



**SİÇANLARDA LPS İLE OLUŞTURULMUŞ SEPSİS  
MODELİNDE İNTERLÖKİN 6 RESEPTÖR ANTAGONİST  
TEDAVİSİNİN MAXİMUM TERAPÖTİK ETKİ ZAMAN  
ARALIĞININ BELİRLENMESİ**

**Taha TAVACI**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Zekai HALICI**

**Doktora Tezi-2022**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA LPS İLE OLUŞTURULMUŞ SEPSİS  
MODELİNDE İNTERLÖKİN 6 RESEPTÖR ANTAGONİST  
TEDAVİSİNİN MAXİMUM TERAPÖTİK ETKİ ZAMAN  
ARALIĞININ BELİRLENMESİ**

**Taha TAVACI**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı  
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Zekai HALICI**

**ERZURUM  
2022**

**T.C.**  
**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA LPS İLE OLUŞTURULMUŞ SEPSİS MODELİNDE**  
**İNERLÖKİN 6 RESEPTÖR ANTAGONİST TEDAVİSİNİN**  
**MAXİMUM TERAPÖTİK ETKİ ZAMAN ARALIĞININ**  
**BELİRLENMESİ**

**Taha TAVACI**

**Tez Savunma Tarihi** : 31.10.2022

**Tez Danışmanı** : Prof. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Elif ÇADIRCI (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Yasin BAYIR (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Muhammed YAYLA (Kafkas Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Damla BİNNETOĞLU (Kafkas Üniversitesi)

**Onay**

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

**Prof. Dr. Elif ÇADIRCI**  
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi**  
**ERZURUM - 2022**

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR .....</b>	<b>IX</b>
<b>ÖZET .....</b>	<b>X</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XI</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>XII</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</b>	<b>XVI</b>
<b>TABLolar DİZİNİ.....</b>	<b>XIX</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>20</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>26</b>
2.1. Sepsis ve Tanımı.....	26
2.2. Sepsis Tanımlarının ve Tanılarının Gelişimi.....	26
2.3. Sepsis Epidemiyolojisi.....	27
2.4. Sepsis Etiyolojisi.....	29
2.5. Sepsisin Klinik Özellikleri.....	29
2.6. Sepsis Patofizyolojisi.....	30
2.6.1. Sepsiste Bozulmuş Homeostaz.....	31
2.6.2. Sepsiste Enflamasyon İmbalansı.....	32
2.6.3. Sepsiste İmmün Disfonksiyon.....	33
2.6.4. Sepsiste Pro-enflamatuvar Yanıtlar.....	34
2.6.4.1. Sepsiste Proinflamatuvar Mekanizma.....	36
2.6.5. Sepsisin İmmünoşüpresif Fazı.....	39
2.6.5.1. Sepsiste Anti-enflamatuvar Mekanizma.....	41
2.6.6. Sepsiste Sitokinler.....	43
2.6.7. Sepsiste Sitokinlerin Hedeflenmesi.....	45
2.6.8. Sepsiste Organ Disfonksiyonları.....	47

2.6.9. Sepsisli Hasta Niçin Ölüyor? .....	50
2.7. Sepsise Tedavisel Yaklaşım.....	51
2.7.1. Tedavi Yöntemleri .....	51
2.7.1.1. Sepsiste İmmüno-terapiler .....	52
2.8. IL-6 .....	54
2.8.1. IL-6 Sentezinin Düzenleyici Mekanizması.....	56
2.8.2. IL-6'nın Enflamasyon ve İmmünite Üzerine Biyolojik Etkisi .....	57
2.8.3. IL-6'nın Doğal Bağışıklıktaki Pro-enflamatuvar ve Anti-enflamatuvar Özellikleri .....	58
2.8.4. Adaptif İmmünite Üzerine Olan Düzenleyici Etkisi.....	59
2.8.5. IL-6 Reseptör Kompleksi.....	60
2.8.6. IL-6 Reseptörü Aracılı Sinyalizasyon Sistemi.....	61
2.8.7. IL-6 ve Hastalıklar .....	62
2.8.7.1. IL-6 ve Sepsis .....	63
2.8.8. İmmünoterapide IL-6 Blokajı .....	64
2.8.9. IL-6 İnhibisyonunun Güvenliği .....	65
2.9. Tosilizumab .....	67
2.9.1. Tosilizumab'ın Preklinik Etkinlik Çalışmaları .....	68
2.9.2. Tosilizumab'ın Uzun Dönem Etkinliği ve Güvenliği.....	68
2.9.3. Tosilizumab'ın Yan Etkileri .....	69
2.10. Deneysel Sepsis Modelleri.....	69
2.10.1. LPS ile İndüklenen Sepsis Modeli.....	71
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>73</b>
3.1. Deney Hayvanları .....	73
3.2. Deneysel Tasarım ve Deney Gruplarının Oluşturulması.....	73

3.3. LPS ile İndüklenmiş Sepsis Modeli.....	76
3.4. IL-6 Sitokin Salınım Kinetiği Tespit Çalışması .....	76
3.5. Korelasyon Testleri.....	77
3.6. Tosilizumab Tedavi Grupları Deney Metodu .....	77
3.7. Sağkalım İzlem Çalışması .....	78
3.8. Moleküler Analizler .....	78
3.8.1. ELISA Analizleri .....	78
3.8.1.1. IL-6 Sitokin Salınım Kinetiği Çalışması ELISA Analizi .....	78
3.8.1.2. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku IL-1 $\beta$ Seviyesi ELISA Ölçüm Analizi.....	79
3.8.1.3. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku IL-6 Seviyesi ELISA Ölçüm Analizi.....	79
3.8.1.4. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku IL-10 Seviyesi ELISA Ölçüm Analizi.....	80
3.8.1.5. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku TNF- $\alpha$ Seviyesi ELISA Ölçüm Analizi.....	80
3.8.1.6. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku NF $\kappa$ B-p65 Seviyesi ELISA Ölçüm Analizi .....	81
3.9. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analizler .....	82
3.9.1. Histopatolojik Analizler.....	82
3.9.1.1. Akciğer ve Böbrek Dokuları Zamana Bağlı Histopatolojik Değişim Analizi ...	82
3.9.1.2. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Dokuları Histopatoloji Analizi .....	82
3.9.2 İmmünohistokimyasal Yöntem.....	82

3.9.2.1. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Dokuları İmmünohistokimyasal Analizi.....	82
3.10. İstatistiksel Yöntem .....	83
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>85</b>
4.1. IL-6 Sitokin Salınım Kinetiği Tespit Sonuçları.....	85
4.2. LPS ile Sepsis İndüklenmiş Sıçanlarda 24 Saatlik Sepsis Sürecindeki Akciğer ve Böbrek Dokuları Histopatoloji Bulguları .....	86
4.2.1. LPS ile Sepsis İndüklenmiş Sıçanlarda 24 Saatlik Sepsis Sürecindeki Akciğer Dokusu Histopatoloji Bulguları .....	86
4.2.2. LPS ile Sepsis İndüklenmiş Sıçanlarda 24 Saatlik Sepsis Sürecindeki Böbrek Histopatolojisi Bulguları.....	91
4.3. Korelasyon Sonuçları.....	96
4.3.1. Sepsiste Sitokin Seviyeleri ve Organ Hasarı Sonuçlarının Korelasyonu .....	96
4.4. Tosilizumab Tedavi Grupları Histopatoloji ve İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları .....	101
4.4.1. Tosilizumab Tedavi Grupları Histopatoloji Bulguları.....	101
4.4.2. Tosilizumab Tedavi Grupları İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları .....	104
4.5. Tosilizumab Tedavi Çalışması Akciğer ve Böbrek Dokusu ELISA Bulguları .....	118
4.5.1. Tosilizumab Tedavi Çalışması Akciğer Dokusu ELISA Bulguları.....	118
4.5.1.1 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda IL-1 $\beta$ Üzerine Olan Etkileri....	118
4.5.1.2 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda IL-6 Üzerine Olan Etkileri.....	119
4.5.1.3 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda IL-10 Üzerine Olan Etkileri....	120
4.5.1.4 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda NF $\kappa$ B-p65 Üzerine Olan Etkileri .....	121
4.5.1.5 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda TNF- $\alpha$ Üzerine Olan Etkileri..	123

4.5.2. Tosilizumab Tedavi Çalışması Böbrek Dokusu ELISA Bulguları.....	124
4.5.2.1. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda IL-1 $\beta$ Üzerine Olan Etkileri ....	124
4.5.2.2. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda IL-6 Üzerine Olan Etkileri .....	125
4.5.2.3. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda IL-10 Üzerine Olan Etkileri ....	126
4.5.2.4. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda NF $\kappa$ B-p65 Üzerine Olan Etkileri .....	127
4.5.2.5. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda TNF- $\alpha$ Üzerine Olan Etkileri ..	128
4.6. Sağkalım İzlem Çalışması Bulguları .....	129
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>133</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>146</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>148</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>181</b>
<b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>181</b>
<b>EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU .....</b>	<b>182</b>
<b>EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU .....</b>	<b>183</b>

## TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Zekai HALICI'ya en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Destekleri ile tezime değer katan Anabilim Dalı Başkanımız ve Enstitü Müdürümüz sayın Prof. Dr. Elif ÇADIRCI'ya; desteklerini esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Yasin BAYIR'a; değerli hocam sayın Prof. Dr. Abdülmecit ALBAYRAK'a; tez kapsamında histopatolojik yöntemleri yapan sayın Doç. Dr. Mustafa ÖZKARACA'ya, tezimin istatistiksel değerlendirmesini yapan sayın Dr. Öğr. Üyesi Kamber KAŐALI'ye; bu çalışmayı TDK-2021-9459 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne; çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Cihad ÖZÇELİK, Hamza HALICI ve Nurullah AKGÜN'e; dostlukları ile moral ve motivasyon kaynağım olan Yusuf Kenan KARTAL, Hamza ARSLAN, Mesud ÇINAR, Hasan Őamil TETİK ve Zekai DEMİRBAĞ'a; yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen anneme, babama ve eşime; bilhassa bu mesleği sevmemde ve seçmemde nc olan ellerini bir an olsun üzerimden çekmeyen kıymetli büyüklerime teşekkürü borç bilirim.

**Taha TAVACI**

## ÖZET

### Sıçanlarda LPS ile Oluşturulmuş Sepsis Modelinde İnterlökin 6 Reseptör Antagonist Tedavisinin Maximum Terapötik Etki Zaman Aralığının Belirlenmesi

**Amaç:** Çalışmamızda sepsis tedavisinin; sitokin-zaman profili ve organ hasarı-zaman profilinin üzerine dikkat çekilerek immün sistemimizin enflamasyon homestazını ve immün davranışlarını anlayarak uygun zamanlama ile uygulanmasını amaçladık.

**Materyal ve Metot:** Çalışmamız üç ana çalışma şeklinde yürütüldü. Birinci aşamada sepsisin IL-6 seviyesi ve akciğer ve böbrek organ hasarları üzerine olan etkisinin zamanla ilişkisi; kan sitokin seviyesi ELISA yöntemi ile ölçülerek ve akciğer-böbrek organ hasarları ise hematoksilen boyama yöntemi ile histopatolojik olarak incelendi. İkinci aşamada seçmiş olduğumuz zaman aralıklarında yapılan tedavi gruplarının akciğer ve böbrek dokularında moleküler olarak doku sitokin seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçüm yapılarak ve akciğer ve böbrek dokuları ise çeşitli immünohistokimyasal analizlerle incelendi. Son aşamada ise tedavi gruplarının sağkalım analizleri Log Rank Mantel Cox yöntemi ile yapıldı.

**Bulgular:** IL-6 seviyelerinin sepsisli sıçanlarda 4. saatte tepe noktasına ulaştığı ve daha sonra düşüşe geçtiği; akciğer hasarının ise 8. saatte tepe noktasına ulaştığı; böbrek hasarının ise 16. saatte tepe noktasına ulaştığı görüldü. Tedavi gruplarında ise TCZ1 grubunun sağlıklı gruba en yakın grup olduğu ve TCZ10 grubunun ise TCZ1'e grubuna yakın sonuçlar verdiği görüldü. TCZ16 grubunun ise sepsis grubuna yakın moleküler ve histopatolojik sonuçlar verdiğini gözlemlendi. Sağkalım analizinde ise TCZ10 grubunun sağlıklı gruba en yakın grup olduğunu gözlemlendi. TCZ1 ve TCZ6 grupları ise sağkalım analizi sonuçlarına göre benzer sonuçlar verdiler. TCZ8 ve TCZ 16 grupları ise sepsis grubuna yakın bir sağkalım sonucu verdi.

**Sonuç:** Tosilizumab ile yapmış olduğumuz bu çalışma göstermiştir ki tüm anti-sitokin ilaçların organ hasarı-zaman seyrine göre ve ilgili sitokinin kan seviyesi-zaman grafiğinin de incelenerek sepsis tedavisinde kullanımı oldukça önem arz etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İnterlökin-6, İnterlökin-6 Reseptörü, Lipopolisakkarit, Monoklonal Antikor, Sepsis, Tosilizumab

## ABSTRACT

### **Determination of The Maximum Therapeutic Effect Time Range of Interleukin 6 Receptor Antagonist Treatment in the LPS-Induced Sepsis Model in Rats**

**Aim:** In our study, we aimed to understand the inflammatory homestasis and immune behaviors of our immune system by attract attention to the cytokine-time profile and organ damage-time profile of sepsis treatment and to apply it with appropriate timing.

**Material and method:** Our study was carried out in three main studies. In the first stage, we examined the relationship of the effect of sepsis on IL-6 level and lung and kidney organ damage with time, by measuring the blood cytokine level by ELISA method, and histopathologically examining lung-kidney organ damage by hematoxylin staining method. In the second stage, we examined the molecular tissue cytokine levels in the lung and kidney tissues of the treatment groups at the selected time intervals by measuring the ELISA method and the lung and kidney tissues with various immunohistochemical examinations. In the last stage, we performed the survival analysis of the treatment groups with the Log rank Mantel Cox method.

**Results:** : We observed that IL-6 levels peaked at the 4th hour in rats with sepsis and then decreased, while lung damage reached its peak at the 8th hour and kidney damage reached its peak at the 16th hour. In the treatment groups, we observed that the TCZ1 group was the closest group to the healthy group and the TCZ10 group resulted close to TCZ1. We observed that the TCZ16 group gave similar molecular and histopathological results to the sepsis group. In the survival study, we observed that the TCZ10 group was closest to the healthy group. TCZ1 and TCZ6 groups followed a common course in terms of survival analysis. TCZ8 and TCZ 16 gave a survival result close to the sepsis group.

**Conclusion:** This study we have done with tocilizumab has shown that the use of all anti-cytokine drugs in the treatment of sepsis by examining the organ damage-time course and the blood level-time graph of the relevant cytokine is very important.

**Key Words:** Interleukin-6, Interleukin-6 Receptor, Lipopolysaccharide, Monoclonal Antibody, Sepsis, Tocilizumab

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AP-1</b>	: Aktivatör protein 1
<b>APC</b>	: Adenomatosis poliposis koli
<b>BSF-2</b>	: B hücresi uyarıcı faktörü-2
<b>BUN</b>	: Kan üre azotu
<b>C3a</b>	: Kompleman 3a
<b>C5a</b>	: Kompleman 5a
<b>CARS</b>	: Telafi edici anti-enflamatuvar yanıt sendromu
<b>CASP</b>	: Çıkan kolon stent peritoniti
<b>CLCF1</b>	: Kardiyotrofin benzeri sitokin faktör 1
<b>CLP</b>	: Çekal bağlama ve delme
<b>CLR</b>	: C tip lektin reseptörleri
<b>CNTF</b>	: Silier sinir trofik faktörü
<b>COVID-19</b>	: Koronavirüs Hastalığı 2019
<b>CRP</b>	: C reaktif protein
<b>CT-1</b>	: C terminal proendotelin-1
<b>DAMP</b>	: Hasar ilişkili moleküler patern
<b>DC</b>	: Dendritik hücre
<b>DIC</b>	: Dissemine intravasküler koagülasyon
<b>DMARD</b>	: Hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaç
<b>ELISA</b>	: Enzim bağlı immünsorbent ölçüm
<b>G-CSF</b>	: Granülosit koloni uyarıcı faktör
<b>HLA-DR</b>	: İnsan lökosit antijeni DR
<b>HMGB-1</b>	: Yüksek hareketli grup kutu-1
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon gama

<b>IgG</b>	: İmmünglobulin g
<b>IgM</b>	: İmmünglobulin m
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-10</b>	: İnterlökin-10
<b>IL-11</b>	: İnterlökin-11
<b>IL-12</b>	: İnterlökin-12
<b>IL-13</b>	: İnterlökin-13
<b>IL-15</b>	: İnterlökin-15
<b>IL-17</b>	: İnterlökin-17
<b>IL-2</b>	: İnterlökin-2
<b>IL-27</b>	: İnterlökin-27
<b>IL-3</b>	: İnterlökin-3
<b>IL-35</b>	: İnterlökin-35
<b>IL-39</b>	: İnterlökin-39
<b>IL-4</b>	: İnterlökin-4
<b>IL-5</b>	: İnterlökin-5
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>IL-6R</b>	: İnterlökin-6 reseptörü
<b>IL-7</b>	: İnterlökin-7
<b>IL-8</b>	: İnterlökin-8
<b>IRAK-M</b>	: İnterlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz 3
<b>IRF7</b>	: İnterferon düzenleyici faktör 7
<b>JAK</b>	: Janus kinaz
<b>LIF</b>	: Lösemi baskılayıcı faktör
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit

<b>MODS</b>	: Çoklu organ yetmezlik sendromu
<b>mRNA</b>	: Haberci RNA
<b>MS</b>	: Multipl Skleroz
<b>MSC</b>	: Mezenşimal kök hücre
<b>NET</b>	: Nötrofil hücre dışı tuzağı
<b>NF-IL-6</b>	: İnterlökin-6 nükleer faktörü
<b>NK</b>	: Doğal öldürücü hücre
<b>NLRP3</b>	: NLR ailesi pirin alanı 3
<b>PAMP</b>	: Patojen ilişkili moleküler patern
<b>PD-1</b>	: Programlanmış hücre ölümü proteini-1
<b>PD-L1</b>	: Programlanmış hücre ölümü proteini ligandı-1
<b>PIAS</b>	: Aktive STAT'ın protein inhibitörü
<b>PICS</b>	: Kalıcı enflamasyon, immünosupresyon ve katabolizma sendromu
<b>pJIA</b>	: Poliartüler juvenil idiyopatik artrit
<b>PMX-HP</b>	: Polimiksin B hemoperfüzyonu
<b>PRR</b>	: Kalıp tanıma reseptörleri
<b>RA</b>	: Romatoid artrit
<b>RANKL</b>	: NF-kB'nin reseptör aktivatörü ligandı
<b>ROS</b>	: Reaktif oksidan ürünleri
<b>rpm</b>	: Dakikadaki devir sayısı
<b>sIL-6R</b>	: Çözünür IL-6 reseptörü
<b>sJIA</b>	: Sistemik juvenil idiyopatik artrit
<b>SLPI</b>	: Salgılayıcı lökosit peptidaz inhibitörü
<b>SOCS</b>	: Sitokin sinyalleme proteinlerinin baskılayıcısı
<b>SOCS1</b>	: Sitokin sinyalleme proteinlerinin baskılayıcısı 1

<b>ST2</b>	: Çözünür interlökin 1 reseptör benzeri 1
<b>STAT3</b>	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
<b>STAT6</b>	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 6
<b>sTNFR</b>	: Çözünür tümör nekroz faktörü reseptörü
<b>TCZ</b>	: Tosilizumab
<b>TFPI</b>	: Doku Faktörü Yolu İnhibitörü
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta
<b>TH17</b>	: Yardımcı T hücresi 17
<b>TLR</b>	: Toll benzeri reseptör
<b>TNF</b>	: Tümör nekroz faktörü
<b>TOLLIP</b>	: Toll etkileşimli protein

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. IL-6 Sitokin Salınım Zaman Grafiği .....	86
Şekil 4.2. İnterstisyel Pnömoni & BALT Hiperplazisi Skoru Zaman Grafiği .....	87
Şekil 4.3. 0., 2., 4. ve 6. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi .....	88
Şekil 4.4. 8.,10. ve 12. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi .....	89
Şekil 4.5. 14.,16. ve 18. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi .....	90
Şekil 4.6. 20., 22. ve 24. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi .....	91
Şekil 4.7. Tübüler Dejenerasyon & İntertübüler Hemoraji-Zaman Grafiği .....	92
Şekil 4.8. 0., 2., 4. ve 6. saat grupları Tübüler Dejenerasyon ve İntertübüler Hemorajisi İncelemesi .....	93
Şekil 4.9. 8., 10., 12. ve 14. saat grupları Tübüler Dejenerasyon ve İntertübüler Hemorajisi İncelemesi .....	94
Şekil 4.10. 16., 18., 20., 22. ve 24. saat grupları Tübüler Dejenerasyon ve İntertübüler Hemorajisi İncelemesi .....	95
Şekil 4.11. Hiyerarşik Aglomeratif Kümeleme ve Isı Haritalı Dendrogram.....	98
Şekil 4.12. Saatlik Korelasyon İzlem Tablosu .....	98
Şekil 4.13. Spearman Korelasyon Testi.....	100
Şekil 4.14. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu Histopatoloji Bulguları ....	102
Şekil 4.15. Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu Histopatoloji Bulguları .....	104

