

T.C
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

SEPSİS ÖN TANILI YAYGIN YANGISAL YANIT BULGULARI
OLAN HASTALARDA İMMÜN SÜPRESYON İLE
DİHİDROEPIANDROSTERON VE
ANDROSTENEDİOL ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

DR MUKADDES AĞIRTICI

UZMANLIK TEZİ

KONYA 2015

T.C
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

SEPSİS ÖN TANILI YAYGIN YANGISAL YANIT BULGULARI
OLAN HASTALARDA İMMÜN SÜPRESYON İLE
DİHİDROEPIANDROSTERON VE
ANDROSTENEDİOL ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

DR. MUKADDES AĞIRTICI

UZMANLIK TEZİ

Danışman : PROF DR NURETTİN ONUR KUTLU

KONYA 2015

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamızın finansmanını sağlayan Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fonunun desteği için,

Tezimin çalışma aşamasından verilerin değerlendirilmesi aşamasına kadar yardımlarını esirgemeyen sayın Prof Dr İsmail REİSLİ, Prof Dr Mehmet Emre ATABEK ve Doç Dr Sevgi KELEŞ, Yardımcı Doçent Dr Şükrü Nail GÜNER hocalarıma

Biyokimya anabilim dalından Prof Dr Haluk DÜLGER ve Araştırma Görevlisi Dr Nejla ÖZER'e

İmmunoloji laboratuvarında kanların çalışılması ve verilerin analizi için Esra PEKCANDANOĞULLARI'na

Asistanlık boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarım ve yandal uzmanlık araştıma görevlilerine,

Berber çalıştığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarım,

Bu zorlu süreçte desteklerini hep yanımda hissettiğim, pediatri uzmanlığını seçmem konusunda beni yüreklendiren anne ve babama,

Zor zamanlarda sabrıyla yanımda olan eşime teşekkür ederim.

Ekim 2015

Dr. Mukaddes Ağırtıcı

ÖZET

SEPSİS ÖN TANILI YAYGIN YANGISAL YANIT BULGULARI OLAN HASTALARDA İMMÜN SÜPRESYON İLE DİHİDROEPIANDROSTERON VE ANDROSTENEDİOL ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI DR MUKADDES AĞIRTICI UZMANLIK TEZİ KONYA 2015

AMAÇ: Prospektif yapılan bu çalışmaya Ocak 2011- Mart 2015 yılları arasında sepsis ön tanısı ile yaygın yangısal yanıt bulguları olan 6 ay-18 yaş aralığında Necmettin Erbakan Üniversitesi Çocuk Yoğun Bakım Ünitesine yatışı yapılan ve tedavi edilen 25 vaka dahil edilmiştir. Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında yaygın yangısal yanıt bulguları olan çocuk hastalarda klinik olarak yaygın yangısal yanıt bulguların olduğu dönemde ve iyilik hali olduğu dönem olmak üzere 2 kez kan örneği alınarak literatürde ilk defa sepsisli çocuklarda sepsisin ciddiyeti ile yaygın yangısal yanıt bulgularının olduğu dönem ve klinik olarak iyilik hali olduğu dönemde cinsiyet hormonları (DHEA, Androstenediol) nın klinik seyir ve bağışıklık durumu arasındaki bağıntıyı göstermeyi amaçladık. Bu çalışma ile hücresel bağışıklık yanıtının (CD3,CD4,CD8,CD16,CD56), interlökin 4 (IL4) ,interlökin 6 (IL6), tümör nekrozis faktör (TNF) ve vücut dışı (invitro) uyarılmış T lenfositlerinde kültür ortamında CD25, CD69, insan lökosit antijeni (HLA DR), interferon gama (IFN γ) üretimlerinin bu olası ilinti üzerine etkileri ayrıntılı olarak irdelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Vakalardan başvuru anı ve kontrol olmak üzere hayati bulgular, mekanik ventilatörde kalış süreleri, hastanede yatış süreleri, tam kan sayımı, kanama profili, karaciğer paneli, böbrek fonksiyon testleri, kan gazı, akut faz reaktanları, kültür sonuçları, DHEA, androstenediol düzeyleri, immün parametreleri, taburculuk durumları, klinik durumun ciddiyetinin belirlemek için pediatrik risk of mortality(PRISM), pediatrik lojistik organ disfonksiyonu (PELOD) skorlamaları ve tahmini ölüm oranları hesaplanmıştır. İmmün parametreler akım hücre ölçer , hormonlar ELISA yöntemi ile çalışılmıştır.

BULGULAR: Çalışmamıza dahil edilen vakaların yaş ortalamasına bakıldığında 55,2 ay (min:6 ay max:170 ay) idi. Vakaların 10'unu kız (%40) 15'i (%60) erkek idi. Hastaların genel demografik özellikleri incelendiğinde 25 vakanın 16 sında(%64)

malnutrisyon mevcuttu, büyüme geriliği ise sadece 6 vakada (%24) vardı. Özgeçmişlerinde ise 3 vakada (%12) prematüre doğum öyküsü, diğer vakalarımız (%88) miad doğum öyküsü vardı. 24 vakada (%96) kronik hastalık, 1 vakada (%4) ise bilinen herhangi bir hastalık öyküsü yoktu. Tüm vakalarda SIRS kriterlerinden en az 3 ü bulunmaktaydı. Sıklıkla solunum ve dolaşım yetmezliği tablosu hakimdi. 25 vakamızdan 5 vakamız (%20) yoğun bakım takibi sırasında vefat etti, diğer vakalarımız (%80) ise haliyle evde bakım hastası olarak taburcu edildi.

Vakaların androstenediol değerlerinde SIRS anında klinik olarak iyilik hali olduğunda bakılan değerler ile kıyaslandığında belirgin düşüş olduğu görüldü ($p:0,008$), DHEA açısından benzer bir ilişki tespit edemedik, IL-6 değerinde istatistiksel açıdan SIRS anında anlamlı artış olduğu kontrolde ise değerinde azalma olduğu görüldü ($p:0,018$), bu durum sepsis ile ilişkilendirildi, diğer parametrelerde anlamlı veriler elde edilemedi ($p>0,05$). Vakaların hormon ve bağışık yanıt arasındaki ilişkiye baktığımızda androstenediol tüm yaş gruplarında sitokin salınımını baskıladığını gördük. Vakaların kontrolde bakılan T sitotoksiklerden salgılanan IFN kontrol değerleri ve androstenediol kontrol değerleri arasında da negatif korelasyon vardı. Vakaları 9 yaş altı ve üstü olarak 2 ayrı gruba ayırdık. İmmun parametreleri çalıştığımız 9 yaş altında toplamda 6 vakamız vardı. 9 yaş altı gruptaki vakaların SIRS anı B lenfosit (CD 19) değerleri ile androstenediol arasında negatif korelasyon vardı ($p:0,037$). Androstenediol değeri düşük olan vakaların T HLA-DR aktivasyon değerleri de düşüktü, aralarında yüksek pozitif korelasyon vardı. Aynı yaş grubunda CD3-CD69- 24. Saat aktivasyon değerleri ile SIRS anı DHEA arasında da pozitif korelasyon vardı ($p:0,037$). DHEA değerleri arttıkça CD3-CD69-24 saat aktivasyon yanıtı da daha iyiydi. 9 yaş üstü grupta SIRS anında androstenediol T lenfositlerden IL4 salınımını baskıladığını gördük ($p<0,05$). Androstenediol değerleri arttıkça IL4 değerlerinde düşme olduğunu gördük. Yine benzer şekilde SIRS anı toplam TNF ve toplam IFN değerleri ile de androstenediol arasında negatif korelasyon vardı ($p<0,05$).

SONUÇ: Daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde bizim verilerimizde sepsise bağlı hücresel bağışık yanıtın baskılandığı, kontrolsüz sitokin fırtınasının olduğu yönünde idi. Bu bulguların kliniğe yansımaları olarak vakaların daha uzun süre mekanik ventilatör ihtiyacı olduğunu, yoğun bakımda kalış sürelerinin uzadığını gördük. Androstenediol ve DHEA ile bağışık yanıt arasındaki ilişki açısından baktığımızda ise literatüre benzer şekilde androstenediolün sepsis anında bağışık yanıt üstüne etkisini sitokin fırtınasını kontrol altına alarak gösterdiğini düşünmekteyiz. Ancak DHEA ile

benzer sonuçlar elde edemedik. DHEA ve androstenediolün sepsisteeki rolü adına yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELEER: çocuk, sepsis, DHEA, androstenediol, bağışık yanıt



ABSTRACT

CHILDREN HAD COMMON INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME RELATED WITH PRE-DIAGNOSIS OF SEPSIS, DHEA AND ANDROSTENEDIOL LEVELS ASSOCIATED WITH IMMUNE SUPPRESSION STUDY

DR MUKADDES AĞIRTICI

DOCTORAL THESIS, 2015

AIM: The prospective study has been performed at Necmettin Erbakan University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Intensive Care Unit from January 2011 to March 2015, 6 months-18 age range 25 cases who had common inflammatory response syndrome related with pre-diagnosis of sepsis were included the study. In this study we takes two times blood sample first time children who had common inflammatory response syndrome and the second one when the cases were wellness , first time in the literature we aimed to show that sex hormones (DHEA, androstenediol) correlation between the clinical course, immune status . We also aim to reveal the detailed efficacy of cellular immunity response (CD3, CD4, CD8, CD16 and CD56 by flow cytometry to work), IL4, IL6, TNF α , in vitro stimulated T lymphocytes CD25, CD69 expression, HLA DR, IFN γ over this relationship.

METHODS: All of the cases we record clinical, mechanic ventilation time, hospitalization, whole blood count, bleeding profile, acute phase reactants, culture results, liver, renal function tests, DHEA, androstenediol levels, immune parameters, discharge status, to determine the severity of the clinical status pediatric risk of mortality (PRISM), pediatric logistic organ dysfunction (PELOD) scores and the estimated mortality rates were calculated. Immune parameters measured by flow cytometry, hormones was studied by ELISA.

RESULTS: The mean age of cases who were included the study 55.2 months (min 6 months, max 170 months). In this study, 15 (60%) females and 10 (40%) males were enrolled. Sixteen cases (64%) had malnutrition, and growth retardation in only 6 patients (24%). 3 cases (12%) had a history of premature birth, another of our cases (88%) had full-term birth story. In 24 cases (96%) of chronic disease, 1 patient (4%) had no history of any

disease is known. All of the cases, there were at least 3 SIRS criteria. Often dominated the respiratory and circulatory failure all of the cases. Our 5 cases (20%) died during follow-up in intensive care, other cases (80%) were discharged in the form of home care patients.

Androstenediol values is seen as a significant decrease when compared SIRS values to clinically well-being viewed values ($p:0.008$). We could not identify a similar relationship with DHEA. The value of IL6 is immediate reduction in SIRS and a significant increase was observed in the control samples($p:0.018$), this was associated with sepsis, we cant find any meanfull data on the other parameters. In terms of the relationship between the hormone and immune response data we have seen that in all age groups androstenediol suppress cytokine release and cytotoxic T lymphocyte IFN released control values had a negative correlation between the value of androstenediol control. Cases were divided into two groups under 9 years of age and older. We had 6 cases under 9 years of age that we worked immune parameters. At the same age group B cells (CD19) were negatively correlated with the values of androstenediol ($p\ 0037$) and high positive correlation between HLA-DR aktivation and androstenediol. CD69 aktivation of T lymphocyte had positive correlation with DHEA, DHEA levels are increased and the aktivation of CD3-CD69-24H was better.

The older age of nine we found that androstenediol suppresses release IL4 from T lymphocytes. Similarly in the SIRS the value of $TNF\alpha$ and $IFN\gamma$ were negative correlation between total androstenediol ($p < 0.05$).

CONCLUSION: Similarly previous study our data is cellular immune response is suppressed with sepsis, it was thought to be the uncontrolled cytokine storm. Clinical reflection of the of these findings is need for longer mechanical ventilation and prolonged duration of ICU stay. The association of hormones and immune response similar to the literature we think that androstenediol showed by controlling the cytokine storm on the effect of the immune response immediately. But we can not get similar results with DHEA. Further investigations for clarification of the functional mechanisms of DHEA and androstenediol in the sepsis are needed.

KEYWORDS: Child, sepsis, DHEA, androstenediol, immune response

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xxiii
1.GİRİŞ AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 SEPSİS VE SEPSİS TANISINDA KULLANILAN TANIMLAMALAR.....	4
2.1.1 Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)	4
2.1.2 Enfeksiyon	5
2.1.3 Sepsis	5
2.1.4 Ağır Sepsis	6
2.1.5 Septik Şok	6
2.1.6 Çoklu Organ Yetmezliği Kriterleri	6
2.1.6.1 Kardiyovasküler Organ Yetmezliği	6
2.1.6.2 Solunum	7
2.1.6.3 Nörolojik	7
2.1.6.4 Hematolojik.....	7
2.1.6.5 Renal.....	7
2.1.6.6 Hepatik	7
2.2 Sepsis Epidemiyoloji.....	8
2.3 Sepsis patofizyoloji	9
2.3.1. Proinflamatuvar yanıt :	9
2.3.2. Kompansatuvar antiinflamatuvar yanıt aktivitesinde bozulma:	9
2.3.3. İmmünoparalizi	9
2.3.4 İnflamatuvar Yanıt Fazı	9
2.3.4.1. Faz 1 bakteriyel toksin salınımı :	9
2.3.4.2. Faz 2 enfeksiyona yanıt olarak mediatör salınımı:.....	10
2.3.4.3. Faz 3 Aşırı Uyarılmış Spesifik Mediatörlerin Etkileri	11
2.3.5. Sepsiste Düzenleyici T Lenfositler	12
2.3.6 Yangıda Mitokondriyal Fonksiyon Bozukluğu	13
2.4 Sepsiste Bağışıklık Sisteminin Baskılanması.....	15
2.4.1 Sepsis İlişkili Bağışıklık Sisteminin Baskılanmasında İkincil Enfeksiyonlar	19
2.5. Dihidroepiandrosteronun ve Sepsis	20

2.5.1 Dihidroepiandrosteron Sentez ve Metabolizması	20
2.5.2 Dihidroepiandrosteron Etki Mekanizması	22
2.5.3 Sepsiste DHEA Düzeyleri.....	26
2.6 Androstenediol ve Sepsis.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	28
3.1. Gereçler	28
3.1.1. Kimyasallar	29
3.1.2. Hasta Grubu	30
3.2. Yöntem.....	32
3.2.1. Periferik Kan Lenfosit Alt Gruplarının Çalışılması.....	32
4. BULGULAR	35
5.TARTIŞMA.....	47
5.1 SIRS ve İyileşme Dönemi Verileri.....	48
5.2 Klinik ve Bağışıklık Yanıtı.....	49
5.3 Hormon ve Bağışıklık Yanıtı	50
6.SONUÇLAR.....	53
7.KAYNAKLAR	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. SIRS/SEPSİS ilişkisi.....	6
Şekil 2.2 .Sepsisdeki sitokinler.....	10
Şekil 2.3. Çoklu organ yetmezliğinin patogenezi.....	14
Şekil 2.4. DHEA sentezi.....	22
Şekil 4.1. Vakaların cinsiyet dağılımı.....	34
Şekil 4.2. Kronik hastalık dağılımı.....	34
Şekil 4.3. Hayatta kalım durumu.....	35
Şekil 4.4. DHEA düzeyleri ile T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki.....	38
Şekil 4.5. DHEA düzeyleri ile yardımcı T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki.....	39
Şekil 4.6. DHEA düzeyleri ile T lenfosit aktivasyonu (CD69) arasındaki ilişki.....	39
Şekil 4.7. DHEA ile yardımcı T lenfositlerin aktivasyonu (CD69) arasındaki ilişki.....	40
Şekil 4.8. Malnutrisyon ile T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki.....	40
Şekil 4.9. Malnutrisyon ile yardımcı T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki.....	41

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>SAYFA</u>
Tablo 2.1. PIRO evreleme sistemi.....	3
Tablo 2.2. Yaşa göre vital bulgular ve laboratuvar değerleri.....	5
Tablo 2.3. Sepsisdeki sitokinler.....	11
Tablo 2.4. Antiinflamatuvar araçlar ve etkileri.....	18
Tablo 2.5. DHEA ile yapılan klinik çalışmaların özet verileri.....	24
Tablo 3.1. Akım hücre ölçerde yüzey belirteçleri.....	33
Tablo4.1. Vakaların demografik özellikleri, özgeçmiş, PRISM, PELOD skorlamaları,hayatta kalım durumu.....	36
Tablo 4.2. Klinik veriler.....	37
Tablo 4.3. Laboratuvar verileri.....	37
Tablo 4.4. Hormon değerleri.....	37
Tablo 4.5. Sitokin düzeyleri.....	38
Tablo 4.6. Spearman's korelasyon analizine göre klinik veriler ile laboratuvar bulguları istatistiksel olarak anlamlı olan veriler.....	41
Tablo 4.7. Spearman's korelasyon analizine göre bağışıklık sistemi ve klinik bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı olan veriler.....	42
Tablo 4.8. Spearman's korelasyon analizine göre bağışıklık sistemi ve androstenediol arası nda istatistiksel olarak anlamlı olan veriler.....	43
Tablo 4.9. Spearman's korelasyon analizine göre bağışık yanıt androstenediol ilişkisi.....	43
Tablo 4.10. Erken- geç sepsis vakalarının p değeri anlamlı verileri.....	44
Tablo 4.11. 9 yaş altı vakaların spearman's korelasyona göre p değeri anlamlı olan parametrelerin korelasyon katsayısı tablosu (n: 6 vaka).....	45
Tablo 4.12. 9 yaş üstü vakaların spearman's korelasyona göre p değeri anlamlı olan parametrelerin korelasyon katsayısı tablosu (n: 12 vaka).....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
ACCP:	Amerikan göğüs hastalıkları derneği
ATS:	Amerikan toraks derneği
CARS:	Karşıt antiinflamatuvar yanıt
CD:	Cluster dissemination
COX-2:	Siklooksijenaz
DAMP:	Tehlike ilişkili moleküler patern
DHEA:	Dihidroepiandrosteron
ELİSA:	Enzyme-linked immunosorbent assay
ESICM:	Avrupa yoğun bakım derneği
FADD:	Fas ilişkili ölüm alanı proteini
FCS:	Fetal calf serumu
FOX P3:	Forkhead box protein
GM-CSF:	Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör
HLA-DR:	İnsan lökosit antijeni
HMGB:	Yüksek hareketli büyüme faktörü
IFN:	İnterferon
IL:	İnterlökin
İNOS:	Uyarılabilir nitrikoksit sentaz
LPS:	Lipopolisakkarit
LTA:	Lipoteikoik asit
MHC:	Doku uygunluk kompleksi
MPO:	Myeloperoksidaz
NADPH:	Nikotinamid adenosin dinükleotid fosfat
NF:	Nükleer faktör
NK:	Doğal öldürücü hücre
NO:	Nitrik oksit
NOD-LRR:	Lösinden zengin nükleotid oligomerizasyon domain
PAMP's	Patojen ilişkili moleküler patern
PARP-1:	Poliadp riboz polimeraz-1
PD:	Programlanmış ölüm
PELOD:	Pediyatrik lojistik organ disfonksiyonu
PGN:	Peptidoglikan
PAR:	Proteaz aktive reseptör
PPAR	Peroksizom çoğaltıcı ile aktive olan reseptör
PRISM:	Pediyatrik risk of mortality
PRR:	Örnek tanıyan reseptör
RAGE:	Glikasyon son ürün reseptörü
RLH:	Helikaz benzeri uyarılabilir retinoik asit gen-1
ROCK:	Rhoa/rho kinaz
ROS/RNS:	Reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri
SCCM:	Yoğun bakım derneği
SIRS:	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
SIS:	Cerrahi enfeksiyon derneği
TGF β :	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TLR:	Tool like reseptör
TNF:	Tümör nekrozis faktör
VİP:	Ventilatör ilişkili pnömoni
VSMC	Vasküler düz kas hücreleri
XOR:	Ksantin oksidaz

1.GİRİŞ AMAÇ

ABD verilerine göre her yıl çocuklarda 42 000 sepsis vakası görülmekte ve bu vakalarda mortalite %2-10 arasındadır(Odetola ve ark 2007). Gelişmekte olan ülkelerdeki 7.5 milyonu bulan 5 yaş altı ölümlerin çoğunun sepsise ikincil olduğu kabul edilmektedir(Wiens ve ark 2012).Sepsiste evre ciddi sepsisten çoklu organ yetmezliği sendromuna doğru gittikçe mortalite oranı da artmaktadır, dört ve üstü organ tutulumunda mortalite % 80 dir(Bilevicius ve ark 2001).

Bu ciddi sağlık problemine karşın mekanizmanın açıklığa kavuşturulması için çok sayıda çalışma yapılmış olup etiyopatogenezi halen tam olarak anlaşılamamıştır. Sağlıklı bir bağışıklık sistemi patojen mikroorganizma ile karşılaştığında hücresel ve salgısal immün sistem ile yaygın yangısal yanıt ortaya çıkar; zaman içerisinde enflamatuvar yanıt antienflamatuvar yanıt ile dengelenir. Ancak, bu dengenin bozulduğu durumlarda bağışıklık yanıtında vücut zararına bir artış veya düşüklük söz konusudur; bu durum vaka için çoklu organ yetmezliği ve ölüm riskinde artış demektir (Bone ve ark 1989).

Ortaya çıkan bu sitokin fırtınası hormonal dengeyi de olumsuz etkilemektedir. Sepsisli hastalarda, yaygın yangısal yanıt esnasında hipotalamus hipofiz aksın fonksiyonunda önemli değişiklikler olduğu gösterilmiştir(Marik 2009). Glukokortikoidlerin bu fizyopatolojide oynadığı rol ve klinik etkinlikleri birçok çalışmaya konu olmuştur. Böbrek üstü cinsiyet steroidlerinin bazı viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda klinik seyri etkiledikleri ve bu etkilerini hücresel bağışıklık üzerinden yaptıklarına dair veriler bulunmakla birlikte sepsiste etkinlikleri bugüne kadar insan çalışmalarında ayrıntılı çalışılmamıştır(Oberbeck ve ark 2001).

Stres durumunda cinsiyet steroidlerinin, böbrek-üstü bezin uyarılması ile diğer minerologlukokortikoid, glukokortikoidlerle birlikte arttığı bilinen fizyolojik bir fenomendir. Travmalı ve sepsisli hastalarda dihidroepiandrosteron (DHEA) düzeylerinde azalma rapor edilmiştir. Özellikle DHEA'nın hücresel bağışıklık üzerindeki olumlu etkilerinin gösterilmeye başlaması ile enfeksiyon cevabında böbrek üstü cinsiyet steroidlerinin bir önemi olabileceği düşünülmüştür. Daha sonra yapılan muhtelif deneysel çalışmalarda pseudomonas, enterokok, coxacie, influenza ve tüberküloz enfeksiyonu hayvan modellerinde DHEA ve onun alt ürünleri androstenediol kan düzeyleri ile mortalite arasında bağıntı rapor edilmiştir. Dahası bu modellerde DHEA ve androstenediol

yerine koyma tedavileri ile hayatta kalımı arttırdıkları teyit edilmiştir(Hazeldine ve ark 2010,Szalay ve ark 2006, Ben nathan ve ark 1999, Angele ve ark 1998).

