

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL RAT SEPSİS MODELİNDE
ETANERSEPT VE TALİDOMİD TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Ruken BARDAŞ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Erdal TAŞKIN**

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Erdal YILMAZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Erdal TAŞKIN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Konunun belirlenmesi ve çalışmanın yürütülmesinde yardım ve katkılarını esirgemeyen tezimin her aşamasında emeği geçen, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, her konuda desteklerini esirgemeyen hocam Doç. Dr. Erdal TAŞKIN'a, uzmanlık eğitimim boyunca yardımlarından dolayı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erdal YILMAZ'a ve bölüm hocalarıma sonsuz teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım. Örneklerin çalışmasındaki katkılarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji öğretim üyesi Tuncay KULOĞLU'na Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Nevin İLHAN'a ve tez istatistiklerinin yapılmasında yardımlarından dolayı Doç. Dr. Ebru ÖNALAN ve Doç. Dr. Selçuk İLHAN ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve yardımcı sağlık personelimize tüm yaşamım boyunca bana her türlü destek olan, fedakarlıkta bulunan sevgili arkadaşım Zeynep ORHAN'a, KOŞAR ailesinin tüm bireylerine, Zorlu eğitim sürecinde her zaman yanımda olan, beni hiç yalnız bırakmayan, onlara da yaşatmak zorunda kaldığım sıkıntılardan dolayı gösterdikleri sabır için hayatımın anlamı olan sevgili annem Saliha BARDAŞ'a babam Mustafa BARDAŞ'a canım kardeşim Cihan BARDAŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Yenidoğan sepsisi yaşamın ilk bir ayında bakteriyemi ile birlikte olan ve enfeksiyona sistemik bulgularında eşlik ettiği klinik bir sendromdur. Son yıllarda patofizyolojisi iyi tanımlanmış olmasına, tanı yöntemlerindeki teknolojik gelişmelere ve etkili antimikrobiyal tedavilerdeki ilerlemelere rağmen sepsisin tanısındaki zorluklar; mevcut klinik bulgularının nonspesifik olması, prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşam oranlarının artması, yapılan girişimler, ameliyatlar gibi nedenlerle yine de ağır klinik tablolarla varlığını sürdürmektedir. Bu çalışmada sepsiste TNF- α blokerleri Thalidomide ve Etanercept tedavisinin inflamatuvar parametreler üzerindeki etkilerini araştırma amaçlandı. Bu amaçla Wistar cinsi 28 günlük sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları 5 gruba ayrıldı, bu gruplar; 1: Sham grubu (n=12), 2: LPS ile oluşturulmuş sepsis grubu (n=12), 3: Lipopolisakkarid + Talidomid grubu: (n=12), 4: Lipopolisakkarid + Etanercept grubu (n=12), 5: Lipopolisakkarid + Talidomid + Etanercept grubu (n=12) olarak dizaynedildi. Deney hayvanlarına intraperitoneal lipopolisakkarit (5 mg/kg) verilerek sepsis indüklendi tedavi gruplarına TNF- α blokörleri olan Thalidomide (0,5 mg/kg/doz) ve Etanercept (1 mg/kg/doz) uygulandı. 3. ve 6. saatlerde anestezi altında intrakardiyak kan örnekleri alındı. Ardından sıçanların beyin dokuları hızla çıkarılıp fiske edildi apoptozisin tespiti için TUNEL teknikleri uygulanarak boyandı. Kan örneklerinde tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), Presepsin, NF κ B, interlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), Total Antioksidan Stres (TAS) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışıldı. Sonuç olarak 3. ve 6. Saat tedavi uygulaması ile tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), Presepsin, NF κ B, interlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), ve malondialdehit (MDA) düzeylerini azaldığı ve Total Antioksidan Stres (TAS) düzeylerinin ise arttığı saptandı.

Oluşturduğumuz rat sepsis modelinde elde ettiğimiz veriler Thalidomide ve Etanercept'in proinflamatuvar sitokin üretimini baskılayarak, total antioksidan kapasiteyi artırarak inflamasyonu durdurucu etki gösterebileceği Ancak tedavisinde Etanercept, Thalidomide 'in sepsisi önleme ve tedavi dozu ile ilgili daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Yenidoğan sepsisi, Etanercept, Thalidomide, apoptozis

ABSTRACT

EXPERIMENTAL RAT SEPSIS MODEL THE EFFICACY OF ETANERCEPT AND THALIDOMIDE TREATMENT EVALUATION

The first months of neonatal sepsis is a clinical syndrome accompanied by systemic symptoms of infection associated with bacteremia life. In recent years, there are well-defined pathophysiology, diagnosis, despite the difficulties in the diagnosis of sepsis in technological developments and the progress of effective antimicrobial therapy; of nonspecific clinical signs present, increasing the survival rate of premature and low birthweight babies, it made interventions, such as surgery for reasons still persist with severe clinical picture. In this study, TNF- α blockers in sepsis research aimed effects on inflammatory parameters of Thalidomide and etanercept treatment. In the present study Wistar rats were used for 28 days. Experimental animals are divided into 5 groups, these groups; 1: Sham group (n = 12), 2: formed by LPS sepsis group (n = 12), 3: LPS + Thalidomide group (n = 12), 4: LPS + etanercept group (n = 12), 5: LPS + thalidomide + etanercept group (n = 12) were designed. Laboratory animals intraperitoneal lipopolysaccharide (5 mg / kg) given to the treatment group sepsis was induced TNF- α blokör with Thalidomide (0.5 mg / kg / dose) and Etanercept (1 mg / kg / dose) was implemented. In the first 3rd and 6th hour intracardiac blood samples were taken under anesthesia. By applying the TUNEL technique, detection of apoptosis in rat brain tissues were quickly removed and fixed. Blood samples of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), Presepi, NFB, interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), Total Antioxidant Stress (TAS) and malondialdehyde (MDA) levels by ELISA It were studied. Consequently, 3rd and 6th hour treatment of tumor necrosis factor-alpha clock treatment (TNF- α), can Presepi, NFB, interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and malondialdehyde (MDA) reduced stress levels and total antioxidant (TAS) was found to increase the levels.

We have achieved in the rat model we generate data on Thalidomide in sepsis and Etanercept inhibits the production of proinflammatory cytokines, total antioxidant capacity etanercept in the treatment stop the inflammation can act by

increasing however, Thalidomide 's sepsis prevention and there is a need for more comprehensive studies on the treatment dose.

Keywords: Neonatal sepsis, etanercept, Thalidomide, apoptosis



İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Neonatal Sepsis	2
1.1.2. Sınıflandırma	2
1.1.2.1. Erken Başlangıçlı Neonatal Sepsis (EBNS)	2
1.1.2.2. Geç Başlangıçlı Neonatal Sepsis (GBNS)	3
1.1.2.3. Çok Geç Başlangıçlı Neonatal Sepsis	4
1.1.3. Risk Faktörleri	4
1.1.3.1. Anneye Ait Risk Faktörleri	4
1.1.3.2. Bebeğe Ait Risk Faktörleri	5
1.1.3.3. Çevreye ait risk faktörleri	6
1.1.4. Epidemiyoloji	6
1.1.5. Etyoloji	7
1.1.6. Patogenez	8
1.1.6.1. Transplasental Yol	9
1.1.6.2. Asendan Yol	9
1.1.6.3. Doğum Sırasında Enfeksiyon Kazanma	9
1.1.6.4. Doğum Sonrası Enfeksiyon Kazanma	9
1.2. Fiziopatoloji	10
1.2.1. Apoptozis	17
1.2.2. Apoptozisin Regülasyonu	19

1.2.2.1. p53 gen aracılı apoptozis	19
1.2.2.2. Bcl-2/Bax	19
1.2.2.3. Kaspazlar	20
1.2.3. Apoptozisin Sitotoksik Regölasyonu	22
1.2.3.1. Granzim veya Perforin Sistemi	22
1.2.3.2. Fas-Fas Ligandı veya CD95 Yolu	22
1.3. Klinik Bulgular	23
1.4. Tanı	24
1.4.1. Spesifik Tanısal Testler	25
1.4.2. Nonspesifik Yardımcı Testler	26
1.4.3. Ayırıcı Tanı	34
1.5. Tedavi	35
1.5.1. Prognoz	38
1.5.2. Korunma	39
1.5.3. Etanersept	39
2. GEREÇ ve YÖNTEM	42
2.1. Denekler	42
2.1.1. Deney Grupları	42
2.1.2. Anestezi Uygulaması	43
2.1.3. Deneyisel Sepsis Modelinin Oluşturulması	43
2.1.4. Biyokimyasal analizler	44
2.2. Rat PSPN (Presepsin) Dölzeylerinin Ölölümü	44
2.3. TNF- α Dölzeylerinin Ölölümü	44
2.4. Rat NF κ B Dölzeylerinin Ölölümü	44
2.5. IL1- β Dölzeylerinin Ölölümü	45
2.6. IL-6 Dölzeylerinin Ölölümü	45
2.7. TAS Dölzeylerinin Ölölümü	45
2.8. MDA Dölzeylerinin Ölölümü	45
2.9. Histolojik Değerlendirme	46
2.9.1. TUNEL Metodu	46
2.10. İstatistiksel Analiz	47

3. BULGULAR	48
3.1. Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler	48
3.2. TUNEL Bulgular	66
4. TARTIŞMA	73
5. KAYNAKLAR	88
6. ÖZGEÇMİŞ	



TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Yenidoğanda sepsise yol açan mikroorganizmalar	8
Tablo 2.	Töllner skorklama sistemi	25
Tablo 3.	EMR’li bebeklerde skorklama	25
Tablo 4.	Neonatal sepsisin ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken hastalıklar	35
Tablo 5.	Standart rat yemi	42
Tablo 6.	TUNEL Boyama Prosedürü.	47
Tablo 8.	TNF- α 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	48
Tablo 9.	TNF- α 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	49
Tablo 10.	Plazma TNF- α değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	50
Tablo 11.	Presepsin 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	50
Tablo 12.	Presepsin 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	51
Tablo 13.	Plazma presepsin değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	51
Tablo 14.	Plazma presepsin değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	52
Tablo 15.	NF κ B 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	53
Tablo 16.	NF κ B 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	54
Tablo 17.	Plazma NF κ B değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	55
Tablo 18.	IL-1 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	55
Tablo 19.	IL-1 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	56
Tablo 20.	Plazma IL 1 beta değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	57
Tablo 21.	IL-6 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	58
Tablo 22.	IL-6 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	59
Tablo 23.	Plazma IL-6 değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	59
Tablo 24.	TAS 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	60
Tablo 25.	TAS 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	61
Tablo 26.	Plazma TAS değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	62
Tablo 27.	MDA 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	62
Tablo 28.	MDA 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları	63
Tablo 29.	Plazma MDA değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması	64
Tablo 30.	Tüm gruplara ait plazma ELISA sonuçları	65
Tablo 31.	3. Saat grubunda Apoptotik indeks (%)	66

Tablo 32. 3. Saat grubunda Apoptotik indeks (%)	66
Tablo 33. Tüm grupların 3. Saati ile 6. Saati. TUNEL pozitifliği açısından karşılaştırılması	67



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Sepsis Fizyopatolojisi	17
Şekil 2.	Apoptotik süreç ve bu süreçte yer alan proteinler.	21
Şekil 3.	1A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	67
Şekil 4.	1B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	68
Şekil 5.	2A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	68
Şekil 6.	2B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	69
Şekil 7.	3A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	69
Şekil 8.	3B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	70
Şekil 9.	4A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	70
Şekil 10.	4B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	71
Şekil 11.	5A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	71
Şekil 12.	5B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).	72

KISALTMALAR LİSTESİ

AI	: Apoptotik indeks
BOS	: Beyin omirilik sıvısı
CAD	: Caspase activated deoxyribonuclease
CRP	: C-Reaktif protein
CTL	: Sitotoksik T lenfositler
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EBNS	: Erken Başlangıçlı Neonatal Sepsis
EMR	: Erken membran rüptürü
EPCR	: Endotel protein C reseptörü
FADD	: Fas Associating protein with a Death Domain protein
FISH	: Florescence in situ hybridisation
GBNS	: Geç Başlangıçlı Neonatal Sepsis
GBS	: Grup B streptokoklar
HMGB-1	: High mobility group B-1
ICAM	: İntrasellüler adhezyon molekülleri
Ig-GAM	: İmmunglobulin
IL-1	: İnterlökin-1
IUGG	: İntrauterin gelişme geriliği
IVIG	: İntravenöz immunglobulinin
İ/T	: İmmatür total oranı
KNS	: Koagülaz negatif stafilokoklar
LPS	: Lipopolisakkarid
LPS-LBP	: Lipopolisakkarit binding protein
MCP	: Monosit kemotaktik protein-1
MDA	: Malondialdehit
MHC	: Major histokompatibilite kompleksi
MIF	: Makrofaj migrasyon inhibitör faktör
MIP	: Macrophage inflammatory protein
NFκB	: Nükleer Faktör Kappa B
NO	: Nitrik oksit

PAF	: Trombositleri aktive eden faktör,
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör
PAMPs	: Pathogen-Associated Molecular Patterns
PARP	: Poly ADP-ribose polymerase
PCT	: Prokalsitonin
PGI₂	: Prostrasiklin
RIP	: Receptör Interacting Protein
SAA	: Serum Amiloid A
TXA	: Tromboksan
TAC	: Total antioxidant capacity
TAFI	: Trombince aktive edilen fibrinoliz inhibitörü
TAS	: Total Antioksidan Stres
TCR	: T-lenfositreseptörü
TLR	: Toll-like reseptör
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
TSST-1	: Toksik şok sendromu toksin-1

1. GİRİŞ

Yenidoğan sepsisi yaşamın ilk 28 gününde ortaya çıkan ve genellikle pozitif kan kültürü ile karakterize sistemik bir enfeksiyondur. Yenidoğan bebekler için önemli bir morbidite ve mortalite kaynağıdır (1). Yenidoğan ölümlerinin yaklaşık üçte birinden şiddetli enfeksiyonlar sorumlu tutulmaktadır. Prematürelilik, düşük doğum ağırlığı, maternal ve neonatal risk faktörleri, yenidoğanın bağışıklık sisteminin yeterince gelişmemiş olması enfeksiyona yatkınlığa neden olur (2).

Antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılmadığı önceki dönemlerde sepsis etiyolojisinde Gram (+) bakteriler daha sık rol almaktayken, Gram (-) antibiyotiklerin yaygın kullanıldığı günümüzde ise bakteriler ön planda izlenmektedir. Sepsis tedavisi yapılan hayvan çalışmalarında, uygun destek ve antibiyotik tedavisinin sinerjistik etkisinin olduğu kanıtlanmıştır. Günümüzde tedaviye bunlardan herhangi biriyle başlamanın yetersiz olacağı bir gerçektir. Sepsis, yüksek ölüm riski taşıyan ve ileri tedavi teknikleri gerektiren sık rastlanan bir durumdur (3).

Sepsis patogeneğinde inflamatuvar ve immün cevap çok önemli bir rol oynar. TNF-alfa ve IL-1beta gibi pro-inflamatuvar sitokinler sepsis kaskadındaki en önemli sitokinlerdir. Sitokinler; fosfolipaz A2, siklooksijenaz tip 2, NO sentaz için gen ekspresyonunu ve protein sentezini aktive eder. Pro-inflamatuvar sitokinlerin aşırı yapımı belirgin bir mortalite ve morbidite nedenidir. Sepsiste inflamasyon ve oksidatif stresin oluşması etyopatogeneşte önemli yer tutmaktadır (3).

Etanersept ve talidomid, TNF α inhibitörleri olup makrofajlar tarafından TNF α nın reseptör düzeyinde inhibe edilmesini sağlarlar. Bu çalışmanın amacı LPS ile oluşturulan sepsis modelinde etanersept ve talidomid tedavi etkinliğinin TNF α 'nın inhibe edilmesi suretiyle sepsiste oksidatif, inflamatuvar stres parametreleri ve mortalite üzerindeki kombine etkisini araştırmaktır. Mortalitesi yüksek seyreden sepsisin tedavisinde etanersept ve talidomidin tedavi seçeneklerinden biri olabileceği düşüncesi doğrultusunda etanersept ve talidomid verilmiş ratlarda sepsis bulguları araştırıldı.

Yüksek mortalite ile seyreden sepsiste vazgeçilmez tedavi seçeneği halen antibiyotikler olmakla birlikte, yeni destek tedavilerinin gerekliliği gerçeği giderek kuvvetlenmektedir. Çalışmamızda sepsiste yeni tedavi seçeneklerine katkı sağlamak amaçlandı.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Neonatal Sepsis

Yenidoğan sepsisi yaşamın ilk 28 gününde, enfeksiyon etkenlerine verilen inflamatuvar yanıtın neden olduğu sistemik bulgulardan oluşan bir klinik sendromdur. Sepsis, yenidoğan bebekler için önemli bir morbidite ve mortalite kaynağıdır. Tüm yenidoğan mortalitelerinin yaklaşık üçte birinin nedeni şiddetli enfeksiyonlardır. Erken tanı konulması ve tedavi edilmesi büyük önem taşımaktadır. Klinik bulguları ile sepsis olduğu düşünülen yenidoğanların çoğunun kan kültürlerinde herhangi bir mikroorganizma izole edilememektedir (2, 4-7).

1.1.2. Sınıflandırma

Neonatal sepsis klasik olarak belirti ve bulguların başlama zamanına göre erken başlangıçlı sepsis, geç başlangıçlı sepsis ve çok geç başlangıçlı sepsis olarak adlandırılır, mikrobiyolojik etkenin izole edilip edilememesine göre de kanıtlanmış (kan kültüründe bakteri üremesi var) ve klinik sepsis (kan kültüründe bakteri üremesi yok) olarak 2 grup halinde sınıflandırılmaktadır (2, 8-10).

Erken başlangıçlı sepsiste belirti ve bulgular yaşamın ilk 7 gününde, geç başlangıçlı sepsiste ise yaşamın 7. gününden sonra (7–30. günler arasında), çok geç başlangıçlı sepsiste 30 günden sonra başlar (2).

1.1.2.1. Erken Başlangıçlı Neonatal Sepsis (EBNS)

Neonatal sepsis etyolojisinde genellikle maternal obstetrik komplikasyonlar rol oynar. Fulminan seyreder ve multisistemik tutulum görülür. Mikroorganizmalar fetusa transplasental veya asendan yolla bulaşabileceği gibi doğum esnasında fetusun annenin genital sekresyonları veya kanı ile teması sonucu da bulaşabilir. Pnömoni EBNS'e sıklıkla eşlik eder (11).

Erken sepsiste gebelik ve doğum ile ilişkili birtakım risk faktörleri (maternal intrapartum komplikasyonlar) tanımlanmıştır. Erken sepsis riskini artıran başlıca faktörler prematürelilik, düşük veya çok düşük doğum ağırlığı, erken membran rüptürü (EMR), koryoamniyonit ve annenin doğum kanalının grup B streptokoklar ile kolonizasyonudur. Diğer risk faktörleri, annenin gebeliği esnasında idrar yolu enfeksiyonu geçirmesi, grup B streptokok bakteriürisi, intrapartum ateş (38°C veya

üzeri), EMR'li bebekte perinatal asfiksi (beşinci dakika Apgar skorunun altından düşük olması), erkek cinsiyet, yenidoğan ikizinde grup B streptokok hastalığı olması, grup B streptokoklar ile kolonize bir gebede daha önce grup B streptokok enfeksiyonu geçirmiş bebek öyküsü bulunmasıdır (2, 4, 12-17).

Erken başlangıçlı sepsise en sık neden olan patojenler Grup B streptokoklar (GBS) ve Escherichia coli (E. coli)'dir. Grup A, C ve G streptokoklar, Streptococcus viridans, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae (H. influenzae), Listeria monocytogenes (L. monocytogenes), Staphylococcus aureus (S. aureus), Enterokoklar, Klebsiella ve Enterobakter türleri ve koagülaz negatif stafilocoklar (KNS) EBNS'nin öteki etkenlerindendir (18).

Gelişmekte olan ülkelerde EBNS etkeni olarak Gram negatif bakterilerin, Gram pozitif bakterilere göre iki kat daha sık görüldüğü ve en sık görülen etkenlerin Klebsiella suşları, S. aureus ve E. coli'nin olduğu bildirilmiştir (19).

Erken Başlangıçlı Neonatal Sepsis etkeni olarak ülkemizde en sık Klebsiella suşları ve S. epidermidis görülmektedir (20).

1.1.2.2. Geç Başlangıçlı Neonatal Sepsis (GBNS)

Etyolojisinde EBNS'e göre maternal obstetrik komplikasyonlar daha seyrek rol oynar. Multisistemik yahut fokal tutulum görülebilir. Mikroorganizma doğum kanalından, hastaneden veya toplumdan edinilebilir. Doğum sonrasında edinilen etkenler sıklıkla insanlarla (anne, sağlık personeli vs.) ve kontamine aletlerle bulaşır. GBNS'in en sık görülen etkeni KNS olup S.aureus ve Enterokoklar da bir diğer sık görülen patojenlerdir. Bunlardan başka Gram negatif bakteriler, GBS, L. monocytogenes, Kandida ve Aspergillus da GBNS'e neden olabilir (2, 8, 18).

Geç sepsis vakalarında ülkemizde en sık izole edilen patojenin koagülaz negatif stafilocoklar olduğu, bunu da Klebsiella türleri, E. coli, S. aureus, Candida ve Enterobakter türlerinin izlediği bildirilmiştir (21).

Geç sepsis iki mekanizmayla gelişir. Birincisi maternal vertikal bulaşma ile bebekte ilk kolonizasyon (deri, solunum yolu, konjunktivalar, sindirim sistemi, göbek) olur, sonra da geç enfeksiyon gelişebilir. İkincisi ise bebeğin bulunduğu ortamdan doğrudan temas yoluyla enfekte olmasıdır. Sepsis riskini Bebeğin deri veya mukoza bütünlüğünün bozulması (girişimsel işlemler nedeniyle) artırır. Maternal obstetrik komplikasyonlarla ilişkili geç sepsis gelişimi az görülen bir durumdur. Deri

ve mukoza bütünlüğünün bozulmasına, doğum sırasında “forseps” kullanımı, intrauterin monitörizasyon için elektrot yerleştirilmesi bebeğin risk faktörleridir. Geç sepsis etkenleri doğum kanalından, doğumdan sonra hastane veya toplumdan kazanılabilir. Geç yenidoğan sepsisi riskini bebeğin yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatması, uygulanan invaziv girişimler, mekanik ventilasyon, geniş spektrumlu antibiyotik kullanılması, enfeksiyon kontrol yöntemlerine uyulmaması gibi nedenler artırır (2, 4, 7, 12-18).

Enfeksiyonun sıklığı, gestasyon yaşı ve doğum ağırlığı ile ters orantılıdır. Çok merkezli ülkemizde yapılan bir çalışmada, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yatan bütün bebeklerde nozokomiyal sepsis sıklığının % 2.1-17; doğum ağırlığı 1500 gr’ın altında olanlarda % 22, 1500-2500 gr arasındakilerde % 6 ve 2500 gr’dan büyük olanlarda % 3 olduğu bildirilmiştir (22).

1.1.2.3. Çok Geç Başlangıçlı Neonatal Sepsis

Çok geç başlangıçlı enfeksiyonlar özellikle çok düşük doğum ağırlıklı (VLBW) bebeklerde bildirilmiştir. Bu bebekler uzun süre hastanede izlenen bebeklerden oluşmaktadır ve asıl kaynak hastane ortamıdır. Çok geç başlangıçlı sepsiste, genellikle etkenler koagülaz negatif stafilokoklar ve kandidadır mortalite hızı %5’in altındadır (2, 23, 24).

1.1.3. Risk Faktörleri

Perinatal enfeksiyon için birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Yenidoğan sepsisinde tanı koymak zor olduğundan bu risk faktörlerinin önceden belirlenmesi tanıya yaklaşımda önemlidir. Yenidoğan sepsisini kolaylaştıran faktörler, anneye, bebeğe veya çevreye ait olabilir.

1.1.3.1. Anneye Ait Risk Faktörleri

Kuzey Amerika’da gebe kadınların % 15-40’ında vajinal, rektal veya rektovajinal GBS ile kolonize olduğu bildirilmiştir (8, 25).

Ülkemizde bu oranın % 2-7 olduğu saptanmıştır (26).

Grup B streptokoklar ile maternal kolonizasyonda sepsis riski % 0.5-1 arasındadır. Bu oran prematürite, maternal ateş, erken membran rüptürü (EMR) gibi komplikasyonlar eklendiğinde risk % 4-7’ye, korioamniyonit varlığında ise % 20’ye çıkmaktadır (27).

Neonatal sepsis için doğuma kadar geçen sürenin membranların açılmasından sonra 18-24 saatten daha fazla olması, mühim bir risk faktörüdür. Yenidoğanda enfeksiyon riski EMR’de % 1, prematüre doğumlarda % 4-6, korioamniyonitte % 3-8, 5. dakika APGAR skorunun düşüklüğünde % 3-4 oranındadır. EMR ile birlikte 2 farklı risk faktörünün bulunması durumunda sepsis riski de 25 kat artmaktadır (27).

Ayrıca annede mevcut idrar yolu enfeksiyonu ve asemptomatik bakteriyüri varlığı, prematüre doğum ve/veya korioamniyonit neonatal sepsis riskini artırmaktadır (28).

Gebelik öncesi annenin kronik bir hastalığı, annenin multipar veya nullipar oluşu, çoğul gebelik, polihidroamnioz ve düşük sosyoekonomik düzey maternal diğer risk faktörleri arasındadır (27).

1.1.3.2. Bebeğe Ait Risk Faktörleri

Neonatal sepsis için en önemli risk faktörü düşük doğum ağırlığı ve prematürelidir. Gebelik haftası 37 haftanın altında olan bebeklerde sepsis riski term yenidoğanlara göre 3-10 kat daha fazladır (29).

Doğum tartısı düşükçe de sepsis riski ve mortalitesi artmaktadır. Bir çalışmada doğum kilosu 1500 gr altındaki bebeklerde sepsise bağlı mortalitenin, doğum kilosu 1500-2500 gr arasında olanlara göre iki kat, doğum tartısı 2500 gr üzerinde olanlara göre ise yedi kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (11). Kız bebeklere göre term erkek bebeklerde sepsis sıklığı dört kat daha fazladır (30).

Metabolik hastalıklarda enfeksiyon gelişme riski yüksektir. Galaktozemili bebeklerde bozulmuş nötrofil fonksiyonlarına bağlı olarak E. coli sepsisi görülme oranı artmıştır (27).

Perinatal asfiksi, konjenital immün yetmezlik, aspleni, invazif girişim uzun süreli mekanik ventilasyon uygulanması, enteral beslenmeye geç başlanması, yenidoğana uygulanan steroid veya demir tedavisi, yenidoğanın bazı anatomik defektleri (obstrüktif üropati, gastroşizis, meningomiyelosel vs.) sepsis riskini artıran diğer faktörlerdir. Antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılması yoğun bakım ünitelerinde yatan yenidoğanlarda dirençli mikroorganizmaların kolonize riskini artırmaktadır. Personel yetersizliği yenidoğan bakım eksikliği de diğer önemli risk faktörleri arasındadır (27).

Sepsisin klinik gidişatı bebekten bebeğe ciddi farklılıklar göstermektedir. Son yıllarda insanlarda yapılan çalışmalar genetik faktörlerin konağın enfeksiyon hastalıklarına karşı duyarlılığını belirlediğini göstermiştir. Sitokin genlerindeki polimorfizm, Fc reseptörleri, toll-benzeri reseptörler ve mannoz bağlayan proteindeki mutasyonların ağır enfeksiyonlara ve septik şoka yol açtığı bildirilmiştir (31).

1.1.3.3. Çevreye ait risk faktörleri

Yenidoğanın mikroorganizmalarla ilk karşılaşması doğum kanalındaki flora ile olur. Daha sonra ise yenidoğan hastanenin, bakıcıların ve ortamın florasıyla karşılaşır. İlk bir hafta içinde gastrointestinal sistem kolonize olur. Mamayla beslenen bebeklerin dışkılarında yalnızca E.coli bulunurken , anne sütü alan bebeklerin dışkılarında laktobasiller ile E.coli bulunur. Antibiyotiklerin yaygın olarak kullanıldığı yoğun bakım ünitesinde bulunan yenidoğanların, antibiyotiklere dirençli bakteriler ile kolonize olması kolaylaşır.

1.1.4. Epidemiyoloji

Gelişmiş ülkelerde kanıtlanmış yenidoğan sepsisi insidansı 1-8/1000 canlı doğumdur. Gelişmekte olan ülkelerde insidans 5.5-170/1000 canlı doğum olup sepsis sıklığı daha fazladır. Yenidoğan sepsisinde mortalite oranının %5-15 olduğu bildirilmiştir. Her yıl tüm dünyada yenidoğan ölümlerin üçte ikisinin (%8-80) sebebinin enfeksiyonlar olduğu bildirilmiştir. Dünyadaki yenidoğan ölümlerinin %99'u gelişmekte olan ülkelerde gerçekleşmektedir enfeksiyona bağlı bebek ölümler gelişmekte olan ülkeler için ciddi bir sorundur (2, 4-7, 17, 32).

Prematüre bebekler için sepsis riski daha fazladır. Özellikle de çok düşük doğum ağırlıklı (<1000 gr) bebeklerde sepsis sıklığı 26/1000 canlı doğum olup, doğum ağırlığı 1000-2000 gr arasında olan bebeklerde sepsis sıklığı ise 8-9/1000 canlı doğumdur. Geç prematüre bebeklerde erken ve geç sepsis sıklığı yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırılan her 1000 bebekte sırasıyla 4 ve 6'dır. Grup B streptokok sepsisi sıklığının doğum ağırlığı 1500 gr'dan daha düşük olan bebeklerde, doğum ağırlığı 2500 gr'ın üzerinde olan bebeklerden yedi kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (2, 4-7, 17, 32).

Türk Neonatoloji Derneği'nin yaptığı çalışmada ülkemizde 16 yenidoğan yoğun bakım merkezinin verilerine göre sepsis sıklığının %6,4, sepsis ile ilişkili mortalite oranının %24,4 olduğu bildirilmiştir. Doğum ağırlıklarına göre de sepsis sıklıkları ise 1500 gr'ın altında %22, 1500-2500 arasında %6, 2500 gr'ın üzerinde %3 bulunmuştur (22).

1.1.5. Etyoloji

Çok sayıda ajan intrauterin, doğum sırasında ya da doğum sonrasında yenidoğanı enfekte edebilir. Sepsise en çok neden olan bakterilerin görülme sıklığı ülkeden ülkeye, coğrafi bölgeden bölgeye, hastaneden hastaneye değişiklik gösterebilmekte hatta zaman içinde aynı hastane içinde bile değişebilmektedir (2,10, 33).

Erken yenidoğan sepsisine en sık neden olan patojenler grup B streptokoklar ve E. coli'dir. Daha az sıklıkta da grup A, C ve G streptokoklar, viridans streptokoklar, L. monocytogenes, enterokoklar, S. Pneumoniae, H. influenza görülen etkenlerdir. S. aureus, Klebsiella ve Enterobakter türleri, koagülaz negatif stafilokoklar, Pseudomonas türleri erken sepsise yol açan patojenlerdir. Gelişmekte olan ülkelerde erken sepsise gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilerden daha çok neden olmaktadır. Erken sepsisli vakalarda Klebsiella türleri, S. aureus ve E. coli en sık izole edilen patojenlerdir, bunları da grup B streptokoklar izlemektedir (2, 4, 13, 16, 17, 22).

Ülkemizde erken sepsiste en sık görülen patojenlerin Klebsiella türleri, koagülaz negatif stafilokoklar ve S. aureus olduğu bildirilmiştir (20, 21).

Geç sepsise de en sık yol açan patojenler koagülaz negatif stafilokoklardır. Geç sepsisin önemli etkenleri S. aureus, Enterokok türleri, Klebsiella, Pseudomonas ve Enterobakter türleri, E. coli, Candida türleri ve Enterobacteriaceae ailesinde yer alan diğer bazı bakteri türleri (citrobacter, proteus, serratia)'dır. Grup B streptokoklar, L. monocytogenes ve Aspergillus türleri de geç sepsise neden olan patojenlerdir (2, 4, 7, 16, 18, 32, 34).

Ülkemizde de yapılan çalışmalarda geç sepsis vakalarında en sık izole edilen patojenin koagülaz negatif stafilokoklar olduğu, bunu Klebsiella türleri, E. coli, S. aureus, Candida ve Enterobakter türlerinin izlediği bildirilmiştir (21, 35).

Kan kültürü ile kanıtlanmış nazokomiyal yenidoğan sepsisinde en sık Klebsiella türlerinin izole edildiği, diğer önemli etkenlerin Serratia türleri, koagülaz negatif Stafilokoklar, P. aeruginosa, E. coli, S. aureus ve Candida olduğu bildirilmiştir (22, 36).