<b>Şekil 4.16.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu JAK-2 İmmünpozitiflikleri	106
<b>Şekil 4.17.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu pJAK-2 İmmünpozitiflikleri	107
<b>Şekil 4.18.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu STAT3 İmmünpozitiflikleri	108
<b>Şekil 4.19.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu pSTAT3 İmmünpozitiflikleri	109
<b>Şekil 4.20.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu SOCS3 İmmünpozitiflikleri	110
<b>Şekil 4.21.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu JAK2 İmmünpozitiflikleri	113
<b>Şekil 4.22.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu pJAK2 İmmünpozitiflikleri	114
<b>Şekil 4.23.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu STAT3 İmmünpozitiflikleri	115
<b>Şekil 4.24.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu pSTAT3 İmmünpozitiflikleri	116
<b>Şekil 4.25.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu SOCS3 İmmünpozitiflikleri	117
<b>Şekil 4.26.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu IL-1 $\beta$ Seviyeleri.....	119
<b>Şekil 4.27.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu IL-6 Seviyeleri.....	120
<b>Şekil 4.28.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu IL-10 Seviyeleri.....	121
<b>Şekil 4.29.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu NF $\kappa$ B-p65 Seviyeleri.....	123
<b>Şekil 4.30.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu TNF- $\alpha$ Seviyeleri.....	124
<b>Şekil 4.31.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu IL-1 $\beta$ Seviyeleri.....	125

<b>Şekil 4.32.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu IL-6 Seviyeleri.....	126
<b>Şekil 4.33.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu IL-10 Seviyeleri.....	127
<b>Şekil 4.34.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu NFκB-p65 Seviyeleri.....	128
<b>Şekil 4.35.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu TNF-α Seviyeleri .....	129
<b>Şekil 4.36.</b> Sağkalım Analizi Sonuçları.....	131



## TABLULAR DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 3.1.</b> İmmünohistokimyasal Analizlerde Kullanılan Primer Antikor Listesi .....	83
<b>Tablo 4.1.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu Histopatoloji Bulguları İstatistiksel Veri Tablosu. ....	101
<b>Tablo 4.2.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu Histopatoloji Bulguları İstatistiksel Veri Tablosu. ....	103
<b>Tablo 4.3.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokuları İmmünohistokimyasal Boyama İstatistiksel Veri Tablosu .....	105
<b>Tablo 4.4.</b> Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokuları İmmünohistokimyasal Boyama İstatistiksel Veri Tablosu .....	111
<b>Tablo 4.5.</b> Sağkalım Analizi İstatistiksel Veri Tablosu .....	131
<b>Tablo 4.6.</b> Sağkalım Analizi Grupları Tahmini Yaşam Süresi Tablosu .....	132

# 1. GİRİŞ

1000 yıl kadar önce “ateşle birlikte kan ve dokuların çürümesi” olarak ifade edilen sepsis tanımı,<sup>1</sup> 2016’da gerçekleştirilen Sepsis ve Septik Şok için Üçüncü Uluslararası Konsensüs Tanımları sonucunda son ve güncel halini almıştır.<sup>2</sup> 2016 konsensüs tanımlarına göre sepsis; enfeksiyona karşı düzensiz konak yanıtının neden olduğu yaşamı tehdit eden bir organ disfonksiyonudur.<sup>2</sup>

Sepsisin patofizyolojisi enflamasyon, immünsüpresyon, endotelyal bariyer disfonksiyonu, koagülasyon bozuklukları, genetik faktörler, organ yetmezlikleri-çoklu organ yetmezlikleri gibi ana konular etrafında geniş bir şekilde tartışılmıştır.<sup>3,4</sup>

Enflamasyon, doğal immünitinin patojeni bulabilmesi ve onu yok edebilmesi için bağışıklık sistemini enfeksiyon varlığına karşı uyarmada önemli bir adımdır.<sup>5</sup> Enflamasyon homeostazı varlığında, aşırı enflamasyon görülmez ve bağışıklık sistemi, gelecekteki enfeksiyonlara etkili yanıt için kendini hazırlayabilir.<sup>6</sup> Yalnız bazı şartlarda sepsis sırasında endotoksinler, virüsler ve hasar ilişkili moleküler paternler (DAMPler) gibi birçok immün sistem uyararı normal enfeksiyonlardan çok daha fazladır. Sonuç olarak immünitinin aşırı uyarımı sonucu ortaya sitokin fırtınası çıkar. Yanıttaki bu düzensizlik, ciddiyeti ne olursa olsun, sepsisi normal enfeksiyonlardan belirgin şekilde farklı kılan sayısız semptom ve bazen de geri dönüşsüz organ hasarına neden olur.<sup>7,8</sup> Ancak enflamasyon ve enflamasyona aracılık eden tüm immünite elemanları sepsiste vazgeçilmezdir. Yapılan bir çalışmada çekal ligasyon ve delme (CLP) yöntemi ile sepsis indüklenmiş normal tip fareler ve Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$  reseptörü (TNF-R) genetik olarak silinmiş fareler incelendiği zaman sepsisin erken saatlerinde normal tip farelerin TNF-R genetik olarak silinmiş farelere kıyasla korunduğu gösterilmiştir.<sup>9</sup> Çünkü sepsis başlangıcında olan güçlü enflamatuvar yanıtlar ile konak patojen istilasına karşı korunmaktadır. Bu da aslında sepsiste enflamasyon gelişiminin ne kadar önemli olduğunu

ortaya koymaktadır. Nedeva ve arkadaşlarının dediği gibi “enflamasyon gerekli bir kötülüktür”.<sup>7</sup>

Sepsis patofizyolojisinden bahsederken İnterlökin-6’dan (IL-6) özellikle bahsetmek gerekir. IL-6 bir pleiotropik sitokin olarak adlandırılır. B hücrelerinin antikor üreten hücrelere farklılaşmasına neden olan T hücresinden türetilmiş bir faktördür ve ayrıca çeşitli biyolojik aktivitelerle çok sayıda hücre tipini etkilediği bilinmektedir. Önemli bir konu da immün stimülasyon üzerine nötrofiller ve monositler veya makrofajlar gibi bağışıklık sistemi hücreleri tarafından IL-6 salgılanmasıdır. IL-6 salgılanması üzerine endotel hücreleri, daha fazla bağışıklık hücresi toplayan kemokinleri serbest bırakır ve hepatositler, akut faz proteinlerini sentezler ve salgılar.<sup>10</sup> Anahtar sitokin IL-6’nın sepsisli hastalarda ölüm oranıyla ilişkili artan seviyeleri, IL-6 sinyalinin insan sepsisinde direkt rol oynadığını ispat etmiştir.<sup>11</sup> Remick ve çalışma arkadaşları bir fare modelinde sepsis oluşumundan 6 saat sonra ölçülen IL-6 konsantrasyonlarının deneysel sepsiste ölüm oranının kesin bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir.<sup>12</sup>

Sepsisin patofizyolojisini çözme ve anlama üzerine olan ilerlemeye rağmen sepsisteki yeni ve farklı tedavilere yönelik klinik çalışmaların istenilen başarıyı elde edememesi ve sepsisli hastalarda hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesindeki kısırlık hastalığın patofizyolojik temelini yeniden düşünülmesine yol açmıştır.<sup>4, 13</sup> Sepsis ve immün sistem ilişkisinin incelenmesi ise sepsis patofizyolojisinde yeni ufuklar açmıştır.

Sepsisteki immün yanıtlar patojenin konağa girişinden hemen sonra doğal immün sistemin verdiği cevaplar ile başlar. Çoğunlukla konak immünitesi patojeni temizleyebilse de patojenin de immün sistemi alt edebildiği durumlar olmaktadır. Bunun sonucunda konak immün sisteminde birbirine tamamen zıt olan aşırı enflamasyon ve immünsüpresyon gibi heterojenik immün cevaplar meydana gelmektedir.<sup>1, 4</sup> Sepsiste konak bağışıklığı tartışmaları sonucunda; geleneksel olarak, sepsise karşı konakçı immün

yanıtının, birkaç gün içinde daha uzun süreli immünoşpresif faza dönüşen bir başlangıç hiper-enflamatuvar faz ile karakterize edildiği düşüncesinin<sup>14, 15</sup> yanı sıra sepsiste hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar yanıtların erken ve aynı anda meydana geldiğini savunan<sup>16, 17</sup> sepsisin doğal immün sistem tarafından yönlendirilen, organ disfonksiyonu ve organ yetmezliği ile sonuçlanan, uzun süreli ve azalmayan bir enflamasyon olduğu paradigması da güçlenmiştir.<sup>13, 18</sup>

Sepsisteki patofizyolojisinde immün sistemin her geçen gün çok daha fazla ilgi çekmesi aynı zamanda sepsiste immünoterapi ile tedavi çalışmalarının gelişmesini sağlamıştır.<sup>19, 20</sup> Kanserin ve sepsisin aslında immün sistemde birçok ortak yolak kullanması ve kanserde yeni immünoterapötiklerin dikkate değer başarısı, sepsiste bu yeni yaklaşımın potansiyelini vurgulamaktadır<sup>13</sup>. Sepsis tedavisinde hasta konak yanıtına karşı nasıl müdahale edilmesi gerektiği tartışmalıdır.<sup>4</sup> Çünkü sepsis, hem aşırı enflamasyonun görüldüğu fazı ile hem anti-enflamatuvar fazı ile bimodal patern gösteren bir hastalıktır.<sup>21</sup> Anti-enflamatuvar ajanları test eden birçok klinik sepsis araştırması, aşırı enflamatuvar yanıtın spesifik bileşenlerinin inhibisyonunun, klinik çalışmalara katılan hastalarda sonucu değiştirmediğini göstermiştir.<sup>22</sup> Bazı çalışmalarda ise sepsisli hastalarda bozulmuş immüniteyi eski haline getirmek ve böylece nazokomiyal sekonder enfeksiyon insidansını ve geç sepsis mortalitesini azaltmak için bağışıklık uyarıcılarının kullanımını savunmaktadır.<sup>23, 24</sup>

İyileştirilmiş tedavi protokolleri, çoğu hastanın ilk hiper-enflamatuvar fazdan sağ çıkmasına ve uzun süreli bir immünoşpresif faza girmesine neden olmuştur.<sup>15, 25, 26</sup> İmmünoşpresif fazdaki ölümler, tipik olarak, birincil enfeksiyonun kontrol edilememesinden veya sıklıkla fırsatçı patojenlerle birlikte, hastane kaynaklı ikincil enfeksiyonların edinilmesinden kaynaklanmaktadır.<sup>13</sup> Sepsisteki immünoşpresyona ve immünoşpresyonun sonuçlarına karşı tedaviler geliştirmeyi amaçlayan araştırmacılar

İnterlökin 7 (IL-7) tedavisi, programlanmış hücre ölümü proteini 1 (PD-1) ve programlanmış hücre ölümü proteini ligandı 1 (PD-L1) antikoru tedavisi ile oldukça umut verici sonuçlar almışlardır.<sup>19, 27</sup>

Tosilizumab (TCZ) soluble ve zara bağlı IL-6 reseptörlerine yönelik immüoglobulin G1k alt sınıfının rekombinant insanlaştırılmış, anti-insan monoklonal antikorudur.<sup>28</sup> TCZ, IL-6 reseptörünün (IL-6R) hem çözünür hem de zara bağlı formları ile rekabet ederek bu sitokinin pro-enflamatuvar aktivitesini azaltır.<sup>29</sup> TCZ'nin sepsisteki enflamasyonu azalttığı, sepsis ilişkili böbrek hasarını azalttığı, ciddi akut pankreatiti ve eşlik eden akut akciğer hasarını da azalttığı hayvan çalışmalarında gösterilmiştir.<sup>30, 31</sup>

TCZ özellikle Koronavirüs Hastalığı 2019 (COVID-19) pandemisinde sitokin salınım sendromuna giren ve ağır pnömonili hastalarda kullanılmıştır.<sup>32, 33</sup> Yapılan meta-analiz çalışmaları incelendiğinde bazı araştırmacılar COVID-19'da TCZ ve kontrol grupları arasında tüm nedenlere bağlı mortalite sonuçlarının benzer olduğunu, yoğun bakım ünitesine kabul riskinin benzer olduğunu, mekanik ventilasyon gereksiniminin benzer olduğunu söylemişlerdir.<sup>34</sup> 15000 COVID-19 hastasını kapsayan bir çalışmada ise TCZ'nin etkili olmadığını öne sürülmüştür.<sup>35</sup> RECOVERY isimli çalışmada ise şiddetli COVID-19 hastalığı ile hastaneye yatırılan hastalar için TCZ tedavisinin mortaliteyi azalttığı, hastaneden başarılı bir şekilde taburcu olma şansını artırdığı ve invaziv mekanik ventilasyon gerektirme olasılığını azalttığı gösterilmiştir.<sup>36</sup> Yapılan başka bir çalışmada da mekanik ventilasyon ihtiyacı COVID-19'lu hastaları kapsayan bir kohort çalışmasında TCZ daha yüksek süperenfeksiyon oluşumuna rağmen daha iyi sağkalım ile ilişkilendirilmiştir.<sup>37</sup>

Yapılan meta-analiz çalışmaları incelendiğinde TCZ kullanımının doz ve rejim olarak benzer olmasına rağmen sonuçların birbirinden oldukça farklı olduğu görülmektedir. Bu duruma birçok sebep yol açabilir. Bu sebepler arasında yaş, cinsiyet,

ırk ve komorbidite farklılıkları sayılabilir.<sup>38</sup> Ancak burada özellikle değinmek istediğimiz bir parametre var; ‘tedavinin hastalık seyrine göre zamanlanması’.

Bir ilacın doğru kullanımı uygun hasta seçimi ve uygun zamanlamayı gerektirmektedir.<sup>39</sup> TCZ özelinde tartışacak olursak TCZ’nin erken kullanımı sonucu, sepsis sürecinde patojenin hâlâ çoğalırken adaptif bir bağışıklık tepkisinin etkinliğini azaltacağını anlıyoruz. Öte yandan, çok geç bir enjeksiyon, hiper-enflamasyona bağlı hücresel hasarın gelişimini değiştirmez ve hatta enflamasyon dengesini hastanın aleyhine çevirebilir. Bu nedenle özelde TCZ’nin genelde ise tüm anti-sitokin ilaçların doğru kullanım penceresinin bulunmasını gerektirmektedir. Bu konuya bilim adamları COVID-19 pandemisi sürecinde de değinmişlerdir ancak gerekli araştırmalar yeterince yapılmamıştır.<sup>40</sup>

Sepsis ve ilişkili immün yanıtların her geçen gün daha net gösterilmesi; immün sistem ile ilgili bilinmeyen her sorunun aydınlatılmaya başlaması ile birlikte sepsis tedavisinde kullanılabilecek potansiyel ilaçların sayısı ve kullanımını artmakta olup bu aday ilaçların da en uygun şekilde kullanılması şarttır. Sepsiste artan mortalite ve tedavi maliyetleri düşünüldüğünde tedavileri etkin ve verimli kullanmanın önemi daha da artmaktadır. Bu sebeple sepsis tedavisinde kullanılan bütün ilaçların aslında sepsisin klinik seyri ile beraber immün sistemin reflekslerini de hesaba katarak uygun bir zamanlamayla verilmesi şüphesiz tedavilerin etkinliğini arttıracaktır. Aksi halde enflamasyon homeostazının bozulup hastalarda farklı klinik seyirlerin de görülmesi işten bile değildir.

Hipotezimizdeki ana amacımız sepsis sürecinde sitokinlerin zamana bağlı değişiminin ve organ hasarlarının zamana bağlı değişimlerinin incelenerek; immün sistemimizin enflamasyon homeostazını ve immün davranışlarını anlayarak uygun zamanlama ile tedavi müdahalesini desteklemektir. Bunun yanında hipotezimiz ayrıca

sepsis indüksiyonundan sonraki farklı zaman dilimlerinde ve bağlantılı sitokin seviyelerinde uygulanan anti-sitokin tedavilerinin sonuçlarını inceleyerek; sepsisteki tedavi zamanlamasının önemine dikkat çekmek, sepsisteki tedavi zamanlamasının hastalığın seyrine göre uygulanmasını öncelemek, sepsisin aşırı enflamatuvar fazına müdahalenin erken veya ilk fırsatta değil en uygun zamanlama ile yapılması gerektiğini gösterebilmek, aynı doz ve aynı ilaçlarla farklı zaman dilimlerinde yapılan tedavinin mortalite ve sağkalım üzerine olan etkisini araştırmak, maliyetleri yüksek olan ilaçlar olan anti-sitokin ilaçların hem efektif bir şekilde hem de ekonomik bir şekilde kullanılmasını sağlamakla farmakoekonomik fayda sağlayabilmek üzerine bina edilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sepsis ve Tanımı

Sepsis, enfeksiyona karşı düzensiz konak yanıtının neden olduğu yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu olmakla beraber; fizyolojik, patolojik ve biyokimyasal anormallikleri içeren bir sendrom olarak tanımlanır.<sup>41, 42</sup> M.Ö. dördüncü yüzyılda, Hipokrat sepsis terimini önermiştir ve sepsisi organik maddenin bir çürüme veya ayrışma süreci olarak tanımlamıştır.<sup>43,44</sup> 1914'te ise Schottmueller, sepsisin, kan dolaşımına giren ve aşırı sistemik enflamasyon a neden olan patojenik mikroorganizmalar tarafından ortaya çıkarılan bir tür konak sistemi yanıtı olduğunu keşfetti.<sup>45</sup>

Son yıllarda, çok sayıda tıbbi çalışma, septisemi, sepsis, toksemi, bakteriyemi ve endotoksemi de dahil olmak üzere sepsis tanımları sunmuştur<sup>42</sup>. Septik şok, özellikle derin dolaşım, hücrel ve metabolik anormalliklerin, tek başına sepsisten daha fazla ölüm riski ile ilişkili olduğu bir sepsisin alt kümesi olarak tanımlanmaktadır.<sup>42</sup> 11 milyon bağlantılı ölümle sepsis, tüm küresel ölümlerin %19,7'sine sebep olmakla beraber büyük bir sağlık sorunu oluşturmaktadır.<sup>46</sup> Sepsis, yoğun bakım ünitelerinde önde gelen ölüm nedenlerindedir.<sup>47</sup> Bununla birlikte, yaşlı hastalarda sepsis gelişme olasılığı ve mortalite oranı daha yüksektir.<sup>48</sup> Bildirilen sepsis insidansı, özellikle nüfus yaşlandıkça ve daha fazla girişimsel prosedürler uygulandıkça artmaktadır.<sup>49</sup> Hayatta kalanlar genellikle sosyal etkileri olan uzun vadeli psikolojik, fiziksel ve bilişsel engellere sahiptir.<sup>50,51</sup>

### 2.2. Sepsis Tanımlarının ve Tanılarının Gelişimi

Klinisyenlerin sepsise yaklaşımını güçlendirmek, sepsisi erken aşamada teşhis etmek ve hastalığı etkin bir şekilde tedavi etmek için uluslararası akademik topluluk, sepsis tanımını ve tanısını üç kez gözden geçirmiş ve güncellemiştir.<sup>41</sup>

**Sepsis 1:** 1991'de Amerikan Göğüs Hekimleri Koleji (ACCP) ve Tıbbi Yoğun Bakım Derneği (SCCM) tarafından sepsisi uluslararası olarak tanımlamak için bir

konsensus konferansı düzenledi; bu konferansta sepsis, şiddetli sepsis, septik şok ve çoklu organ disfonksiyon sendromu tartışıldı. Sepsisin sistemik bir enflamatuvar yanıt sendromunun (SIRS) sonucu olduğunu öne sürüldü. Tanımlar sayesinde sepsis tanısında artışa katkıda bulunulmuş ve dolayısıyla tedavide iyileşme sağlanılmıştır.<sup>52</sup>

**Sepsis 2:** 2001 yılında Avrupa'dan ve Amerika'dan birçok uluslararası dernek sepsisi yeniden tanımlamak için ikinci bir konsensus konferansı düzenlendi. Daha kapsamlı bir tanı kriterleri listesi sağlanmış olsa da kanıt eksikliği nedeniyle herhangi bir alternatif tanı sunumu olmadı ve bu da tanımların 15 yıl boyunca yaklaşık olarak aynı kalmasına neden oldu<sup>53</sup>. Ek olarak, yatkınlık, enfeksiyon (veya hakaret), tepki ve organ disfonksiyonu olan PIRO konsepti de önerildi. Bu konsept hastanın temel değerlendirmesini, sepsise katkıda bulunan faktörleri ve bunların enfeksiyona ve tedaviye yanıtını dahil ederek sepsis riskini değerlendirmek ve prognozu tahmin etmek için kullanılan bir evreleme sistemidir.<sup>54</sup>