Erişkinlerde yapılmış sınırlı sepsis çalışmalarında DHEA düşüklüğü ile mortalite arasında bağıntı gösterilmiştir. Ancak bu güne kadar sepsiste diğer cinsiyet steroidleri ve bu hormonların bağışıklık sistemine olan etkilerinin kliniğe ne derecede yansıdığına dair elde bir veri bulunmamaktadır.

Çalışmamızda literatürde ilk defa sepsisli çocuklarda sepsisin ciddiyeti ile yaygın yangısal yanıt bulgularının olduğu dönem ve klinik olarak iyilik hali olduğu dönemde cinsiyet hormonları (DHEA, Androstenediol) nın klinik seyir ve bağışıklık durumu arasındaki bağıntıyı göstermeyi amaçladık. Bu çalışma ile hücresel bağışıklık yanıtının (CD''clusters of differentiation'' 3,CD4,CD8,CD16,CD56), İnterlökin 4 (IL4) ,interlökin 6 (IL6),tümör nekrozis faktör (TNF) ve vücut dışı (invitro) uyarılmış T lenfositlerinde kültür ortamında CD25,CD69,insan lökosit antijeni (HLA DR),interferon gama (IFN γ) üretimleri bu olası ilinti üzerine etkileri ayrıntılı olarak irdelenmesi hedeflendi.

2. GENEL BİLGİLER

Sepsis kelime anlamı olarak ayrılma çürüme anlamına gelen yunanca ‘‘sepo’’ kelimesinden gelmektedir. Yıllar önce sepsis terimi dokularda ayrışma ile sonuçlanan ağır bakteriyel enfeksiyonu tanımlamakta kullanılmakta iken 1989 tarihinden itibaren sendrom olarak tanımlanmaktadır (Geroulanos ve Dauko 2006, Vincent ve Abraham 2006) Günümüzde net olarak tanımlanan sepsis sendromu bakteriyel, fungal, viral, ve parazitik enfeksiyonların inflamatuvar mediatör salınımını tetiklemesi ile konakta hücresel fonksiyon bozukluğudur. (Bone ve ark 1992)

Amerikan Göğüs Hastalıkları Derneği ve Yoğun Bakım Derneği 1991 yılında ciddi kritik hastalığı yeniden tanımlamak için ortak bildiri konferansı düzenledi. Yeni bir terim olan yaygın yangısal yanıt sendromu (Sistemik inflamatuvar yanıt: SIRS) tanımlandı. 1992 yılında yapılan yeni konsensus konferansında erişkin hastalarda sepsis ilişkili akut tek organ hasarı ağır sepsis olarak tanımlandı.(Bone 1992) 2001 ortak bildirisinde ise literatüre sepsis için pediatrik tanı kriterleri tanımlanmıştır. Amerikan Toraks Derneği (ATS), Avrupa Yoğun Bakım Derneği (ESICM), Amerikan Göğüs Hastalıkları Derneği (ACCP), Yoğun Bakım Derneği (SCCM) ve Cerrahi Enfeksiyon Derneği (SIS)’nin katıldığı bu konferans sonucunda 1992 yılında yapılan tanımlamalar geçerli kalmakla birlikte, daha iyi tanı ve sınıflandırma yapabilmek doğrultusunda hastalık tanımına bir takım eklemelerde bulunulmuştur (Levy ve ark 2001). Sepsis hastalarının değerlendirilmesinde ve prognozun belirlenmesinde kullanılmak üzere PIRO (tablo 2.1) olarak adlandırılan sınıflama sistemi önerilmiştir(Mayer ve ark 2013).

Tablo 2.1. PIRO evreleme sistemi (ACCP-SCCM) (Mayer ve ark 2013)

	Laboratuvar sonuçları	Klinik bulgular
P(Predisposition)	Genetik yatkınlık	Yaş,eşlik eden hastalıklar
I(Enfeksiyon)	Etken mikroorganizma	Enfeksiyon bölgesi
R(Response)	WBC,koagulasyon profili,CRP,laktat değeri	Ateş, nabız, kan basıncı, kardiyak fonksiyonlar
O(Organ dysfunction)	PaO2/FiO2 oranı, bilirubin, kreatinin, biyokimya	Glaskow koma skoru, idrar çıkımı, kapiller geri dolum

2002 yılında yapılan konferansda ise çalışmalarda kullanılan SIRS, enfeksiyon, sepsis, septik şok tanımlamaları yapılmıştır.(Goldstein ve ark 2005). Son olarak 2005 yılında yapılan düzenlemelerle, sepsis ve benzeri klinik tabloların tanısının en doğru şekilde ortaya konulması için tanımlamalar yeniden düzenlenmiş ve sepsis tanısı açısından en son kullanılan ortak parametreler ortaya konulmuştur.(Levy ve ark 2001)

Ulusal pediatrik sepsis konsensus konferansında SIRS kriterleri çocuk yaş grubu için yeniden düzenlenmiş ayrıca çalışmalarda ortak klinik kriterlerin sağlanması amacıyla ağır sepsis, septik şok ve organ yetmezliği terimlerinin tanımlamaları yapılmıştır.(Goldstein ve ark 2005)

2.1 SEPSİS VE SEPSİS TANISINDA KULLANILAN TANIMLAMALAR

2.1.1 Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)

SIRS organizmanın çeşitli klinik etkiler tarafından tetiklenebilen genel inflamatuvar yanıtını tanımlamaktadır. SIRS, sepsis gibi infeksiyöz durumlarla ilgili olabileceği gibi, iskemi, doku zedelenmesi, pankreatit gibi infeksiyon dışı nedenleri de içine alan geniş kapsamlı klinik bir durumdur. Tanımlanan 4 kriterden en az 2 tanesinin olması ve bunlardan birinin vücut sıcaklığı yada lökosit değerindeki değişiklik olması gerekmektedir.

1- Ateş ¹>38.5° C veya <36° C

2 - Taşikardi external uyaran,kronik ilaç alımı,ağrı stimulasyonu olmadan yaşa göre tanımlanmış ortalama değerin >2 SD üstünde olması; yada diğer anlamda açıklanamayan 30 dk-4 saatlik sebat eden yükseklik veya 1 yaş altı çocuklar için bradikardi; external uyaran, β bloker ilaç kullanımı,konjenital kalp hastalığı olmadan yaşa göre ortalama değerin <10 p,yada açıklanamayan sebat eden düşüklük 30 dakikadan uzun süren(Tablo 2.2).

3 - Solunum sayısının yaşa göre ortalama değerinden >2 SD olması veya genel anestezi yada nöromüsküler hastalık etkisi olmadan akut mekanik ventilasyon ihtiyacı olması(Tablo 2.2).

4 - Lökosit sayısının yaşa göre artmış yada azalmış olması (kemoterapiye ikincil gelişmiş nötropeni olmaması) yada > %10 immatür nötrofil (Tablo 2.2).

¹ ateş ölçümü rektal, mesane, oral veya santral kateter probu ile yapılabilir.

Yaş aralığı	Taşikardi	Bradikardi	Solunum sayısı SS/DK	Lökosit sayısı lökositX10 ³ /MM ³	Sistolik kan basıncı mmHg
0 GÜN-1 HAFTA	>180	<100	>50	>34	<65
1 HAFTA-1 AY	>180	<100	>40	>19.5 veya <5	<75
1 AY-1 YAŞ	>180	<90	>34	>17.5 veya <5	<100
2-5 YAŞ	>140	uygulanamaz	>22	>15.5 veya <6	<94
6-12 YAŞ	>130	uygulanamaz	>18	>13.5 veya <4.5	<105
13-<18 YAŞ	>110	uygulanamaz	>14	>11.5 veya <4.5	<117

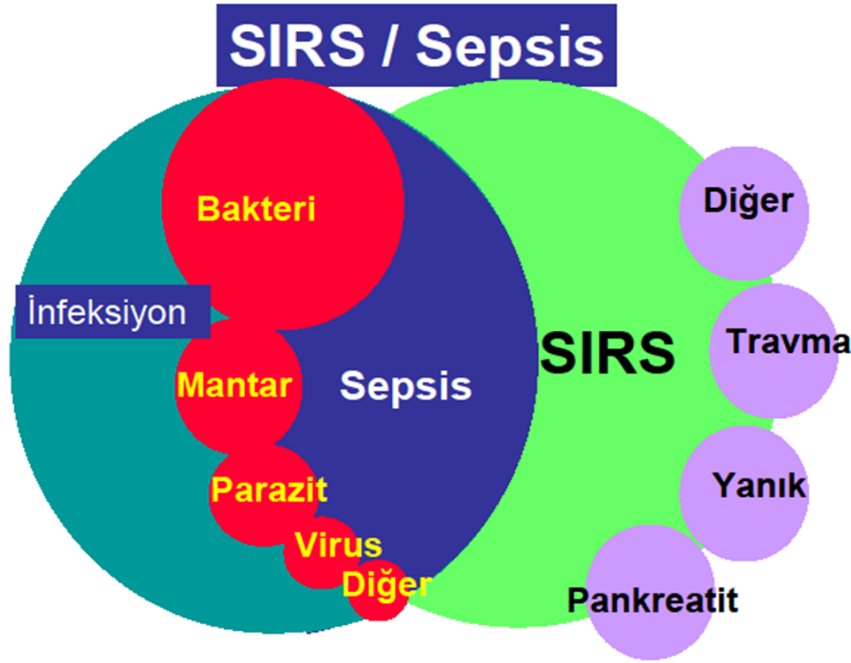
Tablo 2.2. Yaşa Göre Vital Bulgular ve Laboratuar Değerleri

2.1.2 Enfeksiyon

Herhangi bir patojenle oluşmuş şüphelenilen yada kanıtlanmış(pozitif kan kültürü,gram boyama,veya polimeraz zincir reaksiyonu testi ile) veya yüksek olasılıkla enfeksiyon ile ilişkilendirilmiş klinik sendrom. Enfeksiyon kanıtları pozitif fizik muayene bulguları, görüntüleme veya laboratuar testleri ile (steril vücut sıvılarında akyuvar bulunması,iç organ perforasyonu, pnömoni ile uyumlu akciğer grafisi, peteşiyal veya purpurik döküntü yada purpura fulminans) ilişkilidir.

2.1.3 Sepsis

Kanıtlanmış enfeksiyon veya olası enfeksiyon ile gelişen SIRS dır (şekil 2.1).



Şekil 2.1. SIRS/SEPSİS İLİŞKİSİ

2.1.4 Ağır Sepsis

Sepsis bulgularına kardiyovasküler organ disfonksiyonu veya akut solunum sıkıntısı sendromu veya iki veya daha fazla organ disfonksiyonunun eşlik etmesi.

2.1.5 Septik Şok

Sepsis ve aşağıda tanımlanan kardiyovasküler organ disfonksiyonu kriterlerinin olması septik şok olarak tanımlanmıştır.

2.1.6 Çoklu Organ Yetmezliği Kriterleri

2.1.6.1 Kardiyovasküler Organ Yetmezliği

1 saat içinde ≥ 40 ml/kg dan bolus izotonik intravenöz sıvı replasmanına rağmen

-Yaşa göre kan basıncı (hipotansiyon) < 5 p veya yaşa göre sistolik kan basıncı < 2 sd

-Kan basıncını yaşa göre normal sınırlarda olması için vazoaaktif ilaç ihtiyacı olması (dopamin > 5 mcg/kg/dk veya herhangi bir dozda dobutamin, epinefrin, norepinefrin)

-Aşağıdakilerden herhangi ikisinin varlığı

* Açıklanamayan metabolik asidoz: baz açığı > 5 mEq/l

*Artmış arteriyel laktatı: normal sınırın 2 birim üstünde

*Oligüri: idrar çıkışının < 0.5 ml/kg/st

*Uzamış kapiller dolum: > 5 sn

*Periferik vücut sıcaklığı açığının > 3 °C

2.1.6.2 Solunum¹

-Siyanotik kalp hastalığı veya önceden var olan akciğer hastalığı olmadan Pao₂/Fio₂ < 300

-Pao₂ > 65 torr veya bazal Pao₂ değerinden 20 mmHg yüksek olması

-Oksijen saturasyonunu %92 üstünde olması için %50 üstünde Fio₂ veya kanıtlanmış oksijen ihtiyacı

-Girişimsel yada girişimsel olmayan mekanik ventilasyon ihtiyacı

2.1.6.3 Nörolojik

-Glaskow koma skalasının ≤ 11

-Glaskow koma skalasında 3 birim düşme ile birlikte olan mental durumda akut değişiklik

2.1.6.4 Hematolojik

-Trombosit sayısının < 80000 mm³ veya son 3 gün içinde kaydedilmiş en yüksek değerden %50 azalma olması (kronik hematoloji onkoloji hastaları için)

-INR > 2

2.1.6.5 Renal

-Serum kreatinin değeri yaşa göre normal değerinin üst sınırından 2 kat ve üstü artış olması veya bazal kreatinin değerinden 2 kat yükselmesi

2.1.6.6 Hepatik

-Total bilirubin ≥ 4 mg/dL (yenidoğanda kullanılamaz)

-ALT yaşa göre değerinin 2 kat üstünde olması.

¹ akut solunum sıkıntısı sendromu paO_2/FiO_2 değeri ≤ 200 mmHg (bilateral infiltrasyon, akut başlangıç, sol kalp yetmezliği bulguları olmaması) akut akciğer hasarı benzer klinik dışında $paO_2/fiO_2 \leq 300$ mmHg olarak tanımlanmıştır(Goldstein ve ark 2005).

2.2 Sepsis Epidemiyoloji

Önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olan sepsis ve septik şokun Amerika Birleşik Devletlerindeki (ABD) yıllık yeni sepsis olgusunun 751,000'e ulaştığı ve yaklaşık 250,000'nin ölümle sonuçlandığı ifade edilmiştir. ABD'de yapılan ve 1979-2000 yılları arası 22 yıllık bir periyodu kapsayan en kapsamlı çalışmada sepsis insidansının yıllık %8,7'lik bir artışla 82/100.000'den 240/100.000'e yükseldiği gözlenmiştir; 1979-1984 yılları arasında % 28 olan mortalite oranının ise 1995-2000 yılları arasında % 18'e düştüğü belirtilmiştir. Orandaki bu azalmaya rağmen toplamda kaybedilen hasta sayısının ise halen artmakta olduğu belirtilmiştir (Angus ve ark 2001) Ülkemizde yeterli veri yoktur, ancak ABD'ndeki oranlar ülkemiz nüfusuna uyarlandığında yılda 100,000 civarında sepsis görülmesi gerektiği söylenebilir. Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada 1983-1989 yılları arasında, hastanede yatan hastalar arasında Gram negatif bakterilerle sepsis insidansı 4.2/1000 ve mortalitesi % 45 olarak bulunmuştur(Uzun ve ark 1992). Bunların sadece Gram negatif bakterilerle sepsis olduğu düşünülürse ve bu kadar da Gram pozitif bakterilerle sepsis geliştiği varsayılırsa tüm oranın yaklaşık 8/1000 olduğu söylenebilir(Kurt 2006). 2002-2003 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi yoğun bakım ünitesinde geriye dönük yapılan bir çalışmada ise sepsis ilişkili mortalite %87.3 olarak bulunmuştur.(Tanrıover ve ark 2006)

Sepsiste mortalite oranı % 30 olup, evre ciddi sepsisten septik şoka ve çoklu organ yetersizliği sendromuna doğru gittikçe mortalite oranı da artmaktadır. Fonksiyon bozukluğu gelişen organ-sistem sayısı arttıkça mortalite oranı da artar. Dört ve üzerindeki organ-sistem tutulumu varlığında mortalite oranı % 80'e varmaktadır(Bilevicius ve ark 2001).

Toplum kaynaklı sepsislerde pyelonefrit, pnömoni, deri-yumuşak doku infeksiyonları, kolanjit-kolesistit, menenjit, endokardit en sık odaklardır. Hastane kaynaklı sepsislerde ise üriner sonda ilişkili pyelonefrit, ventilatörle ilişkili pnömoni, karın içi infeksiyon (sekonder peritonit, apse) ve yabancı cisim infeksiyonları (damar içi kateterler, ventrikülo-peritoneal kateterler) en sık odaklardır.(Kurt 2006)

Sepsis etiyolojisinde gram pozitif mikroorganizmalar % 52,1, gram negatif mikroorganizmalar % 37,6, polimikrobiyal enfeksiyon % 4,7, fungal sepsis % 4,6, anaerob mikroorganizmalar % 1 oranlarıyla tespit edilmiştir. Sepsisli hastaların çoğunda kan kültürlerinde üreme saptanamamaktadır. Bu oranlar sepsis evresiyle değişmekte olup, sepsiste % 17, ciddi sepsiste % 25 ve septik şokta ise % 69 olarak bulunmuştur(Bilevicius ve ark 2001)

2.3 Sepsis patofizyoloji

Sepsis patofizyolojisi sistemik inflamasyon, koagülasyon ve bozulmuş fibrinoliz ile ilişkilidir. Mikrobiyal patojenler ve inflamatuvar yanıt sepsis patofizyolojisinde yer almaktadır. Sistemik inflamatuvar yanıt, hemostatik değişikliklerle beraber ve organ hasarının ortaya çıkmasıdır. Sepsis sendromu veya SIRS üç mekanizma ile açıklanabilir; (Glauser ve ark 1991, Bone rc ve ark 1997)

2.3.1. Proinflamatuvar yanıt :

Uyarılmış proinflamatuvar mediatör salınımı inflamasyon ve klinik olarak SIRS ile sonuçlanır.

2.3.2. Kompansatuvar antiinflamatuvar yanıt aktivitesinde bozulma:

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar yanıt arasındaki dengenin bozulması nedeniyle proinflamatuvar yanıtın kontrolsüz ve artmış olarak inflamasyona neden olmasıdır.

2.3.3. İmmünoparalizi

Aşırı salınan inflamatuvar mediatörleri bağışıklık sistemini baskılayıp felç eder. Kazanılmış immün yetmezlik patojenleri öldürmede yetersiz kalır.

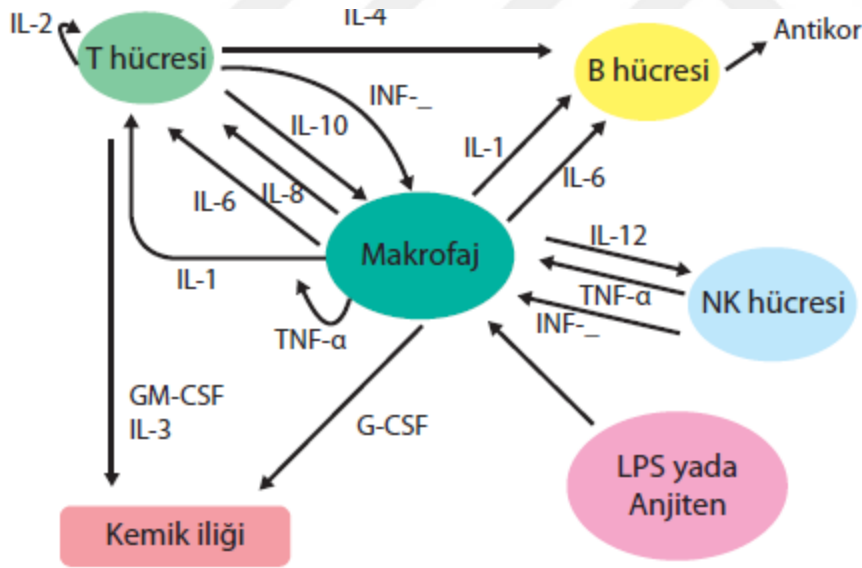
2.3.4 İnflamatuvar Yanıt Fazı

Yaygın yangısal yanıt patogeneğinde 3 faz vardır. Bakteriye toksin salınımı, mediatör salınımı ve spesifik mediatörlerin aşırı salınımı.

2.3.4.1. Faz 1 bakteriyel toksin salınımı : mikroorganizmaların bazı antijenik yapıları ve toksinleri inflamasyonu başlatır. Gram negatif bakterilerin endotoksinleri, gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yapısal bileşenleri, kapsül antijenleri, ekzotoksinleri, mantarların hücre duvarı antijenleri, viral ve paraziter antijenler inflamasyona neden

olabilir. Bu antijenik yapılar patojen ilişkili moleküler yapı (PAMPs) olarak tanımlanmaktadır(Şekil 2.3). (Granucci ve ark 2005)

2.3.4.2. Faz 2 enfeksiyona yanıt olarak mediatör salınımı: konak hücre yüzeyinde bulunan 'tool like reseptör' (TLR s) benzeri yapılar olan örnek tanıyan reseptörlere (PRRs) PAMPs bağlanır. Sitoplazmik PRRs invazif hücre içi patojenleri tanır. PRRs apoptotik ve hasarlanmış konak hücrelerinden salınan endojen peptidler ve glukozaminoglikanları tanır(Şekil 2.3). Gram pozitif bakterilerden salınan süperantijenler T lenfositleri aktive eder, interlökin 2 (IL 2) ve interferon gama (IFN γ) salınımını tetikler. IL 2 T hücrelerinin aktif T hücrelere dönüşmesini, çoğalması ve farklılaşması için gerekli olan proinflamatuvar mediyatördür. IFN γ ise antiviral,bağışıklık sistemi düzenleyici ve anti tümör özellikleri olan bir mediyatördür. Uyarılabilir nitrik oksit sentazı aktive eder ve lökosit göçünü uyarır.IL 2 ve IFN γ her ikisi birlikte makrofajlardan IL 1 ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF α) salınımını uyarır. Bu mediatörler enfeksiyona karşı inflamatuvar yanıtın önemli uyarınlardır. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olmak üzere 2 tip sitokin vardır.(Bone ve ark 1997)(şekil 2.2.)(tablo 2.3.)



IL interlökin, IFN interferon, TNF tümör nekrozis faktör, NK doğal öldürücü hücreler, GM-CSF granülösit makrofaj koloni uyarıcı faktör, LPS lipopolisakkarit

Şekil 2.2. Sepsisdeki sitokinler(Karaali ve Tabak 2009)

PROINFLAMATUAR SİTOKİNLER	ANTIİNFLAMATUAR SİTOKİNLER
TNF α	IL 1 Ra
IL1b, IL 2, IL8, IL15	IL 4
Nötrofil elastaz	IL 10
IFN γ	IL 13
Tromboksan, platelet aktive edici faktör	Tip 2 IL 1 reseptörü
Vazoaktif nöropeptitler	TGF β (dönüştürücü büyüme faktörü β)
Plasminojen aktivatör inhibitörü-1	Epinefrin fosfolipaz A2
Prostaglandinler, prostasiklin	Çözünen TNF α reseptörü
Serbest radikaller	Lökotrien B4 reseptör antagonisti
Çözünen adezyon molekülleri	Lipopolisakkarit bağlayıcı protein
Trozin kinaz, protein kinaz	Çözünen rekombinant CD 14
H2S, NO	
HMGB1 protein	

Tablo 2.3. Sepsisteki sitokinler

Makrofaj uyarımı ile fazla miktarda TNF α , IL-1, IL-6 salınımı olur. TNF α sepsis patofizyolojisinde önemli bir mediatördür. Diğer sitokinler lenfositlerin endotel hücrelerine yapışmayı artırır, nitrik oksit ve arasıdonik asit metabolitlerinin salınımını artırır, kompleman kaskadını aktive eder. Aynı zamanda proinflatuar araçlar koagülasyondaki doku faktörünü artırarak koagülasyonu destekler. Antikoagülan aktiviteyi ise trombomodülin ve fibrinolizi baskılayarak etki gösterirler.

