive ederler ve fibrinolizisi inhibe ederler, prokoagülan trombin de birçok inflamatuvar yolu stimule eder.<sup>113-115</sup> Aktive protein C fibrinolizi desteklediği ve trombozu önlediği için sepsisin tedavisinde kullanılmaktadır.<sup>92</sup> Fakat hastaların % 3,5'inde şiddetli kanama oluşturabilir. INR değerleri 3'ten daha büyük ya da trombosit sayısı  $30 \times 10^3/\mu\text{l}$ 'den daha az olan hastalarda bu ilacın kullanılması tavsiye edilmemektedir.<sup>102</sup> Cetinkaya ve ark.<sup>100</sup> sepsis oluşturdukları sıçanlarda 6. saatten sonra epistaksis oluştuğunu kaydetmeleri, bu hayvanlarda DIC'te pıhtılaşma faktörlerinin tükenmesinden sora hemorajik yatkınlığın başladığını göstermektedir. Daha önceki bildirimler ve bizim çalışmamızda erken aşamada kullanılan vitamin K enjeksiyonu yapılan hayvanların ölmesi ve elde edilen koagülasyon test sonuçları birlikte değerlendirildiğinde şu sonuca ulaşılmıştır. Sepsisin erken aşamasında koagülasyon oluştuğundan aktive protein C kullanımı faydalı olabilir, fakat sepsisin geç aşamalarında kullanılmasının kontraendikasyon oluşturabileceğinin araştırılması gereklidir. Ayrıca, vitamin K'nın sepsisin erken aşamada kullanılmasının kontraendikasyona neden olduğu çalışmamızda gösterilmiştir. Sepsisin geç aşamalarında ise oluşan hemorajik yatkınlığın tedavisinde endikasyonu'nun araştırılması gereklidir.

Anyon gap ölçülen katyonlarla anyonlar arasındaki farkı ifade eder. Şu formülle hesaplanır; Anyon gap =  $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - \text{Cl}^- + (\text{HCO}_3^-)$ . Genel olarak anyon gap normalden yüksekse metabolik asidozun göstergesidir.<sup>68</sup> Vallée ve ark.<sup>85</sup> sepsisli hastalarda yaptıkları analizlerde düşük veya yüksek anyon gap değerlerine sahip

hastalar belirlediler. Bu hastalardan yüksek anyon gap'a sahip olanların venöz kanlarında  $pO_2$  değerlerinin daha düşük ve  $pCO_2$  değerlerinin ise daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen verilere göre, sepsisli grupların anyon gap değerlerinde nispi yükselmelerin olduğu ve VK grubunda da istatistiksel olarak önemli yükselmenin var olduğu belirlendi. Bu bulgu en düşük pH değerinin bu grupta belirlenmesiyle uyumludur. Yine Vallée ve ark.<sup>85</sup> insanlardaki bildirimleri ile benzer olarak sepsis oluşturulan sıçanların venöz kanlarında  $pO_2$  değerlerinin daha düşük ve  $pCO_2$  değerlerinin ise daha yüksek olduğu görüldü.  $pO_2$  değerleri AB, VK ve AB+MP gruplarında anlamlı olarak yüksekti.  $pCO_2$  değerlerindeki düşmeler tüm gruplarda birbirine yakın olmasında karşılık, sadece CLP grubunda önemli bir düşme belirlendi. Bu hastalarda öncelikli olarak hipoksi ve hiperkapni olması beklenir. Bununla birlikte metabolik asidozda şekillenen asidemiye vücudun cevabı olarak kompensatuvar hiperoksemi oluşabildiği bilinmektedir.<sup>68</sup> Bunun için solunum sayılarında artış olmaktadır. AB ve AB+MP gruplarındaki yanıtın daha şiddetli olduğu söylenebilir.