**Sepsis 3:** Sepsisin patofizyolojisi, yönetimi ve epidemiyolojisine ilişkin yaşanan ilerlemeler ile birlikte sepsis tanımlarının 2016'da yeniden incelenmesi sağlanmıştır.<sup>55</sup> 2016 konsorsiyumu tarafından ana hatlarıyla belirtildiği üzere, sepsis "bir enfeksiyona düzensiz konak yanıtının neden olduğu yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu" olarak tanımlanmıştır. Septik şok, "altta yatan dolaşım ve hücrel metabolik anormalliklerin mortaliteyi önemli ölçüde artıracak kadar derin olduğu bir sepsis alt kümesi" olarak kabul edilmiştir. Şiddetli sepsis kavramı kaldırılmıştır.<sup>42</sup>

### **2.3. Sepsis Epidemiyolojisi**

Yüksek mortalite ile ilişkili olmasına rağmen, sepsisin küresel yüküne ilişkin kapsamlı epidemiyolojik verilerin eksikliği göze çarpmaktadır. Refah seviyesi yüksek ülkelerden alınan veriler ile her yıl dünya çapında 31,5 milyon sepsis vakasının meydana geldiği ve potansiyel olarak yılda 5,3 milyon ölümlerle sonuçlandığı bilinmektedir.<sup>56</sup> Bu

rakamlar tahmini verileri ifade etmektedir çünkü düşük ve orta gelirli ülkelerde sepsisin insidansı ve mortalitesi hakkında bilgi, yetersiz veri ve bu bölgelerde nüfus düzeyinde tahminler üretmenin zorluğu nedeniyle gerçek sepsis vakalarının sayısı net olarak bilinmemektedir.<sup>57, 58</sup> Dünya Sağlık Örgütü ve Dünya Bankası tarafından yayınlanan ve dünyadaki en önemli hastalıkların insidansını, mortalitesini ve risk faktörlerini izleyen Küresel Hastalık Yüklü raporunda da sepsis izlenmemektedir.<sup>59</sup> HIV, nontifooid salmonella ve Streptococcus pneumoniae gibi artan sepsis ve septisemi riski ile ilişkili bulaşıcı hastalıkların yüksek prevalansı göz önüne alındığında, bu hastalıklardan etkilenen bölgelerde önemli bir sepsis yükü beklenmelidir.<sup>60, 61</sup>

Yüksek gelirli ülkelerde yapılan çağdaş epidemiyolojik araştırmalar, 2003'te Avustralya'da 100.000 kişide 194'ten 2006'da Amerika Birleşik Devletleri'nde 100.000 kişide 580'e kadar değişen oranlarda hastanede tedavi edilmiş sepsis hastası olduğunu ve sepsis insidansının yüksek olduğunu göstermektedir.<sup>62, 63</sup> Almanya'da, 2007 ve 2013 yılları arasında hastanede tedavi edilen sepsis vakalarının insidansının 100.000 kişi başına 256 vakadan 335 vakaya yükseldiği görülmüştür.<sup>64</sup> Ayrıca, yüksek gelirli ülkeler için, birkaç ileriye dönük ve geriye dönük epidemiyolojik çalışma, sepsisin insidansı, nokta prevalansı, periyot prevalansı ve mortalitesi hakkında veriler sunmuştur. Bu raporlar, sonuçlarını nüfus düzeyine göre tahmin etmiştir; birçoğu sepsis insidansında dramatik artışlar ön görmüştür.<sup>65, 66</sup> İdari veri tabanları aracılığıyla tanımlanan sepsis vakalarının çizelgeye dayalı klinik doğrulaması, sıklıkla ileriye dönük veya geriye dönük araştırmalarda gözlemlenenden birkaç kat daha yüksek insidans oranlarını ortaya çıkarmıştır.<sup>65</sup> Buna karşılık, diğer çalışmalar, hastanelerden alınan idari verilerde septisemi, sepsis ve şiddetli sepsisin doğru kodlanmayabileceğini veya gözden kaçırılabilirliğini ileri sürmüştür.<sup>67, 68</sup> Buna göre, özellikle sepsis daha az şiddetli olduğunda, kodlamanın doğruluğu konusunda devam eden bir tartışma vardır.<sup>69</sup> Ayrıca,

bu gözlemsel çalışmalara yalnızca hastanede yatan hastalar dahil edilirken, önemli sayıda hasta hastane ortamı dışında sepsis yaşamaktadır.<sup>70</sup> Bu nedenle, yüksek gelirli ülkelerden gelen son epidemiyolojik verilerin sepsisin gerçek yükünü karşılayamayacağına dair endişeler bulunmaktadır.<sup>71</sup>

#### **2.4. Sepsis Etiyolojisi**

Pulmoner enfeksiyonlar, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, genitoüriner sistem enfeksiyonları ve primer bakteriyemiler sepsis vakalarının %80'inden fazlasını oluşturmaktadır. Pnömoni, bakteriyemi ve çoklu bölge enfeksiyonunun sepsisteki oranları zamanla artarken, gastrointestinal sistem enfeksiyonları değişmeden kalmış ve genitoüriner enfeksiyonların oranı zamanla azalmıştır.<sup>66, 72, 73</sup> Gram-negatif sepsis oluşumu 2000'li yıllarda %25-30'a kadar düşmüştür. Gram-pozitif ve polimikrobiyal enfeksiyonlar sırasıyla vakaların %30-50'sini ve %25'ini oluşturmaktadır. Çoklu ilaca dirençli bakteri ve mantarların artık vakaların yaklaşık %25'ine neden olması endişe vericidir. Virüsler ve parazitler vakaların %2-4'ünde tanımlanır, ancak sıklıkları hafife alınabilir. Son olarak, kültürler vakaların yaklaşık %30'unda, özellikle de toplum kökenli sepsisli ve hastaneye yatmadan önce antibiyotiklerle tedavi edilen hastalarda negatiftir.<sup>74</sup>

#### **2.5. Sepsisin Klinik Özellikleri**

Sepsisin erken klinik belirtileri belirsiz olması ve teşhis edilmesinin zorluğundan dolayı yüksek bir şüphe indeksi çok önemlidir. Genel olarak bir hasta sepsisin en yaygın prezentasyonu olan ateş ile başvurabilir. Bununla birlikte, yaşamın uç noktalarındaki hastalar (erken ve geç) ve komorbit durumları, kronik alkol kötüye kullanımı veya üremisi olan hastalarda, sepsis kaynaklı hipotermi ve ateş yokluğu olması muhtemeldir.<sup>75</sup>

Sepsisin gastrointestinal sistemdeki klinik belirtileri karın ağrısı, kusma, kanlı veya kansız diyare, distansiyon, rebound, defans, azalmış bağırsak sesleri ve üst gastrointestinal sistem kan kaybını içermektedir. Sepsisin erken klinik prezentasyonları

arasında taşikardi, takipne, sıcak ve kuru ekstremiteler, huzursuzluk, hafif konfüzyon, oligüri ve yüksek kalp debisi yer alır. Diğer özellikler, salınan mediatörlerin vazodilatör etkisinden dolayı düşük sistemik vasküler direnci içerir. Bununla birlikte, sepsisin erken evrelerinde arteriyel kan basıncı normal olabilir veya biraz düşebilir. Geç sepsisin klinik özellikleri bilinç düzeyinde azalma, koma, belirgin olarak azalmış idrar çıkışı, takipne, taşikardi, hipotansiyon, azalmış kardiyak atım volümü ve ekstremitelerde soğukluğu içerir. Sepsis tanısında yapılan araştırmalar serum laktat, tam kan sayımı, kan kültürü, üre, elektrolitler, kreatinin, C-reaktif protein (CRP), prokalsitonin ve karaciğer fonksiyon testlerini içerir. Şüpheli sepsisten sonraki bir saat içinde yeterli antibiyotik uygulaması, hastaların sağkalımını arttırmada çok önemlidir.<sup>76</sup> Bu "altın saat" fırsatı kaçırıldığında, antibiyotik uygulamasının her saat gecikmesi, hasta sağkalımını yaklaşık %8 oranında azaltır.<sup>77</sup> Sepsiste prognoz erken tanı, hızlı tanı, uygun antibiyotiklerin erken uygulanması ve şok durumuna erken müdahale edilmiş olmasına göre şekillenmektedir.

## **2.6. Sepsis Patofizyolojisi**

Sepsis, yalnızca sistemik bir enflamatuvar yanıt veya bağışıklık bozukluğu süreci değildir, daha çok vücuttaki birçok organın işlevindeki değişiklikleri içerir. Hücresel ve moleküler düzeyde, sepsisin patogenezi, bozulmuş homestaz, enflamatuvar yanıtta dengesizlik, aşırı immün yanıt, immün disfonksiyon, koagülopati ve diğer patofizyolojik süreçler dahil olmak üzere son derece karmaşıktır ve nihayetinde organ disfonksiyonuna yol açar.<sup>41</sup> Travma, yanıklar, ilaç reaksiyonları, pankreatit, doku iskemisi, tromboembolizm gibi enflamatuvar durumlardan şok ve çoklu organ yetmezliği gelişebilir. Bununla birlikte, enfeksiyonun en yaygın üç nedeni bakteriler, virüsler ve mantarlardır. Üç etmenle oluşan enfeksiyonlar benzer semptomlarla sonuçlanırlar ve benzer mekanizmalar üzerinde hareket ederler, ancak farklılıkları komplikasyonlara yol açar.<sup>78</sup>

Bakteriler, sepsisin altında yatan enfeksiyonun en yaygın nedenidir ve hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler önemli bir rol oynar. Gram-negatif bakteri prevalansı %62'de kalırken, baskın türler *Pseudomonas aeruginosa* (%20) ve *Escherichia coli* (%16)'dir<sup>78</sup>. Bununla birlikte, Yoğun Bakımda Genişletilmiş Enfeksiyon Prevalansı (EPIC II) çalışmasına göre Gram-pozitif bakteri insidansı dünya çapında %47'ye yükselmiştir ve %55 ile en çok Kuzey Amerika'da rapor edilmiştir.<sup>79, 80</sup> Gram-pozitif bakterilerin yükselişi, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a yol açan aşırı antibiyotik kullanımına bağlanmaktadır. Gram-negatif sepsis, Gram-pozitif sepsis ile karşılaştırıldığında yüksek mortalite riski taşır.<sup>78, 81</sup>

Son zamanlarda fungal sepsis insidansı %19'a yükselmiştir.<sup>82</sup> Fungal sepsis, hastane dışında nadiren bulunması, özellikle kan dolaşımı kandidiyazisinin %93'ünün hastane kaynaklı olması, bakteriyel sepsisin ise öncelikle hastaneye başvuran hastalarda bulunması nedeniyle büyük ölçüde birbirlerinden farklıdır.<sup>83, 84</sup> Ek olarak, *Candida albicans*'tan *Candida glabrata* ve *Candida krusei* gibi diğer mantarlara kayan hastane enfeksiyonlarının sayısında bir artış olmuştur.<sup>85, 86</sup>

Viral sepsis, belgelenmiş hastaların %1'inde meydana gelen vakalarla patojenler arasında en nadir görülenidir<sup>87</sup>. Viral sepsis hemen hemen her virüsten oluşabilir. Genellikle viral sepsise, Dang virüsü, İnfluenza, Herpes simpleks virüsü ve Enterovirüs neden olur.<sup>88-91</sup> COVID-19 hastalarının yaklaşık %2-5'inde septik şok ve çoklu organ yetmezliğinin klinik belirtileriyle ilişkilendirilmiştir.<sup>92</sup>

### **2.6.1. Sepsiste Bozulmuş Homeostaz**

Enfeksiyondan sonra, istilacı patojen, konakçının doğal bağışıklık sistemiyle karşılaşmaktadır ve doğal bağışıklık sistemi hücreleri, patojenle ilişkili moleküler paternleri (PAMP) bir dizi patojen tanıma reseptörleri (PRR) yoluyla tanıyarak patojenleri algılamaktadır.<sup>93</sup> Çoğu durumda, doğal bağışıklık tepkisi istilacı patojeni

ortadan kaldırır, ancak bazen patojen üstün gelir ve konak tepkisi dengesiz ve zararlı hale gelebilir. Sepsis ile hastaneye başvuran hastalarda, bağışıklık sistemi, kişiden kişiye değişen, hem aşırı enflamasyon hem de immünsüpresyon belirtileri göstererek homeostazdan iki zıt yönde uzaklaşmıştır.<sup>4</sup> Sepsis sırasında konak yanıtının yörüngesinin bilgisi sınırlıdır; immün disfonksiyonu araştıran çoğu çalışmada, ilk ölçümler yoğun bakım ünitesine kabul sırasında yapılmıştır ve bu nedenle ciddi hastalığın klinik olarak teşhisinden önce konak yanıtının yönü ve süresi hakkında fikir vermez. Sepsis sırasında, hasarla ilişkili moleküler paternlerin (DAMP) salınması nedeniyle konakçı yanıtı daha da bozulur. DAMP'lar, aynı zamanda sürekli bağışıklık aktivasyonu ve organ işlev bozukluğunu da içeren bir kısır döngüye yol açan PAMP'ları da tanıyan birçok PRR'yi aktive edebilir.<sup>94, 95</sup> Hızlı teşhis ve iyileştirilmiş terapötik ve destekleyici bakım sayesinde, sepsisli birçok hasta yoğun bakım ünitesine kabul edildikten sonraki ilk günlerde hayatta kalır ve kalıcı enflamasyon, immünosüpresyon ve katabolizma sendromu (PICS) olarak adlandırılan kritik bir hastalık geliştirir.<sup>96</sup>

### **2.6.2. Sepsiste Enflamasyon İmbalansı**

Enflamatuvar dengesizlik, sepsis patogenezinin en kritik temelini temsil eder ve tüm sepsis süreci boyunca meydana gelir ve yanıtı ortaya çıkaran patojenler arasında bakteri, mantar, parazit ve virüs gibi organizmalar bulunur. Konağın istilacı patojenlere karşı ilk akut tepkisi, tipik olarak makrofajların patojenleri fagosite etmesine ve bir dizi pro-enflamatuvar sitokin üretmesine neden olur ve bu, sitokin fırtınalarını tetikleyebilir ve doğal bağışıklık sistemini aktive edebilir.<sup>93, 97</sup> Doğal bağışıklık sisteminin aktivasyonuna, DAMP veya PAMP'ları saptayarak bağışıklık hücrelerinde bir dizi aktivasyon başlatan PRR'ler aracılık eder ve böylece enflamasyon la ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenler.<sup>98</sup> Sepsise karşı immün yanıtta, hem patojenden türetilen eksojen faktörler hem de hasarlı hücreler tarafından salınan endojen faktörler (örneğin, yüksek

mobilité grubu kutu-1 (HMGB-1) proteini), Toll benzeri reseptörler (TLR) ve C tipi lektin reseptörleri (CLR) gibi çeşitli PRR'ler ile etkileşime girebilir.<sup>99</sup> Bu olayları interlökin 1 (IL-1), IL-6, TNF- $\alpha$ , interferon düzenleyici faktör 7 (IRF7) ve adaptör protein 1 (AP-1) gibi enflamatuvar sitokinlerin üretimi takip eder.<sup>100</sup>

Enflamasyonda çoklu sinyal yolları, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz-M (IRAK-M), toll etkileşimli protein (TOLLIP), sitokin sinyalleme baskılayıcısı 1 (SOCS1), büyüme stimülasyonu eksprese edilen gen 2 (ST2) gibi birçok sitoplazmik zara bağlı proteinleri içeren ve sıkı bir şekilde kontrol edilen süreçlerdir.<sup>101</sup> İnflamazom, kaspaz-1 öncülünü aktif kaspaz-1'e evirir ve aktive edilmiş kaspaz-1, IL-1 $\beta$  ve İnterlökin-18 (IL-18) öncüllerini olgun IL-1 $\beta$  ve IL-18'i evirerek sekrete edilmesini sağlar.<sup>102</sup> PRR'ler, eksojen PAMP'lar ve endojen DAMP'lar tarafından aktive edilebilir. Endojen sepsis durumunda, karaciğer hücrelerinin bakteriyel LPS'ye bağlanan büyük miktarda HMGB-1 saldığı rapor edilmiştir. Bakteriyel endotoksin, vasküler endotel hücreler ve makrofajlar üzerinde eksprese edilen reseptörler aracılığıyla sitoplazmaya taşınır ve bu da sisteinaz kaspaz-11 aracılı hücre ölümüne yol açar ve şok, çoklu organ yetmezliği ve ölümle sonuçlanır.<sup>103, 104</sup>

### **2.6.3. Sepsiste İmmün Disfonksiyon**

Sepsisin patogenezi, lenfosit replikasyonu, programlanmış hücre ölümü/apoptoz indüksiyonu, anti-enflamatuvar moleküllerin ekspresyonunun artması ve hücre ile ilişkili yardımcı baskılayıcı reseptörler ve ligandların düzenlenmesini içermektedir.<sup>4, 105</sup> Sepsis sürecinde enflamasyon meydana geldiğinde, nötrofiller endotel hücreleri ile etkileşime girer ve kemokinler tarafından yönlendirilerek enflamasyon bölgesine göç eder, burada patojenleri tanır ve fagosite eder, çeşitli aktif faktörleri ve proteolitik enzimleri serbestleştirir ve patojenleri ortadan kaldırır.<sup>106</sup> Mononükleer hücreler ve makrofaj hücreleri, sitokinler, patojenik mikroorganizmalar, kimyasal araçlar, bağışıklık

kompleksleri vb. tarafından uyarıldığında aktive edilir ve aktive edilmiş bu hücreler fagositoza başlar ve çoklu patojenleri ve mevcut antijenleri öldürür. Farklılaştırılmış efektör T hücreleri, makrofajların aktivasyonunu teşvik eder ve dokularda hasara ve fibrozise neden olabilen büyük miktarlarda mediyatörler salgılar.<sup>107</sup> Sepsis sırasında, dalak ve lenf düğümlerindeki dendritik hücrelerin (DC) olgunlaşma süreci sepsis sırasında engellenmektedir.<sup>108</sup> Sepsis sırasında, dendritik hücre aktivasyonu ayrıca doğal bağışıklık sistemi hücrelerinin hızlı bir şekilde birikmesine neden olmaktadır. Monositler sepsis patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Sepsis hastalarında, monosit metabolizmasının kusurları, glikoliz, yağ asidi oksidasyonu ve oksidatif fosforilasyon gibi metabolik süreçlerin kapsamlı bir inhibisyonu ile karakterize edilen immünsüpresyona yol açar.<sup>109</sup>

Sepsis hastalarının büyük bir kısmı ilk sitokin fırtınası sırasında ölebilse de bu aşamada hayatta kalan hastalar, birincil enfeksiyonların temizlenememesi, ikincil fırsatçı enfeksiyonların gelişmesi ve potansiyel virüslerin yeniden aktivasyonunu içeren bir immünosupresyon fazına girebilir. Sepsis kaynaklı immünosupresyon hem doğal bağışıklığı hem de adaptif bağışıklığı içerir. Sepsis sonrası immünosupresyon, telafi edici anti-enflamatuvar yanıt sendromu olarak tanımlanmıştır ve TLR sinyal yolunun aktivasyonu ile üretilen yardımcı uyarıcı moleküller ve düzenleyici T hücrelerine dönüştürülen naive T hücreleri tarafından düzenlenmektedir.<sup>110, 111</sup>

#### **2.6.4. Sepsiste Pro-enflamatuvar Yanıtlar**

Sepsis, bir patojene karşı başlangıçtaki aşırı pro-enflamatuvar yanıt ile karakterize edilir. Sepsis patogenezinde rol oynayan pro-enflamatuvar sitokinler arasında TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , İnterlökin-12 (IL-12) ve IL-18 bulunur.<sup>112</sup> Her ne kadar kontrol altına alınamamış enflamasyonu kontrol etmek için eş zamanlı olarak artırılmış bir anti-enflamatuvar yanıt oluşturulsa da, sepsisteki erken ölümler genellikle, muhtemelen abartılı enflamatuvar

reaksiyonlar tarafından yönlendirilen kardiyovasküler kollaps ve çoklu organ disfonksiyonunun sonucu olmaktadır.<sup>4, 16</sup>