Zıt olarak antiinflatuar mediatörler TNF α yı baskılayarak, akut faz reaktanlarını ve immunglobülinleri artırarak, T lenfositleri baskılayarak etki gösterirler. Antiinflatuar yanıt aslında SIRS ve inflamasyonu kontrol altına almaya çalışan homeostazisi korumaya yönelik bir mekanizmadır.(Mayer ve ark 2013)

2.3.4.3. Faz 3 Aşırı Uyarılmış Spesifik Mediatörlerin Etkileri

SIRS aslında aşırı uyarılmış proinflatuar yanıttır. Kompansatuar yanıt olarak karşıt antiinflatuar yanıt ortaya çıkar (CARS). Bu yanıtlara ek olarak metabolik aktivitede belirgin bir artış (kortizol üretiminde artma,katekolamin salınımında artma), akut faz proteinlerinin indüksiyonu, endotel aktivasyonu, adezyon moleküllerinin artışı, prostanoidler ve trombosit aktive edici faktörün salınımı da meydana gelir. Septik hastalarda bağışıklığın baskılanmasının önemli bir nedeni de lenfosit apopitozudur. İlginç olarak lenfosit apopitozunda benzer artış yoğun bakımdaki septik olmayan hastalarda da görülür. Septik hastalar genellikle lenfopeniktir. Ek olarak bu hastalarda B ve CD4 lenfosit subgruplarında da azalma görülür. Septik hastaların önemli bir kısmında görülen T-hücre

yanıtında azalma ve anergi, ilk başta ortaya çıkan pro-inflamatuvar yanıtı dengelemeye yönelik aşırı bir karşı yanıttır. Bu durum aynı zamanda daha sonra ortaya çıkabilecek organ yetersizliğinin gelişimine de neden olabilir (Karaali ve Tabak 2009)

2.3.5. Sepsiste Düzenleyici T Lenfositler

Sepsis de bağışık yanıt ve kendinden olanı tanıma arasında bir denge söz konusudur. Düzenleyici T lenfositlerden antiinflamatuvar sitokin dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF β) tarafından salgılanan dönüştürücü faktör olan '*forkhead box protein*' (Fox P3) eksprese ederler. TLR aktiflenmesi kazanılmış immün yanıt için önemli olan dentritik hücre büyümesini indükler. Yapılan çalışmalara göre düzenleyici T lenfositlerin fonksiyonlarında TLRs önemlidir. Düzenleyici T lenfositler ortakçı bakteri, fırsatçı patojenlere karşı yangısal yanıtı kontrol eder, bağışık yanıtı baskılamada önemli rol oynar. Monneret ve arkadaşları sepsis de CD4+CD25+ T lenfositlerin arttığını CD4+CD25- T lenfositlerin rölatif olarak azaldığını göstermişlerdir(Venet ve ark 2004). Yaygın yangısal yanıt ve sepsis de bağışık yanıtın baskılanmasında düzenleyici T lenfositler aracılı alternatif olarak aktive olan makrofajlar tanımlanmıştır.

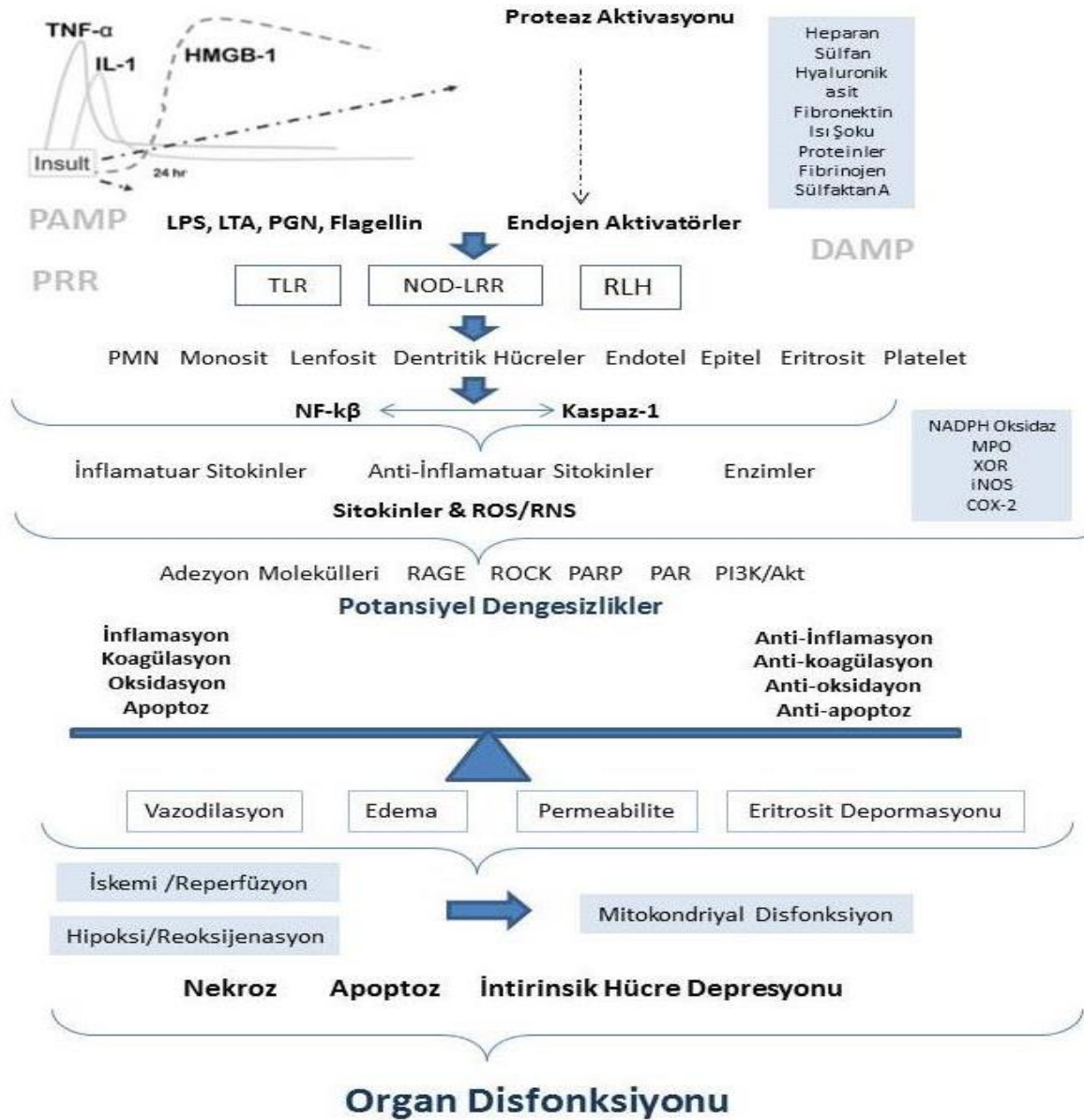
Nötrofil, monosit ve makrofajların oluşturduğu myeloid hücreler proteolitik enzimleri depolamışlardır ve vücut içine giren mikroorganizmalara karşı hızla reaktif oksijen ve nitrojen radikallerini oluşturma kapasitesine sahiptir. Lökosit ve endotel etkileşimi sonucu selektin ve integrin adezyon molekülleri aracılı inflamasyonun neden olduğu hasarı artırır. P selektin trombositler üzerinde E ve P selektinler endotel hücrelerinde ve L selektinler ise lökositler üzerinde bulunur. Selektinler aktive olmuş endotel yüzeylerde nötrofillerin yuvarlanmasına aracılık eder, nötrofiller endotel reseptörlerine bağlanmak için yavaşlarlar. Beta 2 integrinleri ise endotelyal zarlar ile nötrofillerin sıkı bağlanmasını sağlar, nötrofillerin yangısal alanda damardışı bölgeye geçişine aracılık eder.

Nötrofiller lokalize yangısal alan ve yaygın sepsis de pıhtılaşmayı artırır. Yaygın yangısal yanıt boyunca fibrin depozitler, mikrodolaşımdaki tıkanıklar, hücresel yıkım ürünleri doku oksijenizasyonunda bozulmaya neden olur. Nötrofil elastazlar, proteazlar, glikazlar ve inflamatuvar sitokinler endojen pıhtılaşmayı önleyici aktivite için salınırlar, endotelyal yüzeyde bozulmuş fibrinoliz pıhtılaşmaya yatkınlık oluşturur(van der Poll ve Opal 2008).

2.3.6 Yangıda Mitokondriyal Fonksiyon Bozukluğu

Sepsis ve septik şok mitokondriyal fonksiyonda ağır hasara neden olur, mitokondriyal fonksiyon kaybı organ yetmezlikleri ile ilişkilidir. Mitokondri için önemli bir antioksidan olan glutatyonun artması, ROS ve RNS ile kombinasyonu ile ATP oluşumu ve oksidatif fosforilasyon baskılanır. Hücre enerji metabolizmasının bozulması sitopatik hipoksi olarak adlandırılır, mitokondriyal elektron transport zincir enzim aktivitesinde bozulma, ATP biyosentezinin baskılanması sepsisdeki organ yetmezliklerine neden olur(Şekil 2.3)(Cinel ve Dellinger 2007).





Şekil 2.3. Çoklu organ yetmezliğinin patogenezi (Cinel ve ark 2009)

PRR:ÖRNEK TANIYAN RESEPTÖR, TLR: TOOL LİKE RESEPTÖR, NOD-LRR:LÖSİNDEN ZENGİN NÜKLEOTİD OLİGOMERİZASYON DOMAİN, RLH:HELİKAZ BENZERİ UYARILABİLİR RETİNOİK ASİT GEN-1, TNF α : TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR ALFA, IL-1: İNTERLÖKİN 1,HMGİBİ:YÜKSEK HAREKETLİ BÜYÜME FAKTÖRÜ, LPS: LİPOLİSAKKARİT, LTA:LİPOTEİKOİK ASİT, PGN:PEPTİDOGLİKAN, VSMCs:VASKÜLER DÜZ KAS HÜCRELERİ, RBC:ALYUVAR, MPO:MYELOPEROKSİDAZ, XOR:KSANTİN OKSİDOREDÜKTAZ, i NOS:UYARILABİLİR NİTRİKOKSİT SENTAZ,COX-2:SİKLOOKSİJENAZ,RAGE:GLİKASYON SON ÜRÜN RESEPTÖRÜ,ROCK:RhoA/Rho KİNAZ, PARP-1:POLİADP RİBOZ POLİMERAZ-1, POR:PROTEAZ AKTİVE RESEPTÖR, ROS/RNS: REAKTİF OKSİJEN VE NİTROJEN RADİKALLERİ, NF:NÜKLEER FAKTÖR, NADPH:NİKOTİNAMİD ADENOSİN DİNÜKLEOTİD FOSFAT, PAMP:PATOJEN İLİŞKİLİ MOLEKÜLER YAPI, DAMP:TEHLİKE İLİŞKİLİ MOLEKÜLER PATERN.

2.4 Sepsiste Bağışıklık Sisteminin Baskılanması

Sepsisli hastalarda uzamış lenfopeni ve monosit deaktivasyonu bağışıklığı baskılayıcı tedavi almadan görülmektedir. Septik tablonun neden olduğu stress yanıtına bağlı olarak hipotalamus-hipofiz bez aracılı stress yanıtı olarak CRH/ACTH salınım artışı ve adrenallerden kortizol artışı yanıtı görülür. CRH/ACTH/kortizol yanıtı kardiyovasküler homeostazisi sürdürür ve inflamasyonu baskılar, yan etki olarak da lenfosit apoptozisini artırır. ACTH yanıtına karşıt düzenleyici olarak prolaktin salınımı olur ve lenfosit apoptozisini baskılayıcı etki gösterir. Bu düzenleyici mekanizmalar arasındaki uyumun bozulması halinde septik hastalarda artmış apoptozise yatkınlık ve bağışık yanıtın baskılanması görülür (Carcillo ve ark 2009). Sepsisli hastalarda yüksek ateş, şok ve solunum yetmezliği SIRS a bağlı kontrolsüz proinflamatuvar yanıtın bir bulgusudur. Bağışık yanıtın başlangıç yanıtı PAMPs ve tehlike ilişkili moleküler patern (DAMPs) aracılığıyla bakteriyel, mantar enfeksiyonu yada konak yaralanmalarında görülür, patern bağlayıcı reseptörler doğal bağışık yanıt hücre yüzeyinde bulunur. Patern bağlayıcı reseptör aktivasyonu TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, ve IFN γ üretimi ile sonuçlanır (Giamarellos-Bourboulis, Raftogiannis 2012). Sepsisli hastalarda TNF ve IL-6 hayvan deneylerinde enjekte edildiğinde sepsisin klinik bulguları ortaya çıkmaktadır, bu bilgiler eşliğinde sepsis de sitokin fırtınası olduğunu söyleyebiliyoruz. Daha önceki çalışma sonuçlarına göre pro-inflamatuar sitokinlerle eş zamanlı antiinflamatuvar sitokin salınımı olur. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar süreç eş zamanlı başlamasına rağmen patojenin virülansı, bakteriyel yük, konağın genetik faktörleri, ve konağın eşlik eden hastalıkları gibi birçok faktör etkilese de başlangıçta artmış inflamasyon baskındır. Başlangıçtaki artmış inflamatuvar fazda sitokin fırtınası dönemde hayatta kalan septik hastalarda geçikmiş ve potansiyel olarak uzamış karşıt düzenleyici baskılanmış inflamatuvar faz başlar (Frazier ve Hall 2008). Hastalar hem artmış inflamasyon hemde baskılanmış inflamasyon fazında kaybedilmesine rağmen yeni tedavi protokolleri ile hastalar uzamış hastalık nedeniyle immunsupresif faza kaymıştır. Sonraki çalışmaların verilerine göre sepsis iki faz olarak değerlendirilmiştir, ilk faz artmış inflamasyon fazı sitokin fırtınası dönem ve ikinci faz ise baskılanmış inflamasyon (immunparalizi) dönemidir (Wang ve Ma 2008). Kontrolsüz başlangıç inflamatuvar yanıtın aşırı olması bağışık yanıtta fonksiyon bozukluğu ve sonuç olarak konakda ikincil bakteriyel enfeksiyonlara artmış yatkınlık (ventilatör ilişkili pnömoni), fırsatçı organizma enfeksiyonları, herpes virüs reaktivasyonu, çoklu organ yetmezliği riskinde artış, yaygın

antijenlere karşı geçikmiş tip hipersensitivite yanıtında kayıp görülmektedir. İlk olarak Meakins ve arkadaşları sepsis ve travmalı hastaların kızamık ve kabakulak antijenlerine karşı geç tip hipersensitivite yanıtında kayıp olduğunu ve bu durumun artmış mortalite ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Hotchkiss ve ark 2013). Hotchkiss ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda ise hem doğal hemde kazanılmış bağışık yanıtta CD4, CD8 T lenfositler, B lenfositler, ve dendritik hücrelerde apoptozisin arttığı görülmüştür(Hotchkiss ve ark 2009). Pediatrik ve yenidoğan sepsislerinde yapılan postmortem çalışmalarda bağışık hücrelerinde kayıp vardır (Felmet ve ark 2005). Sepsiste nazokomiyal enfeksiyon veya çoklu organ yetmezliği nedeniyle kaybedilen yenidoğan, çocuk ve erişkin vakalarda uzamış lenfopeni ve lenfoid organlarda tükenme olmaktadır. Otopsi çalışmalarında lenf nodlarında ve dalakta apoptoz aracılı B lenfositlerde, timusda T lenfositlerde, dalakta dendritik hücrelerde kayıp görülmüştür(Carcillo ve ark 2009). Yoğun bakım ünitelerinde sepsisli hastalardaki enfeksiyon etkenlerine bakıldığında fırsatçı patojenler dikkati çekmektedir. Bu etkenler *Stenotrophomonas* spp, *Acinetobacter* spp, *Enterococcus* spp, *Pseudomonas* spp, ve *Candida* spp gibi sıklıkla zayıf virülan ve fırsatçı patojenlerdir ve konak yanıtı ciddi olarak baskılanmış sepsisli hastalarda sık görülmektedir. Sepsiste immun süpresyonun diğer bir kanıtı ise vücutta baskılanmış olarak bulunan sitomegalovirüs(CMV) ve herpes simpleks virüs(HSV) enfeksiyon sıklığında artışın görülmesidir(Sundar ve Sires 2013) .

Önemli bir postmortem çalışmada sepsis ilişkili bağışık yanıtta baskılanma sadece dolaşımdaki lenfositlerle sınırlı olmayıp önemli organlarda da görülmektedir. Sepsisli 40 hastadan ölüm sonrası 30-180 dk içinde dalak ve akciğer biyopsileri yapılmış, immunsüpresyonun olası mekanizması için sitokin sekresyon analizi, hücre yüzey reseptörleri immunfenotipleme ve ligand ekspresyon profilleri çalışılmıştır. Hem dalak hemde akciğerde programlanmış hücre ölümü 1 reseptörü gibi seçilmiş baskılayıcı reseptörlerde artış, T regülatör hücre ve myeloid kökenli baskılayıcı hücrelerde artış ve aktivasyon yollarında baskılanma görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına göre sepsis biribiri ile örtüşen çoklu mekanizma ile konağın bağışıklık sistemini baskılar ve hem doğal hemde kazanılmış bağışık yanıt bozulur(Boomer ve ark 2014).

Sepsiste bağışık yanıtın baskılanmasında 3 ana süreç vardır.

– Anerji; sepsis boyunca görülen bağışık yanıtın baskılanmasında T lenfositlerin sitokin salınımında azalma ile birlikte antijen yanıtında kusur vardır. Dalak ve lenf nodlarındaki dendritik hücrelerde IL-2 sentez yeteneğinde ve T hücre aktivasyon yeteneğinde azalma, doğal bağışık yanıt hücrelerinde bakteriyel uyarana karşı anormal

yanıt görülür. Eş zamanlı makrofajlarda büyük doku uygunluk kompleksi sınıf 2 (MHC) salınımında kayıp ve eş uyarıcı moleküller monosit disfonksiyonunu artırır, CD 4/HLA-DR eş salınımında azalma immunparalizin derecesi ile koreledir ve ağır sepsisin sonucu olarak görülür. Monosit deaktivasyonunun 5 günden uzun sürmesi sepsis ilişkili immünoparalizi olarak adlandırılmakta ve çoklu organ yetmezliği, nazokomiyal sepsis, ve ölüm riskini 6 kat artırmaktadır. Monosit deaktivasyonu HLA-DR ekspresyonunun < %30, veya her monosit hücre yüzeyinde <8000-12000 molekül olması veya tam kanda lipopolisakkarit uyarımına $TNF\alpha < 200$ pg/ml olması ile tanımlanır (Carcillo ve ark 2009).

-Antiinflamatuvar sitokinlere kayma; proinflamatuvar fazı takiben monositlerde IL-10 üretimine kayma olur, bu durum yüksek $TNF\alpha$ değerleri ile başlar. Özellikle HIV li hastalarda sepsiste immunoparalizin devamında programlanmış ölüm 1 (PD-1) proteinin önemli bir rolü vardır. PD-1 T hücre çoğalma yanıtı ve duyarlılığında bozulma ile birlikte IL-10 üretimini uyarır. Toplum kaynaklı enfeksiyonlar ile sepsisli hastalar kıyaslandığında IL-10 ve $TNF\alpha$ değerlerinin artmış olduğu görülmüştür. Antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 T regülatör ve Th 2 hücreler tarafından salınır, Th 1 leri baskılayarak inflamasyonu baskılayan ortam oluşturur. Sepsis ilişkili immünsüpresyondaki diğer mediatörler tabloda belirtilmiştir (Tablo 2.4). İmmun paralizi Th2 yanıtını baskın olduğu bir durumdur, Treg ve lenfosit apoptozis artar, monosit ve makrofajlarda MHC sınıf 2 (HLA-DR) molekülleri azalır. (Boomer ve ark 2014).

Tablo 2.4. Antiinflamatuvar araçlar ve etkileri

Antiinflamatuvar araçlar	Etkileri
IL-10	IFN, IL-1 ve makrofaj aktivasyonunda baskılanma
PGI-2	TNF α down regülasyon
Çözünür TNF reseptörleri	TNF α reseptör blokajı
IL-2 reseptör antagonisti	IL-1 reseptörlerine yarışmalı bağlanma, IL-1 aktivasyonunda baskılanma
Isı şok proteinleri	IK- β gen ekspresyonunda blokaj, NF- κ B aktivasyonunda negatif feedback, TNF α ve IL-1 inhibisyonu
Fosfotazlar	Sitoplazmik substratlarda defosforilasyon, NF- κ B bağımlı TNF α üretiminde baskılanma, lökosit ve endotelial hücre deaktivasyonu
Kortizol	NF- κ B inhibisyonu, TNF α , IL-6, IL-1, eikozanoid, nitrik oksit, ısı şok protein üretiminde azalma

TNF- α : Tumor necrosis factor alpha; IL: Interleukin; NO: Nitric oxide; IK-B: Inhibitory κ B;IL interlökin.

-Bağımsızlık hücre ölümü; sepsis nedeniyle ölen hastaların otopsi çalışmalarında kazanılmış bağımsız yanıt hücrelerinde derin, ilerleyici apoptoz ilişkili hücre kaybı görülmüştür. Nekroz ile kıyaslandığında nekrozda akut metabolik bozulma söz konusu iken apoptoz ölüm reseptör aktivasyonu sonrasında ATP bağımlı programlanmış hücre ölümüdür. Apoptoz inflamasyonla ilişkili değildir, enerji ve antiinflamatuvar aşama tarafından indüklenir, nekrotik hücrenin parçalanması inflamatuvar yanıt başlatır, immun stimülasyonu sağlar. Septik hastalarda CD4 T hücreleri, B hücreleri, doğal öldürücüler (NK) ve folliküler dendritik hücrelerde apoptoz görülür. Apoptozun merkezinde sistein proteaz olan kaspazlar bulunmaktadır, NF- κ B ve hücre proteinlerinin niteliğini bozar, apoptoz öncülü genlerin transkripsiyonun artıran transkripsiyon faktörünü aktifler. Sepsisin artmış inflamasyon fazında proinflamatuvar sitokin üretimi için NF- κ B gereklidir, IL-1 β nın kaspazlar ile aktivasyonu sonucu hem NF- κ B hemde kaspazlar eş zamanlı kazanılmış bağımsız yanıt hücrelerinin apoptozisini indükler(Weighardt ve Holzmann 2007).Apoptozda 2 yolak tanımlanmıştır, her ikisinde kaspaz aktivasyonu ile olur.