Tablo 1. Yenidoğanda sepsise yol açan mikroorganizmalar (10)

Gram pozitif aerob bakteriler
✓ S.aureus
✓ Koagülaz negatif stafilokoklar
✓ B grubu streptokoklar
✓ C, A, G, D grubu streptokoklar
✓ Streptococcus viridans
✓ Streptococcus pneumoniae
✓ Neisseria meningitis
Gram negatif aerob bakteriler
✓ E. Coli
✓ Klebsiella türleri
✓ Pseudomonas aeruginosa
✓ Hemophilus influenza
✓ Salmonella türleri
✓ Sitrobakter türleri
✓ Gardnerella vaginalis
Anaerob bakteriler
✓ Bacterioides fragilis
✓ Clostridium perfringes
✓ Clostridium septicum
✓ Clostridium sordelli
Diğer
✓ Borrelia burgdorferi
✓ Mantarlar
✓ Virüsler

1.1.6. Patogenez

Yenidoğan sepsisinin patogeneğinde intrauterin çevre, konağa ait faktörler, çevresel faktörler ve patojene ait özellikler rol oynar. Çeşitli savunma mekanizmalarına rağmen yenidoğana patojen mikroorganizmalar başlıca üç yolla ulaşarak enfeksiyona neden olmaktadır (10, 37).

1.1.6.1. Transplental Yol

Maternal enfeksiyona yol açan enfeksiyon ajanları gebeliğin herhangi bir döneminde hematojen transplental geçişle fetüsü enfekte edebilir. *L. monocytogenes*, *T. pallidum*, *M. tuberculosis* fetüse anne kan dolaşımından geçerek enfeksiyona yol açabilir. İntrauterin enfeksiyonlar düşük, ölü doğum, doğumsal malformasyonlar, intrauterin gelişme geriliği (IUGG), preterm doğum, nörolojik sekeller ve yenidoğan döneminde akut hastalık kliniğiyle ortaya çıkan asemptomatik süregen enfeksiyonlarına neden olabilir (10, 38, 39).

1.1.6.2. Asendan Yol

Annenin genital traktusunda kolonize olan mikroorganizmalar, rüptüre membranlar yoluyla asendan olarak fetüs ve amniyona ulaşarak enfeksiyona yol açabilirler. Enfekte amniyotik sıvının yutulmasıyla ya da aspirasyonu fetüs enfekte olabilir (10, 40, 41).

1.1.6.3. Doğum Sırasında Enfeksiyon Kazanma

Yenidoğan bebek, aerobik ve anaerobik organizmalarla kolonize olmuş doğum kanalında doğum sırasında karşılaşarak kolonize olabilir. Ayrıca vajinal sekresyonların aspirasyonu veya yutulması ile birkaç günlük aradan sonra pnömoni veya bakteriyemi enfeksiyon bulguları ortaya çıkabilir. Doğumda canlandırma, göbek kateteri yerleştirilmesi özellikle de endotrekeal entübasyon, ya da her ikisini birden içermesi, bakteriyel enfeksiyon riskinde artışa neden olabilir. Bu durum, doğum sırasında enfeksiyonun varlığı veya resüsitasyonu ile ilişkili invaziv işlemler sırasında enfeksiyon kazanılması ile açıklanabilir (10, 41, 42).

1.1.6.4. Doğum Sonrası Enfeksiyon Kazanma

Geç sepsis ve nozokomiyal sepsiste önem arzeden bulaş yolunda kaynak anne, aile üyeleri, hastane personeli veya kontamine malzemeler olabilir. Hastanede yatan yenidoğanlardaki postnatal enfeksiyonun en önemli kaynağı sağlık personelinin elleriyle olan kontaminasyondur (10, 41).

Deri ve mukoza mikroorganizmalar için doğal bariyer oluşturmaktadır. Enfeksiyona karşı ilk savunma ajanı olan deri, yenidoğanda, özellikle prematürelde, elle temas, flaster, alkol ve betadin uygulamasıyla kolaylıkla zarar gören ince stratum corneum sebebiyle enfeksiyonlara yatkındır. Yenidoğan

ölümlerinin yaklaşık yarısı enfeksiyon nedeniyle yarısı epidermal bariyer fonksiyonunun bozuk olduğu ilk haftada görülür (43, 44).

Prematüre bebeklerde kordon IgG seviyesi gebelik yaşı ile orantılıdır. Yenidoğanlarda özellikle prematüre bebeklerde daha ağır olmak üzere hem nonspesifik hem de spesifik bağışıklıkta eksiklikler söz konusudur. Lökositlerin fagositoz fonksiyonu her safhada azalmıştır. Retiküloendotelyal sistemdeki makrofaj kitlesi ve fonksiyonu azalmıştır. T lenfositlerin sayısal yetersizliği, B lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşümünde ve Ig üretiminde yetersizlikler mevcuttur. Kompleman düzeyi annedeki düzeyin takribi yarısı kadardır. Yenidoğanlarda enflamasyon ve savunma mekanizmalarında rol oynayan fibronektin düşüktür. Nötrofil miktarı erişkinlerin kemik iliğinin %20-30'u kadardır. Neonatal enfeksiyonlarda nötrofiller hızla tükenirler bu sebeple ağır sepsiste nötrofil depoları kolayca tükenerek nötropeni gelişebilir (10, 45).

1.2. Fiziopatoloji

Vücudun doğal immünitesi tarafından algılanan ve tanınan bakteri ürünlerine, patojenle ilişkili moleküler yapılar [Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs)] denir. Bu yapılar içerisinde en mühim LPS'dir (46).

Gram negatif bakteri hücre duvarında var olan LPS (endotoksin olarak da bilinir) septik sürecin başlamasında ve ilerlemesinde aktif rol oynar.

Gram pozitif bakterilerde endotoksin yoktur, hücre duvarında peptidoglikan ve lipoteikoik asit mevcuttur. Bu moleküller yapılar hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanma yeteneğindedir ve inflamasyonu artırıcı (pro-inflamatuvar) özellik gösterir (47).

Gram pozitif bakteri ekzotoksinlerinin bazılarının septik şoka neden oldukları bilinmektedir. En iyi bilinen örnekleri toksik şok sendromuna neden olan Staphylococcus aureus'un ekzotoksini toksik şok sendromu toksin-1 (TSST-1) ve Streptococcus pyogenes'in pirojenik ekzotoksinidir. Herhangi bir ön uyarı olmadan ekzotoksinler ortaya çıkar ve yüksek mortaliteye neden olur. Toksik şok sendromu septik şokun en akut ve ağır klinik tablosudur (48).

Lipopolisakkarid'lerin konakçıyla etkileşimi sonucu monosit, makrofaj ve diğer hücreler tarafından sitokinlerin üretimi (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , PAF gibi), bunların da prostaglandin ve lökotrienlerin üretimini uyarması gerçekleşir. Gram

pozitif ve Gram negatif bakteriler, virüsler ve funguslar, patojen ile ilişkili moleküler paternler oldukça özgün, sabit hücre duvarı moleküllerine veya nükleik asit dizilerine sahiptirler. Bu moleküler paternler, Gram pozitif bakterilerde peptidoglikan ,Gram negatif bakterilerde lipopolisakkarid (endotoksin), lipoteikoik asit, maya hücrelerinde mannanlar olarak adlandırılır (49, 50, 51)

Etkisi iyi bilinen bakteriyel yapılar olup Gram-negatif bakterilerde hücre duvarında yer alan endotoksinler olup, lipopolisakkarit yapıdaki oluşumlardır. LPS dış membran içine yerleşmiştir. Tutunmayı sağlayan bakteri duvarında molekülün lipid A kısmıdır, tüm gram negatif bakterilerde ortaktır ve endotoksemiden sorumlu olan kısımdır (52, 53).

Lipopolisakkarid yapısındaki değişiklikler, konakçı hücre membranını aktive edebilme yeteneği ile ilişkili görünmektedir. Endotoksin Gram-pozitif bakterilerde yoktur. Gram-pozitif bakterilerde bulunan ekzotoksinler süperantijen özelliği gösterir, MHC (major histokompatibilite kompleksi) Class II ile ve T-lenfositreseptörü (TCR) Vb alanının kısıtlı bir bölümüyle bağlanabilmektedirler (54).

Gram-pozitif bakteriler hücre duvarı komponentlerinden peptidoglikanlar ile tanımlanırlar ve bakteri toksinleri (ekzotoksinler) açığa çıkartırlar. Gram pozitif ya da negatif sepsis klinik olarak birbirinden farklı değildir.

Enfeksiyona karşı konağı koruyan savunma mekanizmaları kısaca anatomik bariyerler, hücresel immunité, spesifik ve nonspesifik humoral immunité olup bunlardan birinin dahi bozulması, lokal ve sistemik enfeksiyona sebep olabilir. Konağın sepsise cevabı mikrobiyal sinyal molekülleri, lökositler, humoral mediyatörler ve vasküler endotel arasındaki kompleks olaylardan oluşmaktadır (55).

Septik soku tetikleyen ilk olay, bakterilerin lizisi sonucu LPS veya diğer toksik hücre duvarı komponentlerinin dolasına salıverilmesidir. Parçalanan gram negatif bakterilerden dolasına salıverilen LPS ilk olarak özel plazma proteinleri (LPS-Binding Proteinler) tarafından bağlanır. Daha sonra bu kompleksin, monosit ve makrofaj yüzeyindeki CD14 reseptörleri ve endotelial hücreler gibi diğer bazı konak hücrelerinin yüzey reseptörleri ile etkileşimi söz konusudur. LPS dışındaki diğer toksik hücre duvar komponentlerinin (peptidoglikan fragmanları ve lipoteikoik asit) başlangıçta hangi proteinlerle etkileşimde bulunduğu bilinmemekle birlikte,

muhtemelen LPS ile aynı konak hücreleri ile etkilesip onları aktive etmektedir; çünkü her iki olayda da aynı sok mediyatörleri ortaya çıkmaktadır (56).

Hücre membranında CD14 (mCD14) olduğu gibi dolasımda (sCD14) da görülebilir. Hücre yüzeyinde CD14 reseptörü olmayan dendritik hücreler, fibroblastlar, düz kas hücreleri gibi hücreler sCD14 ile etkilesime girerek LPS ile uyarılır (57). Başta antijen sunan hücreler olmak üzere CD14'le tutulan PAMPs doğal immün sistem içerisinde yer alan hücrelerin yüzeyinde bulunan, patern tanıyan reseptörler [pattern recognition receptors (PRRs)] olarak adlandırılan reseptörler tarafından tanınır. PRRs yapısal olarak farklı proteinler olup birkaç reseptör ailesini [Toll-like reseptör (TLR)] oluştururlar. TLR, sitokin ve diğer medyatörlerin sentez ve salınımına öncülük eden sinyal yollarını uyarır. NFκB'nin nükleer translokasyonuna TLR uyarılması yol açar. Böylece sitokin sentezi için kopyalama başlamış olur (58).

İmmün sistem hücreleriyle birlikte epitel, endotel, kalp kası ve yağ hücrelerin patojenleri TLR'ler aracılığıyla tanıdığı gözlenmiştir (51, 59).

Bunun yanında, farklı TLR'lere farklı mikrobiyal yapıların bağlandığı bilinmektedir (50, 51). Peptidoglikan ve lipoteikoik asit TLR-2'ye, CD14'den oluşan lipopolisakkarid reseptör kompleksine lipopolisakkarid TLR-4 bağlanır (49, 50, 51, 60). Sitozolik NFκB'nin aktivasyonuna TLR-2 veya TLR-4'ün mikroorganizmaların epitoplara bağlanması hücre içi sinyal iletim yollarını uyararak neden olur (49-51, 60).

Sitokinlerin transkripsiyonu baslatan bölgelere aktive NFκB sitoplazmadan nükleusa giderek bağlanır. TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve IL-10 gibi anti inflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu artırır (49, 50, 60).

Tümör nekrozis faktör-alfa ve IL-1β adaptif immün cevabı uyarır. Konakta direkt ve indirekt hasara da neden olurlar (49-51, 60).

Bu medyatörler inflamasyon ve hemostazda görevli otokoidler veya kısa süreli lokal hormonlar olarak da bilinen metabolitlerdir. Arasidonik asit bir poliansatüre yağ asididir, hücre membran fosfolipidlerinin fosfolipazlarla yıkılması sonucunda oluşur. Oluşan arasidonik asitin metabolizması lipoksijenaz ve siklooksijenaz olmak iki yol izleyebilir. Lipoksijenaz ile metabolizmasının ürünleri lökotrienlerken, siklooksijenaz ile metabolize olduğundaki ürünler

prostaglandinlerdir. Lökotrienlerden LTC₄, LTD₄, LTE₄ vazokonstriksiyon, bronkospazm, permeabilite artışı yaparken LTB₄ kemotaksiste görev almaktadır. Siklooksijenaz yolunun metabolitlerin olan prostaglandinlerden olan prostasiklin (PGI₂) trombosit kümelenmesini inhibe ettiği gibi vazodilatör etki de gösterir. Tromboksan (TXA) ise tam tersi vazokonstrüktif etkili olup trombosit kümelenmesini indükleyici etki gösterir. PGD₂, PGE₂, PGF₂'nin etkileri ortak olup vazodilatasyonla ödeme neden olurlar. Trombositleri aktive eden faktör (PAF), fosfolipid kökenli diğer bir medyatördür. Mast ve bazofil başta olmak üzere PAF pek çok hücreden salınmaktadır. Trombositlerin aktive olmasını sağlarke vasküler permeabiliteyi artırır. Lökosit agregasyonunu, adezyonunu, kemotaksisi uyarır diğer medyatörlerin salınımına neden olur. Normal koşullarda endotel antikoagülan ve antitrombotik özelliklere sahiptir. Bu özellikleri doku faktörü inhibitörleri, nitrik oksit, prostosiklin ve trombomodülin salınımı ile gerçekleşir. Sepsis geliştiğinde ise inflamasyonun kaynağı ve hedefi haline gelir. Endotelin sepsiste anahtar rol almasının nedeni bakteri ile karşılaşan hücrenin vasküler endotel hücre olmasıdır. Bu karşılaşma ile inflamatuvar hücreler hızla dolasıma salınmaya başlar. Medyatörlerin aşırı salınımı neticesinde endotel hasarlanma meydana gelir. Böylelikle sepsisin klinik bulguları ve komplikasyonları oluşmaya başlar (50).

Proinflamatuvar sitokinlerden sepsiste ilk salınanı TNF- α 'dır. Sepsiste olaya katılan pek çok sitokinden sadece birisi TNF- α dır. Deney hayvanlarına intravenöz TNF- α verildiğinde sepsis bulgularının geliştiği gözlemlenmiştir. İL-1 β sepsisin artmasında rol almakta olup TNF- α ile biyolojik olarak bağlantılıdır. Klinik bulguların büyük kısmının ortaya çıkmasına iki sitokin sinerjistik etkiyle inflamasyonu artırarak neden olurlar (50).

Proinflamatuvar sitokinler nötrofiller ve endotel hücreleri üzerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyarır (51, 60).

Sitokinler nötrofil, monosit, makrofaj ve trombositlerin endotel hücrelerine bağlanmak amacıyla aktivasyonunu sağlar (51, 60).

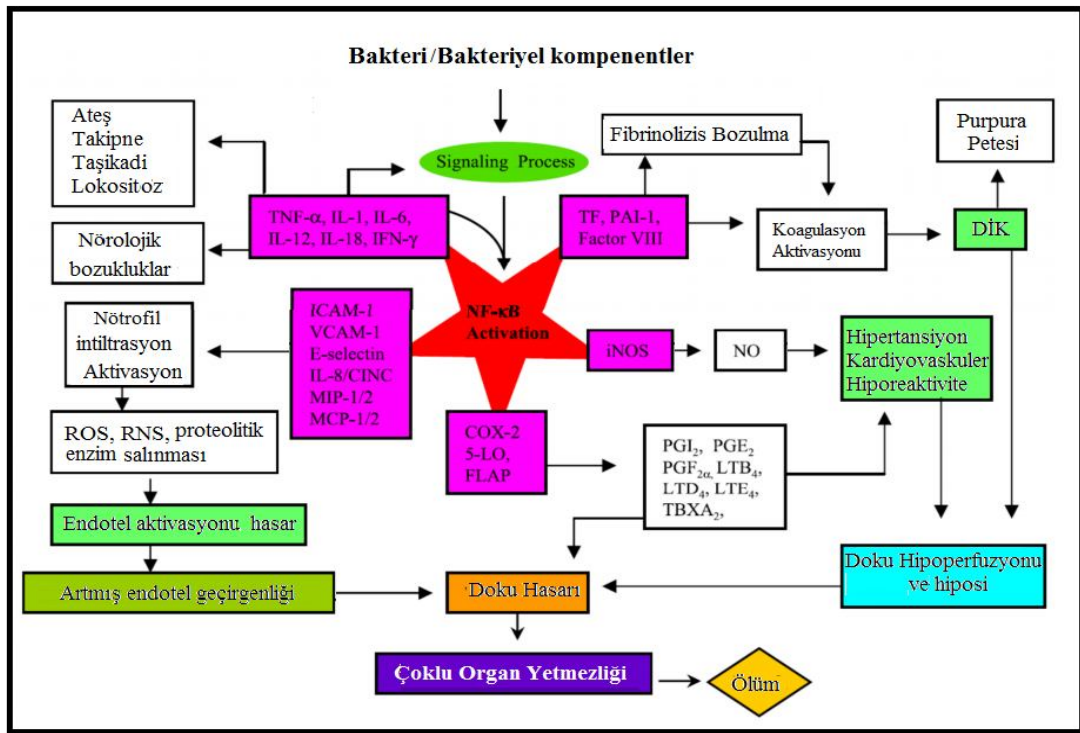
Hücrelerden salınan proteazlar, oksidanlar, prostaglandinler ve lökotrienler gibi medyatörler endotel hücrelerinde hasara yol açarak vasküler permeabilitenin artmasına neden olurlar. Permeabilite artışı ile protein içeriği bol mayı akciğer ve diğer dokularda toplanır (51, 60, 61).

Sepsiste akut respiratuar distres sendromu gelişmesi nötrofillerin intrapulmoner sekestrasyonunun ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (51, 61).

Sepsis oluşması ile sağlam endotel yüzeyinin sağladığı prokoagülan ve antikoagülan dengesi bozulur ve böylelikle sitokinler koagülasyonu da uyarır (51, 60).

Sepsiste aktive endotel hücrelerinin sentezlediği potent bir vazodilatör olan nitrik oksit septik şokta anahtar medyatör olarak rol oynar (51, 60). IL-10'nun antiinflamatuvar etkisi mevcuttur, makrofajları inaktive eder (51, 60).

Sinyalizasyon kaskadı bakteriyel ligandlarla TLR'lerin bakteriyel ligandlarla aktivasyonu ile başlar Sinyalizasyon kaskadının başlamasıyla NF-κB aktive olur. Bu aktivasyonla beraber TNF-α, IL-1, IL-6 ve IL-12 ile IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler salınır (62, 63).



Şekil 2.7. NF-κB'nin septik şok patofizyolojindeki rolünün şematik gösterimi (64).

5-LO, 5-lipoxygenase; CINC, cytokine-induced neutrophil chemoattractant; COX, cyclooxygenase; DIC, disseminated intravascular coagulation; FLAP, 5-lipoxygenase-activating protein; ICAM, intercellular adhesion molecule; IFN, interferon; IL, interleukin; iNOS, inducible nitric oxide synthase; LTB, leukotriene B; LTD, leukotriene D; LTE, leukotriene E; MCP, monocyte chemoattractant protein; MIP, macrophage inflammatory protein; NF-κB, nuclear factor κB; NO, nitric oxide; PAI, plasminogen-activator inhibitor type; PGE, prostaglandin E; PGF, prostaglandin F; PGI₂, prostaglandin I₂; RNS, reactive nitrogen species; ROS, reactive oxygen species; TBXA, thromboxane A₂; TF, tissue factor; TNF, tumor necrosis factor; VCAM, vascular cell adhesion molecule

Yapılan alışmalar da TNF- α , IL- 1, IL-12, IL-6, IL-8 ve IFNg'yı genellikle proinflatuvar sitokinler olarak açıklarken, IL-4, IL-13 ve IL-10'unu da antiinflatuvar etkili sitokinler olarak açıklamaktadır.

Endotoksin endotel hücrelerini, mononükleer fagositleri ve diğ er hücreleri aktive eder. Böylece kompleman sistemi ve koagülasyon kaskadı (zellikle C3a ve C5a) de aktive olur. Hedef organ sepsiste damar endotelidir ve neredeyse bütün mediyatörler damarlar üzerine etkilidir. Kompleman sisteminin aktivasyonu da endotel hasarına yol açar. Ntrofilleri aktive etmek suretiyle komplemanın aktivasyonu, damar permeabilitesini bozar. Degranülasyon sırasında nötrofillerden aıġa çıkan toksik oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler de endotel permeabilitesini artırır. Damar permeabilitesinin artması ve endotel hasarı, mikrotrombüslerin oluşumunu ve ekstravazasyonu kolaylaştırır. Endotel hasarı oluşunca, orada organ perfüzyonu bozulur ve organ yetmezliġi gelişir. Eġ er birçok yerde endotel hasarı oluşur ise sonuçta multiorgan yetmezligi gelişir. Hasar kontrol edilemez ise metabolik düzensizlik gelişir. Sepsiste en sık karřılařtıġımız organ yetmezliġi, böbrek, akciġ er, karaciġ er ve kalp yetmezliġ idir (65).

Sepsis, mikroorganizma veya toksinlerinin normalde steril olan dokulara ve kana geçmesi ve vücudun bu invazyona verdiġ i cevaptır (66).

Sepsiste olayı başlatan neden mikroorganizmalar veya toksinlerdir, organizmanın aşırı yanıtı, yaygın inflamasyon, oġul organ disfonksiyonu ve organ yetersizlikleri ile klinik tablo oluşur. Sepsis kendini hemostatik denge bozukluġu, endotel disfonksiyonu, kardiyovasküler bozukluklar, intrasellüler homeostazda bozulma ile kendini gösterir. Sepsiste organ disfonksiyonları ve ölümden, hücre hipoksisi ve apoptoz (programlı hücre ölümü) sorumlu tutulmaktadır (67).

Normal koşullarda endotel tromborezistandır. Antikoaglan zelliġ i ise endotel hücre yüzey proteinleri ve salınan antikoagülan moleküllere baġlı olarak gerçekleşir. Günümüzde kabul edilen endotel hücrelerinin doku ile kanı birbirinden ayırması yanında, damar tonusu, koagülasyon ve inflamasyon cevabının regülasyonunda da önemli bir görev almasıdır (68).

Sepsiste inflamasyon, fibrinoliz ve koagülasyon arasındaki ilişinin anlaşılmayla beraber hemostatik mekanizmadaki dengenin bozulması ve yaygın damar içi koagülopatinin organ disfonksiyonu ve yetersizliklerinde rol almasının

bulunmasıyla, hem sepsis patofizyolojisi hem de tedavisinde yeni bakış açıları öne sürülmüştür (67, 69).

Sepsiste koagülopatinin oluşması toksinlerinin ve mikroorganizmanın etkisiyle ve ya TNF- α , IL-1 gibi sitokinlerin indirekt olarak endoteli hasarlamasıyla başlamaktadır. TNF- α , IL-1 ve diğer endojen mediyatörler, kontakt sistem ve doku faktörünü aktive eder. Hegeman faktörün aktivasyonu (faktör XII), plazminojeni plazmine çevirir, intrinsek koagülasyonu başlatır. Fibrinojen de fibrine dönüşür. Bunu da pıhtılaşma izler ve fibrinolitik aktivite artar. Genellikle şok ile birlikte kontrol edilemeyen koagülasyonun aktivasyonu, tromboz, trombositlerin ve pıhtılaşma faktörlerinin (faktör II, V ve VIII) tüketimi ile sonuçlanan DIC tablosu ortaya çıkmasına yol açar. Klinikte de deri ve mukoza kanamaları ile kendini gösterir (70).

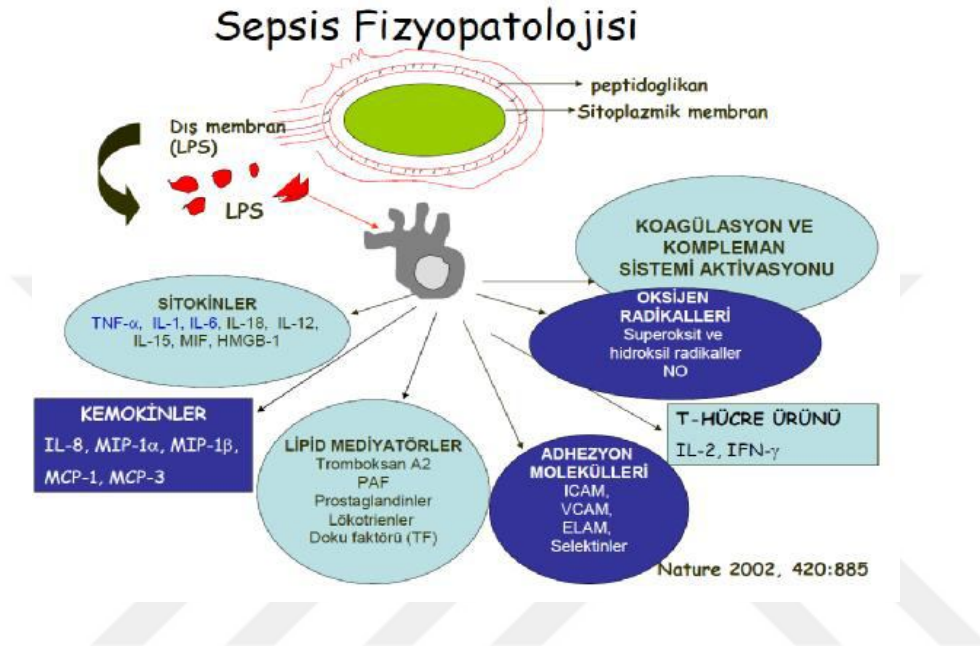
Normal şartlarda altında asırı koagülasyon, antitrombin (AT III), trombomodülin, Protein C, Protein S ve doku faktör yolu inhibitörü (TFPI) gibi bazı antikoagülanlarla önlenmektedir (66).

Sağlıklı fertlerde endotel yüzey proteinleri, trombomodülin ve endotel protein C reseptörü (EPCR); protein C'nin aktivasyonunu sağlar. Sepsiste endotel hasarından neticesinde trombin oluşması yanı sıra trombomodülin ve EPCR fonksiyonu bozulur ve bundan antikoagülan sistem de etkilenir (66).

Böylelikle koagülasyonun aktive olurken fibrinoliz ise inhibe olur. Bunun sebebi sepsiste TAFI (trombince aktive edilen fibrinoliz inhibitörü) ve PAI-1(plazminojen aktivatör inhibitör) gibi iki fibrinoliz inhibitörünün artmasıdır. Sepsiste yapımdaki azalma ve tüketim artışı nedeniyle Protein C ve AT III seviyesi düşüş gösterir. Böylelikle prokoagülan, antikoagülan denge bozulur ve prokoagülan aktivite ön plana çıkar (68, 69).

Fibrinolitik aktivite de artış olur, koagülasyon sisteminin aktivasyonuyla çok sayıda mikrotrombüs oluşur. Mikrotrombüsler de periferik kan damarlarında tıkanmaya sebep olarak normal kan akısının azalmasına sebep olur. Kan basıncındaki bu düşme; akciğerler, böbrekler ve beyin gibi organlar da kan akımının azalmasına ve bu organlara ulaştırılan oksijen ve esansiyel besinlerin yetersizliğine sebep olurken deliryum, konfüzyon gibi mental semptomlara neden olabilir (56).

Şok ile beraber kontrol edilemeyen koagülasyon aktivasyonu, tromboz, trombosit ve koagülasyon faktörlerinin (Faktör II, V, VII) tüketimi ile sonuçlanan DIC (Disseminated Intravascular Coagulation = Yaygın Damar içi Pıhtılaşma) tablosu oluşur. Bu tablo da kendini cilt ve mukoza kanamaları ile göstermektedir (71).



Şekil 1. Sepsis Fizyopatolojisi (72)

(IL-1; interlökin-1, MIF; makrofaj migrasyon inhibitör faktör HMGB-1; High mobility group B-1, LPS; Lipopolisakkarit MIP: Macrophage inflammatory protein, MCP; Monosit kemotaktik protein-1, NO; nitrik oksit, TNF-α; Tümör nekrozis faktör-alfa)

1.2.1. Apoptozis

Hücrenin intiharı olarak bilinen apoptozis, organizmada biyolojik işlevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin, çevre hücrelere zarar vermeden ortadan kaldırılmasına sebep olan ve genetik olarak kontrol edilen, programlı, biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerin meydana geldiği hücre ölümüdür. Kerr tarafından “büzüşme nekrozu” olarak tanımlanmış ancak 1972’de Andrew Wyllie ve Alistair R. Currie, bu süreci nekrozdan ayırt etmek için “apoptozis” terimini kullanmışlardır (73).

Apoptozisla nekroz farklıdır. Nekrozda hücre membran bütünlüğü bozulur, hücre şişer ve lizise uğrar. Apoptozis tek hücreyi tutar. Apoptozis ile hücre, genetik

bir program dahilinde ölüm sürecine girer ve DNA'nın parçalanmasına neden olur (74).

Hücre içi elektron dengesi bozulduğunda oksidatif stres, ortaya çıkar. Mitokondriyal işlevin bozulmasıyla enerji kaynağının yok olması sonucu apoptozis ortaya çıkar. Antioksidan savunma düzeneklerinin yetersiz kaldığı durumlarda hasarlanma gerçekleşir (75).

Apoptozdan sorumlu diğer bir serbest radikal olan peroksinitrit, nitrik oksit ve süperoksitin etkileşimi ile oluşur ve birkaç hücre serilerinde apoptozu indüklediği görülmüştür (76).

Apoptozis birkaç aşamada gerçekleşir

1. İçeriden veya dışarıdan gelen faktörle apoptozis başlatılır DNA hasarı, hücre içi pH'da düşme, hücre içi kalsiyum seviyesinde artış, metabolik ve/veya hücre siklus bozukluklarıdır (74).

2. Hücre içerisinde proteazlar aktive olur. Hücre içinden ve dışından gelen sinyaller hücre içindeki kaspaz (cysteine aspartate spesifik proteases) denilen proteazları aktive eder. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığıyla, iç sinyaller ise mitokondri aracılığıyla kaspazları aktive etmektedir. Sinyaller mitokondri dış zarında geçirgenliği artırır. Bazı proteinler ile mitokondri dış zarının geçirgenliği sağlanmaktadır. bcl-2 grubu proteinler bunların en önemlisidir bu proteinlerin bir kısmı pro-apoptotik etkili iken diğer kısmı ise anti-apoptotik etkilidir. Pro-apoptotik olanlar, sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınmasını indüklerler. Anti-apoptotikler sitokrom c salınmasını baskırlar (77).

3. Hücre büzülür, mikrovillus ve bağlantı bölgelerini kaybederek komşu hücrelerden ayrılır. Bu görünüm plazma membranında bulunan iyon kanalları ve pompalarında aktivasyonun bozulmasına bağlıdır. Hücre yaklaşık 1/3 lük bir hacmini birkaç dakika içerisinde kaybeder (78).

4. Nükleer kromatin yoğunlaşarak nükleer membranın altında toplanır. Endonükleaz enzimi DNA'yı parçalar. Bu esnada organeller sağlamdır, Endoplazmik retikulumda dilatasyon, mitokondride şişme meydana gelir.

5. Plazma membranında tomurcuklanmalar olur, hücre sitoplazma ile çevrilmiş DNA parçaları ve organellerden oluşan apoptotik cisimciklere parçalanır (79).

6. Birçok hücre yüzeyi moleküllerinin değişmesinden dolayı apoptotik yapılar komşu hücreler yada fagositler tarafından rahatlıkla tanınarak inflamasyona yol açmadan ortadan kaldırılır. Apoptotik cisimler ve fagosit olduklarında makrofajlar, inflamatuvar mediatör salgılamaz, dokuda dağınık kümeler halindedirler (80).

Apoptotik cisimler, histolojik olarak bazofilik nükleer materyali olan veya olmayan yuvarlak, oval sitoplazmik kitleler şeklinde görünürler. Kromatin kümeleri de İntrastrüktürel olarak hilal şeklinde görülür (81).

Apoptotik cisimler, dokuda dağınık kümeler halindedirler ve fagosit edildiklerinde makrofajlar, inflamatuvar mediatör salgılamazlar (82).

1.2.2. Apoptozisin Regülasyonu

1.2.2.1. p53 gen aracılı apoptozis

Organizmada apoptozisi uyaran ve engelleyen çok sayıda gen bulunur. Genotoksik hasar (kemoterapi, radyasyon, kimyasallar vb.) veya eritropoietin gibi sitokinlerin olmaması durumunda süreç çeşitli uyarılarla hareketlenebilir ve DNA'nın tek yada çift iplik parçacıkları, DNA'ya bağlı transkripsiyon faktör p53 gibi faktörlerde yada nükleozitlerin azalması olayı başlatabilir (83).

Gen ekspresyonu ile ölüm sinyali kontrol edilir, p53 apoptozu uyarıcı proteindir. Birçok anti-tümör ilaç, hedef olarak hücre DNA'sını seçer ve p53 seviyesini artırır. Bu aktivasyon ya hasarın tamirine ya da apoptoza yol açar (84). P53 normalde inaktif olup ancak DNA hasarı olduğunda aktifleşerek siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p21'i harekete gecirmekte ve bu da hücrenin geç G1 fazında kalıp S fazına geçişini engelleyerek hücre döngüsünün durmasına neden olmaktadır. Hücre DNA'sını tamir edebilirse blokaj kalkmaktadır. DNA hasarı tamir edilemezse p53 geni tekrar harekete geçip Bcl-2 gen ailesi üyelerinden proapoptotik olarak bilinen bax proteinini aktive etmekte ve hücreyi apoptozise götürerek DNA' sı hasarlı hücreyi ortadan kaldırmaktadır (85).

