

BURSA-2005
T.C. ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



ANATOMİ ANABİLİM DALI

FEKAL PERİTONİTE BAĞLI SEPSİSTE HIPPOCAMPUS'DAKİ
MORFOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN IŞIK MİKROSKOBİK
DÜZEYDE İNCELENMESİ

Dr. İlker Mustafa KAFA

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2005

Danışman: Doç. Dr. İlknur ARI

İÇİNDEKİLER

1.	İçindekiler	i
2.	Kısaltmalar	ii
3.	Özet	iv
4.	Abstract	vi
5.	GİRİŞ	1
5-1.	Sepsis ve Terminolojisi	2
5-2.	Sepsis Etiolojisi ve Epidemiolojisi	8
5-3.	Sepsis Patofizyolojisi ve Sepsis Kliniği	9
5-4.	Hayvan Modelleri ve Sepsis	17
5-5.	Peritonit ve Sepsis	19
5-6.	Kan Beyin Bariyeri ve Sepsis	21
5-7.	Hippocampus Anatomisi	24
5-8.	Çalışmanın Amacı	32
6.	GEREÇ VE YÖNTEM	33
6-1.	Deney Hayvanları	33
6-2.	Cerrahi Protokoller ve Fekal Peritonit Modeli	33
6-3.	Doku Takibi	35
6-4.	Işık Mikroskopisi ve Görüntü Analizi	36
6-5.	İstatistikî Yöntemler	39
7.	BULGULAR	40
8.	TARTIŞMA VE SONUÇ	51
9.	KAYNAKLAR	64
10.	TEŞEKKÜR	76
11.	ÖZGEÇMİŞ	77

KISALTMALAR

ANOVA	Varyans analizi
APACHE	Akut fizyoloji ve kronik sağlık değerlendirmesi
ARDS	Akut respiratuar distres sendromu
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BPI	Bakterisidal geçirgenlik arttırıcı protein
CA	Cornu ammonis
CARS	Kompansatuar anti-inflamatuar yanıt sendromu
COX-2	Siklo-oksijenaz-2
CRP	C-reaktif protein
CVO	Ventrikül çevresi organlar
DIC	Yaygın damar içi pıhtılaşması sendromu
ELAM-1	Endotelyal lokosit adezyon molekülü-1
GMP-140	Granül membran protein-140
ICAM-1	İntersellüler adezyon molekülü-1
IFN-γ	İnterferon-gamma
IκB-α	İnhibitör faktör kappa B-Alfa
IL	İnterlökin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KBB	Kan beyin bariyeri
LBP	Lipopolisakkarit bağlayıcı protein
LPS	Lipopolisakkarit
LTP	Uzun süreli güçlendirme
MODS	Multipl organ disfonksiyonu sendromu
NFκB	Nükleer faktör kappa beta
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik oksit
PAF	Platelet aktive edici faktör
PGI2	Prostasiklin-I2
RAPS	Hızlı akut fizyoloji puanlaması
RER	Rough endoplazmik retikulum

ROS	Reaktif oksijen türleri
RVLM	Rostral ventrolateral medulla
SAPS	Basitleştirilmiş akut fizyoloji puanlaması
SBP	Spontan bakteriyel peritonit
SIRS	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
SSS	Septik ağırlık puanlaması
TBI	Travmatik beyin hasarı
TF	Doku faktörü
TGF- β	Transforming growth faktör-beta
Th	T helper hücreleri
TISS	Terapötik girişim puanlama sistemi
TJ	Sıkı bağlantılar (Tight junction)
TLR4	Toll like reseptör-4
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TXA2	Tromboksan A2
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-1
ZO-1	Zonula occludens-1

ÖZET

Sepsis ve septik şok yoğun bakım ünitelerindeki ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. İlerleyici sepsis tanısı konulan hastaların yaklaşık yarısında ensefalopati gelişmektedir. Diffüz bir beyin disfonksiyonuna neden olan septik ensefalopati hakkında ise yeterli bilgi birikimi bulunmamaktadır. Septik ensefalopati açısından hippocampus, farklı beyin bölgeleri arasında sepsise en duyarlı beyin dokusu olarak bilinmektedir. Bu çalışmada, sıçanlarda bir sepsis modeli olarak ele alınan fekal peritonitin, cornu ammonis (CA) alanları ile gyrus dentatus üzerindeki etkileri ışık mikroskopisi kullanılarak araştırıldı. Bu amaçla 24 erkek Wistar sıçanı kullanıldı ve üç ayrı gruba ayrıldı. Birinci grup (A grubu) fekal peritonit grubu olarak belirlendi (n=8). İkinci ve üçüncü gruplar da sırasıyla sham grubu (B grubu, n=8) ve kontrol grubu (C grubu, n=8) olarak belirlendi. Sham grubunda, sham operasyonu ve vital fonksiyonların monitorizasyon prosedürleri yapılırken, kontrol grubunda yalnızca vital fonksiyonların monitorizasyonu uygulandı. Sham grubundaki deney hayvanlarına vital değerlendirme yanında sham operasyonu uygulandı. A grubunda ise, her deney hayvanına cerrahi operasyon uygulanarak, intraperitoneal fekal süspansiyon (10ml/kg) verildi. Vital parametreler kontrol grubunda 30 dakika boyunca, fekal peritonit ve sham gruplarında ise 240 dakika boyunca takip edildi. Fekal peritonit grubunda, kalp hızı ve kan basıncındaki dengelerin bozulmasına ek olarak düzensiz solunum ve hipotermi septik şok olarak değerlendirildi. Tüm vital parametreler açısından sham ve fekal peritonit grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu.

Işık mikroskopik değerlendirmede CA1, CA3 ve gyrus dentatus alanlarında morfometrik olarak; nöronların hacimsel dansiteleri, birim alandaki nöron sayıları ve ortalama nükleer çapları hesaplandı. Nöronların hacimsel dansiteleri açısından CA1 (440809 ± 16155 ; 524704 ± 27872 , sırasıyla C ve A grupları $p < 0.05$) ve CA3 (313026 ± 18299 ; 403006 ± 23102 , sırasıyla C ve A grupları $p < 0.01$) alanlarında anlamlı artış saptandı. Ancak,

gyrus dentatus alanında nöronların hacimsel dansiteleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Ortalama nöron nükleus çaplarının fekal peritonit grubunda, kontrollere göre, CA1 için %89.1 ($p<0.01$), CA3 için %94.7 ($p>0.05$) oranlarına gerileyerek azaldığı bulundu. CA1 ve CA3 alanlarındaki nöronların hacimsel dansitelerindeki yüksek değerlerin, aynı alanlarda tespit edilen düşük değerlerdeki ortalama nöron nükleus çaplarının sonucuna bağlı olarak ortaya çıktığı düşünüldü. Nöron nükleus çaplarının, gyrus dentatus alanında, fekal peritonit grubunda kontrol grubuna göre, yalnızca %100.7 ($p>0.05$) oranında değiştiği görüldü. Sham grubunda ortalama nöron nükleus çaplarındaki değişim üç alan için, kontrol grubuna göre %98.3'ün üzerindeydi (üç alan için de $p>0.05$). Fekal peritonit ve sham gruplarında kontrol grubuna göre, her üç alan için birim alandaki nöron sayıları açısından ise anlamlı bir farklılık saptanmadı (üç alan için de $p>0.05$). Ayrıca, fekal peritonit grubunda sepsisin sitotoksik etkilerini düşündüren koyu renkli ve büzölmüş nöronlar gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, septik şok, fekal peritonit, hippocampus, morfometri

Light Microscopic Investigation of the Hippocampal Morphological Changes in Sepsis Induced by Faecal Peritonitis

ABSTRACT

Sepsis and septic shock are the commonest causes of death in the intensive care units. Approximately, half of the patients with progressive sepsis develop encephalopathy. Our knowledge is inadequate about the septic encephalopathy that contributes a diffuse brain dysfunction. Hippocampus is the most vulnerable brain tissue during sepsis among the different brain regions. Effects of faecal peritonitis as a septic model on the cornu ammonis areas and the gyrus dentatus at light microscopic level was investigated with this study. Twenty-four Wistar rats were used and divided into three different group. The first group (group "A") determined as faecal peritonitis group (n=8). Second and third groups were the sham group (group "B", n=8) and the control group (group "C", n=8) respectively. Sham operation and vital functions monitorization procedures were experienced within the sham group while only vital monitorization procedures were applied the control group. In the group "A", the faecal suspension was spread the peritoneum (10ml/kg) with surgical operation. Vital parameters monitorized within the control group for 30 minutes and within the faecal peritonitis and sham groups for 240 minutes. Addition to unbalanced heart rate and blood pressure, the irregular respiration and hypothermia were evaluated as septic shock outcome. Statistically significant differences were found between the sham and the faecal peritonitis groups at all vital parameters.

Volume densities of neurons, numbers of neurons per unit area and mean nuclear diameters were estimated at light microscopic level. On the CA1 (440809 ± 16155 , 524704 ± 27872 groups C and A respectively, $p < 0.05$) and CA3 (313026 ± 18299 , 403006 ± 23102 groups C and A respectively, $p < 0.01$) the volume densities of neurons were increased significantly. However, there is no significantly difference at gyrus dentatus for the volume

densities of neurons. Mean neuronal nuclear diameters within the faecal peritonitis group were lower than the control group at CA1 and CA3 (89.1%, $p < 0.01$ and 94.7%, $p > 0.05$ respectively). High values of volume densities of neurons in CA1 and CA3 were observed within the faecal peritonitis group because of the lower values of the mean nuclear diameters at these areas in accordance with the formula. Within faecal peritonitis group, the mean nuclear diameters were altered with the percentage of 100.7 when compared the control group at the gyrus dentatus ($p > 0.05$). Differences at the mean neuronal nuclear diameters within the sham group were higher than the percentage of 98.3 for all three areas when compared the control group ($p > 0.05$ for all three areas). There were no significant differences for numbers of neurons per unit area with in both faecal peritonitis and sham groups when compared the control group ($p > 0.05$ for all three areas). In addition, dark and shrunken neurons were observed at the hippocampal areas and gyrus dentatus in faecal peritonitis group that suggested the cytotoxic effects of sepsis.

Keywords: Sepsis, septic shock, faecal peritonitis, hippocampus, morphometry

GİRİŞ

Sepsis, klinik açıdan tüm yaş gruplarını ve farklı hasta gruplarını içeren, çeşitli mikrobiyal etiolojik ajanların insan vücudunu tek ya da çok odaklı hedeflerde etkilemesiyle ortaya çıkan ve belirli kriterler altında incelenen bir hastalık tablosu olarak tanımlanmaktadır (1-5). Tanı ve tedavi yöntemlerinin gelişim süreçleri ile birlikte patofizyolojisi hakkındaki bilgilerimizde pek çok ilerleme kaydetmiş olmamıza rağmen önem ve ciddiyetini kaybetmemiş olan bir hastalık tablosudur. Günümüzde kabul edilen görüşe göre ve patolojik olarak kendini gösteriş biçimi açısından bakıldığında kontrol dışı bir inflamatuvar yanıt (6) ya da enfeksiyon sırasında ortaya çıkan “sistemik inflamatuvar yanıt sendromu” (SIRS) olarak tanımlanabilmektedir (3, 5). Sepsis, geniş endotelial hasar, kontrol dışı inflamasyon ve ilerleyici organ yetmezliği ile beraber olarak (7-13) yarattığı ciddi ve kalıcı hasarlar sonucunda, yoğun bakım ünitelerinde önemli bir ölüm nedeni olmayı hala sürdürmektedir (14-17). İlerleyici sepsiste, yarıya yakın hastada kötü prognozun belirtisi olarak ensefalopati gelişmekte olduğu bildirilmektedir (11, 16, 18, 19). Septik ensefalopatide yaygın nitelikte bir beyin disfonksiyonu ortaya çıkmakta ve klinik olarak hafif konfüzyondan komaya kadar değişen bir tablo izlenmektedir (20-23). Genel bir yaklaşımla, septik ensefalopati sepsis ve SIRS sonucunda ortaya çıkan beyin disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Septik olayların tüm formları ile birlikte rapor edilme oranı %8-70 arasında değişebilmektedir ve yoğun bakım ünitelerinde en sık karşılaşılan ensefalopati tipi olma özelliğini hala korumaktadır. Ayrıca bir komplikasyon olarak hastalık tablosuna eklendiğinde mortalite de artmaktadır. Hastalarda konfüzyon, irritabilite, stupor ve komaya kadar ilerleyen farklı mental durum değişiklikleri izlenmektedir (19, 22, 24).

Sepsis ve septik şok, ciddi bir inflamatuvar olaya eşlik eden sistemik bir yanıtla ve genelde gram negatif bakteriyemi ile birlikte dir. Klinik tabloya diğer şok tiplerine nispeten daha fazla oranlarda, “akut respiratuvar distres sendromu” (ARDS), “yaygın damar içi pıhtılaşması sendromu” (DIC) gibi patofizyolojik önemi olan komplikasyonlar eşlik edebilmektedir. Sepsis

tanısının konulmasında gün geçtikçe daha titiz davranılmasının, girişimsel yöntemlerin yaygınlaşmasının ve immünoşpresif hasta sayısındaki artışın etkileriyle birlikte, septik olaylarla ilişkilendirilen hasta sayısı gün geçtikçe daha yüksek sayılara ulaşmaktadır. Ayrıca, rezistans organizmaların yayılımındaki, yaşlı hasta popülasyonundaki ve prematüre doğumlardaki artışların, rapor edilen hasta sayısını arttırdığı bildirilmektedir (25). Tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen ölüm oranları hala yüksek düzeylerde seyretmektedir. Erken teşhise olanak veren laboratuvar testlerindeki eksiklikler yanında septik durumlardaki bastırılmış semptomlar da tedavi zorluklarına neden olmaktadır. Teşhis ve tedavi zorluklarının üstesinden gelerek sorunların aşılmasında, çeşitli sepsis formları üzerinde modern klinik yaklaşımlarla birlikte, moleküler ve hücresel düzeydeki araştırmalara ihtiyaç vardır (26). Morfolojik ve moleküler seviyelerdeki septik ensefalopati çalışmalarının, sepsisle ilişkili olan nörolojik nedenli komplikasyonlar ve sekeller üzerine daha kesin yaklaşımlara ışık tutacağına inanılmaktadır. Sepsisin kalp, akciğerler ve böbrekler gibi vital organlar üzerine etkileri üzerine pek çok çalışma varken, merkezi sinir sistemi ile ilişkili morfolojik ve moleküler araştırmaların sayısı henüz patofizyolojinin anlaşılması için yeterli düzeyde değildir. Septik olayların ve septik ensefalopatinin hippocampus üzerine olan etkilerini anlamamıza kaynak sağlayacak yayınların sayısı da oldukça azdır. Sepsisin uzun süreli etkilerinde, akut dönem sonrasındaki sekellerinde, mortalitesinde ve tüm bunların primer hastalıkla olan ilişkilerinde patofizyolojik açıdan karanlıkta kalmış noktalar hala bulunmaktadır (6-8, 23, 27-30).

Sepsis ve Terminolojisi

1990'lara kadar sepsis ve sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun kalıcı ve kabul gören bir tanımlaması yapılmamıştır. Bu tarihten önceki çalışmalarda pek çok farklı parametre izlenmiş ve gözlemlenmiştir. Ancak daha sonradan üzerinde karar kılınan temel vital bulgular ile ilgili çalışmalar planlandıkça ve bu parametrelerin modeller üzerinde çalışılması ile

standardize edilen bir temel üzerinde, karşılaştırmalı sonuçlara gitme şansı ortaya çıkmıştır. Çalışma sayıları arttıkça, deney hayvanlarının farklı türlerindeki farklı bulguların ve bu hayvan modellerinin kendilerine has özelliklerinin birbirleri ile karşılaştırılması konusunda tartışılabilirliği imkanı doğmuştur (31). Sepsisle ilgili terminolojide karmaşık gibi görülen farklı tanımlamalar ve terimlerin, kullanılış biçimlerinde bir kararsızlık söz konusudur. Bu durum, sepsis ve diğer inflamatuvar olayların patogenezi anlamadaki ilerlemenin, kullanılan tanımlamaları zaman içerisinde yetersiz bırakmasından ve sepsisle alakalı olan hastalık tablolarının kompleks yapısından kaynaklanmaktadır. Kısaca incelenecek olursa; “bakteriyemi” tanımlaması, kanda bulunan canlı bakteri popülasyonunu nitelerken, “sepsisemi” kanda mikroorganizma ve toksinlerin bulunmasını anlatmaktadır. Ancak sepsisemi terimi sonradan terkedilmiştir. “Sepsis” ise bugün, patojenlere ve bunların alt yapılarına karşı verilen sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır. Enfeksiyöz ya da enfeksiyon dışı mekanizmalarla ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıt “Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu-SIRS” olarak tanımlanmaktadır. Enfeksiyon sonucunda SIRS ya da SIRS ile birlikte enfeksiyon birlikteliğinin şart olmadığı bilinmektedir. Enfeksiyon sonucunda gelişecek bir SIRS tablosu “Sepsis” olarak tanımlanmaktadır. SIRS ve sepsis, hipotermi ya da hipertermi, taşikardi, taşipne, lökositoz ya da lökopeni bulgularından en az ikisinin varlığını gerektirmektedir (14, 25). Sepsis varlığında bir organ sisteminin perfüzyon ve fonksiyon bozukluğu söz konusu olduğunda, klinik tablo “Septik Sendrom” olarak tanımlanmaktadır. Sepsisle birlikte mental durum değişikliği, açıklanmayan hipoksemi, plazma laktat seviyesinde artış, koagülopati ve hipotansiyon var ise “Septik Sendrom” tanımı kullanılırken, septik sendrom yerine (aynı bulgular varlığında) “ciddi sepsis” tanımlaması da yaygın olarak kullanılmaktadır. Sepsisle birlikte hipotansiyon, organ disfonksiyonu ve hipoperfüzyon olduğunda ise tablo “Septik Şok” olarak tanımlanmaktadır. Rakamlar her geçen gün değişse de septik hastaların yaklaşık %40’ında şok belirtilerinin geliştiği bildirilmektedir (5). Klinik tablonun vardığı en son noktada ise organ yetmezlikleri ortaya çıkmaktadır. Organ sistemlerindeki

vital dengelerin sürdürülmesine olanak vermeyen bozukluklarla birlikte olan “Multipl organ disfonksiyonu sendromu” (MODS) tablosu ile mortalite oldukça yükselmektedir (5, 32). Peritonite bağlı bir sepsis durumunda, organ yetmezliği yok iken mortalite %5’ten az olarak bildirilmekte, dört organ yetmezliği ile mortalite oranı %90’ın üzerine çıkmaktadır (33-35). “Enfeksiyon” terimi ise patojen ya da potansiyel patojen mikroorganizmaların normalde steril sayılan doku, sıvı ya da vücut kompartmanlarına invaze olarak neden oldukları inflamatuvar bir süreç olarak tanımlanmaktadır (36).

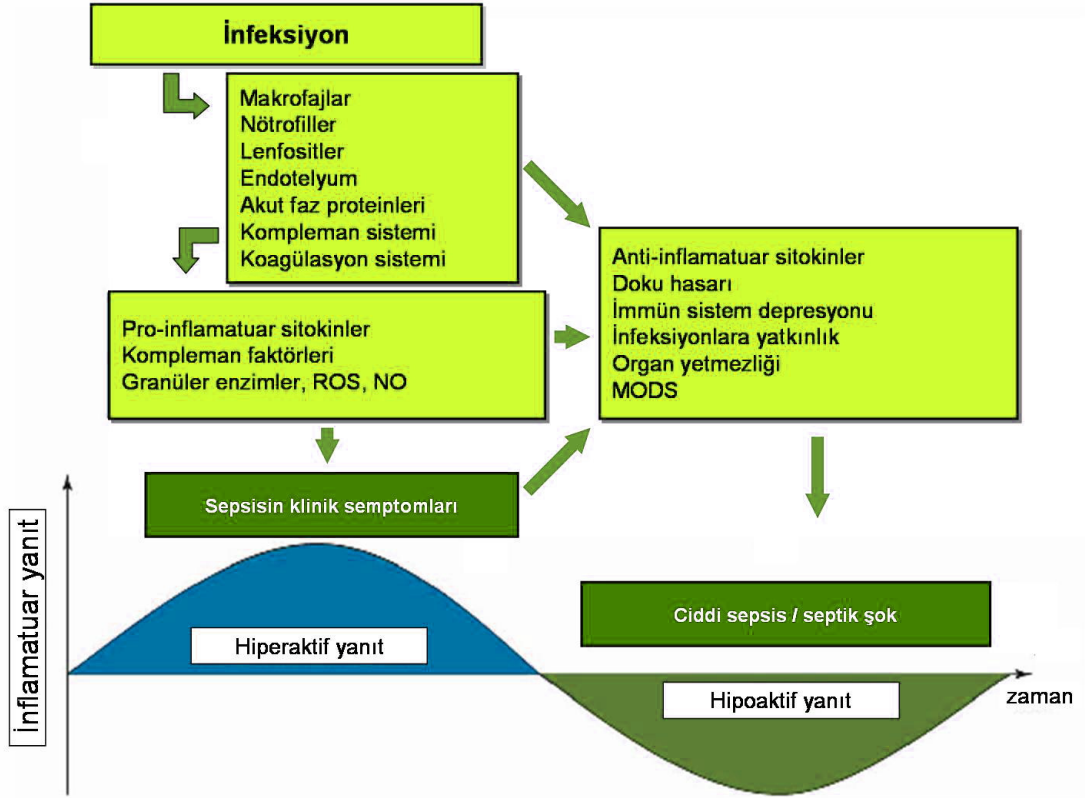
Hemodinamik açıdan sepsis ve septik şok intravasküler volüm azalması ile birlikte (37,38). Hemodinamik dengelerin bozulmasına yüksek kan debisi ile yanıt verilemediği durumlarda hipodinamik bir yanıt ortaya çıkmakta ve bu da kendini kalp debisindeki düşüşle ortaya çıkan periferik vasokonstriksiyon olarak göstermektedir. Tüm bu olayların sonucunda akciğerlerde akut solunum yetmezliği, böbreklerde akut renal yetmezlik gelişebilmektedir. Sepsis oluştuğunda hastayı ölüme götüren olaylar sırasıyla şu şekilde gelişmektedir: Enfeksiyon kaynağı, patojenlerin kana karışması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve endojen mediatörlerin periferik damarları etkilemesi, endotel inflamasyonu, vasküler tonus değişiklikleri, myokard supresyonu, ventriküler dilatasyon, kalp debisinde azalma, kardiyovasküler sistemde yetmezlik, santral venöz basınç azalması, kalp atım hacminde önce artış sonra azalma, MODS, hipotansiyon ve ölüm (37,38).

Homeostazisin yitilmesinin ilk aşamalarında, ilerlemesinde ve yerleşmesinde özellikle endotelial kökenli mediatörler etkili olmaktadır. Vasküler endoteliumun etkileşimi ya da hasarı çeşitli inflamasyon mediatörlerinin salınımını tetiklemektedir. Enfeksiyonda konakçının mikrobiyal ajanlara karşı verdiği yanıt normal şartlarda koruyucu bir davranışken, sepsis tablosu içerisinde organizmanın kendisine zarar verebilmektedir. Gram negatif sepsis sonucunda ortaya çıkan hemodinamik değişikliklerin endotoksinlerin etkileri sonucu ile ortaya çıkan değişiklikler oldukları bildirilmektedir (26). Bununla birlikte endotoksinler doğrudan değil,

ancak inflamatuvar mediatörlerin salınması yoluyla etki göstermektedir. Bu aşamada önemli rolü pro-inflamatuvar aktiviteleri ile sitokinler oynamaktadır. Sepsis sürecinde yer alan sitokinlere müdahalenin faydadan çok zarara yol açabileceği de bildirilmektedir (39-42).

Zamanla sepsis, hemodinamik değişikliklerin daha iyi anlaşılmasına bağlı olarak evrelere bölünmüştür. “Erken sepsis”, hiperdinamik bir yanıt safhası olarak tanımlanmakta ve sepsis başlangıcında inflamatuvar sistemin, sellüler ve humoral savunma sistem mekanizmalarını içerecek şekilde hiperaktif duruma geçtiği dönem olarak ifade edilmektedir. Endotelial ve epitelyal hücrelerde, makrofajlar ve lenfositlerde TNF- α (tümör nekrozis faktör-alfa) , interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) gibi pro-inflamatuvar mediatörler üretilmektedir. C-reaktif protein (CRP) gibi serum akut faz proteinleri artmakta, kompleman sistemi, kompleman-3a ve kompleman-5a gibi güçlü ürünlerini vermek üzere aktive olmaktadır. Tüm bu ilerleyici durumun, pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerle beraber diğer mediatörlerin artışına neden olduğu belirtilmektedir. Nötrofil ve makrofajların granüler enzim salınışı ve ROS üretimi ile yanıt verdiği, ROS ve nitrik oksit'in (NO), doku hasarı, artmış vasküler geçirgenlik ve organ hasarına neden olabildiği bilinmektedir. Lökositlerin kemotaksisi için, endotel hücrelerinden endotelial adezyon molekülleri (granül membran protein-140 “GMP-140”, endotelial lökosit adezyon molekülü-1 “ELAM-1”), nötrofillerden CD11b, CD18 moleküllerinin üretim ve salınışı artmaktadır. Koagülasyon ve fibrinolitik sistemler aktive olduklarında ise DIC ortaya çıkmaktadır (6, 14, 36, 41). Erken hiperaktif aşama hiperdinamik etkilerle birlikte ve bu safhada kalp hızı, kardiyak output ve sistemik rezistans artma ortaya çıkmaktadır. İkinci aşama hipodinamik safhaya geçiş olarak kendini göstermektedir. İnterlökin-10 (IL-10) ve interlökin-13 (IL-13) gibi anti-inflamatuvar mediatörlerin üretimi ile birlikte ortaya çıkan bu durum, “kompansatuvar anti-inflamatuvar yanıt sendromu” (CARS) olarak tanımlanmaktadır. Sepsiste gittikçe artan bir fagositotik aktivite, ROS üretimi, kemotaksis ve sitokin üretimi gerçekleşirken

aynı zamanda inflamatuvar safhadan anti inflamatuvar safhaya geçişte immunsupresyon ortaya çıkmaktadır (Şekil-1) (43).



Şekil-1: Sepsis kaskadı ve evreleri (43) (Hoesel LM, Ward PA. Mechanisms of inflammatory response syndrome in sepsis. Drug Discovery Today: Disease Mechanisms 2004;1:345-50).