Ölüm reseptör yolağı: TNF reseptör ailesi üyelerinin hücreiçi ölüm alanına bağlanmasını takiben Fas ilişkili ölüm alanı proteini (FADD) aktiflenir. FADD kaspaz 8 i aktifler ve zincirleme kaspaz 6 ve 7 aktiflenir(Hotchkiss ve ark 2009)

Mitokondri aracılı yolak: Bcl-2 aktivasyonu apoptozisin zararlı etkilerinden korur, tümörlerde Bcl-2 kaybı apoptoz kontrolünün kaybına neden olur. Bcl-2 protein ailesinden BH3 alanı antiapoptotik üyeleri nötralize eder, sitokrom c salınımına neden olan mitokodriyal hücre zarı geçirgenliğini artırır ve kaspaz-9 aktivasyonuna neden olur(Hotchkiss ve ark 2009).

İmmunsupresyonun süresi enfeksiyonun tipi,lokalizasyonu, şiddeti, hastanın yaşı ve eşlik eden komorbiditeler (kanser, ve organ yetmezlikleri gibi) çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Yaşlı hastalardaki bağışıklık sistemindeki yaşlanmaya bağlı olarak sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliğine yatkınlıkları vardır(Turnbull ve ark 2009).

2.4.1 Sepsis İlişkili Bağışıklık Sisteminin Baskılanmasında İkincil Enfeksiyonlar

Yoğun bakım hastaları kateter ve girişimler nedeniyle çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık gösterirler. Ventilator ilişkili pnömoni (VİP) yüksek mortalite ve morbiditeye neden olan ikincil bir komplikasyondur.VİP nedeni sıklıkla ağız mukozasında yaşayan fırsatçı patojenlerdir, bu durumda bağışık yanıtın bozulduğunun bir kanıtıdır. Pulmoner infiltrasyonun diğer nedenlerinden ayırt etmede IL-6 değerlerinin ölçümü VİP için ayırıcı tanı sağlayabilir. Çocuklarda da bağışık yanıtın baskılanmasının derecesi ile VİP görülme ihtimali arasında korelasyon vardır, tam kanda lipopolisakkarit tarafından uyarılan $TNF\alpha < 200$ pg/ml olması VİP riskini artırmaktadır. Bir başka çalışmada ise granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) tedavisi ile lipopolisakkarit tarafından uyarılan $TNF\alpha$ değeri 200 pg/ml üstünde olması ile nazokomiyal enfeksiyonların önleendiği bildirilmiştir, ek olarak topikal IFN γ tedavisi ile monosit anerjisinden koruma sağladığı ve lokal koruyucu mekanizmayı artırarak VİP den korumaktadır(Hall ve ark 2011).

Sepsis ilişkili immun yetmezlikde sepsisin artırdığı apoptozise bağlı olarak doğal ve kazanılmış bağışık yanıtındaki defekte bağlı olarak hastalarda CMV ve HSV-1 reaktivasyonu görülmektedir. Sepsis ilişkili immun supresyon CMV ve HSV-1 reaktivasyonunda önemli olmasına rağmen hayvan modeli CMV sepsislerinde stress derecesi, bakteriyel enfeksiyonlar ve TLR-4 sinyalizasyonu gibi çeşitli faktörlerde etkindir. Yeni çalışmalarda ise viral reaktivasyon patolojisi üstüne çalışmalar yapılmaktadır(Cook ve Trgovcich 2011).

Yoğun bakım hastalarında invaziv kandida enfeksiyon sıklığı artmaktadır. Son yapılan fare modeli çalışmada başlangıç septik epizod sonrasında kandida albicansa maruziyet

sonrasında kandidiyazise yatkınlık olduğu ve immunsupresyonun derecesi ile korele olduğu görülmüştür(Davis ve ark 2011).

2.5. Dihidroepiandrosteronun ve Sepsis

Sepsis hücre aracılı immünitede belirgin bir baskılanmaya neden olur, bu durum monosit ve makrofajların endotoksine yanıt olarak TNF α , IL-1 β , IL-6 ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokin üretimini baskılaması nedeniyle görülür. Sepsis de bağışık yanıtın baskılanması hastalarda ikincil enfeksiyon ve çoklu organ yetmezliğine yatkınlığa neden olur. (Takala ve ark 2002, Turnbull ve ark 2004). Sepsis de görülen bu hücreyel yanıtın baskılanması ile DHEA arasındaki ilişki araştırılmaktadır.

2.5.1 Dihidroepiandrosteron Sentez ve Metabolizması

DHEA erişkinlerde en fazla bulunan adrenal seks steroid hormonlarından biridir, östrojen ve androjen sentezi yolağında ara üründür (Svec ve Porter 1998). DHEA C19 steroidden sentezlenen bir pregnenolondur, steroidojenik enzim CYP17A1 tarafından ağırlıklı olarak adrenal bezin zona retikularis tabakasında sentezlenir (Endoh ve ark 1996). Endojen hormon adrenokortikotropine yanıt olarak sülfatlanmış ön maddesi DHEAS ile beraber adrenal korteksten salınır. Bugüne kadar DHEAS'a DHEA öncülü olması dışında herhangi bir biyolojik fonksiyon tanımlanmamıştır, DHEA'nın ise seks steroid sentezinde öncü madde olması dışında herhangi bir fonksiyonu uzun yıllar tanımlanmamıştır. DHEA erkeklerde dolaşımdaki androjenlerin %30-50 sinin, postmenopozal kadınların dolaşımdaki östrojenin %100 nün öncülüdür(Arlt ve ark 1998). DHEA 'nın de novo sentezi ekstramitokondriyal kolesterol ile başlar; bir dizi seri enzimatik reaksiyon kolesterolü mitokondri içine getirir ve DHEA ya dönüşüm başlar. Çeşitli endojen faktörler DHEA sentezini etkiler, kortikotropin salıcı hormon, adrenokortikotropin, büyüme hormonu ve çeşitli sitokinler en sık etkenlerdir. Antikonvulzan ve nöroleptikler gibi bazı ilaçlarında DHEA nın serum konsantrasyonunu etkilediği bilinmektedir(Salek ve ark 2002). DHEA primer üretim yeri adrenal bezin zona retikularis tabakası olduğu bilinmesine rağmen bazı çalışmalarda insan beyinde DHEA sentezini sağlayan enzim kompleksleri olduğu tespit edilmiştir(Baulieu ve ark 2001).

DHEA başta gonadlar olmak üzere periferde birkaç dokuda metabolize olmaktadır. Gonadlarda DHEA östradiol ve testosterona metabolize olmaktadır. Son çalışmalarda ise insan beyni, karaciğer ve plazmada genişletilmiş enzim aktivitesi tespit edilmiştir ancak

yeni metabolitlerin biyolojik önemi halen bilinmemektedir. Bu metabolitlerin etkinliği üzerine araştırmacılar tarafından çalışmalar halen sürdürölmektedir(Albo ve ark 2003)



2.5.2 Dihidroepiandrosteron Etki Mekanizması

DHEA hem direkt hemde indirekt etkiye sahiptir, indirekt etkisi metabolitleri aracılığıyla olmaktadır. Östradiol ve testosteron en iyi bilinen metabolitleridir. Direkt etkisi ise membran veya nükleer reseptör aracılığıyla olmaktadır, nükleer reseptörler üzerine çalışmalar devam etmektedir(Labrie ve ark 2001).

DHEA diüurnal ritim ile salınmaktadır, yaşam boyu azalma göstermektedir. Adrenalden pulsatil salınım görülür ve gece boyu salınım sıklık ve şiddeti artmaktadır, tezat olarak DHEA-S birincil depo formudur ve günlük salınım özelliği olmamakla birlikte yarı ömrü daha uzundur(Yen 2001). Serum DHEA düzeyleri bebeklik ve erken çocukluk döneminde kısmen düşüktür, 8-10 yaş aralığında artış gösterir ve 20-30 lu yaşlarda pik yapar,bundan sonraki süreçte azalmaya başlar. Bu durum adrenopause olarak adlandırılır ve zona retikülarisdeki hücre sayısının kısmen azalması yada artan düzensizlik nedeniyle açıklamaktadır(Hornsby 2002).

Yapılan çalışmalarda DHEA düzeylerinin inflamatuvar hastalıklar, nörolojik hastalıklar, kanser, endokrinopatiler ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisi araştırılmış ve klinik olarak önemli veriler elde edilmiştir(Binello ve Gordon 2003).

proinflatuar sitokin salınımını durdurduğu ve sepsis ilişkili mortaliteyi azalttığını göstermiştir(Hildebrand ve ark 2003). Günümüzdeki yapılan çalışmaların verilerine göre insan ve hayvan modelli sepsis çalışmalarında antiinflatuar faz inflamatuvar fazdan daha önemlidir(Ono ve ark 2001). DHEA immunmodulator etkisini indirekt olarak pozitif östrojen dönüşümü, negatif androjen dönüşümü üzerinden göstermektedir (Angele ve ark 1998). Bununla birlikte DHEA immünite üzerine etkisini direkt olarak bağışık hücre sitotoksitesi ve DHEA özgün reseptör bağımlı süreç üzerinden düzenlemektedir (Mclachlan ve ark 1998). Akihisa matsuda ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın verilerine göre DHEA bağışıklık düzenleyici etkisini plazma IL-10 düzeyini baskılayarak ve dalak makrofajlarından TNF α üretimini artırarak göstermektedir (Matsuda ve ark 2005). DHEA nın bağışıklık düzenleyici etkisi üzerine diğerk bir mekanizma ise lenfositlerden mitojen ile uyarılan IL-2 sekresyonunun artırılması ile ilişkilidir(Young ve ark 2001). DHEA T lenfositlerin çoğalmasını baskılayarak bağışık yanıtı direkt etki etmektedir. Son çalışmalarda DHEA tedavisi ile T hücre aktivasyonunun baskılandığı gösterilmiştir. Ancak T lenfositler üzerine etki mekanizması net olarak tanımlanamamıştır. Bazı araştırmacılar tarafından hayvan ve insan T hücrelerinde DHEA bağlayıcı aktivite tanımlanmıştır (Okabe ve ark 1995).

Yapılan çoğu çalışmanın ortak sonuçları değerlendirildiğinde DHEA nın bağışık sistemi üzerine etkisi sitokin salınımı üzerine olduğu görölmüştür(Tablo 2.5.). DHEA T helper-1 hücrelerden IL-2 üretiminin güçlü bir uyarandır,T helper-2 hücrelerden ise IL-6 ve IL-10 üretimini baskılayıcı etki ile göstermektedir. Glukokortikoid tedavisi T lenfositlerden IL-2 salınımını baskılarken IL-4 üretimini artırmaktadır, DHEA ise IL-2 sekresyonu üzerine glukokortikoidlere zıt etki göstermektedir (Hazeldine ve ark 2002).

Referans	model	Hücre tipi	DHEA tedavisi	Sitokin	Etki
R-H. Straub	Hücre içi	İnsan PMNL	24 saat 10^6 - 10^9 M	IL-6	↓
T.Suzuki	Hücre içi	İnsan T lenfosit	48 saat 10^8 - 10^{11} M	IL-2	↑↑
A.-W.Meikle	Hücre içi	Fare lenfosit		IL-2	↑
D.-A.Padgett	Hücre içi	Fare splenosit	24-72 saat 10^{-5} - 5×10^{-9} M	IL-2,IL-3, IL-4, IFN γ	↓↓
J.-M. Powell	Hücre içi	Fare splenosit	Konkavalin a veya Ips uyarımı 48 saat sonra $6 \text{ m} \text{M}$	IL-1, IL2,IFN γ , IL- 10 TNF α , IL-4,IL6	↓ ↑ Etkisiz Etkisiz
H.-D. Danenberg	Hücre içi	Fare peritoneal makrofaji	DHEA(10^{-6} - 5×10^{-9} M) LPS uyarımı	TNF α , IL- 1β	↓↓
G.-F. Cheng	Hücre dışı	Fare splenosit	Ciltaltı veya i.p hücre izolasyonundan 1-3 gün önce	IL-2, IL-3 IL-4, IFN γ , IL-10	↑↑ ↓
R.-A. Daynes B. Araneo N.-F.-L. Spencer Z. Zhang	Hücre dışı	Fare splenosit	Hücre izolasyonu öncesi 3-12 hafta ağızdan	IL-2, IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF α	↑ ↓
R.-A. Daynes	Hücre dışı	Mezenterik lenf nodu lenfositleri	Hücre izolasyonundan 24 saat önce ciltaltı	IL-6	↓

i.p peritonici, Ips lipopolisakkarit, IL interlökin, TNF tümör nekrozis faktör, IFN interferon

Tablo 2.5. DHEA ile yapılan klinik çalışmaların özet verileri (Hazeldine ve ark 2010)

Tüm bulgular eşliğinde yaşa bağlı bağışıklık yanıtın azalmasında DHEA alternatif bir tedavi yöntemidir. IL-6 ve IL-10 sentez düzeylerindeki bozulma romatoid artrit ve sistemik lupus eritematosus gibi otoimmün hastalık patolojisinde rol oynadığı bilinmektedir, bu hastalıkların tedavisinde de DHEA bir tedavi seçeneği olabilir(Hazeldine ve ark 2010). DHEA nın sitokin üretimi üzerine etkisi ile antiinflamatuvar etkinliğin nasıl olduğu halen net olarak bilinmemektedir, ancak veriler NF- $\kappa\beta$ yolağında nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu baskılaması ile ilişkili olduğunu göstermektedir(Du ve ark 2001). Bazı çalışmalar göstermektedir ki fare splenositlerinin DHEA fizyolojik dozda tedavi edilmesi konkavalin a ve lipopolisakkarit ile indüklenen lenfosit çoğalmasını artırmakta, fizyolojik dozun üstündeki dozlarda ise baskılamaktadır(Sakakura ve ark 2006). Adrenal yetmezliği olan hastalarda nerdeyse tama yakın DHEA yokluğu görülmektedir ve bu vakaların enfeksiyona yatkınlığı DHEA ve bağışıklık sistemi arasındaki ilişkiyi düşündürmektedir.

Anti viral yanıt birincil olarak sitotoksik T lenfositler ve doğal öldürücü hücreler ile sağlanmaktadır. Monosit ve makrofajlardan salınan proinflamatuvar sitokinler aracılığıyla

bu hücrelerin etkinliği artırılır. Loria ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tek doz ciltaltı DHEA enjeksiyonu sonrasında fare modeli ölümcul viral enfeksiyonda sağkalımın %32 oranında arttığı görülmüştür. Steroid aktivitesindeki klasik teoride olduğu gibi DHEA için hem fare hem de insan T lenfositlerinde tanımlanan hücreiçi reseptörler mevcuttur ve DHEA bağışıklık sistemi üzerine etkisini reseptör bağımlı bir süreç üstünden göstermektedir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda DHEA reseptörlerine bağlanan 5 α dihidrotestosteron ortama eklenmesi ile DHEA'nın etkisinin sadece spesifik reseptörler aracılığıyla olmadığı geniş bir reseptör ailesi ve sinyal yolağı aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda hücre yüzeyinde de G protein ile kenetli DHEA için yüksek afinite ve özgüllüğe sahip reseptörler tanımlanmıştır. DHEA maruziyetinden saatler sonra bağışık düzenleyici etkinin ortaya çıkması ile bu reseptörlerin hızlı hücresel sinyalizasyon sağladığı ve DHEA'nın bağışık yanıt üzerine çoğu etkisini bu yolla gösterdiği düşünülmektedir (Hazeldine ve ark 2010).

DHEA'nın metabolitleri aracılığıyla da bağışık yanıt üstüne pozitif etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Örneğin fare modeli ölümcul koksaki B4 enfeksiyonunda ciltaltı DHEA metaboliti androstenediol veya androstenetriol enjeksiyonu sonrasında mortaliteye karşı %100 koruma sağladığı bildirilmiştir (Loria 2002).

2.5.3 Sepsiste DHEA Düzeyleri

Hipotalamik hipofiz ve adrenal aks homeostazise yanıt verir ve ağır hastalık, travma, anestezi-cerrahi, artmış serum kortizol değerleri ile stres yanıtı olarak aktive olur. Endojen steroid stokları vasküler tonusun sürdürülmesinde, vasküler geçirgenliğin kontrolünde, toplam vücut sıvılarının dağılımında ve adrenerjik reseptör duyarlılığının düzenlenmesinde etkindir. Aksın sürekli uyarımı kortizol salınımının artmasına stokların tükenmesine ve adrenal yetmezliği neden olabilir. Tam adrenal yetmezlik nadirdir, tüm yoğun bakım hastalarında %2-3 oranında görülür ve birincil olarak kanama veya travma sonrasında doku hasarına bağlı görülür. İkincil fonksiyon kaybı ise kortizol stokları tükenince veya adrenokortikotropik hormona periferik direnç gelişmesi nedeniyle görülür (Junior linck ve ark 2011).

Septik şoka yanıtta artan kortizol değerlerine karşılık DHEA/DHEA-S düzeylerinde azalma görülür. Bu durum adrenal adrojen sentezinden glukokortikoid sentezine stressle indüklenen adrenal şift ile açıklanmıştır, olası mekanizma ise steroidojenik yolakda DHEA sentezinde kısmı baskılanmadır. Bu değişim kortizol ve DHEA ile uyarılan immün yanıt arasındaki dengeyi bozarak strese karşı oluşan bağışık yanıtta olumsuz bir etkiye neden

olur(Arlt ve ark 2006). Fare modeli sepsis çalışmalarının verilerine göre DHEA tedavisinin de mortalite oranlarında azalma sağladığı bilinmektedir(Angele ve ark 1998, Hildebrand ve ark 2004) . Bu veriler eşliğinde DHEA eksikliği olan sepsis vakalarında DHEA yerine koyma tedavisi faydalı olabilir.

2.6 Androstenediol ve Sepsis

Androstenediol DHEA nın bir metabolitidir. DHEA gibi DHEA metaboliti olan androstenediol ve androstenetriolünde bağışık yanıt üstünde etkin oldukları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.1999 yılında Ben nathan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada androstenediolün farelerde ölümcül bakteriyel enfeksiyondan ve endotoksin ilişkili şoktan koruma sağladığı bulunmuştur (Ben-nathan ve ark 1999) . Androstenediolün sepsis ve sepsis ilişkili çoklu organ yetmezliğinde DHEA ya göre daha koruyucu olduğu düşünülmektedir. Shimizu ve arkadaşları ise travma ve kanama sonrasında androstenediol tedavisinin sitokin üretimini azalttığı ve kardiyovasküler koruma sağladığını tanımlamışlardır. Bu etkiyi endotelin-1 mRNA ,protein düzeylerini artırıp endotelial nitrik oksit sentazı indükleyerek yaptığı düşünülmektedir. Travma ve kanama sonrasında androstenediol tedavisi ile karaciğer hasarının azalmasının nedeni karaciğer kaynaklı nitrik oksit sentaz baskılanması ile ilişkilidir. 2010 yılında Hildebrand ve arkadaşları ise travma-kanama sonrasındaki sepsis vakalarında androstenediol tedavisinin sadece proinflatuar sitokinleri baskılamakla kalmayıp monosit kemoatraktan protein1-3 ve makrofaj inflamatuvar protein-1 β sistemik düzeylerindeki baskılamaktadır. Kemokinlerin dokudaki bağışıklık hücrelerine direkt etki ettiği bilinmektedir bu yolla organ hasarına aracılık etmektedir, androstenediol ise bu yolla organ hasarını baskılamada potansiyel tedavi ajanı olarak kullanılabilir (Neunaber ve ark 2011).

Aynı zamanda androstenediol tedavisi ile IL-6 üretimini baskılanması ile kardiyovasküler ve karaciğer fonksiyonlarında koruma sağlamaktadır. Szalay laszlo ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada travma-kanama ve sepsisli hastalarda androstenediol tedavisi ile kardiyak IL-6 ve iNOS gen ekspresyonunun azaldığını göstermişlerdir(Szalay ve ark 2006). Kanamayı takiben IL-6 organ hasarı gelişiminde önemli bir role sahiptir, androstenediol tedavisi ile travma-kanama ve sepsisli hastalarda IL-6 düzeylerinin baskılanması ile sağ kalımı artırdığı görülmüştür. Bu çalışmada IL-6 düzeylerindeki artış artmış mortalite androstenediol tedavisi ile IL-6 düzeyindeki azalmanın ise azalmış mortalite ile ilişkili olduğu görülmüştür. Çalışmalar IL-6

düzeylerindeki artışın uyarılabilir nitrik oksit sentazı artırdığı ve nitrik oksit sentezini artırıp kardiyak kasılmada bozulmaya neden olduğu görülmüştür. Nitrik oksitin etki mekanizması net olarak bilinmemektedir. Szalay laszlo ve arkadaşlarının çalışmasında IL-6 düzeylerinin androstenediol tedavisi baskılanmasının kardiyak kasılma üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Bir grup çalışmada androstenediolün faydalı etkilerine östrojen reseptörlerinin aracılık ettiği düşünülmüştür.

Androstenediolün faydalı etkilerine aynı zamanda peroksizom çoğaltıcı ile aktive olan reseptör gama ilişkili (PPAR- γ) yolak aracılık etmektedir. Waxman ve arkadaşları androstenediolün PPAR- γ aktive ettiğini göstermiştir. Aktive PPAR- γ çoklu mikrobiyal sepsiste sistemik inflamasyonda organ hasarını baskılamaktadır. Yapılan çalışmalara göre androstenediol tedavisi ile proinflamatuvar yanıt baskılanmakta ve organ hasarına karşı koruma sağlamaktadır (Szalay ve ark 2006). Pseudomonas ile enfekte olan farelerde androstenediol tedavisi ile %67, DHEA tedavisi ile %47 ölüm oranlarında azalma bildirilmiştir. Androstenediolün koruyucu etkisi DHEA gibi endotoksin aracılı TNF α , IL-1 den bağımsız görülmektedir. Padget ve arkadaşları influenza enfeksiyonlarında androstenediolün koruyucu etkilerine hipofiz hipotalamus aksı baskılayarak kortikosteroid salınımının azalması ile antijene özgül T lenfositlerden IFN γ üretimini artırarak hayatta kalımı artırdığı savunmuştur (Nathan ve ark 1999).