1.2.2.2. Bcl-2/Bax

Bcl-2/Bax gen ailesi apoptozisin düzenlenmesinden sorumludur. Hücrenin yaşamında bunlar arasındaki denge (Bcl-2/Bax) önemlidir. Bcl-2 anti-apoptotik bir protein olup, aşırı salınımı, sitokrom c salınmasını ve kaspaz 3'ün aktive olmasını inhibe etmektedir (86). Eğer Bax/Bcl-2 oranı artarsa, sitokrom c mitokondriden

salınıp bir seri olaylarla kaspaz 3'ü aktive eder (87). Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondri ve çekirdek zarlarının yanı sıra endoplazmik retikulum zarında da bulunur (88).

Bcl-2, 24-26 kDa'luk protein kodlayan bir proto-onkogendir ve ürettiği protein, mitokondrinin dış zarı üzerinde yerleşmiştir (89). Bu protein, iyon alışverişini düzenler ve zarın parçalanmasını engeller. Özellikle antiapoptotik olan Bcl-xL'nin, mitokondriyal hasarı engellemekte ve bu sayede apoptozis inhibe olmaktadır. Oysa bax sitozolde bulunur ve apoptotik uyarılar sonucu mitokondri membranına bağlanıp "pore" oluşmasını sağlar (86).

Zardaki bu değişiklikler nedeniyle sitokrom c ve AIF (Apoptosis Inducing Factor) gibi mitokondri zarı içinde yer alan faktörler sitoplazmaya aktarılırlar. AIF, çekirdeğe doğru yönelirken, sitoplazmadaki sitokrom c apoptozisin en son basamağında görev alır. Sitokrom c, bir sitoplazma proteini olan Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor 1)'in aktivatörüdür (83).

Sitokrom c'nin Apaf-1'e bağlanması prokaspaz-9'u aktive eder ve oluşan bu kompleks "apoptosom" olarak adlandırılır (90). Prokaspaz-9'un aktivasyonu, bir seri kaspaz aktivasyonuna neden olur. Apaf-1 aynı zamanda ATP'ye de bağlanır (83). Bu durumda apoptozis enerji gerektiren bir mekanizma ile başlatılmış olur (86).

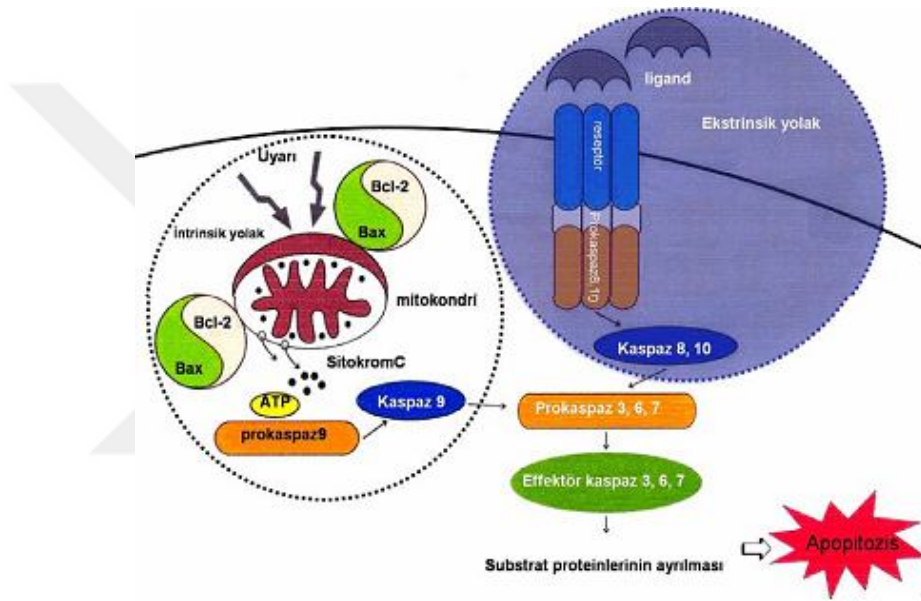
1.2.2.3. Kaspazlar

Kaspazlar, zimojen (inaktif prekürsör) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından sistein proteazlar olarak adlandırılan bir enzim grubudur ve bunlar aspartik asitten sonraki peptid bağına kırarlar (91). Kaspazlar, DNA endonükleazı bağlayan proteini yıkarak DNA kırıklarına neden olurlar. Membran iç yüzünde bulunan fosfotidilserini dış yüzeyine yer değiştirir, intrasellüler adhezyon molekülleri (ICAM) ve trombospondin gibi adhezyon moleküllerini açığa çıkarırlar (76). Kaspazların çoğu sitoplazmada bulunurlar. Bazı üyeleri, örneğin kaspaz 12, golgi aparatında, kaspaz 2, kaspaz 3 ve kaspaz 9 mitokondride bulunabilir (92).

En önemli başlatıcı kaspazlar, tip I apoptozis (mitokondri aracılı, intrinsik) için kaspaz 8, tip II apoptozis (ekstrinsik) için kaspaz 9, tip III apoptozis (endoplazmik retikulum aracılı) için kaspaz 12'dir. Kaspaz 3 aktivasyonu programlanmış hücre ölümünde geri dönüşümsüz olayların en önemli göstergesidir

(93). Hücrede inaktif olarak bulunan kaspazlar, birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir kaskada neden olurlar. Kaspaz 2, 8, 9, 10 başlatıcı kaspazlar olarak bilinirken, Kaspaz 3, 6, 7 efektör kaspazlar olarak bilinir (94).

Proteolitik enzimler olan kaspaz 3, 6 ve 7 aktive olduklarında çeşitli proteinleri parçalarlar. Bu proteinler kinazlardan sitoskeletal proteinlere, transkripsiyonel regülörlere kadar değişebilir. CAD (Caspase activated deoxyribonuclease) ve PARP (poly ADP-ribose polymerase) apoptozu gösteren DNA parçalanmasına katkıda bulunan iki aktive kaspaz parçasıdır. CAD sitozolden çekirdeğe geçerek orada DNA'yı parçalar (95).



Şekil 2. Apoptotik süreç ve bu süreçte yer alan proteinler (96).

Ölüm sinyallerini alan efektör kaspazlar hücre iskelet proteinini olan aktin, nukleer membran proteinini lamin A, DNA tamirinde rolü olan poli adenosin difosfat riboz polimeraz gibi proteinleri parçalayarak apoptotik hücre morfolojisini meydana getirirler. Kaspazlar indirekt olarak Ca^{+2} bağımlı endonukleazları aktive ederek DNA'da 180–200 ve katları olacak şekilde baz çiftine ayrılmasına yani fragmentasyonların oluşmasına neden olurlar. Enflamatuvar kaspazlar ise (kaspaz 1, 4, 5, 11-14) lenfokin üretiminden sorumludur (97).

1.2.3. Apoptozisin Sitotoksik Regölasyonu

1.2.3.1. Granzim veya Perforin Sistemi

Patojenle infekte olmuş hücreler ile tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında rol almaktadır. Granzim ve Perforinler, sitotoksik T lenfositler (CTL) ve Naturel Killer (NK) hücrelerinin stoplazmik salgı granüllerinde yer almaktadır (83).

Sitotoksik T lenfosit reseptörü hedef hücreye bağlandığında, perforinler salgılanır ve bunlar hedef hücre üzerinde dairesel bir por meydana getirirler. Bu perforin poru, hücre içi kalsiyumda hızlı bir artışa sebep olur. Granzim B, reseptör aracılığı ile bir vezikül içinde açılan delikten hedef hücreye girer. Perforin proteini hücre içine girdikten sonra vezikülden granzim B'nin serbest kalmasına sebep olur. Bu andan itibaren granzim B, DNA parçalanmasını ve apoptozis ile birlikte prokaspaz aktivasyonunu başlatır. Granzim A da, perforinle sinerjik olarak kaspaz bağımsız yolda apoptozisde görev alır (83).

1.2.3.2. Fas-Fas Ligandı veya CD95 Yolu

Apoptozisin salgıdan bağımsız mekanizması hipoksi, hipertermi, radyasyon ve kemoterapi gibi DNA hasarına neden olan hücre dışı sinyallerin hücre zarındaki ölüm reseptörlerini aktive edip apoptotik süreci başlatmasıdır. Bu membran proteinleri içinde en önemlisi tümör nekrosis faktör reseptör ailesi olup, bu reseptörlerin en önemlileri FAS (CD-95) ve TNFR-1'reseptörleridir (98). TNF'nin TNFR-1'e bağlanmasıyla da benzer olaylar şekillenir. Fas ve TNFR-1'in sitoplazmik uzantısı, bir ölüm bölgesini kapsamaktadır. Fas'ın sitoplazmik bölümü FADD (Fas Associating protein with a Death Domain protein) ve RIP (Receptör Interacting Protein) ile etkileşim halindedir. Ölüm bölgeleri içeren TRADD ve RIP proteinleri, prokaspaz-8'in aktivasyonu ile apoptozisi doğrudan aktive eder. Aktive olan kaspaz-8 de diğer uygulayıcı kaspazları uyarır. Bu mekanizma ile oluşan olaylar; bir immün uyarı sonucu aktive olmuş T hücrelerinin uzaklaştırılması, virüs ile infekte hedef hücrelerin ortadan kaldırılması, tümör hücrelerinin öldürülmesi ve birçok patolojik durumdaki hücrelerin uzaklaştırılması sayılabilir (83).

1.3. Klinik Bulgular

Yenidoğan sepsisinin belirti ve bulguları genellikle nonspesifiktir; erken sepsiste genellikle, geç sepsiste ise sıklıkla multisistemiktir. Klinik bulgular başlangıçta hafif olabilir, kolay fark edilmeyebilir ve yavaşça ortaya çıkabilir. Bunun aksine sepsis bulguları akut olarak da gelişebilir ve bebeğin genel durumu hızla kötüleşebilir. Geç sepsiste fokal enfeksiyon bulguları görülebilir (2, 4, 16-18).

Sepsis belirti ve bulguları vücut sıcaklığı değişiklikleri (ateş, hipotermi), bebeğin kötü görünmesi, solunum sıkıntısı bulguları (takipne, apne, siyanoz, inleme, huzursuzluk, burun kanatlarının solunuma katılması, göğüs duvarında çekilmeler, nörolojik bulgular (letarji, huzursuzluk, hipotoni/hipertoni, yenidoğan reflekslerinin azalması veya kaybolması, fontanel bombeliği, nöbetler), kalp-dolaşım bulguları (taşikardi/bradikardi, hipotansiyon, solukluk, periferik dolaşım bozukluğu, kapiller geri dolum zamanında uzama, nabızlarda zayıflık, idrar çıkarmında azalma), gastrointestinal sistem ve beslenme ile ilgili bulgular (emme azalma, kusma, abdominal distansiyon, ishal, hepatomegali, splenomegali), sarılık (indirek ve/veya direk bilirübinde artış), deri bulguları (cutis marmoratus, purpura, döküntü, eritem, ödem, peteşiler), metabolik bulgular (metabolik ve/veya solunumsal asidoz, hipoglisemi, hipoksi), hematolojik bulgular (peteşi, purpura ve kanamalar)'dır. Yenidoğan sepsisine eşlik edebilen fokal enfeksiyonlar konjunktivit, otitis media, menenjit, sellülit, impetigo, yumuşak doku abseleri, omfalit, septik artrit ve osteomyelittir (2, 4, 7, 16, 17).

Yenidoğan sepsisi, doğum sırasında ve sonrasında ortaya çıkan erken distres bulguları ile kendini gösterebilir. Erken yenidoğan sepsisine yol açan intraamniyotik enfeksiyonun neden olduğu fetal distresin bulgusu doğum sırasında ortaya çıkan fetal taşikardi olabilir. Bebeğin mekonyumlu doğması bir diğer bir fetal distres bulgusudur, bebekte sepsis riskini iki kat artırır. Doğumdan sonraki ilk dakikalarda neonatal distres ile ilişkili olan düşük apgar skoru yenidoğan sepsisinin bir bulgusu olabilir. Apgar skoru altı ve daha altında olan bebeklerde, apgar skoru yedi ve daha üzerinde olan bebeklere göre sepsis gelişme riski 36 kat daha fazladır (2, 4, 17, 18).

Erken sepsisli yenidoğanların %90'dan fazlasında belirtiler yaşamın ilk 24 saatinde, diğerlerinde ise 48. saatten önce ortaya çıkar. Erken sepsiste vakaların çoğunda pnömoni ve buna bağlı solunum sıkıntısı bulunur. Pnömoni erken

sepsislerde daha sık görülürken, menenjit ve bakteremi geç sepsislerde daha sıktır (4, 7, 18).

1.4. Tanı

Yenidoğan bebekte sepsis tanısını koymak zordur (11). Mortalitesi ve morbiditesi yüksek olan yenidoğan sepsisinin erken tanı ve tedavisi büyük önem taşımaktadır. Günümüzde sepsis tanısı için bir çok yöntem geliştirilmesine rağmen mikroorganizmanın vücut sıvılarından izolasyonu hala standart ve en spesifik yöntemdir.

Klinik bulguları açısından sepsis düşündüren, kültür pozitifliği olmayan ancak yardımcı laboratuvar teknikleri bakımından pozitif olan bebekler ‘Klinik Sepsis’ olarak kabul edilir. Klinik ve laboratuvar bulgularının varlığına ek olarak kan, beyin omirilik sıvısı (BOS), plevra, periton gibi bölgelerde pozitif kültür saptanmış bebekler ise ‘kültür pozitif kanıtlanmış sepsis’ olarak kabul edilir (11).

Teşhis için kullanılan testlerin hiçbiri tek başına yeterli derecede güvenilir, duyarlı ve özgün değildir. Bu amaçla çeşitli klinik ve laboratuvar bulguları kullanılarak sepsis skorlama sistemleri ve tarama testleri geliştirilmiştir (11).

Şüpheli sepsis olgularına klinik yaklaşım sağlayan yöntem olan ‘Töllner sepsis skorlama sistemi’ ne göre, toplam değer 5 puan altı (0-4) olması sepsis olmadığını, 5-10 puan arası olması şüpheli sepsisi, 10 puan üzeri olması ise olası sepsisi işaret eder (99).

Bu sistemlerden biri de, özellikle riskli bebekler için kullanılan EMR’li yenidoğanlarda sepsis skorlamasıdır. Bu skorlama sistemine göre 3 ve üzerinde puan alan bebekler sepsis kabul edilerek tedavi başlanır (100, 101).

Tablo 2. Töllner skorlama sistemi (99)

Puan	0	1	2	3
Deri renginde değişiklik	Yok		Orta	Belirgin
Periferik dolaşım bozukluğu	Yok		Bozuk	Belirgin
Hipotoni	Yok	Orta	Belirgin	
Bradikardi	Yok	Var		
Apne	Yok	Var		
Respiratuar distres	Yok	Var		
Hepatomegali	Yok	> 4 cm		
GİS bulgusu	Yok	Var		
Lökosit sayısı	Normal	Lökositoz		Lökopeni
Sola kayma	Yok		Orta	Belirgin
Trombositopeni	Yok		Var	
Metabolik asidoz (pH)	Normal	>7.2	< 7.2	

Tablo 3. EMR’li bebeklerde skorlama

Puan	0	1	2
Gebelik haftası	>37 hafta	34–37 hafta	<34 hafta
APGAR skoru	>7	5–7	<5
Annede korioamnionit veya bebekte midede lökosit	yok	var	
EMR süresi *		1 gün	2 gün

*Rüptür sonrası geçen her gün için 1 puan verilir

1.4.1. Spesifik Tanısal Testler

Kan Kültürü: Neonatal sepsis tanısında altın standart yöntem bir veya daha fazla kan kültüründe etken mikroorganizmanın izole edilmesidir (102).

Kan kültürleri steril koşullarda periferik venlerden alınır. Yenidoğanda kültür için alınması gereken kan miktarı en az 0,5-1 ml’dir (2, 8, 18, 25)

Ancak en iyi şartlarda bile üreme şansı en fazla %60-80’dir. Annenin doğumdan önce antibiyotik alması, yetersiz kan alınması, kanın kültürde dilüye olması ve alınan kanın uygun şartlarda çalışılmaması kan kültüründe mikroorganizmanın geç üremesine veya hiç ürememesine neden olabilir (2, 18, 25).

Bu durumda farklı yerlerden birden fazla kan kültürü alınması önerilmektedir (103, 104).

Yenidoğan sepsisinde pozitif kan kültürü tanı koydurucu olsa da negatif kan kültürü sepsisi ekarte ettirmez (2, 18, 25).

Beyin Omurilik Sıvısı Kültürü: Yenidoğan menenjitleri genellikle hematojen yolla gelişir ve sepsis ile birlikte olabilir. Menenjitin geç sepsise eşlik etme olasılığı erken sepsise eşlik etme olasılığına göre daha yüksektir, bakteriyel nedenle gelişen erken ve geç yenidoğan sepsislerinin %10-20'sinde aynı etkenle menenjit gelişir. Yenidoğan sepsisinde olduğu gibi yenidoğan menenjiti de spesifik olmayan belirti ve bulgularla kendini gösterir. Bakteriyel menenjiti olan yenidoğanların yaklaşık üçte birinde kan kültüründe bakteri üremektedir. Yenidoğanın bakteriyel menenjitinde %20-50 oranında nörolojik komplikasyon görülür ve menenjit için önerilen tedavi süresi (14-21 gün) yalnızca sepsis için önerilen tedavi süresinden daha uzundur (105-108).

İdrar Kültürü: Erken sepsiste idrar kültüründe bakterinin izole edilme olasılığı düşüktür ve idrar kültüründe üreme olması genellikle gerçek idrar yolu enfeksiyonundan çok bakteriyemi sonucunda patojenin mesaneye ulaştığını gösterir. Bu nedenle yaşamın ilk 72 saati içinde erken sepsis taramasının bir parçası olarak idrar kültürü alınması önerilmemektedir. Geç sepsiste sepsisin nedeni idrar yolu enfeksiyonu olabilir. İdrar kültüründe bakterinin izole edilme olasılığı daha fazladır. Bu nedenle geç sepsis taramasında rutin olarak idrar kültürü alınması önerilmektedir (2, 4, 18, 109).

Diğer Kültürler: Sepsisten şüphelenilen ve pnömoni veya solunum yetmezliği nedeniyle entübasyon ve ventilasyon gereken bebeklerde trakeal aspirat kültürleri alınması tanı şansını artırır. Yapılan bir çalışmada pnömoni saptanmış ancak kan kültürü negatif olan yenidoğanların %44'ünde trakeal aspirat kültürü pozitif bulunmuştur (30).

Deri altı yumuşak dokuda apse, septik artrit gibi fokal bir enfeksiyon odağı varsa apse veya eklem sıvısı gibi örneklerden kültür alınması önerilmektedir (2, 4, 18, 109).

1.4.2. Nonspesifik Yardımcı Testler

Yenidoğan sepsisi tanısında uygulanan spesifik olmayan tanı ve tarama testlerinin ideal olarak en yüksek duyarlılığa ve negatif tahmin değerine sahip olması istenir. Ancak laboratuvar testlerinden hiçbirisi tek başına sepsis tanısını yeterli

düzeyde doğrulayacak veya dışlayacak duyarlılık ve özgüllüğe sahip değildir. Bu nedenle birden fazla tarama testinin birlikte uygulandığı ve sonuçlarının birlikte değerlendirildiği sepsis tarama yöntemleri geliştirilmiştir (13, 18, 109-111).

Lökosit sayısı: Çocuklardaki sepsisin tanısında lökosit sayısı ve oranları sık kullanılan yöntemlerden biridir ancak yenidoğanda kullanımı sınırlıdır. Yapılan birçok çalışma yenidoğan sepsisinde total lökosit sayısının üst sınırını 30000-40000/mm³ kabul etmesine rağmen literatürde lökosit sayısının değerli olduğuna dair çok az kanıt mevcuttur (18).

Periferik yaymada mutlak nötrofil sayısı (ANS), immatür/total nötrofil oranı (I/T) ve immatür nötrofil sayısı tanıda sıklıkla başvurulacak parametrelerdir. Total nötrofil sayısı lökosit sayısına göre daha değerlidir. Doğumda total nötrofil sayısının alt sınırı 1800/mm³, 12. saatte 7200/mm³, 72. saatte de 1800/mm³'dür. İlk 48 saatte sepsis tanısında nötropeni önemli iken daha sonraki dönemde hem nötrofil hem de nötropeni enfeksiyon için önemlidir (27, 112).

Hematolojik bulgular içinde immatür total oranı (İ/T) en duyarlı olanıdır. İ/T oranının 0.2'den fazla olmasının neonatal sepsis tanısında duyarlılığı %60-90, özgüllüğü %50 ve negatif tahmin değeri %98-100'dür. Bu oran enfekte olmayan yenidoğanda ilk gün 0.16 olup 60. saatte 0.12'ye düşer (2, 4, 18, 109-111, 113).

Sepsis tanısını koymak için yukardaki parametrelere ek olarak lökositlerde dejeneratif değişiklikler (toksik granülasyon, vakuolizasyon, döhle cisimcikleri) görülebilir. Toksik granülasyon normal bebeklerin ancak %11'inde görülürken, sepsisli bebeklerin %60'dan fazlasında görülür (27).

Trombosit Sayısı: Yenidoğan sepsisinin özgün olmayan ve geç bir bulgusudur. Trombositopeni (ilk 10 günde trombosit sayısının 100000/mm³, daha sonraki günlerde ise 150000/mm³ altında olması) sepsis olduğu düşünülen yenidoğanların %10-60'da saptanmıştır (27, 112, 114).

Umbilikal kateterler, asfiksi, mekanik ventilasyon, mekonyum aspirasyonu, kan değişimi ve NEC gibi sepsise yol açabilen durumlarda kültürler negatif olsa bile tek başına trombositopeni görülebilir. Maternal trombositopeni ve hipertansiyonda da trombositopeni gelişebilir. Bu sebeplerden dolayı, trombosit sayımı yenidoğan sepsisi tanısında çok güvenilir değildir (27, 32, 40).

Yenidoğan sepsisinin erken tanısı için Rodwell tarafından geliştirilen (anormal lökosit, nötrofil ve çomak sayısı, artmış I/T, I/M (>0.3) oranı ile lökositlerdeki dejeneratif değişiklikler ve trombositopeni) hematolojik skorlama sisteminde 3 ve 3' ün üstündeki skorda sensitivite %96, spesifite %78 iken negatif prediktivite değeri de %99 bulunmuştur (115).

Tablo 4. Rodwell sepsis skorlama sistemi

1. İmmatür/total lökosit oranının artışı
2. Polimorf çekirdekli lökositlerin artması ve azalması
3. İmmatür/matür lökosit oranının 0.3 veya üzerinde olması
4. İmmatür lökositlerin artışı
5. Lökosit sayısının $<5000/\text{mm}^3$ Veya doğumda $<25000/\text{mm}^3$ Veya 12–14 saatlerde $<30000/\text{mm}^3$ Veya 2.günden sonra $<21000/\text{mm}^3$ olması
6. Nötrofillerde vakuolizasyon, Döhle cisimcikleri veya toksik granülasyon görülmesi
7.Trombosit sayısının $<150000/\text{mm}^3$ olması

Akut Faz Proteinleri: Akut Faz Proteinleri: Enfeksiyona sekonder inflamatuvar cevabın parçası olarak esas olarak karaciğer tarafından üretilir (116).

Bunlar arasında C-Reaktif protein (CRP), fibrinojen, fibronektin, laktoferrin, haptoglobulin, prokalsitonin (PCT), Serum Amiloid A (SAA), alfa 1 asit glikoprotein, C3 sayılabilir (116).

C-Reaktif Protein (CRP): S. pneumoniae'nin C polisakkariti ile birleştiğinde çökenve inflamasyona yanıt olarak karaciğerden sentezlenen bir glikoproteindir. Enfeksiyon sonrası yaklaşık 6-8 saat içinde salgılanmaya başlar, 24-48 saat sonra en yüksek seviyesine ulaşır. Yarılanma ömrü 4-7 saattir. Yenidoğanda normal düzeyi 1 mg/dl altındadır (117). Plesantadan geçmez ve konsantrasyonu gestasyonel yaşa göre değişmez (118). C-Reaktif Protein üretim için major uyarıcı IL-6'dır. Yapılan çalışmalar yenidoğan sepsisinde CRP duyarlılığının %75-93, özgüllüğünün ise %62-95 arasında değiştiğini göstermektedir (18, 119).

Ancak enflamasyona neden olan enfeksiyon dışı birçok durumda da düzeyi arttığından sepsise özgü bir test değildir. Maternal ateş, EMR, fetal distres, zor doğum, vakumla doğum, perinatal asfiksi, periventriküler/intraventriküler kanama, pnömotoraks, mekonyum aspirasyon pnömomisi gibi enfeksiyon dışı durumlarda da yükseldiğinden özellikle erken sepsiste duyarlılığı düşüktür.

Bu sebeple CRP'nin neonatal sepsis tanısı için tek başına kullanılması önerilmemektedir (109-111, 120, 121). C-Reaktif Protein daha çok antimikrobiyal tedaviye yanıtın ve tedavi süresinin değerlendirilmesinde faydalı ve güvenilir bir testtir (27, 122).

Prokalsitonin (PCT): Moleküler ağırlığı yaklaşık 13 kilodalton olan, 116 aminoasit içeren polipeptid yapıda bir hormondur. Biyolojik etkinliği ve enflamasyonda diğer sitokinlerle birlikte nasıl görev yaptığı kesin olarak bilinmemektedir. PCT üretiminin en güçlü uyarıcısı endotoksin ve TNF- α 'dır (123).

Esas üretim yeri tam olarak bilinmemekle birlikte septik hastalarda tiroid haricinde, karaciğerden veya akciğerdeki nöroendokrin hücrelerden başta olmak üzere birçok dokuda üretildiği sanılmaktadır (124, 125).

Düzeyi endotoksin verilmesinden 4-6 saat sonra yükselmeye başlamakta, 6-8. saatte de pik yapmaktadır. Yarılanma süresi uzun olup 25-30 saattir. PCT'nin sistemik bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda yükseldiği ancak enfeksiyon dışı inflamatuvar olaylar ve viral enfeksiyonlarda yükselmediği gösterilmiştir (27).

Sepsis durumunda kanda hızla yükselmesi ve yarılanma süresinin daha uzun olması nedeni ile tanıda önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (126).

Klinik araştırmalarda erken neonatal bakteriyel enfeksiyonların belirlenmesinde PCT yanıtının duyarlılığı %92.6, özgüllüğü ise %97.5, geç bakteriyel enfeksiyonlarda ise duyarlılık ve özgüllüğünün %100 olduğu bildirilmektedir (127).

Sitokinler: Artmış sitokin seviyesi inflamatuvar sürece karşı oluşan konakçı cevabıdır. Sitokinler, makrofaj, lenfosit ve endotelial hücrelerden salınan glikoproteinlerdir. Yarılanma ömürleri kısadır. Sistemik inflamatuvar yanıt gelişiminde proinflamatuvar (IL-6, TNF- α , interferon gama, IL-1) ve antiinflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-10) arasındaki denge, klinik belirtilerin ortaya çıkmasında önemlidir (48, 52, 61).

Bakteriyel ligandlarla TLR'lerin bakteriyel ligandlarla aktivasyonu ile sinyalizasyon kaskadı başlar. Sinyalizasyon kaskadının başlamasıyla birlikte NF κ B aktive olur. Bu aktivasyonla birlikte TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-12 ile IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler salınır (62, 63).

İnterlökkin-1 (İL-1): Sitokin ailesinin bir üyesi olup ana fonksiyonu enfeksiyon ve diğer inflamatuvar uyaranlara karşı konak yanıtının mediyatörüdür. İL-1 α ve İL-1 β olmak üzere iki subtipi vardır. Düşük konsantrasyonlarda lokal inflamasyon mediyatörüdür. Endotelial hücrelerde lökosit adhezyonunu düzenleyen yüzey moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Yüksek konsantrasyonlarda ise dolaşıma geçerek endokrin etki gösterir (ateş, karaciğerden akut faz plazma proteinlerinin sentezi ve kaşeksi). Vücut ısısının yükselmesine yol açtığı için “endojen pirojen” olarak da adlandırılan en güçlü inflamatuvar sitokindir (128).

İnterlökkin-1; enfeksiyonda serumda çok erken ortaya çıkan bir belirteçtir ve üzerinde en çok çalışılmış sitokinlerden biridir. Hem T hem B hücreler tarafından yapılır. Vücudun enfeksiyona verdiği yanıtın düzenlenmesinde pek çok rolü vardır. Bakteriyel ürünlerle karşılaştıktan sonra IL-6 düzeyinde hızlı ve ciddi bir artış olur. IL-6, CRP gibi akut faz reaktanlarını yapması için hepatositleri uyarır. Bu nedenle enfeksiyonun erken evresinde CRP’den daha duyarlıdır. Enfeksiyonun erken döneminde IL-6’nın duyarlılığı %89 iken, CRP’nin duyarlılığı %60’tır. Daha da önemlisi IL-6’nın negatif tahmin değeri (%91) CRP’den (%75) daha yüksektir. IL-6’nın yarı ömrü kısadır, enfeksiyon tedavisine başlanmasından sonra 24 saatte enfeksiyon sürse bile dolaşımdaki konsantrasyonu saptanamayacak kadar azalır. IL-6 düzeyine bakmak için en uygun kan alma zamanı dar bir aralıktadır. Bu kısıtlılıklar nedeniyle IL-6’nın tanısal değerini artırmak için enfeksiyonun daha geç dönemine duyarlı olan başka belirteçler (örneğin CRP, TNF- α) ile birlikte kullanılması önerilmektedir (129, 130).

Tümör nekrosis faktör-alfa (TNF- α); aktive makrofajlardan, T-lenfosit ve natürel killer hücrelerinden lipopolisakkarit uyarısı ile salgılanan inflamatuvar bir sitokindir. TNF- α ’nın yarı ömrü oldukça kısadır (131).

Tümör nekrosis faktör-alfa, gram (-) bakteri ve diğer enfeksiyon etkenlerine karşı oluşan akut inflamatuvar cevabın esas mediyatörüdür ve ciddi enfeksiyonların bir çok sistemik komplikasyonundan sorumludur. TNF- α bakteriyel, viral ve parazitik enfeksiyonlara karşı konakçının savunma mekanizmalarında fizyolojik olarak önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, septik şok, inflamatuvar bağırsak hastalığı, ankilozan spondilit, romatoid artrit, psöriyaz, ateroskleroz, miyokart infarktüsü, kalp yetmezliği, miyokardit, kardiyak allograft reddi, diyabet, multiple

skleroz, kronik bronşit, kronik obstrüktif pulmoner hastalık, akut solunumsal sıkıntı sendromu, astım, iskemik renal zedelenme, renal transplant reddi ve glomerülonefrit gibi pek çok hastalığın patojenezinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. TNF- α blokerlerinden olan adalimumab, infliximab ve etanersept günümüzde romatoid artrit ile ankilozan spondilit ve Crohn hastalığı gibi çeşitli inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (132, 133).

Tümör nekrozis faktör-alfa düzeylerinin sağlıklı bireylerde genellikle ölçülememesine karşın, inflamatuvar ve infeksiyöz durumlarda serum ve dokudaki düzeyleri artmakta, ayrıca serumdaki düzeyleri infeksiyonun derecesi ile yakın bir ilişki göstermektedir. Erken başlangıçlı sepsisli yenidoğanlarda TNF α düzeyi, enfekte olmayan yenidoğanlara göre daha yüksek bulunmuştur.

Hücre yüzey belirteçleri: İnflamatuvar hücreler bakteriler veya bakteri ürünleri tarafından uyarıldıktan sonra önemli miktarlarda spesifik yüzey antijenleri ortaya çıkar. Bu belirteçlerden nötrofil CD11b, CD64 ve CD14 erken ve geç sepsis tanısında yararlıdır (27).

Nötrofil CD11b; beta 2 integrin adezyon molekülünün a alt ünitelerinden birisidir. CD11b aktif olmayan nötrofillerin yüzeyinde düşük konsantrasyondadır. Ancak, nötrofillerin mikrobiyal ürünler ile temasını izleyen birkaç dakika içerisinde ekspresyonu belirgin olarak artabildiğinden CD11b' nin erken uyarı belirteci olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (102).

Nötrofil CD64; lökosit yüzey antijeni, monosit ve makrofajlara yüksek afinitesi olan CD64 ün büyük bir kısmı monosit ve makrofajlardan, küçük bir kısmı bakteriyel enfeksiyon sırasında nonaktif nötrofillerden üretilir (134).

Nötrofil CD64 neonatal sepsiste yüksek spesifik indikatör göstergesidir. Patojenlerin fagositozu ve hücre içinde öldürülmesinde rol alır. CD64 hem erken hem geç sepsis tanısında önemlidir. Pretermdeki CD64 yanıtı term bebeklerle aynıdır (102).