15 yıl öncesine kadar sepsis, kanda bakteri varlığında konağın enfeksiyona karşı verdiği sistemik bir yanıt olarak tanımlanmıştır. Klinik araştırmalar ilerleyip tedavi yöntemleri yerleşirken, bazı hastalarda üzerlerinde fikir birliğine varılan septik semptomlara rağmen bakteriyeminin görülememesi SIRS tanımlamasının yerleşmesine neden olmuştur. Ayrıca, pek çok durumda SIRS sepsise ilerlemektedir (43). Günümüzde, klinik durumun kompleks yapısı nedeniyle yoğun bakım ünitelerinde klinik prognoz değerlendirilebilmesi için çeşitli puanlama sistemlerinden yararlanılmaktadır. Yayınlandıklarından bu yana duyarlılıkları ve özellikleri sorgulanan bu

kriterler arasında, APACHE (Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi), SSS (Septik Ağırılık Puanlaması), RAPS (Hızlı Akut Fizyoloji Puanlaması), SAPS (Basitleştirilmiş Akut Fizyoloji Puanlaması) ve TISS (Terapötik Girişim Puanlama Sistemi) gibi kriter sistemleri bulunmaktadır. Sepsisin nedenleri arasında yer alan peritonit tablosu da bu amaçla, APACHE II, SIRS, MODS ve Mannheim peritonit indeksleri gibi pek çok puanlama sistemi ile değerlendirilmektedir (34, 44-46).

Yoğun bakım ünitelerinde sepsis nedeniyle kaybedilen hastaların çoğunda progresif organ disfonksiyonlarının ve yetmezliklerinin olduğu bildirilmektedir (47-50). Bu hastalarda, mekanizması tam olarak çözülememiş olmakla birlikte, hasar ile konak yanıtı arasındaki dengeler bozulmakta, generalize ve etkili bir inflamasyon ortaya çıkarak, ciddi doku yıkımı oluşmakta, klinik olarak "Multipl organ yetmezliği" ya da "Multipl organ disfonksiyonu sendromu" olarak tanımlanan tablo ortaya çıkmaktadır. MODS, organ disfonksiyonunun ilk başta ya da daha sonradan oluşup oluşmadığına göre de primer ve sekonder olarak tiplere ayrılmaktadır. Moleküler biyoloji ve genetik mühendisliğindeki son gelişmeler ile MODS'da organ hasarlanmasının, direkt olarak eksojen faktörlerle yani bakteri veya toksininden çok endojen olarak üretilen mediatörlerle yakın ilişkide olduğu anlaşılmıştır (51). Enfeksiyon olmaksızın da birçok kritik hastada MODS gelişebilmekte ve tabloyu oldukça ağır hale getirebilmektedir. Aşırı doku zedelenmesinin ve sepsisin, sistemik inflamatuvar yanıtı tetikleyerek, doku yıkımı ve MODS'a doğru bir gidişe neden olduğu düşünülmektedir (51). MODS ile ilgili çalışmalarda, patogeneizde rol oynayan mediatörlerin; komplemanlardan elde edilen peptidler, aktive olmuş nötrofiller, ROS ve kininler, ayrıca tromboksan A2 (TXA2), lökotrienler, platelet aktive edici faktör (PAF) gibi vazoaktif lipitler, sitokinler ve opioid peptidler gibi geniş bir çerçeveye yayıldıkları görülmektedir. İlerleyici sepsis, Multipl organ yetmezliğine neden olurken, mortalite üç ya da daha fazla organ yetmezliğine giren hastalarda oldukça artmaktadır (14, 47). Sepsis yerleştiğinde, endotelial hasarla birlikte fibrin depozitleri ve mikrotrombüs oluşumu pek çok

organda tespit edilmekte ve bu organlarda lökosit birikimi ve aktivasyonu ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda, degranüle olan nötrofillerden lizozomal enzim ve süperoksit radikallerinin salınışı gerçekleşmektedir (8, 11, 52).

Sepsis Etiolojisi ve Epidemiolojisi

Sepsis etiolojisinde son 30 yıl içerisinde, patojen faktörlerin dağılımı ve hastalıktan sorumlu primer enfeksiyon odaklarının sıklık oranları oldukça değişerek evrime uğramıştır (53). 1960'lar ve 1970'lerde sepsisten sorumlu patojenlerin başlıca gram negatif bakteriler olduğu bildirilirken daha sonraki tarihlerde gram pozitif ve fırsatçı fungal patojenler nedeniyle oluşan sepsis insidansının arttığı görülmüştür. Son dekatta elde edilen istatistiklere göre, gram negatif ve pozitif bakterilerin %25'erlik birbirlerine denk yüzdelerle sepsise neden oldukları, ve %20 oranıyla da gram negatif ve pozitif patojenlerin birlikte karışık enfeksiyonlar şeklinde buldukları bildirilmiştir. Fungal patojenlerden candida türleri %5'e yaklaşan bir oranla kendilerini gösterirken, nedeni belirsiz olanlar da %25'lere kadar ulaşmaktadır (53). Gram negatif bakterilerden Escherichia coli ve Klebsiella türleri, gram pozitiflerde Staphylococcus aureus ve Enterococcus türleri sırasıyla ilk iki sırayı alan mikroorganizmalardır. Spektrumdaki değişim multi-rezistans organizmaların insidanslarındaki artışa bağlanmaktadır. Enfeksiyon odağı olarak, 1970'lerden 1990'lara kadar en sık rastlanan odak abdomen iken bu da değişime uğramıştır. Günümüzde en sık enfeksiyon odağı olarak %50 ile solunum yollarının geldiği bildirilmektedir. %20'lere gerileyen intra-abdominal ve pelvik bölge ise ikinci sırayı almıştır (53).

Üzerinde fikir birliğine varılan tüm sepsis kriterlerine rağmen septik hastaların yarıya yakınının bakteriyemik olmadıkları, bakteriyemik hastaların büyük kısmının da septik olmadıkları ifade edilmektedir (54). İstatistiksel bilgilerimiz sepsis odaklı olmaktan çok altta yatan nasokomiyal enfeksiyon gibi diğer nedenlere odaklanmakta, ayrıca herhangi bir enfeksiyonun sepsise gidişi, tam olarak her hasta için monitorize edilmemektedir. Sepsis, klinik

ortamlarında beklenmedik bir sonuç gibi ortaya çıkarken, gerekli ve yeterli epidemiolojik bilgi de toplanamamaktadır. Herhangi spesifik bir etken üzerinde toplanmış bilgi kaynakları da yetersizdir. Epidemiolojik bilgiler farklı kaynaklarda farklı olabilmektedir. Gram negatif sepsis oranını, tüm septik hastaların %40'ı gibi yüksek oranlarda olduğunu veren kaynaklar azımsanmayacak orandadır. Önemli bir başka nokta, bunların yaklaşık olarak ancak yarısında yüksek düzeylerde bakteriyeminin tespit edilebildiğidir (54). Gram negatif bakteriyemi ise tersine bir bakışla %50-60 oranında sepsisle sonuçlanmaktadır. Bu oran gram pozitif bakteriler için %5-10 kadardır. Hastaların sadece %33 kadarı acil ya da yoğun bakım ünitelerinde olmayan hastalardır ve gram negatif sepsisten ölüm oranı %20-50 arasındadır (55).

Sepsis Patofizyolojisi ve Sepsis Kliniği

Ciddi bir enfeksiyon belirli bir eşik değerini aştığında yüksek dozda bakteriyel antijenin kana geçmesi sepsisin ilk başlangıç safhasını oluşturmaktadır. Mikro organizmaların extrasellüler molekülleri ilk olarak immun sistemce tanınmaktadır. En iyi karakterize edilmiş bakteri kökenli antijen bakteriyel lipopolisakkarittir (LPS). Bu endotoksinin kanda bulunması ile endotoksemi ortaya çıkmaktadır. Ayrıca lipoteikoik asit (gram pozitif bakteriler) ve mantar hücre duvarlarından derive edilebilen ergosterol, immun sistemi bu anlamda aktive edebilmektedir. Monosit-makrofaj sisteminde ciddi bir aktivasyon belirli miktarda antijen varlığını gerektirmekte ve bu hücrelerden salınan faktörler diğer hücrelerin aktivasyonuna neden olmaktadır (5, 55).

Sepsise geniş bir spektrumdaki farklı mikroorganizmalar sebep olabilmektedir. Gram negatif bakterilerin epidemiolojik açıdan bu dağılım içinde özel bir yerleri vardır. Kompleks bir hücre duvarlarına sahiptirler. LPS ya da bakteriyel endotoksin tüm gram negatif bakterilerin hücre duvarlarının büyük kısmını teşkil etmekte ve lipid komponentiyle (Lipit A) ile birlikte polisakkarit kısmından oluşmaktadır. Polisakkarit kısım, O-antijen ve

oligosakkarit parçalarını içermektedir. LPS, gram negatif sepsisin ve şokun en önemli eksojen mediatörü olarak kabul edilmektedir (53, 56). Lipit A biyolojik aktivitelerin major kısmından sorumlu olduğundan, LPS'nin endotoksik kısmı olarak adlandırılmaktadır. Endotoksinin etkileri ile ortaya çıkan sonuçlar, farklı ve çok yönlü ilerleme göstermektedir. Makrofajlardan sitokin salınışı, endotelyumdan NO ve prostasiklin salınışı, koagülasyon sisteminin aktivasyonu, araşidonik asit metabolizması aktivasyonu ve histamin salınışı, kompleman sistemi aktivasyonu, lökositlerin endotelial hücrelere adezyonu, oksijen radikallerinin üretimi ve doku hasarı, nötrofillerin degranülasyonu ile proteazların salınışı bu etkiler arasında en önemli olanlarıdır. Endotoksin, endotelial hücre membranında ve mikrovasküler yapıda direkt etkiyle zararlanmaya neden olabilirken, ayrıca hücre membran fosfolipidlerinin aktivasyonu ile panendotelial hasarlanma ve malign inflamasyon oluşumuna da yol açmaktadır. Tüm bunların gerisindeki endojen mediatörler ise aktive olmuş kompleman sistemi üyeleri, kinin sistemi aktivasyonu ile oluşan bradikinin, araşidonik asit metabolitleri, PAF, endorfinler ve sitokinlerdir. Sitokinlerden TNF- α , tek başına bir MODS nedeni olabilmektedir. Sepsisle ilişkili olarak en fazla önemi olan sitokilerden TNF- α 'nın, lökosit ve immun regülatör hücrelerden salınarak ateş, anoreksi, sempatik deşarj, lipogenez stimülasyonu, kortikotropin salınımı, akut faz proteinleri ve protein katabolizması artışı ve albümin sentezinde, kas glikojeninde, yapısal proteinlerin sentezinde azalma gibi etkileri olduğu bilinmektedir (56). IL-2, septik şok sendromunun toksisitesini düzenlemektedir. IL-6, megakaryosit matürasyonunu desteklemekte, trombosit sayısında artışa neden olmaktadır. IL-8, nötrofiller için kemotaktiktir. İnterferon-gamma (IFN- γ), steroidlerin makrofajlara yönelik TNF- α üretimi üzerindeki baskılayıcı etkilerini azaltmaktadır (53, 56).

Gram negatif hücre duvarı dışı membranındaki lipoprotein, LPS dışı bir mikrobiyal faktör olarak biyolojik aktiviteye sahiptir. İnvitro pro-inflamatuar sitokin uyarımı ya da farelerde invivo olarak ölümcül şok gelişimine neden olabilmektedir. Makrofajları aktive edebilmekte ve TNF- α ile birlikte IL-6

salınına yol açabilmektedir. LPS ile birlikte sinerjistik ilişkide olduğu da bilinmektedir (57). Bakteri DNA'sının invitro olarak pro-inflamatuar sitokin üretimine neden olduğu ve LPS ile sinerjistik çalıştığı bildirilmektedir (58). Aynı durumun lipoteikoik asit için de geçerli olduğu ifade edilmektedir (59).

Gram pozitif bakteri patojenitesi yeni anlaşılmaya başlanmıştır. Gram pozitif sepsisin, gram negatif sepsisin tersine primer olarak güçlü ekzotoksinlerin salınımı ile ortaya çıktığı düşünülürken, yapılan çalışmalar sonucunda gram negatif sepsiste de ekzotoksinler salındığı görülmüştür. Gram pozitif hücre duvarı, LPS'nin özelliklerinin bir kısmını taşımaktadır. Gram pozitif ve negatif organizmalar benzer pro-inflamatuar yanıtlar ortaya çıkarmaktadırlar. Ortak özelliklerinin ötesinde gram pozitif bakteri duvarı plazma membranının hemen üstünde kalın bir peptidoglikan tabakası içermektedir ve bu peptidoglikan tabakası içinde lipoteikoik asit molekülleri bulunmaktadır. İn vitro çalışmalar, gram pozitif hücre duvarının, CD14 reseptörleri aracılığı ile monositleri ve ökaryotik nükleer faktör- κ B (NF κ B) aktivasyonu ile pro-inflamatuar mediatörlerin salınımlarını aktive etme özelliğine sahip olduğunu göstermiştir (60-63). Ayrıca, peptidoglikan ve lipoteikoik asit bu olaylarda sinerjistik rol oynamaktadır (64).

Serbest intravasküler endotoksin (LPS) bakteri duvarının yıkımı ile ortaya çıkmaktadır. LPS, LPS bağlayıcı protein (LPS binding protein, LBP) olarak bilinen karaciğer kökenli bir akut faz plazma proteinine bağlanmakta ve CD14 reseptörleri hücre yüzeyine transfer edilmektedir. Bu reseptörler monositler, makrofajlar ve nötrofillerde bulunmaktadır. Bakterisidal geçirgenlik artırıcı proteinin (BPI), nötrofiller tarafından üretildiği ve LPS'in LBP'ye bağlanmasını önleyebildiği bilinmektedir. LPS ile başlayan sinyal iletimi CD14 aracılı Toll like reseptör-4 (TLR4) aktivasyonu ile ilerlemektedir. Bu proteinin intrasitoplazmik parçası IL-1 reseptörüne benzerlik göstermektedir. IL-1 ve Toll reseptörleri ise NF κ B ailesini aktive edecek olan sinyal iletim dizisini indüklemektedirler. Bu noktada devreye girildiğinde TLR4 geninin spontan mutasyonu ya da hedeflenmiş yıkımı ile endotoksik şoka

rezistans fareler üretilebildiği bildirilmiştir (65, 66). Ayrıca, endotoksinin sitozole direkt olarak girebildiği de ifade edilmektedir (67). LPS'nin kompleman sisteminin klasik ve alternatif yollarını aktive ettiği bilinmektedir. Anaflatoksinler olan C3a, C5a ve terminal C5b-9 komplekslerinin üretimi artmaktadır. Koagülasyon sistemi ve trombositler de sepsisin erken safhalarında aktive olmakta, trombositopeni ve koagülopati gelişmekte ve sonuçta olaylar dizisi DIC ile sonuçlanabilmektedir (53).

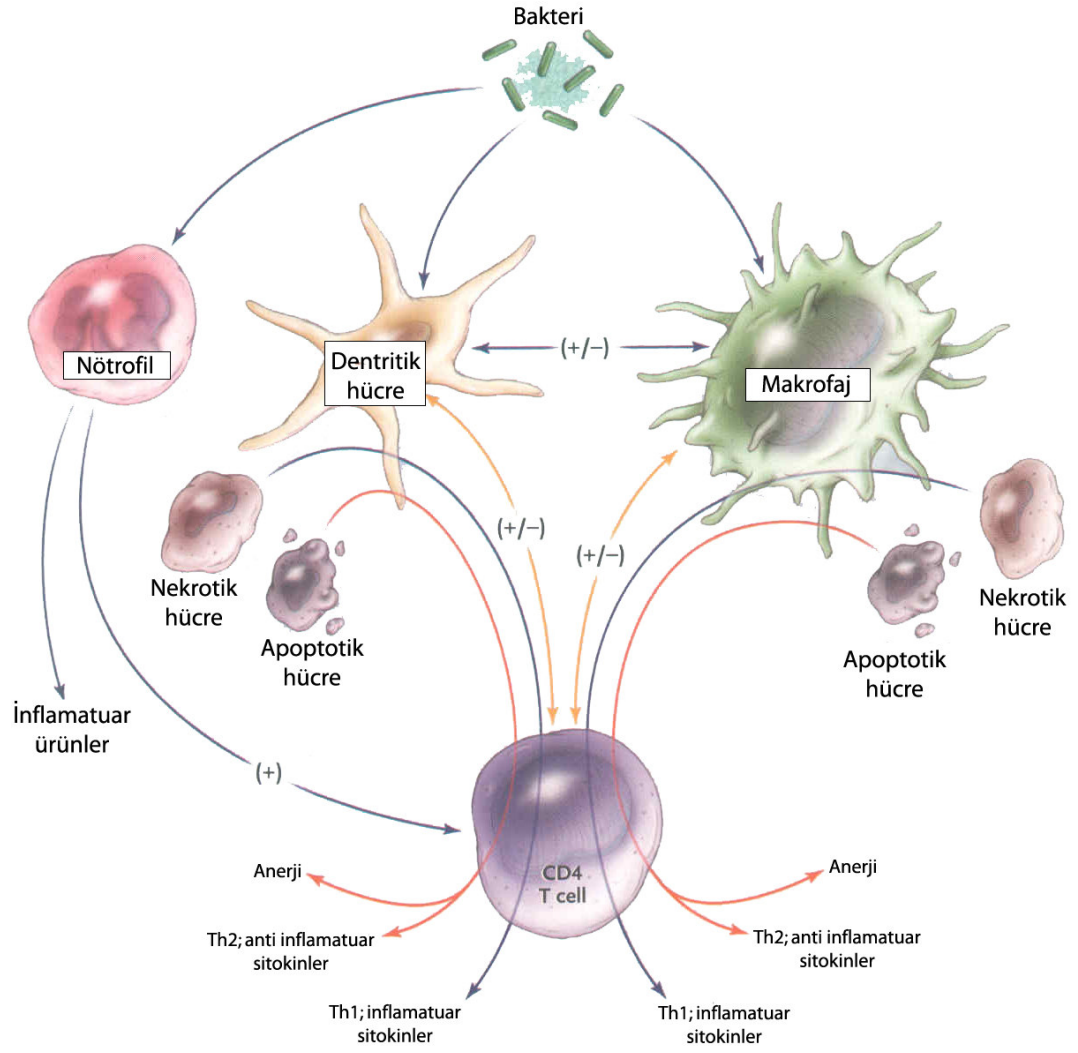
Sepsiste pro-inflamatuar moleküllerin üretimi ve lokal salınışını ile başlayan immun yanıt, gecikmiş hipersensitivite kaybını ve enfeksiyonu temizleme yetersizliğini içererek immünsupresif niteliklere sahiptir (68-70).

Sitokinler, bir organizmanın yabancı partiküller gibi iç yada dış uyarılara karşı oluşturduğu immun yanıtta aktif rol alan, çözünür proteinler olarak tanımlanmaktadır. Stresin değişik şekilleri ile sitokin formasyonu etkilenebilmektedir. Periferdeki fagositler, lenfositler gibi hücreler tarafından ya da merkezi mikroglia gibi hücrelerce üretilebilmekte ve hormonlar ya da nörotransmitterlerden ayrı olarak değerlendirilmektedirler (71-73). Sitokinler, T ve B lenfositleri aktive ya da regule etmekte ve inflammatuar yanıtta pek çok basamakta görev almaktadırlar. Genel bir yaklaşımla üç grupta toplanmaktadır. Birinci grupta; immun regülatör sitokinler bulunmaktadır. Bu sitokinler lenfositlerin aktivasyonu, gelişimi ve farklılaşması ile ilişkilidirler (IL-2, IL-3, IL-4). İkinci grup; pro-inflamatuar sitokinlerdir ve primer olarak mononükleer fagositlerce infeksiyöz ajanlara yanıt olarak üretilmektedirler (IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-8). Üçüncü grup ise, anti-inflamatuar sitokinler olarak tanımlanmaktadır (IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, transforming growth faktör- β (TGF- β)). IL-4 ve IL-6 gibi bazı sitokinler iç içe geçen etkilere sahiptirler. IL-1 ve TNF- α sitokinlerinin septik etkileri konusunda yeterli bilgi bulunmaktadır. Her ikisinin intravenöz olarak verilmesi ile septik şok benzeri sendroma yol açmak mümkünken, IL-1 ve TNF- α sitokinlerinin nötralizan antikolar, çözünür sitokin reseptörleri ya da reseptör antagonistlerince inhibisyonunun sepsisin ilerleyişini baskıladığı bilinmektedir. IL-10 gibi anti-

inflatuar sitokinlerin verilmesi ile de sepsisin etkisi azaltılabilmektedir. Sitokinlerin plazma seviyeleri genel olarak sepsisin ciddiyetini yansıtmaktadır. Bunlar arasında IL-1 ve TNF- α 'ya ek olarak IL-6, IL-8 ve makrofaj migrasyon inhibisyon faktörü sayılabilir (71-73). Genetik olarak TNF- α eksikliği olan farelerde LPS'nin etkilerine karşı bir miktar direnç geliştiği bilinmektedir (74). Transgenik TNF-r55 farelerinde intravenöz verilen LPS'ye karşı hemodinamik ya da sistemik immun değişiklikler gözlenmediği bildirilmektedir (75, 76). IL-1 converting enzim eksikliği olan transgenik farelerin LPS etkilerine rezistan olduğu da ifade edilmektedir (77). Septik hastalarda LBP ve endotoksin seviyeleri arasında bir bağlantı bulunamamıştır. Her ikisinin birlikteki düzeylerinin, tanısal önemi olabileceği rapor edilmektedir (78). Buna benzer şekilde, sepsis prognozunun değerlendirilmesinde göz önünde tutulabilecek pek çok faktör gibi, sitokinler de temeldeki yerlerini korumaktadırlar.

Ayrıca, sitokinlerin yararlı etkilerinin olabileceği de bildirilmektedir. Hayvan peritonit deneylerinde, TNF- α blokajı yaşam oranını kötüleştirilmektedir (79, 80). Buna karşılık bazı çalışmalar ise TNF- α 'ya karşı terapi ile iyi sonuçlar alınabildiğini göstermektedir (81).

Septik olayların başlangıcında inflamatuvar mediatörler artmakta ancak sepsis yerleştikçe anti-inflamatuvar immünsupresif safha ortaya çıkmaktadır (70, 82). Monositler, makrofajlar ve CD-4 T hücreleri sitokinlerin major kaynaklarıdır. Antijen sunan hücreler, hormonlar ve sitokinler gibi pek çok faktör T-helper tip 1 ya da tip 2 farklılaşmasını sağlarlar (83). Aktive CD-4 T hücreleri iki farklı ve karşıt düzende sitokinlerin salınmasında sorumludurlar (84-86). İnflamatuvar TNF- α , IFN- γ ve IL-2 sitokinleri T-helper tip 1 tarafından ve anti-inflamatuvar IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 sitokinleri tip 2 T helper hücreleri tarafından salınırlar. İkinci grup lenfosit hücrelerinin etkileri ile makrofaj fonksiyonları inhibe edilmektedir (Şekil-2). Heidecke ve ark. peritonit çalışmalarında T-helper tip 1 fonksiyon azalması ve T-helper tip 2 üretiminde artış ve anerji bildirmişlerdir (87).



Şekil-2: Makrofajlar ve dendritik hücreler, bakteri invazyonu ve CD-4 T tip 1 hücrelerinden salınan IFN- γ gibi sitokinler yolu ile aktive olurlar. Alternatif olarak, CD-4 T hücrelerinden anti-inflamatuvar profile sahip olanlar (tip 2 T helper hücreleri (Th2)) IL-10 salgırlar ve makrofaj aktivasyonunu baskırlar. CD-4 T hücreleri makrofaj ve dendritik hücrelerin stimölasyonu yolu ile aktive hale gelir. Örneğin, makrofajlar ve dendritik hücreler IL-12 salgırlar. Bu sitokin de inflamatuvar sitokinleri salgılatmak üzere, CD-4 T hücreleri aktive eder (tip 1 helper T hücreleri (Th1)). Birden fazla faktöre bağlı olarak (organizmanın tipi, enfeksiyon yeri) makrofajlar ve dendritik hücreler, anti-inflamatuvar ya da inflamatuvar sitokinlerin indüksiyonuna ya da sitokin üretiminin global azalmasına (anergi) neden olabilirler (3) (Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. The New England Journal of Medicine 2003;348:138-51).

Sitokin kaskadı özetlenirse, sepsisli hastalarda ilk ortaya çıkan pro-inflamatuar sitokin TNF- α 'dır. Takiben IL-1, IL-6 ve IL-8 salınışı olmaktadır. TNF- α ve IL-1'in reseptörlerine bağlanması, g-proteinleri, adenilsiklaz, fosfolipaz A2 ve C ile serbest oksijen radikalleri gibi ikincil habercilerin üretimlerinin aktivasyonuna neden olmaktadır. NF κ B'nin ise özellikle pro-inflamatuar mediatörlerin transkripsiyonlarında önemli role sahip olduğu bilinmektedir. Bu faktör, endotoksinin kendisi, virüsler, oksidanlar, TNF- α , IL-1 ve PAF tarafından aktive edilebilmektedir. TNF- α ve IL-1, IL-6 ve IL-8'in salınımlarını takiben dolaşımında IL-4, IL-10, IL-13 ve TGF- α artışı olmaktadır. Anti-inflamatuar sitokinlerin üretimi ile, T-helper tip 1 ve 2 dönüşümünü başlatan olaylar zinciri sonucunda, artan anti-inflamatuar IL-1 ve TNF- α sitokinlerinin ekspresyonu inhibe olmaktadır. Ayrıca, T ve B lenfosit fonksiyonları gibi monositlerin antijen stimülasyonu da engellenmektedir. Çoğu enfekte bireyde vücut pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar mediatörler arasında dengeyi sağlayarak homeostasisi yeniden kurmaktadır. Ancak bazı durumlarda denge kurulamamakta ve pro-inflamatuar süreç aşırı bir ilerlemeye girerek, SIRS ve hatta MODS'a dönüşebilmektedir (88, 89).

Sepsis kaskadında bulunan pek çok mediatörden birinin de PAF olduğu bilinmektedir. Trombositler, nötrofiller, makrofajlar ve endotel hücreler gibi pek çok hücre tarafından inflammatuar uyarıya yanıt olarak üretilmektedir. PAF, sepsiste salınan inflammatuar mediatörlerin üretilmesi, regülasyonu ve güçlendirilmesinde önemli role sahiptir. Ayrıca endotel üzerinde de etkileri vardır. Endotel hücreleri üzerinde lökosit adezyonunu ve bu hücrelerin aktivasyonlarını artırmaktadır. Endotel hücre üzerindeki spesifik reseptörü ile sitoskeletal yapıyı değiştirebilmekte (90) ve damar geçirgenliği üzerinde etki yapabilmektedir (53).