Sepsis, sepsis ön tanılı yaygın yangısal yanıt bulguları olan hastalarda bulguların başladığı ve klinik olarak vakaların iyilik hali olduğu dönemde hastalarda DHEA ve androstenediol düzeyleri ile bağışık yanıt arasındaki ilişki araştırılması amaçlanmış ve hastalarda sepsise bağlı bağışık yanıtın baskılanması arasındaki olası mekanizma aydınlatılmaya çalışılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

- 1- Bio-tek ELx 50 marka ELİSA yıkayıcısı
- 2- Brio marka yarı otomatik ELİSA okuyucusu
- 3- Nüve marka santrifüj cihazı
- 4- New Brunswick U570 marka -80 °C' lik derin dondurucu

- 5- Nüve marka vortex
- 6- 37 °C' lik inkübatör
- 7- Androstenediol ve DHEA elisa test (DRG ve SUNRED)
- 8- Akım hücre ölçer (BD Facs Calibur)
- 9- M16 vortex
- 10-Etöv (Panasonic)
- 11- Santrifüj cihazı (M4812M)
- 12- Tubes conical polypropylen 15 ml 500 adet
- 13- Pipet ucu 10 ul
- 14- Pipet ucu 100 ul
- 15- Tubes round bottom polystyrol 5 ml 1000

3.1.1. Kimyasallar

- 1- CD3/CD16-56/CD45/CD19 50 TEST AMB
- 2- IL4 PE 50 TEST AMB
- 3- ANTI HU IL6 FITC 50 TEST AMB
- 4- ANTI HU TNF ALPHA PE 50 TEST AMB
- 5- CD4/CD25/CD3 50 TEST AMB
- 6- CD3/HLA DR 50 TEST AMB
- 7- CD69 APC 100 TEST AMB
- 8- ANTI HU IFN GAMMA FITCH 50 TEST AMB
- 9- MOUSE IG1PE 100 MG
- 10- FITCH LABELED MOUSE IG 2b KAPPA ISOTYPE KONTROL 100
- 11- BD CELL WASH 5 LT

12-HİSTOPAQUE 500 ML

13- RPMI 1640 L GLUTAMINE 500ML

14- FİTOHEMAGLUTİNİN

15- FETAL BOVINE SERUM

16-CD25(ANTİ IL 2R)APC 100 TEST

3.1.2. Hasta Grubu

Prospektif yapılan bu çalışmaya Ocak 2011- Mart 2015 yılları arasında sepsis ön tanısı ile yaygın yangısal yanıt bulguları olan 6 ay-18 yaş aralığında Necmettin Erbakan Üniversitesi Çocuk Yoğun Bakım Ünitesine yatışı yapılan ve tedavi edilen 25 vaka dahil edilmiştir. Vakaların ailelerinden çalışma öncesi ailelere çalışma ile ilgili ayrıntılı bilgi verilerek aydınlatılmış onam alınmıştır.

Vakaların çalışma dışı bırakılma kriterleri

- Ailelerin çalışma için gerekli izni vermemesi veya sonradan karar değiştirmesi
- Yenidoğan
- Tanılı primer immün yetmezlik
- Hematoloji-Onkoloji hastaları
- Kortikosteroid,DHEA veya hipotalamus hipofiz aksını etkileyecek ilaç kullanım öyküsü
- Primer surrenal yetmezlik tanısı olanlar
- Hipotalamus hipofiz aksın bilinen hastalığı olması

Tüm hastalar aşağıdaki SIRS kriterlerinin en az üç tanesine sahiptir.

- 1- Vücut sıcaklığı $>38^{\circ}\text{C}$ veya $<36^{\circ}\text{C}$
- 2- Kalp tepe atımı $>90/\text{dk}$
- 3- Dakika solunum sayısı >20
- 4- Lökosit sayısı >12000 veya <4000 ya da immatür hücre oranı $>\%10$

Çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 14567952-050/129 sayılı onayı ve Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Klinik Çalışmalar Kurulunun 26247029-514-04-03 sayılı onayı alındı. Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri fonu tarafından 131218021 proje no ile araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen vakaların başvuru anı, klinik ve hayati bulgulara iyilik hali olduğu dönem olmak üzere 2 kez kan alınarak tetkikleri yapılmıştır. Tedaviye yanıt alınamayan olgularda vefat öncesinde alınabilen kanlarda kontrol kanı olarak çalışılmıştır.

Vakalardan başvuru anı ve kontrol olmak üzere

- Başvuru anı ve kontrol anı hayati bulgular
- Mekanik ventilatörde kalış süreleri, hastanede yatış süreleri
- Tam kan sayımı, kanama profili, karaciğer paneli, böbrek fonksiyon testleri
- Kan gazı, akut faz reaktanları
- Kültür sonuçları
- Başvuru anı ve kontrol DHEA, androstenediol düzeyleri
- Başvuru anı ve kontrol immün parametreleri
- Taburculuk durumları kayıt altına alınmıştır.
- Klinik durumun ciddiyetinin belirlemek için pediatrik risk of mortality(PRISM), pediatrik lojistik organ disfonksiyonu (PELOD) skorlamaları ve tahmini ölüm oranları hesaplanmıştır.

-PRISM (Pediatric Risk of Mortality)

Bebek ve çocuk yoğun bakımlarda kullanılan hastalık şiddeti skorlama sistemidir.

<http://www.sfar.org/scores2/prism2.php> adresinden hesaplama yapılmıştır.

-PELOD(Pediatric Logistic Organ Dysfunction)

Bebek ve çocuk yoğun bakımlarda vakaların laboratuvar verilerine göre organ fonksiyon kaybını belirlemede kullanılan bir sistemdir.

<http://www.sfar.org/scores2/pelod2.php> hesaplama yapılmıştır.

Demografik verileri vakaların yatışı anında aileden ve hasta dosyalarından kayıt edilmiştir. Laboratuvar bulguları ise Necmettin Erbakan Üniversitesi Çocuk İmmünoloji laboratuvarı, biyokimya laboratuvarı, hematoloji laboratuvarı tarafından çalışılmıştır. Kültür sonuçları yatışı sırasında klinik gereklilik durumunda gönderilen numunelerin sonuçları taranarak kayıt edilmiştir.

3.2. Yöntem

Başvuru anı ve kontrol kanlarından biyokimya laboratuvarında Enzyme-linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile DHEA, androstenediol çalışıldı. Vakalardan hormon paneli için 3 cc jelli biyokimya tüpüne kan alındı. 4000 devirde 5 dk nüve marka santrifüj cihazında santrifüj edildi. Epondorf tüpüne serum kısmı alınarak -80 derecede saklandı. DHEA DRG marka 56K074 lot numaralı, androstenediol SUNRED marka 201-12-5343 katalog numaralı ELİSA kitler kullanılmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda kit içerisindeki talimatlara uygun şekilde biyokimya laboratuvarında çalışılmıştır. Her bir hastanın serum örneğinden 20 µlt 96 kuyucuklu mikropleytlere uygun kuyucuklara yerleştirildikten sonra 100 µlt enzim konjugatı eklendi. Oda ısısında 60 dk inkübe edildi. Yıkama solüsyonu ile DHEA 3 kez, androstenediol 5 kez dilüe edildi, sonrasında DHEA için her bir kuyucuğa 100µlt substrate solüsyonu, androstenediol için chromogen solüsyonu A ve B eklendi. Kuyucuklarda oluşan reaksiyon, stop solusyonu ile durduruldu. Kuyucuklarda oluşan absorbans değerleri, ELISA okuyucusunda 450 nm’de okutularak değerlendirildi. Örneklerle ait hormon düzeyleri, standart eğri üzerinde işaretlenerek, serum örneklerine ait hormon düzeyleri DHEA için ng/ml androstenediol için nmol/L cinsinden belirlendi.

3.2.1. Periferik Kan Lenfosit Alt Gruplarının Çalışılması

Sepsis tanısı konulmuş olan hastalardan ve kontrol grubundan alınan heparinize kan örnekleri bekletilmeden aynı gün taze olarak çalışıldı. İmmunolojik parametreler için 3 cc heparinli tüpe 3 cc EDTA lı tüpe örnek alındı. CD3,CD4,CD8,CD16,CD56 yüzey boyama yöntemi ile akım hücre ölçerde(flow sitometri) çalışıldı. IL4, IL6, TNF α,IFN γ intrasitoplazmik boyama yöntemi ile çalışıldı, CD25,CD69,HLADR ise lenfoblastik transformasyon yöntemi ile çalışıldı.

Yüzey boyama yöntemi; tüplere gerekli hücre yüzey monoklonal antikorlar eklenir, üzerine 100µlt EDTA lı tüpten hastanın örneği eklenir. Vortexle 15 dk karanlıkta oda ısısında inkübasyona bırakılır. Süre sonunda tekrar vortexlenir üzerine 1.5 ml lysing solüsyonu eklenir, vortex 8-10 dk karanlık oda ısısında inkübasyona bırakılır. Süre sonunda vortexlenir tekrar 1800 devirde 5 dk santrifüj edilir. Süpernatant eklenir, tekrar üzerine 2 ml hücre yıkama sıvısı (*cell wash*) eklenir.1800 devirde 5 dk santrifüj edilir,süpernatant dökülür. 500 µlt hücre yıkama sıvısı eklenip akım hücre ölçerde analiz edilir.

Lenfoblastik transformasyon metodu 2.5 ml histopak maddesinin bulunduğu steril falkon tüpüne heparinli enjektöre alınan hastanın kan örneğinden 5 ml ilave edilir. 2000 rpm de 30 dk santrifüj edilir. Lenfositlerin bulunduğu beyaz bulut şeklindeki hücre grubunu pipetle toplanıp ayrı bir falkon tüpüne alınır. Tüpün üzerine lenfosit miktarı kadar RPMI (yıkama solüsyonu) ilave edilir. 2000 rpm de 10 dk santrifüj edilir. Supernatant atılır. Tüpün üzerine 0.5-1 ml RPMI ilave edilir. 2000 rpm de 10 dk santrifüj edilir. Supernatant atılır, tüpün dibindeki hücre örneğinin hacmi pipetle ölçülür. Tüpteki örneğin hacmi 1 ml olacak şekilde üzerine %10 luk ‘‘fetal calf serumu’’ (FCS) ilave edilir. 90 µl %1 lik asetik asitin bulunduğu ependorf tüpüne 10 µl hücre örneği koyulur. Bu karışımdan 10µl alıp thoma lamında hücre sayımı yapılır. Sonuçta tüpteki örnek numunesinin ml’ sinde 2 milyon hücre olacak şekilde %10 luk FCS ilave edilir. Bu karışımdan 2 ml alıp steril falkon tüpüne koyulur, ml de 10µl PHA olacak şekilde üzerine PHA eklenir. Etüvde 72 saat % 5 lik CO₂ li ortamda inkübe edilir. Inkübasyon sonunda tüpler 1000 rpm de 10 dk santrifüj edilir. Yayma yapılır.

Intrastoplazmik boyama metodu 100 mikrolitre tam kan flow tüplerine koyulur üzerine 1 ml Lysing Solusyonu eklenip vortexlenir. Karanlık oda ısısında 8 dk bekletilir. 1800 devirde 5 dk santrifüj ettikten sonra üzerindeki supernatant dökülür. 500 mikrolitre permealizing solusyonu eklenip vortexlenir. Karanlık oda ısısında 8 dk bekletilir. Üzerine 2 ml cell wash eklenir vortexlenir ve 1800 devirde 5 dk santrifüj ettikten sonra üzerindeki supernatant dökülür. Tüplere gerekli intrastoplazmik monoklonal antikorlar eklenip vortexlenir. Karanlık oda ısısında 25-30 dk beklenir. 2 ml cell wash eklenip 1800 devirde 5 dk santrifüj ettikten sonra üzerindeki supernatant dökülür. 500 mikrolitre cell wash eklenip akım hücre ölçerde analiz edilir. Vakaların verileri ve histogramları değerleri kayıt altına alındı. Verilerin istatistiksel değerlendirmeleri, SPSS for Windows 16,0 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Karşılaştırmalarda Mann Whitney, Ki kare, Nonparametrik Spearman’s korelasyon testleri kullanılmıştır. Elde edilen p değeri < 0,05’ den sonuç anlamlı, p değeri >0,05’ den sonuç anlamsız olarak kabul edilmiştir.

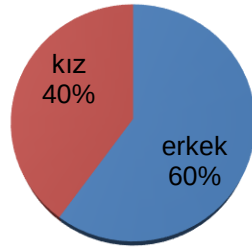
Lenfosit tipleri	İşlevleri	Antijen resptör ve özgüllüğü	Belli başlı belirteçler	% oran çevre kanı	Lenf nodu	Dalak
CD4+ HELPER	B hücre farklılaşması (humoral immünite) Makrofaj aktivasyonu (hücre aracılı immünite)	Aβ heterodimerler peptid-sınıf 2 MHC kompleksi için geniş bir özgüllük	CD3 +, CD4+, CD8-	50-60	50-60	50-60
CD8+ SİTOTOKSİK	Enfekte hücreler ve tümoral hücrelerin öldürülmesi	Aβ heterodimerler-peptid sınıf 1 MHC kompleksi için geniş bir özgüllük	CD3+, CD4-, CD8+	20-25	15-20	10-15
Treg HÜCRELER	Diğer T hücrelerin işlevlerini baskılar(öze yönelik toleransın sağlanması)	Aβ heterodimerler	CD3+,CD4+, CD25+ (en çok bilinen immunfenotip, farklı alt grupları var)	<% 5	10	10
γδ T HÜCRELER	Helper ve sitotoksik işlevler(doğuştan bağışıklık)	γδ heterodimerler peptid ve nonpeptid antijenler için kısıtlı özgüllükler	CD3+, CD4 ve CD8 değişken	<%5	?	?
B HÜCRELER	Antikor oluşturma (humoral immünite)	Yüzey antikoru Her tipte molekül için geniş spekturumda özgüllükler	Fc reseptörleri, class 2 MHC, CD19,CD21	10-15	20-25	40-45
DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRELER	Virüsle enfekte yada hasarlı hücrelerin öldürülmesi(doğal bağışıklık)	Farklı inhibitör ve aktivatör reseptörler MHC ve MHC benzeri moleküller için sınırlı özgüllük	CD16(IG G için Fc reseptörü), CD56, bazı alt gruplarda CD57, KIR,KAR	10	ENDER	10
NKT HÜCRELER	Doğuştan ve kazanılmış immün yanıtı baskılar ya da aktive eder	αβ heterodimerler (glikolipid-CD1 için sınırlı özgüllük)	CD16(Ig G için Fc reseptörü) CD3	10	ENDER	10

TABLO 3.1. Akım hücre ölçerde yüzey belirteçleri (Abbas ak ve ark. cells and tissues of the adaptive system)

4. BULGULAR

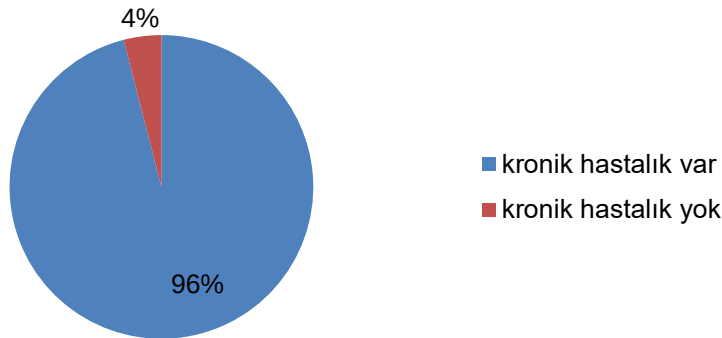
Çalışmaya Ocak 2011- Mart 2015 yılları arasında sepsis ön tanısı ile yaygın yangısal yanıt bulguları olan 6 ay-18 yaş aralığında Necmettin Erbakan Üniversitesi Çocuk Yoğun Bakım Ünitesinde yatışı yapılan ve tedavi edilen 25 vaka dahil edildi.

Çalışmamıza dahil edilen vakaların yaş ortalamasına bakıldığında 55,2 ay (min:6 ay max:170 ay) idi. Vakaların 10'nu kız (%40) 15'i (%60) erkek idi.(Şekil 4.1)



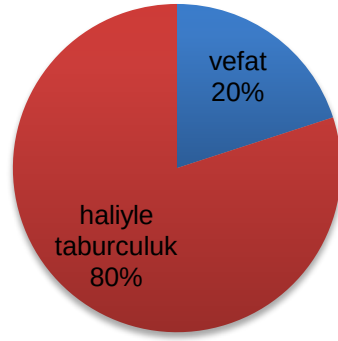
Şekil 4.1. Vakaların cinsiyet dağılımı

Hastaların genel demografik özellikleri incelendiğinde 25 vakanın 16 sında(%64) malnutrisyon mevcuttu, büyüme geriliği ise sadece 6 vakada (%24) vardı. Özgeçmişlerinde ise 3 vakada (%12) prematüre doğum öyküsü, diğer vakalarımız (%88) miad doğum öyküsü vardı. 25 vakada (%96) kronik hastalık,1 vakada (%4) ise bilinen herhangi bir hastalık öyküsü yoktu. (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. Kronik hastalık dağılımı

8 vakada beyin felci ve epilepsi öyküsü, 2 vakamız asıya bağlı hipoksik beyin, 2 vaka hipotonik infant, 1 vaka nörofibromatozis, 1 vaka organik asidemi, 1 vaka ohtahara sendromu, 1 vaka mitokondriyal hastalık, 1 vaka hallervarden spatzi, 1 vaka metilmalonik asidemi, 1 vaka metabolik hastalık ön tanılı, 1 vaka kronik böbrek yetmezliği, 1 vaka konjenital kalp hastalığı (opere vsd), 1 vaka kronik akciğer hastalığı, 1 vaka hidrosefali, 1 vaka nonketotik hiperglisinemi tanıları ile takipli idi. Bilinen alerji öyküsü vakalarımızda mevcut değildi. Tüm vakalarda SIRS kriterlerinden en az 3 ü bulunmaktaydı. Sıklıkla solunum ve dolaşım yetmezliği tablosu hakimdi. 25 vakamızdan 5 vakamız (%20) yoğun bakım takibi sırasında vefat etti, diğer vakalarımız (%80) ise haliyle evde bakım hastası olarak taburcu edildi.(Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Hayatta kalım durumu

18 vakada SIRS bulgularının olduğu dönemde ve klinik olarak iyilik hali olduğu dönemde periferik kan lenfosit alt grupları, sitokin düzeyleri (IL-6, IL-4, TNF α , IFN γ), CD25,CD69 ekspresyonu çalışıldı. 24 vakanın ise DHEA ve androstenediol düzeyleri SIRS anı ve kontrol olmak üzere çalışıldı.

	CİNSİYET	YAŞ	KİLO	%	BOY	%	PRISM	PELOD	PREMATÜRİTE	BİLİNER HASTALIK	HAYATTA KALIM DURUMU
1	K	10 AY	8,5	25-50	75	75-90	18	40	YOK	HİPOKSİK BEYİN	VEFAT
2	K	12 YIL 10 AY	30	<3	140	<3	0	20	YOK	CP-EPİLEPSİ	HALİYLE
3	E	11 YIL 9 AY	35	50	152	50-75	10	32	YOK	HİPOKSİK BEYİN	HALİYLE
4	E	9 AY	5	<3	73	50-75	4	1	YOK	HİPOTONİK İNFANT	HALİYLE
5	E	12 YIL 1 AY	30	<3P	135	<3P	11	11	YOK	NÖROFİBRAMATOZİS	HALİYLE
6	E	6 AY	5,5	<3	65	10-25	27	40	YOK	CP-EPİLEPSİ	HALİYLE
7	K	5 YIL 6 AY	10	<3	86	<3	20	11	YOK	ORGANİK ASİDEMİ	HALİYLE
8	E	5 YIL 3 AY	16	3-10	102	3	7	21	YOK	EPİLEPSİ	HALİYLE
9	K	7 AY	8	25-50	69	75-90	7	11	YOK	OHTAHARA SENDROMU	HALİYLE
10	E	3 YIL 3 AY	10	<3	80	<3	6	21	YOK	MİTOKONDRIYAL HASTALIK	HALİYLE
11	K	11 YIL	17	<3	135	3-10	9	20	YOK	CP-EPİLEPSİ	HALİYLE
12	E	6 AY	7,15	50	58	10	6	30	YOK	CP-EPİLEPSİ	HALİYLE
13	K	1 YIL 4 AY	10	25-50	103	>97	20	23	YOK	METİLMALONİK ASİDEMİ	VEFAT
14	E	9 YIL 7 AY	14	<3	136	50	3	2	YOK	HALLERVARDEN SPATZ	HALİYLE
15	E	7 AY	5	<3	60	<3	11	21	28 HAFTA	KRONİK AKCİĞER	HALİYLE
16	K	6 AY	5,5	<3	68	50-75	7	20	35 HAFTA	HİDROSEFALİ	VEFAT
17	K	8 AY	5	<3	65	25-50	20	32	YOK	YOK	HALİYLE
18	E	6 YIL 7 AY	16	<3	115	25	29	22	YOK	HİPOTONİK İNFANT	VEFAT
19	E	6 AY	6	<3	63	3-10	15	12	YOK	CP-EPİLEPSİ	HALİYLE
20	K	10 AY	10,2	75	71	25-50	22	22	36 HAFTA	CP-EPİLEPSİ	HALİYLE
21	E	2 YIL 7 AY	13,5	25-50	92	50	12	12	YOK	METABOLİK HASTALIK	HALİYLE
22	E	2 YIL 8 AY	11	<3	90	10-25	4	30	YOK	NONKETOTİK HİPERGLİSİNEMİ	HALİYLE
23	E	7 AY	6	<3	63	3	13	21	YOK	KONJENİTAL KALP OPERE VSD	VEFAT
24	E	9 YIL 8 AY	25	3-10	128	10-25	16	30	YOK	CP-EPİLEPSİ	HALİYLE
25	K	14 YIL 2 AY	38	<3	115	<3	8	21	YOK	MENİNGOMYELOSEL-KBY NÖROJEN MESANE	HALİYLE

TABLO 4.1. Vakaların demografik özellikleri, özgeçmiş, PRISM, PELOD skorlamaları,hayatta kalım durumu

Vakaların SIRS anı ve kontrol anında bakılan hayati işlevleri açısından verileri istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$). (Tablo 4.2)

	SIRS ANI ORTANCA(min-max) (N:25)	KONTROL ORTANCA (min-max) (N:25)	P değeri
ATEŞ	38 C (35-41 C)	36 C (34-38 C)	0,002
NABİZ	180/dk (110-216/dk)	120/dk (95-200/dk)	0,000
SOLUNUM	50/dk (15-80/dk)	28/dk (20-48/dk)	0,000
SİSTOL	72 mmHg (50-140)	100 mmHg(80-120)	0,003
DİASTOL	40 mmHg (20-100)	59 mmHg (40-70)	0,018
GKS	10 (3-14)	13 (3-15)	0,001

TABLO 4.2. Klinik veriler

SIRS anı ve kontrolde bakılan kan sayımı ve akut faz yanıtı açısından kıyasladığımızda beyaz küre, nötrofil, trombosit sayıları ve CRP değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$). Bazofil, eozinofil ve lenfosit açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). (Tablo 4.3)

	SIRS ANI ORTANCA (MİN-MAX) (N:25)	KONTROL ORTANCA (MİN-MAX) (N:25)	P DEĞERİ
BEYAZ KÜRE	17900 (1700-39800)	10200(4800-20700)	0,001
LENFOSİT	3400 (400-17700)	2700 (900-5300)	0,080
NÖTROFİL	11900 (1200-31200)	6300 (2700-15400)	0,007
BAZOFİL	0 (0-100)	0 (0-200)	0,739
EOZİNOFİL	100 (0-1000)	200 (0-1000)	0,179
PLT	255000 (41000-709000)	374000 (136000-641000)	0,032
CRP	110,6 (5,42-335)	4,41 (0,1-175,3)	0,000