Nötrofil CD14; sepsisin erken tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. CD14, sitokin sentezi için önemli bir mediatördür. TNF- α 'dan daha erken aktive olmaktadır. Sepsiste CD14 seviyeleri yükselmekte olup, gram (-) mikroorganizmalarla oluşan sepsiste daha duyarlı olduğu bulunmuştur.

Presepsin: CD14 monosit, granülosit ve makrofajların membran yüzeylerinde ekspresse edilir. CD14; membrana bağlı CD14 (mCD14) and soluble CD14 (sCD14) olmak üzere iki forma sahiptir. CD14 lipopolisakkarit ve lipopolisakkarit binding protein (LPS-LBP) kompleksinin reseptörüdür. LPS-LBP-CD14 kompleksi dolaşıma salınır. Soluble CD14 plazmada katepsin D ve diğer plazma proteazları tarafından parçalanarak, presepsin olarak adlandırılan sCD14 subtip (sCD14-ST) oluşturulur. LPS-LBP kompleksinin reseptörü olan CD14 sinyal ileti yollarını ve inflamatuvar kaskadı aktive ederek sistemik inflamatuvar yanıtı yol açar. Septik hastaların plazmasında yükselen sCD14 subtip veya diğer adı ile presepsin, sepsis için IL-6 ve prokalsitoninden daha duyarlı bir belirteç olup; CRP, prokalsitonin ve D-dimer'den daha hızlı yükselir. Bazı klinik çalışmalarda presepsin'in romatoid artrit, SLE, karaciğer hastalıkları ve atopik dermatitte anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. Presepsin sadece sepsisin erken tanısı için uygun biyokimyasal bir belirteç olmayıp, ayrıca sepsisin şiddeti ve prognozunun değerlendirilmesinde kullanılır (135).

Presepsin CD14'ün N-terminal ucunda bulunan 13kDa ağırlığında bir polipeptittir (136).

Presepsinin lipopolisakkarit bağlayıcı özelliği bulunmamaktadır, bu nedenle anti-CD14 antikolları tarafından yakalanamaz. Serbest halde bulunan bu molekül, bu sayede bir biyomarkör olarak kullanılabilir. Bakteriyemi ve sepsis hallerinde presepsin seviyelerinin erken dönemde arttığını gösteren birçok çalışma mevcuttur ve presepsin rutin kullanıma girmeye aday bir biyomarkör olarak gösterilmektedir (137).

Haptoglobin: Sağlıklı yenidoğanlarda da yüksek düzeylerde bulunabileceği gösterildiğinden yenidoğan sepsisinin erken tanısındaki değerini yitirmiştir (138).

Fibrinojen: Yaşamın ilk üç gününde de düzeyi yüksek olarak saptanır. Duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür (139).

Fibronektin: Düzeyi yaşa göre değişir. Enfeksiyon sırasında tüketilmesi sonucu enfeksiyonlarda plazma konsantrasyonu azalır. Ancak asfiksi, RDS ve bronkopulmoner displazili bebeklerde de fibronektin düzeyi azalmaktadır (27).

Serum amiloid A: IL-1 ve TNF- α tarafından yapımı uyarılan SAA primer olarak karaciğerden sentezlenmektedir. Bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda klinik bulguların ortaya çıkmasından 2 gün önce serumda düzeyi artmaya başlar (27).

Orosomukoid: Lenfosit, monosit, nötrofiller ve hepatositler tarafından sentezlenir ve fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Yanlış pozitif ve negatif sonuçların fazla olmasından dolayı sepsis tanısındaki değeri sınırlıdır (27).

Alfa-1 antitripsin: Sepsiste değeri yükselmekle beraber, genetik varyantlarının mevcudiyeti ve karaciğer hastalıklarında da yükselebilmesi nedeniyle sepsis tanısında pek yeri yoktur.

Laktik asidoz: Orta seviyedeki bir laktat artışı (2-5 mmol/l) erken doku hipoksisinin göstergesi olup kritik hastalarda hipermetabolik durumu yansıtmakta, belirgin bir laktat artışı ise (>5 mmol/l) arteriyal pH'ı azaltarak asidoza neden olabilmektedir (140, 141).

Total Antioksidan Kapasite: Organizmaların, metabolik ve fizyolojik reaksiyonlar sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu oluşan oksidatif stres ile mücadele eden antioksidan siteme sahiptir. Albumin, urik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'ini oluşturmaktadır. Yenidoğan döneminde total antioksidan kapasitenin ana elemanları bilirubin ve urik asittir. Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgi vermektedir. Antioksidanların tek tek ölçülmesi, zaman alıcı, pahalı, zaman alıcı ve karmaşık teknikler gerektirmektedir. Bu nedenle total anti oksidan kapasite (total antioxidant capacity = TAC) veya total antioksidan durum (total antioxidant status = TAS) ölçümü giderek daha çok kabul görmektedir (142, 143).

Yenidoğanlarda plazma TAS, hastalıktan ve uygulanan tedavilerden etkilenmektedir. Örneğin hemoliz ile plazma bilirubin düzeyinin yükselmesi veya fototerapi ile azalması, anuri ile urik asit seviyesinin artması veya diuretiklerle seviyesinin düşmesi gibi nedenlerle TAS'ta değişiklikler meydana gelebilmektedir (144).

Serbest Oksijen Radikallerinin Ölçümü: Kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikallerin omru oldukça kısadır. Bundan dolayı laboratuvar şartlarında ölçülmesi zordur. Genellikle *spin rezonans* ve *spin trapping* metotlarıyla

olculurler. Ancak bu metotlarla olcum teknik olarak oldukça güçtür. Serbest radikallere bağılı oluşan urunlerin olcumu daha pratik metotlardır. Serbest radikallerin en onemli etkileri lipit peroksidasyonudur. Yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu aldehitler oluşur (MDA gibi). Gunumuzde serbest radikal olcumunde en cok kabul goren yöntem TBARS (thibarbitric acid reactive substance), MDA veya ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzthiazoline-6-sulfonic acid) belirteclerini kullanarak olcum yapmaktır (145, 146).

Moleküler Yöntemler: Bakteriyel enfeksiyonlarda etken olan mikroorganizmanın kesin olarak belirlenmesi mikrobiyolojik kültürlerde bakterinin üretilmesi ile yapılabilmektedir. Ancak bakterinin üremesi ve üreyen bakterinin tiplendirilmesi için en az 48-72 saatlik bir süre gerekmektedir. Hastaya antibiyotik başlarken etken bakterinin bilinmesi etkili tedavinin başlanmasını sağlar, tedavi başarısını artırır ve bebeğin gereksiz ilaç almasını önler. Bu nedenle enfeksiyon tanısında bazı moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Bunların başlıcaları etken bakteriler için FISH (florescence in situ hybridisation), PCR (polymerase chain reaction) ve kemokinlere ait mRNA'ların saptanması yöntemleridir (13, 110, 120, 135, 147, 148)

Florescence in Situ Hybridisation yöntemiyle bakteriler için 18 saatte, maya mantarları için 42 saatte enfeksiyon etkenin belirlenebildiği gösterilmiştir (147).

Geniş aralık PCR yöntemiyle patojen mikroorganizmaya ait genetik materyal doğrudan saptanabilmektedir. Bu yöntem özellikle steril doku sıvılarında enfeksiyon etkenlerinin gösterilebilmesini sağlar (149).

Radyoloji: Akciğer grafisi RDS veya apneli vakalarda çekilmelidir. Abdominal grafi NEC'in tanısında çekilmelidir (116).

1.4.3. Ayırıcı Tanı

Neonatal sepsis değişik kalp hastalıkları, gastrointestinal, hematolojik, metabolik, nörolojik ve solunum yolu hastalıkları ile benzer bulguları gösterebilir (27).

Tablo 5. Neonatal sepsisin ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken hastalıklar

Kardiyak	Konjenital kalp hastalıkları, persistan pulmoner hipertansiyon, miyokardit
Solunum sistemi	RDS, aspirasyon pnömonisi, akciğer hipoplazisi, trakeoözefagial fistül, yenidoğanın geçici takipnesi
Gastrointestinal	Gastrointestinal perforasyon, yapısal anomalileri, NEK
Hematolojik	İmmün trombositopeni, immün nötropeni, ağır anemi, konjenital lösemi, herediter kanama diyatezleri, purpura fulminans, adrenal kanama
Nörolojik	İntrakraniyal kanama, hipoksik iskemik ensefalopati
Metabolik	Doğuştan metabolizma hastalıkları, hipoglisemi, adrenal yetmezlik

1.5. Tedavi

Sepsisin klinik bulgularının belirsiz olması, hastalığın hızla ilerlemesi, mortalite ve sekel olasılığının yüksek olması gibi nedenlerden dolayı sepsis şüphesinde kültürler alındıktan sonra antimikrobiyal ajanlarla tedaviye başlanmalıdır (27). Tedavinin temeli antimikrobiyal tedavi olmakla birlikte, destek tedavileri de uygulanmaktadır.

Antimikrobiyal Tedavi: Yenidoğan sepsisi tedavisinde kullanılacak antibiyotikler, bebeğin belirti ve bulgularının başladığı zaman, enfeksiyon etkeninin kazanıldığı ortam (doğum kanalı, hastane veya toplum), varsa enfeksiyon odağı, etken olma olasılığı fazla olan patojenler ve bunların antibiyotik duyarlılıkları dikkate alınarak seçilmelidir. Ayırıcı tanıda bakteriler dışındaki enfeksiyon etkenleri de göz önünde bulundurulmalıdır. Bunların sepsise neden olabileceklerini düşündüren öykü ve klinik bulgular varsa antibiyotik tedavisine ek olarak uygun antifungal veya antiviral tedavi eklenmelidir. Kültür sonucunda etken mikroorganizma saptandığında antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre gerekiyorsa antibiyotik tedavisi yeniden düzenlenmelidir. Antibiyotik tedavisine yanıt bebeğin klinik durumu ve laboratuvar incelemeleri ile izlenmelidir (2, 4, 16, 18).

Erken sepsisin ampirik tedavisinde esas olarak grup B streptokoklar, E. coli ve diğer gram negatif enterik basiller ve L. monocytogenes'e etkili olması gereken bir antibiyotik kombinasyonu uygulanmalıdır. Erken sepsis için ampirik tedaviye

ampisilin ve gentamisin veya amikasin gibi bir aminoglikozid ile başlanmalıdır (2, 18)

Gram negatif enterik bakterilerin neden olduğu sepsiste kültür sonuçları dikkate alınarak ampisilin bir aminoglikozid veya üçüncü kuşak bir sefalosporin (sefotaksim veya seftazidim) ile birlikte kullanılmalıdır. Kanıtlanmış veya klinik erken sepsiste ampisilin ve aminoglikozid kombinasyonu ile tedavi süresi yedi ile on gün olmalıdır. Klinik bulguları ile sepsis düşünülerek antibiyotik tedavisine başlanan bir bebekte kan kültüründe bakteri üremesi olmaması sepsis olmadığı anlamına gelmediğinden önerilen sürede tedavi verilmelidir. Tedaviye başladıktan sonraki 24-48 saat içinde bebeğin belirti ve bulgularının düzelmesi, 48-72 saat içinde de lökosit sayısı, İ/T oranı ve CRP düzeylerinin normal aralıklara gelmesi tedaviye uygun yanıtın alındığını gösterir (2, 4, 16).

Toplum kaynaklı ve belirli bir enfeksiyon odağı olmayan geç sepsisli bebekler için de ampisilin ve aminoglikozidden oluşan tedavi verilmelidir. Bu bebekler için önerilen tedavi süresi de yedi ile on gündür. Hastanede yatan bebeklerde gelişen geç sepsis genellikle koagülaz negatif stafilokoklar, çoklu antibiyotik direncine sahip bazı Enterobacteriaceae türleri, Pseudomonas türleri, Enterokoklar, S. aureus ve Candida türleri (özellikle C. albicans) ile gelişir. Hemen hemen tüm Stafilokoklar penisilinaz üreterek penisilin ve ampisiline dirençli oldukları için bunların yerine antistafilokokal etkinliği olan bir antibiyotik tercih edilmelidir. Etkenin hastaneden kazanıldığı geç sepsiste tedaviye vankomisin ve bir aminoglikozid veya vankomisin ile birlikte seftazidim başlanmalıdır. Tedavi süresi 10-14 gün olmalıdır. Pseudomonas için bir aminoglikozid ile birlikte piperasilin, tikarsilin veya seftazidim; Enterokoklar için bir aminoklikozid ile birlikte ampisilin veya piperasilin kullanılmalıdır. Anaerob enfeksiyonlarda klindamisin, piperasilin veya metronizadol tercih edilmelidir. Çoklu ilaç direncine sahip gram negatif bakteriler ile gelişen enfeksiyonlarda meropenem, imipenem, sefepim veya siprofloksasin kullanılması gerekebilir. Mantar sepsisi açısından riskli (prematüre, çok düşük doğum ağırlıklı bebek, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, invaziv işlemler, parenteral beslenme) olan yenidoğanlarda tedaviye flukonazol, amfoterisin B gibi antifungal bir ilaç eklenmelidir. Geç sepsiste de tedaviye yanıt bebeğin klinik bulguları ile izlenmelidir (2, 4, 16).

Yenidoğanlarda bakteriyel menenjitin en sık görülen etkeni grup B streptokoklar olup, bunu E. coli izler. Diğer gram negatif enterik basiller (Klebsiella, Enterobakter ve Serratia türleri), L. monocytogenes, Enterokoklar ve Pseudomonas da yenidoğan döneminde önemli menenjit etkenleri arasında yer alır. H. influenza, S. pneumoniae, koagülaz pozitif ve koagülaz negatif stafilokoklar da yenidoğanlarda menenjit etkeni olabilirler. Tedavide ampisilin ile birlikte sefotaksim verilir. Geç sepsisle birlikte gelişen menenjitlerde vankomisin ile birlikte sefotaksim veya seftazidim tedavisi de verilebilir, bu antibiyotiklere bir aminoglikozid de eklenebilir. Grup B streptokoklar ve L. monocytogenes menenjitlerinde ampisilin ile birlikte gentamisin; E. coli ve diğer Enterobacteriaceae türleri ile gelişen menenjitlerde ise sefotaksim ile birlikte bir aminoglikozid kullanılmalıdır. Pseudomonas aeruginosa menenjitinde seftazidim ile birlikte aminoglikozid verilmelidir. Stafilokok türleri ile gelişen menenjitlerde de vankomisin kullanılmalıdır. Enterokok menenjitinde ampisilin ile birlikte bir aminoglikozid, eğer enterokok ampisiline dirençli ise vankomisin ile birlikte gentamisin verilmelidir. Yenidoğan menenjitlerinde tedavi süresi 14-21 gündür.

Tedavi süresi, kanıtlanmış gram pozitif bakterilerle gelişen menenjitlerde en az 14 gün, gram negatif bakterilerle gelişen menenjitlerde ise en az 21 gün olmalıdır (2, 4, 16, 105, 108).

Yenidoğanlarda yaşamın ilk yedi ile on günü arasında gelişen pnömoni için ampisilin ile birlikte bir aminoglikozid veya sefotaksim verilmelidir. Nazokomiyal pnömonide ampirik tedaviye vankomisin ve üçüncü kuşak sefalosporin (sefotaksim veya seftazidim) ile başlanmalıdır. Kemik ve eklem enfeksiyonlarında vankomisin ile birlikte gentamisin veya sefotaksim tedavisi verilmelidir (2, 4, 16).

Destek Tedavisi: Yenidoğan sepsisinin tedavisi sırasında antimikrobiyal tedaviye ek olarak bebeğin immün sistemini kuvvetlendirmek ve komplikasyonların gelişmesini en aza indirmek amacı ile çeşitli destek tedavileri uygulanır. Sepsis tanısı almış bebekler mutlaka yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde monitörize edilerek takip edilmelidir. Elektrolit ve glukoz düzeyi normal sınırlarda tutulmalı, asit baz dengesi izlenmeli, uygun sıvı-elektrolit tedavisi uygulanmalı, hastanın enteral veya parenteral beslenmesi sağlanmalıdır (27).

Sepsiste steroid kullanımı tartışmalıdır. Sepsiste adrenerjik reseptörlerin azalması kardiyovasküler sistemin katekolaminlere karşı yanıtını azaltmaktadır. Steroidler ise kardiyovasküler adrenerjik reseptörlerin artmasını sağlamakta ve vazopressör direncini azaltmaktadır. Sepsiste adrenal yetmezlik veya sıvı tedavisine dirençli hipotansiyon geliştiğinde steroid tedavisi önerilmektedir (27).

Ağır sepsis vakalarında exchange transfüzyon yapılabilir. Exchange transfüzyon ile dolaşımdaki bakteri ve endotoksinler ortadan kaldırılabilir veya seyreltilir. Humoral ve selüler immünite güçlendirilebilir (150).

Yenidoğan immün sistemindeki yetersizlikler nedeniyle sepsisli hastalarda immünoterapi tedavi yaklaşımları geliştirilmiştir. İntravenöz immunglobulinin (IVIG) yenidoğan enfeksiyonlarından korunma ve tedavisindeki etkinliği konusunda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Prematüre ve/veya düşük doğum ağırlıklı bebeklerde enfeksiyon veya sepsis profilaksisi için rutin IVIG uygulaması önerilmemektedir (151).

Sepsis veya septik şok tedavisi sırasında poliklonal immunglobulin (Ig-GAM) preparatları da kullanılabilir. Ig-GAM verilen sepsisli yenidoğanlarla IVIG verilenler karşılaştırıldığında Ig-GAM'ın mortaliteyi anlamlı derecede azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Ağır yenidoğan sepsisinde kemik iliğinin baskılanması sonucu nötrofil salınımı azalabilir. Granülosit koloni uyarıcı faktör kemik iliğinden myeloid stem cell ve özellikle nötrofillerin proliferasyon ve differansiasyonunu hızlandırdığı, nötrofil sayısını artırdığı ve nötrofil fonksiyonlarını iyileştirdiği bildirilmektedir (152).

Sepsis tedavisinde anti-TNF antikorlarının, IL-1 reseptör antikorlarının ve NO sentetaz inhibitörlerinin kullanılması gündeme gelmiştir (153, 154).

Metilksantin türevi olan pentoksifilin TNF yapımını baskıladığı ve sepsisli yenidoğanlarda yararlı olduğu gösterilmiştir (155).

1.5.1. Prognoz

Yenidoğan sepsisinin tanı ve tedavisindeki gelişmelere karşın mortalitesi yüksektir. Gelişmiş ülkelerde erken başlangıçlı yenidoğan sepsisinde mortalite %10-20 ve geç başlangıçlı sepsiste %5-10'dur. Çok düşük doğum ağırlıklı prematürelere mortalite EBNS'de %35 ve GBNS'de %17-19'dur (156).

Yenidoğan menenjitli geçiren bebeklerin %20-50'inde ciddi sekeller kalır. Bunlar arasında zeka geriliği, motor fonksiyon bozuklukları, konvülsiyon, hidrosefali, işitme kaybı ve konuşma bozuklukları sayılabilir. Menenjitli olmayan sepsislerin uzun dönemdeki prognozları hakkında yapılmış geniş çaplı çalışmalar bulunmamakla birlikte, bu bebeklerin yaklaşık %20'sinde sepsise bağlı olabileceği düşünülen sekeller görülmüştür (27).

1.5.2. Korunma

Neonatal sepsisten korunma annenin prenatal bakım şartlarının iyileştirilmesi, EMR'nin önlenmesi ve prematüre doğumların azaltılması ile mümkündür. Bebeğe yapılan invazif girişimlerin azaltılması, kullanılacak malzemelerin tek kullanımlık olması ve gereksiz yere antibiyotik kullanılmaması enfeksiyonların bulaşmasını engeller. Gastrointestinal kanaldan patojen bakteri kolonizasyonunu engellemek için erken enteral beslenmeye geçilmeli ve anne sütü ile beslenme teşvik edilmelidir. Hastane enfeksiyonlarından korunmanın en basit ve etkin yöntemlerinden birinin uygun el yıkama olduğu unutulmamalıdır (157).

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinin tasarımı ve yapımında uluslararası standartlara uyulması, çalışan personelin nicelik ve nitelik bakımından yeterli sayıda olması, aşırı hasta yükünden kaçınılması gibi faktörler de sepsis riskini azaltmaktadır.

1.5.3. Etanersept

Etanersept rekombinan DNA teknolojisi ile üretilmiş, insan TNFR 2/p75 (tümör nekrozis faktör reseptörü) ve insan IgG1-Fc (immün globulin) proteininin birleştirilmesi ile elde edilen bir füzyon proteindir. TNF, romatoid artritli bağli enflamasyonda dominant sitokin işlevini görür. Etanersept, Biyolojik aktivitesini TNF'nin kompetitif inhibitörü olarak hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını engelleyerek gösterir. TNF ve lenfotoksin iki ayrı hücre yüzey reseptörlerine bağlanan pro-inflamatuar sitokinlerdir. İki TNFR'de membrana bağli ve çözünen formdadır. TNF ve lenfotoksinlerin biyolojik aktivitelerini hücre yüzeyindeki TNFR'lere çapraz biçimde bağlanarak gösterirler. Etanersept kendi hücre reseptörlerine bağlanan TNF'nin çok daha güçlü kompetitif inhibitörleridir, çözülen

dimerik reseptörler, monomerik reseptörlere kıyasla TNF'ye daha yüksek bir afinite gösterir.

Etanersept etkisini, TNF'nin hücre yüzeyindeki TNFR'lere bağlanmasını kompetitif olarak inhibe ederek, biyolojik aktivitelerini yok edip, TNF'ye bağlı gelişen hücresel yanıtlarını önleyerek göstermektedir. Ayrıca etanersept, TNF'nin düzenlediği veya diğer moleküllerin (örneğin, sitokinler, adezyon molekülleri veya proteinazlar) kontrol ettiği biyolojik yanıtları da değiştirebilmektedir. Etanersept, poliartiküler tip juvenil artrit, romatoid artrit, psoriatik artrit, ankilozan spondilit, psoriasis vulgaris tedavisinde kullanılır (158-161).

Etanersept'in en sık yan etkisi solunum yolu enfeksiyonudur. Etanersept olgularının ortalama %37'sinde enjeksiyon yerinde reaksiyonuna neden olur (162).

Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlar, septik artrit, osteomyelit daha az bildirilmesine karşın, viral ve fungal enfeksiyonların sıklığı artmıştır. Histoplazmozis, toksoplazmozis, sporotrikoz, pulmoner aspergilloz, atipik mikobakteri enfeksiyonları bildirilmiştir (162, 163).

Kronik kullanımda TNF α inhibitörlerinin lenfoproliferatif bozukluk geliştiği bildirilmiştir. Olguların %81'ni Non-Hodgkin lenfoma oluşturmaktadır. Tedaviden ortalama olarak 8 hafta sonra gelişmektedir (162).

İlaç bırakıldıktan sonra lenfoma gerilemektedir. Etanersept kullanan hastalarda konjestif kalp yetmezliği gözlenmiş olup, orta-şiddetli konjestif kalp yetmezliğinde kullanılması kısıtlanmıştır (162, 164).

1.6. Talidomid

Talidomide, bir glutamik asit derivesi olup bemegride (alfa-etil-alfa metil glutarimide) ve glutethimide (beta-etil beta phenylglutarimide) ile ilişkili ancak farklı farmakolojik özelliklere sahip bir ajandır (165).

Talidomid, karaciğerde sitokrom p-450 ailesi tarafından metabolize edilir (166). Talidomide 10 ug/ml dozunda sitotoksik etki oluşmaksızın anlamlı bir şekilde monosit fagositozunu önlemektedir (167). Talidomide sağlıklı gönüllülerde verilmesini takiben dolaşan T-helper hücrelerinde azalma T-süpresör hücrelerinde anlamlı şekilde artış izlenmiştir. Talidomidin TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IFN- γ ve granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör'ü (GM-CSF) baskımlarken, IL-2, IL-4 ve IL-10'u uyardığı görülmüştür (168).

Talidomidin TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IFN- γ ve granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör'ü (GM-CSF) baskımlarken, IL-2, IL-4 ve IL-10'u uyardığı görülmüştür. TNF- α mRNA'sını parçalayarak lipopolisakkaridlerle ilişkili insan monositleri ve sıçan makrofajlarında TNF- α üretimini baskılar. Bir çalışmada koyun kırmızı kan hücreleri ile immünizasyon öncesi 5-7 gün talidomid verilen farelerde IgM antikor formasyonu azaldığı gösterilmiştir (169). Ayrıca anjiyogenezisin indüklediği tavşan kornealarında basic fibroblast growth factor (β FGF) yapımının inhibe edildiği izlenmiş, Wallerian dejenerasyonu izlenen ratlarda talidomide kullanımını takiben hücre proliferasyonunun, subperinöral ödemin ve miyelin fagositozunun azaldığı saptanmıştır (170-172).

Talidomid tedavisinin prurigo nodularis, piyoderma gangrenozum, porfiria kutanea tarda, liken planus gibi dermatozların takibinde yararlı olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur. TNF- α ve IL-12 ile kısmi ilişkilendirilen crohn hastalığı steroide bağımlı hastalarda kısa sürede talidomidle etkin olarak kontrol edilebilmiştir. Ayrıca steroid dozunda yarıya düşürmüştür. Prostat kanseri, multiple myelom, renal hücreli karsinom, glioma, kolorektal kanserler, melanomada da thalidomid kullanılmaktadır (173).

Teratojenite ve sedasyon talidomid'in en sık görülen yan etkilerdir, Diğer yan etkiler periferik nöropati, kızarıklık, dengesizlik, kabızlık, tremor, kişilik değişikliği, derin ven trombozu ve baş ağrısıdır. Daha az sıklıkla ise toksik epidermal nekrolizis, ağır hepatik toksisite, hipotiroidi, bradikardi ve CD34⁺'de azalma görülür.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, deney hayvanlarının seçimi esnasında ve yapılan uygulamalar sırasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (23.07.2014 tarih, Toplantı Sayısı: 17 Karar No: 156) onayı alınarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nde (FÜDAM) standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yürütüldü.

2.1. Denekler

Deneyde 60 adet, 4 haftalık erkek wistar albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar araştırma süresince 22-24 °C sabit sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/karanlık dönemlerin bulunduğu, otomatik olarak klimatize edilen odalarda 5'erli ve 3'erli gruplar halinde, hayvanlar için hazırlanmış özel kafeslerde korundu. Hayvanların beslenmesi Elazığ yem fabrikasından temin edilen standart 8mm'lik pellet cinsi yem ve çeşme suyu ile sağlandı. Ratların beslenmesinde kullanılan yemin bileşimi Tablo 'de verilmiştir.

Tablo 6. Standart rat yemi

Yem Bileşimi	
Su (en çok)	% 12
Ham protein (en az)	% 24
Ham selüloz (en çok)	% 7
Ham kül (en çok)	% 8
HCl'de çözünmeyen kül (en çok)	% 2
NaCl (en çok)	% 1
Mineral Karması *	% 1.25
Vitamin Karması **	%1.25
Metabolik enerji	2650 kcal/kg

* Mineral Karması: Kalsiyum (% 1.0-2.8), Fosfor (% 0.9), Sodyum (%0.5-0.7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

** Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit. D₃ (1000 IU/kg), Vit. E (60 mg/kg), Vit. B₂ (4 mg/kg).

2.1.1. Deney Grupları

Araştırmamızın amacı thalidomide ve etanercept tedavisinin sepsis oluşturulan ratlarda oksidatif stres parametreleri ve sitokinler üzerindeki etkisini araştırmak ve karşılaştırmak olup, bu amaçla her biri 12 rattan olusan 5ana grup

olusturuldu. Bu ana gruplar sham grubu hariç deneyin 3.saati (a) ve 6.saati (b) olmak üzere 2 alt gruba ayrıldı.

Gruplar

Grup 1; sham grubu (ip)serum fizyolojik uygulaması n=12

Grup 2a; LPS (5mg/kg ip, Escherichia coli 0111:B4) n=6

Grup 2b; LPS (5mg/kg ip, Escherichia coli 0111:B4) n=6

Grup 3a; LPS (5mg/kg ip) + Thalidomide (0.5 mg/kg, ip) n=6

Grup 3b; LPS (5mg/kg ip) + Thalidomide (0.5 mg/kg, ip) n=6

Grup 4a; LPS (5mg/kg ip) + ETA (1 mg/kg ip) n=6

Grup 4b; LPS (5mg/kg ip) + ETA (1 mg/kg ip) n=6

Grup 5a; LPS (5mg/kg ip) + ETA (1 mg/kg ip) + Thalidomide (0.5mg/kg ip) n=6

Grup 5b; LPS (5mg/kg ip) + ETA (1 mg/kg ip) + Thalidomide (0.5mg/kg ip) n=6

2.1.2. Anestezi Uygulaması

Deneklere hayvanlar ketamin 0.7 mg/kg (Ketalar ®, Pfizer Pharma GMBH, Almanya) ve ksilazin 10 mg/kg (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Hollanda)karışımı ile anesteziye edildi. Anestezi sonrası heparinize enjektör ile intrakardiyak kan alındı.

2.1.3. Deneysel Sepsis Modelinin Oluşturulması

Hayvanlarda sepsis oluşturulması Lipopolisakkarid (LPS) uygulamasıyla gerçekleştirildi. Ratların ağırlıklarına göre LPS ve uygulanan ilaçların dozları aşağıdaki şekilde hesaplandı. TNF- α blokörleri olan Thalidomid ve Etanercept tedavi amaçlı kullanıldı. Sham grubuna ip yolla 1 ml serum fizyolojik verildi. LPS grubuna ise Sepsis oluşturmak üzere serum fizyolojikle sulandırılmış lipopolisakkarid (LPS; E. coli endotoksin serotip 0111:B4) 5mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı. Lipopolisakkarid + Thalidomide grubuna LPS uygulanmasından yarım saat sonra tek başına serum fizyolojik + Dimetilsülfoksit (DMSO) içinde süspanse edilerek Thalidomide (0.5 mg/kg; intraperitoneal), Lipopolisakkarid + Etanercept grubuna Etanercept (1 mg/kg; intraperitoneal) ve Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubuna Thalidomide (0.5 mg/kg; intraperitoneal), ETA (1 mg/kg; intraperitoneal) olarak eş zamanlı uygulandı. Deneklerden 3. (n=6) ve 6.(n=6) saatlerde anestezi altında intrakardiyak kan örnekleri alındı. Kan örneklerinin

alınmasıyla eş zamanlı olarak sıçanların beyin dokusu çıkarılarak %10'luk formole alınılarak fiske edildi.

2.1.4. Biyokimyasal analizler

Deney süresi sonunda hayvanlar steril aletler kullanılarak sakrifiye edildi, kan örnekleri analizler için EDTA'lı tüplere alındı. Alınan kanlar 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek (HeraeusBiofugeStratos; KendoLaboratoryProducts, Osterode-Germany) plazma ayrıldı. Ayrılan plazma eppendorf tüplere bölüşerek -80°C'de bekletildi ve biyokimyasal parametrelerin ölçümleri için saklandı. TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL1- β , IL-6 TAS ve MDA seviyeleri kendilerine uygun metodlarla tayin edildi.

2.2. Rat PSPN (Presepsin) Düzeylerinin Ölçümü

Rat presepsin düzeyleri, PSPN ELISA kiti (SunRed, katalog no; 201-11-5366, Shanghai) kullanılarak kit yöntemine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTekInstruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi. Kitin ölçüm aralığı 5-1500 pg/mL ve sensitivitesi 4,233 pg/mL idi.

2.3. TNF- α Düzeylerinin Ölçümü

Tümör nekrozis faktör-alfa düzeyleri, rat TNF- α ELISA kiti (SunRed, katalog no; 201-11-0765, Shanghai) kullanılarak kit yöntemine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (Bio Tek Instruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar ng/L olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı 8-1000 ng/L ve sensitivitesi 5,127 ng/L idi.

2.4. Rat NF κ B Düzeylerinin Ölçümü

Rat NF κ B düzeyleri, rat Rat NF κ B kiti (SunRed, katalog no; 201-11-0288, Shanghai) kullanılarak kit yöntemine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTekInstruments,

USA) kullanıldı. Sonuçlar ng/mL olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı 0,08-20 ng/mL ve sensitivitesi 0,072 ng/L idi.

2.5. IL1- β Düzeylerinin Ölçümü

İnterlökin-1- β düzeyleri, rat IL1- β ELISA kiti (SunRed, katalog no; 201-11-0120, Shanghai) kullanılarak kit yöntemine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTekInstruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar pg/L olarak belirtildi Kitin ölçüm aralığı 25-8000pg/L ve sensitivitesi 20,118 pg/L idi.

2.6. IL-6 Düzeylerinin Ölçümü

İnterlökin-6 düzeyleri, rat IL 6 ELISA kiti (SunRed, katalog no; 201-11-0136, Shanghai) kullanılarak kit yöntemine uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTekInstruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar pg/mL olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı 2-600 pg/mL ve sensitivitesi 1,822 pg/mL idi.

2.7. TAS Düzeylerinin Ölçümü

Total antioksidan stres düzeyleri Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda otoanalizörle (Siemens Advia 2400 ChemistrySystem, Siemens, Tokyo, Japonya) Rel Assay Total Antioxidant Status Test Kiti kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar mmolTroloxEquiv./L olarak belirtildi. Kitin lineeritesi 0-2,75 mmolTroloxEquiv./L, ölçüm aralığı ise 1,20-1,50 mmol/L idi.