Kan pH'sının sabit sınırlarda devamlılığı zorunludur. pH'yı belirleyen en önemli bileşenler  $HCO_3^-$  ve  $CO_2$  konsantrasyonlarıdır. Genel olarak,  $HCO_3^-$  konsantrasyonu böbrekler tarafından ve  $CO_2$  konsantrasyonu ise akciğerler tarafından düzenlenir.<sup>68</sup> Bu bağlamda sepsiste oluşan şiddetli organ yetmezlikleri önemli sorun oluşturur. Ayrıca, açığa çıkan LPS'ler nedeniyle hipotansiyon oluşması ve doku perfüzyonunun azalması asit-baz dengesini etkiler.<sup>19</sup> Sham grubuna kıyasla, sepsis oluşturulan gruplardan CLP, AB, VK, AB+MP ve AB+VK gruplarındaki ortalama  $HCO_3^-$  miktarlarında istatistiksel olarak önemli ve MP grubunda ise önemli olmayan düşmeler görüldü. BE değerlerinde de buna benzer bulgular elde edildi. Elde edilen veriler üzerine şiddetli akciğer ve böbrek yetmezliklerinin katkısının olduğu söylenebilir. Bu çalışmanın bulgularına

benzer olarak deneysel sepsiste, pH'da azalma ve pCO<sub>2</sub>'de artma trendi belirlenmiştir.<sup>86</sup> Kan gazları verileri göz önünde bulundurulduğunda, VK grubunda en düşük pH ve en yüksek anyon gap belirlenmesi bu gruptaki hayvanların diğer gruplardan daha şiddetli olarak etkilendiğini gösterebilir. Sıvı kayıplarında ve metabolik bozukluklarda etkilenen elektrolitlerden Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> asit-baz dengesi değişikliklerinde etkilendikleri gibi kendileri de anyon gap'ı etkileyerek asit-baz dengesi üzerine etki ederler.<sup>68</sup> Metabolik asidoz durumunda, intraselüler ve ekstraselüler K<sup>+</sup> değişimi nedeniyle hiperkalemi ve hiponatremi olması beklenir. Sepsisli gruplarının K<sup>+</sup> değerlerinde istatistiksel anlamı olmayan yükselmeler elde edildi. En yüksek K<sup>+</sup> değeri AB grubundaydı. Na<sup>+</sup> değerlerinde de düşmeler olmakla birlikte, istatistik anlama sahip olan düşme AB+MP grubunda belirlendi. Cl<sup>-</sup> konsantrasyonunda önemli bir değişiklik kaydedilmedi. Elektrolit seviyelerindeki değişikliklerin asit-baz dengesiyle ilişkili olduğu anlaşıldı.

Yoğun bakım ünitelerindeki ölüm nedenlerinin ilk sırasında olan sepsis hastalıklarının en önemli komplikasyonudur. II. Dünya savaşı sırasında penisilinin geliştirilmesiyle birlikte 20. yüzyılın ikinci yarısında antimikrobiyal tedavinin ortaya çıkışı infeksiyonlara bağlı mortalite ve morbiditede düşmeye neden olmuştur.<sup>7</sup> Sepsis ve septik şokta, erken başlanmış ve doğru seçilmiş antibiyotik tedavisi mortaliteyi azaltmaktadır.<sup>95</sup> Antibiyotiklerin etkinliği mikroorganizma türüne göre değişir. Bu çalışmada en fazla Gram negatif bir bakteri olan E. coli izole edildi. İnsanlarda sepsiste daha çok Gram pozitif bakteriler izole edilirken hayvanlarda daha çok Gram negatif bakteriler izole edilmekte olduğu bilinmektedir.<sup>20,21</sup> Sepsisin tanısının konulabilmesi için kandan mikroorganizmanın izole edilmesinin yanısıra klinik olarak sepsisin semptomlarının da görülmesi gerekir. Bu çalışmada sepsis oluşturulan gruplarda klinik bulguların alınması ve bu gruplarda ölümlerin görülmesi tanının konulmasını