Kompleman sisteminin aktivasyonu, pıhtılaşma yolları ve endotel aktivasyonu, patojenin sistemik yayılmasını önlemek için bağışıklık hücrelerinin enfekte dokuya geçişini ve lokal mikrovasküler tıkanmayı oluşturmaktadır. Sepsiste bu tepkiler düzensiz hale gelir ve sepsisin erken aşırı pro-enflamatuvar fazında önemli bir rol oynar. Bakteriye polisakkaritler veya immünglobulin M (IgM) ve immünglobulin G (IgG) antikorları tarafından immün sistemin aktivasyonu üzerine, kompleman sistemi, güçlü pro-enflamatuvar etkilere sahip olan kompleman 3a (C3a) ve kompleman 5a (C5a) ile kompleman peptitlerini serbestleştirir. Bu etkiler, lökositlerin, endotel hücrelerinin ve trombositlerin aktivasyonunu sağlamaktadır.<sup>113</sup> Trombositler, bağışıklık hücresi aktivasyonunu ve enflamasyonu artırır, kapiller damar yataklarında vazo-okluziv trombüs oluşumunu kolaylaştırır ve doğrudan hücrelere toksik etki edebilir. Aşırı trombosit aktivasyonu muhtemelen organ hasarına katkıda bulunmaktadır.<sup>114</sup> Kompleman sistemi, hücre lizisi ile sonuçlanan bir membran saldırı kompleksinin oluşumunda da önemlidir. Kompleman aktivasyonu koruyucu bağışıklıkta çok önemlidir ancak kontrolsüz aktivasyonu dokularda hasara ve organ yetmezliğine neden olabilir.<sup>4, 115</sup>

Pıhtılaşma aktivasyonu, doku faktörü yolunun ana itici güç olduğu sepsiste ve enflamasyonda önemli bir rol oynar. Lökositler, özellikle nötrofiller, vasküler sistemde ifade edilen adezyon molekülleri tarafından toplanır. Nötrofiller, litik enzimleri, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve nitrojen ara ürünlerini serbestleştirerek sepsiste mikro dolaşım bozukluğuna ve organ yetmezliğine katkıda bulunur. Sepsiste pıhtılaşma sisteminin aşırı aktivasyonu, yaygın intravasküler koagülasyon ile ilişkilidir. Bu klinik olarak mikrovasküler ve bazen de makrovasküler tromboz ve kanama ile ilişkilidir; ikinci olarak bu durum hızlı pıhtılaşma faktörlerinin tüketiminden kaynaklanmaktadır.<sup>116</sup>

Sepsisteki abartılı enflamatuvar yanıt, endotelyumu aktive ederek, eikosanoidler ve nitrik oksit dahil olmak üzere çoklu pro- veya anti-enflamatuvar mediatörlerin salınmasına neden olur ve ayrıca endotel bariyer bütünlüğünü tehlikeye atar. Bu hücrelerin vasküler sistemden dokulara geçmesiyle birlikte lökositlerin endotel yüzeyine adezyonu artar. Bu olay sepsiste bakterilerin çoğaldığı aktif enfeksiyon alanlarında uygun bir koruyucu tepki iken enfekte olmayan dokularda da ayırım gözetmeksizin meydana gelebilir. Benzer şekilde, artan bariyer yetersizliği intravasküler proteinlerin ve plazmanın ekstrasvasküler boşluğa sızmasına neden olur. Bu sızma sayesinde kompleman, immünoglobulinler ve diğer koruyucu moleküllerin girişi ile enfekte olmuş bölgelerde fayda sağlanırken, sepsiste sıklıkla yaygın doku ödemi ve azalmış mikrovasküler perfüzyona da sebep olmaktadır.<sup>4</sup>

#### **2.6.4.1. Sepsiste Proinflamatuvar Mekanizma**

Mevcut Sepsis 3 tanımında yer alan “bir enfeksiyona karşı düzensiz konak yanıtı”, eşzamanlı dengesiz hiperenflamasyon ve immün baskılanma ile ilgilidir.<sup>42</sup> Sepsis ile ilişkili aşırı enflamasyonda rol oynayan birçok farklı hücre tipi ve mediyatör bağlantılar arasında, lökositler (nötrofiller, makrofajlar, NK hücreleri), endotelial hücreler, sitokinler, kompleman ürünleri ve koagülasyon sistemi belirgin bir şekilde öne çıkmaktadır.<sup>117</sup> Erken klinik öncesi çalışmalar, canlı bakterilerin veya bakteri ürünlerinin intravenöz uygulanmasına maruz kalan deney hayvanlarında pro-enflamatuvar sitokinlerin güçlü sistemik salınımını belirtmek için “sitokin fırtınası” terimini ortaya koymuştur; bu hayvan modelleri, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 ve IL-18 gibi pro-enflamatuvar sitokinlerin ortadan kaldırılmasının, organ hasarına ve mortaliteye karşı güçlü koruma sağladığını göstermiştir.<sup>112, 118</sup> Nötrofiller, proteazların ve reaktif oksijen türlerinin salınması yoluyla sepsiste hiperenflamasyona katkıda bulunabilir.<sup>119</sup> Nötrofiller, miyeloperoksidaz, elastaz ve katepsin G dahil olmak üzere antimikrobiyal

peptitler ve proteazlar içeren bir kromatin lifleri ağından oluşan nötrofil hücre dışı tuzakları (NET) serbest bırakabilir.<sup>119</sup> NET'ler ve histonlar, endotelial ve epitelyal hücelere doğrudan zarar verebilir ve hücesiz histonlar, fare modellerinde yüksek doz LPS veya TNF tarafından indüklenen mortalitenin yanı sıra çekal ligasyon ve delme modeli ile indüklenen sepsise aracılık eder.<sup>120</sup> Kompleman aktivasyonu, lökositlerin, endotel hücrelerinin ve trombositlerin aktivasyonu dahil olmak üzere güçlü pro-enflamatuvar aktiviteler uygulayan anafilatoksinler C3a ve C5a'nın salınmasıyla sonuçlanır. Kompleman aktivasyonu, koruyucu doğal bağışıklığın hayati bir bileşeni olsa da, kontrolsüz aktivasyonu dokulara zarar verebilir ve organ yetmezliğine neden olabilir.<sup>113</sup>

Sepsiste pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu dengesiz hale gelir ve mikrovaskülatürde tromboz eğilimine neden olur. Sepsis ilişkili koagülopatinin en şiddetli tezahürü, tromboz dışında pıhtılaşma faktörleri, antikoagülan proteinler ve trombositlerin tüketimine bağlı kanama ile ilişkili olabilen yaygın damar içi pıhtılaşmadır (DIC).<sup>121</sup> Sepsisteki protrombotik durum, üç ana antikoagülan yolun, yani antitrombin, doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI) ve protein C sisteminin eşzamanlı olarak tehlikeye giren aktivitesi ile şiddetlenir.<sup>121</sup> Trombositler ayrıca hem doğrudan hücre-hücre teması (örneğin, lökositlerle kompleks oluşumu) yoluyla hem de proteazların ve diğer araçların salınımı yoluyla dolaylı olarak koagülasyona ve enflamasyona katkıda bulunmaktadır.<sup>122</sup> Sepsisle indüklenen trombosit agregasyonu fare modellerinde, NET'ler içinde in vivo olarak trombin aktivasyonu ve fibrin pıhtı oluşumu meydana geldiği ve bunun da sepsis kaynaklı intravasküler pıhtılaşmanın gelişimi için çok önemli olduğu ortaya konulmuştur.<sup>122</sup>

Normal enflamatuvar yanıt, enfeksiyon bağışıklık sistemi tarafından temizlendiğinde, enflamasyon azaldığında ve iyileşme süreci başladığından, kendi

kendini sınırlayan bir süreçtir. Bununla birlikte, şiddetli sepsisli hastalarda kronik enflamasyon sırasında, bu normal olay paterni bozulur veya kötü düzenlenir, bu da pro-enflamatuvar sitokinlerin aşırı salınımına yol açar, konağın savunmasını zorlar ve hastalar tarafından sunulan tıbbi komplikasyonlara yol açar. Bakteriyel sepsis ile bağlantılı başka bir pro-enflamatuvar sitokin IL-6'dır. IL-6'nın serum seviyeleri uzun zamandır sepsisteki hastalık şiddeti için belirteç olarak kabul edilmiştir. IL-6'nın ayrıca ateş ve akut faz tepkilerinin önemli bir aracısı olduğu gösterilmiştir. Bu sitokin ayrıca, CD4+ T hücrelerinin yeni tanımlanan T yardımcı 17 (TH17) alt kümesini ayırt etmede dönüştürücü büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve İnterlökin-21 (IL-21) ile birlikte yer alması nedeniyle son birkaç yılda kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır.<sup>123</sup> TH17 hücreleri başlangıçta multipl skleroz (MS) ve romatoid artrit (RA) gibi otoimmün hastalıklarla bağlantılıydı, ancak aynı zamanda çok sayıda bakteriyel enfeksiyonla da ilişkili olduğu gösterilmiştir. IL-17 ayrıca NK hücreler ve NK-T hücreleri gibi diğer hücre tipleri tarafından da eksprese edilir ve aksine, bu pro-enflamatuvar sitokinin, polimikrobiyal sepsisin murin modeli olan CLP'de sağkalımı azalttığı ve mortaliteyi ise arttırdığı gösterilmiştir.<sup>124</sup>

Sitokinler, pro-enflamatuvar etkilere sahip olduğu düşünülen tek molekül değildir. Kemokinler, kemotaksiyi indükleyen ve hücrelerin göçünü teşvik eden çok önemli bir başka protein sınıfıdır. Önemli bir örnek, nötrofillerin doku hasarı veya enfeksiyon bölgesine alınmasını teşvik ettiği bilinen bir kemoatraktan olan İnterlökin8'dir (IL-8).<sup>125</sup> Bazı bakteriyel virülans faktörlerinin IL-8 aktivitesini modüle edebileceği de not edilmelidir. IL-17A'nın ayrıca granülosit koloni uyarıcı faktörün (G-CSF) yukarı yönlü regülasyonu nedeniyle dolaylı kemo-atraktan özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir; bu da nötrofillerin enfeksiyon bölgesine daha fazla alınmasına ve dolayısıyla daha verimli bakteri klirensine neden olur.<sup>126</sup>

Sepsis sırasında TLR'lerin katılımını ilişkilendiren çok sayıda makale yayınlanmıştır. Birçoğu hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerden türetilen lipopeptitleri ve LPS'yi geniş ölçüde tanımları nedeniyle özellikle TLR2 ve TLR4'e odaklanır. TLR2<sup>-/-</sup> ve TLR4<sup>-/-</sup> farelerini kullanan çalışmalar, ölümcül olmayan bir polimikrobiyal sepsis modelinde bu iki reseptör aracılığıyla sinyallemenin, dalak dendritik hücre ölümünün artmasına katkıda bulunduğunu göstermiştir.<sup>127</sup> TLR sinyallemesinin zararlı etkileri, Gram-negatif Escherichia coli kaynaklı sepsiste de ortaya çıkarılmıştır.<sup>128</sup> TLR9, bakteriyel DNA'yı tanınması nedeniyle polimikrobiyal sepsiste de rol oynar. TLR9<sup>-/-</sup> fareler, CLP'ye dirençlidir ve vahşi tip kontrollere kıyasla pro-enflamatuvar sitokinlerin serum konsantrasyonları daha düşüktür. Toplamda, pro-enflamatuvar sitokinlerin ve tip I interferonların gen indüksiyonu ile sonuçlanan TLR sinyalleme kaskadının sonuçları, sepsisin hiperenflamatuvar patogeneze katkıda bulunabilir.<sup>129</sup>

#### **2.6.5. Sepsisin İmmünoşüpresif Fazı**

Sepsiste lenfosit tükenmesi ve antijen sunan hücrelerin yeniden programlanması ile karakterize edilen immünoşüpresyon da görülmektedir<sup>4</sup>. Sepsiste apoptozun bir sonucu olarak güçlü bir CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri, B hücreleri ve dendritik hücrelerin tükenmesi ve yorulması görülür.<sup>130</sup> Sepsisten ölen hastaların otopsi çalışmaları hem T hücresi tükenmesi hem de T hücresi tükenmesi belirtileri göstermektedir. Yani, dalaktan toplanan T hücreleri, bulaşıcı olmayan bir nedenle ölen hastalardan elde edilen dalak T hücrelerinden daha düşük miktarlarda TNF üretir.<sup>130</sup> Ek olarak, sepsisten ölen hastalardan toplanan CD4<sup>+</sup> T hücrelerinde PD1 ekspresyonu artmışken, makrofajlarda ve endotelial hücrelerde, T hücre fonksiyonunu tehlikeye atabilecek seviyede artmış PD-L1 ekspresyonu görülmektedir.<sup>130</sup> PD-1 PD-L1 etkileşiminin inhibe edildiği farelerde, sepsis indüklenmesinden sonra mortalite azalma gösterilmiştir; bu da T hücresi tükenmesinin

nedensel olarak zararlı bir rolü olduğunu gösterir ve PD1-PDL1 eksenini sepsiste potansiyel bir terapötik hedef olarak tanımlar<sup>131</sup>. Monosit PD-L1 ekspresyonu, septik şoklu hastalarda 28 günlük mortalitenin bağımsız bir ön belirteci olarak görülmektedir ve anti-PD-1 veya anti PD-L1 tedavileri için hasta seçiminde bir biyobelirteç olarak kullanılabilir<sup>132</sup>.

Sepsiste immünsüpresyon, kan monositlerinde insan lökosit antijeni-DR'nin (HLA-DR) azaltılmış ekspresyonu ve uyarı üzerine pro-enflamatuvar sitokinleri serbestleştirmek için monositlerin ve makrofajların azalmış kapasitesi ile karakterize edilmektedir. Ayrıca dendritik hücreler azalmış HLA-DR ekspresyonu gösterir ve sepsis sırasında artan miktarlarda İnterlökin-10 (IL-10) salıverir. Konvansiyonel ve plazmasitoid DC'ler sepsisli hastalarda artmış apoptoza yol açar ve DC'lerin apoptozunun önlenmesi, deneysel sepsiste sağkalımı artırmaktadır.<sup>133-135</sup> Gen fonksiyonunun epigenetik düzenlenmesi, sepsisli hastalarda miyeloid hücre fonksiyonunu düzenleyen önemli bir mekanizma olarak tanımlanmıştır. Transkripsiyonel düzenleme, kromatin üzerindeki gen lokuslarının transkripsiyonel olarak aktif veya sessiz durumlara düzenlenmesiyle gerçekleşir.<sup>136</sup> Sepsis sırasında epigenetik düzenleyici mekanizmaların bozulabileceğinin ve bunun bağışıklık hücrelerinin immünosupresif fenotipine katkıda bulunabileceğinin ilk göstergelerinden biri, histon modifikasyonlarının -özellikle histon H3 gibi açık kromatin işaretlerinin down regülasyonunun gözlemlendiği önemli bir çalışmadan gelmiştir.<sup>137</sup>

Doğal bağışıklığın hafıza özelliklerine sahip olmadığına dair klasik varsayımın aksine, yeni bazı literatürler, doğal bağışıklık sisteminin işlevini önceki enfeksiyonlardan veya aşılardan sonra adapte edebileceğini düşündürmektedir.<sup>138</sup> Bu çalışmalar, doğal bağışıklığın, patojenlerle veya onların ürünleriyle önceki karşılaşmalardan, eğitimli bağışıklık veya doğal bağışıklık belleği olarak bilinen bir fenomenden etkilenebileceği

hipotezine yol açmıştır. Eğitimli bağışıklık, T hücresinden bağımsız ve B hücresinden bağımsız bir mekanizma yoluyla canlı aşılardan indüklenen enfeksiyonlara karşı spesifik olmayan koruyucu etkilerin en azından bir kısmına aracılık eder.<sup>139</sup>

### **2.6.5.1. Sepsiste Anti-enflamatuvar Mekanizma**

Sepsis sırasında hastalarda gözlenen immüno-supresif durumun birçok faktörün sonucu olduğu düşünülmektedir. Bu faktörler, sitokinler, steroidler ve anti-enflamatuvar ajanların indüksiyonunu, pro-enflamatuvar uyarıların azalmasını, çözünür pro-enflamatuvar reseptörlerin daha fazla salgılanmasını ve pro-apoptotik ajanların ekspresyonunu içermektedir. Mikrobiyal enfeksiyona yanıt olarak, başlangıçta bir Th1/pro-enflamatuvar yanıtın baskın olduğu görülmektedir. Th2 sitokin sekresyonunun, enfeksiyonu takiben pro-enflamatuvar yanıtı düzenlemek ve çözmek için indüklenen bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Sepsis sırasında, Th2 yanıtının, enfeksiyonu çözmek yerine hücrel immün yanıtın düzensizliğine neden olduğuna inanılmaktadır.<sup>140</sup> Tipik olarak, Th2 immün yanıtının, birincil olarak humoral bir yanıtı uyarmaya elverişli olduğu kabul edilir ve İnterlökin 4 (IL-4), İnterlökin 5 (IL-5), IL-6, IL-10, İnterlökin 13 (IL-13) ve TGF- $\beta$  salgılanmasını içerir. Th2 yanıtının aksine, Th1 yanıtı, enfeksiyonu doğrudan temizlemek için hücreleri aktive eder ve İnterlökin 2 (IL-2) ve interferon- $\gamma$  gibi sitokinleri içerir. Önemli olarak, Th2 sitokinleri, Th1 hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve Th1 sitokinlerin salgılanmasını da inhibe ederken, bir dizi doğal immün hücre eylemini inhibe eder. Th1 sitokinlerinin bolluğu zıt etkiye sahiptir ve Th2 hücre aktivasyonunu inhibe ederek bu tepkileri birbirini dışlar hale getirir.<sup>141</sup>

IL-10, hem hastalarda hem de hayvan sepsis modellerinde yukarı regüle edildiği gösterilen güçlü bir anti-enflamatuvar sitokindir. Stimülasyonun ve/veya enflamatuvar ortamın doğasına/yoğunluğuna bağlı olarak IL-10, Th2 hücreleri, T düzenleyici hücreler, NK T hücreleri, makrofajlar, DC'ler ve bazı B lenfosit alt kümeleri dahil olmak üzere

birçok hücre tipi tarafından salgılanabilir. IL-10, monositler/makrofajlar, dendritik hücreler, nötrofiller ve T hücreleri dahil olmak üzere birçok doğuştan gelen immün/pro-enflamatuvar hücre tipi üzerinde güçlü bir baskılayıcı etkiye sahiptir.<sup>142</sup> IL-10, makrofajlar ve monositler üzerinde IL-1 reseptörlerinin ekspresyonunu inhibe ederken, çözünür TNF reseptörünün (sTNFR) ekspresyonunu da indükleyebilir.<sup>142</sup> IL-10'un septik mortalitedeki rolünü inceleyen çalışmalar biraz çelişkilidir. Hogaboom ve arkadaşları tarafından farelerde yapılan, anti-IL-10 antikorunun CLP modelinin yapılmasından önce bir ön tedavi olarak tatbik edildiği bir çalışmada, kontrol tedavisine kıyasla hayatta kalmanın azaldığını gösterilmiştir.<sup>140</sup> Bununla birlikte, bu çalışmaların bir takibi olarak yapılan çalışmalarda, IL-10 gen eksikliği olan farelerin septik mortaliteden korunduğu bulunmuştur.<sup>140</sup>

IL-4, başlıca Th2 hücreleri tarafından değil, aynı zamanda NKT hücreleri, NK hücreleri, mast hücreleri ve eozinofiller tarafından da üretilen bir sitokindir. IL-4 sadece B hücre farklılaşması için önemli değildir, aynı zamanda Th1 hücre polarizasyonunu ve farklılaşmasını inhibe ederek bir anti-enflamatuvar ajan olarak görev yapar, böylece bir Th2 immün tepkisine katkıda bulunur. Septik hastaların IL-4 plazma düzeylerini gözlemleyen çalışmalar, kontrole kıyasla sepsis sırasında IL-4'ün kanda sistemik olarak yükselmediğini göstermiştir.<sup>141</sup>

IL-13, hücrel etkilerini başlatmak için aynı sinyal molekülü olan Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 6 aktivatörünü (STAT6) kullanması bakımından IL-4'e çok benzeyen bir anti-enflamatuvar sitokindir. IL-13, IL-4'ün aynı anti-enflamatuvar işlevlerinin çoğunu paylaşır; bununla birlikte, birçok dokuda ve IL-4'ten farklı enflamatuvar/uyarıcı koşullar altında eksprese edilir ve salgılanır.<sup>143</sup> IL-13'ün telafi edici anti-enflamatuvar tepki sendromunun (CARS) ilerlemesine katkısını belirlemeye çalışan çalışmalar, CLP'yi takiben farelerde IL-13 düzeylerinin artmasına rağmen, anti-IL-13

antikor tedavisinin sağkalıma zarar verdiğini bulmuştur. Anti-IL-13 ile tedavi edilen farelerde, lökosit infiltrasyonu ve bakteri yükü azalmamıştı, bunun aksine dokulara nötrofil akışında bir artış ve buna bağlı olarak da organ hasarında bir artış gözlenmiştir.<sup>143</sup>

IL-6, septik hastalarda ve rodentlerde uygulanan sepsis modellerini takiben yüksek seviyelerde salgılanır. Pro-enflamatuvar yanıtta bir rol oynayabilmesine rağmen, kısmen TGF- $\beta$  ekspresyonu/salgısının indüklenmesi yoluyla anti-enflamatuvar yanıtta da katkıda bulunabilir.<sup>140</sup> IL-6'nın sepsis tedavisi olarak hedeflenmesi denenmiştir; Reidemann tarafından yapılan bir çalışma, CLP'ye maruz bırakılan farelerde anti-IL-6 antikoruna ile ön tedavinin ölüme karşı orta düzeyde koruma sağladığını göstermiştir. Çalışmalar ayrıca sepsis sırasında üretilen IL-6 derecesinin, septik ölüm gelişen farelerin göstergesi olabileceğini göstermiştir. Bu göz önüne alındığında, bir takip çalışması, CLP'den 6 saat sonra yüksek IL-6 indüksiyonu olan farelere anti-IL-6 uygulandığında, bu farelerin septik ölümden korunamayacağını buldu.<sup>144</sup> Bu çalışmalar, IL-6'nın septik mortaliteye katkıda bulunmada önemli olabileceğini göstermektedir, ancak IL-6'nın anti-enflamatuvar yönlerinin septik mortaliteye katkıda bulunmada önemli olup olmadığını, aynı zamanda IL-6'nın önemli olup olmadığını belirlemek için ek çalışmaların yapılması gerekmektedir.