2.8. MDA Düzeylerinin Ölçümü

Serum MDA düzeyleri lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak ölçüldü. Serum örneklerindeki proteinler asitle çöktürüldükten sonra 4500x g de 5 dakika santrifüjlendi. Elde edilen supernatant üzerine TBA ayırıcı eklenerek 45 dakika 90°C su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası elde edilen TBA-MDA ürünü isobutanol ile ekstrakte edildi. Bütanol fazından 20 μ l high-performance liquid chromatography (HPLC) sistemine enjekte edilerek ölçümler gerçekleştirildi. 1,1,3,3-

tetraethoxypropane MDA standardı olarak kullanıldı ve sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

2.9. Histolojik Değerlendirme

2.9.1. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5-6 μm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05% 'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37° C' de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 μl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. TUNEL Boyama Prosedürü.

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15 dakika
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1: 500 d ilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3X5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2ml) + Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5 dakika
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16	PBS	3X5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5 dakika
22	Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.	

2.10. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel hesaplamaların tamamı mikro işlemci yardımı ile ticari istatistik paket programı (SPSS PC, Ver.12.0; SPSS Inc., USA) kullanılarak yapılmıştır. Sayısal değerler ortalama $\pm$ standart ortalama hatası (mean $\pm$ SEM) olarak ifade edilmiştir. Önce tüm gruplar arasında ‘‘Kruskal Wallis’’ testi ile analiz yapıldıktan sonra, anlamlı sonuç veren grupların ikiserli olarak karşılaştırılmalarında denek sayısına uygun olarak nonparametrik bir yöntem olan ‘Mann Whitney U Test’ kullanıldı. $p < 0,05$ değerler anlamlı olarak kabul edildi (174).

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler

Tüm gruplarda, sakrifikasyon esnasında alınan kan örneklerinde sepsis sürecinde belirleyici olduğu düşünülen TNF-a ve NFκB, presepsin, IL-1β, IL-6 ve TAS, MDA düzeyleri çalışılmıştır.

1-Plazma Tnf Alfa Sonuçları

1a) TNF ALFA 3. Saat

Tümör nekrozis faktör-alfa 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. TNF-α 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-3. saat	TNF-alfa (ng/L)
Sham	89.103 ±2.87
Lps	151.68±33.61 ^a
Lps + Talid	94.15 ±3.53 ^{ab}
Lps + Etanspt	116.31 ±4.32 ^{abc}
Lps + Talid + etan	118.85± 2.09 ^{ac}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubuna göre; d, lps + etanspt grubuna göre anlamlı fark vardır. P<0.05.

Plazma TNF-α 3. Saat değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS, Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide gruplarında TNF-α değerlerinde anlamlı artış gözlemlendi (P<0.05).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide ve Lipopolisakkarid + Etanercept gruplarında TNF-α değerleri anlamlı olarak azaldı (P<0.05).

Lipopolisakkarit grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu TNF-α değerlerinde anlamlı değer saptanmadı (P>0.05).

Lipopolisakkarid + Thalidomid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu TNF- α degerleri annamlı olarak arttı ($P<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubunda TNF- α degerleri anamlı deger saptanmadı ($p>0.05$).

2a) TNF ALFA 6.Saat

Tümör nekrozis faktör-alfa 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 9'de gösterilmiştir

Tablo 9. TNF- α 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-6. saat	TNF-alfa (ng/L)
Sham	89.103 $\pm$ 2.87
Lps	175.05 $\pm$ 7.38 ^a
Lps + Talid	138.84 $\pm$ 19.32 ^{ab}
Lps + Etanspt	146.64 $\pm$ 20.70 ^{ab}
Lps + Talid + etan	130.79 $\pm$ 8.34 ^{ab}

Veriler ortalama $\pm$ standart (ort $\pm$ ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır. $P<0.05$

Plazma TNF- α 6. Saat değerleri için yapılan istatiksels analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS, Lipopolisakkarid + Thalidomid, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide gruplarında TNF- α degerleri anamlı artış izlendi ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid+ Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept gruplarında TNF- α degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu Lipopolisakkarid + Thalidomide grubunda TNF- α annamlı deger saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etabercept grubu karşılaştırıldığında TNF-anamlı deger saptanmadı ($p>0.05$).

3a) TNF ALFA 3. ve 6.Saat Karşılaştırması

Plazma TNF- α değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo 10'de verilmiştir.

Tablo 10. Plazma TNF- α değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması

TNF-alfa (ng/L)	Gruplar-3. saat	Gruplar-6. saat	P değeri
Lps	151.68 $\pm$ 33.61	175.05 $\pm$ 7.38	0.120
Lps + Talid	94.15 $\pm$ 3.53	138.84 $\pm$ 19.32	0.001
Lps + Etanspt	116.31 $\pm$ 4.32	146.64 $\pm$ 20.70	0.001
Lps + Talid + etan	118.85 $\pm$ 2.09	130.79 $\pm$ 8.34	0.001

Plazma TNF- α 3. Saat ile Plazma TNF- α 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş TNF- α degerlerinde anlamlı değer saptanmadı. $P<0.05$

Lipopolisakkarid + Thalidomide 3.saat ile Lipopolisakkarid + Thalidomide 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide 6 saat grubunda TNF- α degerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Etanercept 6.saat karşılaştırıldığında TNF- α degerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubunda TNF- α degerleri anlamlı olarak arttı ($p>0.05$).

2a) Presepsin 3.Saat

Presepsin 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Presepsin 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-3. saat	Presepsin (pg/mL)
Sham	106.37 $\pm$ 18.43
Lps	168.18 $\pm$ 28.47 ^a
Lps + Talid	100.21 $\pm$ 14.48 ^b
Lps + Etanspt	85.67 $\pm$ 14.96 ^b
Lps + Talid + etan	23.58 $\pm$ 2.64 ^{abcd}

Veriler ortalama $\pm$ standart (ort $\pm$ ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, grubu presepsin degerlerinde anlamlı değer saptanmadı ($p>0.05$).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu presepsin degerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubunda presepsin degerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu presepsin değerlerinde anlamlı değer saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu presepsin degerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu presepsin degerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

2b) PRESEPSİN 6. Saat

Presepsin 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 12 de gösterilmiştir.

Tablo 12. Presepsin 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-6. saat	Presepsin (pg/mL)
Sham	106.37±18.43
Lps	178.12±24.61 ^a
Lps + Talid	169.82±9.87 ^a
Lps + Etanspt	108.03±36.53 ^{bc}
Lps + Talid + etan	8.47±0.68 ^{abcd}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Plazma presepsin 3. Saat değerleri için yapılan istatiks l analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS, Lipopolisakkarid + Thalidomide presepsin degerlerinde anlamlı artış gözlendi ($P<0.05$).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu presepsin değerlerinde annamlı değişiklik saptanmadı ($p>0.05$).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu presepsin değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu presepsin degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu presepsin degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu presepsin degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

2c) Presepsin 3. ve 6. Saat Karşılaştırması

Plazma presepsin degerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo 13 de verilmiştir.

Tablo 13. Plazma presepsin degerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo

Presepsin (pg/mL)	Gruplar-3. saat	Gruplar-6. saat	P değeri
Lps	168.18±28.47	178.12±24.61	0.530
Lps + Talid	100.21±14.48	169.82±9.87	0.001
Lps + Etanspt	85.67 ±14.96	108.03±36.53	0.230
Lps + Talid + etan	23.58± 2.64	8.47±0.68	0.001

Plazma presepsin 3. Saat ile Plazma presepsin 6. Saat değeri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş presepsin degerlerinde anamlı değer saptanmadı. $P<0.05$

Lipopolisakkarid + Thalidomide 3.saat ile Lipopolisakkarid + Thalidomide 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide 6 saat grubunda presepsin degerleri anamlı olarak arttı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Etanercept 6.saat grubunda karşılaştırıldığında presepsin degerlerinde anamlı değer saptanmadı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubunda presepsin degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

3a) NFκB 3.Saat

Nükleer Faktör Kappa B 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 14’de gösterilmiştir.

Tablo 14. NFκB 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-3. saat	(NFκB) (ng/mL)
Sham	2.09 ± 0.11
Lps	3.22±0.68 ^a
Lps + Talid	0.36 0±.19 ^{ab}
Lps + Etanspt	0.37 ±0.08 ^{ab}
Lps + Talid + etan	0.41± 0.08 ^{ab}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır. (P<0.05).

Plazma NFκB 3. Saat değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS NFκB degerlerinde anamlı artış gözlendi (P<0.05).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu NFκB degerleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu NFκB değerlerinde anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid + Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu NFκB değerlerinde anamlı değer saptanmadı (p>0.05).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu NFκB değerlerinde annamlı değer saptanmadı (p>0.05).

3b) NFκB 6.Saat

Nükleer Faktör Kappa B 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 15’de gösterilmiştir.

Tablo 15. NFκB 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-6. saat	(NFκB) (ng/mL)
Sham	2.09 ± 0.11
Lps	3.28 ±0.33 ^a
Lps + Talid	0.53 ±0.09 ^{ab}
Lps + Etanspt	1.60± 0.20 ^{abc}
Lps + Talid + etan	1.64±0.30 ^{abc}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır P<0.05.

Plazma NFκB 6. Saat değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS NFκB degerlerinde anamlı artış gözlemlendi (P<0.05).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu NFκB değeleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu NFκB değerleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu NFκB değerleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid + Thalidomide grubu ile L karşılaştırıldığında PS + Thalidomide + Etanercept grubu NFκB degerlerleri annamlı olarak arttı (p<0.05)

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu NFκB degerlerinde anamlı değer saptanmadı (p>0.05).

3c) NFκB 3. ve 6.Saat Karşılaştırması

Plazma NFκB değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo 16 de verilmiştir.

Tablo 16. Plazma NFκB değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması

(NFκB) (ng/mL)	Gruplar-3. saat	Gruplar-6. saat	P değeri
Lps	3.22±0.68	3.28 ±0.33	0.840
Lps + Talid	0.36 0±.19	0.53 ±0.09	0.096
Lps + Etanspt	0.37 ±0.08	1.60± 0.20	0.001
Lps + Talid + etan	0.41± 0.08	1.64±0.30	0.001

Plazma NFκB 3. Saat ile Plazma NFκB 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş NFκB degerlerinde anamlı değer saptanmadı ($P<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide 3.saat ile Lipopolisakkarid + Thalidomide 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide 6 saat grubunda NFκB degerlerinde annamlı değer saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında NFκB degerleri anamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında NFκB degerlerinde annamlı olarak arttı ($p<0.05$).

IL-1 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 17' de gösterilmiştir.

4a) IL-1 BETA 3.Saat

Tablo 17. IL-1 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-3. saat	IL 1 beta(pg/mL)
Sham	542.61± 163.99
Lps	913.57 ±72.34 ^a
Lps + Talid	285.62 ±57.97 ^{ab}
Lps + Etanspt	190.37 ±49.44 ^{abc}
Lps + Talid + etan	154.57±37.83 ^{abc}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu IL-1β degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-1 β değerlerinde anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu IL-1 β değerlerinde anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu IL-1 β değerlerinde anlamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-1 β değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-1 β değerlerinde anlamlı değeri saptanmadı. $P>0,05$

4b) IL-1 BETA 6.Saat

İnterlökin-1 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 18'de gösterilmiştir

Tablo 18. IL-1 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-6. saat	IL 1 beta(pg/mL)
Sham	542.61 $\pm$ 163.99
Lps	1498.12 $\pm$ 81.20 ^a
Lps + Talid	778.31 $\pm$ 418.20 ^b
Lps + Etanspt	1309.65 $\pm$ 129.47 ^{abc}
Lps + Talid + etan	1111.06 $\pm$ 161.44 ^{abc}

Veriler ortalama $\pm$ standart (ort $\pm$ ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubuna göre; d, lps + etanspt grubuna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Plazma IL-1 β 6. Saat değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS IL-1 β değerlerinde anlamlı artış gözlemlendi ($P<0.05$).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide grubu IL-1 β anlamlı değeri saptanmadı ($p<0.05$).

Sham grubu karşılaştırıldığında ile Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu IL-1 β değerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-1 β değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu IL-1 β değerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept IL-1 β değerlerinde anlamlı değer saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-1 β değerlerinde anlamlı olarak azaldı ($p>0.05$).

4c) IL-1 BETA 3.ve 6.Saat Karşılaştırması

Plazma IL 1 beta değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo 19’de verilmiştir.

Tablo 19. Plazma IL 1 beta değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması

IL 1 beta(pg/mL)	Gruplar-3. saat	Gruplar-6. saat	P değeri
Lps	913.57 $\pm$ 72.34	1498.12 $\pm$ 81.20	0.001
Lps + Talid	285.62 $\pm$ 57.97	778.31 $\pm$ 418.20	0.017
Lps + Etanspt	190.37 $\pm$ 49.44	1309.65 $\pm$ 129.47	0.001
Lps + Talid + etan	154.57 $\pm$ 37.83	1111.06 $\pm$ 161.44	0.001

Plazma IL-1 β 3. Saat ile Plazma IL-1 β 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş IL-1 β degerlerinde anlamlı artış izlendi ($P<0.05$)

Lipopolisakkarid + Thalidomide 3.saat ile Lipopolisakkarid + Thalidomide 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide 6 saat grubunda IL-1 β degerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında IL-1 β degerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında IL-1 β değerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

5a) IL-6 3.Saat

IL-6 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 20’de gösterilmiştir.

Tablo 20. IL-6 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-3. saat	IL-6 (pg/mL)
Sham	34.37± 15.44
Lps	63.01±4.34 ^a
Lps + Talid	13.85±2.87 ^{ab}
Lps + Etanspt	8.36±2.71 ^{abc}
Lps + Talid + etan	40.42±9.08 ^{abc}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır (P<0.05).

Plazma IL-6 3. Saat değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS grubunda IL-6 degerlerinde anamlı artış gözlemlendi (P<0.05).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu IL-6 degerlerinde anamlı değer saptanmadı. P> 0,05

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept grubu karşılaştırıldığında IL-6 degerleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu karşılaştırıldığında IL-6 değerlerinde anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu IL-6 degerleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-6 degerleri anamlı olarak arttı (p<0.05).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept IL-6 degerleri anamlı olarak arttı (p<0.05).

IL-6 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 21’de gösterilmiştir.

5b) IL-6 6.Saat

Tablo 21. IL-6 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-6. saat	IL-6 (pg/mL)
Sham	34.37± 15.44
Lps	117.73±13.18 ^a
Lps + Talid	103.62±19.00 ^a
Lps + Etanspt	108.62±15.70 ^a
Lps + Talid + etan	86.36±15.59 ^{abc}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır (P<0.05).

Plazma IL-6. Saat değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS IL-6 degerlerinde anamlı artış gözlemlendi (P<0.05).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu IL-6 degerleri anamlı olarak arttı (p>0.05).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept gruplarında IL-6 değelerinde anamlı değer saptanmadı (p>0.05).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-6 değerleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-6 degerlerinde annamlı değer saptanmadı (p>0.05).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu IL-6 değerleri anamlı olarak azaldı (p<0.05).

5c) IL-6 3.ve 6.SAAT Karşılaştırması

Plazma IL-6 değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo 22’de verilmiştir.

Tablo 22. Plazma IL-6 değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması

IL-6 (pg/mL)	Gruplar-3. saat	Gruplar-6. saat	P değeri
Lps	63.01±4.34	117.73±13.18	0.001
Lps + Talid	13.85±2.87	103.62±19.00	0.001
Lps + Etanspt	8.36±2.71	108.62±15.70	0.001
Lps + Talid + etan	40.42±9.08	86.36±15.59	0.001

Plazma IL-6 3. Saat ile Plazma IL-6 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş IL-6 değerlerinde anamlı artış izlendi ($P<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide 3.saat ile Lipopolisakkarid + Thalidomide 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide 6 saat grubunda IL-6 değerleri anamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept 3.saat karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında IL-6 değerleri anamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında IL-6 değerleri annamlı olarak arttı ($p>0.05$).

6a) TAS 3.Saat

Total antioksidan stres (TAS) 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 23’de gösterilmiştir.

Tablo 23. TAS 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-3. saat	TAS (mmol/L)
Sham	3.21 $\pm$ 0.52
Lps	2.31 $\pm$ 0.23 ^a
Lps + Talid	3.38 $\pm$ 0.66 ^b
Lps + Etanspt	3.32 $\pm$ 0.43 ^b
Lps + Talid + etan	2.02 $\pm$ 0.06 ^{abcd}

Veriler ortalama $\pm$ standart (ort $\pm$ ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubna göre; d, lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Plazma TAS 3. Saat değerleri için yapılan istatiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide TAS değerlerinde anamlı azalma gözlendi ($P<0.05$).

Sham grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept grubu TAS değerleri anamlı değer saptanmadı ($P>0,05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubularında TAS değerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid+ Thalidomide + Etanercept grubu karşılaştırıldığında TAS değerlerinde anlamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu TAS değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Total Antioksidan Stres 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 24’de gösterilmiştir.

6b) TAS 6.Saat

Tablo 24. TAS 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-6. saat	TAS (mmol/L)
Sham	3.21 $\pm$ 0.52
Lps	1.31 $\pm$ 1 0.23 ^a
Lps + Talid	1.99 $\pm$ 0.19 ^{ab}
Lps + Etanspt	2.00 $\pm$ 0.19 ^{ab}
Lps + Talid + etan	2.04 $\pm$ 0.13 ^{ab}

Veriler ortalama $\pm$ standart (ort $\pm$ ss) sapma olarak ifade edildi. a, sham grubuna göre; b, lps grubuna göre; c, lps + talid grubuna göre; d, lps + etanspt grubuna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Plazma TAS 6. Saat değerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS, Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu TAS değerlerinde anlamlı azalma gözlemlendi ($P<0.05$).

Lipopolisakkarit grubu ile Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid+Thalidomide + Etanercept grubu karşılaştırıldığında TAS değerleri anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept gruplarında TAS değerlerinde anlamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu TAS değerlerinde anlamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Plazma TAS değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo 25’de verilmiştir.

6c) TAS 3.ve 6. Saat Karşılaştırması

Tablo 25. Plazma TAS değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması

TAS (mmol/L)	Gruplar-3. saat	Gruplar-6. saat	P değeri
Lps	2.31±0.23	1.31±1 0.23	0.001
Lps + Talid	3.38±0.66	1.99± 0.19	0.001
Lps + Etanspt	3.32±0.43	2.00 ±0.19	0.001
Lps + Talid + etan	2.02±0.06	2.04± 0.13	0.750

Plazma TAS 3. Saat ile Plazma TAS 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş TAS değerlerinde anlamlı azalma izlendi ($P<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide 3.saat ile Lipopolisakkarid + Thalidomide 6.saat grubu karşılaştırıldığında TAS değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Etanercept 6.saat grubunda karşılaştırıldığında TAS değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında TAS değerlerinde anlamlı değer saptanmadı ($p>0.05$).

7a) MDA 3.Saat

Malondialdehit (MDA) 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 26’de gösterilmiştir.

Tablo 26. MDA 3.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-3. saat	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
Sham	0.19 ± 0.08
Lps	0.69 ±0.16 ^a
Lps + Talid	0.63 ±0.15 ^a
Lps + Etanspt	0.82± 0.17 ^a
Lps + Talid + etan	0.37 ±0.08 ^{abc}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a. sham grubuna göre; b. lps grubuna göre; c. lps + talid grubna göre; d. lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Plazma MDA 3. Saat değerleri için yapılan istatiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS. Lipopolisakkarid + Thalidomide. Lipopolisakkarid

+ Etanercept. Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu MDA degerlerinde anamlı artış gözlemlendi ($P<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide. Lipopolisakkarid + Etanercept grubu karşılaştırıldığında MDA değeri anamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu MDA degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu karşılaştırıldığında MDA degerlerinde anamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu karşılaştırıldığında MDA degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu MDA degerleri anamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

7b) MDA 6.Saat

Malondialdehit 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları Tablo 27'de gösterilmiştir.

Tablo 27. MDA 6.saat grubunu oluşturan deney hayvanları

Gruplar-6. saat	MDA ($\mu\text{mol/L}$)
Sham	0.19 ± 0.08
Lps	0.62 ± 0.05^a
Lps + Talid	0.32 ± 0.08^{ab}
Lps + Etanspt	0.38 ± 0.05^{ab}
Lps + Talid + etan	0.46 ± 0.02^{abc}

Veriler ortalama $\pm$ standart (ort $\pm$ ss) sapma olarak ifade edildi. a. sham grubuna göre; b. lps grubuna göre; c. lps + talid grubuna göre; d. lps + etanspt grubuna göre anlamlı fark vardır ($P<0.05$).

Plazma MDA 6. Saat degerleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; sham grubu ile karşılaştırıldığında LPS. Lipopolisakkarid + Thalidomide. Lipopolisakkarid + Etanercept. Lipopolisakkarid + Etanercept + Thalidomide grubu MDA degerlerinde anamlı artış gözlemlendi ($P<0.05$).

Lipopolisakkarid grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide. Lipopolisakkarid + Etanercept. Lipopolisakkarid + Thalidomide +

Etanercept grubu karşılaştırıldığında MDA değerlerinde anlamlı olarak azaldı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Etanercept grubu MDA değerlerinde anlamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid+Thalidomide grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu karşılaştırıldığında MDA değerleri anlamlı olarak arttı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept grubu ile karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu MDA değerlerinde anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Plazma MDA değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması Tablo 28’de verilmiştir.

7c) MDA 3. ve 6.Saat Karşılaştırması:

Tablo 28. Plazma MDA değerlerinin 3. Saat ve 6. Saat karşılaştırılması

MDA ($\mu\text{mol/}$	Gruplar-3. saat	Gruplar-6. saat	p değeri
Lps	0.69 $\pm$ 0.16	0.62 $\pm$ 0.05	0.370
Lps + Talid	0.63 $\pm$ 0.15	0.32 $\pm$ 0.08	0.001
Lps + Etanspt	0.82 $\pm$ 0.17	0.38 $\pm$ 0.05	0.001
Lps + Talid + etan	0.37 $\pm$ 0.08	0.46 $\pm$ 0.02	0.027

Plazma MDA 3. Saat ile Plazma MDA 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş MDA değerlerinde anlamlı anlamlı değeri saptanmadı ($p>0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide 3.saat ile Lipopolisakkarid + Thalidomide 6.saat grubu karşılaştırıldığında Lipopolisakkarid + Thalidomide 6 saat grubunda MDA değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında MDA değerleri anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$).

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept 6.saat grubu karşılaştırıldığında MDA değerlerinde anlamlı olarak arttı ($p<0.05$).

Tüm gruplara ait plazma ELISA sonuçları Tablo 29’de gösterilmiştir.

Tablo 29. Tüm gruplara ait plazma ELISA sonuçları

Gruplar-3. saat	TNF-alfa (ng/L)	Presepsin (pg/mL)	Rat (NFκB) (ng/mL)	RAT IL 1 beta(pg/mL)	RAT IL-6 (pg/mL)	TAS (mmol/L)	MDA (μmol/L)
Sham	89.10±2.87	106.37±18.43	2.09 ± 0.11	542.61± 163.99	34.37± 15.44	3.21 ±0.52	0.19 ± 0.08
Lps	151.68±33.61 ^a	168.18±28.47 ^a	3.22±0.68 ^a	913.57 ±72.34 ^a	63.01±4.34	2.31±0.23 ^b	0.69 ±0.16 ^a
Lps + Talid	94.15 ±3.53 ^{ab}	100.21±14.48 ^b	0.36 0±.19 ^{ab}	285.62 ±57.97 ^{ab}	13.85±2.87 ^{ab}	3.38±0.66 ^b	0.63 ±0.15 ^a
Lps + Etanspt	116.31 ±4.32 ^{abc}	85.67 ±14.96 ^b	0.37 ±0.08 ^{ab}	190.37 ±49.44 ^{abc}	8.36±2.71 ^{abc}	3.32±0.43 ^b	0.82± 0.17 ^a
Lps + Talid + etan	118.85± 2.09 ^{ac}	23.58± 2.64 ^{ab}	0.41± 0.08 ^{ab}	154.57±37.83 ^{abc}	40.42±9.08 ^{bcd}	2.02±0.06 ^{abcd}	0.37 ±0.08 ^{abcd}
Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a. sham grubuna göre; b. lps grubuna göre; c. lps + talid grubna göre; d. lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır. P<0.05.							
Gruplar-6. saat	TNF-alfa (ng/L)	Presepsin (pg/mL)	Rat (NFκB) (ng/mL)	RAT IL 1 beta(pg/mL)	RAT IL-6 (pg/mL)	TAS (mmol/L)	MDA (μmol/L)
Sham	89.10±2.87	106.37±18.43	2.09 ± 0.11	542.61± 163.99	34.37± 15.44	3.21 ±0.52	0.19 ± 0.08
Lps	175.05± 7.38 ^a	178.12±24.61 ^a	3.28 ±0.33 ^a	1498.12± 81.20 ^a	117.73±13.18 ^a	1.31±1 0.23 ^a	0.62± 0.05 ^a
Lps + Talid	138.84±19.32 ^{ab}	169.82±9.87 ^a	0.53 ±0.09 ^{ab}	778.31±418.20 ^b	103.62±19.00 ^a	1.99± 0.19 ^{ab}	0.32± 0.08 ^{ab}
Lps + Etanspt	146.64±20.70 ^{ab}	108.03±36.53 ^{bc}	1.60± 0.20 ^{abc}	1309.65±129.47 ^{abc}	108.62±15.70 ^a	2.00 ±0.19 ^{ab}	0.38± 0.05 ^{ab}
Lps + Talid + etan	130.79 ±8.34 ^{ab}	8.47±0.68 ^{abcd}	1.64±0.30 ^{abc}	1111.06±161.44 ^{abd}	86.36±15.59 ^{abd}	2.04± 0.13 ^{ab}	0.46 ±0.02 ^{abcd}

Veriler ortalama±standart (ort±ss) sapma olarak ifade edildi. a. sham grubuna göre; b. lps grubuna göre; c. lps + talid grubna göre; d. lps + etanspt grubna göre anlamlı fark vardır (P<0.05).

3.2. TUNEL Bulgular

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği tüm gruplarda beyin dokusunda nöroglial hücrelerde (kırmızı ok) gözlemlendi.

TUNEL pozitifliği açısından değerlendirildiğinde; 3. Saat grubunun beyin dokusunda gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi (Tablo 30).

Tablo 30. 3. Saat grubunda Apoptotik indeks (%)

	Apoptotik indeks (%)
Sham	0.33±0.51
Lps	0.66±0.81
Lps + thalidomid	0.50±0.83
Lps + etanercept	0.33±0.81
Lps + thalidomid + etanercept	0.50±0.54

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

6. Saat grubunda ise; sham grubuyla kıyaslandığında LPS grubunda TUNEL pozitifliği anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$). LPS grubuyla kıyaslandığında ise tüm gruplarda TUNEL pozitifliği anlamlı olarak azalmış izlendi ($p<0.05$).

Tablo 31. 3. Saat grubunda Apoptotik indeks (%)

	Apoptotik indeks (%)
Sham	0.33±0.51
Lps	4.33±1.03 ^a
Lps + thalidomid	0.83±1.32 ^b
Lps + etanercept	0.50±0.83 ^b
Lps + thalidomid + etanercept	0.50±1.22 ^b

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a grup 1 ile karşılaştırıldığında.

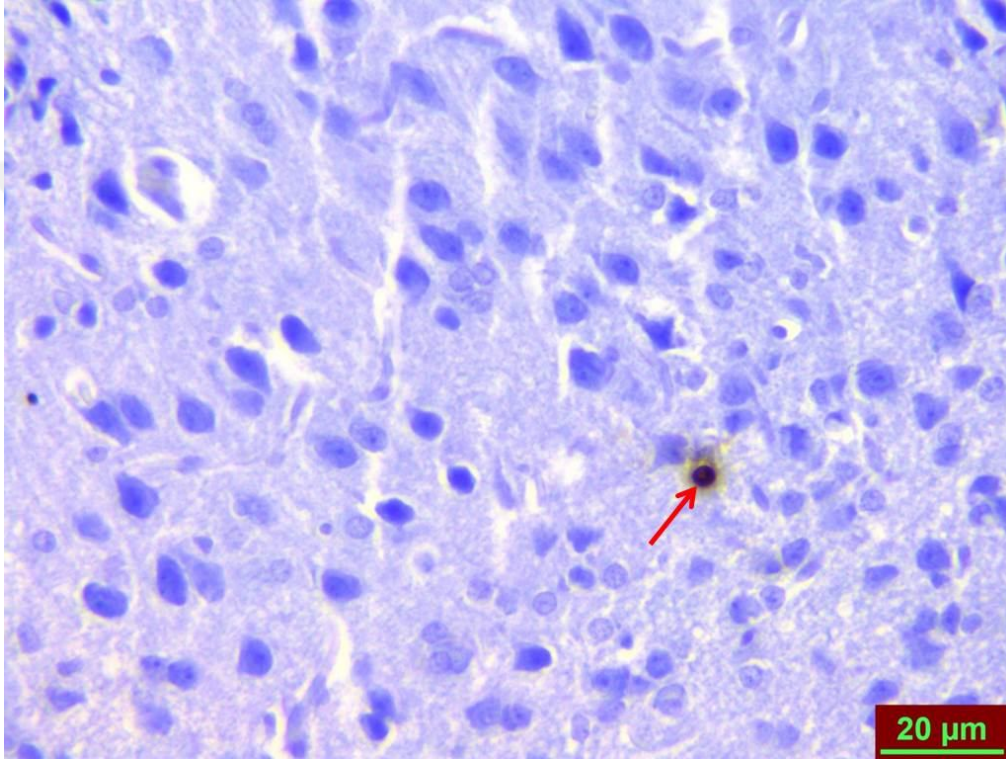
^b grup 2B grubuna göre karşılaştırıldığında ($p<0.05$).

Tüm grupların 3. Saati ile 6. Saati. TUNEL pozitifliği açısından karşılaştırıldığında sadece Lps grubunun 6. Saati. Lps grubunun 3. Saatine göre anlamlı bir artış gösterdi (Tablo 32).

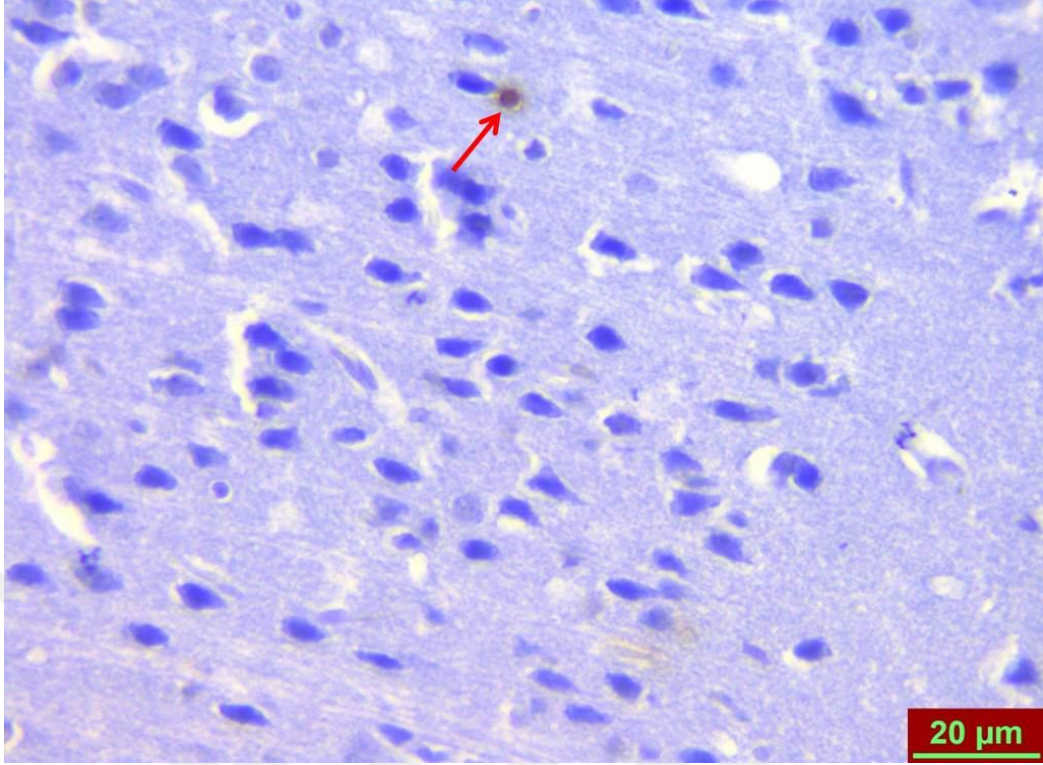
Tablo 32. Tüm grupların 3. Saati ile 6. Saati. TUNEL pozitifliği açısından karşılaştırılması

Apoptotik indeks (%)	3.saat	6.saat
Sham	0.33±0.51	0.33±0.51
lps	0.66±0.81	4.33±1.03 ^a
Lps + thalidomid	0.50±0.83	0.83±1.32
Lps + etanercept	0.33±0.81	0.50±0.83
Lps + thalidomid + etanercept	0.50±0.54	0.50±1.22

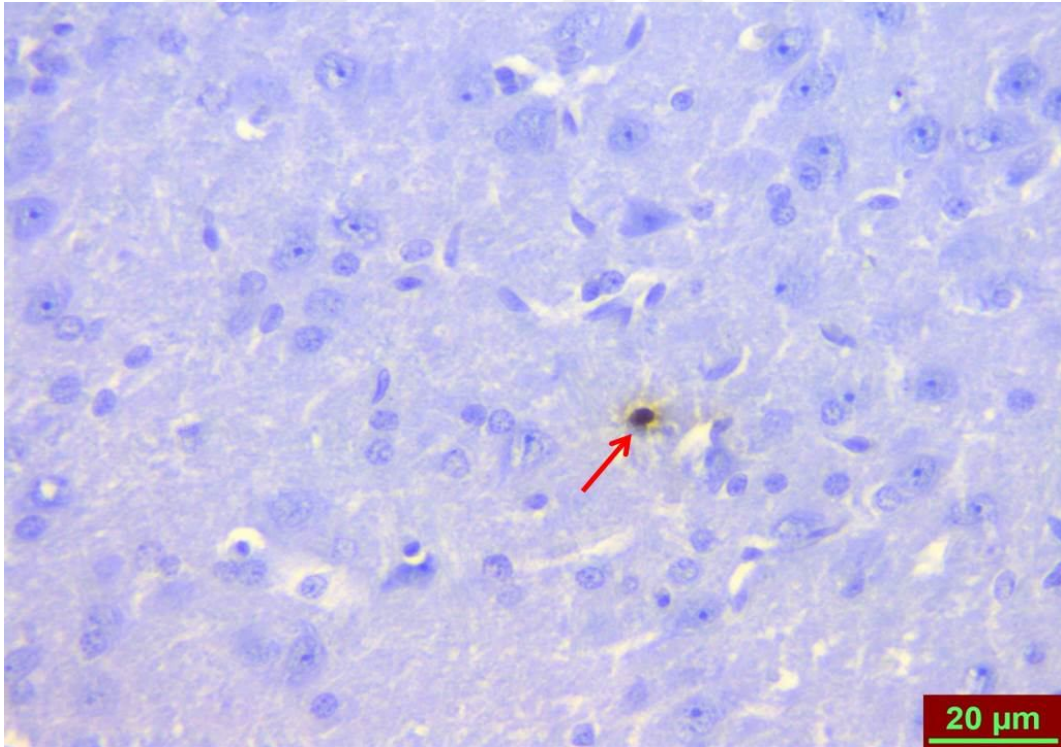
^a 3.saat ile karşılaştırıldığında (p<0.05).