Sistemik inflammatuar süreçte adı geçen pek çok olayın ortaya çıkışını kontrol eden immun sistem üzerine merkezi sinir sisteminin de etkisi bulunmaktadır. Bu doğrultuda, kortikotropik aksın tetiklenmesi ile güçlü endojen immunosupressif etkiler gösteren glukokortikoidler aktive

olabilmektedir. Dolaşan sitokinlerin merkezi sinir sistemine bilgiyi getiren taşıyıcılar oldukları düşünülmektedir. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α , çeşitli deneysel sistemik inflamasyon modellerinde kanda tespit edilebilen başlıca sitokinlerdir. Ayrıca benzerleri gibi immünolojik olaylar sırasında bozulan homeostatik dengenin tekrar tamirinde gerekli olan fizyolojik yanıtların aktivasyonunda da görev aldıkları bilinmektedir. Bu yanıtların bazılarında beyin dokusunun da yer aldığı anlaşılmıştır. Rekombinant TNF- α 'nın uygulanması, kan beyin bariyeri hücrelerinde siklo-oksijenaz-2 (COX-2) enzimini ve inhibitör faktör kappa B alfa'yı (I κ B- α) kodlayan genlerin transkripsiyonunu aktive etmektedir (91). Kandaki sitokinler daha sonra, beyin kapillerlerindeki endotel yüzeyindeki reseptörleri hedef alabilmekte ve NO ya da prostaglandinler gibi çözünen araçların aktivasyonunu başlatabilmektedirler (91). Beyin parankiminde diffüz bir geçiş özgürlüğüne sahip olan bu moleküller tüm etkileri aracılığıyla çevredeki özel grup nöronların aktivitesini de değiştirebilmektedirler. Ventrikül çevresi organlar (circumventricular organlar, CVO) bu etkilere diğer bölgelerden daha yakın ve açıktırlar. Beyin hacminin %0.5'inden azını kapsayan CVO'ya ait doku alanları kan kökenli humoral sinyallerin nöronal yanıtlara dönüşmesinde vital role sahiptirler. Bu organlar serebral ventriküllerin midsagittal yüzlerindeki yerleşimleri nedeniyle "circumventriküler organlar" olarak adlandırılmışlardır. CVO'nun kandaki pro-inflamatuar sitokinlerce aktive edilebileceğinin gösterilmesi önemli bir bulgudur. Rekombinant IL-1 ve IL-6 birlikte, organum vasculosum lamina terminalis, organum subfornicale, eminentia mediana ve area postrema gibi bölgeleri etkileyebilmektedirler (91). Bazı durumlarda TNF- α 'nın beyin dokusunun kendisince üretilebildiği ve bakteriyel enfeksiyonlarla birlikte nöro-inflamatuar ve nörotoksik sonuçlar ortaya çıkarabildiği de gösterilmiştir (92).

Sepsis patofizyolojisi içinde yer alan önemli bir diğer faktör de "Doku faktörü" dür. Doku faktörü (tissue factor; TF) septik şok patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Salgılandığı diğer hücre tipleri ve dokuların yanısıra, beyinde astrositler tarafından salgılandığı bilinen bu faktörün

mikrodamarlar açısından bakıldığında, dalak mikrodamar endotelial hücrelerinde antijenik tespiti yapılmıştır. Trombin oluşumu ve fibrin birikimine neden olarak koagülasyonu aktive etmekte ve LPS tarafından tetiklenen DIC tablosunun ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır. LPS uygulanmasına bağlı olarak ortaya çıkan hücresel düzeydeki salgılanışı, basal gangliyonlar, thalamus, serebellum, korteks, beyin sapı ve hippocampus dahil olmak üzere pek çok merkezi sinir sistemi dokusunda görülebilmektedir (93).

Deney hayvanlarında oluşturulan sepsisin fizyopatolojisi, septik hastalara kıyasla bazı yönlerden daha farklı olabilmektedir. Yüksek doz endotoksin kullanılan belirli çalışmalarda, dolaşan sitokin oranları çok daha yüksek olabilmekte ve sitokin fırtınası ile deney hayvanları ölmektedir. Ayrıca bu mediatörleri bloke eden makromoleküller ve bileşiklerle yaşam oranının arttırılabilmesi sık karşılaşılan bir durum olarak görülmektedir (94, 95). İnsan merkezli çalışmalarda bazı raporlarda sitokinlere ait yüksek değerler elde edilebilmesine rağmen çoğunda her zaman bu değerlere ulaşılamamaktadır. Bazı çalışmalarda, %25 hastada anlamlı TNF- α değerleri bildirilirken, bazılarında ise %10'dan daha az hastada ölçülebilir TNF- α düzeyleri rapor edilmiştir (96, 97).

Hayvan Modelleri ve Sepsis

Günümüzde sepsis modelleri oluşturulurken pek çok yöntem ve yaklaşımdan faydalanılabilmektedir. Kullanılan primer sistemik ajan olarak LPS, gram negatif sepsis oluşturulmasında, endojen sitokinlerin ve tamamlayıcı proteinlerin deneysel olarak üretiminin uyarılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Endotoksikoz oluşturmada kullanılan LPS, dayanıklı yapısı ile liyofilize bir halde depolanabilmekte ve gerektiğinde bolus ya da infüzyon şeklinde kullanılabilmektedir. Sepsis oluşturulmasında kullanılan modellerde LPS'den başka bakteriyel ya da viral etkenlerin direkt olarak kullanılabilmesi tercih edilebilmektedir. Bakteri izolatları, laparotomi ile vena portalis'e ya da vena cava inferior'a enjekte edilebilmektedir. Endojen floranın

gastro-intestinal sistemden cerrahi olarak serbest bırakılması ve bir enfeksiyon odağı oluşturmasına izin verilmesi de sıkça kullanılan bir yaklaşım olarak görülmektedir. Çekal ligasyon, diğer noninvazif yöntemlerden daha agresif ve daha uzun süreli cerrahi müdahale süresi gerektirmesine rağmen, tercih edilen bir girişim olma özelliğini hala korumaktadır. Daha az invazif bir yöntem olarak, seçilmiş bakteri suşlarının intraperitoneal olarak kullanılmasının yanısıra, fekal materyalin inokulum tarzında intraperitoneal olarak uygulanması da kullanılan yöntemler arasındadır. Bu son yöntem ile peritonite ait fizyopatolojik durum, LPS ya da bakteri izolatlarının kullanıldığı deneylerden daha uygun bir şekilde taklit edilebilmektedir. Ayrıca, ekstremitelerde apseler meydana getirilmesi de bir diğer cerrahi yöntemdir (31).

Deney hayvanı olarak kullanılan küçük hayvanlar ve baboonlar endotoksine karşı daha duyarsız olmalarına karşın büyük hayvanlar, tavşanlar, koyun ve şempanzelerin aşırı bir yanıt verdikleri bilinmektedir. Ayrıca, insensitif hayvanlarda, öldürülmüş organizmaların ya da D-galaktosamin'in gerekli LPS dozunu azaltabildiği de ifade edilmektedir (31).

Sepsis modelleri oluşturulurken küçük memeli deney hayvanlarının kullanımının en önemli faydaları, göreceli ucuz olmaları ve genetik yatkınlıklarıdır. Bu hayvanlarının deney süresince yaşamda kalmalarının sağlanması ise aşılması gereken önemli bir nokta olarak görülmektedir. Büyük memeli hayvanlar genelde invazif monitorizasyon gerektiren fizyolojik çalışmalarda kullanılmaktadırlar. Özellikle domuzlar, organ sistemlerinin insana benzerliği dolayısıyla en sık kullanılan büyük deney hayvanlarından biridir. Vasküler geçirgenlik çalışmalarında, akciğer damarlarının geçirgenlik özellikleri dolayısıyla koyunlar, immunolojik benzerlikleri dolayısıyla da primatlar sitokin çalışmalarıyla birlikte tercih edilen hayvan modelleridir. Türler arasında endotoksine karşı olan sensitivite de değişkenlik göstermektedir. Neonatal sıçanlar, septik olaylara karşı azalmış bir yaşam oranı sergilerlerken, yaşamlarının ilk haftasında hızlıca ortaya

çıkarılmış bir enfeksiyona daha dirençlidirler. Bununla beraber, diyet ve anne beslenmesinden konkominant enfeksiyonlara kadar pek çok etken septik durumun ilerleyişini etkileyebilmektedir. Sitokinleri, hücreleri ya da tüm immün sistemi etkileyebilen, konjenital ya da kazanılmış immuno-inflamatuvar defektli deney hayvanları, patofizyolojinin anlaşılmasında değerli bilgiler verirlerken, transgenik tekniklerin gelişmesi ile spesifik genler üzerinde delesyonlar ya da aşırı üretimler söz konusu olabilmektedir. İdeal bir septik hayvan modeli, basit, tekrar üretilebilir, doza bağımlı yanıt verebilir olmalı, yeterli klinik bulguları sergileyebilmeli ve yeterli sitokin yanıtı ile bakteriyolojik bulguları ortaya çıkarabilmelidir. Ayrıca, lokal başlayıp dereceli olarak yayılan bir gelişim izlemelidir. Bilimsel açıdan anestezişiz şartlar altında ilerleyen bir deney süreci tercih edilse de bu etik olarak kabul edilmemektedir. Yoğun bakım ünitelerindeki hasta çeşitliliği ve geniş çaplı klinik çalışmaların maliyetinin yüksek oluşu gibi olumsuz faktörler nedeniyle septik hayvan çalışmaları, yeni tedavi ve etkenlerin denenmesinde oldukça değerlidir (31).

Peritonit ve Sepsis

Bir sepsis nedeni olarak peritonit, abdominal kavitenin ve bölgede yerleşmiş olan organları sınırlandıran serozal membranların inflamasyonu olarak tanımlanmaktadır. Genelde rüptüre olmuş bir appendix vermiformis ya da kolon divertikülü ya da bağırsak perforasyonu sonucu, steril peritoneal ortamın enfeksiyonu sonucunda meydana gelmektedir (98). Bağırsak içeriği yanında, perfore ülser ile mide içeriği, perfore safra kesesi ya da karaciğer laserasyonu sonucu, safra gibi peritoneal bölgeye ulaşan kimyasal irritanlar da peritonite neden olabilmektedir. Bayanlarda rüptüre ovaryum kisti ve enfekte fallop tüpünden gelen enfeksiyon gibi durumlar da pelvik kökenli peritonite yol açabilmektedir (99).

Peritonit, cerrahi ve enfeksiyon bilimleri açısından bir enfeksiyon nedeni olarak önemini hala korumaktadır. Peritonitte, gastro-intestinal sistemin hangi bölgesinin olaya katıldığı, bakteri miktarını ve enfeksiyon

oluşturma yeteneğini etkilemektedir (100). Günümüzde sergilenen tedavi yaklaşımlarında birincil olarak; asıl neden ve buna bağlı olarak tercih edilen antibiyotik kullanımları ve destekleyici tedavileri yer almaktadır (101, 102). Ayrıca, tedavi yaklaşımları arasındaki cerrahi müdahaleler de değişken sonuçlar sergilemektedir (103, 104). Altta yatan neden açısından peritonit, steril (kimyasal, mekanik) ya da enfeksiyöz olabilmekte ve tedavi yaklaşımı farklı peritonit tiplerinde farklı olabilmektedir. Primer (spontan) ve sekonder tipleri gibi tersiyer peritonit (bir başka tanımlama ile rezistans ve tekrarlayan peritonit), ya da lokalize, generalize, apse formları gözlenebilmektedir. Genelde kronik karaciğer hastalığı nedeniyle ortaya çıkan primer spontan bakteriyel peritonit (SBP) en sık gözlemlenen tip olarak bildirilmektedir. Sirozlu hastaların %20'sinde SBP gelişmektedir ve risk karaciğer hastalığının ciddiyeti ile artmaktadır. Spontan translokasyonda geçiş noktaları; bağırsak duvarı, mezenterik lenfatikler ya da ender de olsa bakteriyemi ile olmaktadır ve bunların çoğunun monomikrobiyal olduğu bilinmektedir (en sık Escherichia coli ve diğer gram negatif türler) (105). Sekonder peritonit ise en sık olarak perforasyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır. Sekonder peritonitin de, bulaş noktası değişkenliği dahilinde, çeşitli gram negatif, pozitif ve anaerobik türlerle olduğu bilinmektedir. Bu tip peritonitte, temelde perforasyon ya da transmural enfeksiyon yatmaktadır. Sonuçta gram negatif ağırlıklı ancak polimikrobik bir bulaş söz konusu olduğu bilinmektedir (106).

Peritoneal kavite, büyük bir alana ve hacme sahip olduğundan iltihabi durumu da bu büyüklüğü yansıtacak şiddettedir. Peritonit geliştiğinde enfeksiyonun yayılmasını nleme amacıyla, konak apse formasyonu oluşturmaya çalışmaktadır. Ancak bu durum enfeksiyonun kalıcı olmasına ya da sepsis oluşumuna yol açabilmektedir. Konak, enfeksiyona yol açan ajanı temizleyemediği taktirde kompartıman oluşturarak yayılmasını önlemeye gayret etmektedir. Peritonit sonucunda plazminojen aktivator inhibitor aktivitesi ile intra-abdominal fibrinolitik aktivitede azalma olmaktadır. Fibrin birikimi ve adezyon formasyonu görülmesi ile birlikte (107, 108) plazminojen aktivatör aktivasyonunda anlamlı bir düşüş söz konusu olmaktadır (109).

Yayıllımın bu şekilde önlenmesi ilk başta mortalite ya da hastalığın şiddetini azaltırken, fibrin matriks içindeki bakterinin konak savunma sisteminden korunması anlamına da gelmektedir. Fizyolojik koşullarda intestinal mukozal bariyer, endotoksin ve bakterilerin lümen dışına çıkmasını engellemektedir. Ayrıca, deneysel yada travmatik olarak lüminal içeriğin dışarı sızmasının dışında, intestinal bakteri florasının patojenler yönünden aşırı oranda bakteri içerir duruma gelmesi, immünosupresyon, iskemi-reperfüzyon gibi durumlarda “bakteriyel translokasyon” olarak nitelendirilen ve hematolojik (portal) ya da lenfatik (ductus thoracicus) yollar ile dolaşıma bakteri geçişinin olduğu da bilinmektedir (110).

Kan Beyin Bariyeri ve Sepsis

Kan Beyin Bariyeri (KBB), beyni kan kökenli toksin ve mikroorganizmalardan koruma amaçlı evrimleşmiştir ve yüksek derecede farklılaşmış olan bariyer özellikleri, kendine özgü gen ekspresyonundan kaynaklanmaktadır (111). Trans-sitotik aktivite, özel enzimatik ve taşıyıcı sistemler gibi organizasyonların düşük miktarda olması da kan beyin bariyerinin morfo-fonksiyonel özellikleri arasındadır (112). Bariyeri karakterize eden morfolojik özelliklerin başında endotelyal hücreler arasında “sıkı bağlantıların” (tight junction, TJ) bulunması ve beyin kapillerlerinin fenestralardan yoksun olması gelmektedir. Bu şekilde, özelleşmiş beyin kapiller ağında transendotelyal elektriki rezistans artmakta ve parasellüler geçirgenlik azalmaktadır. Bir diğer yönden de, beyindeki tüm kapiller ağın %90 oranında astrositik ayaklı sonlanmalar ile zarflanmış olduğu bilinmektedir. Astrositler, kan beyin bariyeri yapısı içinde, metabolik (hipoksik ya da aglisemik) durumlardaki koruyucu özellikleri ile birlikte, Ca^{+2} ve K^{+} iyonlarının regülasyonu gibi fonksiyonlar da göstermektedirler (113) ve kan beyin bariyerinin varlığını sürdürmesinde gerekli hücreler olarak nitelendirilmektedirler (114).

KBB pek çok alanda sahip olduğu önemli rollere rağmen sinirbilimleri alanında henüz gelişmekte olan bir araştırma sahasıdır (115). KBB araştırmaları, endotelial transport süreçleri yanında, kapiller endotelyum ile bazal membranı paylaşan perisitler, beyin kapiller yatağının abluminal yüzeyini örten astrositik ayaklı uzantılar, prekapiller endotelyum ile ilişkili düz kas hücreleri, kapiller endotelyumu ya da astrositik ayaklı uzantıları direkt innerve eden nöronal sonlanmalar, perivasküler mikrogial hücreler ve dolaşımsal lökositler dahil olmak üzere tüm beyin mikrovasküler biyolojisini içermektedir. (115). Perisitler, organizmanın türü, doku ve kapiller tipine bağlı olarak heterojen morfolojik ve fonksiyonel özellikler gösteren hücre tipi topluluğudur. Yapılarında bulunan kontraktıl proteinlerin, kontraktıl fonksiyonları ve kan akımı kontrolü etkileri ile nöropatolojik açıdan önemli oldukları bilinmektedir (116). Beyin kapiller endotelyal hücrelerinin oluşturduğu tabaka, “sıkı bağlantılar” olarak adlandırılan ve anatomik olarak özelleşmiş intersellüler bileşkelerle karakterizedir. İnterendotelyal açıklıkları sıkı bir şekilde kapatılır ve endotelyal hücreleri yapıştırıp birbirlerine bağlarlar (117). Transmembran proteinlerinden “occludin” sıkı bağlantıların yapısında özellikle lokalize edilebilen bir proteindir ve beyinde sıkı bağlantıların bariyer fonksiyonlarında primer yapı elemanı olarak nitelendirilmektedir (118). Bir başka sistem olarak ele alınan, endotelyal hücre dizisinin apikal yüzünde bulunan ve ilaç dağılımından da sorumlu olan P-glikoprotein sistemi ise bariyeri aşabilecek kadar lipofilik olan moleküllere karşı beyni korumaktadır. İlaçların endotelyal geçirgenliğinden bağımsız olarak, beyindeki ilaç dağılımını değiştirebilmektedir. P-glikoprotein sistemi KBB’de görev alan protein tabanlı bir koruma sistemi olarak tanımlanabilir ve ayrıca astrositlerin bu sistemi desteklediği gösterilmiştir (119). Farklı hayvan türlerinde, farklı düzeylerde, farklı özellikler taşıyabilen KBB üzerine cins ve yař gibi faktörlerin de etkisi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, deney hayvanlarının insana yakın özellikler taşıyan türlerden sečilmesi yanında bu hayvanlar için belirlenen yaşın da önemi bulunmaktadır. KBB’nin moleküler anatomisi ile ilişkili olarak, yaşlanma yapısal proteinlerin tekrar düzenlenmesine etki edebilmekte ve yaşlanma ile birlikte serebral occludin

ve (diğer bir TJ proteini olan) ZO-1 (zonula occludens-1) m-RNA miktarı azalmaktadır (120).

Merkezi sinir sistemini etkileyen mikrobiyal enfeksiyonlar konusunda en az bilinen konulardan birisi patojenlerin oldukça kompleks yapıdaki KBB'yi nasıl geçebildikleridir (121). Viral, bakteriyel, fungal ve parazitik patojenlerin merkezi sinir sistemindeki bariyer engelini parasellüler, trans-sellüler ya da truva atı mekanizmaları ile geçtikleri düşünülmektedir. Üçüncü mekanizma olan truva atı yolu, enfekte lökositlerce olmaktadır. Mikrobik olaylar açısından bakıldığında, TJ'lerin yapısal ve fonksiyonel özellikleri, pek çok inflamatuvar (sitokinler, eikosanoitler, serbest radikaller, adezyon molekülleri) ve mikrobiyal (proteinler, LPS, lipoteikoik asitler, glikolipitler) faktörlerden etkilenebilmektedir. Merkezi sinir sistemindeki bir inflamasyonun gelişim süreci sitokinlerin salınım süreçleri ile birlikte olmaktadır (özellikle TNF- α ve IL-1 β) (122). Bariyer sınırlarını geçerek beyni etkileyen her etken farklı sonuçlara ulaşabilmektedir. Yaygın kortikal hasar ve gyrus dentatus'da apoptotik hasar gösterilen menenjit modellerinde antioksidan tedavi ile kortikal hasar azaltılabilmekte ancak hippocampus hasarı değişmemektedir (123). Ayrıca, gelişmekte olan beyinlerde, IL-1 β 'nin verilmesinin, beyin kapillerlerinde (dört saat sonunda) nötrofil bağımlı damar geçirgenliğinin artışı ile sonuçlandığı gösterilmiştir (124).

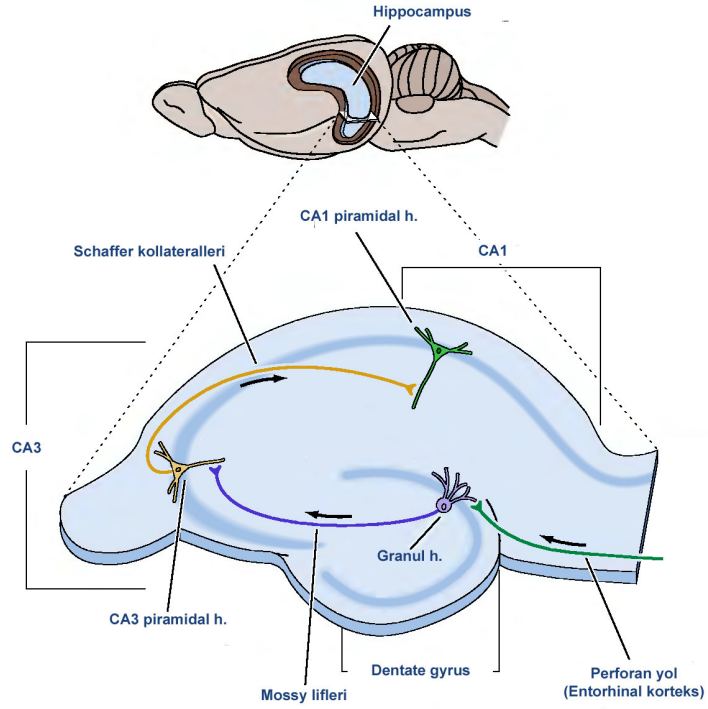
Endotelial hücreler, sahip oldukları farklı özellikler ile inflamatuvar olaylara dahil olabilmektedirler. Vasküler tonus ve lokal kan akımı modülasyonu, sıvıların ve plazma proteinlerinin ekstravasküler dokulara sızmasına imkan veren yapısal değişikliklere uğrayabilmeleri, lökositlerin lokal olarak sekestre edilmesi ve dokulara ekstravazasyonu, lökosit aktivasyonu ile ilgili olarak çözünür faktörlerin ve yüzey moleküllerinin sentezi gibi fonksiyonlar özellikleri arasında sayılmaktadır. Ayrıca, sepsis açısından daha spesifik ve moleküler düzeyde TNF- α ve IL-1'in endotelial hücre sitoskeletal yapısında değişikliklere neden oldukları da bilinmektedir (125).

Endotelial hücrelerde, prostasiklin-I2 (PGI₂) ve NO, inflamatuvar mediatörlere yanıt olarak salgılanarak, hücre içi Ca⁺² artışı ile birlikte inflamatuvar alana kan akımının artmasına ve plazma proteinleri ile lökositlerin bu bölgeye yönlendirilmesine neden olmaktadır. Aynı zamanda, inflamatuvar yanıt sırasında, endotelial lökosit adezyon molekülleri artarak farklı lökosit popülasyonlarının adezyonlarında artış ortaya çıkmaktadır. GMP-140 (nötrofiller için adezyon molekülü, en erken adezyon molekülü) ve ELAM-1 nötrofil adezyonu ile alakalı olarak erken aşamalarda gözükmekte (dakikalar, saatler), VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü-1) ve ICAM-1 (intersellüler adezyon molekülü-1) ise güçlü sitokin uyarıları ile ortaya çıkarak mononükleer hücrelerin birikimine neden olmaktadır (126).

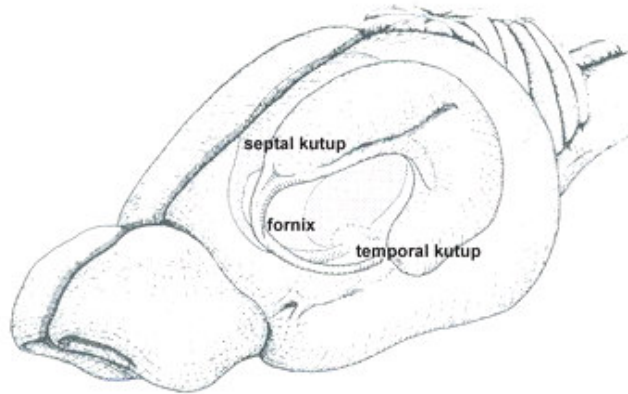
Hippocampus Anatomisi

Hippocampus, kavisli bir "Y" harfine benzeyen, lades kemiği biçimi ile serebral hemisferlerin altında uzanmaktadır. Ancak asıl adını bu görünümünden değil, kollarının transvers kesitlerinde birbiri içersine giren iki "U" harfi formundan almaktadır. Ammon boynuzu (cornu ammonis) ve gyrus dentatus'un birlikte oluşturduğu bu profil, at balığı (*Hippocampus spp.*) türünü anımsatmaktadır (127-129). Hippocampus bütünüyle, yapısal olarak adını verdiği formasyonun sınırları içerisinde bulunmaktadır. Hippocampal formasyon terimi, sito-arşitektonik olarak birbirinden farklı altı ayrı anatomik bölgeyi kapsamaktadır. Bu bölgeler; gyrus dentatus, cornu ammonis 1, 2, ve 3 alanları (CA1, CA2 ve CA3) ile "asıl hippocampus" (hippocampus proper), subiculum, presubiculum, parasubiculum ve entorhinal kortekstir. Bu gruplamanın asıl gerekçesi, adı geçen bölümlerin büyük oranda tek ve bir-yanlı projeksiyonlarla birbirlerine bağlı olmalarıdır. Formasyonun anatomik alt bölümlerinin seçimi aralarındaki bağlantılar dolayısıyla geçerlilik kazanmaktadır. Entorhinal korteks, gyrus dentatus'a giden liflerini perforant yol ile tek taraflı verirken, gyrus dentatus mossy lifleri ile CA3 bölgesine projekte olmaktadır. CA3 lifleri, CA1'e; CA1 lifleri de subiculuma uzanmaktadır (Şekil-3). Hippocampal formasyon terimi içinde toplanan bu

bölümlerin sahip oldukları tek taraflı projeksiyonlar, kortiko-kortikal bağlantılar için oldukça atipik görülmektedir (130). Formasyonun temel kortikal efferentlerine bakıldığında; komşu perirhinal korteksten enthorhinal kortekse olan bağlantıların, formasyonun karakteri tersine, resiprokal tarzda olduğu görülür. Bazı otoriteler ise, hippocampal formasyon içine yalnızca altı tabakadan daha az tabakalı allokortikal ya da üç tabakalı kortikal alanları katmaktadırlar. Böylece formasyon, hippocampus, subiculum ve gyrus dentatus bölümlerine ayrılmaktadır. Geride kalan enthorhinal korteks, presubiculum ve parasubiculum, retro-hippocampal (ya da bazen, para-hippocampal) korteks olarak adlandırılabilir. Bu son bakış açısı ile hippocampal formasyon ve retro/para hippocampal korteks, birlikte "hippocampal alanı" meydana getirmektedir. Bazı durumlarda hippocampus ya da hippocampal kompleks terimleri gyrus dentatus ve gerçek hippocampus ikilisine uygulanmaktadır (130). Hippocampal formasyonun sıçan beynindeki üç boyutlu yerleşimi diğer beyin yapılarına göre nispeten daha komplekstir. Rostrodorsalde nucleus septalisten, uzun aksı boyunca "C" şeklini alacak şekilde kaudoventrale, yani temporal loba doğru uzanmaktadır (Şekil-4). Formasyonun uzunlamasına eksenini septotemporal eksen olarak (septal kutup rostral olarak yerleştiğinden) ve dikey (orthogonal) eksenini de transvers eksen olarak ifade edilmektedir. Farklı septotemporal seviyelerde farklı alanların kapsamıyla oluşan formasyonun iç yapı farklılıkları yüzeysel olarak anlaşılır değildir. İleri septal düzeylerde sadece gyrus dentatus, CA1 ve CA3 alt bölümlenmeleri bulunmaktadır. Temporal kutuptan 1/3 geriye doğru lokalize olan mesafede ilk kez subiculum görülmeye başlamaktadır. Presubiculum ve parasubiculum daha ileri temporal seviyelerde bulunmaktadır. Enthorhinal korteks ise kortikal örtünün en kaudal kısmında ventral olarak yerleşmiştir. Bu nedenle enthorhinal korteksin büyük bölümü diğer bölümlere göre daha kaudal ve ventraldedir. Enthorhinal korteksin lateral sınırı, sıçan serebral korteksindeki esas sulculardan biri olan sulcus rhinalise komşu olarak bulunmaktadır (130-131).