#### **2.6.6. Sepsiste Sitokinler**

İmmün hücreler tarafından potansiyel sitotoksik faktörlerin üretimi ve salınımı, 1960'larda lenfositler tarafından üretilen "lenfotoksinin" antitümör etkilerinin keşfiyle rapor edildi.<sup>145</sup> Sitokinler, hücre sinyalizasyonu amacıyla üretilen ve salınan nispeten küçük proteinlerin geniş bir kategorisidir.<sup>146</sup> Sitokinlerin otokrin, parakrin ve endokrin aktiviteleri vardır ve immünomodülatör bir fonksiyon oynar. Çeşitli hücre tiplerinde spesifik reseptörlere bağlandıktan sonra sitokinler, hedef hücrelerin aktivasyonunu, çoğalmasını veya göçünü indükler.<sup>147</sup> İnterlökinler, enfeksiyöz hastalık sürecinde salınan

en önemli sitokin grubudur. Lökositler ve endotel hücreler tarafından salgılanan ve hücre sinyalleşmesine katkıda bulunan ve bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu, çoğalmasını, ölümünü ve/veya hareketliliğini destekleyen çok çeşitli proteinleri kapsar. Sitokinler yapı olarak pro- ve anti-enflamatuvar interlökinlere ayrılırlar. Pro-enflamatuvar interlökinlerin hücre aktivasyonu, doku hasarı ve nekrozdan sorumlu olduğu düşünülürken, anti-enflamatuvar interlökinler, enflamatuvar süreci yavaşlatmayı ve nihayetinde tersine çevirmeyi amaçlar.<sup>147</sup>

Sepsis sırasında çalışılan sayısız pro-enflamatuvar sitokin arasında IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 ve İnterlökin 17 (IL-17) çok önemlidir. IL-1 $\beta$  ayrıca katabolin olarak da adlandırılır. İnflamazomun (NLRP3) aktivasyonundan sonra üretilen IL-1 ailesinin (11 gen) bir üyesidir. IL-6 bir pleiotropik interlökindir; sitokin fırtınası sırasındaki rolü karmaşık ve tartışmalıdır. IL-6 aslında tek bir protein değildir, ancak interlökin 11 (IL-11), onkostatin M, siliyer nötrofilik faktör veya kardiyotrofin benzeri sitokin gibi bir molekül ailesini içerir. IL-6 sitokin reseptörleri iki alt birimden yapılmıştır: CD126 ve CD130 (gp130).<sup>148</sup> IL-6'nın ana kaynağı doku makrofajlarıdır. Kardiyovasküler hastalık, otoimmün hastalıklar veya kanser gibi birçok enflamatuvar hastalıkta yüksek IL-6 seviyeleri gözlenmiştir. IL-1 $\beta$ 'ya benzer şekilde, yüksek IL-6 seviyelerinin de sepsis şiddeti ile korele olduğu ve yüksek seviyelerin daha kötü sonuçla ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>149-151</sup> IL-6'nın sepsise kesin katkısı halen araştırılmaktadır ve muhtemelen kompleman yolunun aktivasyonu ve kapiller permeabilite artışı ile bağlantılıdır.<sup>152-154</sup>

IL-12 sepsis sırasında da yükselir. Dendritik hücreler, makrofajlar ve lenfoblastoid hücreler tarafından üretilen bu sitokin, naive T hücrelerinin tip 1 yardımcı TH1 farklılaşmasını indükler ve NK hücrelerini aktive eder; sonuç olarak, bu hücreler yüksek miktarda interferon gama (IFN- $\gamma$ ) üretecektir.<sup>155</sup>

En çok çalışılan anti-enflamatuvar interlökinler IL-1RA, IL-4 ve IL-10'dur. IL-1RA, bağışıklık hücreleri veya epitel hücreleri tarafından salgılanır ve IL-1R'ye bağlanır, böylece IL-1 $\alpha$  veya IL-1 $\beta$  enflamatuvar sinyallerinin etkisini bloke eder.<sup>156</sup> IL-4 esas olarak T hücreleri tarafından üretilir ve hem B hem de T hücrelerinin proliferasyonunu ve T hücrelerinin bir TH2 profiline doğru kaymasını destekler.<sup>157</sup> IL-10 seviyeleri, pro-ve anti-enflamasyon un yakından ilişkili olduğunu gösteren enflamasyon derecesi ile doğrudan ilişkilidir. Yüksek IL-10 seviyeleri, sepsis kaynaklı immünosupresyonun daha önemli özellikleri ile de ilişkilidir.<sup>13</sup> İnterlökin 3 (IL-3), 1980'lerde keşfedilen bir sitokindir. Hematopoietik kök hücrelerin ve progenitörlerin proliferasyonunu aktive eden bir pleiotropik büyüme faktörüdür. Yakın zamana kadar, sepsis sırasında IL-3'ün rolü bilinmemekteydi. IL-3 sepsis sırasında sitokin fırtınasının anahtar düzenleyicilerinden biri olarak belirlenmiştir.<sup>158, 159</sup>

### **2.6.7. Sepsiste Sitokinlerin Hedeflenmesi**

Enfeksiyon sırasında sitokinlerin temel patofizyolojik rolüne dair artan kanıtlara rağmen, sepsiste etkili olduğu gösterilen enflamasyonu hedefleyen spesifik bir tedavi yoktur.<sup>147</sup> Opal ve arkadaşları tarafından yakın zamanda gözden geçirildiği üzere, yaklaşık 30 yıllık klinik denemeler, umut verici klinik öncesi ve tek merkezli sonuçlara rağmen başarısız olmuştur.<sup>160</sup> Sepsiste ilk immünomodülatör girişim kortikosteroid kullanımı ile olmuştur. Kortikosteroidlerin enflamasyonu azalttığı ve NF $\kappa$ B ve AP-1 yollarının aktivasyonunu engellediği iyi bilinmektedir. Annane ve ark. düşük doz kortikosteroidlerin şiddetli sepsis ve septik şokta mortaliteyi azaltabileceğini göstermiştir. Ne yazık ki, büyük ölçekli bir klinik çalışma olan CORTICUS çalışması, sepsis sırasında kortikosteroidlerin sistematik kullanımının hiçbir klinik faydasının olmadığını göstermiştir.<sup>161-164</sup> TNF- $\alpha$ , IL-1 ve LPS gibi antikor ve moleküllerin yakalanmasına yönelik tedaviler, fare modellerinde büyük klinik öncesi sonuçlara sahipti, ancak bu

tedaviler genel sepsis mortalitesini azaltmada başarısız olmuşlardır.<sup>165</sup> Bununla birlikte, yakın tarihli bir meta-analiz, anti-TNF tedavisinin sepsis mortalitesinde mütevazı ama anlamlı bir azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. TLR4 yolunun bloke edilmesi de klinik başarısızlıkla karşı karşıya kalmıştır.<sup>165, 166</sup>

Pıhtılaşma ve enflamasyon arasındaki etkileşim çok sayıda deneysel ve klinik çalışmada gösterilmiştir.<sup>167</sup> Pıhtılaşma kaskadı, kan pıhtısını ve endotelial ve immün hücre aktivasyonunu indükler ve enflamasyonu güçlendirir. Bu nedenle, bu pıhtılaşma bozukluğunu hedeflemek, enflamasyonu azaltmada etkili olabilir. Bu ifadeler, sepsiste aktive protein C'nin (APC) kullanımına yol açmıştır.<sup>147</sup>

Sepsis tedavisinin başarısızlığının birkaç açıklaması olabilir. Preklinik modellerin, özellikle fare modellerinin veya in vitro deneylerin uygunluğu, önemli bir endişe kaynağıdır. Türler arasında bağışıklık tepkisi büyük ölçüde değişmektedir; hayvan deneylerinde elde edilen sonuçların insanlar için etkili tedaviye aktarılması kolay değildir. Hayvan modelleriyle bağlantılı bir başka konu da bunların "kalibre edilmiş" olmalarıdır, yani tedaviler, hastalığın başlangıcından önce veya sonra belirli bir zaman noktasında uygulanıyor olmasıdır. Klinik pratikte sepsisin başlangıcını kesin olarak belirlemek neredeyse imkansızdır; bu nedenle tedaviler tam olarak aynı zamanlama olmadan verilir. Bu sebeple septik hastalar homojen bir hasta kategorisini temsil etmez. Sepsis sunumları çeşitlidir ve çalışmaya dahil edilen hastalar farklı sepsis kaynaklarına, farklı enflamasyon seviyelerine ve dolayısıyla tedaviye farklı yanıtlara sahiptir. Aynı tedaviyi sepsis için uygulamanın herhangi bir yararlı etki göstermesi olası değildir. Çalışmalara dahil edilen hastaların spesifik parametrelere veya biyobelirteçlere göre seçilmesi gerekir. Örneğin, pro-enflamatuvar sitokin seviyeleri olan hastaların anti-sitokin tedavilerine yanıt verme olasılığı daha yüksektir<sup>147</sup>. Enfeksiyöz hastalıklar

sırasında sitokin fırtınasının etkilerini tedavi etmek için başka bir yaklaşım, enflamasyon kaskadının doğrudan doku sonuçlarını hedeflemektir.

### **2.6.8. Sepsiste Organ Disfonksiyonları**

Sepsis, hastalığın başlangıcında genel dolaşıma salınan sitokinler ve diğer araçılar nedeniyle vücudun tüm organlarını etkileyebilen sistemik bir hastalıktır. Sepsisin ortaya çıkan belirti ve semptomları değişkendir ve etkilenen belirli organ sistemlerine bağlıdır. Sepsiste altı tip organ disfonksiyonu baskındır: nörolojik sistem (zihinsel durum değişikliği), akciğerler (hipoksemili), kardiyovasküler sistem (şok), böbrekler (oligüri ve/veya artmış kreatinin konsantrasyonu), hematolojik sistem (azalmış trombosit sayısı) ve karaciğer (hiperbilirubinemi).<sup>1</sup>

Hastalar tipik olarak uyuşukluk, konfüzyon veya deliryum ile kendini gösteren mental durum değişikliği ile başvurur. Nadiren, hastanın zihinsel durumu o kadar şiddetli depresyona girer ki, hava yollarını güvenceye almak yani endotrakeal entübasyon yapmak gerekebilir. Değerlendirmede diğer nörolojik rahatsızlık nedenleri (örneğin hipoksemi, hipoglisemi, ilaç toksisitesi veya merkezi sinir sistemi enfeksiyonu) ekarte edilmeli veya varsa ele alınmalıdır.<sup>1</sup>

Sepsisin en yaygın belirtilerinden biri artan solunum hızıdır. Takipne (sepsisin neden olduğu yetişkin solunum sıkıntısı sendromunun bir özelliği), anormal arteriyel kan gazları, tipik olarak birincil solunumsal alkaloz ile ilişkili olabilir. Eşlik eden hipoksemi ve/veya hiperkarbi de oluşabilir; solunum kas yorgunluğu, hipoksemi veya hiperkarbi, tedavi için endotrakeal entübasyonu gerektirebilir. Sepsisteki solunum yetmezliğinin etiyojisi, alveolar kapiller membranlarda enflamatuvar mediatörlerin neden olduğu hasara bağlıdır. Bu sitokin aracılı akciğer hasarı, derin olabilen ve akciğer kompliyansının azalmasına ve oksijen alımının ve karbondioksit eliminasyonunun bozulmasına neden olan kardiyojenik olmayan pulmoner ödem ile sonuçlanır. Azalmış akciğer kompliyansı

ve jukstakapiller reseptörlerin aktivasyonu ventilasyonun artmasına neden olur ve takipneden kısmen sorumludur. Göğüs röntgeni görüntüleme genellikle bilateral pulmoner infiltratlarla birlikte artmış akciğer ödemi gösterir. Pulmoner değişikliklerin nedeni olarak sol ventrikül kalp yetmezliği ekarte edilmelidir. Sepsisli hastalarda ciddi, yaşamı tehdit eden hipoksemi olsa da çoğu hasta hipoksemiden değil, çoklu organ yetmezliğinden ölür.<sup>1</sup>

Hipotansiyon veya şok ile karakterize olan miyokardiyal depresyon, şiddetli sepsisin ayırt edici özelliğidir. Birkaç sitokin doğrudan kardiyomiyositlere toksik etkileri vardır. Dolaşımdaki kardiyak troponinlerde hafif artışlar sepsiste sıklıkla bulunur ve sepsis şiddetinin göstergesidir. Miyokardiyal depresyon hem sağ hem de sol ventrikülleri etkiler ve bu bulgu sepsis kaynaklı miyokardiyal depresyonu koroner aterosklerotik kaynaklı miyokardiyal iskemik disfonksiyondan ayırır. Sepsis kaynaklı miyokardiyal depresyon, sol ve sağ ventrikül ejeksiyon fraksiyonlarındaki azalmalarla birlikte derin olabilir ve inotropik ajanlarla tedaviyi gerektirir.<sup>1, 168</sup>

Aşık böbrek yetmezliğine ilerleyen böbrek fonksiyon bozukluğu, sepsis kaynaklı morbiditenin başlıca nedenidir. Sepsisin neden olduğu böbrek yetmezliğinden sorumlu kesin mekanizmalar bilinmemekle birlikte, klinisyenler, hastalıkta agresif ve uygun hacim resüsitasyonu sepsiste şiddetli böbrek yetmezliği insidansını azaltabilirler. Sızdıran kapiller membranlar ve vazodilatasyon nedeniyle sepsiste intravasküler hacim kaybı nedeniyle, hastalar tipik olarak bu kayıpların yerine volüm resüsitasyonu gerektirir. Buna göre, klinisyenler mümkünse sepsisli hastalarda nefrotoksik ajanların kullanımından kaçınılmalıdır. Örneğin, radyolojik görüntüleme çalışmaları için intravenöz kontrast maddelerinin uygulanması, intravasküler olarak hacmi azalmış sepsisli bir hastaya verilirse yeni başlayan böbrek yetmezliğini hızlandırabilir. Sepsiste tam böbrek iyileşmesinin olmaması, kötü uzun vadeli sonuçlarla

ilişkilidir, bu nedenle sepsis sırasında böbrek fonksiyonunun yönetimi çok önemlidir. Serum kreatinin konsantrasyonlarındaki küçük artışlar bile artan mortalite ile ilişkilidir.<sup>169, 170</sup>

DIC şiddetli sepsisin en çarpıcı belirtilerinden biridir. DIC birden fazla bölgeden aşikar kanama ile veya küçük ve orta kan damarlarının trombozu ile birbiriyle çelişen iki klinik tarzdan birinde ortaya çıkabilir. DIC kliniğindeki çarpıcı farklılıkların nedeni, pıhtılaşma sisteminin pıhtılaşma ve fibrinolitik sistemler arasında bir dengeyi temsil etmesi gerçeğine bağlanabilir. Bireysel sepsis vakalarında, her iki sistem de baskın olabilir. Fibrinolitik sistem baskın ise, hasta birden fazla bölgeden kanama ile başvuracaktır. Tersine, pıhtılaşma sistemi baskın ise, hasta parmaklarda veya üst ve alt ekstremitelerde açık kangrene ilerleyebilen siyanotik el ve ayak parmakları ile başvuracaktır. Sepsis kaynaklı DIC gibi görünebilen heparin kaynaklı DIC'i ekarte etmek zorunludur.<sup>1</sup>

Sepsiste karaciğer disfonksiyonu sık görülürken, sepsise bağlı akut karaciğer yetmezliği nadirdir ve hastaların %2'sinden daha azında görülmektedir. Sepsis kaynaklı karaciğer hasarı, artan serum alanin transaminaz konsantrasyonları ve artan bilirubin seviyeleri ile gösterilir. Sepsiste karaciğer fonksiyon bozukluğunun kesin etiolojisi bilinmemektedir. Şüphesiz septik şoklu hastalarda karaciğer fonksiyon bozukluğunun büyük bir kısmı, zayıf hepatik perfüzyona sekonder karaciğerin sentrilobüler nekrozundan kaynaklanmaktadır. Sepsisten ölen hastaların otopsi çalışmaları, merkezi damarları çevreleyen bölgelerde nekrotik hepatositler göstermiştir. Sepsisli hastaların karaciğerlerinde nekrotik hücre ölümüne ek olarak hepatositlerin de apoptotik hücre ölümüne maruz kaldığı gözlemlenmiştir. İlginç bir şekilde, elektron mikroskobu, sepsisli hastalardan alınan hepatositlerde artan otofajik vakuoller olduğunu göstermiştir.<sup>130, 171-173</sup>

### 2.6.9. Sepsisli Hasta Niçin Ölüür?

Bazı hastalar, örneğın toksik şok sendromu ve meningokoksemide olduğu gibi, masif pro-enflamatuvar sitokin güdümlü enflamasyona hızla yenik düşerken, iyileştirilmiş tedavi algoritmaları, çoğu hastanın sepsisin erken hiper-enflamatuvar fazından kurtulmasına ve daha uzun süreli bir faza girmesine neden olmuştur.<sup>174, 175</sup> Sepsisteki ölümlerin %70'inden fazlası hastalığın ilk 3 gününden sonra meydana gelir ve birçok ölüm haftalar sonra meydana gelir. Bir postmortem çalışmada Torgersen ve meslektaşları, sepsis ile kabul edilen cerrahi yoğun bakımdaki 235 hastada bulguları incelediklerinde şu sonuçlara ulaştılar; hastaların yaklaşık %80'inde çözülmemiş septik odaklar vardı. Otopsisı doğrulanmış 97 pnömoniden sadece 52'si yoğun bakıma yatışları sırasında uygun şekilde teşhis edilmişti. Peritonit çözülmemiş birçok septik odaktan sorumluydu. Bu tür devam eden enfeksiyonlar ölümün ana nedeni olarak görülmemelidir. Aslında, sepsisten ölen hastaların çoğunda gerçek ölüm ve organ yetmezliği nedeni bilinmemektedir. Postmortem çalışma sonuçları, sepsisten ölen hastalarda çoğu ana organda hücre ölümünün göreceli olarak az olduğunu göstermiştir.<sup>14, 173</sup> Bir teori ise sepsisteki organ disfonksiyonunun çoğunun, hücresel kış uykusu yanıtının bir sonucu olabileceğidir.<sup>176, 177</sup> Birçok durumda ölüm, hastanın önceden var olan çok sayıda ciddi komorbiditesi ve anlamlı iyileşme olasılığının düşük olması nedeniyle, ailenin agresif destek önlemlerinden rahatlık önlemlerine geçme kararından kaynaklanır. Geniş spektrumlu antibiyotiklere ve agresif kaynak kontrol önlemlerine rağmen, birçok hasta enfeksiyonlarını ortadan kaldırmaz ve ikincil hastane kökenli enfeksiyonlar geliştirir. Bu nedenle, bağışıklık yeterliliğini artıran tedavi, birincil enfeksiyonun daha hızlı çözülmesine ve ölümcül ikincil enfeksiyonların önlenmesine yol açarak sonuçları etkileyebilir.<sup>14, 178, 179</sup>

## **2.7. Sepsise Tedavisel Yaklaşım**

Destekleyici ve semptomatik önlemler, sepsis yönetiminde ana tedaviler arasındadır. Resüsitasyon ve yeterli hidrasyonun sağlanması ve sistemik fonksiyonun güçlendirilmesi için intravenöz sıvılar verilir. Yeterli oksijenasyon hayati organ fonksiyonunun sürdürülmesi için çok önemlidir. Entübasyon ve mekanik destek bazen solunum sıkıntısı olan hastalara verilirken, diyaliz böbrek yetmezliği olan hastalarda optimal böbrek fonksiyonunu sağlar. Sepsis kaynaklı hipotansiyonu düzeltmek için norepinefrin, fenilefrin veya dopamin gibi vazopresörler verilir. Sepsiste vazopresör tedavisinin endikasyonu, hastanın ortalama arter basıncını 65 mmHg veya üzerinde tutmaktır. Enteral beslenmenin mümkün olmadığı durumlarda bazen hastalara parenteral beslenme uygulanır. Sepsisli hastaların sürekli hemodinamik izlenmesi için santral venöz kateter yerleştirme de yapılabilir.<sup>180</sup>