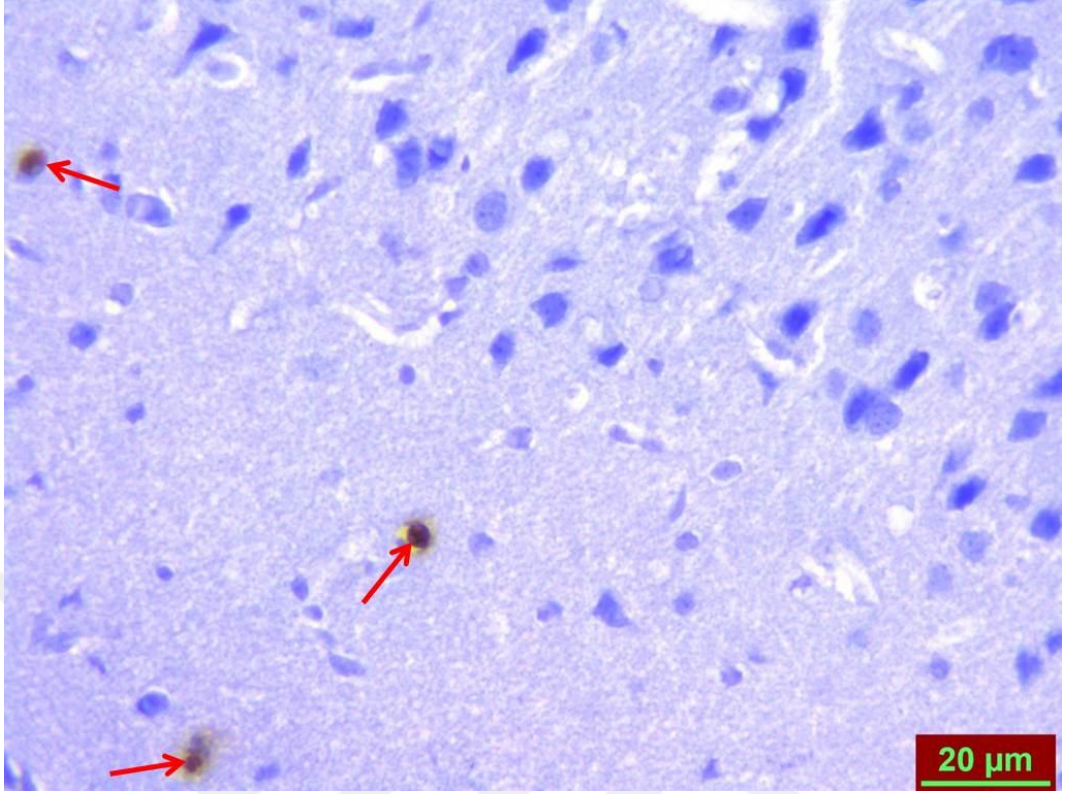
Şekil 3. 1A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



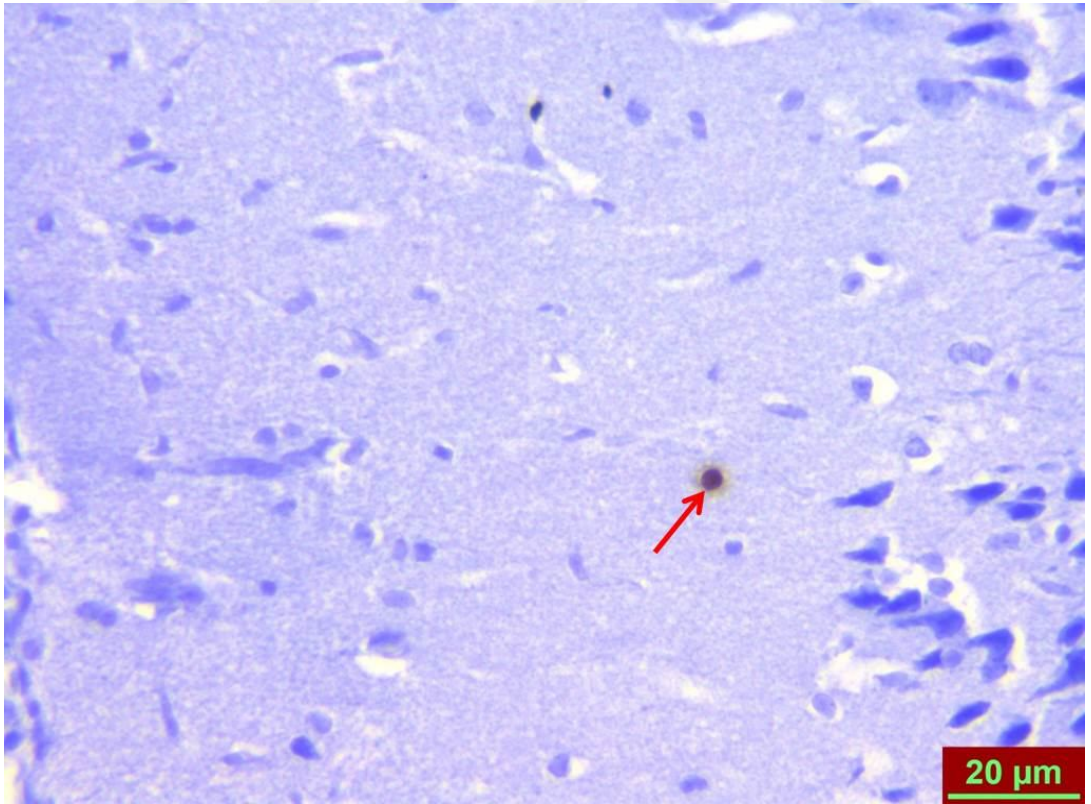
Şekil 4. 1B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



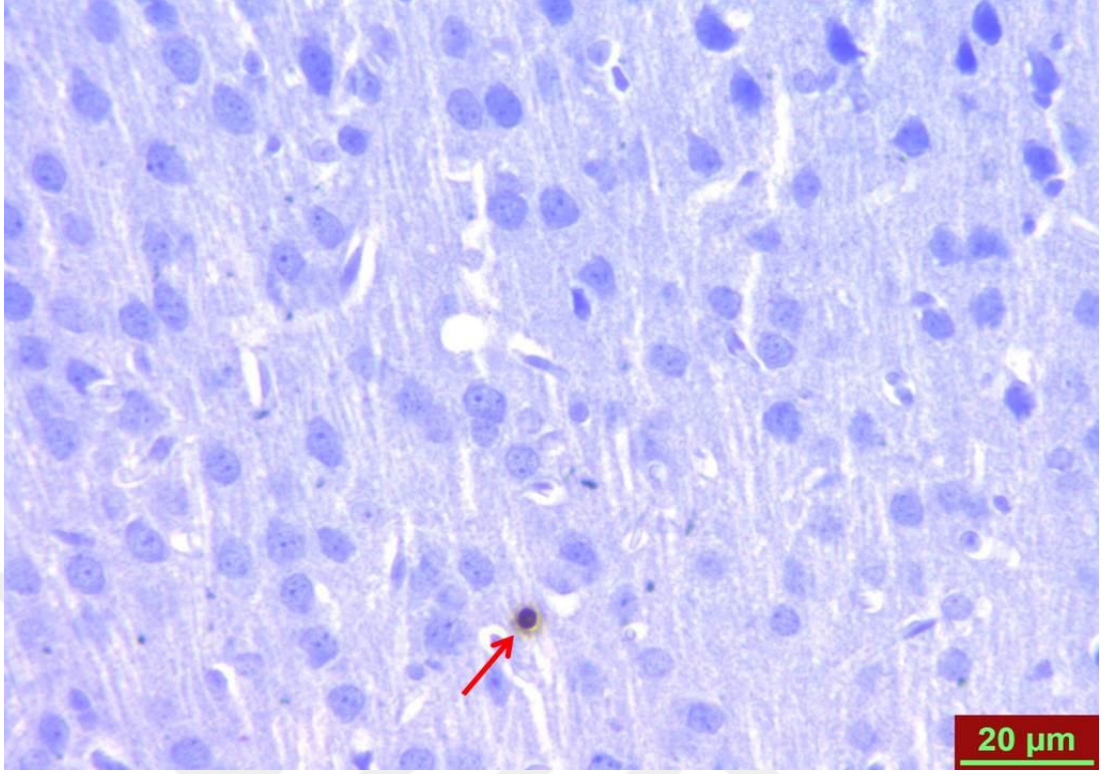
Şekil 5. 2A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



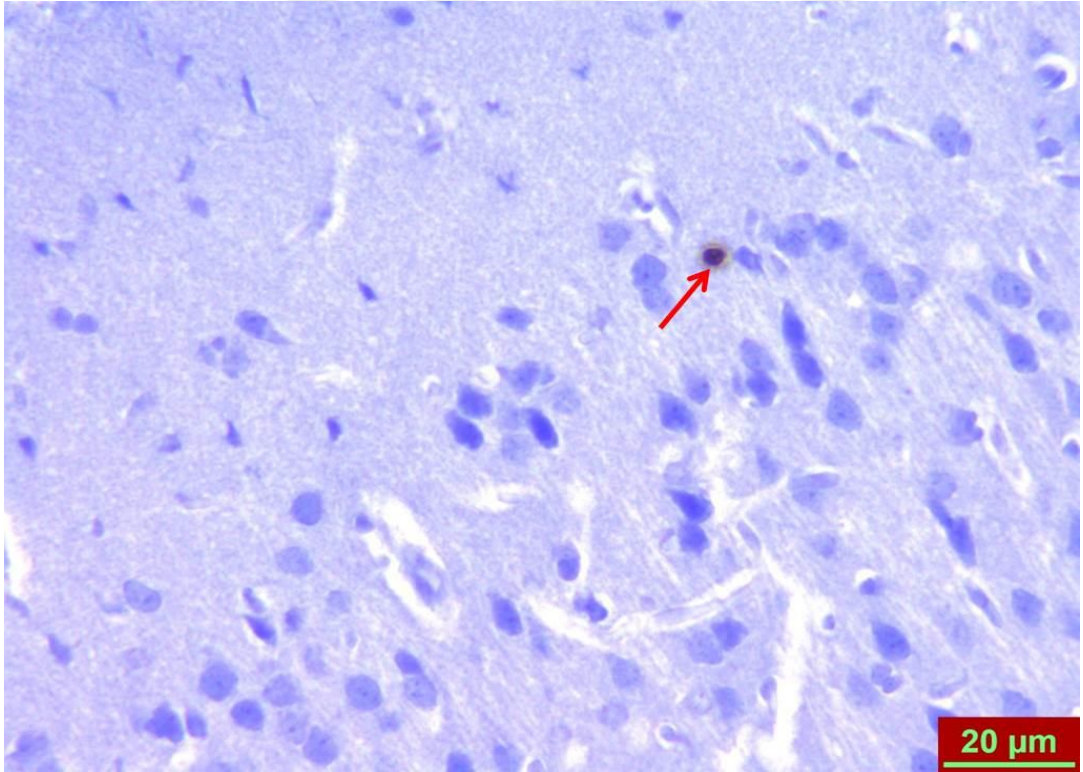
Şekil 6. 2B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



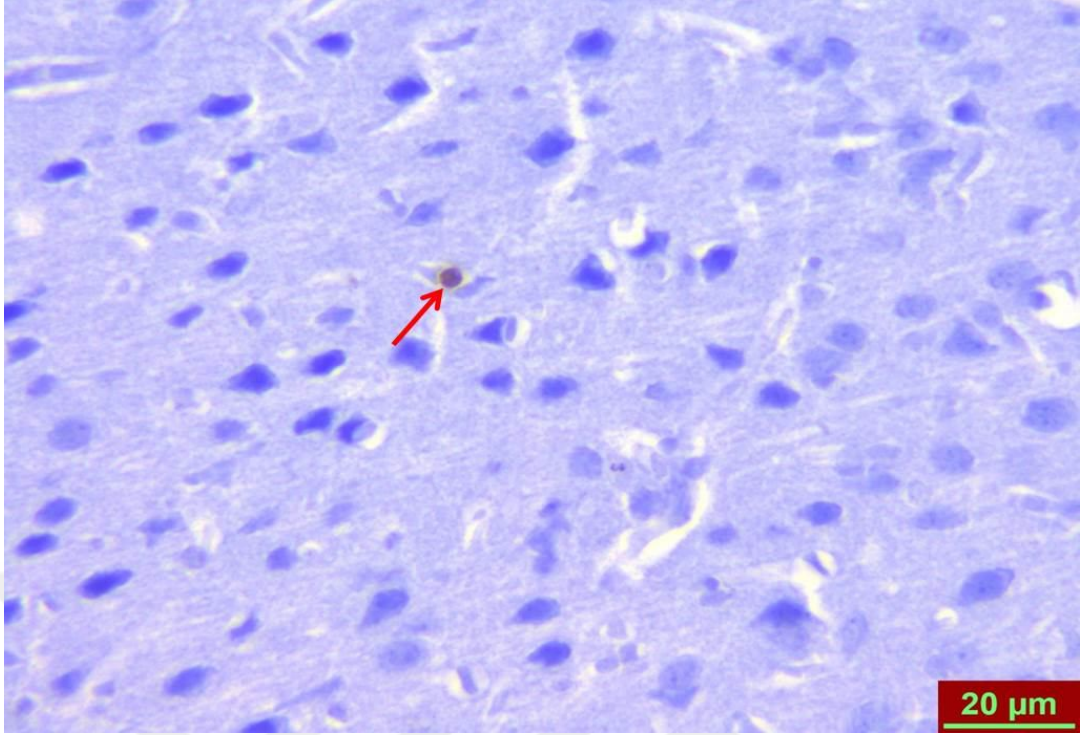
Şekil 7. 3A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



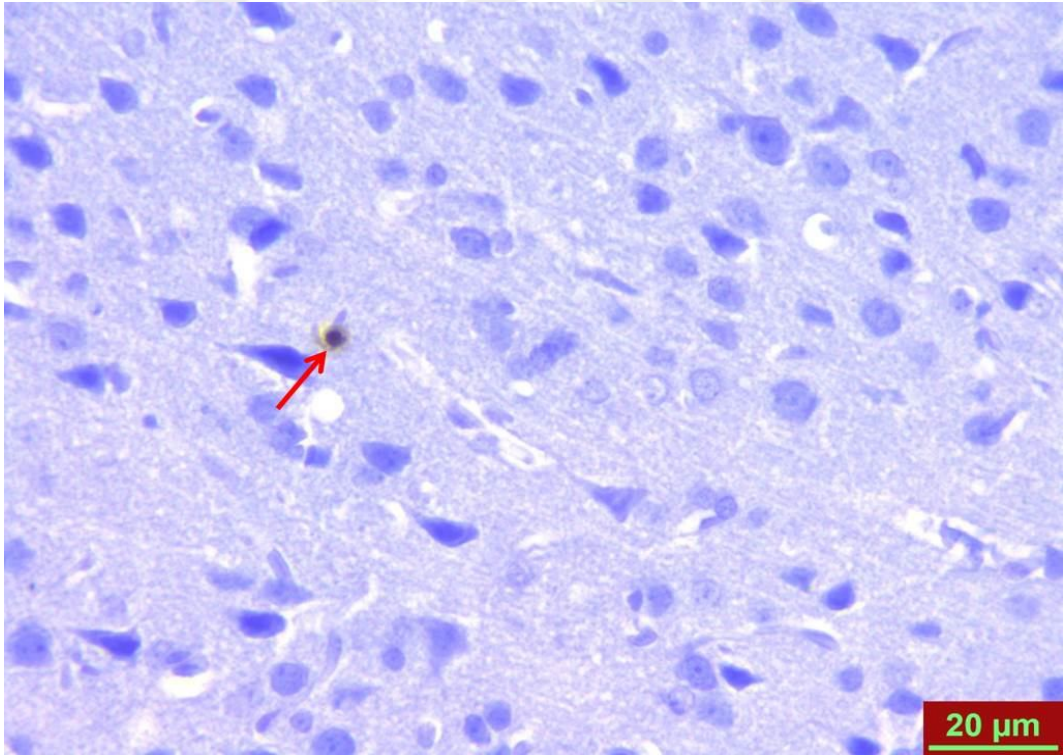
Şekil 8. 3B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



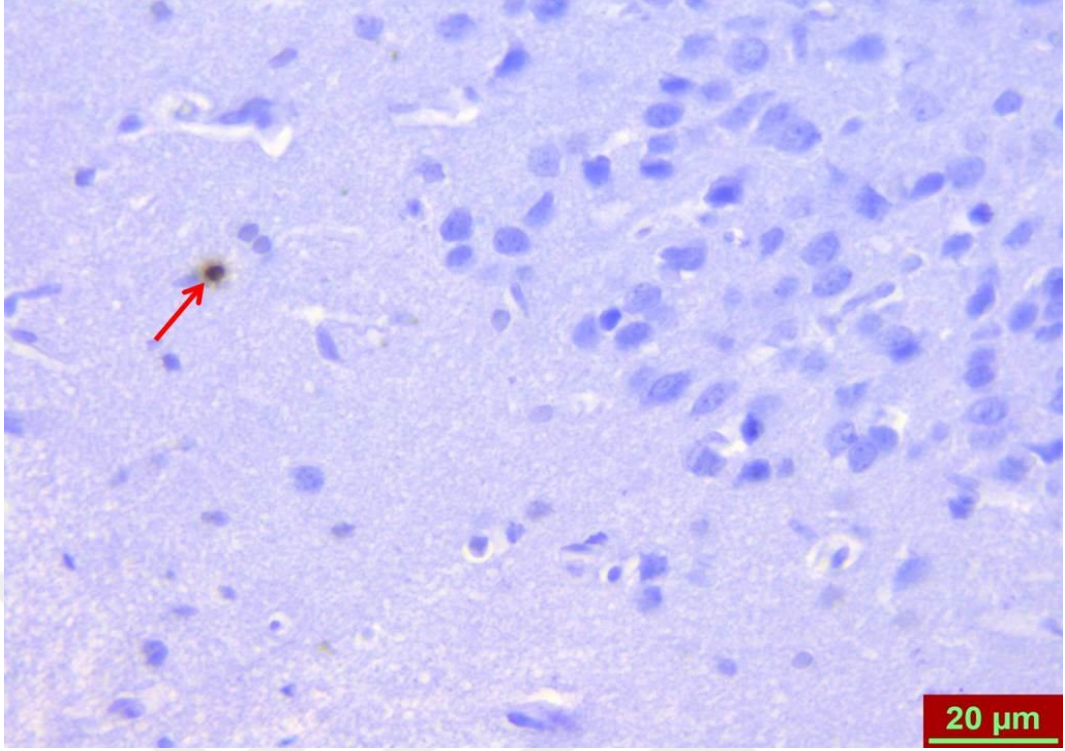
Şekil 9. 4A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 10. 4B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 11. 5A grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 12. 5B grubu beyin dokusu TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).

4. TARTIŞMA

Yenidoğan sepsisi yaşamın ilk bir ayında bakteriyemi ile birlikte olan ve enfeksiyona sistemik bulgularında eşlik ettiği klinik bir sendromdur. Son yıllarda patofizyolojisi iyi tanımlanmış olmasına, tanı yöntemlerindeki teknolojik gelişmelere ve etkili antimikrobiyal tedavilerdeki ilerlemelere rağmen sepsisin tanısındaki zorluklar; mevcut klinik bulgularının nonspesifik olması, prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşam oranlarının artması, yapılan girişimler, ameliyatlar gibi nedenlerle yine de ağır klinik tablolarla varlığını sürdürmektedir. Sepsis oluşumunda, uzun yıllar boyunca ortaya konan hipotezler, deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar ve günümüze kadar gelişen teoriler; infeksiyon sonrası immün sisteme ait aşırı proinflatuar cevabın, çoklu organ hasarına yol açacağı ya da var olan hasarı daha da arttıracığı görüşünü destekler niteliktedir. Sepsis halen yenidoğanlarda önemli mortalite ve morbidite nedenidir. Bu çalışmada, deneysel sepsis modelinin oluşturulması için; literatürde var olan modeller arasından, gerek sıçanlar üzerinde uygulama kolaylığı ve güvenirliliği gerekse septik hastalarda gözlenen hemodinamik ve metabolik değişiklikleri kolayca başlatabilmesi açısından ‘Lipopolisakkarit’ (LPS, E.coli, 0111; B4) indüksiyon modeli seçilmiştir (175, 176).

Hayvan modellerinin hiçbirinde yoğun bakım ünitelerinde uygulanan destekleyici tedaviye benzer bir durum oluşturmak kolay gözükmemekle beraber sepsis patofizyolojisinin anlaşılmasında, klinik deneme öncesi yeni tedavi protokollerinin bulunmasında deneysel modellerin önemi fazladır. Unutulmaması gereken en önemli nokta insanlar üzerindeki klinik çalışmalar öncesinde, ilaçların hayvan deneylerinde mutlaka denenmesi ve incelenmesi gerekliliğidir (177).

Bakteriyel patojenin vücut tarafından tanınması ardından akut inflamatuvar cevap oluşur. Patojenle ilk karşılaşan nötrofil ve makrofaj gibi fagositik bağışıklık sistemi hücreleri bakteriyel bileşeni tanıyarak aktif hale geçer ve pro-inflatuar sitokinler olarak adlandırılan TNF- α , IL-6, IL-1 gibi sitokinleri üretirler ve böylece enfeksiyon bölgesine hem daha çok fagositik hücrenin toplanmasını hem de aktive olmalarını sağlarlar (178).

Biz bu çalışmada intraperitoneal yolla LPS verilen ratlarda oluşan plazmada meydana gelen biyokimyasal değişiklikleri (TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL-1 β , IL6,

TAS ve MDA düzeyleri ile) değerlendirmeyi inflamasyona sekonder beyin doku hasarını histopatolojik olarak ortaya koymayı ve 3.- 6. saat seçeneklerini ekleyerek bu parametrelerdeki zamana bağlı değişimi araştırma amaçlandı.

Günümüzde antiTNF-alfa ilaçların kullanımında klinik endikasyonları genişletmeye yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu nedenle çalışmamızda, ratlar üzerinde oluşturduğumuz deneysel sepsis modelinde TNF-alfa blokerinin (thalidomide ve etanercept) inflamasyon üzerine etkilerini inceledik.

Endotoksemilerde önce pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β) salgılandığı, hastalığın şiddeti ile TNF- α arasında korelasyon olduğu ve enfeksiyonun devamında ise antiinflamatuar sitokinlerin (IL-10) salgılandığı bilinmektedir. Septik şoklarda anti-TNF uygulamalarının faydalı olabileceği ifade edilmiştir (179).

Bizde çalışmamızda anti-TNF olarak Thalidomide ve Etanercept uyguladık. Çalışmamıza benzer şekilde Genovese ve ark ratlarda spinal kord travmasını takiben verilen deksametazonla birlikte etanercept tedavisi inflamasyon ve doku hasarını azatlığını göstermişlerdir (180).

Thalidomidin, TNF- α , IL-6 ve NK- κ B gibi antiinflamatuar mediatörlerin üretimini, anjiogenezi, hücrel adezyon moleküllerinin salınımını baskılayan ve hem proapoptotik hemde antiapoptotik özellikleri olan immunmodülatör ajan olduğunu belinmektedir.

Sepsisin sıçan modellerinde yapılan pek çok çalışmada verilerimizi desteklemek şekilde LPS uygulanmasından 4-14 saat sonra serum TNF- α , IL-1 β ve IL-10 düzeylerinin artmış olduğu saptanmıştır (181).

Tümör nekrozis faktör-alfa, sepsis ve diğer inflamatuvar hastalıkların en önemli araçlarından biridir. IL-1 ile birlikte inflamatuvar yanıt sırasında akut faz cevabı, notrofil adezyonu ve migrasyonu, endotel aktivasyonu, kapiller permeabilite artışı, doku ve organ hasarı, şok benzeri sendrom gelişiminden sorumludur. Hem sistemik inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların hem de sepsisin immun modülasyon tedavisinde TNF- α önemli bir hedef molekul konumundadır (182).

Giardin ve arkadaşları TNF- α yüksekliğinin yenidoğan sepsisini göstermedeki duyarlılığını % 73, özgüllüğünü %96 olarak saptamışlardır (183).

Okuler inflamatuvar hastalıkların özellikle refrakter uveit tedavisinde infliximab, adalimumab, etanercept gibi anti-TNF- α ajanların kullanılması gündeme gelmiştir. Çalışmalarda anti-TNF- α ajanların uveit tedavisinde etkinliğini ortaya koymuşlardır.

Gu ve ark. (184) iskemi/reperfüzyon modelinde TNF- α 'nın iskemi sonrası inflamasyonu uyardığını göstermişler.

Oberholzer ve ark. (185) hem TNF- α ve hem de IL-6 sepsiste sonucu etkileyebilecek önemli prognostik belirteç olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda da kullanılan Etanercept'in TNF inhibisyonunu sağladığı romatoid artrit aktivitesini azalttığı daha önceden gösterilmiştir (182).

Etanercept anti-inflamatuvar etkilerini TNF'ye bağlanarak hücre yüzeyi reseptörleriyle etkileşmesini önleyerek göstermektedir. Di Paola ve ark etanerseptle tedavinin TNF- α aktivitesini, nötrofillerin infiltrasyonunu, hücre apoptozunu, iNOS ve nitrotirozin oluşumunu azalttığını göstermişlerdir. Bu bulgulara göre, Di Paola ve ark. (186) TNF- α 'nın oluşumunu azaltabilecek girişimlerin bizim çalışmamızda da saptadığımız gibi lokal ya da sistemik inflamasyonda yararlı olabileceğini önermişlerdir.

Deney hayvanlarında yapılan inme modellerinde ekzojen olarak verilen TNF- α iskemik beyin hasarını alevlendirmekteyken, TNF inhibitörleriyle tedavi ise beyin hasarını azaltmaktadır. Bu verilerle uyumlu olarak, Cora ve ark etanercept ile TNF- α 'nın inhibisyonunun neonatal hipoksik iskemiye takiben nörokoruyucu olduğunu vurgulamışlardır (187).

Triantafillidis ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde infliximabın 5/10/15 mg/kg dozlarında antiinflamatuvar etkinliği araştırmışlardır. TNF-alfa düzeyleri değerlendirildiğinde tüm tedavi verilen gruplarda anlamlı bir azalma saptanırken 5 mg/kg Infliximab verilen grupta doku TNF-alfa düzeyleri diğer gruplara göre daha düşük olduğunu bulunmuşlardır (188).

Francis ve ark. (189) Ranitidin'nin (RAN) hepatotoksitesindeki rolünü aydınlatmak üzere yaptıkları çalışmada LPS'nin dolaşımdaki TNF-alfa konsantrasyonunu artırdığını tedavi olarak Ranitidin verilmesinin sadece LPS verilen gruba göre hepatosellüler hasardan önce TNF-alfa artışını hızlandırdığını göstermişlerdir. Benzer etkiler serum interlökin (IL)-1 beta,, IL-6 ve IL-10'da

gözlenmemiştir. TNF-alfa 'nın LPS/RAN tarafından indüklenen hepatotoksistitede nedensel bir rol oynayıp oynamadığının belirlenmesi için, ratlara ya TNF-alfa sentezini bloke etmek üzere pentoksifilin, yada TNF-alfa hücrel reseptörlere erişme yetisini engellemek üzere etanercept ve LPS, RAN verilmiş. Hepatosellüler hasar, inflammatuar araçların salınımı, hepatik nötrofil (PMN) birikimi ve koagülasyon ve fibrinoliz biyobelirteçleri ölçülmüş. Aynı çalışmada TNF-alfablokörleri Pentoksifilin ya da Etanercept ile önceden tedavi verilmesinin karaciğer hasarını azalttığı ve eş zamanlı olarak LPS/RAN ile tedavinin TNF-alfa, IL-1b, IL-6 biyobelirteçlerinin dolaşımdaki konsantrasyonlarının azalttığını tespit etmişlerdir (189).

Çalışmamızda plazmada TNF-alfa düzeylerine baktığımızda 3. saatte LPS grubunda anlamlı miktarda TNF- α artışı olduğunu ve sepsis modelinin oluştuğunu belirledik. 3. saatte tedavi verilen (Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept) gruplarda TNF- α düzeylerinde istatistiksel anlamlı azalma gözlemlendi.

Lipopolisakkarid grubunda 6.saate TNF- α düzeyindeki anlamlı artış sepsis bulgularının daha şiddetlendiğinin göstergesidir.6. saatte LPS grubuna göre tedavi verilen gruplarda TNF- α düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. 3.ve 6.saat TNF- α değerleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Yapılan tüm bu çalışmalar TNF- α açısından bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Bu çalışmada farklı olarak biz etanercept'in ve thalidomide ile birlikte verilmesinin TNF- α değerlerini ayrı ayrı verilmesine göre daha fazla düşürmediğini gözlemledik.

Presepsin sepsis ön tanısı açısından yeni tanımlanmış bir biyomarkırdır (190).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda sağlıklı insanlarda lokal enfeksiyonu olan, sepsis ciddi sepsis ve sistemik inflammatuar yanıt sendrom (SIRS)'lu hastaların karşılaştırmalarında belirgin derecede presepsin düzeylerinde farklılık görülmüştür. CD-14 subtipi (Presepsin), günümüzde yetişkin ve neonatal sepsiste ve ayrıca sepsise bağlı ölümlerin incelenmesinde araştırma amaçlı kullanılmaktadır (191).

Thorgersen ve ark. (192) tam canlı bakterilerden kaynaklanan erken dönem E.Coli sepsisinde CD14 inhibisyonunun santral inflammatuar ve hemostatik süreçleri zayıflattığını göstermektedir. CD-14 ve kompleman gibi santral etkin yolakların

inhibisyonu hasarla ilişkili moleküler patern (DAMPs)'i tanınmasını ve böylece inflamasyonu başlatabilir. Thorgersen ve ark. (192), CD14'ün inhibisyonu proinflammatuvar araçları artırarak (up-regulation) ve aynı zamanda koagülasyon ve granülositlerin aktivasyonunu azaltarak alternatif bir tedavi rejimi oluşturabilir.

Ayrıca Olszyna ve ark. (193) CD14'ün nötralizasyonunun sepsiste erken tedavi yaklaşımı olarak kabul edilmesi gerektiğini öne sürmüşler.

Presepsinin çeşitli çalışmalarda diagnostik değeri araştırılmış, anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır. İlk kez Okamura ve ark. presepsinin sepsis hastalarında kullanımı ve tanı değeri üzerine bir çalışma yaparak, ileriye dönük öncül diagnostik bilgiyi ortaya koymuşlardır (194).