TABLO 4.3. Laboratuvar verileri

DHEA, androstenediol verileri açısından bakıldığında androstenediol değerlerinde SIRS anında kontrol değeri ile kıyaslandığında belirgin düşüş olduğu görüldü ($p:0,008$). DHEA değerlerinde ise anlamlı bir fark tespit edilemedi (p değeri 0,361). (Tablo 4.4)

	SIRS ANI ORTANCA (MİN-MAX) (N: 24)	KONTROL ORTANCA (MİN-MAX) (N:24)	P DEĞERİ
DHEA	3,03 ng/ml (3-27,74)	3,61 ng/ml (0,7-12,17)	0,361
ANDROSTENEDİOL	8,68nmol/L (2,55-96)	12,68 nmol/L (2,55-96)	0,008

TABLO 4.4. Hormon değerleri

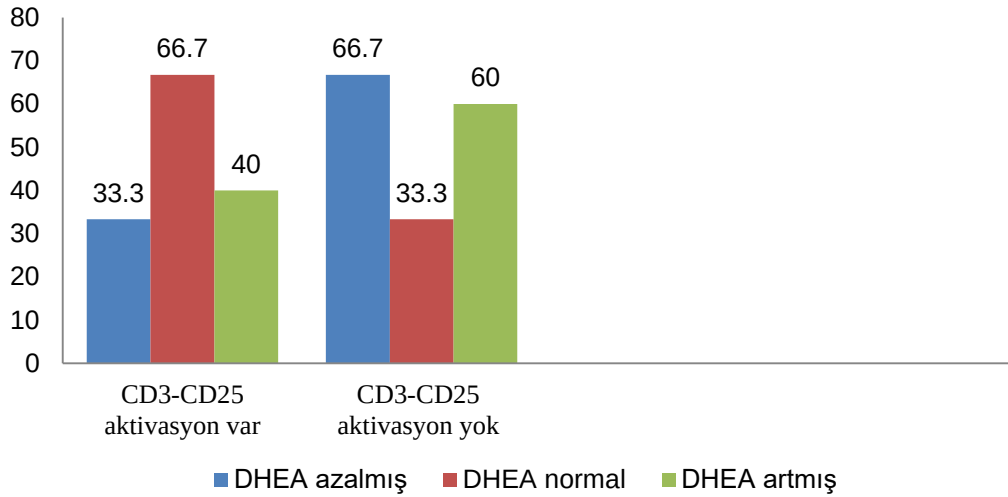
T Sitotoksik, T helper, doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), doğal öldürücü T lenfosit (NKT hücreleri) , B lenfosit, HLA-DR aktivasyonu, Lenfosit aktivasyon belirteci CD25, CD69 aktivasyonları, IL4, IL 6, IFN γ , TNF α açısından bakıldığında sadece IL-6 değerinde istatistiksel açıdan SIRS anında anlamlı artış olduğu kontrolde ise değerinde azalma olduğu görüldü ($p:0,018$),bu durum sepsis ile ilişkilendirildi, diğer parametrelerde anlamlı veriler elde edilemedi ($p>0,05$). (Tablo 4.5)

	SIRS ANI ORTANCA (MİN-MAX) (N:18)	KONTROL ORTANCA (MİN-MAX) (N:18)	P DEĞERİ
IL-6	56,75 (0,13-99,95)	2,85 (0,1-99,86)	0,018
CD8-IFN*	0,35 (0,1-55,35)	0,3 (0,1-38,68)	0,691
CD3-IL4**	24,31 (8,31-46,88)	2,74(0,1-44,74)	0,776
CD4-TNF***	24,62 (0,1-43,1)	23,97 (0,11-47-23)	0,647
CD8-IFN(24.SAAT)****	3,91 (0,1-57,96)	0,88(0,1-88,24)	0,845
CD3-IL4(24.SAAT)*****	3,87 (0,1-31,25)	4,13 (0,05-64-71)	0,906
CD4-TNF(24.SAAT)*****	16,59 (0,1-47,83)	23,57 (0,12-35,18)	0,571

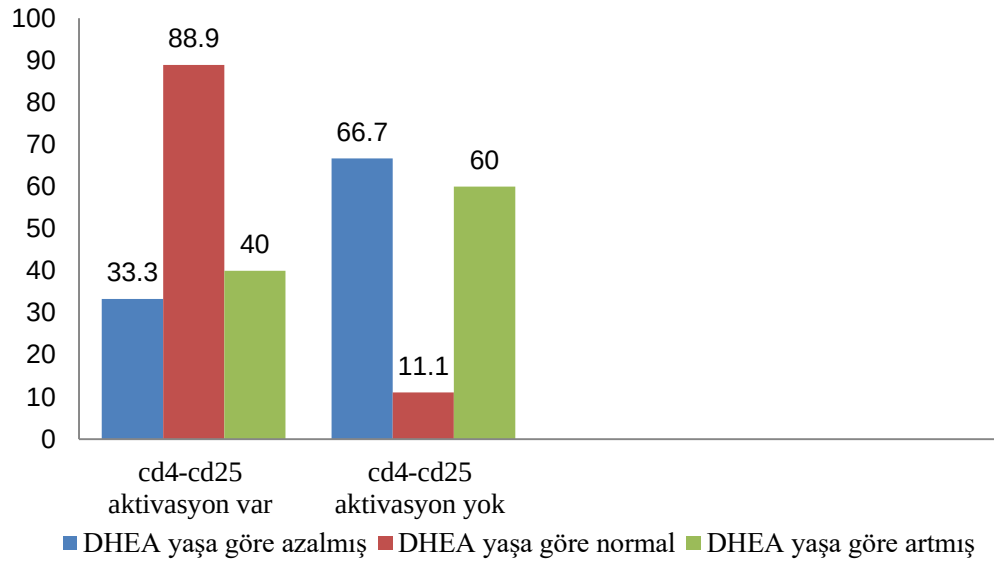
*T sitotoksiklerden salınan IFN değeri, **T lenfositlerden salınan IL 4 değeri, ***yardımcı T lenfositlerden salınan TNF değeri, **** T sitotoksiklerden salınan IFN 24.saat değeri, ***** T lenfositlerden salınan IL-4 24. Saat değeri, ***** yardımcı T lenfositlerden salınan TNF 24.saat değeri

TABLO 4.5. Sitokin düzeyleri

Hormon düzeyleri ile uyarılmış lenfositlerin CD25 aktivasyonları arasındaki ilişkiye bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). DHEA düzeyi normal olan vakaların lenfosit aktivasyonu açısından daha iyi aktivite gösterdiğini, DHEA düzeyi azalmış olan vakaların ise lenfosit aktivasyonlarının normal olan gruba göre azalmış olduğunu gördük ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$)(şekil 4.4, şekil 4.5)

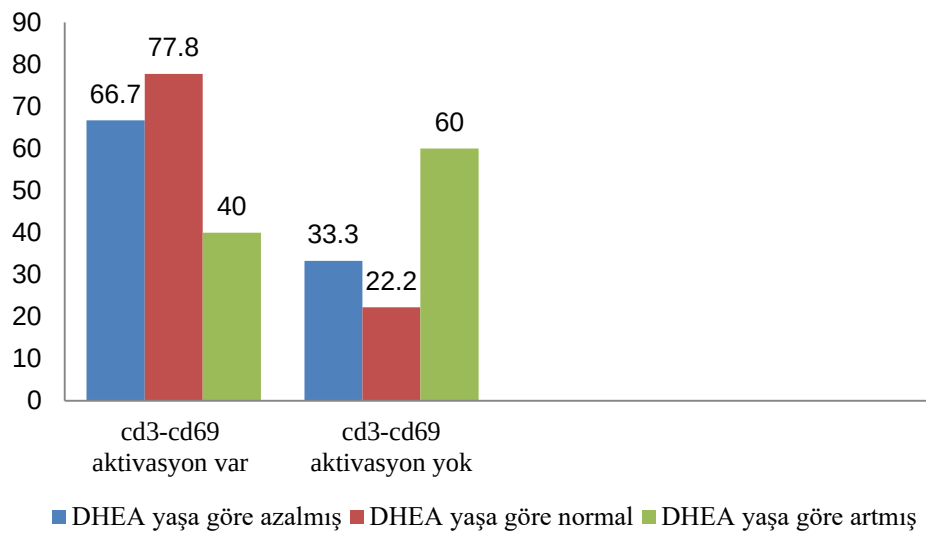


Şekil 4.4. DHEA düzeyleri ile T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki

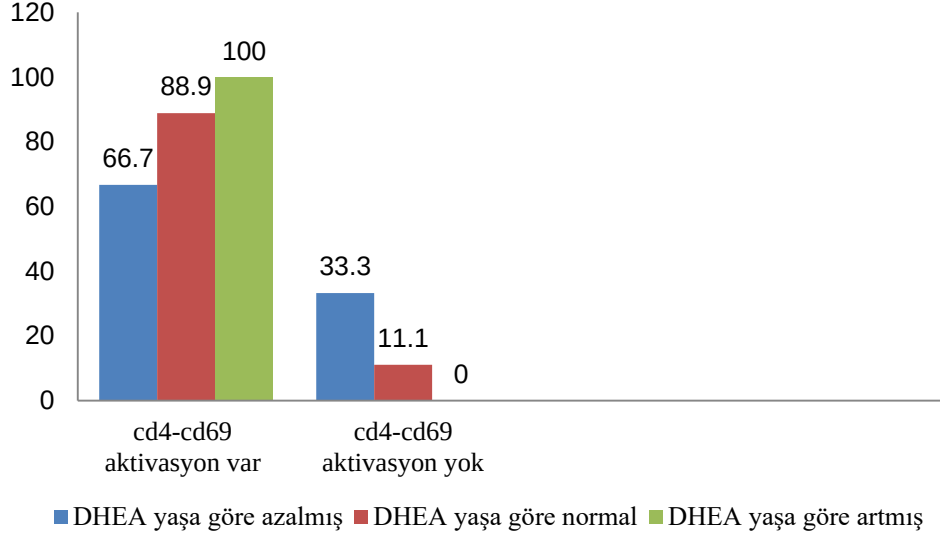


Şekil 4.5. DHEA düzeyleri ile yardımcı T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki

CD 69 aktivasyonu ile DHEA ve androstenediol düzeyleri açısından bakıldığında yine benzer sonuçlar olduğunu gördük, ancak istatistiksel olarak anlamlı veri elde edemedik ($p > 0,05$)(şekil 4.6, şekil 4.7).

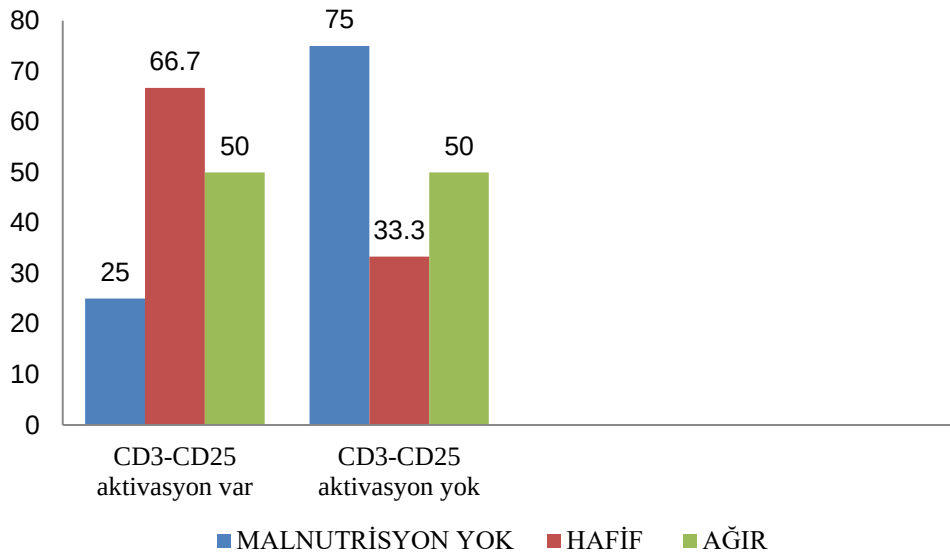


Şekil 4.6. DHEA düzeyleri ile T lenfosit aktivasyonu (CD69) arasındaki ilişki

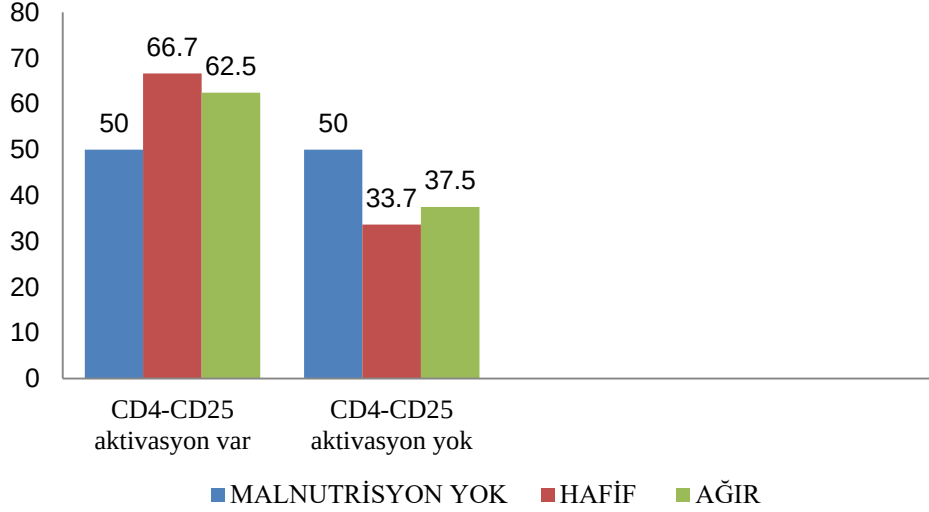


Şekil 4.7. DHEA ile yardımcı T lenfositlerin aktivasyonu (CD69) arasındaki ilişki

Lenfosit aktivasyonu ve klinik bulgular arasındaki ilişkiye istatistiksel olarak baktığımızda vakaların PRISM, PELOD, hastanede kalış süreleri ve mekanik ventilatörde kalış süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edemedik ($p>0,05$). Vakaların malnutrisyon durumu ile lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişkiye baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı veri elde edemedik ($p>0,05$)(Şekil 4.8, Şekil 4.9). Vakaların malnutrisyon durumlarını GOMEZ' e göre hafif ve ağır malnutrisyon olarak sınıflandırdık ve lenfosit aktivasyonu ile istatistiksel olarak anlamlı veri bulamadık.



Şekil 4.8. Malnutrisyon ile T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki



Şekil 4.9. Malnutrisyon ile yardımcı T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki

CD69 aktivasyonu açısından baktığımızda da benzer veriler elde ettik, istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Bağışıklık sistemi ile klinik bulgular (ateş, nabız, tansiyon) arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. ($p > 0,05$). Sadece beyaz küre, PRISM arasında pozitif korelasyon, lenfosit ve yoğun bakımda kalış süresi arasında negatif korelasyon, CRP ve PRISM arasında ise pozitif korelasyon olduğunu gördük. (Tablo 4.6)

	PRISM KK P DEĞERİ	PRISM RÖLATİF RİSK KK P DEĞERİ	YOĞUN BAKIMDA KALIŞ SÜRESİ KK P DEĞERİ
WBC	0,439 0,028	0,439 0,028	
LENFOSİT			-0,516 0,008
CRP	0,407 0,043		

KK: KORELASYON KATSAYISI

TABLO 4.6. Spearman's korelasyon analizine göre klinik veriler ile laboratuvar verileri istatistiksel olarak anlamlı olan veriler

DHEA ve androstenediol SIRS anı değerleri ile cinsiyet arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p > 0,05$). SIRS anı DHEA, androstenediol değerleri ile hayatta kalım da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Tüm vakaların bağışık yanıtı ile klinik parametreler arasındaki ilişki açısından bakıldığında T lenfosit aktivasyonu (CD3-CD25), yardımcı T lenfosit aktivasyonu (CD4-CD25), HLA-DR ile PELOD arasında pozitif korelasyon vardı. HLA-DR kontrol değerleri

de başvuru anı PELOD skorlaması yüksek olan hastalarda kontrolde de yükseklik devam etmekteydi. Başvuru anı mortalite skorlaması yüksek olan vakaların başvuru anı HLA-DR yüksekliğinin vakaların iyilik hali olduğu dönemde tekrar bakıldığında yine yüksekliğin devam ettiğini gördük. Tüm hücrelerden salınan IFN kontrol değeri ile (T-IFN-K) PRISM arasında pozitif korelasyon bulundu. T sitotoksik lenfositlerden salınan IFN 24. Saat değeri (CD8-IFN-24 saat) ile hastanede kalış arasında pozitif korelasyon vardı. Tüm hücrelerden salınan IFN 24.saat değeri (T IFN-24 saat) ile mekanik ventilatörde kalma süresi arasında pozitif korelasyon olduğunu gördük. Toplam IL4 (T IL4) ile mekanik ventilatörde kalma süresi arasında pozitif korelasyon vardı. Yardımcı T lenfositlerden salınan TNF kontrol değeri, T lenfositlerden kontrolde salınan IL4 24.saat değerleri (CD4-TNF-K, CD3-IL4-K-24.S) ile mekanik ventilatörde kalma süreleri arasında pozitif korelasyon vardı.(Tablo 4.7.)

	PELOD KK* P DEĞERİ	PRISM KK P DEĞERİ	YOĞUN BAKIMDA KALIŞ KK P DEĞERİ	MEKANİK VENTİLATÖRDE KALMA KK-P DEĞERİ
CD3-CD25**	0,469			
	0,05			
CD4-CD25***	0,473			
	0,047			
HLA-DR	0,510			
	0,031			
CD8-IFN-24.S****			0,529	
			0,024	
T IFN-24.S*****				0,478
				0,045
IL-4				0,537
				0,022
T IFN-K** ****		0,623		
		0,006		
HLA-DR-K	0,500			
*****	0,034			
CD4-TNF- K*****				0,723
				0,001
CD3-IL4-K- 24.S*****				0,479
				0,044

* KORELASYON KATSAYISI, ** T lenfosit aktivasyonu, *** yardımcı T lenfosit aktivasyonu, **** T sitotoksiklerin 24.saat IFN salınımı, ***** 24.saatteki toplam IFN salınımı, *****SIRS sonrası bakılan toplam IFN değeri, ***** kontrolde HLA-DR değeri aktivasyonu, *****kontrolde T sitotoksiklerden salınan tümör nekrozis faktör , ***** kontrolde T lenfositlerden interlökin 4 salınımının 24. Saat değeri

TABLO 4.7. Spearman's korelasyon analizine göre bağışıklık sistemi ve klinik bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı olan veriler

Vakaların hormon ve bağışık yanıt arasındaki ilişkiye baktığımızda androstenediol ile IFN,IL4,TNF arasında negatif korelasyon vardı($p<0.05$). Vakaların kontrolde bakılan T sitotoksiklerden salgılanan IFN kontrol değerleri ve androstenediol kontrol değerleri

arasında negatif korelasyon vardı.(Tablo 4.8) *Androstenediol* bağışık yanıtı düzenleyici etkisi sitokin fırtınasını baskılamaya yönelik aktivite ile olmaktadır. DHEA ile bağışık yanıt arasında istatistiksel olarak anlamlı veri elde edilemedi.

	ANDROSTENEDİOL KORELASYON KATSAYISI P DEĞERİ
CD8-IFN*	-0,524 0,031
T IFN**	-0,583 0,014
T IFN-24.S***	-0,541 0,025
T IL4-24.S****	-0,536 0,014
CD4-TNF-24.S*****	-0,567 0,018
T TNF-24.S*****	-0,628 0,007

*T sitotoksiklerden salınan IFN değeri, ** toplam IFN, *** 24.saatteki toplam IFN, ****24.saatteki toplam IL4 , ***** yardımcı T lenfositlerden salınan TNF 24.saat değeri, *****24.saatteki toplam TNF

TABLO 4.8. Spearman's korelasyon analizine göre bağışıklık sistemi ve androstenediol arasında istatistiksel olarak anlamlı olan veriler

Vakaların iyilik hali olduğu dönemde bakılan HLA-DR kontrol değerleri ile kontrol de alınan androstenediol arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,015). SIRS anında buna benzer bir ilişki bulamadık ama kontrolde bakılan değerlerde androstenediol değerleri arttıkça HLA-DR değerlerinin de arttığını gördük.(Tablo 4.9)

	ANDROSTENEDİOL KONTROL KORELASYON KATSAYISI P DEĞERİ
HLA-DR-K*	0,579 0,015
THLA-DR-K**	0,716 0,001

*HLA-DR kontrol değeri ** tüm HLA-DR kontrol değeri

Tablo 4.9. Spearman's korelasyon analizine göre bağışık yanıt androstenediol ilişkisi

Vakaları yoğun bakıma yatışının ilk 7 günü içinde SIRS bulguları gördüğümüz grubu erken sepsis, ilerleyen günlerde SIRS bulguları görülen grubu ise geç sepsis olarak sınıflandırdık. İki grup arasında klinik bulgular, bağışık yanıt, DHEA, androstenediol

düzeyleri açısından kıyasladığımızda hastanede kalış süresi, mekanik ventilatörde kalış süreleri, IFN γ düzeyleri, IL4 kontrol düzeyleri ve CRP açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit ettik. Geç sepsis vakalarının daha uzun süre yoğun bakımda kaldığını, mekanik ventilatörde kalış sürelerinin uzadığını gördük. IFN γ değerleri de geç sepsiste erken sepsis vakalarına göre daha yüksekti. Vakaların kontrol IL4 düzeyleri de geç sepsiste daha yüksek olarak tespit edildi, diğer parametrelerde anlamlı bir farklılık tespit edemedik. Bu durumun geç sepsis vakalarındaki sitokin fırtınasının kontrol altına alınamamasının kötü klinik gidişat ile ilişkili olduğunu gördük (Tablo 4.10).