sağlamıştır. Sepsis tanısı konulduktan sonra geniş spektrumlu antibiyotik ve destek tedavisine başlanabilir. Spesifik mikroorganizma belirlendiğinde ise dar spektrumlu antibiyotik tedavisine geçilmelidir.<sup>31</sup> Vücudun sepsise cevabına yönelik ilaçların da tedavi prosedürüne dahil edilmesi hayati önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, şiddetli septik şok tablosunda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerindeki artışlar, lenfopeni, trombositopeni, koagülasyon sürelerinde uzama asidozis ve bikarbonat açığının hayvanlarda nötrofil, hiperoksemi ve hipokapni gibi kompensatuar mekanizmalar ile telafi edilmeye çalışıldığı görüldü. Sepsiste inflamasyon, immunsupresyon, koagülopati, dolaşım yetmezliği ve hemostazisin bozulması gibi önemli pato-fizyolojik olayların ölüme neden olduğu anlaşıldı. Antibiyotik (imipenem) uygulamasının hayat kurtarıcı olduğu ve antibiyotiğe ilave olarak vücudun inflamatuar cevabına yönelik düşük dozda kortikosteroid (metilprednizolon) verilmesinin yaşam sürelerini uzattığı belirlendi.

## 6. KAYNAKLAR

1. Pasteur L. De l'extension de la théoriedesgermes à l'étiologie de quelqu Fesmaladies communes. C R Acad Sci (Paris) 1880; 90: 1033–1044.
2. Newton I. Philosophiae Naturalis Principia Mathematica. London. 1687.
3. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. Crit Care Med 1996; 24: 1125-1128.
4. Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS) Ann Intern Med. 1996 15; 125: 680-687.
5. Delsesto D, Opal SM. Future Perspectives on Regulating Pro-and Anti-Inflammatory Responses in Sepsis. Contrib Microbiol. 2011; 17: 137-156.
6. Jaffer U, Wade RG, Gourlay T. Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome. HSR Proceedings in Int Care and Cardiovasc Anest 2010; 2: 161-175.
7. Betts RF, Chapman SW, Penn RL. İnfeksiyon Hastalıklarına Pratik Yaklaşımlar. Prof. Dr. Fehmi Tabak, Medikal Yayımcılık, İstanbul. 2005; 19-59
8. Cunneen J, Cartwright M. The puzzle of sepsis: fitting the pieces of the inflammatory response with treatment. AACN Clin Issues 2004; 15: 18-44.
9. Patel GP, Gurka DP, Balk RA. New treatment strategies for severe sepsis and septic shock. Curr Opin Crit Care 2003; 9: 390-396.
10. Russel JA. Management of sepsis. N Engl J Med 2006; 355:1699-1713.
11. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH: Sepsis and shock – A review of laboratory models and a proposal. J Surg Res 1980; 29: 189–201.

12. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101: 1644-1655.
13. Ziegler EJ, Fisher CJ Jr, Sprung CL, Straube RC, Sadoff JC, Foulke GE, Wortel CH, Fink MP, Dellinger RP, Teng NN. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group. *N Engl J Med*. 1991; 324: 429-436.
14. Silva E, Passos Rda H, Ferri MB, de Figueiredo LF. Sepsis: from bench to bedside. 2008; 63: 109-120.
15. Young LS. Sepsis syndrome. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Disease*. 5th ed. New York, Churchill Livingstone, 2000: 806-819.
16. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348: 1546-1554.
17. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B; CUB-Réa Network. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Réa Network. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 168: 165-172.
18. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, Sicignano A, Palazzo M, Moreno R, Boulmé R, Lepage E, Le Gall R. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multi centre cohort study. *Intensive Care Med*. 2002; 28: 108-21.



19. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet* 2005; 365: 63-78.
20. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P. Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock* 2008; 30 Suppl 1: 53-59.
21. Mathiak G, Szewczyk D, Abdullah F, Ovadia P, Feuerstein G, Rabinovici R. An improved clinically relevant sepsis model in the conscious rat. *Crit Care Med* 2000; 28: 1947-1952.
22. Aderem A, Ulevitch RJ: Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000; 406:782-787.
23. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*. 2002; 420: 885-891.
24. Cengiz AB. Sepsis patogenezi. *Çocuk Enf Derg* 2007; 1: 63-65.
25. Modlin RL, Brightbill HD, Dodowski PJ. The toll of innate immunity on microbial pathogens. *N Eng J Med* 1999; 340: 1834-1835.
26. Hotchkiss RS, Karl IE. Pathophysiology and treatment of sepsis. *N Eng J Med* 2003; 342: 138-150.
27. Shanley TP, Hallstrom C, Wong HR. Sepsis. In: Fuhrman Bp, Zimmerman JJ (eds): *Pediatric Critical Care* (3rd ed) Philadelphia: Mosby, 2006:1474-1493.
28. Bouchud PY, Calandra T. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *Br Med J* 2003;326: 262-266.
29. Lopez-Bojorquez LN, Dehesa AZ, Reyes-Teran G. Molecular Mechanisms Involved in the Pathogenesis of Septik Shock. *Arch Med Res* 2004; 35: 465-479.
30. Leu. TH, Charoenfuprasert S, Yen CK, Fan CW, Maa MC. Lipopolysaccharide-induced c-Src expression plays a role in nitric oxide and TNF- $\alpha$  secretion in macrophages. *Molecular Immunology* 2006; 43: 308-316.

31. Kathy M. Picard, Sharon C, Duane A, Kristin J. Development and Implementation of a Multidisciplinary Sepsis Protocol. *Critical Care Nurse* 2006; 26: 43-54.
32. Shapiro L, Gelfand JA. 1993 Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy. *New Horiz* 1: 13-22.
33. Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 1987; 317: 653-658
34. Wenzel RP, Pinsky MR, Ulevitch RJ, Young L Current understanding of sepsis. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 407-412.
35. Das UN. Critical advances in septicemia and septic shock. *Critical Care* 2000; 4: 290-296.
36. Rosa MS, Pinto AM. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Burtis CA, Ashwood ER. In Edt. 5th Ed. Elsevier, 2005.
37. Aslan D, Hücre Büyümesi, Farklılaşması ve Kanser, Prof. Dr. Onat T, Prof. Dr. Emerk K, Prof. Dr. Sözmen E.S. *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2006; 702-712.
38. Cooper GF, Hausman R. *The cell – A molecular approach*. Çeviri Editörleri: Sakızlı M, Ataber N. *Hücre - Moleküler yaklaşım*, İzmir Tıp Kitabevi. İzmir, 2006, 557.
39. Öztürk A. Deneysel abdominal sepsis oluşturulan sıçanlarda immünsupresif ajanların inflamatuvar cevap üzerine etkileri. GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Genel Cerrahi Servisi Şefliği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2004.

40. Opal SM, Depalo VA. Anti-inflammatory Cytokines. *Chest* 2000; 117: 1162-1172.
41. Eklund MC. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. *Adv Clin Chem* 2009; 48: 111-136.
42. Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth* 1996; 77: 110-117.
43. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3666-3670.
44. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A. Identity of tumor necrosis factor and the macrophage secreted factor cachectin. *Nature* 1985; 316: 552-554.
45. Tracey KJ, Cerami A. Tumor Necrosis Factor: A Pleiotropic Cytokine and Therapeutic Target. *Annu Rev Med* 1994; 45: 491-503.
46. Popa C, MG Netea, PLCM van Riel, JWM van der Meer, AFH Stalenhoef. The role of TNF- $\alpha$  in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res* 2007; 48: 751-762.
47. Strieter RM, Kunkel SL, Bone RC. Role of tumour necrosis factor- $\alpha$  in disease states and inflammation. *Critical Care Medicine* 1993; 21: S447-463.
48. Çöl R, Durgun Z. Sepsis, lökositler, sitokinler ve dissemine intravasküler koagülasyon. *Vet Bil Derg* 2007; 23: 97-106.
49. Wheeler AP, Jesmok G, Brigham KL. Tumour necrosis factor's effect on lung mechanics, gas Exchange and airway reactivity in sheep. *J Appl Physiol* 1990; 68: 2542-2549.