Şekil-3: Hippocampal formasyonun bağlantıları (132) (Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D (eds). Neuroscience. Third edition. USA: Sinauer Associates; 2004).



Şekil-4: Hippocampus'un sıçan beyinde yerleşimi; septal ve temporal kutuplar (130) (Amaral DG, Witter MP. Hippocampal formation. In: Paxinos G (ed). The rat nervous system. Second Edition. USA: Academic Press; 1995).

Hippocampus'da alanda transvers eksen tanımlanırken, hippocampal formasyonun en proksimal ve distal uçları olarak gyrus dentatus ve sulcus rhinalis yapıları kullanılmaktadır. CA1 için, CA1'in subiculuma yakın olan kısmı distal kısım olarak kabul edilirken, CA2 alanına yakın kısımları ise proksimal kısım olarak tanımlanmaktadır. Radyal organizasyon açısından, pia ya da hippocampal fissura yakın yerleşimli alanlar, "yüzeyel" olarak, ventriküle yakın alanlar ise "derin" alanlar olarak ifade edilmektedir. Hippocampus'da piramidal hücrelerin apikal dendritleri yüzeyel olarak yerleşmişken, bazal dendritler derin yerleşimlidir. Subiculum ve hippocampus'un derin (ya da ventriküler) yüzleri alveus olarak adlandırılan, ince bir yaprak halindeki, (büyük oranda myelin kaplı) afferent ve efferent liflerle sarılmıştır. Bu lifler, kısmen hem subiculum hem de hippocampus'daki piramidal hücrelerden köken almakta ve subkortikal sonlanma yerlerine doğru ya da kontrateral hippocampal formasyona doğru uzanmaktadırlar (131). Söz konusu lif demeti, oblik olarak hippocampus yüzeyi boyunca ilerlemekte ve temporalden septal yöne doğru gittikçe kalınlaşarak fimbria adını almaktadır. Lifler hippocampus'u terk edip önbeyine girerken columna fornix olarak isimlendirilmektedir. Fornix, commissura anterior civarında ikiye ayrılmakta; precommissural ve postcommissural parçaları oluşmaktadır. Fornix ve fimbria, hippocampal formasyondan efferent lifleri taşırlarken aynı zamanda formasyona da subkortikal afferentleri getirmektedirler (131).

Gyrus dentatus üç tabakadan oluşmaktadır. Hippocampal fissura yakın ve göreceli olarak hücreden fakir olan kısım moleküler tabaka olarak tanımlanırken, moleküler tabakanın altında asıl hücre tabakası ya da granül hücre tabakası bulunmaktadır. Bu tabaka, granül hücrelerinin sık yerleşimli kolumnar paketlerinden yapılmıştır. Granül hücre ve moleküler tabakalar, septotemporal pozisyona bağlı olmak üzere "v" ya da "u" şeklini almakta ve polimorfik hücre tabakasını (polimorfik tabaka, gyrus dentatus'un üçüncü tabakası) sarmaktadırlar. Hilus terimi sıklıkla polimorfik tabakanın eş anlamlısı olarak da kullanılabilir. Bu sonuncu tabaka bazen, hippocampus'un piramidal hücre tabakasının bir parçası gibi görüldüğü

yerlerde hatalı olarak CA4 olarak da tanımlanmaktadır. Gerçek CA4 terimi genelde gyrus dentatus'un granül hücre tabakasının kolları arasına uzanan piramidal hücre tabakasının terminal kısmı için kullanılmaktadır. İki tabaka arasındaki geçişin belirsizliği nedeniyle çoğu zaman CA4 terminolojisinin kullanılmaması daha doğru olabilmektedir (130). CA1'e komşu olan granüler hücre tabakasına, suprapiramidal yaprak (suprapiramidal kol, dorsal kol ya da iç yaprak) ve suprapiramidal yaprağın karşı tarafındaki kola da infrapiramidal yaprak (infrapiramidal kol, ventral kol, serbest kol ya da dış kol) adları verilmektedir. "V" ya da "u" şeklini oluşturacak şekildeki birleşim noktaları da "tepe" olarak adlandırılmaktadır. Gyrus dentatus'da primer hücre tipi granül hücreleridir. Granül hücrelerinin karakteristik olarak konik şekil oluşturacak şekilde dallanan ve "spiny" olarak tanımlanan dendritleri bulunmaktadır. Granül hücre tabakasının derin kısımlarında bulunan ve piramidal hücre gövdesi görünümüleri olan basket hücreleri, alttaki polimorfik tabaka ile granüler hücreleri arasına sıkışmıştır. Aynı subgranüler bölgedeki bazı multipolar hücreler, dendritlerini polimorfik ve moleküler tabakalara gönderirken ayrıca tabaka içerisinde benzer dendritik yayılımlara sahip bazı fusiformik hücreler de bulunmaktadır. Moleküler tabaka, genel olarak granül, basket ve çeşitli polimorfik hücrelerin dendritleri tarafından olduğu kadar farklı kaynaklardan gelen aksonlar tarafından da kaplanan bir tabakadır. Bu ağısı yapı ile birlikte en az iki hücre tipi de bulunmaktadır. Birincisi derin yerleşimlidir, multipolar/trianguler görünümüdür ve bir akson aracılığıyla granüler tabaka basket hücreleri ile ilişkidedir. İkinci tip nöron, chandelier (avize) ya da akso-aksonik hücre olarak adlandırılan ve özgün olarak neokortekste rastlanan hücrelerdir. Aksonu granül hücre tabakasına girmekte, kollateralize olmakta ve granül hücrelerinin aksonlarının başlangıç kısımları ile simetrik sinapslar yapmaktadır. Bu hücrelerin granül hücrelerinin sinyal iletimlerine inhibitör yapıda etki özellikleri olduğu varsayılmaktadır. Polimorfik tabakada çeşitli hücre tipleri gözlemlenebilse de çoğu hakkındaki bilgiler yetersizdir (127, 130). İçlerinde en fazla raslanan tip mossy hücrelerdir. Bu hücrelerin kalın dendritleri polimorfik tabaka boyunca uzanmaktadır. Ayrıca üst granüler ve moleküler tabakalara da girmektedirler.

Proksimal dendritleri büyük, kompleks dendritik çıkıntılarla (spine) kaplıdır ve bu bölgeler, mossy lif aksonları için sonlanma alanlarıdır. Bu tabakada ayrıca bir miktar fusiformik görünümlü hücreler ile küçük yuvarlak multipolar hücreler de bulunmaktadır (127, 128, 130-132).

Granül hücrelerine ait myelinle kaplanmamış olan aksonlar Cajal'ın tanımladığı isimle mossy lifleri olarak bilinmektedir. Her primer mossy lif 0.2-0.5 mikron çapındadır, yaklaşık yedi ince kollateralini, CA3 bölgesine girmeden önce, polimorfik tabakaya göndermektedir. Polimorfik tabakadaki mossy lif sonlanmaları, mossy hücrelerinin proksimal dendritleri ile piramidal basket hücrelerinin bazal dendritleri ve diğer tanımlanamayan hücreler arasında bağlantıları sağlamaktadırlar. Basket hücrelerinin granül hücre tabakasındaki pleksus şeklindeki sonlanmaları GABA-erjik'tir. Granül hücrelerine gelen ikinci inhibitör uyarılar ise moleküler tabakadaki akso-aksonik hücrelerden gelmektedir. Moleküler tabakanın iç 1/3'lük kısmı polimorfik tabakadan gelen lifler de almaktadır. Bunlar hem ipsilateral hem de kontrilateral taraflardan geldikleri için assosiasional/commissural projeksiyonlar adını alırlar. Gyrus dentatus'un, CA3 alanına verdiği mossy lifleri dışında ekstrinsik projeksiyonları yoktur. Asıl sinyal girdileri de entorhinal korteksten gelmektedir ve diğer kortikal yapılardan direkt girdileri bulunmamaktadır. (127,128,130-132).

Hippocampus, ilk görünüşte iki ana bölüme ayrılabilir; büyük hücreli proksimal bölge ve küçük hücreli distal bölge. Cajal bu iki bölgeyi sırasıyla regio inferior ve regio superior olarak isimlendirmiştir. Lorento de Nó terminolojisinde ise hippocampus üç bölgeye ayrılmaktadır; CA1, CA2 ve CA3 alanları. CA3 ve CA2 alanları geniş hücreli regio inferior'a, CA1 alanı ise regio superior'a uymaktadır. CA2 alanı da tanımlandığı üzere CA3 ve CA1 alanları arasına yerleşmiş dar bir bölgedir. Bu alanın, CA3 alanına benzer şekilde büyük gövdeli hücreleri varken, CA1 alanındaki hücreler gibi mossy lif girdilerinden yoksundur. Hippocampus'da en belirgin hücresel tabaka piramidal hücre tabakasıdır. Bu tabakanın derininde bulunan, daha az hücre

içeren tabaka stratum oriens ve bunun da derinindeki lifsel tabaka alveus olarak tanımlanmaktadır. CA3 alanına özgü olmak üzere, piramidal tabakanın hemen üzerindeki hüresiz bölgede, gyrus dentatus kaynaklı mossy liflerinin yer aldığı ve stratum lucidum olarak isimlendirilen tabaka bulunmaktadır. Stratum lucidumda, mossy liflerinin kıvrım yaptığı yer olan distal uçta bir kalınlaşma görülür. Liflerin temporale doğru kıvrılma yerleri olan bu bölge CA3-CA2 sınırını oluşturmaktadır. CA3 alanında stratum lucidumun üst kısmı, CA1 ve CA2 alanlarında da piramidal tabakanın hemen üstü, stratum radiatumdur. Stratum radiatum, CA3-CA3 assosiasional bağlantılarının ve CA3-CA1 schaffer kolleterallerinin olduğu suprapiramidal bölge olarak tanımlanmaktadır. CA3 alanında, en yüzeydeki tabaka ise stratum lacunosum-molekölare olarak isimlendirilmektedir. Bu tabakada entorhinal korteksten gelen perforan yol lifleri seyretmekte ve sonlanmaktadır. Hippocampus'da primer hücre tipi, piramidal tabakayı oluşturan piramidal hücrelerdir. Piramidal hücrelerin, stratum oriense uzanan bazal dendrit dallanmaları ve apikalde hippocampal fissura uzanan apikal dendritik dallanmaları vardır. Dendritik organizasyona bağlı olarak da CA1 ve CA3 alanlarındaki piramidal hücreler CA1-abc ve CA3-abc alt bölümlerine ayrılabilir (130). Piramidal hücrelere ek olarak piramidal tabakada değişik boyutlarda ve şekillerde basket hücreleri de bulunmaktadır. Değişik yoğunluklarda nonpiramidal hücreler stratum oriens, stratum radiatum ve stratum lacunosum/molekölare'de yer almaktadırlar. CA3 alanı, hippocampus içinde ve karşı CA1-2-3 alanları ile ileri derecede kollateralize aksonları ile bağlantılar kurmaktadır. Yine bu bölgede bulunan piramidal hücreler, özellikle proksimal CA3 alanı kökenli olmak üzere, CA2 alanından gelen diğer liflerle birlikte gyrus dentatus'un polimorfik tabakasını innerve etmektedirler. CA3 alanı CA1'e schaffer kollateralleri ile projekte olmaktadır (130, 131). CA3 için dikkate değer tek subkortikal projeksiyon nucleus septalis lateralise yöneliktir. Bu bağlantılar, septal komplekse doğru olan diğer hippocampus bağlantılarından farklı olarak bilateraldir. CA3 alanına septal projeksiyonlar, gyrus dentatus gibi nucleus septalis medialis ve diagonal broca bandı nükleusundan gelmektedirler. CA2 alanı yaklaşık 250 mikron uzunluğunda

dar bir banttır. CA3 gibi geniş ve koyu boyanan piramidal hücreleri vardır. Bu bölge komşu cornu ammonis bölgelerinden daha fazla oranda asetilkolinesteraz ve parvalbumin'e yönelik boyanma özellikleri taşımaktadır. Parvalbumin gibi kalsiyum bağlayıcı proteinlerin iskemik ya da toksik hücre ölümüne koruyucu özellikleri oldukları bilinmektedir ve bu bölge epilepsi literatüründe rezistans sektör olarak adlandırılmaktadır. CA2 alanının hippocampus içi bağlantıları, CA3 alanının distal kısmının özelliklerini yansıtır ancak yine de bazı farklılıklar söz konusudur. CA3 alanı gibi CA1'e projekte olmaktadır. Bunlar dağıntık projeksiyonlar olup, belirli kurallarla işlemeyen sonlanmaları bulunmaktadır. Ayrıca CA2 alanı, CA3'ten daha fazla olmak üzere gyrus dentatus'un polimorfik tabakasında dağılan kollaterallere sahiptir. CA1 alanı, CA3 tersine daha az assosiasional lif içerir. Çok az lif karşı hippocampus CA1 alanında sonlanarak commissural bağlantılar yaparlar. CA1 alanı, CA2 ve CA3'ten çok daha fazla oranda ekstrinsik bağlantıya sahiptir. Bu alan, hippocampus içinde, biri komşu subiculuma diğeri de enthorhinal korteksin derin tabakalarına doğru olmak üzere iki projeksiyona sahiptir. CA1 alanının subiculuma projeksiyonu, CA3'ün CA1'e projeksiyonu gibi divergent (ıraksak) tarzdadır (130,132).

Hippocampus alanları, "limbik sistem" adı verilen ve birbirleriyle anatomik bağlantıları olan bir grup kortikal ve subkortikal yapıdan oluşan fonksiyonel-anatomik sisteme dahildirler. Hypotalamik aktivite ve kortikal bilgi işlenmesi süreçleri arasındaki etkileşimlerle yakından ilişkili limbik sistem yapıları, duygulanım, öğrenme ve otonomik denetimde rol almaktadırlar. Ancak, hippocampus'un bu sistem içerisinde, duygulanımdan daha çok hafıza ile yakın ilişkide olduğu düşünülmektedir (131, 132). Fonksiyonel görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler ve davranış modellerini temel alan çalışmalardaki artışla birlikte, hippocampus'un hafıza oluşumu ve öğrenme üzerindeki rolleri henüz anlaşılmaya başlanmıştır (132).

Çalışmanın Amacı

Bu çalışma, deneysel fekal peritonit ile indüklenen sepsis modelinde, hippocampus'daki nöronların morfolojik özelliklerini incelemek amacıyla planlanmıştır. Hastalık hali sendromundan ensefalopatik sonuçlarına kadar sepsisin beyin dokuları arasında yer alan hippocampus üzerine olan etkileri, henüz güncellik kazanmamış bir konudur. Ekstrakranial enfeksiyonla birlikte mental durum değişikliğinin ortaya çıkması olarak tanımlanabilecek septik ensefalopati, dikkatte ve konsantrasyonda azalma, oryantasyon bozukluğu gibi başlangıç semptomlarının yanısıra, deliryum ve komaya kadar derinleşebilen klinik tablolara neden olabilmektedir. Sepsisin beyin dokuları üzerine sitotoksik etkilerinin ne derece kalıcı ya da geri dönüşlü olduğu hakkındaki bilgi yetersizliği kadar, bu etkilerin beyin dokularını ne derece etkilediği konusunda da yeterli bilgi bulunmamaktadır. Sepsisle birlikte oluşan merkezi sinir sistemi değişikliklerinin uzun süreli nörolojik bozuklulara neden olmaları olası görülmektedir (12). Bu nedenle çalışmamızda, sepsisin akut döneminde ortaya çıkması beklenen nöronal değişikliklerin, hippocampus gibi özel yerleşimli ve özel fonksiyonlara sahip bir beyin dokusunda değerlendirilmesi amaç olarak öngörülmüştür.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanları

Çalışmada, Wistar Albino türü 24 adet erkek sıçan (Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi) kullanıldı. Ağırlıkları 240-290 gram arasında değişen sıçanlar, doğumlarını izleyen 120. gün çalışmaya dahil edildiler. Deney hayvanları, her kafeste dört tanesi bir arada olmak üzere, 20-24 °C ısı altında, 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü ile besin ve suya serbest ulaşimleri sağlanarak deneye dahil edildiler. Cerrahi ve deneysel protokoller Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi'nin onayı alınarak yapıldı.

Deney hayvanları üç ayrı gruba ayrıldılar. Birinci grup (A grubu, n=8) deneysel fekal peritonit grubu, ikinci ve üçüncü gruplar sırasıyla sham grubu (B grubu, n=8) ve kontrol grubu (C grubu, n=8) olarak belirlendiler. Kontrol grubunda, vital fonksiyonların değerlendirilmesi amacıyla yapılan girişimler dışında başka operasyon uygulanmadı. Sham grubundaki deney hayvanlarında, vital fonksiyonları değerlendirme prosedürleri yanısıra, fekal peritonit grubuna benzer şekilde, abdominal cerrahi girişim uygulandı. Fekal peritonit grubuna dahil edilen hayvanlarda, vital fonksiyonları değerlendirmek için yapılan girişimlere ek olarak, abdominal bölgelerine cerrahi girişim uygulanarak, periton içine fekal süspansiyon yaydırıldı.

Deney hayvanları üretan (1.25 g/kg) kullanılarak intaperitoneal olarak anestezi edildi ve tüm gruplardaki operasyonlar yeterli anestezi altında gerçekleştirildi. Kan basıncı ve kalp atım hızı sürekli olarak monitorize edilirken, rektal ısı ve solunum hızı 15 dakikalık aralarla takip edildi.

Cerrahi Protokoller ve Fekal Peritonit Modeli

Deney hayvanlarından alınan fekal materyal, serum fizyolojik ile 1:4 oranında süspansiyon haline getirilerek, peritona (her deney hayvanı için

10ml/kg miktarında) yayılmak üzere hazırlandı. Fekal peritonit grubunda kullanılacak olan fekal materyal, farklı deney hayvanlarından ve deneylerden önceki bir saat içinde alındı. Hazırlanan süspansiyonlar intaraperitoneal olarak kullanılmadan önce EMB (Eosin Metilen Blue) besiyerlerine ekildi ve üreme olup olmadığı takip edildi.

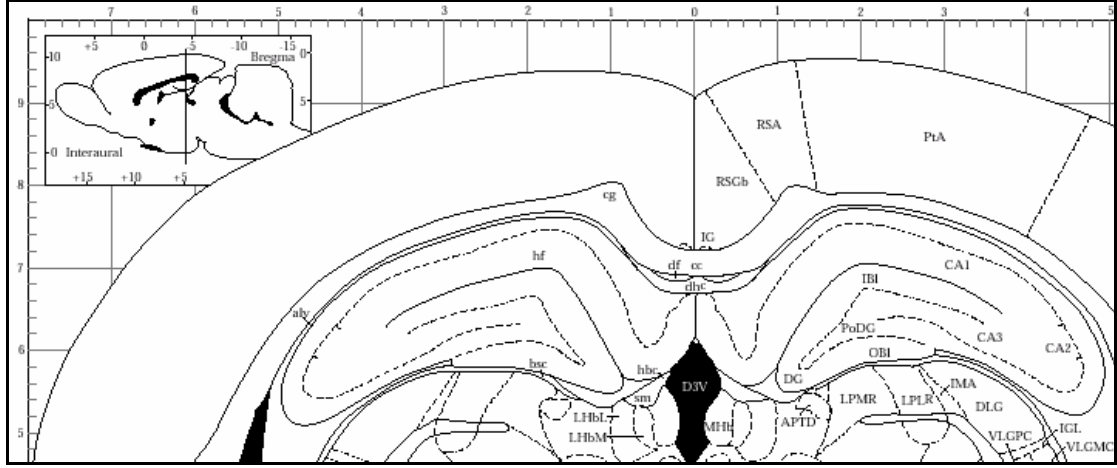
Sol arteria carotis communis, üretan anestezisi altında, heparinize serum fizyolojik içeren (250U/ml) polietilen tüp (PE50) ile kanüle edildi. Kanülizasyon işlemi sırasında, nervus vagus ve truncus sympatheticus cervicalis, arteria carotis communis'ten dikkatlice ayrıldı. Kan basıncı ve kalp atım hızı parametrelerinin takibi için, sol arteria carotis communis kanülasyonunu takiben, arteriyel kateter bir poligrafa (Grass Model 7D; Boston, MA, USA) veri gönderen volümetrik basınç algılayıcısına (Statham P23, Gould Medical BV, Bilthoven, NL) bağlandı. Kalp atım hızı, kan basıncının dalga eğrileri değerlendirilerek, otomatik olarak hesaplandı. Kan basıncı, ortalama arteriyel kan basıncı (mm Hg) ve kalp atım hızı, dakikadaki atım (atım/dakika) olarak alındı. Kan basıncı ve kalp atım hızı, deney boyunca kesintisiz olarak kayıt edildi ve her deney hayvanı için 15'er dakikalık ortalama değerler, deney sonunda poligraf çıktılarından alındı. Deney protokolleri öncesinde, her deney hayvanına ait vital parametrelerin başlangıç değerleri, 15 dakika boyunca ön değerler olarak kayıt edildi (sham grubunda sham operasyonu öncesi, fekal peritonit grubunda abdominal operasyon ve fekal süspansiyon yayma öncesi değerleri). Solunum hızı gözlem yolu ile alındı. Rektal ısı değerleri termik algılayıcı ile her 15 dakikada bir kayıt edildi. Deri rengi ve solunum düzensizlikleri vital destek amacıyla gözlemlendi ancak kayıt edilmedi.

Fekal peritonit, Lang ve ark.'nın (28) teknikleri izlenerek gerçekleştirildi. Abdominal duvarda, ön orta hatta, 1.5cm'lik vertikal bir insizyon açıldı ve periton görüldü. Periton içine, peritonit oluşturma amacı ile, fekal süspansiyon, 10ml/kg olacak şekilde enjekte edilerek yayıldı. İnsizyon, aseptik cerrahi teknikle kapatılarak temizlendi ve deney hayvanları vital parametrelerin izlenmesi aşaması için uygun ortam koşulları altında bırakıldı.

Bu gruptaki sıçanlara dört saat sonunda dekapitasyon uygulandı. Sham grubuna, operasyon sırasında periton içine 10ml/kg miktarında, uygun ısıda serum fizyolojik enjekte edilerek yayıldı ve insizyon aseptik koşullarda kapatıldı. Sham grubundaki deney hayvanlarına da, fekal peritonit grubunda uygulandığı gibi, dört saat sonunda dekapitasyon yapıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara laparotomi uygulanmadı ve vital parametrelerin değerlendirilebilmesi için yapılan girişimlerin başlangıç ve 15 dakika sonrasındaki poligraf değerleri alınarak dekapitasyon gerçekleştirildi.

Doku Takibi

Dekapitasyonu hemen takiben, frontal kemik boyunca 3cm'lik sagittal bir insizyon yapılarak beyin tümüyle çıkartıldı. Çıkarılan beyin oda ısısında ve fiksatif içerisinde (0.2M fosfat buffer içinde, %4 paraformaldehid, %0.5 glutaraldehid, pH 7.4) yıkandı. Beyin hemisferleri sagittal kesiyle ayrıldı ve sağ hemisferde corpus callosum'un splenium bölümü hizasından transvers kesitler alındı (Bregma-4.30mm). Hippocampus'dan alınan 2x3mm'lik transvers kesitler fiksatif içinde bir saat bekletildi. Fiksatiften alınan dokular 0.2M fosfat buffer ile yıkandı ve bir saat boyunca dokulara %1 osmium tetraoksit ile postfiksasyon uygulandı. Postfiksasyondan sonra tekrar 0.2M buffer ile yıkanan dokular takiben alkol solüsyonları ile dehidrate edildi. Dehidratasyon işleminden sonra dokular sırasıyla, propilen oksit içinde bir saat, propilen oksit/resin (Spur's resin, Agar Sci. Ltd.) karışımı (1:1 oranında) içinde tüm gece boyunca oda ısısında bekletildi. Takip eden gün, propilen oksit/resin karışımından alınan dokular, dört saat boyunca resin ile işleme tabi tutuldular. Daha sonra, resin içerisine gömülen dokular, polimerizasyon için bir gece boyunca 70 °C'de etüv ortamında saklandılar. Elde edilen bloklar, sonraki işlemlere hazırlık amacıyla tek yanlı kör çalışma için kodlandılar.