	ERKEN SEPSİS ORTALAMA$\pm$SS ORTANCA(MİN- MAX) (N:11)	GEÇ SEPSİS ORTALAMA$\pm$SS ORTANCA(MİN- MAX) (N:7)	P DEĞERİ
CD8-IFN-24S*	4,59 $\pm$ 7,11 0,94(0,1-21,52)	16,47 $\pm$ 21,91 4,72 (1,45-57,96)	0,041
CD3-IL4**			0,255
CD3-IL4-24S***			0,496
CD3-IL4-K****	3,51 $\pm$ 6,54 0,77(0,1-22,5)	14,29 $\pm$ 16,27 6,46(0,5-44,7)	0,026
T IL4-K*****	10,76 $\pm$ 17,58 4,78(0,17-61,24)	37,80 $\pm$ 38,03 20,54 (0,46-97,11)	0,042
CD4-TNF*****			0,258
CD4-TNF-24S*****			0,892
CRP	85,93 $\pm$ 93,87 43,97(5-335)	146,06 $\pm$ 79,3 143,26 (33-286)	0,046
CRP-2*****			0,956
YOĞUN BAKIMDA YATIŞ SÜRESİ	13,93 $\pm$ 15,52 10(2-66)	44,9 $\pm$ 24,49 42 (10-90)	0,001
MEKANİK VENTİLATÖRDE KALIŞ SÜRESİ	7 $\pm$ 6,93 6 (0-23)	36,3 $\pm$ 27,64 37,5 (5-90)	0,003

*sitotoksik T lenfositlerden salınan IFN 24.saat değeri, ** T lenfositlerden salınan IL-4 değeri, *** T lenfositlerden salınan IL4 24.saat değeri, **** T lenfositlerden salınan IL4 kontrol değeri, *****Kontrolde tüm hücrelerden salınan IL4 değeri, ***** yardımcı T lenfositlerden salınan TFN değeri, ***** yardımcı T lenfositlerden salınan TNF 24.saat değeri, ***** kontrol CRP değeri

TABLO 4.10. Erken- geç sepsis vakalarının p değeri anlamlı verileri

Vakaları 9 yaş altı ve üstü olarak 2 ayrı gruba ayırdık. İmmun parametreleri çalıştığımız 9 yaş altında toplamda 6 vakamız vardı. 9 yaş altı gruptaki vakaların SIRS anı CD 19 değerleri ile androstenediol arasında negatif korelasyon vardı (p:0037). SIRS anı 24.Saattteki toplam HLA-DR (THLA-DR-24.S) değerleri ile androstenediol arasında pozitif bir korelasyon olduğunu gördük(p:0,037). Androstenediol değeri düşük olan vakaların T HLA-DR 24. Saat aktivasyon değerleri de düşüktü, aralarında yüksek pozitif korelasyon

vardı. Aynı yaş grubunda CD3-CD69- 24. Saat aktivasyon değerleri ile SIRS anı DHEA arasında da pozitif korelasyon vardı (p:0,037). DHEA değerleri arttıkça CD3-CD69-24 saat aktivasyon yanıtı da daha iyiydi. T lenfositlerden salınan IL4 (CD3-IL4) , toplam IL4 (T-IL4) ile vakaların SIRS anı PRISM skorlaması ve rölatif risk arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,008). Yani IL-4 değerleri yüksek olan hastaların PRISM skorlamaları ve rölatif ölüm oranları da artış göstermekteydi. T TNF değerleri ile androstenediol arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,037) Yardımcı T lenfositlerden salınan kontrol TNF değeri (CD4-TNF-24S) ile negatif korelasyon vardı. B lenfositler (CD19) ve uyarılmış T lenfosit aktivasyonu (CD3-CD25-24S) ile androstenediol arasında negatif korelasyon vardı.(Tablo 4.11). T sitotoksiklerden salınan IFN kontrol 24.saat değeri (CD8-IFN-K-24.S) ile androstenediol kontrol değeri arasında negatif korelasyon vardı(p 0.037, kk -0,9).

	DHEA Korelasyon katsayısı P değeri	ANDROSTENEDİOL Korelasyon katsayısı P değeri	PRISM Korelasyon katsayısı P değeri	RÖLATİF RİSK Korelasyon katsayısı P değeri
T HLA-DR-24 S*		0,9 0,037		
CD3-CD69-24.S**	0,9 0,037			
CD3-IL4***			0,928 0,008	0,928 0,008
T-IL4****			0,928 0,008	0,928 0,008
T TNF*****		0,9 0,037		
CD3-CD25-24.S*****		-0,9 0,037		
CD4-TNF-24.S*****		-0,9 0,037		
CD 19 *****		-0,9 0,037		

*24.saatteki Toplam HLA-DR, ** T lenfosit aktivasyonu 24.saat değeri, *** T lenfositlerden salınan IL4, ****toplam IL4,***** toplam TNF, ***** T lenfosit aktivasyonu 24.saat, *****yardımcı T lenfositlerin 24.saat TNF salınımı, *****B lenfosit

TABLO 4.11. 9 yaş altı vakaların SPEARMAN's korelasyona göre p değeri anlamlı olan parametrelerin korelasyon katsayısı tablosu (n: 6 vaka)

9 yaş üstü toplamda 18 vaka, immun parametre çalışabildiğimiz 12 vakada ise yardımcı T lenfositler ile (CD3-CD4) DHEA arasında pozitif korelasyon vardı(p:0,045). Uyarılmış T lenfositlerin (CD4-CD25) SIRS anı bazal değeri ile DHEA arasında pozitif korelasyon olduğunu gördük (p:0,045). DHEA düzeylerinden vakaların CD 25 değerleri de etkilenmekteydi. DHEA düzeyleri azaldıkça CD25 değerleride azalmaktaydı. 9 yaş üstü grupta SIRS anı bakılan T lenfositlerden salınan IL-4 ve IL-4 24.saat değeri ve toplam IL-4

salınımının 24. saat değeri (CD3-IL4, CD3- IL4-24.s, T IL4-24.s) ve androstenediol arasında negatif korelasyon vardı ($p < 0,05$). IL4 değerleri arttıkça androstenediol değerlerinde düşme olduğunu gördük. Yine benzer şekilde SIRS anı toplam TNF ve toplam IFN değerleri ile de androstenediol arasında negatif korelasyon vardı ($p < 0,05$). Vakaların SIRS anı CRP değerleri ile PRISM, PRISM rölatif risk arasında pozitif korelasyon vardı ($p:0,026$). CRP değeri arttıkça mortalite riski de artış göstermekteydi, CRP klinik kötü gidişat ile korelasyon göstermekteydi (Tablo 4.12).

	DHEA KORELASYON KATSAYISI P DEĞERİ	ANDROSTENEDİOL KORELASYON KATSAYISI P DEĞERİ	PRISM KORELASYON KATSAYISI P DEĞERİ	PRISM RÖLATİF RİSK KORELASYON KATSAYISI P DEĞERİ
CD3-CD4*	0,587 0,045			
CD19**	-0,741 0,006			
CD4-CD25***	0,587 0,045			
CD3-IL4****		-0,676 0,016		
CD3-IL4- 24.S*****		-0,623 0,014		
T IL4- 24.S*****		-0,685 0,014		
T TNF*****		-0,649 0,022		
T IFN*****		-0,736 0,006		
T IFN-24 S*****		-0,599 0,04		
CRP			0,523 0,026	0,523 0,026

*yardımcı T lenfositler, ** B lenfosit, *** yardımcı T lenfosit aktivasyonu, **** T lenfositlerden salınan IL4, *****yardımcı T lenfositlerden 24.saatte salınan IL4, ***** tüm hücrelerden 24.saatte salınan IL4, ***** toplam TNF, ***** Toplam IFN, ***** 24.saatte salınan toplam IFN

TABLO 4.12. 9 yaş üstü vakaların SPEARMAN's korelasyona göre p değeri anlamlı olan parametrelerin korelasyon katsayısı tablosu (n: 12 vaka)

5.TARTIŞMA

Sepsis ön tanılı yaygın yangısal yanıt bulguları olan hastalarda klinik durum, bağışıklık yanıtı ve cinsiyet hormonları arasındaki ilintiyi belirlemek için yaptığımız çalışmada; bağışıklık parametreleri olarak sepsis esnesında ve iyileşme dönemlerinde: periferik kandan mononükleer hücre izolasyonunu takiben, total T hücre belirteci olan CD3; yardımcı T hücre belirteci olan CD4; sitotoksik T hücre belirteci olan CD8; B hücre yüzey belirteci olan CD19; NK hücre yüzey belirteci olan CD16 ve CD56 incelenmiş

ayrıca hücre kültürü ortamında T hücrelerinde CD25, CD69 aktivasyonu incelenmiştir. Çalışmamızda; androstenediol değerleri ile bazı bağışıklık parametreleri arasında negatif koşutluk olduğu saptanmıştır.

5.1 SIRS ve İyileşme Dönemi Verileri

Klinik ölçütler (hayati işlevleri, boy, kilo, PRISM ve PELOD) ile rutin testlerin (tam kan sayımı, C reaktif protein (CRP)başvuru anı ve iyileşme dönemlerinde bakılan değerleri karşılaştırıldığında akyuvar ve CRP değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Lenfosit,nötrofil değerleri arasında anlamlı fark yoktu.

Vaka grubumuzda sitokinlerin SIRS öncesi ve iyilik hali olduğu dönem sitokin değerleri arasındaki ilişki açısından bakıldığında SIRS bulgularının olduğu dönemde IL-6 değerlerinde (56,75) kontrol çalıştığımız döneme (2.85) göre anlamlı artış vardı. Bu bulgular daha önceki sepsis çalışmaları ile uyumluluk göstermekteydi (Rivers ve ark 2013, Adamik ve ark 1997) Önceki çalışmalar IL-6 değerleri ile klinik bulgular arasında mortalite ve ikincil enfeksiyon görülme riskinin artışı lehine bağıntı göstermişlerdir(Boomer ve ark 2012, Adamik ve ark 1997).Bizim verilerimiz arasında ise istatistiksel bir bağıntı saptanmadı.

Bizim çalışmamızda diğer sitokin değerlerinde (IFN-TNF-IL4) SIRS ve kontrolde alınan örneklerde benzer bir bağıntı yoktu, diğer sitokin değerlerinde bağıntının bulunamamış olması vaka sayısının azlığı, mevcut kronik hastalıkların eşlik etmesi, vakaların genetik yapısı, çevresel etkenler, kullanıların ilaçların etkisinin dışlanamamasından kaynaklanabileceği ayrıca diğer sitokin değerlerinin iyileşme döneminde farklı bulunmaması metodolojik olarak tercih ettiğimiz 2 haftalık düzelme sürecinin bağışıklık yanıtında durulmayı göstermek için yeterli olmadığını düşündürmektedir.

CD 69, CD 25 T lenfositlerde aktivasyon belirticidir, T ve B lenfosit, NK hücre aktivasyonunda hızla eksprese olur.CD 69 Th1/Th2 sitokin profilinin ve lenfosit apoptozisinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. T lenfosit aktivasyonunu araştırmak için uyarılmış lenfositlerde CD4+CD25, CD3+CD25, CD3+CD69, CD4+CD69 değerlerine bakıldı. Bu değerlerde sırs anı ve kontrol arasında anlamlı fark bulunamadı. Bu sonucun yorumu hücre aktivasyonu bulgularının haftalar içerisinde değişmediğini göstermektedir. Hormon düzeyleri açısından baktığımızda ise androstenediolün sırs dönemindeki değerleri ile vakaların klinik olarak iyilik hali olduğunda bakılan değerleri

kıyaslandığında androstenediolün aktif dönemde azaldığını gördük , DHEA da ise istatistiksel olarak anlamlı değişiklik yoktu. Bu durum vakaların yaş aralığı, kan örneklerinin alınma saatleri, kullanılan ilaçların etkisi gibi faktörler dışlanamamıştır. Literatürde benzer şekilde yapılmış bir çalışmaya rastlamadık.

Diğer parametrelerde istatistiksel fark yoktu.

5.2 Klinik ve Bağışıklık Yanıtı

Vakalarımızın klinik verileri (PRISM, PELOD, mekanik ventilatörde kalış, yoğun bakımda kalış süreleri) kendi aralarında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlılık yoktu. Malnutrisyon durumları ve T lenfosit aktivasyonları arasında da ilişki yoktu. Beyaz küre, CRP düzeyleri arttıkça yoğun bakım mortalite skorlaması artmaktaydı, bu durumda kontrolsüz enflamatuvar yanıtın artması ile mortalite riskinin artması paralellik göstermesi beklediğimiz bir sonuçtu.

Çalışmamızda yardımcı T lenfositlerin salgıladığı sitokinler (CD4-TNF, CD4-TNF-K-24S) ile mekanik ventilatörde kalış süreleri arasında pozitif korelasyon olması yardımcı T lenfosit aracılı sitokin fırtınasının ve abartılı inflamatuvar yanıtın devam ettiğinin göstergesi olabilir, bu durumun klinik olarak yansması ise mekanik ventilatörde kalış sürelerinin uzamasıdır. Yine benzer şekilde T lenfositlerden IL4 salınımı (CD3-IL4, CD3-IL4-K-24S) ile PRISM ve mekanik ventilatörde kalma süresi arasında pozitif korelasyon olmasının sebebi ise kontrolsüz sitokin fırtınasına bağlı mortalite ve morbidite riskinde artış ile açıklanabilir. Kontrol kanlarından çalışılan T lenfosit ve yardımcı T lenfositlerin sitokin salınımı (CD4-TNF-K, CD3-IL4-K-24.S) yüksekliği devam ettikçe mekanik ventilatörde kalma süreleri de uzamaktaydı. Bu durumda kontrolsüz bağışık yanıtın etkisinin halen devam etmekte olduğunu düşündürmüştür. Literatürde benzer bir çalışmaya rastlamadık.

Vakaların saptadığımız yüksek T lenfosit ve yardımcı T lenfosit aktivasyonu (CD3-CD25, CD4-CD25) ve HLA-DR değerleri ile PELOD skorlamaları artmaktaydı bu durum vakalarda uyarılmış T lenfosit yanıtlarının abartılı olabileceğini ve ardından gelişebilecek yardımcı T lenfosit aracılı sitokin fırtınasının daha belirgin olabileceğinin işareti olarak yorumlandı.

Çalışmamızda uyarılmış T lenfositlerde IFN γ sekresyonu ile mekanik ventilatörde kalma süreleri ve sitotoksik hücrelerden IFN γ sekresyonu ile hastanede kalış arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu durum artmış hücresel uyarılmanın sepsis sürecinin daha uzun sürmesine neden olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Surbatovic ve arkadaşlarının

165 erişkin sepsis vakasında sitokinler ve mortalite ile ilişkinin araştırıldığı çalışmada ölen vakaların TNF α değerlerinin yaşayan gruba göre anlamlı yüksek bulmuşlar, bizim sonucumuzdan farklı olarak IFN γ da istatistiksel anlamlılık bulamamışlardır(Surbatovic ve ark 2015). Bizim sonuçlarımıza göre IFN γ yüksekliği klinik kötü gidişat ile ilişkilidir, bu farklılık vaka grubunun yaş farklılığından ve olgularımızın daha kronik zeminli olmalarından kaynaklanabilir.

Hayatta kalım ölçütlerinden PELOD değerleri yüksek olan vakalarda HLA-DR aktivasyonu değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edildi. Bu veri artmış HLA-DR yanıtı vakaların geliş sırasındaki klinik bulgularının daha ağır olduğunu göstermektedir. Halbuki daha önceki klinik çalışmalarda uyarılmış T lenfositlerde HLA-DR cevabı septik vakalarda bağışıklık yanıtının olumlu bir göstergesi olarak yorumlanmıştır (Meisel ve ark 2009). Monneret ve arkadaşlarının çalışmasında ise sepsis tanısı ile takip edilen 93 vakada mortalite ile HLA-DR düzeyleri akım hücre ölçer ile çalışılmıştır. Geç sepsis vakalarında HLA-DR düzeylerinin hayatta kalan vakalarda daha yüksek olduğu görülmüştür(Monneret ve ark 2006). Yine Tschaikowsky ve ark yaptıkları sepsisli vakaların çalışmasında HLA-DR aktivasyonu sepsis skorlaması sistemi (APACHE) ile negatif korelasyon bulmuşlardır(Tschaikowsky ve ark 2002).

5.3 Hormon ve Bağışıklık Yanıtı

Hormon düzeyleri ile T lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişki açısından bakıldığında DHEA düzeyleri normal olan vakaların daha iyi aktivasyon gösterdiğini gördük ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Literatürde benzer bir bilgiye ulaşamadık.

9 yaşı puberte başlangıcı kabul edip vakaları 9 yaş altı ve üstü olarak 2 gruba ayırdığımızda 9 yaş altı vaka grubunda ise uyarılmış T lenfositler (CD3-CD69 -24.s) ile DHEA arasında pozitif korelasyon vardı bu durumu ise total T lenfosit yanıtının prepubertal yaş grubunda DHEA değerlerinden çok fazla etkilenmediğinin ancak yardımcı T lenfosit yanıtının çok daha fazla etkilendiğinin işareti olabileceğini ve sitokin fırtınasının baskılanmasına katkı sağlayabileceğini düşündük. 9 yaş üstü vakalarda DHEA arttıkça yardımcı T lenfositlerin arttığını, yardımcı T lenfosit aktivasyonunu artırıcı etkisi vardı. Vakalarımızda DHEA düzeylerinin literatürden farklı olarak CD4 ler üzerine destekleyici etki gösterdiğini düşündüren verilere rastladık.

Hormonlar immun sistemi farklı yollardan farklı şekilde etkilemektedir. DHEA nın sitokinler üzerine etkisi yoktu. Pratschke ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 39-85

yaş aralığındaki 11 vakadan majör cerrahi öncesi ve sonrası periferik kan örnekleri alıp, hücre kültüründe bir gruba DHEA ile karşılaştırarak DHEA'nın sitokin salınımını azalttığını (IL2-IL10), CD4 lerde ise CD69 aktivasyonunu baskıladığını gösterdiler. Bu sonuçlardan yola çıkarak yazarlar DHEA'nın ciddi cerrahi girişimlere bağlı yangısal yanıtta bağışık yanıtı düzenleyici etkisini sitokinler ve TH1/TH2 arasındaki dengeleyici etki ile açıklamışlardır(Pratschke S. ve ark. 2014). Kim sk ve ark yaptıkları bir başka çalışmada ise ratlarda deneysel sepsis oluşturulup DHEA tedavisi ile IL6 salınımına etkisi araştırıldığında doz bağımlı olarak DHEA replasmanının IL6 sekresyonunu baskılayarak bağışık yanıtı düzenlediğini göstermişlerdir(Kim sk ve ark 2006). Bizim çalışmamızda DHEA ile sitokinlerin etkileşimi açısından anlamlı veri elde edilememiş olmakla beraber literatürden farklı olarak vakalarımızın 9 yaş üstü olan grup ve tüm vakalarda B lenfosit ile DHEA düzeyleri arasında negatif korelasyon vardı.

Tüm yaş gruplarında androstenediol düzeyleri arttıkça bazı sitokinler (IFN, IL4 ve TNF 24 SAAT değerleri) ile negatif koşutluk göstermekteydi. Schmitz ve arkadaşlarının ratlarda yaptıkları bir çalışmada ciltaltı DHEA, androstenediol ve damar içi androstenediol tedavisi verilip mortalite ve sitokin salınımı (IL-10, TNF α) üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak androstenediol tedavisi uygulanan grubun DHEA uygulanan gruba oranla mortalite oranlarının daha düşük olduğu ve androstenediolün sitokin salınımını baskılayıp hücrel bağışık yanıtı desteklediği görülmüştür (Schmitz D ve ark 2014). Bu durum kontrolsüz inflamasyonu baskılamak için sitokin üzerinde immun yanıtı düzenlediği ihtimalini düşündürmektedir.

Nekahat döneminde ise androstenediolün HLA-DR aktivasyonuna olumlu etkisi vardı.

9 yaş altı vaka grubumuzda T lenfositlerden IL4 salınımı ve vakaların SIRS anı PRISM skorlaması ve rölatif risk arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,008). Vakalarımızın klinik olarak iyilik hali olduğu dönemde bakılan T sitotoksik hücrelerden salınan IFN arasında negatif korelasyon olması da yine androstenediolün immun yanıtı etkisini daha çok sitokinler üzerinde gösterdiğini düşündürmektedir. Aynı grupta uyarılmış yardımcı T lenfositlerden salınan TNF (CD4-TNF-24S) ile androstenediol arasında benzer olarak negatif korelasyon tespit edildi. Androstenediolün TNF in 24 .saatinde negatif etkili olması sitokin fırtınasını baskılamak amacıyla kan düzeylerinin artarak bağışıklık yanıtını baskıladığı şeklinde yorumlanabilir. Nekahat döneminde de T sitotoksiklerin IFN salınımı (CD8-IFN-K-24 S) ile androstenediol kontrol değeri arasındaki negatif korelasyon devam

etmekteydi. 9 yaş altı vaka grubunda B lenfosit düzeyleri androstenediol arasında negatif korelasyon vardı. Buna benzer yapılmış herhangi bir çalışma bulamadık.

HLA-DR aktivasyonu T lenfositlerinin iyi uyarıldığının göstergesidir. Dokuz yaş altı grupta total HLA-DR ile T lenfositlerin CD25 aktivasyonunun 24.saat (CD3-CD25-24.S) değerleri ile androstenediol arasında negatif korelasyon vardı. Androstenediol HLA-DR ve CD25 aktivasyonunun arasındaki ilişki ise androstenediolun mini doz kortizol etkisi ile sitokin fırtınasının önlemeye yönelik aktive gösterdiği düşünülebilir. Prepubertal dönemde androstenediol sitokin fırtınasını engelleyip bağışık yanıt üzerindeki baskılayıcı etkisini düşündürmektedir.

Yine tüm vakalarda olduğu gibi 9 yaş üstü vakalarda da androstenediol ve IFN γ , IL4 ve TNF arasında negatif korelasyon tespit edildi. 9 yaş üstü vakalarda androstenediol sitokin fırtınasını kontrol altına alarak sepsiste bağışık yanıtı düzenlediğini söyleyebiliriz. Suzuki ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada benzer şekilde ratlarda deneysel sepsis oluşturulup androstenediol tedavisi sonrasında mortalite ve sitokinler üzerine etki araştırılmış, androstenediol tedavisi alan grupta mortalite oranlarının daha düşük olduğu yine sitokin salınımının (IL-6, IL 2, TNF α , IFN γ) baskılandığını göstermişlerdir (Suzuki ve ark 2006). Bu çalışma verileri sonucunda androstenediol bizim bulgularımızın da desteklediği gibi sitokin fırtınasını baskılayıp sepsis de mortaliteyi azaltıcı etki göstermektedir.