50. Cannon JG, Tomkins RG, Gelfand JA, Michie HR, Stanford GG, van der MeerJwm, Endres S, Lonnemann G, Dinarello CA. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis* 1990; 160:79-84.
51. Hesse DG, Tracey KJ, Fong Y, Manogue KR, Palladino MA Jr, Cerami A, Shires GT, Lowry Sf. Cytokine appearance in human endotoxemia and primate bacteremia. *Surg Gynecol Obstet* 1988; 166: 147-153.
52. Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, Brenner M, Kovacs JA, Wesley RA, Parrillo JE. The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med* 1989; 321: 280-287.
53. Emerson TE, Lindsey DC, Jesmok GJ, Duerr ML, Fournel MA: Efficacy of monoclonal antibody against tumour necrosis factor alpha in an endotoxemic baboon model. *Circulation Shock* 1992; 38:75-84
54. Fong Y, Tracey KJ, Moldawer LL, Hesse DG, Manogue KB, Kenney JS, Lee AT, Kuo C, Allison AC, Lowry SF, Cerami A. Antibodies to cachectin/tumour necrosis factor reduces interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 appearance during lethal bacteremia. *J Exp Med* 1989;170:1627-1633
55. Hinshaw LB, Emerson Te, Taylor FB, et al. Lethal *Staphylococcus aureus*-induced shock in primates prevention of death with anti-TNF antibody. *J Trauma* 1992; 33: 568-573.
56. Redl H, Schlag G, CeskaM, Davies J, Buurman WA. Interleukin release in baboon septicemia is partially dependent on tumour necrosis factor. *J Infect Dis* 1993;167:1464-1466.

57. Tracey KJ, Fong JY, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A. Anti-cachetin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteremia. *Nature* 1987; 330: 662-664.
58. Spriggs DR, Sherman ML, Frei E 3<sup>rd</sup>, Kufe DW. Clinical studies with tumour necrosis factor. *Ciba Found Symp* 1987; 131: 206-227.
59. Socha LA, Gowardman J, Silva D, Correcha M, Petrosky N. Elevation in interleukin-13 levels in patients diagnosed with systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med* 2006; 32: 244-250.
60. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-1652.
61. Smith J, Urban W, Steis R, Janik J, Fenton B, Sharfman W, Conlon K, Sznol M, Creekmore S, Wells N, Elwood L, Keller J, Hestdal K, Ewel C, Rossio J, Kopp W, Shimuzut M, Oppenheim J, Longo D. Interleukin-1 $\alpha$ : results of a phase I toxicity and immunomodulatory trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1990; 9: 717.
62. McAllister SK, Bland LA, Arduino MJ, Wenger PN, Jarvis WR. Patient cytokine response in transfusion-associated sepsis. *Infection and Immunity* 1994; 62: 2126-2128.
63. Borden EC, Chin P. Interleukin-6: a cytokine with potential diagnostic and therapeutic roles. *J Lab Clin Med* 1994; 123: 824-829.
64. Dinarello CA. The endogenous pyrogens in host defense interactions. *Hospital Practice* 1989; 24: 111-128.
65. Aderka D, Le J, Vilcek J. IL-6 inhibits lipopolysaccharide induced tumour necrosis factor production in cultured human monocytes, U937 cells and mice. *J Immunol* 1989; 143: 3517-3523.

66. Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghoorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1 and tumour necrosis factor (TNF). *Blood* 1990; 75: 40-47.
67. Kuhns DB, Alvard WG, Gallin JI. Increased circulating cytokines, cytokine antagonists, and E-selectin after intravenous administration of endotoxin in humans. *J Infect Dis* 1995; 171: 145-152.
68. Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis, Bahçivanlar, Konya. 2000.
69. Keser G. Akut Faz Reaktanları 11. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi 2009; 182-184.
70. Önür AND, İskit AT. Sepsis Tanısı. *Yoğun Bakım Derg* 2005; 5: 85-91.
71. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G, 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250-1256.
72. Tillet WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somotic fraction of the pneumococcus. *J Exp Med* 1930; 52: 561-571
73. Abernathy TJ, Avery OT. The occurrence during acute infection of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effects of calcium on the flocculation reaction with C polysaccharide of pneumococcus. *J Exp Med* 1941;73:173
74. MacLeod CM, Avery OT. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in blood. II. Isolation and properties of the C-reactive protein. *J Exp Med* 1941; 73: 183.
75. Dikmen N, Özgünen T. Harper Biyokimya. 25. Baskı. Ankara: Nobel Kitabevi. 2004: sayfa 740.