### **2.7.1. Tedavi Yöntemleri**

Sepsisli hastalara mikroskopi, kültür ve duyarlılık testlerinin sonuçları beklenirken ampirik antibiyotikler verilir. Bu laboratuvar sonuçlarına göre, etken organizmalara karşı spesifik antibiyotikler de verilebilir. Genellikle, ikili veya üçlü antibiyotik kombinasyonları uygulanır. Viral, fungal veya parazitlerin aracılık ettiği sepsis durumunda, terapötikler etiyolojik ajanlara yöneliktir. Cutuli ve meslektaşları, polimiksin B hemoperfüzyonu (PMX-HP) ile tedavi edilen sepsisli hastaların çok merkezli bir kaydının analizinin yapıldığı çalışmada ve bir septik şok klinik çalışmasında PMX-HP'nin erken uygulanmasının hemodinamikleri ve akciğer oksijenasyonunu iyileştirdiğini ve mortaliteyi azalttığını bildirdiler. Bununla birlikte, Iwagami ve meslektaşları, randomize kontrollü bir çalışmada PMX-HP'nin septik şoklu hastaların sağkalımında herhangi bir iyileşme ve mortalitede azalma göstermediğini bildirdi.<sup>181, 182</sup>

Kortikosteroidlerin sepsiste kullanımı, fulminan ve işlevsiz pro-enflamatuvar yanıtı nasıl azalttığına, doğal bağışıklık sisteminin korunmasını sağladıklarından anti-enflamatuvar yanıtı nasıl düzenlediklerine atfedilir. Kortikosteroidler, mitojenle aktive olan protein kinaz fosfataz-1 aracılığıyla sepsiste anti-enflamatuvar tepkilere aracılık eder, bu mitojenle aktive olan protein kinaz sinyal yolunu inhibe eder ve böylece çekirdekte enflamatuvar transkripsiyon gen hedefini inhibe eder. Diğer anti-enflamatuvar tepkiler, histon asetilasyonunu ve antiproteaz salgılayan lökoproteaz inhibitörünü (SLPI) aktive etmeyi ve kininlerin, kemokinlerin, yapışma moleküllerinin ve indüklenebilir siklooksijenaz ve nitrik oksit sentazın artan ekspresyonunun inhibe edilmesini içerir.<sup>183</sup>

<sup>184</sup> Prednizolon, alerji, ödem, hiperemi ve ürtikeri iyileştirmek için bağışıklık tepkisini modüle eder. Sepsiste yaygın olarak kullanılan kortikosteroidler arasında hidrokortizon, prednizolon ve deksametazon bulunur. Tüm bu kortikosteroidlerin NFκB sinyalini modüle ettiği bilinmektedir. Kortikosteroidler, aktif olmayan sitozolik komplekslerde NFκB'yi aktive eden ve böylece serbest bir NFκB'nin salınımını engelleyen ve bunun enflamatuvar genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu etkilediği çekirdeğe translokasyonunu önleyen proteinin indüklenmesine aracılık eder.<sup>185-188</sup> Sheehan ve meslektaşları sıçanlarda yürüttükleri sepsis kaynaklı bir çalışmada parthenolid uygulamasının serum NF-κB düzeylerini 6 saate kadar azalttığını, TNF ve IL-6 serum düzeylerindeki azalmanın ise 18 saate kadar sürdüğünü bildirdi.<sup>189</sup>

#### **2.7.1.1. Sepsiste İmmünterapiler**

Sepsis sırasında, vücut büyük miktarda enflamatuvar faktör salarak enflamatuvar mediatörlerin yayılmasına neden olur. Sepsiste bağışıklık tepkilerini modüle etmeye yönelik erken girişimler sırasında yapılan çalışmalarda TNF-α'yı nötralize eden bir antikor enjeksiyonunun hayvan çalışmalarında olumlu sonuçlar verdiği ancak antikorların çoğunun klinik faz III denemelerinde başarısız olduğu gözlemlenmiştir.<sup>190</sup>

<sup>191</sup> Bununla birlikte, faz II/III klinik deneylerinden sonra, iki antikor umut verici olmaya devam etmiştir: Afelimomab ve CytoFab.<sup>192</sup> Afelimomab, bir insan TNF-  $\alpha$  monoklonal antikorunun bir fragmanıdır.<sup>193</sup> Şiddetli sepsis ve yüksek IL-6'sı olan hastalarda, her 8 saatte bir 1 mg/kg dozunda afelimomab'ın art arda 3 gün boyunca dolaşımdaki TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur; eş zamanlı olarak, tedavi organ disfonksiyonunun gerilemesini hızlandırmıştır ve 28 günlük tüm nedenlere bağlı ölüm oranını %5.8 oranında azaltmıştır.<sup>194</sup> Sepsis tarafından indüklenen T hücrelerinde ciddi niceliksel ve niteliksel değişiklikler göz önüne alındığında, IL-7 son zamanlarda septik hastalar için umut verici bir terapötik ajan olarak ortaya çıkmıştır. IL-7, T hücresi gelişimi ve işlevi için gerekli bir sitokindir.<sup>27</sup> PD1 ekspresyonunu azaltarak bitkin T hücrelerini gençleştirir ve hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Böylece T hücrelerinin enfeksiyon bölgelerine taşınmasını kolaylaştırır.<sup>195, 196</sup> Klinik deneylerde, rekombinant IL-7, HIV ile enfekte olan ve etkili antiretroviral tedaviye rağmen sürekli olarak düşük lenfosit sayılarına sahip hastalar dahil, idiyopatik lenfopeni ve lenfopeni kaynaklı hastalıkları olan hastaları tedavi etmek için kullanılmıştır.<sup>197</sup> 250'den fazla hastada yapılan klinik çalışmalar, IL-7'nin güvenli ve iyi tolere edildiğini göstermiştir.<sup>27</sup> IL-7'nin sepsis klinik denemelerinde kullanımı, sepsis hayvan modellerinden elde edilen verilerle desteklenmektedir.<sup>195, 198</sup> Peritonite bağlı polimikrobiyal sepsisli farelerde yapılan bir çalışmada, IL-7 ile tedavi, T hücre canlılığını, insan ticaretini ve IFN- $\gamma$  üretimini iyileştirdiği ve antijenleri geri çağırmaya yönelik gecikmiş tip aşırı duyarlılık tepkisini geri kazandırdığı gözlemlenmiştir.<sup>195</sup> Sepsiste immüsupresyonu tersine çevirmede büyük potansiyele sahip olan başka bir yaklaşım, ortak inhibitör moleküller PD1 ve PDL1'in bloke edilmesini içerir. PD1 ve PDL1, sepsisli hastalarda immün efektör hücreler, endotel hücreleri ve bronş epitel hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilir.<sup>130</sup> PD1-PDL1 sinyalinin bloke edilmesi, klinik olarak ilgili bakteriyel sepsis hayvan

modellerinde sağkalımı iyileştirmektedir.<sup>131</sup> Yakın zamanda yapılan önemli bir çalışma, PD1'in in vitro blokajının, aktif Mycobacterium tuberculosis enfeksiyonu olan hastalardan alınan IFN- $\gamma$  üretimini iyileştirdiğini ve T hücrelerinin apoptozunu azalttığını göstermiştir. Bu çalışmadaki ikinci önemli bulgu, tüberkülozlu hastalar etkili bir şekilde tedavi edildiğinde, PD1 eksprese eden T hücrelerinin sayısının azaldığı ve M. tuberculosis'e karşı IFN- $\gamma$  T hücre yanıtı ile ters orantılı olduğuydu.<sup>199</sup>

Sepsiste önemli bir immünolojik kusur, doğal bağışıklığın aktivasyonu için gerekli olan bir sitokin olan IFN- $\gamma$  üretiminin azalmasıdır. Sepsiste rekombinant IFN- $\gamma$  kullanan küçük klinik denemeler yapılmıştır. Rekombinant IFN- $\gamma$  ile tedavinin, monositlerinde HLA-DR ekspresyonunu azalan ve LPS'ye yanıt olarak düşük miktarlarda TNF üreten sepsisli hastalarda monosit fonksiyon bozukluğunu tersine çevirdiği rapor edilmiştir. Monosit fonksiyonunu iyileştirmek için IFN- $\gamma$  ile tedavi edilen şiddetli sepsisli dokuz hastadan sekizi hayatta kalmıştır.<sup>200</sup> IFN- $\gamma$ , monosit fonksiyonunu eski haline getirme kabiliyeti nedeniyle sepsiste potansiyel bir immünoterapi olarak gerçek bir umut vaat etse de, sepsiste önemli bir patolojik anormallik olan T hücrelerindeki temel kusuru düzeltmeyeceği ön görülmektedir. Bilim adamlarının görüşüne göre, rekombinant IL-7 ve PD1-spesifik antikörlerin, CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin işlevleri üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle sepsisli hastalarda yararlı olma olasılığı daha yüksektir: her ikisi de sepsiste IFN- $\gamma$  üretimini geri kazandırır ve çeşitli diğer bağışıklık efektör hücreleri üzerinde birçok başka yararlı etki gösterebilir.<sup>13</sup>

## **2.8. IL-6**

1986 yılında keşfedilen IL-6<sup>201</sup>, sadece immün yanıtlarda değil, aynı zamanda enflamasyon, hematopoez, kemik metabolizması, embriyonik gelişim ve diğer temel süreçlerde de rol oynayan bir pleiotropik sitokindir.<sup>201-203</sup> İnterlökin-6, IL-11, İnterlökin 27 (IL-27), onkostatin M, lösemi inhibitör faktör (LIF), kardiyotrofin 1 (CT-1),

kardiyotrofin benzeri sitokin faktör 1 (CLCF1), siliyer nörotrofik faktör (CNTF), İnterlökin 35 (IL-35) ve İnterlökin 39 (IL-39) olmak üzere 10 üyeden oluşan IL-6 sitokin ailesinin prototipik bir üyesidir.<sup>204</sup> Başlangıçta IL-6, immünoglobulin üretiminin bir indükleyicisi olan B hücresi uyarıcı faktör-2 (BSF-2) olarak tanımlanmıştır.<sup>205</sup>

1980'lerde yapılan araştırmalar ayrıca IL-6'nın kardiyak miksoma hücreleri ve Castleman'ın germinal merkez hücreleri tarafından üretildiğini ve RA hastalarının sinovyal sıvısında yüksek miktarlarda bulunduğunu göstererek, otoimmün hastalıklar ve kronik enflamatuvar hastalıklardaki rolünü göstermiştir. Buna binaen kronik enflamatuvar hastalıkların ve otoimmün hastalıkların olası mekanizmalarını açıklayan çalışan bir hipotez önerilmiştir.<sup>206-208</sup> Orijinal hipotez o zamandan beri güncellenmiştir ve enfeksiyon, yaralanma ve stres gibi lokal enflamasyon tetikleyicilerinin hastalıkta immün olmayan hücreler ve immün hücreler arasındaki etkileşimlerin desteklenmesindeki önemini vurgulayan lokal başlatıcı modeli olarak adlandırılmaktadır. Benzer bir hipotez, dokuya özgü immün toleransın bozulmasından ziyade bu etkileşimleri tetikleyen lokal lezyonlar için önerilmiştir.<sup>209, 210</sup> Tutarlı bir şekilde, kanıtlar, bağışıklık hücreleri ve bağışıklık dışı dokular arasındaki etkileşimlerin, kronik enflamatuvar hastalıklar ve otoimmün hastalıklarda kritik roller oynadığını göstermiştir. Ayrıca, pre-neoplastik hücrelerde doku özelliğine bağılı olaylar, mikro kanama, nöral stimülasyon, hücre yaşlanması ve onkojenik mutasyonların bu etkileşimleri tetiklediği gösterilmiştir.<sup>205</sup>

IL-6, hücre yaşlanmasında rol oynar, yaşlanan hücreler tarafından üretilir ve yaşlanmanın neden olduğu iltihaplanma ve yaşa bağılı patolojiler ve kanserde kritik bir rol oynar. IL-6 ayrıca, etkisi esas olarak IL-6 sinyal dönüştürücüsü ve transkripsiyon 3 (STAT3) yolunun aktivatörü aracılığıyla uygulanan enflamasyon, otoimmünite ve kanserde önemli bir faktördür.<sup>202, 211, 212</sup> IL-6'nın özellikleri göz önüne alınarak, 1990'larda multipl miyelomaya karşı bir anti-IL-6 tedavisi denendi. Anti-IL-6 murin

monoklonal antikoru miyelom hücrelerinin proliferasyonunu ve CRP üretimini inhibe etmesine rağmen, büyük olasılıkla IL-6 yarı ömrünün artması nedeniyle etki sınırlı kalmıştı. IL-6'ya karşı murin monoklonal antikor yerine, IL-6R karşı insanlaştırılmış bir monoklonal antikor olan TCZ'nin RA ve Castleman hastalığının tedavisinde başarılı olduğu kanıtlanmıştır. IL-6–STAT3 yolu artık enflamatuvar hastalıkların tedavisi için ana hedef olarak kabul edilmektedir.<sup>205</sup>

### **2.8.1. IL-6 Sentezinin Düzenleyici Mekanizması**

Enfeksiyon veya doku hasarı gibi acil stres durumlarında, IL-6, makrofajlar ve monositler gibi doğal bağışıklık hücreleri tarafından hemen üretilir ve akut faz yanıtlarını aktive ederek patojenlerin uzaklaştırılmasında ve doku onarımında önemli bir rol oynar.<sup>213</sup> Ancak immün sistemin IL-6 aracılı düzenlemesi bozulursa, aşırı veya kalıcı IL-6 üretimi indüklenebilir ve çeşitli hastalıkların gelişimine neden olur. Sadece immün sistem hücreleri değil, aynı zamanda mezankimal hücreler, vasküler endotel hücreler, fibroblastlar ve diğer birçok hücrenin fizyolojik ve patolojik koşullar altında IL-6 ürettiği bulunmuştur.<sup>214</sup> Bir dizi transkripsiyon faktörünün IL-6 gen transkripsiyonunu düzenlediği gösterilmiştir. İnsan IL-6 geninin 5' yan bölgesindeki fonksiyonel cis düzenleyici elementler, NF- $\kappa$ B, nükleer faktör IL-6 (NF-IL-6), AP-1 ve interferon düzenleyici faktör 1 için bağlanma bölgeleri olarak tanımlanmıştır.<sup>215</sup> İlginç bir şekilde, belirli viral ürünler, NF- $\kappa$ B ve NF-IL-6'nın DNA bağlama aktivitesini artırabilir, bu da artan IL-6 messenger RNA (mRNA) transkripsiyonuyla sonuçlanır.<sup>216</sup>

IL-6 ifadesi ayrıca posttranslasyonel modifikasyon ile kontrol edilir.<sup>217</sup> Nükleaz düzenleyici RNase-1 IL-6 mRNA'sının destabilize edilmesinde rol oynar ve ilgili gen genetik silinme işlemi yapılmış farelerin, splenomegali ve lenfadenopatinin eşlik ettiği spontane otoimmün hastalıkları geliştirdiği bulunmuştur.<sup>218</sup> Arid5a ekspresyonu, lipopolisakarit, IL-1 $\beta$  ve IL-6'ya yanıt olarak makrofajlarda geliştirilmiştir ve ayrıca T

hücrelerinde Th17-polarize edici koşullar altında indüklenir. Arid5a gen eksikliği, LPS enjekte edilmiş farelerde IL-6 seviyelerinin yükselmesini ve deneysel otoimmün ensefalomyelit gelişmesini engeller. Arid5a, Regnase-1'in IL-6 mRNA'sı üzerindeki bozucu etkisine karşı koymaktadır. Benzer bir gözlem, Arid5a'nın Nükleaz düzenleyici RNase-1 aracılı STAT3 bozulmasına karşı koyabildiği IL-6 mRNA metabolizmasında yapılmıştır. Bu bulgular, IL-6, STAT3 ve Arid5a'dan oluşan pozitif bir döngünün oluşumunun, IL-6'nın aşırı ekspresyonunda ve hızlandırılmış IL-6R aracılı sinyalleşmede çeşitli IL-6 aracılı hastalıklarda önemli patolojik bir rol oynadığını kuvvetle desteklemektedir.<sup>219</sup>

### **2.8.2. IL-6'nın Enflamasyon ve İmmünite Üzerine Biyolojik Etkisi**

IL-6, enflamasyonun ilk aşamasında lokal olarak sentezlendikten sonra, kan dolaşımı yoluyla karaciğere gelir ve ardından CRP, serum amiloid A, fibrinojen, haptoglobin ve a1-antikimotripsin gibi çok çeşitli akut faz proteinlerinin salınımı ve aktifleşmesi gerçekleşir. Öte yandan IL-6, fibronectin, albümin ve transferrin üretimini azaltır. Hepatositler üzerindeki bu biyolojik etkiler, ilk önce hepatosit uyarıcı faktöre ait olarak incelenmiştir. Yüksek seviyeli serum amiloid A konsantrasyonları uzun süre devam ettiğinde, amiloid A amiloidoz oluşumu yoluyla çeşitli kronik enflamatuvar hastalıkların ciddi bir komplikasyonuna yol açar. Bu da çeşitli organlarda ilerleyici bozulmaya neden olan amiloid fibril birikimi ile sonuçlanır. IL-6, taşıyıcılarının kontrolü yoluyla serum demir ve çinko seviyelerinin düzenlenmesinde de rol oynar. Serum demirine gelince, IL-6, demir taşıyıcı ferroportin 1'in bağırsak üzerindeki etkisini bloke eden ve böylece serum demir seviyelerini azaltan hepsidin üretimini indükler. Böylece IL-6-hepsidin ekseninin, kronik enflamasyon la ilişkili hipoferremi ve anemiden sorumlu olduğu anlaşılmaktadır. IL-6 kemik iliğine ulaştığında megakaryosit olgunlaşmasını teşvik eder ve böylece trombositlerin salınımına yol açar. Akut faz proteinlerinin

seviyelerindeki değişiklikler ve eritrositlerin ve trombositlerin sayısındaki bu değişiklikler, rutin klinik laboratuvar incelemelerinde enflamatuvar şiddetin değerlendirilmesi için kullanılmaktadır.<sup>220</sup>

IL-6, hepatositler ve lenfositler üzerindeki etkiler dışında çeşitli etkiler gösterir ve bunlar sıklıkla kronik enflamatuvar hastalıklarda saptanır. Bu etkilerden biri, kemik iliği stromal hücrelerinde IL-6 üretildiğinde, osteoklastların farklılaşması ve aktivasyonu için vazgeçilmez olan osteoprotegerin ligandını (RANKL) uyarması ve bunun kemik erimesine ve osteoporozaya yol açmasıdır. IL-6 ayrıca, enflamatuvar lezyonların patolojik özellikleri olan ve örneğin RA'nın sinovyal dokularında görülen artmış anjiyogeneze ve artmış vasküler geçirgenliğe yol açan aşırı vasküler endotelial büyüme faktörünün üretimini de indükler. IL-6'nın, sistemik sklerozlu hastaların cildindeki değişikliklerden sorumlu olabilen dermal fibroblastlarda keratinosit proliferasyonu veya kollajen üretimine yardımcı olduğu bildirilmiştir.<sup>220</sup>

### **2.8.3. IL-6'nın Doğal Bağışıklıktaki Pro-enflamatuvar ve Anti-enflamatuvar Özellikleri**

Son 30 yıldaki literatürler, IL-6 ve mononükleer fagositler, kompleman sistemi ve patern tanıma reseptörleri arasındaki bağlantıları vurgulamıştır. Bununla birlikte, doğal bağışıklıkta IL-6 ve IL-6 reseptör aracılı sonuçların dahil olduğuna dair en ikna edici kanıt, enfeksiyon ve endotoksin tehdidine karşı duyarlılık modellerinden elde edilir. IL-6'nın, hematopoez ve granülopoezin kontrolü yoluyla enfeksiyon veya travma bölgelerinde nötrofil birikimi de dahil olmak üzere, doğal bağışıklık sisteminin hemen hemen her yönünü modüle ettiğini gösteren kapsamlı bir literatürler vardır.<sup>202, 221, 222</sup> Bu da nötrofil aktive edici kemokinlerin ve nötrofil apoptozunun IL-6 tarafından düzenlenmesine atfedilir ve IL-6 -/- nötrofiller, patojenlerin fagositozu sırasında reaktif oksijen türlerinin üretiminde hızlı bir artış ve degranülasyon gösterirken, bu kusurlar

görünürde IL-6 trans-sinyalleme sinin endotelyal, düz kas, epitelyal ve mezotelyal hücreler ve fibroblastlar üzerindeki etkilerine ikincil olabilir.<sup>223</sup> IL-6, influenza virüsünün neden olduğu enflamasyonu sınırlar ve ölümcül akciğer patolojisine karşı korur.<sup>224</sup>