Sonuç olarak sepsis ve sepsis kaynaklı ölüm çocuk yaş grubunda halen ciddi bir sağlık problemidir. Yapılan çalışmalara rağmen sepsis patofizyoloji açıklığa kavuşmamıştır. Bu ciddi sağlık problemine bağlı ölüm oranlarını azaltabilmek için patofizyoloji net olarak anlaşılmış ve tedaviyi yönlendirici bilgiler elde edilmelidir. Bu konuda son yıllarda sepsis fizyopatolojisi üzerine yapılan en popüler çalışmalar ise steroid hormonların bağışık yanıt üzerine etkileridir. Daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde bizim verilerimizde sepsise bağlı hücresel bağışık yanıtın baskılandığını, kontrolsüz sitokin fırtınasının olduğu yönünde idi. Androstenediol ve DHEA ile bağışık yanıt arasındaki ilişki açısından baktığımızda ise literatüre benzer şekilde androstenediolün sepsis anında baskılandığını bu durumun ise bağışık yanıtı negatif etki ettiğini gördük. Yine androstenediolün bağışık yanıt üstüne etkisini sitokin fırtınasını kontrol altına alarak gösterdiğini düşünmekteyiz. Ancak DHEA ile benzer sonuçlar elde edemedik. Bu durumun vaka sayımızın az olması, genetik faktörler, DHEA salınımının gün içerisinde farklılık göstermesi ve kullanılan

ilaçların etkisinin dışlanamaması ile ilişkilendirebiliriz. Çalışmamız bu konuda yapılmış olan ilk insan çalışması olması açısından önemli bir çalışmadır. Ancak vaka sayımızın az olması ,kullanılan ilaçların sonuçlara etkisinin dışlanamaması, bağışık yanıt parametreleri çalışılan vakaların kontrol anında klinik olarak stabil olsalar bile diğer stres faktörlerinin dışlanamaması çalışmamızı olumsuz etkileyen faktörlerdir. Bu konu ile çocuk yaş grubunda yeni yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6.SONUÇLAR

- Çalışmaya Ocak 2011- Mart 2015 yılları arasında sepsis ön tanısı ile yaygın yangısal yanıt bulguları olan 6 ay-18 yaş aralığında Necmettin Erbakan Üniversitesi Çocuk Yoğun Bakım Ünitesinde yatışı yapılan ve tedavi edilen 25 vaka dahil edildi.
- Çalışmamıza dahil edilen vakaların yaş ortalaması 55,2 ay (min:6 ay max:170 ay) idi.
- Vakaların 10'nun kız (%40) 15'i (%60) erkek idi.
- 25 vakanın 16'sında(%64) malnutrisyon mevcuttu, büyüme geriliği ise sadece 6 vakada (%24) vardı.
- 3 vakada (%12) prematüre doğum öyküsü, diğer vakalarımız (%88) miad doğum öyküsü vardı.
- 25 vakada (%96) kronik hastalık,1 vakada (%4) ise bilinen herhangi bir hastalık öyküsü yoktu.
- 25 vakamızdan 5 vakamız (%20) yoğun bakım takibi sırasında vefat etti, diğer vakalarımız (%80) ise haliyle evde bakım hastası olarak taburcu edildi.
- SIRS anı ve kontrolde bakılan kan sayımı ve akut faz yanıtı açısından kıyasladığımızda beyaz küre, nötrofil, trombosit sayıları ve CRP değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı idi($p<0,05$).
- Bazofil, eozinofil ve lenfosit açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).
- Androstenediol değerlerinde SIRS anında kontrol değeri ile kıyaslandığında belirgin düşüş olduğu görüldü ($p:0,008$). DHEA değerlerinde ise anlamlı bir fark tespit edilemedi (p değeri 0,361).
- Sadece IL-6 değerinde istatistiksel açıdan SIRS anında anlamlı artış olduğu kontrolde ise değerinde azalma olduğu görüldü ($p:0,018$), bu durum sepsis ile ilişkilendirildi, diğer parametrelerde anlamlı veriler elde edilemedi ($p>0,05$).
- Hormon düzeyleri ile uyarılmış lenfositlerin CD25 aktivasyonları arasındaki ilişkiye bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).

- CD 69 aktivasyonu ile DHEA ve androstenediol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı veri elde edemedik ($p > 0,05$)
- Lenfosit aktivasyonu ve klinik bulgular arasındaki ilişkiye istatistiksel olarak baktığımızda vakaların PRISM, PELOD, hastanede kalış süreleri ve mekanik ventilatörde kalış süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edemedik ($p > 0,05$).
- Vakaların malnutrisyon durumu ile lenfosit aktivasyonu arasındaki ilişkiye baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı veri elde edemedik ($p > 0,05$).
- Beyaz küre, PRISM arasında pozitif korelasyon , lenfosit ve yoğun bakımda kalış süresi arasında negatif korelasyon, CRP ve PRISM arasında ise pozitif korelasyon olduğunu gördük.
- DHEA ve androstenediol SIRS anı değerleri ile cinsiyet arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p > 0,05$).
- SIRS anı DHEA, androstenediol değerleri ile hayatta kalım da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).
- T lenfosit aktivasyonu (CD3-CD25), yardımcı T lenfosit aktivasyonu (CD4-CD25), HLA-DR ile PELOD arasında pozitif korelasyon vardı. HLA-DR kontrol değerleri de başvuru anı PELOD skorlaması yüksek olan hastalarda kontrolde de yükseklik devam etmekteydi.
- Tüm hücrelerden salınan IFN kontrol değeri ile (T-IFN-K) PRISM arasında pozitif korelasyon bulundu.
- T sitotoksik lenfositlerden salınan IFN 24. Saat değeri (CD8-IFN-24 saat) ile hastanede kalış arasında pozitif korelasyon vardı. Tüm hücrelerden salınan IFN 24.saat değeri (T IFN-24 saat) ile mekanik ventilatörde kalma süresi arasında pozitif korelasyon olduğunu gördük.
- Toplam IL4 (T IL4) ile mekanik ventilatörde kalma süresi arasında pozitif korelasyon vardı. Yardımcı T lenfositlerden salınan TNF kontrol değeri, T lenfositlerden kontrolde salınan IL4 24.saat değerleri (CD4-TNF-K, CD3-IL4-K-24.S) ile mekanik ventilatörde kalma süreleri arasında pozitif korelasyon vardı.
- Vakaların hormon ve bağışık yanıt arasındaki ilişkiye baktığımızda androstenediol ile IFN,IL4,TNF arasında negatif korelasyon vardı.
- Vakaların kontrolde bakılan T sitotoksiklerden salgılanan IFN kontrol değerleri ve androstenediol kontrol değerleri arasında negatif korelasyon vardı.

- Vakaların iyilik hali olduğu dönemde bakılan HLA-DR kontrol değerleri ile kontrol de alınan androstenediol arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,015).
- Vakaları yoğun bakıma yatışının ilk 7 günü içinde SIRS bulguları gördüğümüz grubu erken sepsis, ilerleyen günlerde SIRS bulguları görülen grubu ise geç sepsis olarak sınıflandırdık. İki grup arasında klinik bulgular, bağışık yanıt, DHEA, androstenediol düzeyleri açısından kıyasladığımızda hastanede kalış süresi, mekanik ventilatörde kalış süreleri, IFN γ düzeyleri, IL4 kontrol düzeyleri ve CRP açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit ettik.
- IFN γ değerleri de geç sepsiste erken sepsis vakalarına göre daha yüksekti.
- Vakaları 9 yaş altı ve üstü olarak 2 ayrı gruba ayırdık. İmmun parametreleri çalıştığımız 9 yaş altında toplamda 6 vakamız vardı. 9 yaş altı gruptaki vakaların SIRS anı CD 19 değerleri ile androstenediol arasında negatif korelasyon vardı (p:0037).
- Androstenediol değeri düşük olan vakaların T HLA-DR 24. Saat aktivasyon değerleri de düştü, aralarında yüksek pozitif korelasyon vardı.
- Aynı yaş grubunda CD3-CD69- 24. Saat aktivasyon değerleri ile SIRS anı DHEA arasında da pozitif korelasyon vardı (p:0,037).
- T lenfositlerden salınan IL4 (CD3-IL4) , toplam IL4 (T-IL4) ile vakaların SIRS anı PRISM skorlaması ve rölatif risk arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,008).
- B lenfositler (CD19) ve uyarılmış T lenfosit aktivasyonu (CD3-CD25-24S) ile androstenediol arasında negatif korelasyon vardı.
- T sitotoksiklerden salınan IFN kontrol 24.saat değeri (CD8-IFN-K-24.S) ile androstenediol kontrol değeri arasında negatif korelasyon vardı(p 0.037,kk -0,9).
- 9 yaş üstü toplamda 18 vaka, immün parametre çalışabildiğimiz 12 vakada ise yardımcı T lenfositler ile (CD3-CD4) DHEA arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,045).
- Uyarılmış T lenfositlerin (CD4-CD25) SIRS anı bazal değeri ile DHEA arasında pozitif korelasyon olduğunu gördük (p:0,045).
- 9 yaş üstü grupta SIRS anı bakılan T lenfositlerden salınan IL-4 ve IL-4 24.saat değeri ve toplam IL-4 salınımının 24. saat değeri (CD3-IL4, CD3- IL4-24.s, T IL4-24.s) ve androstenediol arasında negatif korelasyon vardı ($p < 0,05$).
- Yine benzer şekilde SIRS anı toplam TNF ve toplam IFN değerleri ile de androstenediol arasında negatif korelasyon vardı ($p < 0,05$).

- Vakaların SIRS anı CRP değerleri ile PRISM, PRISM rölatif risk arasında pozitif korelasyon vardı (p:0,026).
- Sonuç olarak sepsis ve sepsis kaynaklı ölüm  ocuk yaş grubunda halen ciddi bir sağlık problemidir. Yapılan çalışmalara rağmen sepsis patofizyoloji açıklığa kavu mamı tır.
- Bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

- Abbas ak ve ark Cells and Tissues of the Adaptive System, Cellular and Molecular Immunology Int. Edition (6th ed.), 2007'den modifiye edilerek alıntılanmı tır.
- Albo F, Barbaccia ML, Cavazza A, Marini M, Roda LG. Dehydroepiandrosterone metabolism in human plasma. Horm Metab Res. 2003 Feb;35(2):104-8.
- American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med. 1992 Jun;20(6):864-74.
- Angele MK, Catania RA, Ayala A, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH. Dehydroepiandrosterone: an inexpensive steroid hormone that decreases the mortality due to sepsis following trauma-induced hemorrhage. Arch Surg. 1998 Dec;133(12):1281-8.
- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 2001 Jul;29(7):1303-10.
- Arlt W, Hammer F, Sanning P, Butcher SK, Lord JM, Allolio B, Annane D, Stewart PM. Dissociation of serum dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in septic shock. J Clin Endocrinol Metab. 2006 Jul;91(7):2548-54.
- Arlt W, Justl HG, Callies F, Reincke M, H bler D, Oettel M, Ernst M, Schulte HM, Allolio B. Oral dehydroepiandrosterone for adrenal androgen replacement: pharmacokinetics and peripheral conversion to androgens and estrogens in young healthy females after dexamethasone suppression. J Clin Endocrinol Metab. 1998 Jun;83(6):1928-34.
- Baulieu EE, Robel P, Schumacher M. Neurosteroids: beginning of the story. Int Rev Neurobiol. 2001;46:1-32.
- Ben-Nathan D, Padgett DA, Loria RM. Androstenediol and dehydroepiandrosterone protect mice against lethal bacterial infections and lipopolysaccharide toxicity. J Med Microbiol. 1999 May;48(5):425-31.
- Bilevicius E, Dragosavac D, Dragosavac S, Araújo S, Falc o AL, Terzi RG. Multiple organ failure in septic patients. Braz J Infect Dis. 2001 Jun;5(3):103-10.
- Binello E, Gordon CM. Clinical uses and misuses of dehydroepiandrosterone. Curr Opin Pharmacol. 2003 Dec;3(6):635-41.
- Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group. Crit Care Med. 1989 May;17(5):389-93.
- Bone RC, Sprung CL, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure. Crit Care Med. 1992 Jun;20(6):724-6.
- Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest. 1997 Jul;112(1):235-43.

- Boomer JS, Green JM, Hotchkiss RS. The changing immune system in sepsis: is individualized immuno-modulatory therapy the answer? *Virulence*. 2014 Jan 1;5(1):45-56.
- Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, Bricker TL, Jarman SD 2nd, Kreisel D, Krupnick AS, Srivastava A, Swanson PE, Green JM, Hotchkiss RS. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA*. 2011 Dec 21;306(23):2594-605.
- Carcillo J, Holubkov R, Dean JM, Berger J, Meert KL, Anand KJ, Zimmerman J, Newth CJ, Harrison R, Willson DF, Nicholson C; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Collaborative Pediatric Critical Care Research Network. Rationale and design of the pediatric critical illness stress-induced immune suppression (CRISIS) prevention trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2009 Jul Aug;33(4):368-74.
- Cinel I, Dellinger RP. Advances in pathogenesis and management of sepsis. *Curr Opin Infect Dis*. 2007 Aug;20(4):345-52.
- Cinel I, Dellinger RP. Current treatment of severe sepsis. *Curr Infect Dis Rep*. 2006 Sep;8(5):358-65.
- Cinel I, Opal SM. Molecular biology of inflammation and sepsis: a primer. *Crit Care Med*. 2009 Jan;37(1):291-304.
- Cook CH, Trgovcich J. Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent hosts: a decade of progress and remaining challenges. *Antiviral Res*. 2011 Jun;90(3):151-9.
- Davis CG, Chang K, Osborne D, Walton AH, Dunne WM, Muenzer JT. Increased susceptibility to *Candida* infection following cecal ligation and puncture. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Oct 14;414(1):37-43.
- Du C, Khalil MW, Sriram S. Administration of dehydroepiandrosterone suppresses experimental allergic encephalomyelitis in SJL/J mice. *J Immunol*. 2001 Dec 15;167(12):7094-101.
- Endoh A, Kristiansen SB, Casson PR, Buster JE, Hornsby PJ. The zona reticularis is the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex resulting from its low expression of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Oct;81(10):3558-65.
- Felmet KA, Hall MW, Clark RS, Jaffe R, Carcillo JA. Prolonged lymphopenia, lymphoid depletion, and hypoprolactinemia in children with nosocomial sepsis and multiple organ failure. *J Immunol*. 2005 Mar 15;174(6):3765-72.
- Frazier WJ, Hall MW. Immunoparalysis and adverse outcomes from critical illness. *Pediatr Clin North Am*. 2008 Jun;55(3):647-68.
- Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word "sepsis". *Intensive Care Med*. 2006 Dec;32(12):2077.
- Giamarellos-Bourboulis EJ, Raftogiannis M. The immune response to severe bacterial infections: consequences for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012 Mar;10(3):369-80.
- Goldstein B, Giroir B, Randolph A; International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*. 2005 Jan;6(1):2-8.
- Granucci F, Foti M, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cell biology. *Adv Immunol*. 2005;88:193-233.

- Hall MW, Knatz NL, Vetterly C, Tomarello S, Wewers MD, Volk HD, Carcillo JA. Immunoparalysis and nosocomial infection in children with multiple organ dysfunction syndrome. *Intensive Care Med.* 2011 Mar;37(3):525-32.
- Hazeldine J, Arlt W, Lord JM. Dehydroepiandrosterone as a regulator of immune cell function. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010 May 31;120(2-3):127-36.
- Hildebrand F, Pape HC, Harwood P, Wittwer T, Krettek C, van Griensven M. Are alterations of lymphocyte subpopulations in polymicrobial sepsis and DHEA treatment mediated by the tumour necrosis factor (TNF)alpha receptor (TNF-RI)? A study in TNF-RI (TNF-RI(-/-)) knock-out rodents. *Clin Exp Immunol.* 2004 Nov;138(2):221-9.
- Hildebrand F, Pape HC, Hoevel P, Krettek C, van Griensven M. The importance of systemic cytokines in the pathogenesis of polymicrobial sepsis and dehydroepiandrosterone treatment in a rodent model. *Shock.* 2003 Oct;20(4):338-46.
- Hornsby PJ. Aging of the human adrenal cortex. *Ageing Res Rev.* 2002 Apr;1(2):229-42.
- Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis.* 2013 Mar;13(3):260-8.
- Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med.* 1999 Jul;27(7):1230-51.
- Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol.* 2001; 166:6952–6963
- Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Grayson MH, Osborne DF, Wagner TH, Cobb JP, Coopersmith C, Karl IE. Depletion of dendritic cells, but not macrophages, in patients with sepsis. *J Immunol.* 2002 Mar 1;168(5):2493-500.
- Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE. Cell death. *N Engl J Med.* 2009 Oct 15;361(16):1570-83.
- Karaali R, Tabak F: Sepsis patogenezi. *Klinik Gelişim* 2009; 22: 71-76
- Kurt C: Sepsis ile ilişkili tanımlar, epidemiyoloji, insidans ve klinik, “Güncel Bilgiler Işığında Sepsis”, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No.51, s.17-26, İstanbul (2006).
- Labrie F, Luu-The V, Labrie C, Simard J. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology. *Front Neuroendocrinol.* 2001 Jul;22(3):185-212.
- Leteurtre S. et al. Validation of the paediatric logistic organ dysfunction (PELOD) score: prospective, observational, multicentre study. *Lancet.* 2003 Jul 19;362(9379):192-7
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; International Sepsis Definitions Conference. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med.* 2003 Apr;29(4):530-8.
- Linck Júnior A, Rego Filho ED, Moriya LK, Cardoso JR. Adrenal insufficiency in children with sepsis. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2011 Dec;23(4):478-483.
- Loria RM. Immune up-regulation and tumor apoptosis by androstene steroids. *Steroids.* 2002 Nov;67(12):953-66.
- Marik PE. Critical illness-related corticosteroid insufficiency. *Chest.* 2009 Jan;135(1):181-93.

- Matsuda A, Furukawa K, Suzuki H, Matsutani T, Tajiri T, Chaudry IH. Dehydroepiandrosterone modulates toll-like receptor expression on splenic macrophages of mice after severe polymicrobial sepsis. *Shock*. 2005 Oct;24(4):364-9.
- McLachlan JA, Serkin CD, Bakouche O. Dehydroepiandrosterone modulation of lipopolysaccharide-stimulated monocyte cytotoxicity. *J Immunol*. 1996 Jan 1;156(1):328-35.
- Neunaber C, Zeckey C, Andruszkow H, Frink M, Mommsen P, Krettek C, Hildebrand F. Immunomodulation in polytrauma and polymicrobial sepsis - where do we stand? *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2011 Jan;5(1):17-25
- Oberbeck R, Dahlweid M, Koch R, van Griensven M, Emmendorfer A, Tscherne H, Pape HC. Dehydroepiandrosterone decreases mortality rate and improves cellular immune function during polymicrobial sepsis. *Crit Care Med*. 2001 Feb;29(2):380-4.
- Oberbeck R, Nickel E, von Griensven M, Tschernig T, Wittwer T, Schmitz D, Pape HC. The effect of dehydroepiandrosterone on hemorrhage-induced suppression of cellular immune function. *Intensive Care Med*. 2002 Jul;28(7):963-8.
- Odetola FO, Gebremariam A, Freed GL. Patient and hospital correlates of clinical outcomes and resource utilization in severe pediatric sepsis. *Pediatrics*. 2007 Mar;119(3):487-94
- Okabe T, Haji M, Takayanagi R, Adachi M, Imasaki K, Kurimoto F, Watanabe T, Nawata H. Up-regulation of high-affinity dehydroepiandrosterone binding activity by dehydroepiandrosterone in activated human T lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995 Oct;80(10):2993-6.
- Ono S, Ueno C, Aosasa S, Tsujimoto H, Seki S, Mochizuki H. Severe sepsis induces deficient interferon-gamma and interleukin-12 production, but interleukin-12 therapy improves survival in peritonitis. *Am J Surg*. 2001 Nov;182(5):491-7.
- Sagy M, Al-Qaqa Y, Kim P. Definitions and pathophysiology of sepsis. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2013 Nov-Dec;43(10):260-3.
- Sakakura Y, Nakagawa Y, Ohzeki T. Differential effect of DHEA on mitogen-induced proliferation of T and B lymphocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006 May;99(2-3):115-20.
- Salek FS, Bigos KL, Kroboth PD. The influence of hormones and pharmaceutical agents on DHEA and DHEA-S concentrations: a review of clinical studies. *J Clin Pharmacol*. 2002 Mar;42(3):247-66.
- Straub RH, Konecna L, Hrach S, Rothe G, Kreutz M, Schölmerich J, Falk W, Lang B. Serum dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate are negatively correlated with serum interleukin-6 (IL-6), and DHEA inhibits IL-6 secretion from mononuclear cells in man in vitro: possible link between endocrinosenescence and immunosenescence. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Jun;83(6):2012-7.
- Sundar KM, Sires M. Sepsis induced immunosuppression: Implications for secondary infections and complications. *Indian J Crit Care Med*. 2013 May;17(3):162-9.
- Svec F, Porter JR. The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1998 Jul;218(3):174-91.
- Szalay L, Shimizu T, Suzuki T, Hsieh YC, Choudhry MA, Schwacha MG, Bland KI, Chaudry IH. Androstenediol administration after trauma-hemorrhage attenuates inflammatory response, reduces organ damage, and improves survival following sepsis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Aug;291(2):G260-6

- Tanriover MD, Guven GS, Sen D, Unal S, Uzun O. Epidemiology and outcome of sepsis in a tertiary-care hospital in a developing country. *Epidemiol Infect.* 2006 Apr;134(2):315-22.
- T.C Sağlık Bakanlığı sağlıkta kalite ve akreditasyon daire başkanlığı web sayfası
- Takala A, Nupponen I, Kylänpää-Bäck ML, Repo H. Markers of inflammation in sepsis. *Ann Med.* 2002;34(7-8):614-23.
- Tsujimoto H, Ono S, Majima T, Kawarabayashi N, Takayama E, Kinoshita M, Seki S, Hiraide H, Moldawer LL, Mochizuki H. Neutrophil elastase, MIP-2, and TLR-4 expression during human and experimental sepsis. *Shock.* 2005 Jan;23(1):39-44.
- Turnbull IR, Clark AT, Stromberg PE, Dixon DJ, Woolsey CA, Davis CG, Hotchkiss RS, Buchman TG, Coopersmith CM. Effects of aging on the immunopathologic response to sepsis. *Crit Care Med.* 2009 Mar;37(3):1018-23.
- Turnbull IR, Javadi P, Buchman TG, Hotchkiss RS, Karl IE, Coopersmith CM. Antibiotics improve survival in sepsis independent of injury severity but do not change mortality in mice with markedly elevated interleukin 6 levels. *Shock.* 2004 Feb;21(2):1215.
- Uzun O, Akalin HE, Hayran M, Unal S. Factors influencing prognosis in bacteremia due to gram-negative organisms: evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. *Clin Infect Dis.* 1992 Nov;15(5):866-73.
- Van der Poll T, Opal SM. Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis.* 2008 Jan;8(1):32-43.
- Venet F, Pachot A, Debard AL, Bohé J, Bienvenu J, Lepape A, Monneret G. Increased percentage of CD4+CD25+ regulatory T cells during septic shock is due to the decrease of CD4+CD25- lymphocytes. *Crit Care Med.* 2004 Nov;32(11):2329-31.
- Vincent JL, Abraham E. The last 100 years of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Feb 1;173(3):256-63.
- Wang H, Ma S. The cytokine storm and factors determining the sequence and severity of organ dysfunction in multiple organ dysfunction syndrome. *Am J Emerg Med.* 2008 Jul;26(6):711-5.
- Weighardt H, Holzmann B. Role of Toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis. *Immunobiology.* 2007;212(9-10):715-22.
- Wiens MO, Kumbakumba E, Kissoon N, Ansermino JM, Ndamira A, Larson CP. Pediatric sepsis in the developing world: challenges in defining sepsis and issues in post discharge mortality. *Clin Epidemiol.* 2012;4:319-25.
- Yen SS. Dehydroepiandrosterone sulfate and longevity: new clues for an old friend. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Jul 17;98(15):8167-9.