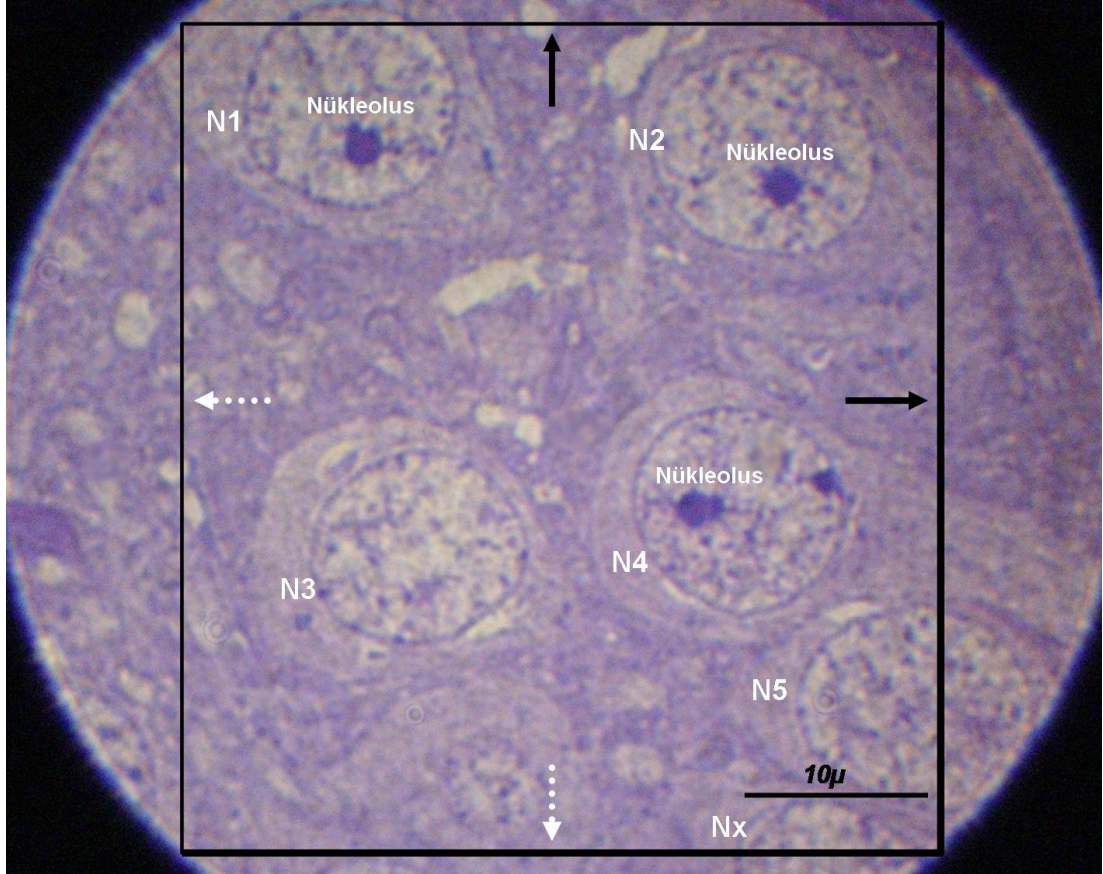
Şekil 5: CA alanları ve gyrus dentatus'un kesit seviyelerindeki şematik gösterimi (133) (Paxinos G, Watson C (eds). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Compact Third Edition. USA: Academic Press; 1997).

Işık Mikroskopisi ve Görüntü analizi

Bloklardan, üç ayrı doku derinliğinde, yarı-ince kesitler ($0.5 \mu\text{m}$) alınarak %0.5 toludin mavisi, %0.5 metilen mavisi ve %1 borik asit karışımı ile bir dakika süresince işleme tutuldular ve yıkanıp kurutularak kapatıldılar. Daha sonra ışık mikroskopik olarak incelenerek, kesit tekrarları ya da kodlamalar yapıldı. Her blok için, üç ayrı doku derinliğinde elde edilen preparatlardan, beşer dijital fotoğraf olmak üzere toplam 15 görüntü yakalandı. Nöronların hacimsel dansitesi (N_{Vn}); " $N_{Vn} = N_{An}/(\bar{D}_n + t)$ " formülü kullanılarak hesaplandı (134). N_{An} , birim alandaki nöron sayısı; \bar{D}_n , ortalama nükleer çap; t ise kesit kalınlığı olarak alındı. Çalışmada, piramidal ya da granüler hücre nükleusu, morfolojik özellikleri tanımlanarak ve diğer hücrelerden hem bu özellikleri hem de boyanma özellikleri göz önünde tutularak sayımı yapılacak olan eleman olarak seçildi (135). Sayım işlemi önceden tanımlanan kurallar ölçüsünde standardize edilerek gerçekleştirildi (136-137). Bir görüntü analiz programı (Scion Image ver. 4.02) kullanılarak yapılan seçme ve sayım işlemleri sonrasında, nükleus çevresi, yazılım araçları ile izlenip işaretlenerek nükleer çap değerleri elde edildi. Görüntülerin dijital ortama aktarılmasında MS Windows uyumlu bilgisayar, mikroskop

adaptörlü dijital fotoğraf makinesi (Sony, Cybershot DSC-F717) ve trinoküler mikroskop (Nikon, 4S-2 Alphaphot) kullanıldı. Scion Image programına uygun formata çevrildikten sonra, analiz bölgesini belirlemek amacıyla her görüntü üzerine makro (yardımcı program) yardımı ile bir dikdörtgen klavuz yerleştirildi. Klavuz yerleştirilmesinde ve sonraki ölçümlerde kalibrasyon işlemlerinin tekrarlanmaması için yine Scion Image programıyla uyumlu makrolardan faydalanıldı. Kalibrasyon için mikrometreli lam üzerinden alınan mikroskobik dijital görüntüler kullanıldı.

Nöron sayımında, nükleusu klavuz dikdörtgenin belirli iki kenarı (üst ve sağ) ile temasta olan ve dikdörtgen alan içerisinde bulunan nöronlar kullanılırken, diğer iki kenar ile ilişkide olan nöronlar için ölçüm ya da sayım yapılmadı (138). Kesit görüntüsünde her nöron için elde edilen profilin gerçek ekvatorial kesiti yansıtmadığı bilindiğinden, nükleolusları görülebilen nöron nükleusları çap ölçümlerine dahil edildi. Nöronal nükleus çaplarının elde edilmesi için, Scion Image programının araçları kullanılarak nükleus çevresine düşen pikseller işaretlenerek seçildi. Alan, çevre, maksimum ve minimum genişlik parametreleri hesaplatılarak üç ayrı sonuçtan matematiksel olarak elde edilen çap değerlerinin ortalaması nükleer çap olarak kabul edildi. Görüntü analiz programı dışında gerekli formüller için ve verilerin toplanması aşamasında MS Excel formülasyonları ve kitapçıkları kullanıldı.



Resim-1: Mikroskopik birim alanın morfometrik değerlendirilmesi; kılavuz dikdörtgende (43.85 x 40.85µm) siyah oklarla gösterilen kenarlarla nükleusları açısından ilişkide olan nöronlar ve kılavuz içerisinde kalan nöronlar sayılırken, beyaz kesikli okların gösterdiği kenarlarla nükleusları kesişen nöronlar sayıma dahil edilmemiştir. Bu şekilde N1-5 sayılmış, nükleolusları gözlemlenebilen N1-2 ve N4 nöronlarında nükleer çap değerlendirilmiştir. Nükleusu alt kenarla kesişen Nx nöronu çalışmaya dahil edilmemiştir. Hippocampus CA1 alanı (100X mikroskopik ve 10X fotoğraf makinesi optik büyütmesi). Skala; 10µm.

İstatistiki Yöntemler

Vital parametrelerin, deney boyunca her grubun kendi içindeki anlamlı değişikliklerinin incelenmesi amacıyla “One-Way Repeated Measures ANOVA (Varyans Analizi)” istatistik yöntemi kullanıldı. Normal dağılımın olmadığı durumlarda, “One-Way Repeated Measures ANOVA” yerine “Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks” istatistik testi tercih edildi. Daha sonra veriler, deney grupları arasındaki karşılaştırmalar amacıyla, “iki faktörlü varyans analizi” (Two-Way ANOVA) ile değerlendirildi. “Two-Way ANOVA” yönteminde, cerrahi operasyon (fokal peritonit ve sham operasyonu) ve zaman analiz faktörleri olarak ele alındı. Post-hoc testler (“Dunnett’s” ve “Student Newman Keuls”) anlamlı farklılıkların bulunduğu durumlarda, anlamlılıkların hangi zaman dilimlerinde olduğunun incelenmesi amacıyla kullanıldı. Üç ayrı grupta, CA1, CA3 ve DG alanlarından elde edilen morfometrik parametrelerin, gruplar arası farklılıklarının değerlendirilebilmesi için (kontrol-sham, kontrol-fokal peritonit, sham-fokal peritonit eşleştirmeleri ile) “unpaired t-test” istatistik yöntemi kullanıldı (Sigma-stat, ver. 3.0; SPSS, ver. 11.0).

BULGULAR

Vital parametrelere ait monitorizasyon sonuçları değerlendirildiğinde; kan basıncının, fekal peritonit ve sham grubunda ilk 15 dakikada düşme eğilimine girdiği görüldü. Fekal peritonit grubunda deney boyunca düşme eğilimini devam ettiren kan basıncının, 240. dakikada başlangıç değerlerine göre %81.3'lik seviyelerine geldiği tespit edildi (Grafik-1). Sham grubunda ilk 15 dakikada ortaya çıkan düşme eğiliminin, 105. dakikada en düşük değerlere ulaştığı ve %80 seviyesine gerilediği görüldü. Fakat zamanla yükselme eğilimine giren kan basıncının 240. dakikada başlangıç değerlerinden %9 oranında daha düşük seviyede seyrettiği ve düzelmeye eğilimine girdiği görüldü. Kan basıncı için Two-Way ANOVA test analizi, cerrahi operasyon açısından (deneysel fekal peritonit ve sham operasyonu) istatistiksel olarak anlamlıydı ve iki grup arasındaki anlamlı farklılığı gösterdi ($F=72.576$, $df=1$, $p<0.001$). Faktörler arasında istatistiksel olarak etkileşim ise saptanmadı ($p=0.417$). Post-hoc analiz sonuçları iki deneysel grup arasında, zaman faktörü açısından 12 ayrı monitorizasyon zamanında anlamlılık gösterdi ($p<0.05$, Dunnett's metod) (Grafik-1).

Fekal peritonit ve sham grupları arasında kan basıncı açısından gözlemlenen anlamlı farklılık yanında, grupların kendi içlerinde anlamlı değişimler olup olmadığı da araştırıldı. Deney boyunca, her grubun kendi içindeki anlamlı değişiklikler açısından kan basıncı parametresinde, Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks testi fekal peritonit grubunda 135. ve 240. dakikalarda anlamlı farklılık gösterdi ($\chi^2=37.068$, $df=17$, $p<0.01$) (Grafik-1). Sham grubunda da One-Way Repeated Measures ANOVA testi ile anlamlı farklılık görüldü ($p<0.05$). Post-hoc test analizi sham grubunda anlamlılık noktalarını 45. dakikadan 120. dakikaya, 150. dakikadan 180. dakikaya kadar olan zaman dilimleri ve 225. dakika olarak belirledi (Dunnett's Metod). Fekal peritonit grubunda deney sonuna doğru anlamlı bir düşüş izlenirken, sham grubunda, grup içinde başlangıç değerlerine göre

anlamli farklilik gosteren 11 ayri zaman seviyesinin gorulmesine ragmen bir sinuzoidal duzelme paterni de gozlendi (Grafik-1).

Kalp hizi, fekal peritonit grubunda, baslangictaki monitorizasyon zamanlarına uyan dusus paternini takiben artis eglimi gosterdi. Kalp hizi parametresinde cerrahi operasyon acısından, Two-Way ANOVA testi gruplar arasında anlamlı farklilik saptarken ($F=47.092$, $df=1$, $p<0.001$), faktörler arasında etkilesim yoktu ($p=0.905$). Bu sonuclarla, fekal peritonit ve sham gruplarının kalp hizi parametresi acısından karšılařtırılmasında, birbirlerinden anlamlı olarak ayrılan grafikler gözlemlendi. Gruplar arasındaki farkliliğı gosteren bu testte post-hoc analiz, deneysel gruplar arasında Dunnett's methodu ile 15.,105. ve 165. dakikalarda, Student Newman Keuls methodu ile çoklu karšılařtırmada 165., 195., 210. ve 225. dakikalarda anlamlılık gosterdi ($p<0.05$) (Grafik-1). Fekal peritonit grubunda One-Way Repeated Measures ANOVA on Ranks testi kalp hizi için anlamlılık göstermezken ($F=1.03$, $df=17$; $p=0.444$) sham grubunda da Friedman testi ile anlamlılık ($\chi^2=22.696$, $df=17$, $p=0.159$) saptanmadı. Bu test sonucunda grupların kendi içlerinde anlamlı farklilik olmadığı görüldü. Kalp hızlarındaki (grafiğin yükseliş ya da iniş eğilimini gosteren) eğilim çizgileri, fekal peritonit grubunda artiş yönündeyken, sham grubunda azalış yönündeydi. Her iki grupta baslangıç zamanlarında izlenen düşüş paternleri ise anestezinin etkisi olarak değerlendirildi.

Rektal ısı parametresi, deney grupları arasında Two-Way ANOVA testi ile yüksek derecede anlamlı farklilik gosterdi ($F=145.813$, $df=1$, $p<0.001$). Ayrıca solunum hizi parametresi de gruplar arasında güvenilir anlamlılık seviyelerinde farklilik yansitti ($F=4.258$, $df=1$, $p=0.041$). Two-Way ANOVA testi ile gruplar arası anlamlı farklilik, rektal ısı için, 0. dakika dışında tüm zaman kademelerinde ve solunum hizi parametresi için de 11 ayri zaman kademesinde saptandı (Dunnett's metod, $p<0.05$). Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks testi, rektal ısı parametresi için, grupların kendi içlerindeki anlamlı faklılıkları yansıtarak düşük p değerleri verirken

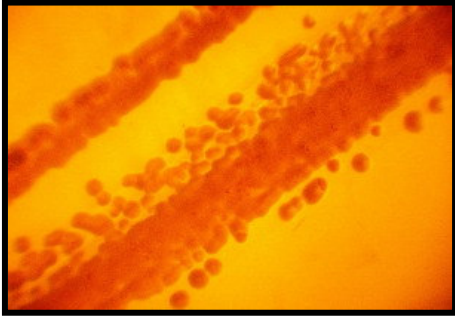
($\chi^2=55.839$, $df=17$, $p<0.001$ ve $\chi^2=35.863$, $df=17$, $p<0.01$, sırasıyla fekal peritonit ve sham grupları), anlamlılık, fekal peritonit grubunda başlangıç zamanıyla kıyaslandığında beş ayrı zaman kademesinde ve sham grubunda da iki ayrı zaman kademesinde gözlemlendi (Dunnett's metod).

Ön çalışmalardan elde edilen değerler doğrultusunda dört saat olarak belirlenen vital parametrelerin monitorizasyon süresi boyunca, septik sendrom ve septik şok ile uyumlu bulgular elde edildi. Fekal peritonit grubunda kan basıncındaki düşüş, kalp atım hızındaki artış hemodinamik dengenin şok yönünde bozulduğu anlamında yorumlanırken, ek olarak monitorizasyon süresince ilerleyen siyanotik görünüm de bu bulguları destekler nitelikteydi. Üretan anestezisinin çalışma boyunca etkili olacağı bilindiğinden herhangi bir uyarıcı değerlendirilmesi ön çalışmalar dışında yapılmadı. Deney hayvanlarının solunum yönünden değerlendirilmesi sonucunda ise, ortalamaları alınan değerlerin, taşipne yerine düzensiz grafikler çizdiği ve deney hayvanlarında özellikle bu parametre açısından septik duruma yanıt olarak bireysel farklılıklarının ön plana çıktığı görüldü. Rektal olarak alınan vücut ısısı değerlerinin, fekal peritonit grubunda istikrarlı bir düşüş göstermesi de çalışma için anlamlıydı.

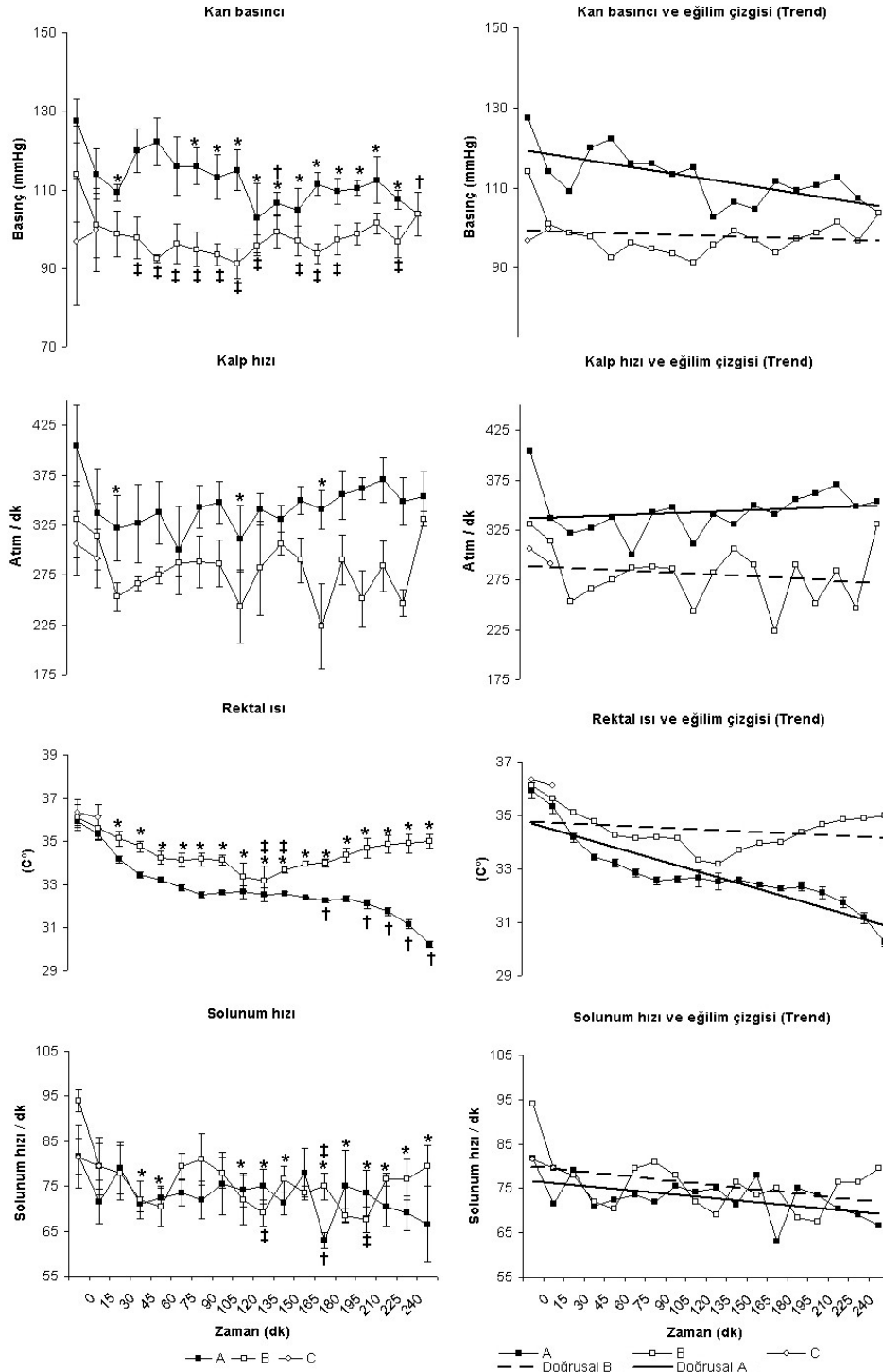
İstatistiksel anlamlılıkları özetlemek gerekirse; kan basıncı parametresinde, fekal peritonit grubunun sham grubuyla karşılaştırılmasıyla elde edilen sonuçların anlamlı bir farklılığı gösterdiği görülürken ($p<0.001$), fekal peritonit grubunda dört saat sonucunda girilen düşüş paterni, sham grubundaki düzelme eğilimine denk düşüyordu. Eğilim çizgilerinde fekal peritonitin hemodinamik etkisi tansiyondaki düşüşü yansıttı. Kalp hızına bakıldığında ise eğilim çizgileri fekal peritonitte artma, sham grubunda da azalma yönünde olmasına rağmen grupların kendi içlerinde anlamlılık gösterecek kadar etkili eğilimler içerisine girmedikleri görüldü. Ancak iki grup arasında aynı parametre için, elde edilen gruplar arası farklılık anlamlıydı ($p<0.001$). Rektal ısı ve solunum parametrelerinin de fekal peritonit modeli ve

sham operasyonu arasında anlamlı farklılıkları yansıttığı görüldü (sırasıyla, $p<0.001$ ve $p<0.05$).

Tüm vital parametreler açısından sham grubundan istatistiksel olarak ayrılan fekal peritonit grubunda, hemodinami bozulması, hipotansiyon, solunum düzensizliği, solunumun yüzeyselleşmesi ve hipotermi septik şok bulguları olarak değerlendirildi. Bu grupta niteliksel olarak gözlenen daha derin anestezik ve siyanotik görünüm de anlamlı bulgular arasındaydı. Ayrıca fekal süspansiyonların tümünde EMB besiyeri ortamında beklenildiği gibi koliformik kolonizasyon tespit edildi (Resim-2).



Resim-2: Deneysel fekal peritonit oluşturma prosedürleri sırasında, intraperitoneal olarak verilmeden önce, serum fizyolojik ile süspansiyon haline getirilmiş fekal materyallerin tümünde besiyeri ortamında koliformik kolonizasyon izlendi.



Grafik-1: Vital fonksiyonların monitorizasyon grafikleri ve eğilim çizgileri (A, fekal peritonit grubu; B, sham grubu; C, kontrol grubu). Gruplar arası anlamlı farklılıkların değerlendirilmesinde kullanılan Two-Way ANOVA testi (*, $p < 0.05$); ve başlangıç değerlerine göre grup içi anlamlı farklılıkların değerlendirilmesinde kullanılan One-Way Repeated Measures ANOVA testi ya da Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks testi sonuçları (†, fekal peritonit grubu; ‡, sham grubu için $p < 0.05$).

Işık mikroskopik değerlendirmede, fekal peritonit grubunda (Grup A) kontrol grubuna (Grup C) göre “nöronların hacimsel dansitesinde” CA1 (440809±16155, 524704±27872 sırasıyla C ve A grupları $p<0.05$) ve CA3 (313026±18299, 403006±23102 sırasıyla C ve A grupları $p<0.01$) alanlarında anlamlı artış saptandı. Gyrus dentatus alanında, fekal peritonit ve sham grupları, fekal peritonit ve kontrol grupları ya da sham ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). CA1 ve CA3 alanlarında, “nöronların hacimsel dansitesi” parametresinde, fekal peritonit grubunun (Grup A) sham grubundan (Grup B) daha yüksek ve anlamlı değerler verdiği görüldü (CA1 için; 453868±19286 ve 524704±27872, sırasıyla B ve A grupları, $p<0.05$, CA3 için; 317480±18168 ve 403006±23102, sırasıyla B ve A grupları, $p<0.01$). Bu sonuçlarla fekal peritonit grubunun sham ve kontrol gruplarından CA1 ve CA3 alanlarındaki “nöronların hacimsel dansitesi” açısından istatistiksel olarak ayrıldığı görüldü. Ayrıca “nöronların hacimsel dansitesi” açısından kontrol ve sham grupları arasında ise anlamlı farklılık görülmedi (üç alan için de $p>0.05$) (Tablo-1 ve 2, Grafik 2C).

Hippocampus'daki “nöronların ortalama nükleer çaplarının” CA1 ve CA3 alanları için, fekal peritonit grubunda kontrol grubuna göre, sırasıyla %89.1 ($p<0.01$) ve %94.7 ($p>0.05$) oranlarına gerilediği ve daha az değerlere sahip olduğu, gyrus dentatus'da %100.7 ($p>0.05$) oranında değiştiği görüldü. Her üç alan için, sham grubunda kontrol grubuna göre değişim de %98.3'ün üzerinde kalmaktaydı (üç alan için de $p>0.05$) (Tablo-3 ve 4, Grafik 2A).

CA1 ve CA3 alanlarında tespit edilen “nöronların ortalama nükleer çaplarındaki” azalmanın net etkisi bu alanlarda formülasyon gereği nöronların hacimsel dansitelerinde artış olarak kendini göstermekteydi (Tablo-1 ve 2, Grafik 2C). Ancak ortalama nükleer alanlardaki azalma ile birlikte bu bölgelerde “birim alana düşen nöron sayılarında” anlamlı farklılık görülmedi (üç alan için de $p>0.05$). (Tablo-5, Grafik 2B).

Gruplar arası farklılıklara bakıldığında, “birim alana düşen nöron sayıları” anlamlı olarak değişmezken, “nöronların ortalama nükleer çaplarının” özellikle fekal peritonit grubunda azaldığı (CA1 ve CA3 alanlarında) ve bunun da yine fekal peritonit grubunda nöronların hacimsel dansitesinde formül gereği artış (CA1 ve CA3 alanlarında) görüntüsünü verdiği görüldü. “Nöronların hacimsel dansitelerinin” (N_{Vn}) hesaplanmasında kullanılan $N_{Vn} = N_{an}/(\bar{D}_n + t)$ formülünde, anlamlı farklılığın olmadığı “birim alana düşen nöron sayıları” (N_{an}) parametresi ve fekal peritonit grubunda CA1 ve CA3 alanlarında azaldığı görülen “nöronların ortalama nükleer çapları” (\bar{D}_n) parametresinin, sırasıyla pay ve paydada olmaları, nöronların hacimsel dansitelerinde yüksek sonuçlara neden olmaktadır.

Fekal peritonit ile birlikte gözlemlenen nükleer ve sitoplazmik alanlarında koyu renk kazanmış ve hacimlerini kaybetmiş, düzensiz sınırlı nöronlar, sepsisin sitotoksik sonuçlarını yansıtmaktaydı (Resim-3). Bu tür görünümlü nöronlar için herhangi bir sayım işlemi yapılmadı. Ancak bu nöronlar, fekal peritonit grubunda CA1, CA3 ve gyrus dentatus alanlarında gözlemlendiler. Büzüşme ve üçgen görünüm ışık mikroskopik olarak rahatça ayırt edilebilmekteydi. Ayrıca fekal peritonit grubunda, nöronlara yakın yerleşimli nöroglial hücrelerde artış ve diğer gruplara oranla daha koyu boyanma da gözlemlendi. Nöronların somaları ya da uzantıları ile ilişki içerisinde olan bu nöroglial hücrelerin sıklıkla görülmeleri ve koyu renkli nükleer yapıları aktivitelerindeki artış olarak değerlendirildi. Nöroglial hücrelerin kapillerler çevresindeki yoğunluklarında da olarak artış görülmekteydi (Resim-4).

Tablo-1: Nöronların hacimsel dansiteleri (ortalama±SEM), fekal peritonit ve sham gruplarında kontrol grubuna göre *p* değerleri (*, *p*<0.05; **, *p*<0.01; ¹, *p*>0.05) ve fekal peritonit grubunda kontrol grubuna göre yüzde değişimleri.

	KONTROL (C)	SHAM (B)	FEKAL PERİTONİT (A)	% DEĞİŞİM
CA1	440809±16155	453868±19286 ¹	524704±27872*	%119
CA3	313026±18299	317480±18168 ¹	403006±23102**	%128
GYRUS DENTATUS	1579812±81957	1587944±82735 ¹	1663864±88333 ¹	%105

Tablo-2: Nöronların hacimsel dansiteleri, t-test *p* değerleri.

	KONTROL / FEKAL PERİTONİT	KONTROL / SHAM	SHAM / FEKAL PERİTONİT
CA1	<i>p</i> <0.05; <i>p</i> =0.0162	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.6089	<i>p</i> <0.05; <i>p</i> =0.0484
CA 3	<i>p</i> <0.01; <i>p</i> =0.0060	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.8644	<i>p</i> <0.01; <i>p</i> =0.0082
GYRUS DENTATUS	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.4925	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.9450	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.5368

Tablo-3: Ortalama nükleer çaplar (Ortalama±SEM) ve kontrol grubuna göre yüzde değişimleri.