#### **2.8.4. Adaptif İmmünite Üzerine Olan Düzenleyici Etkisi**

İlk çalışmalar, IL-6'yı B hücrelerinin antikor salgılayan hücrelere olgunlaşmasını indükleyen bir lenfokin olarak tanımlamıştır ve uzun ömürlü plazma hücrelerinin hayatta kalmasını sağladığını göstermiştir. Bu bağlantı, T hücresine bağımlı bir antijenle immünize edilmiş IL-6 -/- farelerin, vahşi tip farelere göre daha düşük IgG üretimine sahip olduğu ve IL-6 eksikliğinin genellikle azalmış antikor tepkileri ve enfeksiyona duyarlılık ile ilişkili olduğu erken raporlarla pekiştirildi.<sup>225</sup> IL-6 ve B hücreleri arasındaki bağlantının en belirgin olabileceği klinik durum Castleman hastalığıdır. Bu karmaşık durum, artan IL-6 konsantrasyonları, anemi ile ilişkili B hücre hiperplazisi, artan CRP konsantrasyonları ve ateş ile karakterize olup; IL-6'nın bu hastalığın patogenezindeki rolü, TCZ'nin klinik etkinliği ile gösterilmektedir.<sup>208, 226</sup> Yayınlanmış çalışmalar, IL-6 ve B hücreleri arasında, düzenleyici B hücrelerinin kontrolünü ve otoimmüniteyi ve Salmonella türlerine karşı savunmayı etkileyen B hücresi üretimini de içeren ek bağlantıları tanımlamıştır.<sup>202</sup>

Spesifik olarak, morfojen TGF- $\beta$  varlığında saf CD4+ T hücrelerinde STAT3'ün IL-6 tarafından aktivasyonu, transkripsiyon faktörlerini eksprese eden ve IL-17A salgılayan TH17 hücrelerinin popülasyon genişlemesini desteklemektedir. TH17 hücrelerinin çeşitli hastalıklarda patojenik olduğunun kabul edilmesi ve ayrıca IL-6'nın bu hücrelerin farelerde ve insanlarda üretilmesi için gerekli olduğunun anlaşılması, IL-6'ya terapötik bir hedef olarak ilgiyi yeniden alevlendirmiştir. Burada, TH17 hücrelerine olan ilgi, üç temel konuya odaklanır: bariyer işleviyle olan bağlantıları, mantar enfeksiyonlarına dirençteki rolleri ve TH17 hücrelerinin düzensiz yanıtlarının kronik

enflamatuvar hastalıklarda lokal doku hasarına nasıl katkıda bulunduğu. Bununla birlikte, IL-6 ve IL-17 arasındaki bağlantıların enflamasyon ile tahmininde dikkatli olunmalıdır, çünkü IL-6, birçok enflamatuvar süreci kısıtlayacak olan T hücreleri tarafından IL-10 üretimini desteklemektedir.<sup>202</sup>

### **2.8.5. IL-6 Reseptör Kompleksi**

IL-6R, IL-6'yı bağlayan 80 kilo dalton tip 1 sitokin a-reseptör alt biriminden (IL-6R) ve 130 kilodalton sinyal ileten b-reseptör alt biriminden oluşur(gp130; CD130 olarak da bilinir; IL6ST tarafından kodlanır). Yapı-fonksiyon çalışmaları, işleyen bir IL-6 reseptörünün, bir dimer yapısında kümelenen bir IL-6-IL-6R-gp130 kompleksinin oluşumunu gerektirdiğini tahmin etmektedir. gp130 başlangıçta IL-6 reseptörünün sinyalleme alt birimi olarak karakterize edilmiş olsa da gp130 yoluyla sinyalleme ayrıca gelişim, hematopoez, hücre hayatta kalması ve büyümesi için esastır ve IL-11, IL-27, onkostatin-M, siliyer nörotrofik faktör, kardiyotrofin-1, lösemi önleyici faktör ve kardiyotrofin benzeri sitokin için b-sitokin reseptörü olarak işlev görür. Bu nedenle, gp130, bağışıklık sisteminin hücrelerinde ve bağışıklık sisteminin hücrelerinde her yerde eksprese edilir ve farelerde gp130'un silinmesi, embriyonik ölümle sonuçlanmaktadır. Buna karşılık, IL-6R ekspresyonu büyük ölçüde hepatositler, lökositler ve megakaryositlerle sınırlıdır ve hem IL6ra<sup>-/-</sup> fareler hem de IL6<sup>-/-</sup> fareler yaşayabilmektedir<sup>227</sup>.

IL-6 reseptör kompleksi devreye girdiğinde, IL-6'nın çeşitli etkilerine aracılık etmesine izin veren birden fazla aşağı akış olayı vardır. Bu, GTPaz Ras ve onun efektörü Raf yolunu ve hücrel proliferasyonu ve farklılaşmayı kontrol eden mitojenle aktive olan protein kinaz kaskadı içerirken, belki de en iyi anlaşılan yolak Janus kinaz (JAK) ailesinin tirozin kinazlarını ve STAT ailesinin transkripsiyon faktörleridir. gp130'un dimerizasyonu, JAK ailesinin (JAK1, JAK2 ve Tyk2) kinazlarını aktive eder ve STAT1,

STAT3 ve daha az ölçüde de STAT5'in fosforilasyonunu destekler. JAK-STAT'ın gp130 üzerinden sinyal vermesi etkinleştirilmiş STAT'ların aktive STAT'ın protein inhibitörleri (PIAS) tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir ve sitokin sinyalleşmesinin baskılayıcıları (SOCS) ve sitokin reseptör inhibitörlerinin ailesinin üyeleri de IL-6 sinyalini sınırlamak üzere hareket eder. İlginç bir şekilde, SOCS3'ün yokluğunda, IL-6'nın etkileri, güçlü bir makrofaj ve dendritik hücre inhibitörü olan IL-10'unakilere benzeyecek şekilde değiştirilir. SOCS3'ü bağlayamayan mutant gp130'u eksprese eden fareler, STAT1 ve STAT3 aracılığıyla daha uzun süreli sinyalleşme gösterir ve alevlenmiş enflamasyon , kronik hastalık ve kanser geliştirdiği gösterilmiştir. Bu nedenle, kısmen STAT1 ve STAT3 aktivitesine dayanan IL-6, otoimmün hastalığı veya kanseri olan hastalarda tedaviye yanıtın sonuçlarının veya göstergelerinin belirleyicileri olarak görülür.<sup>227</sup>

#### **2.8.6. IL-6 Reseptörü Aracılı Sinyalizasyon Sistemi**

IL-6 reseptör sinyal sistemi, iki reseptör zincirinden ve aşağı akış sinyal moleküllerinden oluşur. IL-6R, iki şekilde meydana gelen IL-6 bağlama zincirini oluşturur. Bunlardan biri 80 kDa transmembran ve 50-55 kDa-çözünür IL-6 reseptörüdür (sIL-6R). 130 kDa gp130 ise sinyal transdüksiyon zincirini oluşturmaktadır. Sitoplazmik bölge içermeyen sIL-6R, insan serumunda ve IL-6'nın sIL-6R'ye bağlanmasından sonra bulunur. Ortaya çıkan kompleks, gp130 eksprese eden hücrelerde IL-6 sinyalini indükler. IL-6'nın çeşitli hücreler üzerindeki pleiotropik etkisi, hücreler üzerinde gözlemlenen geniş gp130 ekspresyonu aralığından kaynaklanır. IL-6'nın IL-6R'ye bağlanmasından sonra, IL-6/IL-6R kompleksi sırayla gp130'un homodimerizasyonunu indükler ve aşağı yönde bir sinyal kaskadı tetikler.<sup>228</sup>

Aktive edilmiş IL-6 reseptör kompleksi, her biri IL-6, IL-6R ve gp130'dan oluşan iki molekül içeren bir heksametik yapı formunda üretilir. Bu bileşenlerden IL-6R, IL-6 için benzersiz bir bağlayıcı reseptördür, oysa sinyal ileten zincir gp130, IL-6 sitokin

ailesinin üyeleri, yani lösemi inhibitör faktörü, onkostatin M, siliyer nörotrofik faktör, IL-11, kardiyotrofin 1, kardiyotrofin benzeri sitokin, IL-27 ve IL-35 tarafından paylaşılır. Bu sitokinlerin tümü böylece spesifik bağlanma reseptörlerine bağlansalar da sinyalleri için aynı gp130'u kullanır. IL-6 sitokin ailesi üyelerinin ortak sinyal dönüştürücüyü kullanmak için kullandıkları mekanizma, IL-6 ailesinin üyelerinin neden işlevsel fazlalık gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır. Akut faz proteinleri dahil olmak üzere çeşitli IL-6'ya yanıt veren gen setlerinin düzenlenmesi, SOCS1 ve SOCS3'ün baskılayıcısını da indükleyen STAT3 transkripsiyon faktörü tarafından açıklanır. Bu bağlamda, SOCS1, tirozin-fosforile edilmiş JAK'a bağlanırken, SOCS3, bir negatif geri besleme döngüsü vasıtasıyla IL-6 sinyalini durdurmak için tirozin-fosforile edilmiş gp130'a bağlanır.<sup>228</sup>

### **2.8.7. IL-6 ve Hastalıklar**

Enfeksiyonlar ve doku yaralanmaları gibi çevresel stres faktörlerine yanıt olarak IL-6'nın ani ve geçici bir ifadesi üretilir. Bu ifade bir alarm sinyalini tetikler ve strese karşı konak savunma mekanizmalarını harekete geçirir. Konaktan stres kaynağının çıkarılmasını, ligand kaynaklı içselleştirme ve gp130'un bozulması ve SOCS alımı gibi negatif düzenleyici sistemler tarafından sinyal iletim kaskadının IL-6 aracılı aktivasyonunun kesilmesi takip eder. IL-6'nın hastalık gelişimi ile ilişkisi ilk olarak bir kardiyak miksuma vakasında gösterilmiştir. Ateş, antinükleer faktör pozitifliği olan poliartrit, CRP yüksekliği ve hipergamaglobulinemi ile başvuran bir hastanın miksuma dokularından elde edilen sıvı kültüründe çok miktarda IL-6 tespit edilmiştir ve böylece IL-6'nın kronik enflamasyona ve otoimmüniteye katkıda bulunabileceğini ön görülmüştür. Ayrıca, IL-6'nın hastalık gelişimindeki patolojik rolü, birçok hayvan hastalık modelinde ve ayrıca IL-6'nın gen nakavtı veya anti-IL-6 antikoru veya anti-IL-6R antikoru uygulaması yoluyla bloke edilmesi ile de hastalık gelişiminin önleyici veya terapötik baskılanmasına neden olabileceği de gösterilmiştir. Örneğin, IL-6 blokajı, IL-6

transgenik farelerde Castleman hastalığına benzer semptomlara duyarlılıkta gözle görülür bir azalma ile sonuçlanmıştır. Romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, sistemik skleroz, enflamatuvar miyopatiler, deneysel otoimmün üveoretinit, deneysel otoimmün ensefalomyelit ve diğer birçok hastalık modellerinde benzer etkiler gözlenmiştir.<sup>229</sup>

### **2.8.7.1. IL-6 ve Sepsis**

Pro-enflamatuvar sitokinler sepsis patogeneğinde önemli bir rol oynar. Tümör nekroz faktör- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  muhtemelen en iyi incelenen pro-enflamatuvar sitokinlerdir. Hayvan çalışmalarında, yüksek konsantrasyonlarda TNF- $\alpha$  veya IL-1 $\beta$ 'nin tek enjeksiyonunun ölümcül sonuçları olduğu gösterilmiştir. Beklenmedik bir şekilde, bu önemli sitokinlerin kan seviyelerinin, risk altındaki hastalar için klinik belirteçler olarak sınırlı kullanımı olduğu ortaya çıkmıştır. Daha da üzücü bir şekilde, çok sayıda klinik çalışma, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin farmakolojik inhibisyonundan sağlam klinik faydalar gösterememiştir. Aşağıda tartışıldığı gibi, bu, sepsisin hiper-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar süreçlerle karmaşıklığından kaynaklanmış olabilir, bu da hastaların net bir şekilde sınıflandırılmasını ciddi şekilde karmaşılaştırır ve böylece hangi hastaların hangi zaman noktasında ve hangi terapötik rejimden kâr edeceğine ilişkin kararı zorlaştırır.<sup>12</sup>

IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın yanı sıra birkaç başka interlökin de büyük önem taşır. Bunlar arasında IL-6, sepsis için klinik olarak uygun ve sağlam bir biyobelirteçtir . Waage ve arkadaşları, meningokok enfeksiyonu olan hastalarda yüksek IL-6 düzeylerini ve bunun ölümcül sepsis ile ilişkisini gözlemlemişlerdir. O zamandan beri, diğer birçok çalışma bu sonuçları doğrulamış ve genişletmiştir. Örneğin, şiddetli sepsisli postoperatif hastaların değerlendirilmesi ile hayatta kalanlarda IL-6'nın ilk 2 hafta boyunca önemli ölçüde azalış gösterdiği; hayatta kalmayanlarda ise IL-6 çoğunlukla ikinci hafta içinde arttığı gözlemlenmiştir. IL-6, yüksek tanısal ayırt etme yeteneği nedeniyle sepsiste mortalite için

yerleşik bir prognostik belirteç olmasına rağmen, prokalsitonin klinik anlam açısından IL-6'yı geride bırakmıştır.<sup>12</sup>

Mortalite ile ilişkili anahtar sitokin IL-6'nın artan seviyeleri, IL-6 sinyalinin insan sepsisinde mekanik bir rol oynadığına dair hipotezi ilgi odağı haline getirmişti. Gerçekten de farelerde ve hücre kültürlerinde yapılan birçok çalışma bu fikri doğrulamıştır. Remick ve arkadaşları, bir fare modelinde sepsis indüksiyonundan 6 saat sonra IL-6 konsantrasyonlarının ölçülmesinin deneysel sepsiste ölüm oranının kesin bir göstergesi olduğunu belirlediler. Bununla birlikte, IL-6 geni silinmiş farelerle yapılan ilk çalışma, oldukça hayal kırıklığına uğratmıştır çünkü IL-6'nın tek başına ölümcül bir öneme sahip olmayabileceği ortaya çıkmıştır. Ancak daha sonra, gp130 reseptörü aracılığıyla IL-6 sinyalinin büyük önem taşıdığı bulunmuştur, çünkü karaciğerde bu reseptörden yoksun fareler, yaygın sepsis patojeni olan *Streptococcus pyogenes* enfeksiyonuna karşı korunmuştur. Bu sonuçlarla paralel olarak, aşırı aktif STAT3 yanıtına sahip bir gp130 reseptör varyantını eksprese eden gp130 geni silinmiş fareler, LPS'nin neden olduğu sepsise karşı aşırı duyarlıydı. Ayrıca, vasküler endotel hücrelerdeki trans-sinyalleme sepsiste önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir, çünkü bu hücrelerdeki IL-6 trans-sinyalleme TLR4'e bağlı enflamatuvar yanıtları modüle etmiştir. Şok sırasında, kan basıncındaki refrakter düşüş, ciddi bir klinik problemdir. İlginç bir şekilde, IL-6 sinyali ile kan basıncı arasında bir bağlantı kurulmuştur. Hastalarda periferik vazodilatasyonun, en güçlü şekilde kandaki artmış IL-6 seviyeleri ile korele olduğu gözlemlenmiştir. Ek olarak, başka bir çalışmada, serum IL-6'nın endotel disfonksiyonu ile de korele olduğunu bulunmuştur.<sup>12</sup>

### **2.8.8. İmmünoterapide IL-6 Blokajı**

IL-6 aşırı ekspresyonu ve hastalık gelişimi arasındaki ilişki ilk olarak ateş yüksekliği ve antinükleer antikör pozitifliği olan, yüksek CRP seviyesine ve poliartrite

sahip olan hipergamaglobulinemi ile başvuran kardiyak miksomalı bir hastada bulundu. Miksoma dokusunda, anti-IL-6 antikoru yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir; böylece miksoma dokusu kaynaklı IL-6 üretiminin kronik enflamasyona ve otoimmüniteye katkıda bulunmuş olabileceğini düşündürmüştür.<sup>230</sup> Takip eden çalışmalar; IL-6 üretim düzensizliğinin romatoid artrit hastalarındaki sinovyal hücrelerde, miyelom hücrelerinde, Castleman hastalığında lenf nodlarındaki germinal merkez B hücrelerinde ve diğer çeşitli otoimmün hastalıklar ve enflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi kronik hastalıklarda yer alan periferik kan hücrelerinde veya dokularda meydana geldiğini göstermiştir.<sup>207, 208, 214, 231</sup> Sağlıklı hastalardan alınan serumlarda IL-6 konsantrasyonları <4 pg/mL'dir, ancak IL-6 seviyeleri hastalığa ve hastalığın ciddiyetine bağlı olarak çeşitli şekillerde artabilir; genellikle kronik hastalıklarda yüzlerce pg/mL'ye kadar çıkabilir. Oysa bir sitokin fırtınasında seviye çarpıcı biçimde >1000 pg/mL'ye yükselebilir ve ciddi vakalarda µg/mL olarak ölçülen bir düzeye ulaşabilir.<sup>219</sup> Ek olarak, IL-6'nın hastalık gelişimindeki patolojik rolü, IL-6'nın gen silme yöntem ile veya nötralize edici anti-IL-6 antikoru veya anti-IL-6R antikoru önlenabilir ve hastalık gelişiminin terapötik olarak baskılanmasına yol açar. Bu bulgular, tedavilerde IL-6 hedeflemesinin çeşitli hastalıklar için yeni bir tedavi stratejisi oluşturabileceği fikrini destekleyerek, IL-6'nın transmembran ve sIL-6R'ye bağlanmasını inhibe ederek IL-6 aracılı sinyal iletimini bloke eden IgG1 sınıfının hümanize bir anti-IL-6R monoklonal antikoru olan Tosilizumabın geliştirilmesini sağlamıştır.<sup>232-234</sup>

### **2.8.9. IL-6 İnhibisyonunun Güvenliği**

IL-6R inhibisyonunun güvenlik profili, temel olarak TCZ'nin ve sarilumabın klinik deneylerinden ve ayrıca romatoid artrit, juvenil idiyopatik artrit ve dev hücreli arterit hastaları dahil olmak üzere dünya çapında TCZ ile tedavi edilmiş 1 milyondan fazla hastanın kayıtlarından elde edilen verilerden elde edilir. RA için biyolojik Hastalık

modifiye edici antiromatizmal ilaçların (DMARD) beklentileriyle tutarlı olarak, ciddi bakteriyel enfeksiyonlar dahil ciddi enfeksiyonlar, klinik çalışmalarda, pazarlama sonrası gözetim çalışmalarında, kısa süreli çalışmalarda ve açık etiketli uzatma çalışmalarında bildirilen en yaygın ciddi advers olaylar arasındadır. IL-6 sinyal yolağı inhibitörlerine uzun süre maruz kalan hastalarda ciddi enfeksiyonların genel oranı, kısa süreli maruziyetle yapılan çalışmalarda görülen oranlarla uyumludur. IL-6 yolak inhibitörleri ile tedavi, transaminazların serum konsantrasyonlarında yükselmeler ile ilişkilendirilmiştir. Bu yükselmeler, klinik çalışmalarda kalıcı veya klinik olarak belirgin karaciğer hasarı ile sonuçlanmamıştır. IL-6 yolak inhibitörleri ile kombinasyon halinde potansiyel olarak hepatotoksik ilaçlar (örneğin metotreksat) kullanıldığında, transaminaz yükselmelerinin sıklığı ve büyüklüğünde artış gözlemlenmiştir. Pankreatit, Tosilizumab ve sarilumabın onay sonrası kullanımı sırasında tanımlanan advers reaksiyonlar arasındadır. Gastrointestinal perforasyonlar da bu ilaçların kullanımı ile ilişkilendirilmiştir; bu tür olayların çoğu, önceden var olan risk faktörleri (önceden var olan divertikülit veya oral glukokortikoid kullanımı gibi) olan hastalarda meydana gelmiştir; bu nedenle, gastrointestinal perforasyon, bağırsak ülseri veya divertikülit öyküsü olan hastalarda IL-6 inhibitörleri dikkatli kullanılmalıdır. Uzun süreli maruziyete maruz kalan popülasyonlardaki genel gastrointestinal perforasyon oranı, kısa süreli çalışmalarda görülen oranlarla uyumludur. IL-6 yolağının inhibisyonu, artan serum lipid konsantrasyonları (LDL ve trigliseritler) ile ilişkili olduğundan, IL-6 inhibitörleri ile tedavi sırasında lipid profillerinin izlenmesi ve hiperlipidemi tedavisinin klinik uygulama kılavuzlarına göre yapılması önerilir. İlginç bir şekilde, IL-6 inhibisyonu, HDL lipoproteinlerini bir anti-enflamatuvar bileşime doğru modifiye eder; bu nedenle aterojenik indeks değişmez. Romatoid artritte Tosilizumab ve TNF inhibitörü

etanerseptin kardiyovasküler güvenliğini karşılaştıran ENTRACTE çalışmasında, majör advers kardiyovasküler olayların oranı her iki tedavide de benzer bulunmuştur.<sup>235</sup>