Çalışmalarında presepsin konsantrasyonunun üst ve alt çalışma limitlerini, hemoglobin, trigliseridler gibi lipidlerin, bilirubin gibi metabolizma ürünlerinin presepsin ölçümleri üzerine etkilerini ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamıza paralel olarak Shozushima ve ark. presepsinin septik hastalarda kullanılabilecek bir biyomarkır olduğunu ve tanıda değerinin yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır (190).

Endo ve ark. (195) tarafından çoklu merkezde yapılmış bir başka çalışmada sepsis şüphesi olan hastalarda presepsin, prokalsitonin ve IL-6 düzeylerine bakılmış ve özellikle bakteriyemik hastalarda presepsinin anlamlı oranda plazma konsantrasyonlarında artış saptanmıştır.

Novelli ve ark. (196) cerrahi operasyon sonrası, presepsinin, septik olgularda plazma konsantrasyonlarının yükseldiğini gözlemlemişlerdir.

Çakır ve ark. (197), ülkemizde yaptıkları bir çalışmada, sepsis Şüphesi ile tedavi edilen yanık hastalarında, plazma presepsin konsantrasyonlarının, bakteriyemi ile artış gösterdiğini saptanmışlardır. Çalışmada septik vakaların presepsin plazma konsantrasyonları, non-septik vakalar ile karşılaştırılmış, anlamlı farklılık kaydedilmiştir.

Liu ve ark. (198) acil servise başvuran sistemik inflamatuvar cevap sendromu'lu (systemic inflammatory response syndrome-SIRS), sepsisli, ağır sepsisli ve septik şoklu hastalarda presepsinin plazma konsantrasyonlarının sepsis durumunun ağırlığına göre artış gösterdiğini bulmuşlardır.

Sepsis sonucunda ortaya gelişen ölüm vakalarında yapılan post-mortem bir çalışmada presepsinin plazma konsantrasyon yüksekliğinin, presepsinin sepsiste anlamlı bir biyomarkır olabileceğinin destekleyicisi olabileceği ifade edilmiştir. (199).

Presepsinin septisemide ve bakteriyemide biyomarkör olarak kullanılabilirliğini araştıran ve anlamlı sonuçlara ulaşan birçok çalışmanın gösterdiği gibi biz de çalışmamızda presepsinin, ön tanıda uygun bir biyomarkır olarak kullanılabileceğini literatür ile paralel doğrultuda düşünmekteyiz (200-203).

Çalışmamızda plazmada presepsin düzeylerine baktığımızda 3. saatte LPS grubunda anlamlı miktarda presepsin artışı olduğunu ve sepsis modelinin oluştuğunu gördük. 3. saatte tedavi verilen grupta (Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept, Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept) presepsin düzeylerinde istatistiksel anlamlı azalma olduğunu izlendi.

Lipopolisakkarid grubunda 6. saatte TNF- α 'ya benzer şekilde LPS grubunda presepsindeki artış sepsis bulgularının şiddetlendiğinin göstergesidir. Tedavi verilen gruplarda ise 6. Saate sepsis bulgularının şiddetlendiğini TNF- α 'ya benzer şekilde kontrol grubuna göre presepsin düzeyindeki anlamlı belirgin artıştan anlamaktayız. Plazma presepsin 3. Saat ile Plazma presepsin 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu analiz edilmiş presepsin değerlerinde artış olmakla beraber istatistiksel anlamlı değer saptanmadı. Biz de çalışmamızda presepsinin sepsis modeli oluşturulan ratlarda ön tanı biyomarkörü olabileceğini kullanım ve Etanercept ve Thalidomide tedavi etkinliğini olabileceğini gördük. Bununla birlikte Thalidomide ve Etanercept ilaçlarının birlikte verilmesinin diğer gruplarla karşılaştırıldığında özellikle 6.saatte presepsin düzeylerinde sham grubuna göre yaklaşık sekiz kat azalma gördük. Bu sonuçlar iki ilacın birlikte kullanımında potansiyel agonistik etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir Benzer bir etki daha önce bildirilmediğinden bu etkinin daha ileri çalışmalar ile araştırılması gerekmektedir.

Sepsis sürecinde rol oynayan pıhtılaşma faktörleri, kompleman ve diğer akut faz proteinleri, sitokinler, kemokinler ve nitrik oksit sentaz genlerin promotor bölgeleri NF κ B bağlanma bölgesi taşımaktadır.

İnflamatuar durumlarda düzeyleri artan süperoksit radikallerin nükleer transkripsiyon faktörü olan NFκB'yi aktive ederek inflammatuar aracının salınımı uyardıkları bilinmektedir (204).

Nükleer Faktör Kappa B, TLR4 sinyal sistemi neticesinde aktive olarak proinflammatuar sitokinleri üreten genleri uyarmakta ve inflamasyon sürecinde en önemli basamağı oluşturmaktadır. NFκB aktivitesi astım, kardiyovasküler hastalıklar, inflammatuar bağırsak hastalıkları gibi pek çok hastalık ile ilişkilendirilmiş, sepsiste de artmış NFκB düzeylerinin mortalite ile ilişkili olduğu saptanmıştır (205).

Li ve ark. (206) verapamilin LPS ile indüklenen akut karaciğer hasarını doza bağımlı bir şekilde önlediğini ve bunu da proinflammatuar ve anti-inflamatuar sitokinlerin dengesini NFκB inhibisyonu aracılığıyla ayarlayarak yaptığını göstermişlerdir.

Xiaohui ve ark. (207) kültüre edilmiş neonatal rat kardiyomiyositlerinde norepinefrinin TNF-a üretimini doza bağımlı olarak inhibe ettiğini göstermişlerdir. Alfa-1 adrenerjik agonisti olan fenilefrin (PE) de LPS ile indüklenen TNF-a üretimini baskılamış ve NFκB aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylı anti-TNF antikorlarının (örneğin Remicade ve Humira) ve çözünebilir bir TNF reseptörünün (örneğin Enbrel) de artriti ve inflammatuar barsak hastalığında NFκB aktivitesini baskıladıkları gösterilmiştir (208).

Septik şoklarda anti-TNF uygulamalarının faydalı olabileceği ifade edilmektedir. Talidomid'in NFκB'yi engelleyerek çeşitli sitokinlerin üretimini inhibe ettiği ve böylece immun ve inflammatuar baskılanmanın ortadan kaldırdığı bildirilmiştir. Bizim de Thalidomide ve Etanercept tedavisi verdiğimiz gruplarda bu çalışmalara paralel şekilde NFκB değerlerinde düşme olduğu gözlenmiştir (209).

Çalışmamızda da plazmada NFκB düzeylerinde de anlamlı değişiklikler elde edildi. TNF-α 'ya benzer şekilde sham grubuna göre çalışma grubunda göre 3. ve 6 saat NFκB değerlerinin anlamlı olarak arttığı bulundu. Tedavi gruplarında 3 ve 6 saat'lerde NFκB değerlerinin anlamlı olarak azaldığı belirlendi. Thalidomide ve Etanerceptin NFκB seviyelerinde anlamlı azalmaya neden olması sepsiste bu ilaçların hücre hasarını önleyebileceğinin bir göstergesidir. Bunu destekleyecek şekilde 3. ve 6. saatlerde sham ve çalışma grupları kendi içlerinde tekrar

değerlendirildiğinde LPS grubunda proinflatuar sitokinlerdeki artışın 3. saatten 6. saate kadar devam etmesi sepsisin tablosunun ağırlaştığını göstermektedir. LPS grubunda 3. ve 6. saat NFκB değerleri arasında farklılık saptanmadı.

Endotoksemilerde önce pro-inflatuar sitokinlerin (TNF-α, IL-1β) salgılandığı bilinmektedir (179).

Nükleer Faktör Kappa B, IL-1b sinyal iletimi yolağında önemli bir hedeftir; IL-1b'nin inhibisyonu NFκB aktivasyonunu da inhibe eder. Çeşitli klinik çalışmalarda IL-1 reseptör antagonisti (anakinra) bazı antiinflammatuvar hastalıkların tedavisi için klinik çalışmalarda kullanılmaktadır Çalışmamıza benzer şekilde Özer Şehirli ve ark, termal travmadan sonra plazma TNF-α ve IL-1β düzeylerinin hem 6. hem de 48. saatte anlamlı olarak arttığını ve bu artışın yanıkla indüklenen sistemik inflamasyonda rolü olduğunu göstermişlerdir. Öte yandan, etanercept tedavisi hem sitokin düzeylerini azaltmış, hem de LDH düzeylerini kontrol düzeylerine geri döndürmüştür (210).

Aden ve ark. (211) intraperitoneal IL-1β uygulaması ile oluşturdukları sistemik inflamasyon modelinde, IL-1β uygulanmasından önce Etanercept'in herhangi bir etkisi olmazken, IL-1β sonrası uygulamada inflamasyonu %50 azalttığı gösterilmiştir.

Cai ve ark. (212) sıçanlarda intraserebral olarak IL-1β ve TNF-α enjeksiyonu IL-1 β 'nın TNF-α 'ya göre daha fazla apoptozise yol açtığını ve oligodendrosit gelişimini baskıladığını tespit edilmişlerdir. Mevcut çalışmada Thalidomide ve Etanerceptin IL-1β seviyelerinde anlamlı azalmaya neden olması bu ilaçların sepsiste hücre hasarının önleyebileceğimizin göstergesi olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmamızda 3. ve 6. saat plazma IL-1β düzeylerini değerlendirildiğinde, TNF-α düzeyindeki değişime benzer şekilde septik grupta 3. saatte sham grubuna göre anlamlı şekilde artmış olan IL-1β düzeyi'nin 6. saatte'de artmaya devam ettiği belirlenmiştir. Tedavi verilen grupta ise 3.saat ve 6.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept ve Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept gruplarında IL-1β değerleri 'nin anamlı olarak azaldığı bulunmuştur. LPS 3 saat grubu ile LPS 6 saat grubu karşılaştırıldığında IL-1β değerlerinde anamlı artış izlendi.

Septik süreçte TNF- α ve IL-6'nın rol oynayabileceğini öne süren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bazı çalışmalarda IL-6 ve TNF- α 'nın akut faz cevabının oluşması ve ardından sepsis benzeri semptomların ortaya çıkmasını sağladığı gösterilmiştir. Endotoksik şok durumlarında IL-6 ve TNF- α düzeylerinin çok yükseldiği ve bu süreçte hayatta kalma süresi ile negatif korele olduğu bildirilmiştir (213).

Hem TNF- α ve hem de IL-6 sepsis sonucunu etkileyebilecek önemli prognostik belirteçlerdir (214).

Tümör nekrozis faktör-alfadan sonra artan IL-6'nın "kontrol edilemeyen" inflamasyon durumlarında morbidite ve mortaliteye katkıda bulunduğu belirtilmiştir (215).

Enfeksiyona yanıt olarak serum IL-6 düzeyinin erken dönemde artması nedeniyle yenidoğan sepsisi tanısında kullanılabileceği rapor edilmiştir. İnflamasyon sırasında karaciğerde üretilen sitokinler arasında, hem karaciğer hem de başka yerlerdeki birçok biyolojik etkileri nedeniyle TNF-a ve IL-6 özellikle önemlidir. Li ve ark. (206) verapamilin karaciğerde hem LPS ile indüklenen TNF-a'yı hem de IL-6 üretimini baskıladığını görmüşlerdir.

Leon ve ark. (216)'ları farelerde E. coli lipopolisakkarit uygulamasıyla deneysel sepsis modelinde IL-10'u (30 μ g/kg) intraperitoneal olarak uygulamışlardır. IL-10 uyguladıkları deneklerin, IL-10 uygulanmamış deneklere göre vücut ısılarının daha düşük olduğunu ve bu deneklerden 1., 4.ve 24. saatlerde alınan kan örneklerinde IL-6 ve TNF- α düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğunu saptamışlardır. Pang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada intraserebral LPS sonrası uygulanan IL-6 antagonistinin, TNF- α ve IL-1 β düzeylerini değiştirmese de nöronal morfolojiyi ve inflamasyonu azalttığı tespit edilmiştir.

Plazmada IL-6 düzeylerinin 3. ve 6.saatte sham grubuna göre anlamlı miktarda arttığı ve 3 saat tedavi gruplarında ise anlamlı olarak azaldığı saptandı.

6. Saatte Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept tedavisi verilen grupta istatistiksel anlamlı azalmanın olduğu bulunmasına rağmen, Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept verilen gruplarda LPS grubuna göre bir miktar azalma izlenmiş ancak bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Çalışmamızda tespit edilen Thalidomide + Etanercept grubundaki daha

düşük IL-6 düzeyleri her iki molekülün birlikte verilmesinin inflamasyonun artışı ve hasar oluşumunu azaltabileceğini düşündürmektedir.

Plazma IL-6 3. Saat ile 6. Saat değerleri karşılaştırıldığında; IL-6 değerlerinde anlamlı artış izlenmiştir. 6. saat'te LPS grubunda sepsis bulgularının daha da şiddetlendiğini IL-6 düzeyindeki belirgin artıştan anlamaktayız.

Bütün organizmalarda serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasında hassas bir denge vardır. Oksidatif stres, serbest oksijen radikallerinin üretimi ile bunların antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılması arasındaki dengenin bozulması sonucu meydana gelmektedir. Serbest oksijen radikalleri, lipid, protein, karbonhidrat oksidasyonu ve DNA (deoksiribonukleik asit) hasarına neden olan toksik biyolojik maddelerdir (217).

Pascual ve ark. (218) ile Tsai ve ark. (219) yaptıkları çalışmada, şiddetli sepsis olan (septik şok tablosunda olan veya ölen hasta grubu) hasta grubunda oksidatif strese karşı oluşan total anti oksidan kapasitenin daha yüksek düzeyde olduğunu göstermişlerdir.

Doise ve ark. (220) sepsisli hastalarda plazma total antioksidan düzeyinin hastalığın başlangıcında sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, sonrasında hayatta kalan sepsisli hastalarda plazma antioksidan düzeyinin normale veya normalin üzerine çıktığını, fakat ölen hastalarda düzeyin düşük seyrettiğini göstermişlerdir.

Bu sonuçlar sepsisin ciddi bir oksidatif strese yol açtığını ve oluşan bu oksidatif strese karşı antioksidan sistemin savunma yaparak organizmayı korumaya çalıştığını göstermektedir. TAS değerinin kontrol grubuna göre daha yüksek seyretmesi ise dokularda oluşan hasarın tamamen düzelene kadar antioksidan savunmanın devam ettiğini tedavi verilen grupta daha yüksek seyretmesi antioksidan savunmaya destek olduğu şeklinde yorumlanabilir. 3. ve 6. saatte plazma TAS düzeylerini değerlendirdiğimiz zaman LPS grubunda TAS değerleri anlamlı olarak azaldı. Tedavi gruplarında 3. saat TAS değerlerinde anlamlı olarak artış gözlemlendi, Lipopolisakkarid + Etanercept grubu TAS değerlerinde anlamlı değişim saptanmadı, 6. saat tedavi gruplarında TAS değerleri anlamlı olarak arttı. LPS grubunda 3. ve 6. saat karşılaştırıldığında 6. saat TAS değerlerinde anlamlı azalma izlendi.

Sepsiste dokularda iskemi reperfüzyon (İR) hasarı sonucu artan serbest oksijen radikalleri (SOR) ve hidrojen peroksidin, lipid peroksidasyonu ve protein hasarını başlatarak hücre apoptozisi ve doku nekrozuna yol açtığı bilinmektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu thiobarbithuric acid reaktive substance (TBARS)-MDA açığa çıkmaktadır (221).

Bu bileşik hücre icinde toksik stres oluşturan reaktif bir aldehiddir ve hucre icinde proteinlerle ve DNA ile kovalan bağlar yaparak ileri lipoksidasyon son urunlerini oluşturur (222).

Del Rio ve ark. (223) MDA'in organizmada oksidatif stres belirteci olarak kullanılabileceği belirtmişlerdir.

Lipit peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehit (MDA) olup, hücre zarından iyon alış verişine etki edip zardaki bileşenlerin çapraz bağlanmasına yol açarak iyon geçirgenliği ve enzim aktivitelerinde değişimler yaparak olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir. Bu özelliğindenden dolayı MDA DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girebilir ve bundan dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik özellikler gösterebilmektedir (224).

Carcelier ve ark. (225) kord kanında erken neonatal sepsisin öngörücü belirteci olarak inflamatuvar sitokinleri (IL-6, IL-10) ve oksidatif parametreleri (TBARS VE karbonil protein düzeyi) değerlendirdikleri çalışmada; sepsis bulguları ortaya çıkmadan önce oksidatif stres parametrelerinde ve inflamatuvar sitokinlerin düzeyinde artış olduğunu göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda bulduğumuz gibi Crimi ve ark. (226) sepsisli hastalarda MDA düzeylerinin arttığını, bununla ters ilişkili olarak antioksidan sistemin zayıfladığını bildirmişlerdir.

Şehirli ve ark. (227) akciğer MDA düzeylerinde yanıkla indüklenen artışın Etanercept tedavisinin engellediğini ve TNF- α 'nın antagonize edilmesinin lipid peroksidasyonuna karşı güçlü bir koruyucu etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, bu çalışmada MDA'nın azaltılmasının önemli bir antioksidan olan doku glutatyon düzeylerinin korunmasına katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Hücreler dokularda meydana gelen reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species (ROS))'un hasarlayıcı etkilerinden kendi antioksidan mekanizmalarıyla korunmakta olduklarından, etanercept tedavisiyle glutatyon (GSH)'nın yerine konulmasının yanık hasarı için

koruyucu olabileceğini önermişlerdir. Etanercept tedavisi Na⁺ + -K⁺ , ATPaz aktivitesini MDA düzeylerinde bir azalmayla paralel şekilde artırmıştır. Etanerceptin bu koruyucu etkileri histolojik olarak da doğrulanmıştır. Termal travmada etanercept tedavisinin yararlarını değerlendirilmiş ve sonuçlar proinflatuar yolların inhibisyonunun akciğer dokularında nötrofil birikmesini azalttığını bunun da eşlik eden lipid peroksidasyonunu azalttığını ve antioksidan GSH düzeyini artırdığını göstermişler. Etanerceptin termal travma sonrasında organ hasarını düzeltmek üzere potansiyel bir tedavi ajanı olarak düşünülmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

Çalışmamızda dokularda SOR oluşumunun göstergesi olarak lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA düzeyi ölçüldü. MDA membran iyon transportunu, akışkanlığını, enzim aktivasyonunu ve deformasyon kabiliyetini bozar. Böylece sitotoksiteye, mutajen oluşumuna ve membran yıkımına yol açar (228).

Hem Von Moos ve ark. (229), hem de Teo (230) tarafından yapılan çalışmalarda Talidomid'in, çeşitli antiinflatuar mediatörlerin üretimini, angiogenezi, hücresel adezyon moleküllerinin salınımını baskılayan bir immunmodulator ajan olduğu saptanmıştır.

Lally ve ark. (231)'ları yeni doğan farelerde E. coli lipopolisakkaridleri ile oluşturdukları deneysel sepsis modelinde IL-10 'u peritonit indüksiyonundan 4 saat önce, rekombinant teknikle elde edilmiş IL-10'u iki farklı dozda (25 ng ve 50 ng) uygulamışlar ve diğer bir gruba ise anti-TNF- α (20 μ L) uygulamışlardır. Anti-TNF- α ile tedavi verilen grupta kontrol grubuna göre sağkalım oranında belirgin bir iyileşme saptamışlardır. Sağ kalım oranları kontrol grubuna göre 25 ng IL-10 ile tedavi verilen grupta değişmediği ve 50ng IL-10 verilen grupta ise kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda da 3. ve 6. saatte plazma MDA düzeylerini değerlendirdiğimiz zaman TNF- α düzeyindeki değişime benzer şekilde septik grupta 3. saatte sham grubuna göre anlamlı şekilde artmış olan MDA düzeyi 6. saatte artmaya devam etmiştir. Sepsis oluşturduğumuz grupta oksidatif parametre olarak değerlendirdiğimiz MDA düzeylerinin diğer gruplara göre yüksek olması dikkate alınacak olursa oksidan –antioksidan dengenin inflamasyonda oksidanlar yönüne kaydığı görülmektedir. Tedavi verilen grupta ise 3.saat Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept istatistiksel anlamlı sonuç saptanmazken

Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubunda MDA degerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü. 6 saat Lipopolisakkarid + Thalidomide, Lipopolisakkarid + Etanercept ve Lipopolisakkarid + Thalidomide + Etanercept grubu MDA degerleri annamlı olarak azaldı. LPS grubunda 3 saat ve 6 saat MDA degerleri açısından anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Malondialdehit düzeylerinin önemli derecede düşüşü mevcut durumu tekrar antioksidanlar yönüne kaydırmaktadır. Çalışmamızda Thalidomide, Etanerceptin 6 saat MDA seviyelerinde anlamlı azalma elde edilebilmiş olması sepsiste hucre hasarının onlenebileceğinin bir göstergesi olabilir diye düşünmekteyiz.

Apoptozis, çok hücreli organizmaların genetik sifrelerinde bulunan gelişimsel ve/veya çevresel uyarımlarla etkinlesmesi sonucu ortaya çıkan, gelişim ve farklılaşma sırasında organ yapısı ve islevlerinin aktif değişimini sağlayan fizyolojik hücre ölümü olarak tanımlanmış proglanmış hücre ölümüdür (232).

İntraselüler elektron dengesinin bozulması, Oksidatif stres, mitokondrial defektler ve antioksidan enzim sistemin yetersiz kalması apoptozis oluşumunu başlatabilmektedir (85).

Serbest oksijen radikalleri direkt nöron hasarı dışında ekzitotoksik nöron hasarını ve apoptotik süreci başlatan yolları aktifleyerek hücre ölümüne neden olur. İnvitro ve invivo global-fokal iskemi/reperfüzyon modellerinde apoptotik nöronal hücre ölümü çalışılmıştır. Hücre içi yaşam/ölüm sinyal yollarının aktivasyonu apoptozise neden olmaktadır (233).

Tümör nekrozis faktör-alfa'nın sitozolde sifingomyelinazı uyarıp seramid artışını sağlayarak apoptozisi uyardığı bilinmektedir. Deneysel olarak kolit oluşturulduktan sonra TNF-alfa blokörü olan etanersept uygulanan bir hayvan çalışmasında, etanersept uygulanmasının enterositlerde apoptozisi azalttığını gösterilmiştir (234).

Deneysel retinal doku hasarlanması modelinde, bir grup sıçanın göz içi basıncı arttırıldıktan 12 ila 24 saat sonra TNF-alfanın önemli oranda arttığı ve bunun da apoptozise neden olduğu gösterilmiştir. Retinal hasarlanma yapılmasından 30 dakika önce TNF-alfa antikoru uygulamasının ise retinada apoptozisi önemli oranda azalttığını gösterilmiştir (235).

Deneysel olarak omurilik hasarlanması yapılan farelerin beyin omurilik sıvısında TNF-alfa seviyesinin yüksek bulunduğu, TNF-alfanın etkisini reseptör düzeyinde baskılayan infliximab ile nötrofil infiltrasyonunu, inflamasyonu, apoptozisi ve sitokin uyarılmasını azaltarak doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (180).

Campbell ve ark. (236) yaptığı çalışmada etanerseptin beyin dokusuna nötrofil göçünü engelleyerek inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Avunduk ve ark.(237) hayvan çalışmalarında Etanersept'in antiinflamatuvar etkinliği ve beyin dokusunda inflamasyonu azalttığı bulunmuştur.

Chio ve ark. (238) travmatik beyin hasarı oluşturulan sıçanlarda yaptıkları başka bir çalışmada etanerseptin travmaya bağlı beyin hasarını azalttığını göstermişlerdir aynı çalışmada Etanerseptin TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır.

Teo (230) Thalidomidin, TNF- α , IL-6 ve NK- κ B gibi antiinflamatuvar mediatörlerin üretimini, anjiogenezi, hücrel adezyon moleküllerinin salınımını baskılayan ve hem proapoptotik hemde antiapoptotik özellikleri olan immunmodülatör ajan olduğunu belirtmişler. Bizde çalışmamızda Thalidomidin tedavisi alan grupta apoptozisi anlamlı derecede azatlığını görüldü.

Beyin dokusunda Tünel yöntemiyle apoptotik değişiklikleri incelediğimizde intraperitoneal LPS verilmesinin beyin hasarına neden olduğu ve Etanercept ve Thalidomide ile bu hasarın geri döndürülebildiği izlenmiştir. 3. ve 6. saat grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 3. saatte Etanercept ve Thalidomidin beyin hasarını bir miktar düzeltebildiği ancak bu değişimin anlamlı olmadığı, 6. saatte ise kliniğin daha kötüleşmesine rağmen ilacın daha etkili olduğu yani apoptozisi anlamlı derecede azatlığı görülmektedir. Bu durumun daha önce bahsettiğimiz septik klinik tablo ilerledikçe ilacın bariyerlerden daha iyi geçebilmesi ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. İntraperitoneal rat sepsis modelinde izlenen beyin hasarının tedavisi belirlenebilmesi açısından Etanercept ve thalidomide tedavisinin kullanımı ile ilgili deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaitindeyiz.

Yenidoğan sepsisi, yenidoğan bakımı ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisindeki tüm gelişmelere rağmen yenidoğan yoğun bakım unitelerindeki mortalitenin başlıca nedenidir. Sepsis tedavisinde antibiyoterapi halen altın

standarttır. Ancak mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç geliştirdikleri göz önüne alındığında, sepsis fizyopatolojisi ve biyopatolojisinin de evrim geçirmekte olduğu ve yeni tedavi modellerinin gerekli olduğu açıktır. Bu çalışma literatürde rastlanıldığı kadarıyla deneysel intraperitoneal yolla sepsis modeli oluşturulmuş yenidoğan ratlarda TNF- α antagonisti Etanercept ve thalidomide etkinliğinin birlikte değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda da sham grubuna göre LPS verilen grupta TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL-1, IL-6, ve MDA düzeyleri 3. saatte istatistiksel olarak anlamlı artış TAS düzeyine anlamlı azalma izlendi, 6 saate TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL-1, IL-6, ve MDA düzeylerinde bu artış istatistiksel olarak devam etti. Sepsis bulgularımız klinik bulgularlada taşikardi, hipotermi gibi kolere şekilde daha da belirginleşti. Tedavi gruplarında TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL-1, IL-6 ve MDA düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde ilgili parametrelerde istatistiksel anlamlı düzelme olduğu izlendi. Buda bize Etanercept, Thalidomide veya Etanercept + Thalidomide tedavilerinin sepsis tedavisine ek olarak kullanılabileceğinin gösterebilir.

Sonuç olarak: İntraperitoneal LPS enjeksiyonu ile sepsis oluşturulan ratlarda 3. 6. saat TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL-1, IL-6 ve MDA değerlerinin artışı.

- Tümör nekrozis faktör-alfa antagonisti Etanercept ve Thalidomide tedavisinin TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL-1, IL-6 ve MDA seviyelerini düşürdüğünü.

- Presepsinin sepsiste markır olarak kullanılabileceği, Etanercept Thalidomide birlikte verilmesinin değerler üzerine daha etkili olduğu, sepsis patogenezinin açıklanmasında presepsinle ilgili rolü açısından klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu

- İnterlökin-1 açısından tek başına Thalidomide verilmesinin Etanercept ve Etanercept Thalidomide birlikte verilmesinde daha etkili olduğu

Çalışmamız, sepsis patogenezinde inflamatuvar surelerin TNF- α , Presepsin, NF κ B, IL-1, IL-6, TAS ve MDA düzeyleri hakkında fikir vermekte terapötik alternatif olarak TNF- α antagonizmasının etkinliği açısından Etanercept ve Thalidomidin'in ilac toksisitesi, ilacın davranışı, ilacın etkinliği konularında klinik olarak kullanılabilmesi için deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varıldı.

5. KAYNAKLAR

1. Stormarker A, Powell KR. Sepsis and shock. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Ed). Nelson Textbook of Pediatrics. 17th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2005: 846-850.
2. Edwards MS, Baker CJ. Sepsis in the Newborn. Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL, (eds). Krugman's Infectious Diseases of Children. 11th ed. Philadelphia: Mosby, 2004: 545-561.
3. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in european intensive care units: results of the SOAP study. Crit Care Med (in pres)
4. Edwards MS. Postnatal bacterial infectious. Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC, (eds). Fanaroff & Martin's Neonatal-Perinatal Medicine. Diseases of the Fetus and Infant. 9th ed., St Louis, Missouri: Elsevier Mosby, 2011: 793-829.
5. Lawn JE, Cousens S, Zupan J. Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? Lancet 2005; 365: 891-900.
6. Lawn JE, Kerber K, Enweronu-Laryea C, Cousens S. 3.6 million neonatal deaths-- what is progressing and what is not? Semin Perinatol 2010; 34: 371-386.
7. Vergnano S, Sharland M, Kazembe P, Mwansambo C, Heath PT. Neonatal sepsis: an international perspective. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2005; 90: 220-224.
8. Polin RA, Parravicini E, Regan JA, Taeusch HW. Bacterial sepsis and meningitis. In Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA (ed). Avery's diseases of the newborn. 8 th ed., Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005: 551-577.
9. Koç E. Neonatal sepsiste etyopatogenezi. Güncel Pediatri 2005; 3: 108-109.
10. Stoll BJ. Infections of the neonatal infant. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Stanton BF (Ed). Nelson Textbook of Pediatrics. 18 th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2007: 794-811.
11. Morven SE. Postnatal bacterial infections. Fanaroff AA, Martin RJ (Ed). Neonatal Perinatal Medicine, Disease of the Fetus and Infant. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Company 2002: 706-718.

12. Wynn JL, Levy O. Role of innate host defenses in susceptibility to early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2010; 37: 307-337
13. Edmond K, Zaidi A. New approaches to preventing, diagnosing, and treating neonatal sepsis. *PLoS Med* 2010; 7: 1000213.
14. Wynn JL, Wong HR. Pathophysiology and treatment of septic shock in neonates. *Clin Perinatol* 2010; 37: 439-479.
15. Wattal C, Oberoi JK. Neonatal sepsis. *Indian J Pediatr* 2011; 78: 473-474.
16. Gardner SL. Sepsis in the neonate. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2009; 21: 121-141.
17. Ganatra HA, Stoll BJ, Zaidi AK. International perspective on early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2010; 37: 501-523.
18. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am* 2004; 51: 939-959.
19. Zaidi AK, Thaver D, Ali SA, Khan TA. Pathogens associated with sepsis in newborns and young infants in developing countries. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 10-18.
20. Bulut MO, Bulut İK, BBüyükayhan D ve ark: Neonatal sepsisli olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Cumhuriyet Üniv Tıp Fak Derg* 2005; 27: 63-8.
21. Türkmen M, Telli M, Erişen S, Güzünler M, Eyigör M. Neonatal sepsisli olguların değerlendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2010; 11: 15-20.
22. Turkish Neonatal Society Nosocomial Infections Study Group: Nosocomial infections in neonatal units in Turkey: epidemiology, problems, unit policies and opinions of healthcare workers. *Turk J Pediatr* 2010; 52: 50-57, 2010.
23. Türk Neonatoloji Derneği Tanı ve Tedavi Protokolleri No. 1, Neonatal Sepsis. *Türk Neonatoloji Derneği Bülteni* 2002; 6: 5-11

24. Arısoy ES. Yenidoğan Sepsisi: Tanı ve tedavi yaklaşımları. ANKEM Dergisi 2010; 24: 168-175.
25. Saez-Llorens X, McCracken GH. Perinatal bacterial diseases. Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ (Ed). Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: WBSaunders Company, 2004: 929-966.
26. Gül HC, Dede M, Avcı İY, Eyigün CP, Pasha A. Üçüncü trimestr hamilelerde vaginal grup B streptokok kolonizasyonu. Klimik Derg, 2005; 18: 27-29.
27. Ovalı F. Yenidoğan enfeksiyonları. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd Şti 2006: 109-154.
28. Naeye RL. Causes of excess rates of perinatal mortality in prematurity in Pregnancies complicated by maternal urinary tract infections. N. England J Med 1979; 86: 759-765.
29. Çoban A. Yenidoğan enfeksiyonları. Neyzi O, Ertuğrul T (Ed). Pediatri. Üçüncü Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 431-444.
30. Naglie R Infectious diseases. Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG, Zenk KE (Ed). Neonatology, 4th ed. New York: Lange Medical Books/Mc Graw-Hill, 1999: 408-440.
31. Hubacek JA, Stuber F, Frohlich D, Book M, Wetegrove S, Ritter M, et al. Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis. Crit Care Med 2001; 29: 557-5561.
32. Thaver D, Zaidi AK. Burden of neonatal infections in developing countries: a review of evidence from community-based studies. Pediatr Infect Dis J 2009; 28: 3-9.
33. Saez-Llorens X, McCracken GH. Perinatal bacterial disease. Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ (eds). Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Saunders 2004: 929-966.
34. Osrin D, Vergnano S, Costello A. Serious bacterial infections in newborn infants in developing countries. Curr Opin Infect Dis 2004; 17: 217-224

35. Yalaz M, Cetin H, Akisu M, Aydemir S, Tunger A, Kültürsay N. Neonatal nosocomial sepsis in a level-III NICU: evaluation of the causative agents and antimicrobial susceptibilities. *Turk J Pediatr* 2006; 48: 13-18.
36. Baş AY, Demirel N, Zenciroglu A, Göl N, Tanir G. Nosocomial blood stream infections in a neonatal intensive care unit in Ankara, Turkey. *Turk J Pediatr* 2010; 52: 464-470
37. Guerina N. Bacterial and fungal infections. Cloherty JP, Stark AR (ed). *Manual of Neonatal Care*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1995: 271-300.
38. Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB, et al. Group b streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *The New Eng J Med* 2000; 342: 15-20
39. Çiftçi E. Yenidoğan Enfeksiyonları: Sepsis ve Menenjitin Klinik Bulguları ve Tanısı. *Journal of Pediatric Infection* 2011; 5: 157-159
40. Ovalı F. Bakteriyel Enfeksiyonlar. Dağoğlu T, Ovalı F (eds). *Neonatoloji (2. Baskı)*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2007: 765-810
41. Puopolo KM. Bacterial and fungal infections. Cloherty JP, Eichenwald EC, Stark AR, eds. *Manual and Neonatal Care (6th ed)*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 274-300
42. Cengiz AB. Yenidoğan Sepsisinde Değerlendirme ve Yönetim. *Güncel Pediatri* 2007; 5: 126-31
43. Borghesi A, Stronati M. Strategies for the prevention of hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit. *J Hosp Inf* 2008; 68: 293-300.
44. Darmstadt GL, Dinulos JG. Neonatal skin care. *Pediatric Clinics of North America* 2000; 47: 757-82
45. Nizet V, Klein JO. Bacterial Sepsis and Meningitis. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 7th ed, Remington JS, Klein JO, Wilson CB (eds). Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011: 222.