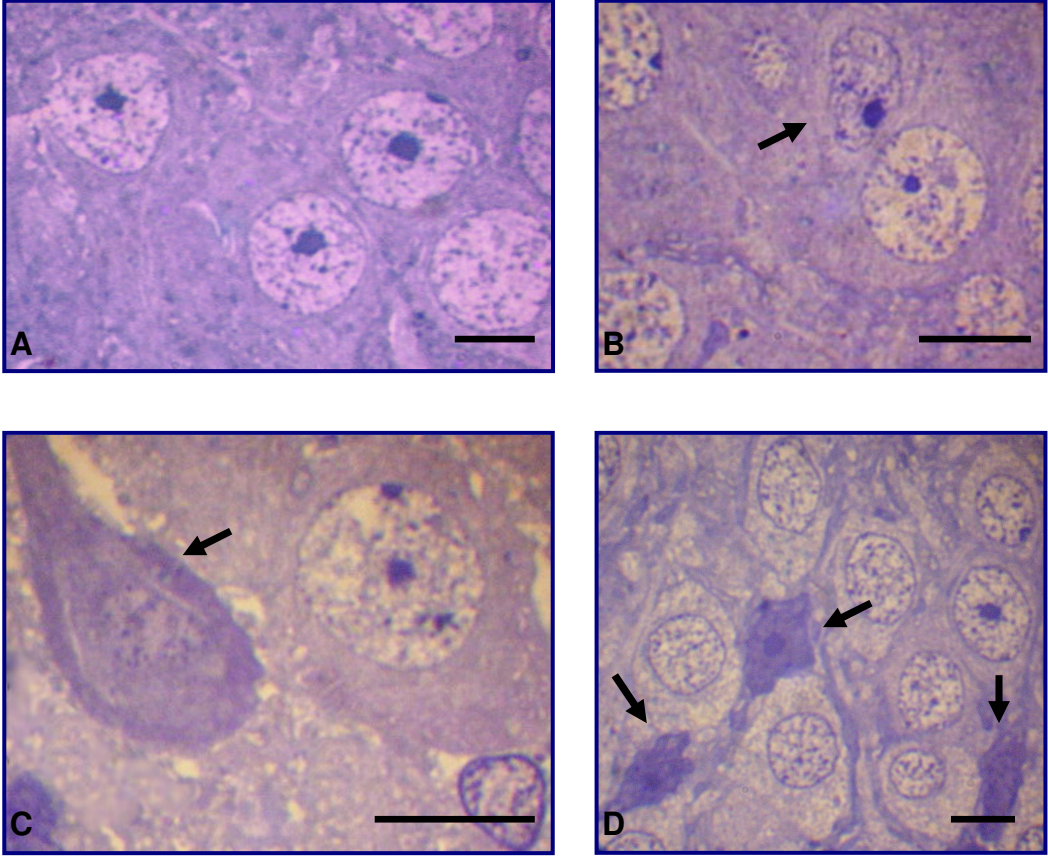
	GRUP	NÜKLEER ÇAPLAR μm	KONTROL GRUBUNA GÖRE % DEĞİŞİM
CA1	KONTROL (C)	11.35±0.18	
	SHAM (B)	11.19±0.33	%98.6'ya gerileme
	FEKAL PERİTONİT (A)	10.12±0.16	%89.1'e gerileme, <i>p</i> <0.01
CA3	KONTROL (C)	11.42±0.57	-
	SHAM (B)	11.23±0.95	%98.3'e gerileme
	FEKAL PERİTONİT (A)	10.82±0.30	%94.7'ye gerileme
GYRUS DENTATUS	KONTROL (C)	8.22±0.13	-
	SHAM (B)	8.14±0.10	%99'a gerileme
	FEKAL PERİTONİT (A)	8.28±0.15	%100.7'ye artış

Tablo-4: Ortalama nükleer çaplar, t-test *p* değerleri.

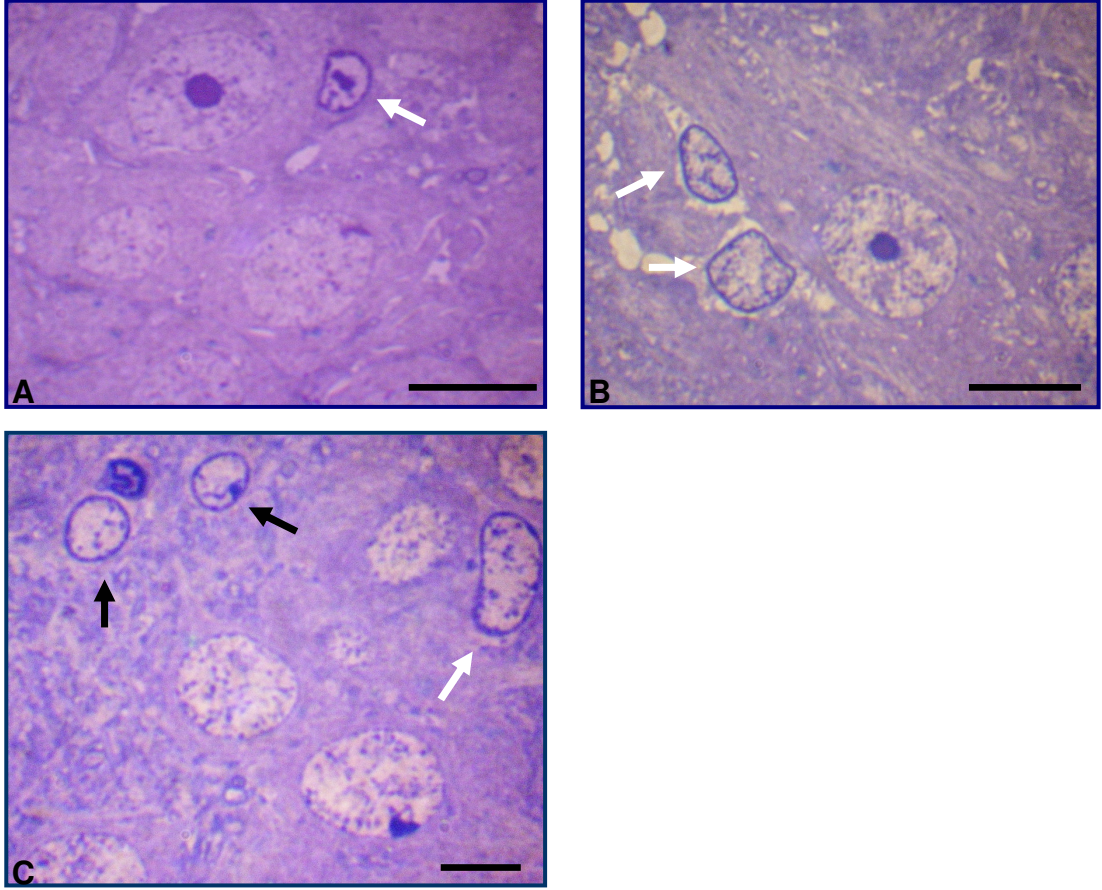
	KONTROL / FEKAL PERİTONİT	KONTROL / SHAM	SHAM / FEKAL PERİTONİT
CA1	<i>p</i> <0.01; <i>p</i> =0.002	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.36	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.09
CA 3	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.48	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.81	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.43
GYRUS DENTATUS	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.82	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.78	<i>p</i> >0.05; <i>p</i> =0.59

Tablo-5: Birim alan başına düşen ortalama (±SEM) nöron sayıları (*, *p*>0.05).

	KONTROL (C)	SHAM (B)	FEKAL PERİTONİT (A)
CA1	4.67±0.10*	4.63±0.04*	4.99±0.14*
CA3	3.34±0.04*	3.34±0.08*	4.09±0.10*
GYRUS DENTATUS	12.34±0.15*	12.29± 0.24*	13.08±0.33*

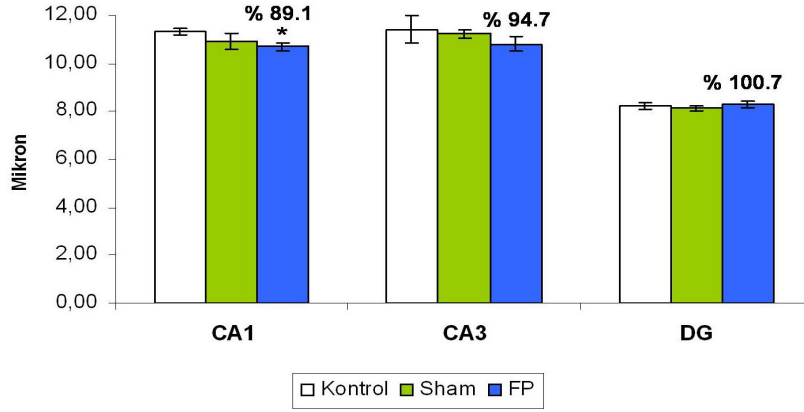


Resim-3: Sham grubunda, CA1 alanında normal görünümlü nöronlar (A). Fekal peritonit grubunda CA1 (B) ve CA3 (C) alanlarında koyu renkli boyanma özelliği gösteren nöronlar (oklar); bu nöronlarda eksantrik yerleşimli nükleolus (B) ve normal dışı görünümlü nükleer materyalle birlikte membran düzensizliği (C). Fekal peritonit grubunda, CA1 alanında, üçgen görünümlü ve koyu renkli nöronlar (D, oklar). Skala; 10 μ m.



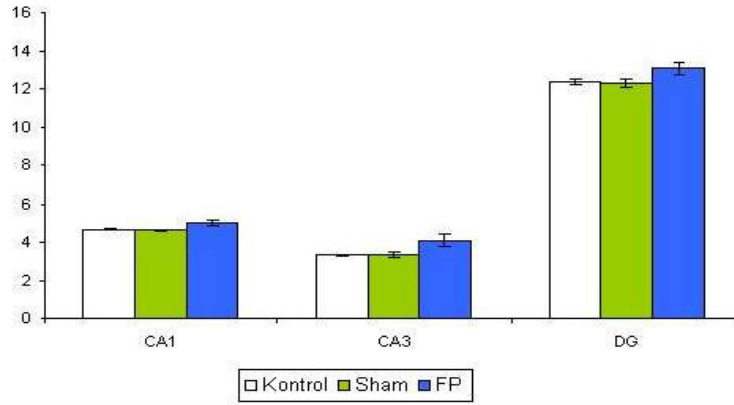
Resim-4: Fekal peritonit grubunda nöronlara yakın yerleşimli nöroglial hücrelerde koyu boyanma ve sıklıklarındaki artış (A, CA1; B, CA3; C, CA1 alanları). A'da ve C'de nöron soması ile, B'de nöronal uzantı ile ilişkide olan nöroglial hücreler (beyaz oklar). C'de bir mikrodamarla ilişkide olan nöroglial hücreler (siyah oklar). Skala; 10 μ m.

Ortalama nükleer çaplar



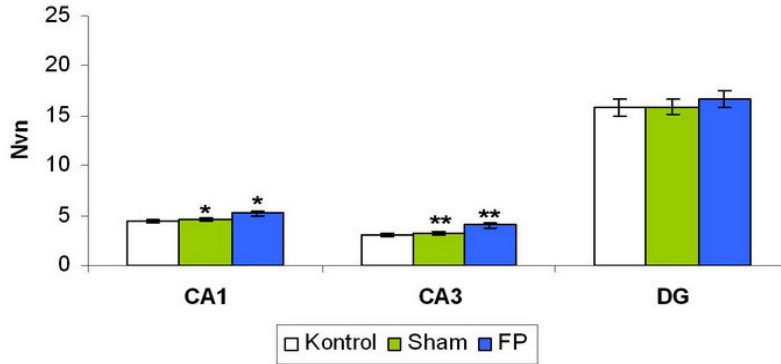
A

Birim alan başına düşen ortalama nöron sayısı



B

Nöronların hacimsel dansiteleri



C

Grafik 2: Ortalama nükleer çaplar (fokal peritonit grubunda kontrole göre yüzde değişimle birlikte; *, $p < 0.01$, unpaired t test) (A), birim alan başına düşen ortalama nöron sayıları (B) ve nöronların hacimsel dansiteleri (C). Fokal peritonit grubunda kontrol grubuna göre istatistiki anlamlılıklar; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ ve sham grubunda fokal peritonit grubuna göre istatistiki anlamlılıklar; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, unpaired t test (C).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Stereoloji, doku ve yapıların geometrik analizini içeren, yapıların iki boyutlu kesitlerinden geometrik-istatistiksel yaklaşım ile sonuca ulaşarak metrik özellikleri elde etmeye yarayan bir morfometri dalı olarak tanımlanmaktadır. Uygun şekilde örneklenmiş iki boyutlu görüntülerden üç boyutlu bilginin elde edilmesi ile ilişkili olan stereoloji morfoloji üzerine kantitatif değerlendirmeler sağlamaktadır. Diğer organlara nispeten beyin dokularına yönelik mikroskobik çalışmalarda sayısal bilgi çok daha değerlidir. Bu çalışmada, gereç ve yöntem bölümünde açıklanan tarafsız bir sayım ve ölçüm yöntemi, nöronların hacimsel dansiteleri ve morfometrik özelliklerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Beyin dokusunda, fiksasyon ve boyama işlemlerinin büzüşme ve doku çekilmesi gibi istenmeyen etkilere yol açabileceği bilinmektedir. Fiksasyon açısından bu istenmeyen etki resin kullanımı ile en aza indirgenmiş ve ayrıca farklı yaşlardaki deney hayvanlarında farklı doku çekilme oranları olduğu bilindiğinden aynı gün doğmuş sıçanlar deneye dahil edilmiştir. Bu nedenle, fiksasyonun doku üzerinde istenmeyen etkilerinin sonuçları üzerinde nümerik bir düzeltme işlemine gerek duyulmamıştır. Nöronal nükleer çapların, kesit kalınlığı olarak alınan 0.5 µm'den çok daha büyük olmaları nedeniyle, kesit kalınlığından kaynaklanabilecek etkiler de göz ardı edilebilir olarak kabul edilmiştir (134-138).

Çalışmada kullanılan rastgele örnekleme yöntemi, pek çok kısıtlı alanda ve nörobilim çalışmalarında güçlü ve zaman kazandırıcı bir yöntemdir (134). Yaklaşımın ana unsuru olan yöntem, gözlemlenen nöronların profil morfometrilerinin dağılımı üzerindeki manipülasyonlara dayanmaktadır. Şekil farklılıkları dikkate alınmaksızın nükleer yapılar küresel nitelikte farz edilmekte ve nükleolusun her durumda nükleus merkezinde yer aldığı varsayılmaktadır. Sonuçta sayılan ve ölçümleri yapılan her nükleus, küresel olarak tam ortasından ölçülmektedir. Bu yöntemin dezavantajı fotobaskı ya da mikrograf gerektirmesidir. Buna bağlı olarak da diğer yöntemlerden biraz

daha zaman ve maddi harcamaya ihtiyaç duymaktadır. Bu dezavantajlara karşılık dijital kayıtlar ile yöntem avantajlı hale getirilebilmektedir. Görüntü analiz sistemleri ve bilgisayar destekli yaklaşımlar, morfometrik çalışmalarda, araştırmanın süre ve doğruluğunu olumlu etkileyen, çok daha kısa zamanda ve yüksek doğrulukta görüntü analizi ve gerekli manipülasyonların yapılabilmesine olanak veren özellikleri ile faydalı ve kullanılabilir kabul edilmektedir (139, 140).

Bu çalışmada, deneye alınarak monitorize edilen sıçanların fekal peritonit grubunda ortalama 343 ± 10 atım/dk, sham ve kontrol gruplarında ise sırasıyla 280 ± 11 atım/dk ve 298 ± 10 atım/dk olarak bulunan kalp atım hızları normal vital değerler ile karşılaştırıldığında, ortalama 296-388 atım/dk arasında değişen standart değerlerin kontrol ve sham grupları için alt sınırlarda karşılık bulunduğu fekal peritonit grubunda ise bu iki gruptan daha yüksek değerler kayıt edildiği görülmüştür. Fekal peritonit grubunda kan basıncı düşme eğilimi gösteren bir grafik çizmiştir. 135. dakikayla birlikte anlamlı düşüş gösteren kan basıncı, başlangıçtaki artış eğilimini 60. dakikadan sonra bırakmış, hiperdinamik bir safhadan, basınç azalmasıyla birlikte sinüzoidal bir eğri oluşturarak başlangıç değerlerine göre %80 düşük değerlere inmiştir. Fekal peritonit grubunda aynı zaman dilimlerine denk gelen kalp atım hızındaki artış da bu basınç düşüşünü destekler niteliktedir. Bu çalışmada, kan basıncında düşüş eğilimi ile birlikte buna karşılık olarak kalp atımında artış septik durumun göstergesi olarak kabul edilmiştir. Sham grubunda düzeme eğilimine giren kan basıncı ve belirli bir eğilim göstermeyen kalp atım hızı parametreleri sonuçları da bu bulguyu desteklemektedir. İki ana vital parametreye ek olarak fekal peritonit grubunda rektal ısıdaki anlamlı düşüş, deney sonundaki hipotermik durum, solunumsal düzensizlik ve yine deney sonundaki solunum hızındaki azalma eğilimi septik durumu desteklerken, deney hayvanlarında siyanoza giden deri rengi de dolaşımsal şoku destekleyen diğer bulgular arasında kabul edilmiştir. Normal sıçanlarda solunum sayısı ortalama 100-140 soluk/dk arasında iken anestezi altındaki sıçanlarda da 30-130 soluk/dk arasında değişmektedir. Deneyin

monitorizasyon aşamasında, fekal peritonit grubunda ortalama 72 ± 2 soluk/dk olan solunum hızları, sham grubunda gözlemlenen 76 ± 2 soluk/dk'lık ve kontrol grubundaki 80 ± 1 soluk/dk'lık solunum hızlarından daha düşük değerler olarak kayıt edilmiştir. Sham grubunda deney sonunda ortalama 80 soluk/dk ve yükselen, fekal peritonit grubunda ise 66 soluk/dk ve azalan değerler gözlemlenmiştir. Sekiz saatlik bir süreçte monitorizasyon yaptığımız ön deneyler sırasında septik deney hayvanları 6-8 saat arasında %70 oranında yaşama devam ettiklerinden, deney altıncı saate ulaştırılmadan dördüncü saatte deney hayvanlarına dekapitizasyon uygulanmıştır. Bu bakımdan dört saatlik deneylerde tüm hayvanlar deney sonuna kadar yaşamıştır. Vital parametrelerin monitorizasyon bulguları fekal materyal kullanılarak insanlardaki bulgulara benzer fizyolojik yanıtlar elde eden önceki çalışmaları destekler nitelikte bulunmuştur.

Bu çalışmada, fekal peritonit grubunda, CA1 alanında kontrol grubuna göre, %119 oranında bir nöronların hacimsel dansitesi artışı ($p<0.05$) ile birlikte aynı alanda ortalama nükleer çaplarda kontrol grubuna göre %89,1 oranında bir azalma ($p<0.01$) ve ortalama nöron sayılarındaki %106 oranında bir artma ($p>0.05$) tespit edildi. CA3 alanı için ise fekal peritonit ve kontrol gruplarının karşılaştırılması ile fekal peritonit grubunda nöronların hacimsel dansitesinde %128'lik bir artış ($p<0.01$), ortalama nükleer çaplarda %94,7 oranında bir azalma ($p>0.05$) ve ortalama nöron sayılarındaki %122 oranında bir artma ($p>0.05$) bulundu. Bu sonuçlar dikkate alındığında, ortalama nöron sayılarında CA1 ve CA3 alanlarında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamakla beraber, formül gereği fekal peritonit grubunda, CA3 alanında CA1 alanına oranla, nöronların hacimsel dansitesinde daha yüksek oranda bir artış gözlemlendi. CA1 ve CA3 alanlarında bulunan nöronların morfolojileri değerlendirildiğinde, fekal peritonit grubunda; nükleusları ve sitoplazmaları koyu boyanmış, ve düzensiz sınırlı nöronlar bulundu. Benzer nöronlar yine fekal peritonit grubunda gyrus dentatus alanında da görüldü. Fakat gyrus dentatus alanındaki sağlam görünümlü nöronlardaki morfometrik bulgularda istatistiki olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmedi. Çalışmada tespit edilen koyu renkli boyanmış ve düzensiz sınırlı benzer nöronların, sepsis

oluşturulmuş domuzlarda, frontal kortekste gözleendiği Papadopoulos ve ark.'ları tarafından da bildirilmiştir (11). Çalışmadan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; hippocampus'un CA1 ve CA3 alanlarında gözlenen koyu renkli boyanmış, düzensiz sınırlı ve şekilli, büzölmüş nöronların gyrus dentatus'da da görüldüğü, buna bağılı karşılık CA1 ve CA3 alanlarında tespit edilen nükleer çaptaki azalma ve hacimsel dansitedeki artma bulgularının gyrus dentatus'da tespit edilemediği ortaya çıkmaktadır. Bu durumda nöronların şekillerinde meydana gelen değişikliklerin, nükleer çapta ve hacimsel dansitede gözlemlenen değişikliklerden farklı mekanizmalar sonucunda ortaya çıktığı düşünölebilir. Gyrus dentatus'da gözlenmemiş olan morfometrik bulgular, belki de nöronların morfolojilerinde meydana gelen değişikliklerden sonra ortaya çıkabilecek olan sekonder değişikliklerdir. Bu durumda hippocampus'un CA1 ve CA3 alanlarının gyrus dentatus'a göre sepsisin sitotoksik etkilerine daha duyarlı olduğu düşünölebilir. Septik hasarın uzun dönem etkileri olarak ortaya çıkabilen nörolojik ve psikiyatrik problemlerin temelinde büyük kısmı geriye dönüşlü de olabilecek bu tür erken nöronal değişikliklerin yattığı düşünölmektedir (12). İnsanlarda septik ensefalopatinin daha uzun süreli seyri düşünöldüğünde nöronal hasarın derecesinin de farklı oranlarda değişiklik gösterebileceği ifade edilmektedir (12). Bogdanski ve ark. tarafından domuzlarda oluşturulan sepsis modelinde, serebral korteks nöronlarının sitoplazmalarında eosinofilik değişiklikler, büzüşme, üçgen görünüm, koyu boyanma, nükleer membranda ayrılma gibi değişiklikler bildirilmiştir (141). Bu bulgular bizim çalışmamızda ortaya çıkmış olan bulgularla benzerdir. Aynı çalışmada serebellum korteksinde bir farklılık görölmezken, serebrum korteksinde perivasküler ve sitotoksik ödem bulunduğu ifade edilmiştir (141). Bu çalışma, bizim çalışmamızdan farklı olarak, dört günlük ve kronik sayılabilecek bir dönem sonucundaki bulguları içermektedir. Bizim çalışmamız dört saatlik sonuçları, Papadopoulos ve ark.'nın çalışmaları sekiz saatlik sonuçları (11), Bogdanski ve ark.'nın (141) çalışmaları ise dört günlük sonuçları vermektedir ve elde edilen bulgular benzerdir. Bu durumda en azından bu süre içerisinde bir geri dönüşüm olmadığı düşünölebilir. Sitotoksik olarak nitelendirilen sonuçların, bizim

çalışmamıza benzer şekilde diğer sepsis çalışmalarında da elde edilmesi ve sham gruplarında ortaya çıkmaması sepsisin nöronal hasar etkisini destekler gözükmektedir.

Sepsisin diğer beyin alanlarındaki etkilerini çalışan önemli bir başka çalışma da Chan ve ark.'na aittir (142). Bu araştırmacılar çalışmalarında, bazal vasomotor tonusu sağlayan sempatik premotor nöronların bulunduğu rostral ventrolateral medulladaki (RVLM) sepsisle birlikte gözlenen apoptotik değişiklikleri bildirmektedir. Adı geçen bölgede, septik nedenlerle oluşan apoptotik değişikliklerin, kardiyovasküler depresyonun altında yatan neden olarak görüldüğü ifade edilmektedir (142).

Hücre ölümü mekanizmaları iki farklı yolla gerçekleşmektedir. Birinci yolda, hücre membranının hasarlanmasını takiben nekroz oluşması, ikinci yolda ise sağlam membranın büzülmesi ve "blebbing" (hücrenin küçük veziküller halinde parçalanması) sonucu apoptozis oluşması söz konusudur. Hücre nekrozu oluştuğunda, nekrotik doku fagositlerce fagosite edilerek sindirilmekte ve sonuçta ortaya çıkan görüntü bir inflamasyon olmaktadır. İkinci yol olan apoptoziste ise hücrenin non-nekrotik hücre intiharına gitmesi gerçekleşmektedir (143, 144). Apoptoziste tipik olarak, DNA fragmentasyonu, yoğunlaşmış kromatin, membran blebbingi ve hücre büzülmesi ortaya çıkmaktadır. TNF- α , Fas ligand (FasL) gibi sitokinler ve glukokortikoidler çeşitli hücre populasyonlarında apoptozise neden olabilmektedirler (144). IL-1, IL-6, ve G-CSF (granülosit koloni uyarıcı faktör) gibi bazı sitokinler ise sıklıkla apoptozisi inhibe edebilmektedir. Artmış FasL salınımı, endotoksemik ve generalize peritonit kemirici modellerinde bildirilirken, aynı zamanda kafa travması, ARDS gibi kritik durumlu hastalarda da beyin omurilik sıvısında ve bronşlarda gözlemlendiği bildirilmektedir (144). Kültür ortamındaki hippocampus nöronlarına asidozisin etkisinin de nekrozis ve apoptozis ile sonuçlandığı bilinmektedir (145). IL-1'in nöronal hasar ile olan bağlantısına bakıldığında, travmatik beyin hasarında (TBI) IL-1'in nöron

ölümüne etkileri araştırılmış ve TBI tarafından ortaya çıkan nöronal hasarın IL-1 alfa ve beta antagonistlerince azalabileceği gösterilmiştir (146).

Hypothalamus, serebral korteks, amygdala ve bulbus olfactorius gibi pek çok beyin bölgesinde göreceli olarak fazlaca reseptör bulunmaktadır (132). Ancak diğerlerine nazaran hippocampus'da reseptör yoğunluğu daha fazla gibi görünmektedir. Örnek olarak luetinizan hormon için en büyük oranda reseptör ekspresyon alanları cornu ammonis ve gyrus dentatus alanlarıdır. İnsülin ve insülin benzeri büyüme faktörleri için de hippocampus tercih edilen bir bölge gibi gözükmektedir (129). Hippocampus spesifik metabolik gereksinimi açısından bakıldığında glikoz taşıyıcıları açısından da özel bir bölgedir. Hücre yoğunluğu ve sıklığı gibi bir deneysel yanılgıdan kaynaklanmayan bu reseptör yoğunluğunun var oluşu nedenini destekleyen bir başka özellik de hippocampus'un özel yerleşimidir. Hippocampus, çözülmüş ligandları, kan ya da beyin omurilik sıvısından (BOS) kolayca alabileceği bir yerleşime sahiptir. Zengin kan içeriği ile plexus choroideus'un ve BOS açısından da ventriküllerin komşusudur. Bu özellikleri ile hippocampus, yerleşimi ve reseptörleri açısından zenginliğine bağlı olarak, septik durumlar açısından etkilenebilir bir doku konumu arz etmektedir (129).