76. Kolb-Bachofen V. A review on the biological properties of C-reactive protein. *Immunobiology* 1991;183:133– 45.
77. Jupe D. The acute phase response and laboratory testing. *Aust Fam Phys* 1996; 25: 324-329.
78. Reinhart K, Meisner M, Hartog C. Diagnosis of sepsis Novel and conventional parameters. *Advances in Sepsis* 2001; 1: 42-51.
79. Ebersole JL, Machen RL, Steffen MJ, Willmann DE. Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 347-352.
80. Giffen PS, Turton J, Andrews CM, Barrett P, Clarke CJ, Fung KW, Munday MR, Roman IF, Smyth R, Walshe K, York MJ. Markers of experimental acute inflammation in the Wistar Han rat with particular reference to haptoglobin and C-reactive protein. *Arch Toxicol* 2003; 77:392-402.
81. Fauci A, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, Eds. Severe Sepsis and Septic Shock, *Harrison's Internal Medicine*, Chapter 265. The McGraw-Hill Companies. 2008.
82. Brooks HF, Osabutey CK, Moss RF, Andrews PL, Davies DC. Caecal ligation and puncture in the rat mimics the pathophysiological changes in human sepsis and causes multi-organ dysfunction. *Metab Brain Dis* 2007; 22: 353-73.
83. Linnemann G, Reinhart K, Parade U, Philipp A, Pfister W, Straube E, Karzai W. The effects of inhibiting leukocyte migration with fucoidin in a rat peritonitis model. *Intensive Care Med* 2000; 26: 1540-1546.
84. Bakan E. *Klinik Biyokimya Laboratuvar Kitabı*, Erzurum 2001 sayfa 177.

85. Vallée F, Vallet B, Mathe O, Parraguette J, Mari A, Silva S, Samii K, Fourcade O, Genestal M. Central venous-to-arterial carbon dioxide difference: an additional target for goal-directed therapy in septic shock? *Intensive Care Med.* 2008; 34: 2218-2225.
86. Chang YT, Wann SR, Hsieh KH, Liu YC, Chang CH, Huang MS, Huang CI, Chang HT. The effects of lazaroïd U-74389G in a rat sepsis model. *Inflamm Res* 2011; 60: 29-35.
87. Giral M, Balsa D, Ferrando R, Merlos M, Garcia-Rafanell J, Forn J. Effects of UR-12633, a new antagonist of platelet-activating factor, in rodent models of endotoxic shock. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 1223-1231.
88. de Oliveira LM, Pires MG, Magrisso AB, Munhoz TP, Roesler R, de Oliveira JR. Fructose-1,6-bisphosphate inhibits in vitro and ex vivo platelet aggregation induced by ADP and ameliorates coagulation alterations in experimental sepsis in rats. *J Thromb Thrombolysis* 2010; 29: 387-394.
89. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 1999; 340: 207-214.
90. Annane D, Sebille V, Charpeutier C, Bollaert PE, François B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troché G, Chaumet-Riffaud P, Bellissant E. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludricortisone on mortality in patients with severe septic shock. *JAMA* 2002, 288: 862-871.
91. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001, 345:1368-1377.



92. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ Jr. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001, 344:699-709.
93. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest* 2000; 118: 146-155.
94. Leivoici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med* 1998;244:379-386.
95. Sharma S, Kumar A. Antimicrobial management of sepsis and septic shock. *Clin Chest Med* 2008; 29: 677-687.
96. Simon D, Trenholme G. Antibiotic selection for patients with septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16: 215-231.
97. Çalangu S. Septik Şok. 11. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi 2009; 163-165.
98. Yıldız O, Doğanay M, Aygen B, Guven M, Keleutimur F, Tutuu A. Physiological-dose steroid therapy in sepsis *Crit Care* 2002; 6: 251-259.
99. Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Keh D, Kupfer Y. Corticosteroid for severe sepsis and septic shock: a systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2004; 329: 480.
100. Cetinkaya RA, Görenek L, Coşkun O, Eyigün CP, Senses Z, Ide T, Kiliç S. The effect of methylprednisolone on treatment in rats with induced sepsis. *Clin Exp Med* 2009; 9: 45-50.

101. Hollenberg SM, Ahrens TS, Astiz ME, Chalfin DB, Dasta JF, Heard SO, Martin C, Susla GM, Vincent JL. Practice parameters for hemodynamic support of sepsis in adult patients in sepsis. Task Force of the American College of Critical Care Medicine, Society of Critical Care Medicine. Crit Care Med 1999; 27: 639-660.
102. Riedemann NC, Guo RF, Ward P. Novel strategies for the treatment of sepsis. Nat Med 2003; 9: 517-525.
103. Van der Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P, Bouillon R. Intensive insulin therapy in the critically ill patients. N Engl J Med 2001; 345: 1359-1367.
104. Roy G, Brower, Michael A, Matthay, Morris A, Schoenfeld D, Taylor TB, Wheeler A. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. N Engl J Med 2000; 342:1301-1308.
105. Singleton KD, Wischmeyer PE. Distance of cecum ligated influences mortality, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 expression following cecal ligation and puncture in the rat. Eur Surg Res 2003; 35: 486-491.
106. Kindborg A. Die Pneumokokken. Vergleichende Untersuchungen mit besonderer Beru cksichtigung der Agglutination. Z Hyg 1905; 51: 197-232.
107. Tulunay M. Sepsis ve ilişkili durumların tanımlamaları. Yoğun Bakım Derneği Derg 2005; 1: 117-126.
108. Demirel İ. Deneysel Sepsis Modeli Oluşturulan Ratlarda İntravenöz İmmünglobulin Tedavisinin T Helper Polarizasyonu Üzerine Etkisi. Elazığ

Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilimdalı, Uzmanlık Tezi  
Elazığ, 2007.

109. Fijen JW, Kobold AC, de Boer P, Jones CR, van der Werf TS, Tervaert JW, Zijlstra JG, Tulleken JE. Leukocyte activation and cytokine production during experimental human endotoxemia. *Eur J Intern Med* 2000; 11: 89-95.
110. Maier S, Traeger T, Entleutner M, Westerholt A, Kleist B, Hüser N, Holzmann B, Stier A, Pfeffer K, Heidecke CD. Cecal ligation and puncture versus colon ascendens stent peritonitis: two distinct animal models for polymicrobial sepsis. *Shock* 2004; 21: 505-511.
111. Esmon CT, Taylor FB Jr, Snow TR. Inflammation and coagulation: linked processes potentially regulated through a common pathway mediated by protein C. *Thromb Haemost* 1991;66:160-165.
112. Sennoun N, Meziani F, Dessebe O, Cattan V, Collin S, Montemont C, Gibot S, Asfar P, Ramaroson A, Regnault V, Slama M, Lecompte T, Lacolley P, Levy B. Activated protein C improves lipopolysaccharide-induced cardiovascular dysfunction by decreasing tissular inflammation and oxidative stress. *Crit Care Med* 2009; 37: 246-255.
113. Stouthard JM, Levi M, Hack CE, Veenhof CH, Romijn HA, Sauerwein HP, van der Poll T. Interleukin-6 stimulates coagulation, not fibrinolysis, in humans. *Thromb Haemost* 1996; 76: 738-742.
114. Conkling PR, Greenberg CS, Weinberg JB. Tumor necrosis factor induces tissue factor-like activity in human leukemia cell line U937 and peripheral blood monocytes. *Blood* 1988;72:128-133.

115. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS, Gimbrone MA Jr. Recombinant tumor necrosis induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 12: 4533-4537.