46. Janeway CA, Medzhitov R. Introduction: the role of innate immunity in the adaptive immune response. *Seminars in Immunology* 1998; 10: 349-350.
47. Heine H, Rietschel ET, Ulmer AJ. The biology of endotoxin. *Molecular Biotechnology* 2001; 19: 279-296.
48. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002; 420: 885-891.
49. Shanley TP, Hallstrom C, Wong HR. Sepsis. Fuhrman BP, Zimmerman JJ (eds). *Pediatric Critical Care*. 3rd ed. Philadelphia: Mosby 2006; 1474-1493.
50. Bochud PY, Calandra T. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *Br Med J* 2003; 326: 262-266.
51. Cengiz AB. Sepsis Patogenezi. *Çocuk Enf Derg* 2007; 1: Özel Sayı 1; 635
52. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991; 115: 457.
53. Hamill RJ, Maki DG. Endotoxin shock in man caused by gram-negative bacilli. Proctor RA (ed). *Handbook of Endotoxin*. Amsterdam: Elsevier, 1986: 55.
54. Li H, Llera A, Malchiodi EL, Mariuzza RA. The structural basis of T cell activation by superantigens, *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 435-66
55. Robert S. Munford. Sepsis ve septik sok. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 15. Baskı, İstanbul Güneş Kitabevi, 2004; 799-804.
56. Salyers AA. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. 5.ed., Washington: American Society for Microbiology (ASM), 1994; 56-60.
57. Landmann R, Zimmerli W, Sansano S, Link S, Hahn A, Glauser MP, et al. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gramnegative septic shock. *Journal Infec Dis* 1995; 171: 639-644.
58. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000; 406: 782-787.

59. Majewska M, Szczepanik M. The role of Toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune responses and their function in immuneresponse regulation. *Postepy Hig Med Dows* 2006; 60: 52-56.
60. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med* 2006; 355: 1699-713
61. Hotchkiss RS, Karl IE. Pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348: 138-150.
62. Jimenez R, Belcher E, Sriskandan S, Lucas R, McMaster S, Vojnovic I, et al. Role of Toll-like receptors 2 and 4 in the induction of cyclooxygenase-2 in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 4637-4642.
63. Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nat Immunol* 2004; 5: 975-979.
64. Liu SF, Malik AB. NF- κ B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol* 2006; 290:622-645.
65. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *New Eng J Med* 1999; 340: 207-214.
66. Reinhart K, Bloos F, Brunkhorst FM. Pathophysiology of sepsis and multiple organ dysfunction. *Textbook of Critical Care*. Fink MP, Abraham E, Vincent JL, Kochanek PM. (Eds). Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier-Saunders 2005: 1249-1258.
67. Vincent JL. Septic shock. *Textbook of Critical Care*. Fink MP, Abraham E, Vincent JL, Kochanek PM. (Eds). Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier-Saunders 2005: 1259-1265.
68. Aygen B, Inan M, Doganay M, Kelestimur F. Adrenal functions in patients with sepsis. *Exp Clin Endocrinol Diab* 1997; 105: 182.
69. Vincent JL. Sepsis: the systemic inflammatory response. *Critical Care. The Requisites in Anesthesiology*. Papadakis PJ, Szalados JE (Eds). Philadelphia: Elsevier/Mosby, 2005: 3-10.
70. Doganay M. Sepsis: yeni tanımlar ve patogenezi. *Flora enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi* 1996.

71. Doğanay M. Sepsis. Willke A, Söyletir G, Doğanay M (ed). İnfeksiyon Hastalıkları İstanbul: Nobel Kitap, 1996; 473-485.
72. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med 2003; 348: 1546-1554.
73. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26: 239-257.
74. Öztürk F. Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002; 9: 143-148.
75. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. J Cell Physiol 2002; 192: 1-15.
76. Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, Nicotera P, Lipton SA. Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 7162-7166
77. Sastry PS, Rao KS. Apoptosis and the nervous system. J Neurochem 2000; 74: 1-20
78. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. Toraks Dergisi 2001; 2: 91-5
79. Bjelakovic G, Nagorni A, Bjelakovic M, Stamenkovic I, Arsic R, Katic V. Apoptosis: programmed cell death and its clinical implications. Medicine and Biology 2005; 12: 6-11
80. Ergin M, Alkan S. Apoptozis. Arşiv 2002; 11: 495.
81. Cummings MC, Winterford MC, Walker NI, (eds). Apoptosis, Vols. Second Edition: Lipincott-Raven Publishers, 1997: 3-21.
82. Meagher LC, Savill JS, Baker A, Fuller RW, Haslet C. Phagocytosis of apoptotic neutrophils does not induce macrophage release of tromboxane B2. J Leukoc Biol 1992; 52: 269-273.
83. Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. Annu Rev Immunol 1998; 16: 395-419.

84. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis of autoimmune disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1995; 267: 1456-1462.
85. Oren M, Rotter V. Introduction: p53-the first twenty years. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 9-11
86. Zhao H, Yenari MA, Cheng D, Sapolsky RM, Steinberg GK. Bcl-2 overexpression protects against neuron loss within the ischemic margin following experimental stroke and inhibits cytochrome c translocation and caspase-3 activity. *J Neurochem* 2003; 85: 1026-1036
87. Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993; 74: 609-619.
88. Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Lung infections: role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. *Chest* 2000; 117: 1771-1777.
89. Johnson DE. Programmed cell death regulation: basic mechanisms and therapeutic opportunities. *Leukemia* 2000; 14: 1340-1344.
90. Majid DS, Said KE, Omoro SA, Navar LG. Nitric oxide dependency of arterial pressure-induced changes in renal interstitial hydrostatic pressure in dogs. *Circ Res* 2001; 88: 347-351.
91. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 2001; 68: 383-424.
92. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 1996; 87: 171.
93. Arama E, Agapite J, Steller H. Caspase activity and a specific cytochrome C are required for sperm differentiation in *Drosophila*. *Dev Cell* 2003; 4: 687-697.
94. Yuan J, Shaham S, Ledoux S, Ellis HM, Horvitz HR. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *Cell* 1993; 75: 641-652.

95. Lopez-Neblina F, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH. Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. *J Invest Surg* 2005; 18: 335-350.
96. Padosch SA, Vogel P, Bottiger BW. Neuronal apoptosis following cerebral ischemia. Basis, physiopathology and treatment strategies. *Anaesthesist* 2001; 50: 905-920.
97. Assuncao GC, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* 2004; 271: 1638–1650.
98. Zimmermann KC, Green DR. How cells die: apoptosis pathways. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 99-103
99. Töllner U. Early diagnosis of septicemia in newborn clinical studies sepsis score. *Eur J Ped* 1982; 138: 331-337
100. Oran O, Erdem G, Tekinalp G, Yurdakök M. Yenidoğan bakımında Hacettepe uygulamaları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2001: 48.
101. Geme JW, Murray DL, Carter J, Hobel CJ, Leake RD, Anthony BF, et al. Perinatal bacterial infection after prolonged rupture of amniotic membranes: an analysis of risk and management. *J Ped* 1984; 104: 608-613.
102. Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr opin Pediatr* 2006; 18: 125-131.
103. Somer A. Escherichia Coli Enfeksiyonları. Feyzi O, Ertuğrul T(eds). *Pediatrici* 1. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 511-513
104. Lebel MH. Neonatal Menengitis. McMillan JA, Feigin RD, DeAngelis C, Jones MD (eds). *Oski's Pediatrics: Principles and Practice*. (4th ed.) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2006: 493-495.
105. Berardi A, Lugli L, Rossi C, China MC, Vellani G, Contiero R, et al. Infezioni da Streptococco B Della Regione Emilia Romagna. Neonatal bacterial meningitis. *Minerva Pediatr* 2010; 62: 51-54.

106. Garges HP, Moody MA, Cotten CM, Smith PB, Tiffany KF, Lenfestey R, et al. Neonatal meningitis: what is the correlation among cerebrospinal fluid cultures, blood cultures, and cerebrospinal fluid parameters? *Pediatrics* 2006; 117: 1094-1100.
107. Gaschignard J, Levy C, Romain O, Cohen R, Bingen E, Aujard Y, Boileau P. Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: 212-217.
108. Chávez-Bueno S, McCracken GH. Bacterial meningitis in children. *Pediatr Clin North Am* 2005; 52: 795-810.
109. Benitz WE. Adjunct laboratory tests in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 2010; 37: 421-438.
110. Chirico G, Loda C. Laboratory aid to the diagnosis and therapy of infection in the neonate. *Pediatr Rep* 2011; 3: 1.
111. Chiesa C, Panero A, Osborn JF, Simonetti AF, Pacifico L. Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin Chem* 2004; 50: 279-287.
112. Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR. The neonatal blood count in health and disease. *J Pediatr* 1979; 95: 89-93.
113. Newman TB, Puopolo KM, Wi S, Draper D, Escobar GJ. Interpreting complete blood counts soon after birth in newborns at risk for sepsis. *Pediatrics* 2010; 126: 903-909.
114. Spector SA, Ticknor W, Grosman M. Study of the usefulness of clinical and hematologic findings in the diagnosis of neonatal bacterial infections. *Clin Pediatr* 1981; 20: 385.
115. Rodwell RL, Leslie AL, Tudehope DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *Journal of Pediatrics* 1998; 112: 761-767.
116. Tripathi S, Malik GK. Neonatal Sepsis: past, present and future; a review article. *Int J Med Update* 2010; 5: 45-54.

117. Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG. Neonatology Management, procedures, On-call problems, diseases and drugs. 3rd ed., Philadelphia: Appleton and Lange, 1994: 339-343.
118. DuClos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med* 2000; 32: 274.
119. Schouten-VanMeetereen NYN, Rietveld A, Molenaar AJ: Influenca of perinatalconditions on C-reactive protein production. *J Pediatr* 1992; 120: 621-626.
120. Lam HS, Ng PC. Biochemical markers of neonatal sepsis. *Pathology* 2008; 40: 141-148.
121. Ng PC, Lam HS. Biomarkers for late-onset neonatal sepsis: cytokines and beyond. *Clin Perinatol* 2010; 37: 599-610.
122. Krediet T, Gerards L, Fleer A, Stekelenburg G: The predictive value of CRP and I/Tratio in neonatal infection. *J Perinat Med* 1992; 20: 479-485.
123. Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1605-1608.
124. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341: 515-518.
125. Steinwald PM, Whang KT, Becker KL, Snider RH, Nylen ES, White JC: Elevated calcitonin precursor levels are related to mortality in an animal model of sepsis. *Crit Care (Lond)* 1999; 3: 11-16.
126. Papoff P. Use of hematologic data to evaluate infections in neonates. In Christensen RD (Ed): *Hematologic problems of the neonate*, Philadelphia W.B Saunders Company 1st ed. 2000: 389-404.
127. Gendrel D, Raymond J, Assicot M. Measerement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 1240-1242.
128. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman: Gruliow R (ed). *Cellular and Molecular Immunology*. 5thed. Philadelphia: Saunders, 2003; 243-275.

129. Ng PC, Cheng SH, Chui KM, Fok TF, Wong MY, Wong W, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997; 77: 221-227.
130. Silveira RC, Procianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr* 1999; 88: 647-650.
131. Delgado M, Pozo D, Martinez C. Vazoactive polypeptide inhibit endotoxin induced TNF α production by macrohager: in vitro and in vivo studies. *J Immunol* 1992; 162: 2358-2367.
132. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol* 2008; 214: 149-160.
133. Cauwels A, Brouckaert P. Survival of TNF toxicity: dependence on caspases and NO. *ArchBiochem Biophys* 2007; 462: 132-139.
134. Zeitoun AA, Gad SS, Attia FM, Abu Maziad AS, Bell EF. Evaluation of neutrophilic CD64, interleukin 10 andprocaltinonin as diagnostic markers of early– and late–onset neonatal sepsis. *Scand J Infect Dis* 2010; 42: 299–305.
135. Mussap M, Puxeddu E, Burrai P, Noto A, Cibecchini F, Testa M, et al. Soluble CD14 subtype (sCD14-ST) presepsin in critically ill pretern newborns: preliminary reference ranges. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25: 51-53.
136. Shirakawa K, Naitou K, Hirose J, Takahashi T, Furusako S. Presepsin (sCD14-ST): development and evaluation of one-step ELISA with a new standard that is similar to the form of presepsin in septic patients. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 937-939.
137. Cakir Madenci O, Yakupoglu S, Benzonana N, Yücel N, Akbaba D, Orçun Kaptanağası A. Evaluation of soluble CD14 subtype (presepsin) in burn sepsis. *Burns* 2014; 40: 664-669.
138. Edwards M, Baker C. Sepsis in the newborn. Katz SL, Gershon AA, Hotez PJ (ed). *Krugman’s Infectious Diseases in Children*, St. Louis, Missouri 10th ed: Mosby-Year Book. 1998: 415-428.

139. Jean G, Antoine B, Loic P. Biochemical markers of neonatal sepsis. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 130-135.
140. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler (Çev. Aslan D). 5. Baskı. Ankara: Palmiye Yayınevi, 2005, s.450-52.
141. Fitzgerald JM, Goto M, Myers FT, Zeller P. Early metabolic effects of sepsis in the preterm infant: Lactic acidosis and increased glucose requirement. *J Pediatr* 1992; 121: 951-955.
142. Wijnberger LDE, Krediet TG, Visser GHA, Van Bel F, Egberts J. Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum Dev* 2003; 71: 111-116.
143. Vlachos GD, Bartzeliotou A, Schulpis KH, Partsinevelos GA, Lazaropoulou C, Papadima C, et al. Maternal-neonatal serum paraoxonase 1 activity in relation to the mode of delivery. *Clin Biochem* 2006; 39: 923-928.
144. Korkmaz A, Yurdakök M, Oran O, Tekinalp G. Hiperbilirubinemili yenidoğan bebeklerde serum bilirubin ve ürik asit düzeyleri arasındaki denge. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2001; 44: 338-41.
145. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-111.
146. Traverse JH, Nesmelov YE, Crampton M, Linstrom P, Thomas DD, Bache RJ. Measurement of myocardial free radical production during exercise using EPR spectroscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: 2453-2458.
147. Peters RP, Savelkoul PH, Simoons-Smit AM, Danner SA, Vandenbroucke-Grauls CM, van Agtmael MA. Faster identification of pathogens in positive blood cultures by fluorescence in situ hybridization in routine practice. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 119-123.
148. Petrakou E, Mouchtouri A, Levi E, Lipsou N, Xanthou M, Fotopoulos S. Interleukin-8 and monocyte chemotactic protein-1 mRNA expression in perinatally infected and asphyxiated preterm neonates. *Neonatology* 2007; 91: 107-113.

149. Saglani S, Harris KA, Wallis C, Hartley JC. Empyema: the use of broad range 16S rDNA PCR for pathogen detection. *Arch Dis Child* 2005; 90: 70-73.
150. Dalvi R, Raos S, Rangnekar J, Fernandez A. Exchange transfusions in neonatal sepsis. *Indian Pediatr* 1991; 28: 956-957.
151. Sandberg K, Fasth A, Berger A. Preterm infants with low immunoglobulin G levels have increased risk of neonatal sepsis but do not benefit from prophylactic immunoglobulin. *G. J Pediatr* 2000; 137: 623-628.
152. Banerjee MC, Speer CP. The current role of colony-stimulating factors in prevention and treatment of neonatal sepsis. *Semin Neonatal* 2002; 7: 335-349.
153. Teti G, Mancuso G, Tomasella F. Cytokine appearance and effects of anti-tumor necrosis factor alpha antibodies in a neonatal rat model of group B streptococcal infection. *Infect Immun* 1993; 6: 227-37.
154. Wearden ME. Nitric oxide Synthase inhibitors for septic shock. *Semin Ped Infect Dis* 2001; 12: 48-60.
155. Haque K, Mohan P. Pentoxifylline for neonatal sepsis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; 4: CD004205.
156. Stoll BJ, Hansen N, Higgins RD, Fanaroff AA, Duara S, Goldberg R, Laptook A (ed). Very low birth weight preterm infants with early onset neonatal sepsis: the predominance of gram-negative infections continues in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 2002-2003. *Pediatr Infect Dis J*, 2005; 24: 635-9.
157. Clark R, Powers R, White R, Bloom B, Sanchez P, Benjamin DK. Prevention and treatment of nosocomial sepsis in the NICU. *J Perinatol* 2004; 24: 446-453.
158. Shi X, Semkova I, Muther SB, Dell S, Kociok N, Jousen AM. Inhibition of TNF- α reduces laser-induced choroidal neovascularization. *Exp Eye Res* 2006; 83: 1325-1334.

159. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. Bevacizumab (Avastin), a humanized antiVEGF monoclonal antibody for cancer Therapy. *Biochem and Biophys Res Commun* 2005; 35: 333-328.
160. ENBREL (etanercept) Prospektusu. İstanbul. Wyeth İlaçları A.Ş., 2010.
161. Fleischmann R, Iqbal I, Nandeshwar P, Quiceno A. Safety and efficacy of disease-modifying anti-rheumatic agents: focus on the benefits and risks of etanercept. *Drug Saf* 2002; 25: 173–197.
162. Scheinfeld N. A comprehensive review and evaluation of the side effects of the tumor necrosis factor alpha blockers etanercept, infliximab and adalimumab. *J Dermatolog Treat* 2004; 15: 280-294.
163. Jonathan MB, Brian WS, Brent JP, Dawn S, Ruben, SA. Etanercept, a TNF-alpha binding agent, is ineffective in the prevention of Post-ERCP pancreatitis in canines JOP. *J Pancreas* 2008; 9: 456-467.
164. Hamilton CD. Infectious complications of treatment with biologic agents. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 393-398
165. Gunzier V. Thalidomide in human immunodeficiency virus (HIV) patients. A review of safety considerations. *Drug Saf* 1992; 7: 116-134.
166. Koch HP. Thalidomide and congeners as anti-inflammatory agents. *Prog Med Chem* 1985; 22: 165-242.
167. Gad SM, Shannon EJ, Krotoski WA, Hastings RC. Thalidomide induces imbalances in T-lymphocyte sub-populations in the circulating blood of healthy males. *Lepr Rev* 1985; 56: 35-39.
168. Mc Hung SM, Rifkin IR, Deihton J. The immunosuppressive drug thalidomide induces T helper cell type 2(Th2) and concomitantly inhibits Th1 cytokine prduction in mitogen-and antigen-stimulated human periheral blood mononuclear cell cultures. *Clin Exp Immunol* 1995; 99: 160-67

169. Makonkawkeyoon S1, Limson-Pobre RN, Moreira AL, Schauf V, Kaplan G. Thalidomide inhibits the replication of human immunodeficiency virus type 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5974-5978.
170. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4082-4085
171. Schröder JM, Sellhaus B, Wöhrmann T, Kögel B, Zwingenberger K. Inhibitory effects of thalidomide on cellular proliferation, endoneurial edema and myelin phagocytosis during early wallerian degeneration. *Acta Neuropathol* 1995; 89: 415-419.
172. Stephens TD. Proposed mechanisms of action in thalidomide embryopathy. *Teratology* 1988; 38: 229-39
173. Soran M. Adriyamin ile Oluşturulan Deneysel Nefrotik Sendrom Modelinde Talidomidin Nefrotik Sendromun Laboratuvar Bulguları Üzerine Etkisi (Yan Dal Uzmanlık Tezi). Adana: Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi, 2010.
174. Kou-Chi Niu, Mao-Tsun Lin, Ching-Ping Chang Hyperbaric oxygen improves survival in heat stroke rats by reducing multiorgan dysfunction and brain oxidative stress, *European Journal of Pharmacology* 2007; 569: 94–102.
175. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation. Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* 1982; 78: 206-209.
176. Freise H, Brückner UB, Spiegel HU. Animal models of sepsis. *J Invest Surg* 2001; 14: 195-212.
177. İskit AB. Sepsiste Deneysel Modeller. *Yoğun Bakım Dergisi* 2005; 5: 133-136.
178. Cross AS, Opal SM. A new paradigm for the treatment of sepsis: is it time to consider combination therapy, *Ann Intern Med* 2003; 138: 502-525.
179. Karabacak A, Yazar E. Current approaches in the treatment of septic shock. *Eurasian J Vet Sci* 2006; 22: 95-103.

180. Genovese T, Mazzon E, Crisafulli C, Esposito E, Di Paola R, Muià C, et al. Combination of dexamethasone and etanercept reduces secondary damage in experimental spinal cord trauma. *Neuroscience* 2007; 150: 168-81
181. Neviere R, Fauvel H, Chopin C, Formstecher P, Marchetti P. Caspase inhibition prevents cardiac dysfunction and heart apoptosis in a rat model of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 63: 218-225.
182. Furst DE. Development of TNF inhibitor therapies for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2010; 28: S5-12.
183. Giardin EP, Berner ME, Grau GE. Serum tumor necrosis factor- α in newborns at risk for infections. *Eur J Pediatr* 1990; 149: 645-647.
184. Gu Q, Yang XP, Bonde P, DiPaula A, Fox-Talbot K, Becker LC. Inhibition of TNF- α reduces myocardial injury and proinflammatory pathways following ischemia-reperfusion in the dog. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 48: 320-8
185. Oberholzer C, Souza SM, Tschoeke SK, Abouhamze A, Pribble JP, Moldawer LL. Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. *Shock* 2005; 23: 488-493.
186. Di Paola R, Mazzon E, Muià C, Crisafulli C, Terrana D, Greco S, et al. Effects of etanercept, a tumor necrosis factor- α antagonist, in an experimental model of periodontitis in rats. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 286-97.
187. Cora HN, Cobi JH, Floris G, Frank B, Annemieke K. Alternate Pathways Preserve Tumor Necrosis Factor-Production After Nuclear Factor- β Inhibition in Neonatal Cerebral Hypoxia-Ischemia Stroke 2009; 40: 3362-3368.
188. Triantafyllidis JK, Papalois AE, Parasi A, Anagnostakis E, Burnazos S, Gikas A, et al. Favorable response to subcutaneous administration of infliximab in rats with experimental colitis. *World of Gastroenterol* 2005; 11: 6843-6847.
189. Francis FT, James PL, Patricia EG, Robert AR. The role of tumor necrosis factor α in lipopolysaccharide/ranitidine-induced inflammatory liver injury. *Toxicol Sci* 2007; 100: 267-280.

190. Shozushima T, Takahashi G, Matsumoto N, Kojika M, Okamura Y, Endo S. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Chemother* 2011; 17: 764-769.
191. Hubertus PAJ. Time to abandon dogma: CD14 is expressed by non-myeloid lineage cells *Immunology and Cell Biology* 2005; 83: 462–467.
192. Thorgersen EB, Hellerud BC, Nielsen EW, Barratt-Due A, Fure H, Lindstad JK, et al. CD14 inhibition efficiently attenuates early inflammatory and hemostatic responses in *Escherichia coli* sepsis in pigs. *FASEB J* 2010; 24: 712–722.
193. Olszyna DP, Verbon A, Pribble JP, Turner T, Axtelle T, van Deventer SJ. Effect of IC14, an anti-CD14 antibody, on plasma and cell-associated chemokines during human endotoxemia. *Eur Cytokine Netw* 2003; 14: 158–162.
194. Okamura Y, Yokoi H. Development of a point-of-care assay system for measurement of presepsin (sCD14-ST). *Clin Chim Acta* 2011; 412: 2157-61.
195. Endo S, Suzuki Y, Takahashi G, Shozushima T, Ishikura H, Murai A, et al. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in a multicenter prospective study. *J Infect Chemother* 2012; 18: 891-897.
196. Novelli G, Morabito V, Ferretti G, Pugliese F, Ruberto F, Venuta F, et al. Pathfast presepsin assay for early diagnosis of bacterial infections in surgical patients: preliminary study. *Transplant Proc* 2013; 45: 2750-2753.
197. Cakır Madenci Ö, Yakupoğlu S, Benzonana N, Yücel N, Akbaba D, Orçun Kaptanağası A. Evaluation of soluble CD14 subtype (presepsin) in burn sepsis. *Burns*. 2014; 40: 664-669.
198. Liu B, Chen YX, Yin Q, Zhao YZ, Li CS. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Crit Care* 2013; 17: 244.
199. Palmiere C, Mussap M, Bardy D, Cibecchini F, Mangin P. Diagnostic value of soluble CD14 subtype (sCD14-ST) presepsin for the postmortem diagnosis of sepsis-related fatalities.

- 200.** Endo S, Suzuki Y, Takahashi G, Shozushima T, Ishikura H, Murai A, et al. Presepsin as a powerful monitoring tool for the prognosis and treatment of sepsis: a multicenter prospective study. *J Infect Chemother* 2014; 20: 30-34.
- 201.** Chenevier-Gobeaux C, Trabattoni E, Roelens M, Borderie D, Claessens YE. Presepsin (sCD14-ST) in emergency department: the need for adapted threshold values? *Clin Chim Acta* 2014; 427: 34-36.
- 202.** Masson S, Caironi P, Spanuth E, Thomae R, Panigada M, Sangiorgi G, et al. ALBIOS Study Investigators. Presepsin (soluble CD14 subtype) and procalcitonin levels for mortality prediction in sepsis: data from the Albumin Italian Outcome Sepsis trial. *Crit Care* 2014; 18: 6.
- 203.** Ishikura H, Nishida T, Murai A, Nakamura Y, Irie Y, Tanaka J, Umemura T. New diagnostic strategy for sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: a prospective single-center observational study. *Crit Care* 2014; 18: 19.
- 204.** Cristofaro P, Opal SM, Role of Toll-like receptors in infection and immunity: Clinical Implications. *Drugs* 2006; 6: 15-29.
- 205.** Arnalich F, Garcia-Palomero E, Lopez J. Predictive Value of Nuclear Factor κ B Activity and Plasma Cytokine Levels in Patients with Sepsis. *Infection and Immunity* 2000; 68: 1942-1945.
- 206.** Li G, Qi XP, Wu XY, Liu FK, Xu Z, Chen C, et al Verapamil modulates LPS-induced cytokine production via inhibition of NF-kappa B activation in the liver. *Inflammation Research* 2006; 55: 108-113
- 207.** Xiaohui Y, Baoyin J, Faqiang W, Xiuxiu L, Xuemei P, Yiyang W, et al. adrenoceptor activation by norepinephrine inhibits LPS-induced cardiomyocyte TNF- α production via modulating ERK1/2 and NF- κ B pathway *J Cell Mol Med* 2014; 18: 263-273
- 208.** Feldmann M, Maini, RN. Lasker ClinicalMedical Research Award. TNF defined as a therapeutic target for rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat Med* 2003; 9: 1245–1250.

- 209.** Weber D. Thalidomide and its derivatives: new promise for multiple myeloma. *Cancer Control* 2003; 10: 375-383.
- 210.** Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 27–55
- 211.** Adén U, Favrais G, Plaisant F, Winerdal M, Felderhoff-Mueser U, Lampa J, et al. Systemic inflammation sensitizes the neonatal brain to excitotoxicity through a pro-/anti-inflammatory imbalance: key role of TNF-alpha pathway and protection by etanercept. *Brain Behav Immun* 2010; 24: 747-758.
- 212.** Cai ZW, Lin SY, Pang Y. Brain injury induced by intracerebral injection of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in the neonatal rat. *Pediatr Res* 2004; 56: 377–84.
- 213.** Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuvar medyatörlere toplu bakış, *Genel Tıp Der* 2006; 16: 143-152.
- 214.** Oberholzer A, Souza SM, Tschoeke SK, Oberholzer C, Abouhamze A, Pribble JP. Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. *Shock* 2005; 23: 488-493.
- 215.** Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, De Groote D, Franchimont P, et al. Cytokine serum level during severe sepsis in human: IL-6 as a marker of severity. *Ann Surg* 1992; 215: 356–362.
- 216.** Leon LR, Kozak W, Rudolph K, Kluger MJ. An antipyretic role for interleukin-10 in LPS fever in mice. *Am J Physiol* 1999; 276: 81-89.
- 217.** Thibeault DW. The precarious antioxidant defenses of the preterm infant. *Am J Perinat* 2000; 17: 167-181.
- 218.** Pascual C, Karzai W, Meier-Hellmann A, Oberhoffer M, Horn A, Bredle D, et al. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Crit Care Med* 1998; 26: 705-705.

219. Tsai K, Tai-Ger H, Chi-Woon K, Kuan-Chia L, Fung-Jou L. Is the peroxy-radical scavenging capacity of plasma protective in systemic inflammatory disorders in humans *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 926-933.
220. Doise JM, Aho LS, Quenot JP, Guillard JC, Zeller M, Vergely C, et al. Plasma antioxidant status in septic critically ill patients: a decrease over time. *Fundam Clin Pharmacol* 2008; 22: 203-209.
221. Wheeler DS, Deveragen P, Ma Q, Harmol K. Serum neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med* 2008; 36: 1297-1303.
222. Farmer EE, Davoine C. Reactive electrophile species. *Curr. Opin Plant Biol* 2007; 10: 380–386.
223. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005; 15: 316–328.
224. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
225. Cancelier AC, Petronilho F, Reinke A, Constantino L, Machado R, Ritter C, et al. Inflammatory and oxidative parameters in cord blood as diagnostic of early-onset neonatal sepsis: a casecontrol study. *Pediatr Crit Care Med* 2009; 10: 467-71.
226. Crimi E, Sica V, Williams-Ignarro S, Zhang H, Slutsky AS, Ignarro LJ, Napoli C. The role of oxidative stress in adult critical care, *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 398-406.
227. Şehirli Ö, Ünlü B, Çetinel Ş, Tetik Ş, Şener E, Şener G. Etanercept protects remote organ damage in a rat model of thermal injury. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2011; 15: 118-124.
228. Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica Chimica Acta* 2007; 380: 50

229. Von Moos R, Stolz R, Cerny T, Gillesen S. Thalidomide: from tragedy to promise. *Swiss Med Wkly* 2003; 8: 77-87.
230. Teo SK. Properties of Thalidomide and its Analogues: Implications for Anticancer Therapy. *AAPS Journal* 2005; 7: 14-19.
231. Lally KP, Cruz E, Xue H. The Role of Anti-Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-10 in Protecting Murine Neonates From Escherichia coli Sepsis. *Journal of Ped Surg* 1999; 25: 852-855.
232. Alles A, Alley K, Barrett JC. Apoptosis: a general comment. *FASEB J* 1991; 5: 2127-2128.
233. Christophe M, Niolas S. Mitochondria: A target for neuroprotective interventions in cerebral ischemia/reperfusion. *Current Pharmaceutical Design* 2006; 12: 739-757.
234. Walter F, Carmelo M, Carmela C. Infliximab and Etanercept are Equally Effective in Reducing Enterocyte Apoptosis in Experimental Colitis *Int J Med Sci* 2008; 5: 18-22.
235. Samuel B, Sean IS, Sheetal N. Deleterious Role of TNF- α in Retinal Ischemia-Reperfusion Injury. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2008; 49: 3605-3610.
236. Campbell SJ, Jiang Y, Davis AE, Farrands R, Holbrook J, Leppert D, Anthony DC. Immunomodulatory effects of etanercept in a model of brain injury act through attenuation of the acute-phase response. *J Neurochem* 2007; 103: 2245-55
237. Avunduk MC, Avunduk AM, Oztekin E, Baltaci AK, Ozyazgan Y, Mogolkoc R. Etanercept treatment in the endotoxin-induced uveitis of rats. *Exp Eye Res* 2004; 79: 357-365.
238. Chio CC, Lin JW, Chang MW, Wang CC, Kuo JR, Yang CZ, Chang CP. Therapeutic evaluation of etanercept in a model of traumatic brain injury. *J Neurochem* 2010; 115: 921-929.

6. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Elazığ'da doğdum. İlkokulu Samsun Altınkaya İlkokulu'nda tamamladıktan sonra orta öğrenimimi Sivas Halil Rıfat Paşa Ortaokulunda tamadım lise eğitimimi Malatya Lisesi'ne tamadım.1996 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde eğitime başladım. 2012 yılında mezun olup 2014 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavı ile Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım.