Mevcut literatür bilgileri ile, hippocampus'un bir limbik sistem yapısı olarak inflamatuvar olaylardan etkilendiği, LPS injeksiyonu ile yapılan kronik nöro-inflamasyonun, sıçanlarda uzamsal hafızada azalmaya neden olduğu bilinmektedir (147). Bu bulgu ile bağıntılı olarak, hippocampus nöronlarında toludin mavisi ile perikaryonda zayıf boyanma, düzensiz nükleer sınırlar ve eksantrik yerleşimli nükleolus, elektron mikroskopik olarak da poliribozomlardan ve RER (rough endoplazmik retikulum) sisternalarından fakir perikaryon, RER sisternalarının kendi aralarında ya da nükleer sisternalar ile eşleşmesi, az gelişmiş golgi kompleksi, nükleer zarfta invajinasyon (bazen serebriform görünüş), nükleer zarf ve nükleer-RER sisterna eşleşmeleri ile yakın ilişkili heterokromatin kitleleri, nükleer myelinik görüntüler gibi morfolojik değişiklikler tespit edilmiştir (147). Ayrıca

nöronlara yakın yerleşimli mikroglialarda aktivasyon; somatik genişleme ve oval görünüm, sitoplazmalarında koyu boyanma, gelişmiş golgi kompleksi, ve RER sisternalarında artış izlenmiştir (147). Merkezi sinir sistemindeki major immunokompetent hücre tipi olan mikrogliaların aktivasyonu fiziksel stres ya da immun değişiklikleri işaret etmekte ve ayrıca bu hücrelerin, sitokin ve kemokinlerin üretimi, antijen sunumu ve Th hücrelerinin regülasyonu gibi görevleri de bulunmaktadır (148). Bizim çalışmamızda (septik durumun akut döneminde) ortaya çıkan, nöroglial hücrelerin nöronlarla olan temaslarında gözlemlenen artış ve nispeten koyu boyanma özellikleri, aktivasyonlarındaki artış eğilimi olarak değerlendirilebilir.

Kronik nöro-inflamasyon dışında, bakteriyel menenjit gibi nöro-inflamatuvar hastalıklar serebral korteks ve hippocampus'u ilgilendiren hafıza ve öğrenme gibi yüksek beyin mekanizmaları üzerinde uzun süreli nörolojik hasarlar bırakabilmektedirler (147, 149). Felç ve travmada da olabileceği gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöro-inflamasyon sıklıkla görülebilmektedir. Glutamat, NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptörleri hippocampus ve kortekste yüksek oranda bulunmaktadır ve hafıza formasyonunda önemli rolleri vardır. Biegon ve ark. yaptıkları çalışmalarında, nöro-inflamasyon sonucunda özellikle temporal ve entorhinal korteksler ile hippocampus ve substantia innominata'da mikroglia aktivasyonu ve yine özellikle aynı bölgelerde NMDA reseptörlerinde aktivasyon azalışı tespit etmişlerdir (149). Adı geçen çalışmada intrasisternal LPS verilmesinden bir hafta sonra, hippocampus'da aktive olmuş mikroglia hücrelerinde artış (yaklaşık 2.5 kat) ve NMDA reseptörlerinde aktivasyon azalması olduğu, ayrıca antioksidan tedavinin bu durumu tersine döndürdüğü gösterilmiştir (149).

Endotoksin ve sitokinlerin, makrofajlardan olduğu gibi beyinde de astrosit ve mikroglialardan iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz) protein salınışını arttırdığı bilinmektedir (150). IFN- γ ve LPS'nin hippocampus'a mikro-injeksiyonundan 12 saat sonra, sıçan hippocampus'unda NO üretimi görülmektedir (150). IFN- γ ve LPS'nin hippocampus'a mikro-enjeksiyonu,

invivo olarak, gecikmiş nöronal ölümü indüklemektedir ve iNOS aracılığıyla yaygın NO üretimine neden olmaktadır (150). Mikroglia, astrosit ve nöronlarda LPS aracılığı ile, pek çok sitokin ve sitokin reseptörlerinin upregülasyonu izlenebilmektedir. İnflamatuar olaylarla birlikte ortaya çıkan ve oksidatif strese yanıt olarak meydana gelen dejenerasyon açısından korteks ve hippocampus kolayca etkilenebilir yapılardır. Mikroglia aktivasyonu kendi başına, ROS ve NO üretilmesine neden olarak nöronal dejenerasyona yol açmaktadır (151). Pro-inflamatuar ajanlar KBB'nin zayıf olduğu CVO yoluyla beyne girebilmekte ve beyni parankimal düzeyinde etkileyebilmektedirler. Ayrıca, LPS'nin beyin kapiller endotelial hücrelerinde reaktif oksijen ve nitrojen türlerini arttırdığı bilinmektedir (152, 153). İntraperitoneal LPS injeksiyonu, hippocampus'daki Caspase-1 (ICE, IL-1 β converting enzim) aktivitesini ve IL-1 β konsantrasyonunu arttırmakta, bunlarla birlikte de "c-jun NH2-terminal kinaz" aktivitesi artmakta, glutamat salınışı azalmakta, "uzun süreli güçlendirme" (long term potentiation, LTP) fonksiyonunda bozulma meydana gelmektedir. Caspase-1 inhibisyonu ile bu değişiklikler bloklanabilmekte ve IL-1 β 'nin LPS'nin bu tür etkilerinden sorumlu olduğunu düşündürmektedir (154). Yine stres ile gyrus dentatus ve CA1 alanlarında LTP zayıflamaktadır. Stres sonrasında artan kortikosteroid miktarı, hippocampus alanlarında glukokortikoid reseptörlerindeki artan aktivasyon ile birlikte ortaya çıkmaktadır. Pro-inflamatuar sitokin IL-1 β ekspresyonu strese yanıt olarak hippocampus'da artmakta ve stresin LTP inhibisyonunda da bu interlökinin rol alabileceği düşünülmektedir (153). Septik olaylarda hormonal dengelerdeki homeostazın da bozulabileceği düşünüldüğünde, strese yanıt sisteminin eşik değeri ve sensitivitesi için önemli olan mineralokortikoid düzeyleri açısından hippocampus'daki reseptör yoğunluğunun yüksek olması dikkate değer olarak görülmektedir (155). Adrenalektomi çalışmaları, steroid hormonların çekilmesine bağlı olarak, uzun süreli etki sonunda hippocampus'da apoptotik hücre değişikliklerini göstermiştir (156). Adrenalektomi sonucunda gyrus dentatus, CA1 ve CA3 alanlarında en sık görülen nükleer değişiklik olarak, büzülmüş, koyu renkli nöronlar ve vakuolleşme bildirilmiştir. En az değişiklik CA1 alanında görülürken CA3

alanında ve gyrus dentatus'da birbirlerine yakın oranlarda dejenerasyonlar tespit edilmiş, ancak CA1 alanında farklı dejenerasyon tiplerinin sayısı daha fazla olarak bulunmuştur. Söz konusu bulguların, farklı dejeneratif değişiklikler ile bazı hücrelerin apoptozise, bazılarının ise nekroza gittiğini düşündüğü ifade edilmiştir (156). Bu tür stres altındaki değişikliklerin, ne oranda geri dönüşlü olabileceği bilinmemektedir, zira çoğu tip lezyon sonucunda hippocampus'da aksonal filizlenme denilen bağlanırlık değişiklikleri diğer beyin bölgelerinden daha fazla görülmektedir. Ayrıca yeni nöronların fonksiyonel olup olmadıkları tam olarak bilinmese de hippocampus'un yetişkin yaşamda nörogenezise uğradığı gösterilmiştir (157, 158). Nöroprotektivite açısından değinebilecek bir nokta da TGF ailesinden aktivin faktörüdür. Aktivin, nöronal hasar, septisemi ve romatoid artrit gibi inflamatuvar olaylarda upregülasyona uğramaktadır. Merkezi sinir sisteminde nöroprotektif rol üstlenmektedir. Normal hayvanlarda beyin omirlik sıvısındaki aktivin seviyeleri serumdan daha fazladır ve bu intrakranial bir salınımı düşündürmektedir. Aktivin seviyelerinin, BOS protein içeriği ve gyrus dentatus'daki apoptotik nöronların sayıları ile doğru orantılı olarak arttığı bilinmektedir. İmmunohistokimya kullanılarak aktivin boyanması, plexus choroideus epitelyal hücrelerinde, kortikal nöronlarda ve CA3 alanında gösterilmiştir. Menenjit tablosunda ve normal beyinlerde benzer boyanma görünümü varken aktive glialar ve infiltre makrofajlarda daha yoğun boyanma ortaya çıktığı bildirilmiştir (159-161).

Hippocampal formasyon ve hippocampus'un septik olaylarda gelişen kan yollu değişikliklerden etkilenme mekanizmaları, literatür bilgileri doğrultusunda kompleks bir ilişkiler toplamı şeklinde görülmektedir. Kanda bulunan bakteri popülasyonunun merkezi sinir sistemini etkileme yolunun başlıca hematojen yayılımla olduğunun bilinmesine rağmen, KBB'yi geçerek beyine nasıl girdikleri tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Ancak yine de bakteriyemi derecesiyle beyindeki inflamatuvar olaylar arasında bir doğru orantı olduğu ifade edilmektedir (162, 163). Endotoksemi ile tavşan beyin kapillerleri endotelial hücrelerinde pinositoz artışı ve astrositik şişme, kemiricilerde ise

beyin parankimine albumin, amino asitler ve koloidal demir oksit sızması olduğu bilinmektedir (11, 20-23). Sitokinler için de, merkezi sinir sistemine nasıl girdikleri konusundaki farklı teori ve bulgulara rağmen, periferik sitokinlerin merkezi nörofizyolojik değişikliklere etki etme yeteneğinde oldukları artık bilinmektedir. Ayrıca beyin hasarına glial yanıtın modülasyonunda da görev almaktadırlar. Ortaya konulan bilgiler ışığında periferik olarak aktive edilen bir inflamatuvar yanıt sendromunun dört yolla beyin fonksiyonlarını etkileyebileceği ifade edilmektedir. Birinci yolda; patojen ve sitokinler kan beyin bariyerinin zayıf olduğu bölgelerden girerek etki yaratmaktadırlar. İkinci yolda; tip E prostaglandinler, NO, amyloid prekürsörleri gibi aktif mediatörler kan beyin bariyerinin sağlam endotelinde üretilip beyin parankimine nüfuz etmekte ve sitokinlerin de-novo sentezine neden olmaktadır. Üçüncü yolda; TNF- α gibi sitokinler kan beyin bariyerini geçerek beyin parankimasına girmekte ve nöronal ya da glial fonksiyonu etkilemektedirler. Dördüncü yol ise; inflamatuvar reaksiyonların nervus vagus'u uyarması ve spesifik beyin bölgelerinin adaptasyonudur (86, 164). Bu ilişkileri toparlamak gerekirse son görüşler, insan beyninin, kan beyin bariyerine rağmen, immunolojik olarak aktif bir organ olduğu, immün ve endokrin sistemlerle de direkt ilişki içerisinde olduğu yönündedir (165).

Bir enfeksiyonun başlangıç aşamasında ya da kronik bir hastalığın immun sistem aktivasyonuna neden olabilen akut bir alevlenmesinde ortaya çıkan "hastalık duygulanımı"nın sitokinlerce oluştuğu hipotezinden yola çıkan LPS deneyleri göstermiştir ki; IL-1 β reseptörlerinin IL-1 antagonistlerince blokajı sonucunda bu tür hastalık hisleri ortaya çıkmamaktadır (166). Hastalık hali denilebilecek ilk duruma yol açan periferik ajanlar fare beyinde bölgesel olarak norepinefrin, serotonin, triptofan ve dopamin metabolizmalarında artışa neden olmaktadır (167). Ancak, bu tür antagonistlerin tek başlarına gerçek bozukluk üzerine olan etkileri sınırlıdır (168). Afferent nöronların periferik sitokin stimülasyonuna direkt biçimde açık oldukları da ileri sürülmektedir (166). Vagal afferent nöronların hücre gövdelerinde IL-1 reseptör haberci RNA'ları tespit edilmiştir (169). Sistemik ve merkezi sitokin

verilmesi hypothalamus, hippocampus ve nucleus accumbens'te noradrenerjik, dopaminerjik ve serotonerjik metabolizma artışına neden olabilmektedir (170) ve kemirici beyinlerinde hippocampus ve hypothalamus bölgelerinde IL-1, IL-6 ve TNF- α için yüksek dansitelerde reseptörler bulunmuştur (171). Nörodejeneratif olaylara ait kognitif belirtilerin, sitokin aracılı akut ya da kronik inflamatuvar olaylarda, bireyin kognitif rezervi olarak tanımlanabilen homeostatik limitlerinin zorlanması nedeni ile ortaya çıktıkları bilinmektedir (165). Sitokinler, ya doğrudan ya da sistemik etkileri ile indirekt olarak merkezi sinir sistemi üzerinde etkide bulunmaktadır (165). Sıçanlarda hippocampus, hypothalamus, serebellum ve serebrovasküler endotelium bölgelerinde IL-1 reseptörleri çalışılmıştır (172, 173). Beyinde IL-1 oranlarındaki artış, mekanik hasar, LPS verilmesi ve iskemi gibi durumlarda ortaya çıkmaktadır (174) ve IL-1'in mikroglial proliferasyona neden olduğu bildirilmiştir (175). IL-1'in sıçanlarda serebral ventriküllere ya da spesifik beyin bölgelerine enjeksiyonu ile primer neden ne olursa olsun nöronal hasarda alevlenmeye neden olduğu bildirilirken (176), tersine olarak IL-1 inhibisyonunun hasarı azalttığı bilinmektedir (175). Ayrıca, IL-1 ve TNF- α 'nın birlikte, astrositlerden salınan ve fazla glutamata glutamine çevirerek nöronal koruma sağlayan glutamin sentetaz üretimini inhibe ettiği ifade edilmiştir (177). IL-1, sıçanlara intraventriküler olarak verildiğinde, kendisi pro-inflamatuvar bir ajan gibi çalışıp, hippocampus'da ROS artışına neden olmaktadır (178). IL-1'in periferal verilmesi sonucunda keşifçi-dışa açık davranışlarda ve lokomotor aktivitede azalma, seksüel davranışlarda inhibisyon, uyku hali, anoreksi ve ankisyete gibi çeşitli bilişsel-davranışsal etkiler ortaya çıktığı belirtilmiştir (179). Periferal IL-1 verilmesi ile hippocampus fonksiyonları bozulmakta ve kompleks çevresel ilişkilerin öğrenilmesi kabiliyetinde azalma olmaktadır (180). Ayrıca, IL-1 ile sıçanlarda maze performansı sırasında uzamsal bilgi konsolidasyonunda bozulma ortaya çıktığı da bildirilmiştir (181). Tüm bu etkilerin yanısıra IL-1'in önemli bir başka özelliği olarak, nöronal apoptozis bulguları ile birlikte viral ensefalitlerde arttığı ve nötralizasyonu ile apoptotik ve ölümün azaldığı belirtilmiştir (182). Nöronal hasar ile birlikte olan epileptik nöbetlerde, glia

aktivasyonu ve sitokin transkripsiyonu yaşa bağımlı bir olgu olarak görülmekte ve hippocampus hasarının ancak sitokinlerin artışı ile ortaya çıktığı belirtilmektedir (183). Bir başka deyişle, belirli sitokinlerin sentezi nöronal hasarın görülmesinden önce ortaya çıkmaktadır (183). Tüm bunların ötesinde, IL-1 ya da TNF- α gibi sitokinlerin, inflamatuvar mediatör görüntülerinin yanısıra normal nöronal mekanizmalarda görev alan nöromodülatörler oldukları ifade edilmektedir (171).

Sepsisle ilişkili faktörler ve hippocampus konusuna eklenebilecek son bulgular; IL-1, IL-2 ve IL-6 interlökinlerinin lokal infüzyonu ile in vivo olarak sıçan limbik sistem beyin bölgelerinde dopamin ve noradrenalin salınışı ve metabolizmalarında etkileşimlerinin gözlemlenmiş olduğudur (184). Ayrıca IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- γ 'nın hippocampus'da LTP ve ilgili platisite işlemlerini inhibisyon etkileri bildirilmiştir (185). Beyindeki lokal inflamatuvar olaylar hafıza ve bilişsel fonksiyonların ayarlanmasında bozukluğa neden olurlarken bunların uzun süreleri etkileri bilinmemektedir.

İlerleyen tedavi yöntemlerine karşın ölüm oranı septik şokta %40 olarak bildirilmektedir (53). Septik şok, kompensatuvar olarak vasküler rezistansın arttığı diğer şok tiplerinden (kardiyojenik, hipovolemik ve obstrüktif) farklı olarak genelde arteryel/venöz dilatasyon ve hipovolemi ile kendini göstermektedir (186, 187). Ayrıca septik şok, ağır sepsisle birlikte sıvı yerine koyma tedavilerine yanıt vermeyen bir hipotansiyon ve doku dolaşım yetmezliği ile birlikte (53). Bu yüzden vital parametrelerin izlenmesi sepsis ve septik şok da önemli bir sorun olduğu kadar önemli bir tanı aracı olarak kabul edilmektedir (188-189).

Septik modeller açısından fekal peritonit modelleri bakteriyemik sonuçları açısından en değerli yöntemlerdendir. Domuzlar ya da primatların kullanımı belki de insan türüne daha benzer sonuçlar ortaya çıkarırken bu tür büyük deney hayvanlarının araştırmalara dahil edilmelerindeki sorunlar yüzünden küçük kemiriciler daha ucuz ve kolay bulunabilir bir alternatif olarak

değer kazanmaktadırlar (31). Bu çalışma ile, daha farklı düzeylerdeki çalışmalara temel olabilecek, daha az invazif ve bu yüzden gerçek fizyolojik durumu daha iyi yansıtabilecek, sepsis sonrası yaşam oranı daha yüksek ve böylelikle kronik etkilerin incelenebileceği, efektif ve son olarak da ucuz bir model olarak, fekal peritonitin indüklediği sepsis modeli, tercih edilebilir bir model olarak kabul edilebilir.

Günümüzde sepsisin beyin dokusu ile ilişkileri dikkate alındığında, akut dönem sonrası gelişen olayların ne derecede geriye dönüşlü olabileceği sorusuna yanıt vermek için henüz bilgilerimiz kısıtlıdır. Bir başka sorun da akut dönemdeki klinik mortalite oranları ile elde edilen verilerin ne derecede gerçek olayı yansıttığıdır. Septik ensefalopati açısından hippocampus, farklı beyin bölgeleri arasında sepsisten etkilenme derecesi yüksek bir beyin dokusu olarak önem taşımaktadır (191). Bu çalışmada gözlemlenen hippocampus morfolojisinin, sepsisle birlikte ortaya çıkan değişikliklere bağlı olduğu düşünülmektedir. Hayatta kalma oranlarının beyin fonksiyonları ile olan yakın ilişkisine rağmen, yoğun bakım ünitelerinde yüksek mortalite oranları ile seyreden septik ensefalopatiye neden olan patofizyolojik mekanizmalar hala açıklanmayı beklemektedir (12, 16, 191). Dolayısıyla, bu çalışmada kullanılan fekal peritonite bağlı geliştirilmiş septik şok modelinin ve elde edilen hippocampus'daki morfolojik bulguların, bundan sonraki dönemlerde konu ile ilgili yapılacak, merkezi sinir sistemini ya da diğer sistemleri içerecek olan çalışmalara rehberlik edeceğine inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Tran DD, Groeneveld AB, van der Meulen J, Nauta JJ, Strack van Schijndel RJ, Thijs LG. Age, chronic disease, sepsis, organ system failure, and mortality in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 1990;18:474-9.
2. Vincent JL. Sepsis: the magnitude of the Problem. In: Vincent JL, Carlet J, Opal SM (eds). *The sepsis text*. MA, USA: Kluwer Academic Publishers;2002. 1-10.
3. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *The New England Journal of Medicine* 2003;348:138-51.
4. Levy FM, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003;29:530–8.
5. Lopez-Bojorquez LN, Dehesa AZ, Reyes-Teran G. Molecular Mechanisms Involved in the pathogenesis of septic shock. *Archives of Medical Research* 2004;35:465-79.
6. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991;115: 457-69.
7. Tighe D, Moss RF, Boghossian S, Heath MF, Chessum B, Bennet ED. Multi-organ damage resulting from experimental faecal peritonitis. *Clin Scien* 1989;76:269-76.
8. Tighe D, Moss RF, Hynd J, Boghossian S, Al-Saady N, Heath MF, Bennet ED. Pretreatment with pentoxifylline improves the hemodynamic and histologic changes and decreases neutrophil adhesiveness in a pig fecal peritonitis model. *Critical Care Med* 1990;18:184-9.
9. Bone RC. Toward an epidemiology and natural History of SIRS systemic inflammatory response syndrome. *JAMA* 1992;268:3452-5.
10. Arditi M, Zhou J, Dorio R, Rong GW, Goyert SM, Kim KS. Endotoxin-mediated endothelial cell injury and activation: role of soluble CD14. *Infection and Immunity* 1993;61:3149-56.
11. Papadopoulos MC, Lamb FJ, Moss RF, Davies DC, Tighe D, Bennett ED. Faecal peritonitis causes oedema and neuronal injury in pig cerebral cortex. *Clinical Science* 1999;96:461–6.
12. Papadopoulos MC, Davies DC, Moss RF, Tighe D, Bennett ED. Pathophysiology of septic encephalopathy. *Crit Care Med* 2000;28:3019-24.
13. Vallet B. Bench to bedside review: Endothelial cell dysfunction in severe sepsis: a role in organ dysfunction? *Critical Care* 2003;7: 130-8.
14. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, Suffredini AF, Danner RL, Cunnion RE, Ognibene FP. Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. *Ann Intern Med* 1990;113:227-42.

15. Jacobs S, Sobki S, Morais C, Tariq M. Effect of pentaglobin and piperacillin on survival in a rat model of faecal peritonitis: Importance of intervention timings. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000;44:88–95.
16. Davies DC. Blood brain barrier breakdown in septic encephalopathy and brain tumours. *J Anat* 2002;200:639-46.
17. Carvalho PRA, Feldens L, Seitz EE, Rocha TS, Soledade MA, Trota EA. Prevalence of systemic inflammatory syndromes at a tertiary pediatric intensive care unit. *Jornal de Pediatria* 2005;81:143-8.
18. Bleck TP, Smith MC, Pierre-Louis SJ, Jares JJ, Murray J, Hansen CA. Neurologic complications of critical medical illness. *Crit Care Med* 1993;21:98-103.
19. Sprung CL, Peduzzi PN, Shatney CH. Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 1990;18:801–6.
20. Clawson CC, Hartmann JF, Vernier RL. Electron microscopy of the effect of gram negative endotoxin on the blood-brain barrier. *J Comp Neurol* 1966;127:183–98.
21. Jeppson B, Freund HR, Gimmon Z, James JH, von Meyenfeldt MF, Fischer JE. Blood brain barrier derangement in sepsis: cause of septic encephalopathy? *Am J Surg* 1981;41:136–41.
22. Young GB, Bolton CF, Archibald YM, Austin TW, Wells GA. The electroencephalogram in sepsis associated encephalopathy. *J Clin Neurophysiol* 1992;9:145–52.
23. Deng X, Wang X, Andersson R. Endothelial barrier resistance in multiple organs after septic and nonseptic challenges in the rat. *J Appl Physiol* 1995;78:2052–61.
24. Semmler A, Okulla T, Sastre M, Dumitrescu-Ozimek L, Heneka MT. Systemic inflammation induces apoptosis with variable vulnerability of different brain regions. *J Chem Neuroanat* 2005;30:144-57
25. Porth C, Gaspard KJ (eds). *Essentials of Pathophysiology*. Lippincott Williams & Wilkins 2003:944.
26. Ryan JL. *Bacterial Endotoxic Lipopolysaccharides*. CRC Press 1992;2:241.
27. Coalson JJ, Hinshaw LB, Guenter CA, Berrell EL, Greenfield LJ. Pathophysiologic responses of the subhuman primate in experimental septic shock. *J Lab Invest* 1975;32:561-9.
28. Lang CH, Bagby GJ, Ferguson JL, Spitzer JJ. Cardiac output and redistribution of organ blood flow in hypermetabolic sepsis. *Am J Physiol* 1984;246:331-7.
29. Tighe D, Moss RF, Heywood G, Al-Saady N, Webb A, Bennet ED. Goal directed therapy with dopexamine, dobutamine and volume expansion: effects of systemic oxygen transport on hepatic ultrastructure in porcine sepsis. *Crit Care Med* 1995;23:1997-2007.
30. Tighe D, Moss RF, Bennet ED. Porcine hepatic response to sepsis and its amplification by an adrenergic receptor α 1 agonist and a β 2 antagonist. *Clin Sci* 1998;95:467-78.
31. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram-negative sepsis. *Br J Surg* , 2001;88:22-30.

32. Reemst PH, van Goor H, Goris RJ. SIRS, MODS and tertiary peritonitis. *Eur J Surg Suppl* 1996;162:47-9.
33. Sawyer RG, Rosenlof LK, Adams RB. Peritonitis into the 1990s: changing pathogens and changing strategies in the critically ill. *Am Surg* 1992;58:82-7
34. Koperna T, Schulz F. Prognosis and treatment of peritonitis. Do we need new scoring systems? *Arch Surg* 1996;131:180-6.
35. Berger D, Buttenschoen K. Management of abdominal sepsis. *Langenbecks Arch Surg* 1998;383:35-43.
36. Shelton BK. Sepsis. *Seminars in oncology Nursing* 1999;15:209-21.
37. Imm A, Carlson RW. Fluid resuscitation in circulatory shock. *Crit Care Clin* 1993;9:313-33.
38. Marx G, Cobas Meyer M, Schuerholz T, Vangerow B, Gratz KF, Hecker H, Sumpelmann R, Rueckoldt H, Leuwer M. Hydroxyethyl starch and modified fluid gelatin maintain plasma volume in a porcine model of septic shock with capillary leakage. *Intensive Care Medicine* 2002;28:629-35.
39. Darville T, Giroir B, Jacobs R. The systemic inflammatory response syndrome (SIRS): Immunology and potential immunotherapy. *Infection* 1993;21:279-290.
40. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Annals of Internal Medicine* 1993;119:771-8.
41. Bamas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, De Groote D, Franchimont P, Lamy M. Cytokine serum level during severe sepsis in human. IL-6 as a marker of severity. *Annals of Surgery* 1992;215:356-62.
42. Martin C, Saux P, Mege JL, Perrin G, Papazin L, Gouin F. Prognostic values of serum cytokines in septic shock. *Intensive Care Medicine* 1994;20:272-7.
43. Hoesel LM, Ward PA. Mechanisms of inflammatory response syndrome in sepsis. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2004;1:345-50.
44. Krenzien J, Lorenz W. Scoring systems for severe intra-abdominal infections. *Zentralbl Chir* 1990;115:1065-79.
45. Biondo S, Ramos E, Deiros M, Rague JM, De Oca J, Moreno P, Farran L, Jaurrieta E. Prognostic Factors for Mortality in Left Colonic Peritonitis: A New Scoring System. *J Am Coll Surg* 2000;191:635-42.
46. Opal SM, Horn DL. The Microbial Aspects of Sepsis: Does the Organism and its Treatment Affect Outcome? *Sepsis* 1999;3:51-5.
47. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. Prognosis in acute organ system failure. *Ann Surg* 1985;202:685-93.
48. Deitch EA. Multiple organ failure: pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg* 1992;216:117-34.
49. Beal AL, Cerra FB. Multiple organ failure syndrome in the 1990s. Systemic inflammatory response and organ dysfunction. *JAMA* 1994;271:226-33.
50. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997;112:235-43.

51. Schlag G, Redl H, Hallström S. The cell in shock: the origin of multiple organ failure. *Resuscitation* 1991;21:137-80.
52. Thijs LG, de Boer JP, de Groot MC, Hack CE. Coagulation disorders in septic shock. *Int Care Med* 1993;19:8-15.
53. Marik PE, Varon J. Sepsis: state of the art. *Dis Mon* 2001;47:465-532.
54. Rangel-Frausto MS. The epidemiology of bacterial sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1999;13:229-312
55. Papasian C, Morrison DC. The pathogenesis of gram negative sepsis. In: Vincent JL (ed). *The sepsis text*. USA: Kluwer Academic Publishers; 2002. 98.
56. Jack RS. *CD14 in the inflammatory response*. Basel, Switzerland Karger Publishers 1999.
57. Zhang H, Peterson JW, Niesel DW, Klimpel GR. Bacterial lipoprotein and lipopolysaccharide act synergistically to induce lethal shock and proinflammatory cytokine production. *J Immunol* 1997;15:4868-78.
58. Gao JJ, Zuvanich EG, Xue Q, Horn DL, Silverstein R, Morrison DC. Cutting edge: bacterial DNA and LPS act in synergy in inducing nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. *J Immunol* 1999;15:4095-9.
59. Gao JJ, Xue Q, Zuvanich EG, Hagki KI, Morrison DC. Commercial preparation of lipoteichoic acid contains endotoxin that contributes to activation of mouse macrophages in vitro. *Infect Immun* 2001;69:751-7.
60. Timmerman CP, Mattsson E, Martinez-Martinez L. Induction of release of tumor necrosis factor from human monocytes by staphylococci and staphylococcal peptidoglycans. *Infect Immun* 1993;61:4167-72.
61. Yoshimura A, Lien E, Ingalls RR. Cutting edge: recognition of gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via toll-like receptor 2. *J Immunol* 1999;163:1-5.
62. Schwandner R, Dziarski R, Wesche H, Rothe M, Kirschning CJ. Peptidoglycan and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem* 1999;274:406-9.
63. Yang RB, Mark MR, Gray A. Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signaling. *Nature* 1998;395:284-8.
64. De Kimpe SJ, Kengatharan M, Thiemermann C, Vane JR. The cell wall components peptidoglycan and lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* act in synergy to cause shock and multiple organ failure. *Proc Nat Acad Sci USA* 1995;92:59-63.
65. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, Sanjo H, Ogawa T, Takeda Y, Takeda K, Akira S. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol* 1999;162:3749-52.
66. Poltorak A, He X, Smimova I. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/IOscCr mice: mutations in TLR4 gene. *Science* 1998;282:2085-8.

67. Nathan C, Ding A. TREM-1: a new regulator of innate immunity in sepsis syndrome. *Nat Med* 2001;7:530-2.
68. Meakins JL, Pietsch JB, Bubenick O. Delayed hypersensitivity: indicator of acquired failure of host defenses in sepsis and trauma. *Ann Surg* 1977;186:241-50.
69. Lederer JA, Rodrick ML, Mannick JA. The effects of injury on the adaptive immune response. *Shock* 1999;11:153-9.
70. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Sepsis syndromes: understanding the role of innate and acquired immunity. *Shock* 2001;16:83-96.
71. Kronfol Z, Remick DG. Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry* 2000;157:683-94.
72. Licino J, Wong ML. The role of inflammatory mediators in the biology of major depression: central nervous system cytokines modulate the biological substrate of depressive symptoms, regulate stress-responsive systems, and contribute to neurotoxicity and neuroprotection. *Mol Psychiatry* 1999;4:317-327.
73. Rivest S, Lacroix S, Vallieres L, Nadeau S, Zhang J, Laflamme N. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223:22-38.
74. Marino MW, Dunn A, Grail D. Characterization of tumor necrosis factor deficient mice. *Proc Nat Acad Sci USA* 1997;94:8093-8.
75. Peschon JJ, Torrance DS, Stocking KL. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J Immunol* 1998;160:943-52.
76. Pfeffer K, Matsuyama T, Kundig T. Mice deficient for the 55-kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to *L. Monocytogenes* infection. *Cell* 1993;73:457-97.
77. Li P, Allen H, Banerjee S. Mice deficient in IL-1 beta-converting enzyme are defective in production of mature IL-1 beta and resistant to endotoxic shock. *Cell* 1995;80:401-11.
78. Opal SM, Scannon PJ, Vincent JL, White M, Carroll SF, Palardy JE, Parejo NA, Pribble JP, Lemke JH. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J Infect Dis* 1999;180:1584-9.
79. Eskandari MK, Bolgos G, Miller C, Nguyen DT, DeForge LE, Remick DG. Antitumor necrosis factor antibody therapy fails to prevent lethality after cecal ligation and puncture or endotoxemia. *J Immunol* 1992;148:2724-30.
80. Echtenacher B, Weigl K, Lehn N, Mannel DN. Tumor necrosis factor-dependent adhesions as a major protective mechanism early in septic peritonitis in mice. *Infect Immun* 2001;69:3550-5.
81. Keane J, Gershon S, Wise Rp. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor α -neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001;345:1098-104.

82. Vasselon T, Deters PA. Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun* 2002;70:1033-41.
83. Romagnani S. Biology of human TH1 and TH2 cells. *J Clin Immunol* 1995;15:122-9.
84. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996;383:787-93.
85. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000;117:1162-72.
86. O'Sullivan ST, Lederer JA, Horgan AF, Chin DHL, Mannick JA, Rodrick ML. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. *Ann Surg* 1995;222:482-92.
87. Heidecke CD, Hensler T, Weighardt H, et al. Selective defects of T lymphocyte function in patients with lethal intraabdominal infection. *Am J Surg* 1999;178:288-92.
88. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor kappa b a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997;336:1066-71.
89. Blackwell TS, Christman JW. The role of nuclear factor-kappa b in cytokine gene regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:3-9.
90. Bussolino F, Camussi C, Aglietta M, et al. Human endothelial cells are target for platelet-activating factor. Platelet-activating factor induces changes in cytoskeleton structures. *J Immunol* 1987;139:2439-46.
91. Nadeau S, Rivest S. Effects of circulating tumor necrosis factor on the neuronal activity and expression of the genes encoding the tumor necrosis factor receptors (p55 and p75) in the rat brain: a view from the blood-brain barrier. *Neuroscience*. 1999;93:1449-64.
92. Nadeau S. and Rivest S. Regulation of the gene encoding tumor necrosis factor alpha in the rat brain and pituitary in response to different models of systemic immune challenge. *J. Neuropath exp Neurol*. 1999;58:61-77.
93. Erlich J, Fearn C, Mathison J, Ulevitch RJ, Mackman N. Lipopolysaccharide induction of tissue factor expression in rabbits. *Infect Immun*. 1999;67:2540-6.
94. Deitch EA. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 1998;9:1-11.
95. O'Reilly M, Newcomb DE, Remick D. Endotoxin, sepsis, and the primrose path. *Shock* 1999;12:411-20.
96. Debets JMH, Kampmeijer R, van der Linden MPMH, Buurman WA, van der Linden CJ. Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients. *Crit Care Med* 1989;17:489-94.
97. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling - regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med* 2000;28:3-12.
98. Bloom SR (ed). *Toohey's Medicine*. Elsevier Health Sciences; 1994. 169.

99. Skinner DV, Peyton JVR, Robertson CE, Swain A (eds). Cambridge textbook of accident and emergency medicine. Publisher Cambridge University Press; 1997. 962.
100. Perdue PW, Kazarian KK, Nevola J, Low WR, Williams T. The use of local and systemic antibiotics in rat faecal peritonitis. *J Surg Res* 1994;57:360-5.
101. Crowley B. Antibiotic therapy and peritonitis. *The Lancet* 2001;357:396.
102. Fang CC, Yen CJ, Tsai TJ, Chen RH, Lee PH, Tomino Y. Antibiotics induce apoptosis of human peritoneal mesothelial cells. *Nephrology* 2003;83:142-9.
103. Hau T. Biology and treatment of peritonitis: The historic development of current concepts. *J Am Coll Surg* 1998;186:475-84. Erratum in: *J Am Coll Surg* 1998;187:572.
104. Seiler CA, Brugger L, Forssmann U, Baer HU, Buchler MW. Conservative surgical treatment of diffuse peritonitis. *Surgery* 2000;127:178-84.
105. Thanopoulou AC, Koskinas JS, Hadziyannis SJ. Spontaneous bacterial peritonitis (SBP): Clinical, laboratory, and prognostic features. A single center experience. *Eur J Intern Med* 2002;13:194-8.
106. Shah RJ, Koehler A, Long JD. Bile peritonitis secondary to breast cancer metastatic to the gallbladder. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1379-81.
107. Hung KY, Tsai TJ, Chen WY. Peritoneal fibrosis and its prevention. *Nephrology* 2002;7:227-32.
108. van Goor H, de Graaf JS, Grond J. Fibrinolytic activity in the abdominal cavity of rats with faecal peritonitis. *Br J Surg* 1994;81:1046-9.
109. Ince A, Eroglu A, Tarhan O, Bulbul M. Peritoneal fibrinolytic activity in peritonitis. *Am J Surg* 2002;183:67-9.
110. Faintuch S, Schraibman V, Silva RM, Buzzutti FI, Tajiki MH, Salomao R, Fagundes-Neto U, Morais MB, Koh IH. Beneficial effect of tetracycline prophylaxis in a sepsis model mimicking portal and systemic bacterial translocation routes. *Transplant Proc* 2002;34:1005-6.
111. Buado RJ. Molecular biology of brain capillaries. Introduction to the blood-brain barrier. In: Partridge WM (ed). UK: Cambridge University Press; 1999. 151-164.
112. Virgintino D, Monaghan P, Robertson D, Errede M, Bertossi M, Ambrosi G, Roncali L. An immunohistochemical and morphometric study on astrocytes and microvasculature in the human cerebral cortex. *Histochem J* 1997;29:655-60.
113. Huber JD, Egleton RD, Davis TP. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. *Trends in Neurosciences* 2001;24:719-25.
114. Beuckmann CT, Dernbach K, Hakvoort A, Galla HJ. A new astrocytic cell line which is able to induce a blood-brain barrier property in

- cultured brain capillary endothelial cells *Cytotechnology* 1997;24:11-7.
115. Pardridge WM. Blood-brain barrier biology and methodology. *Neurovirol* 1999;5:556-69.
 116. Bandopadhyay R, Orte C, Lawrenson JG, Reid AR, De Silva S, Allt G. Contractile proteins in pericytes at the blood-brain and blood-retinal barriers. *J Neurocytol* 2001;30:35-44.
 117. Lapierre LA. The molecular structure of the tight junction. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2000;3:255-264.
 118. Cestelli A, Catania C, D'Agostino S, Di Liegro I, Licata L, Schiera G, Pitarresi GL, Savettieri G, De Caro V, Giandalia G, Giannola LI. Functional feature of a novel model of blood brain barrier: studies on permeation of test compounds. *J Control Release* 2001;76:139-47.
 119. Gaillard PJ, van der Sandt IC, Voorwinden LH, Vu D, Nielsen JL, de Boer AG, Breimer DD. Astrocytes increase the functional expression of P-glycoprotein in an in vitro model of the blood-brain barrier. *Pharm Res* 2000;17:1198-205.
 120. Mooradian AD, Haas MJ, Chehade JM. Age-related changes in rat cerebral occludin and zonula occludens-1 (ZO-1). *Mech Ageing Dev* 2003;124:143-6.
 121. Nassif X, Bourdoulous S, Eugene E, Couraud PO. How do extracellular pathogens cross the blood-brain barrier? *Trends Microbiol* 2002;10:227-32.
 122. Huang SH, Jong AY. Cellular mechanisms of microbial proteins contributing to invasion of the blood-brain barrier. *Cell Microbiol* 2001;3:277-87.
 123. Auer M, Pfister LA, Leppert D, Tauber MG, Leib SL. Effects of clinically used antioxidants in experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis* 2000;182:347-50.
 124. Bolton SJ, Anthony DC, Perry VH. Loss of the tight junction proteins occludin and zonula occludens-1 from cerebral vascular endothelium during neutrophil-induced blood-brain barrier breakdown in vivo. *Neuroscience* 1998;86:1245-57.
 125. Pober JS, Lapierre LA, Stolpen AH. Actiation of cultured human endothelial cells by recombinant lymphotoxin: comparison with tumor necrosis factor and interleukin-1 species. *J. Immunol* 1987;138:3319-24.
 126. Bradley JR, Wilks D, Rubenstein D. The vascular endothelium in septic shock. *Journal of Infection* 1994;28:1-10.
 127. Amaral DG. Memory: anatomical organization of candidate brain regions. In: Brookhart JM, Montcastle VB, Bethesda MD (eds). *Handbook of Physiology, V: The Nervous System*. American Physiological Society; 1987. 211–94.
 128. Amaral DG, Witter MP. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 1989;31:571-91.
 129. Lathe R. Hormones and the hippocampus. *Journal of Endocrinology* 2001;169:205-31

130. Amaral DG, Witter MP. Hippocampal formation. In: Paxinos G (ed). The rat nervous system. Second Edition. USA: Academic Press; 1995. 443-49.
131. Carpenter MB (ed). Human Neuroanatomy. 7th edition. USA: The Williams and Wilkins Company; 1976. 530-35.
132. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D (eds). Neuroscience. 3rd edition. USA: Sinauer Associates; 2004.
133. Paxinos G, Watson C (eds). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Compact Third Edition. USA: Academic Press; 1997.
134. Miki T, Fukui Y, Itoh M, Hisano S, Xie Q, Takeuchi Y. Estimation of the numerical densities of neurons and synapses in cerebral cortex. *Brain Res Brain Res Protoc* 1997;2:9-16.
135. Ling EA, Paterson JA, Privat A, Mori S, Leblond CP. Investigation of glial cells in semithin sections. Identification of glial cells in the brain of young rats. *J Comp Neurol* 1973;149:43-71.
136. Mayhew TM. A review of recent advances in stereology for quantifying neural structure. *J Neurocytol* 1992;21:313-28.
137. Sterio DC. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 1984;134:127-36.
138. Gundersen JG. Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: The age effect. *J Microsc* 1977;111:219-23.
139. Manoonkitiwongsa PS, Schultz RL, Whitter EF, Lyden PD. Use of image analysis for estimation of the numerical densities of neurons and synapses in cerebral cortex. *Brain Res Brain Res Protoc* 2001;8:150-1.
140. Manoonkitiwongsa PS, McMillan PJ, Schultz RL, Jackson-Friedman C, Lyden PD. A simple stereologic method for analysis of cerebral cortical microvessels using image analysis. *Brain Res Brain Res Protoc* 2001;8:45-57.
141. Bogdanski R, Blobner M, Becker I, Hanel F, Fink H, Kochs E. Cerebral histopathology following portal venous infusion of bacteria in a chronic porcine model. *Anesthesiology* 2000;93:793-804.
142. Chan SH, Wu KL, Wang LL, Chan JY. Nitric oxide and superoxide dependent mitochondrial signaling in endotoxin induced apoptosis in the rostral ventrolateral medulla of rats. *Free Radic Biol Med* 2005;39:603-18.
143. Schwartz LM, Osborne BA. Programmed cell death, apoptosis and killer genes. *Immunol Today* 1993;14:582-90.
144. Oberholzer C, Oberholzer A, Clare-Salzler M, Moldawer LL. Apoptosis in sepsis: a new target for therapeutic exploration. *FASEB J* 2001;15:879-92.
145. Ding D, Moskowitz SI, Li R, Lee SB, Esteban M, Tomaselli K, Chan J, Bergold PJ. Acidosis induces necrosis and apoptosis of cultured hippocampal neurons. *Exp Neurol* 2000;162:1-12.
146. Lu KT, Wang YW, Wo YY, Yang YL. Extracellular signal regulated kinase mediated IL-1 induced cortical neuron damage during traumatic brain injury. *Neurosci Lett* 2005;23:40-5.

147. Hauss-Wegrzyniak B, Vannucchi MG, Wenk GL. Behavioral and ultrastructural changes induced by chronic neuroinflammation in young rats. *Brain research* 2000;859:157-66.
148. Kreutzberg GW. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci* 1996;19:312-318.
149. Biegon A, Alvarado M, Budinger TF, Grossman R, Hensley K, West MS, Kotake Y, Ono M, Floyd RA. Region-selective effects of neuroinflammation and antioxidant treatment on peripheral benzodiazepine receptors and NMDA receptors in the rat brain. *J Neurochem* 2002;82:924-34.
150. Matsuoka Y, Kitamura Y, Takahashi H, Tooyama I, Kimura H, Gebicke-Haerter PJ, Nomura Y, Taniguchi T. Interferon-gamma plus lipopolysaccharide induction of delayed neuronal apoptosis in rat hippocampus. *Neurochem Int* 1999;34:91-9.
151. Mayer AM. Therapeutic implications of microglia activation by lipopolysaccharide and reactive oxygen species generation in septic shock and central nervous system pathologies: a review. *Medicina* 1998;58:377-85.
152. Blasig IE, Giese H, Schroeter ML, Sporbert A, Utepbergenov DI, Buchwalow IB, Neubert K, Schonfelder G, Freyer D, Schimke I, Siems WE, Paul M, Haseloff RF, Blasig R. NO and oxyradical metabolism in new cell lines of rat brain capillary endothelial cells forming the blood-brain barrier. *Microvasc Res* 2001;62:114-27.
153. Nolan Y, Vereker E, Lynch AM, Lynch MA. Evidence that lipopolysaccharide-induced cell death is mediated by accumulation of reactive oxygen species and activation of p38 in rat cortex and hippocampus. *Exp Neurol* 2003;184:794-804.
154. Vereker E, Campbell V, Roche E, McEntee E, Lynch MA. Lipopolysaccharide inhibits long term potentiation in the rat dentate gyrus by activating caspase-1. *J Biol Chem* 2000;275:26252-8.
155. de Kloet ER. Stress in the brain: Implications for treatment of depression *Acta Neuropsychiatrica* 2002;14:155-66.
156. Islam A, Westman J, Bogdanovic N, Suliman IA, Lindell I, Winblad B, Adem A. Ultrastructural analysis of the hippocampus of adult rats after long term adrenalectomy. *Brain Res* 1999;849:226-30.
157. Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998;4:1313-7.
158. Ramirez JJ. The role of axonal sprouting in functional reorganization after CNS injury: lessons from the hippocampal formation. *Restorative Neurology and Neuroscience* 2001;19:237-62
159. Tretter YP, Hertel M, Munz B, Bruggencate G, Werner S, Alzheimer C. Induction of activin A is essential for the neuroprotective action of basic fibroblast growth factor in vivo. *Nat Med* 2000;6:812-815.
160. Michel U, Gerber J, O'Connor A, Bunkowski S, Bruck W, Nau R, Phillips DJ. Increased activin levels in cerebrospinal fluid of rabbits with bacterial meningitis are associated with activation of microglia. *J Neurochem* 2003;86:238-45.

161. Hubner G, Brauchle M, Gregor M, Werner S. Activin A: a novel player and inflammatory marker in inflammatory bowel disease? *Lab Invest* 1997;77:311-18.
162. Kim KS. Escherichia coli translocation at the blood-brain barrier. *Infect Immun* 2001;69:5217-22.
163. Kim KS. Strategy of Escherichia coli for crossing the blood-brain barrier. *J Infect Dis* 2002;186:220-4.
164. van der Werf YD, de Jongste MJL, Horst GJ. The immune system mediated blood brain barrier damage.possible implications for pathology of neuropsychiatric illnesses. *Acta Neuropsychiatr* 1995;7:114–21.
165. Wilson CJ, Finch CE, Cohen HJ. Cytokines and cognition. The case for a head-to-toe inflammatory paradigm. *J Am Geriatr Soc* 2002;50:2041-56.
166. Dantzer R, Bluthé RM, Layé S. Cytokines and sickness behavior. *Ann N Y Acad Sci* 1998;840:586–90.
167. Dunn AJ. Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: Comparison with interleukin-1. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;261:964-9.
168. Yamamoto N, Sakai F, Yamazaki H, Sato N, Nakahara K, Okuhara M. FR167653, a dual inhibitor of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha, ameliorates endotoxin-induced shock. *Eur J Pharmacol* 1997;327:169-74.
169. Ek M, Kurosawa M, Lundeberg T . Activation of vagal afferents after intravenous injection of interleukin-1: Role of endogenous prostaglandins. *J Neurosci* 1998;18:9471–79.
170. Merali Z, Lacosta S, Anisman H. Effects of interleukin-1beta and mild stress on alterations of norepinephrine, dopamine and serotonin neurotransmission: A regional microdialysis study. *Brain Res* 1997;761:225-235.
171. Vitkovic L, Boackaert J, Jacque C. Inflammatory cytokines: Neuromodulators in normal brain? *J Neurochem* 2000;74:457-471.
172. Yabuuchi K, Minami M, Katsumata S. Localization of type 1 interleukin-1 receptor mRNA in the rat brain. *Mol Brain Res* 1994;27:27-36.
173. Wong ML, Licinio J. Localization of interleukin 1 type I receptor mRNA in rat brain. *Neuroimmunomodulation* 1994;1:110-115.
174. Arvin B, Neville LF, Barone FC. The role of inflammation and cytokines in brain injury. *Neurosci Biobehav Rev* 1996;20:445-452
175. Ganter S, Northoff H, Mannel D. Growth control of cultured microglia. *J Neurosci Res* 1992;33:218-230.
176. Rothwell NJ. Cytokines - killers in the brain? *J Physiol* 1999;514:3-17.
177. Huang TL, O'Banion MK. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha suppress dexamethasone induction of glutamine synthetase in primary mouse astrocytes. *J Neurochem* 1998;71:1436-42.

178. Kelly A, Vereker E, Nolan Y, Brady M, Barry C, Loscher CE, Mills KH, Lynch MA. Activation of p38 plays a pivotal role in the inhibitory effect of lipopolysaccharide and interleukin-1 on longterm potentiation in rat dentate gyrus. *J Biol Chem* 2003;278:19453-62.
179. Krueger JM, Fang J, Taishi P. Sleep. A physiologic role for IL-1 beta and TNF-alpha. *Ann N Y Acad Sci* 1998;856:148-159.
180. Gibertini M. Cytokines and cognitive behavior. *Neuroimmunomodulation* 1998;5:160-165.
181. Oitzl MS, van Oers H, Schobitz B et al. Interleukin-1 beta, but not interleukin-6, impairs spatial navigation learning. *Brain Res* 1993;613:160-163.
182. Takikita S, Takano T, Narita T, Takikita M, Ohno M, Shimada M. Neuronal apoptosis mediated by IL-1 beta expression in viral encephalitis caused by a neuroadapted strain of the mumps virus (Kilham Strain) in hamsters. *Exp Neurol* 2001;172:47-59.
183. Rizzi M, Perego C, Aliprandi M, Richichi C, Ravizza T, Colella D, Veliskova J, Moshe SL, De Simoni MG, Vezzani A. Glia activation and cytokine increase in rat hippocampus by kainic acid induced status epilepticus during postnatal development. *Neurobiol Dis* 2003;14:494-503.
184. Rothwell NJ, Hopkins SJ. Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci* 1995;18:130-6.
185. Patterson PH, Nawa H. Neuronal differentiation factors/cytokines and synaptic plasticity. *Cell* 1993;72:123-37.
186. Porth C, Gaspard KJ (eds). *Essentials of Pathophysiology*. Lippincott Williams & Wilkins Publication ;2003. 334.
187. Rubanyi GM (ed). *Pathophysiology and Clinical Applications of Nitric Oxide*. Taylor & Francis Publication; 1999. 224.
188. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock. A review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 1980;29:189-201.
189. Jackson AC, Gilber JJ, Young GB, Bolton CF. The encephalopathy of sepsis. *J Neurol Sci* 1985;12:303-7.
190. Eiderman LA, Putterman D, Putterman C, Sprung CL. The spectrum of septic encephalopathy. Definitions, etiologies, and mortalities. *J Am Med Assoc* 1996;275:470-3.
191. Semmler A, Okulla T, Sastre M, Dumitrescu-Ozimek L, Heneka MT. Systemic inflammation induces apoptosis with variable vulnerability of different brain regions. *J Chem Neuroanat* 2005;30:144-57.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlamasında ve yürütülmesinde bilgi ve becerisinden yararlandığım, bana destek olan ve yol gösteren tez danışmanım Doç. Dr. İlknur Arı hocama, çalıőmalarım sırasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. M. Ayberk Kurt başta olmak üzere Prof. Dr. İ. Hakan Oygucu, Prof. Dr. İhsaniye Coőkun, Prof. Dr. N. Őimőek Cankur, Prof. Dr. Erdoğan Őendemir hocalarıma, Uludağ Üniversitesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Vahide Savcı ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Doç. Dr. İlkın avuşoğlu hocalarıma, Uludağ Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalındaki tüm çalışma arkadaşlarıma ve yine destek ve sevgilerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Ankara'da doğdum. İlkokul öğrenimimi 1980-1985 yılları arasında Yalova Atatürk İlkokulunda ortaokul ve lise öğrenimimi 1985-1991 yılları arasında Yalova Lisesinde yaptım. 1991 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde yüksek öğrenimime başladım. 1999 yılında Tıp fakültesinden mezun olduktan sonra 1999-2001 yılları arasında Bursa Yavuzselim Polikliniğinde sorumlu hekim olarak çalıştım. 2001 yılı Eylül ayında Tıpta Uzmanlık Sınavını kazandım ve çalıştığım kurumdan ayrılarak Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime başladım. 1 Haziran 2004 ile 1 Haziran 2005 tarihleri arasında, uzmanlık eğitimim sürerken, bir ay süren yedek subaylık eğitimini Samsun'da tamamlayıp takiben, Kastamonu 205 Nolu Hava Radar Kıta Komutanlığı'nda askerlik görevimi yaparak uzmanlık eğitimime geri döndüm. 1 Haziran 2005 tarihinden bu yana Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında Uzmanlık eğitimime devam etmekteyim.