## 2.9. Tosilizumab

TCZ çözünür ve zara bağlı IL-6R'ne karşı yönlendirilen immünoglobulin G1k alt sınıfının rekombinant hümanize, anti-insan monoklonal antikordur. Avrupa Birliği'nde RoActemra ticari adı altında ve Amerika Birleşik Devletleri'nde Actemra olarak pazarlanmaktadır. TCZ ilk olarak 2005 yılında Japonya'da plazma hücre sayılarının genişlemesini içeren nadir bir lenfoproliferatif hastalık olan Castleman hastalığının tedavisi için yetim bir ilaç olarak onaylandı. TCZ şu anda AB'de tek başına veya DMARD'lar ile kombinasyon halinde orta ila şiddetli aktif RA'li yetişkin hastaları, 2 yaşından büyük juvenil idiyopatik artrit (sJIA) veya juvenil idiyopatik artrit (pJIA) poliartiküler formu olan 2 yaşın üzerindeki çocukları sistemik formda tedavi etmek için lisanslanmıştır. Ayrıca Crohn hastalığı, sistemik lupus eritematozus, Takayasu arteriti, dev hücreli arterit, polimiyalji romatika ve refrakter erişkin başlangıçlı Still hastalığı gibi diğer durumların tedavisi olarak da çalışılmıştır ancak henüz ruhsat almamıştır.<sup>236</sup>

TCZ ilk olarak 2008'de Japonya'da, ardından 2009'da AB ve 2010'da ABD'de tanıtılmıştır. Molekül, fare anti-insan IL-6 reseptörünün tamamlayıcılık belirleme bölgesinin insan IgG1'ine aşılmasıyla üretilen, genetik olarak tasarlanmış insana uyarlanmış bir monoklonal antikordur. TCZ, IL-6'nın reseptörlerine bağlanmasını inhibe eder, bunu yaparken insan IL-6R'nün hem çözünür hem de zara bağlı formları ile rekabet ederek bu sitokinin pro-enflamatuvar aktivitesini azaltır. IL-6 ve IL-6R'ye karşı nötralize edici antikor olarak TCZ hem klasik hem de trans-sinyal yollarını bloke eder. TCZ, IL-6-sIL-6R kompleksini ayırabilir, ancak IL-6-sIL-6R-sgp130 kompleksini ayıramaz, bu da IL-6-sIL-6R kompleksinin IL-6-sIL-6R-sgp130 kompleksinden daha az katı olduğunu gösterir. IL-6 trans-sinyallemesi pro-enflamatuvar iken, membrana bağlı IL-6R

yoluyla klasik IL-6 sinyali, sitokinin rejeneratif veya anti-enflamatuvar aktiviteleri için gereklidir. IL-6 biyolojisinin bu ayrıntılı bilgisi, sitokin IL-6'nın bloke edilmesini amaçlayan terapötik stratejiler için önemli sonuçlara sahiptir.<sup>236</sup>

### **2.9.1. Tosilizumab'ın Preklinik Etkinlik Çalışmaları**

Klinik öncesi farmakodinamik çalışmalarda, TCZ'nin hem membrana bağlı hem de çözünür IL-6R'yi eşit bir afinite ile spesifik olarak bloke ettiği gösterilmiştir. IL-6R'ye bağlanan TCZ'nin doza bağımlı olduğu ve IL-6 reseptörlerine zaten bağlı olan IL-6'nın yerini alma kabiliyetine sahip olduğu gösterilmiştir. In vitro çalışmalar, TCZ'nin TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , İnterlökin 15 (IL-15) veya IL-2 üzerinde hiçbir inhibitör etkisinin olmadığını göstermiştir. Sinomolgus maymunları, TCZ'nin maymun IL-6R ile çapraz reaksiyona girdiği hem in vitro hem de in vivo gösterildiğinden, TCZ için farmakolojik olarak en alakalı tür test yatağı olarak seçilmiştir. Kollajen kaynaklı artritli sinomolgus maymunlarında, TCZ'nin hem eklemlerde lokal olarak hem de sistemik olarak enflamasyonu önlediği gösterilmiştir. IL-6'nın inhibisyonunun, enflamasyon a bağlı osteoklastik kemik yıkımının normalleşmesine neden olduğu ve normal kemik homeostazının TCZ'nin neden olduğu sürekli IL-6 inhibisyonu ile geri döndüğü de gösterilmiştir.<sup>236</sup>

### **2.9.2. Tosilizumab'ın Uzun Dönem Etkinliği ve Güvenliği**

TCZ kullanırken göz önünde bulundurulması gereken en önemli hususlar, artan enfeksiyon riskine yol açan immünosupresif etkileri ve lipid profili üzerindeki olumsuz etkisidir. 5 yıllık uzatma STREAM çalışması, TCZ'nin sürdürülebilir bir uzun vadeli etkinliğe ve iyi bir güvenlik profiline sahip olduğunu göstermektedir. Başka bir çalışma, TCZ'ye başlamanın ilk 3 ayında kötüleşen bir lipid profiline yönelik bir eğilimin belirgin olduğunu ancak uzun vadede lipid profilinde statik olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. 2 ila 17 yaşındaki sJIA hastalarında TCZ ile ilgili 52 haftalık bir çalışma,

25 hastada 33 ciddi yan etki bildirmiştir, 12'sinin TCZ ile ilişkili olduğu düşünülmüştür; bu advers olayların hepsi düzelmiş olup hiçbir katılımcı araştırmadan ayrılmamıştır. Sırasıyla 3 ve 4,6 yıllık başka bir takip çalışması, Romatoid artrit için tedavi edilen hastalarda TCZ'nin güvenlik profilinin zaman içinde tutarlı olduğu sonucuna varmıştır. Yüksek IL-6 seviyelerinin daha düşük kolesterol seviyeleri ile ilişkili olmasına rağmen, Romatoid artrit kardiyovasküler hastalıklar için artan bir risk ile ilişkilendirilmiştir. C reaktif protein ve IL-6 düzeylerini azaltarak Romatoid artrit için enflamatuar yükünü azaltmak, Romatoid artrit hastalarında kardiyovasküler hastalık riskini azaltabilir. TCZ, IL-6'nın etkisini baskılayabileceğinden, tüm hastaların başlangıç açlık lipid profiline sahip olması ve tedavinin başlangıcından en az 3 ay sonra açlık lipid profilini tekrar etmesi gerekir.<sup>236</sup>

### **2.9.3. Tosilizumab'ın Yan Etkileri**

TCZ monoterapisi veya diğer DMARD'larla kombinasyon halinde advers etkiler belgelenmiştir. Diğer biyolojik tedavilerle kombinasyonla ilgili güvenlik verileri mevcut değildir. Bildirilen en yaygın yan etkiler enfeksiyonlardır. En yaygın enfeksiyon üst solunum yolları enfeksiyonlarıdır. TCZ tedavisine bağlı gastrointestinal bozukluklar mide bulantısı, karın ağrısı, ağız ülseri ve gastriti içermektedir. Perforasyonlar daha çok önceden divertiküler hastalık tanısı almış hastalarda da bildirilmiştir. 3. veya 4. derece nütropeni ise hematolojik yan etkiler olarak belirlenmiştir. Bazı hastalarda ise baş ağrısı ve hipertansiyon rapor edilmiştir.<sup>236</sup>

### **2.10. Deneysel Sepsis Modelleri**

Deneysel sepsis oluşturmak için günümüzde birçok model kullanılabilir. Bu modeller bakterileri ve bakteriyel endotoksinleri parenteral uygulama esasına dayanan cerrahi girişimin olmadığı modeller ve CLP, kolon asendens stent peritoniti (CASP),

patojenlerin veya bakteriyel kültürün implantasyonu gibi cerrahi müdahale gerektiren cerrahi sepsis modelleri olmak üzere iki ana bölümden oluşmaktadır.<sup>237-239</sup>

Kemirgenlerde çekal ligasyon ve delinme, deneysel sepsis için en yaygın kullanılan model haline gelmiştir. 30 yıldan daha uzun bir süre önce geliştirilmiş olan CLP modelinin, sepsisin altında yatan mekanizmaları incelemek için deneysel ortamlarda polimikrobiyal sepsisin uyarılması için gerçekçi bir model olduğu düşünülmektedir. Kısaca, CLP, orta hat laparotomisinden sonra ileoçekal kapağın altında ligasyonu ve ardından çekumun iğne delinmesini içerir. Çekum endojen bir bakteriyel kontaminasyon kaynağı olduğundan, çekumun perforasyonu bakteriyel peritonite neden olur ve bunu karışık enterik bakterilerin kan kompartmanına translokasyonu takip eder. Sepsisin başlangıcında bakteriyemi, enflamatuvar yanıtın sistemik aktivasyonunu, müteakip septik şoku, çoklu organ disfonksiyonu ve son olarak ölümü tetikler. CLP modeli kemirgenlerde kullanıldığında, hipotermi, taşikardi ve takipne gibi tipik sepsis veya septik şok semptomları olan hastalık paternleri gösterirler.<sup>240</sup>

CASP, deneysel abdominal sepsisin köklü modellerinden biridir. CASP cerrahisinde, kolon asendense bir stent yerleştirilerek bağırsak lümeni ile karın boşluğu arasında açık bir bağlantı oluşturulur. Bağırsak içeriğinin peritona sürekli sızmasına neden olur ve bu nedenle peritonit ve sepsise yol açar. Karın boşluğu genel anestezi altında açılır ve kolon duvarına plastik bir stent yerleştirilir ve dikilir. CASP modellerindeki septik şiddet, stent kateterinin boyutu değiştirilerek titre edilebilir. Bu nedenle, küçük stent boyutlarına sahip CASP modelleri, uzun süreli çalışmalar ve hafif/orta sepsis şiddeti olan çalışmalar için uygundur. 24 saat içinde hayvanlarda sepsis klinik belirtileri gelişir. Ameliyat sonrası klinik durumun izlenmesi, yeterli analjezi, uygun antibiyotik ve sıvı resüsitasyonu yapılmalıdır.<sup>241</sup>

Canlı bakteriyel enfeksiyon modelleri, farklı klinik senaryoları taklit etmek için uygun bir yolla hayvana saf veya karışık bakteri florasının uygulanmasını içerir. Saf bir bakteri suşunun (örn., *Escherichia coli*) intravenöz bolus enjeksiyonu, *Streptococcus pneumoniae* inhalasyonu veya filtrelenmiş dışkı bulamacının intraperitoneal uygulamasını içeren çok çeşitli yayınlanmış modeller vardır. Bakteriyel suş seçimi, bakteri yükü ve konakçı hayvanın duyarlılığı ve enfeksiyon kompartımanı da dahil olmak üzere, bu tip sepsis modellerinde bir dizi potansiyel kafa karıştırıcı faktör vardır. Uygulanan genellikle yüksek bakteri yükünün, her durumda, konakta kolonileşmeye ve çoğalmaya devam etmeyebileceğine - genellikle kompleman tarafından hızlı lizisten ve endotoksinlerin salınmasına neden olmasından dolayı not edilmelidir. Kolonizasyon olasılığı, enfeksiyon bölgesinin yanı sıra çalışılan bakterinin serotipi ve hayvanın türüne ve suşuna bağlı olacaktır.<sup>242</sup>

### **2.10.1. LPS ile İndüklenen Sepsis Modeli**

Gram-negatif bakterilerin dış zarının bir bileşeni olan endotoksin, sepsis patogenezinde rol oynar ve sepsis araştırmaları için bir LPS infüzyon/enjeksiyon modeli yaygın olarak kullanılmaktadır. LPS uygulaması, bakteriyemi olmaksızın, TNF-a ve IL-1 gibi pro-enflamatuvar sitokinlerdeki artışlar dahil sepsisin ilk klinik özelliklerinin çoğunu taklit eden sistemik enflamasyonu indükler. LPS enjekte edilmiş hayvanların TNF-a veya IL-1'e karşı nötralize edici antikorla tedavisi bu model için iyileştirilmiş sonuçlarla sonuçlanmıştır. Bir vaka raporu ise kendi kendine yüksek dozda LPS uygulayan bir hastayı ve gelişen septik şokun tam klinik belirtilerini tanımlamaktadır. LPS infüzyonu ayrıca azalmış glomerüler filtrasyon hızı, artmış kan üre nitrojeni (BUN) ve artmış renal nötrofil infiltrasyonu dahil olmak üzere böbrek hasarına neden olur. LPS, rodentlerde insan sepsisinde gözlenen seviyelere kıyasla çok daha erken ve daha yüksek sitokin ekspresyonu seviyelerine neden olur. Ayrıca, LPS infüzyonunun renal

hipoperfüzyon ve artmış BUN gibi bazı özellikleri, sepsisin klinik yönetiminde rutin olarak uygulanan hacim replasmanı ile hafifletilir. Bununla birlikte, LPS infüzyonu, sepsisin karmaşık yörüngesinin daha basit bir alt kümesini sorgulamak için yararlı bir araç olmaya devam etmektedir. LPS dozu, hemodinamik bozulma olmaksızın erken sepsisi taklit edecek şekilde titre edilebilir; bu, sepsisin başlangıç evreleri sırasında sistemik ve renal yanıtları incelemek için yararlı olmuştur; tipik olarak kullanılan LPS dozları sistemik hipotansiyonu indükler ve glomerüler perfüzyonu azaltırken, daha düşük LPS dozları herhangi bir sistemik hipotansiyona neden olmaz, ancak yine de glomerüler perfüzyonu azaltır.<sup>243</sup>

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Deney Hayvanları

Atatürk Üniversitesi Tıp ve Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden her biri 220-250 gram ağırlığında toplam 292 adet erkek albino Wistar rat bu çalışmada kullanıldı. Deneyler sırasında hayvanlara yeterli su (ad libitum) ve pelet yem verildi. Hayvanlar, deneyden önce belirli ışık koşulları (14/10 saat aydınlık/karanlık döngüsü) altında  $22 \pm 1$  °C'de iyi havalandırılan bir odada tipik plastik kafeslerde gruplar halinde barındırıldı. Çalışma, Atatürk Üniversitesi yerel hayvan bakım komitesi tarafından 29.06.2022 tarihli ve E-42190979-000-2200196000 sayılı belge etik onay numarası ile onaylanmıştır.

#### 3.2. Deneysel Tasarım ve Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney hayvanları interlökin-6 sitokin salınım kinetiği tespit çalışması, TCZ tedavi grupları çalışması ve sağkalım izlem çalışması olmak üzere 3 ana gruba ayrıldı.

IL-6 sitokin salınım kinetiği çalışmasında grup başı altı sıçan olmak üzere on üç grup ile toplam 78 sıçan çalışmada kullanılmıştır.

#### *Sitokin Salınım Kinetiği Tespit Grupları*

1. grup: 2. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 2. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

2. grup: 4. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 4. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

3. grup: 6. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 6. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

4. grup: 8. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 8. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

5. grup: 10. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 10. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

6. grup: 12. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 12. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

7. grup: 14. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 14. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

8. grup: 16. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 16. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

9. grup: 18. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 18. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

10. grup 20. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 20. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

11. grup: 22. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 22. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

12. grup: 24. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 24. saatte sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

13. grup: 0. saat grubu (n=6) [LPS ile sepsis indüksiyonu ile eş zamanlı olarak sakrifiye edilip kanları ve akciğer-böbrek dokusu alınan grup]

TCZ tedavi grupları çalışmasında grup başı onar hayvan olacak şekilde 7 grup dahilinde toplam 70 sıçan çalışmada kullanılmıştır. Bu çalışma grubundaki sıçanlar deney başlangıcından sonraki 24. saatte sakrifiye edildiler.

### ***Tosilizumab Tedavi Grupları***

1. grup: Sağlıklı grup (n=10) [LPS ile sepsis indüklenmemiş ve TCZ tedavisi almamış olan grup]
2. grup: Sepsis grubu (n=10) [LPS ile sepsis indüklenmiş ancak TCZ tedavisi almamış olan grup]
3. grup: TCZ 1 grubu (n=10) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonundan sonraki 1. saatte TCZ tedavisi verilen grup]
4. grup: TCZ 6 grubu (n=10) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonundan sonraki 6. saatte TCZ tedavisi verilen grup]
5. grup: TCZ 8 grubu; (n=10) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonundan sonraki 8. saatte TCZ tedavisi verilen grup]
6. grup: TCZ 10 grubu; (n=10) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonundan sonraki 10. saatte TCZ tedavisi verilen grup]
7. grup: TCZ 16 grubu (n=10) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonundan sonraki 16. saatte TCZ tedavisi verilen grup]

Sağkalım izlem çalışmasında ise grup başı on sekizer hayvandan 8 grup dahilinde 144 sıçan çalışmada kullanılmıştır. 72 saat boyunca hayvanlar sağkalım açısından gözlemlenmiştir.

### ***Sağkalım İzlem Grupları***

1. grup: Sağlıklı grup (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmemiş ve TCZ tedavisi almamış olan grup]
2. grup: Sağlıklı + TCZ grubu (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmemiş ancak 1. saatte TCZ tedavisi almış olan grup]
3. grup: Sepsis grubu (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmiş ancak TCZ tedavisi almamış olan grup]

4. grup: TCZ 1 grubu (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonu sonrası 1. saatte TCZ tedavisi almış olan grup]

5. grup: TCZ 6 grubu (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonu sonrası 6. saatte TCZ tedavisi almış olan grup]

6. grup: TCZ 8 grubu; (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonu sonrası 8. saatte TCZ tedavisi almış olan grup]

7. grup: TCZ 10 grubu; (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonu sonrası 10. saatte TCZ tedavisi almış olan grup]

8. grup: TCZ 16 grubu (n=18) [LPS ile sepsis indüklenmiş ve sepsis indüksiyonu sonrası 16. saatte TCZ tedavisi almış olan grup]

### **3.3. LPS ile İndüklenmiş Sepsis Modeli**

Deneylelerden hemen önce serum fizyolojik ile hazırlanmış olan Sigma-Aldrich (İsrail) L-2880 E. coli O55:B5 LPS suşu çözeltisi her hayvana 2cc hacimde ve her sıçan için 10mg/kg LPS ihtiva edecek şekilde; sıçanların sağ alt kadrın bölgesinden 21 gauge iğne ile intraperitoneal olarak enjekte edilerek LPS ile indüklenmiş sepsis modeli oluşturuldu.<sup>244</sup>

### **3.4. IL-6 Sitokin Salınım Kinetiği Tespit Çalışması**

IL-6 sitokin salınım kinetiğinin net olarak tespiti için ayrılan sıçanlardan LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 0. saatten itibaren 24. saat de dahil olmak üzere 2'şer saat aralıklarla 100mg/kg ketamin ve 10mg/kg ksilazin<sup>245</sup> kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra kardiyak kan örnekleri, akciğer dokusu örnekleri ve böbrek dokusu örnekleri alındı. Sarı kapaklı jelli biyokimya tüpüne alınan kan örnekleri Hettich (Almanya) marka Universal 320R model soğutmalı santrifüj cihazında 10 dk süre ile 4000 rpm'de santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant örnekleri Glacier (Fransa) marka NU-9483 NuAire model -80°C ultra soğutucuda moleküler çalışmalar için saklandı. Her

saat grubundaki hayvanların akciğer ve böbrek dokuları nekroskopileri yapıldıktan sonra ilk olarak serum fizyolojik ile kan dokudan durulandı. Ardından %10'luk formalin çözeltisi içinde histopatolojiye gönderildi. Formalindeki dokular ivedi bir şekilde parafin bloklara gömüldü. Daha sonrasında akciğer ve böbrek dokuları histopatolojik olarak incelendi.

### **3.5. Korelasyon Testleri**

IL-6 sitokin salınım kinetiği tespit sonuçları ve akciğer dokusu-böbrek dokusu histopatoloji sonuçları incelenerek; bu sonuçların kendi aralarındaki korelasyonları tespit etmek amacıyla ve zamana bağlı değişimlerinin süreç ile olan korelasyonunu tespit etmek için korelasyon testleri yapıldı. Bu sonuçlara göre TCZ tedavisi saatleri 1. saat, 6. saat, 8. saat, 10. saat ve 16. saat olarak belirlendi.

### **3.6. Tosilizumab Tedavi Grupları Deney Metodu**

Yapılan korelasyon testleri sonucu belirlemiş olduğumuz 1. Saat TCZ tedavisi, 6. Saat TCZ tedavisi, 8. Saat TCZ tedavisi, 10. Saat TCZ tedavisi ve 16. saat TCZ tedavisi grupları ve Sağlıklı grup ve Sepsis gruplarıyla birlikte TCZ tedavisi çalışmasını yaptık. TCZ tedavisi alan gruplara LPS ile sepsis indüksiyonu sonrası belirtilen saatlerde 1cc izotonik sodyum klorür solüsyonu içinde hayvan başına 2 mg/kg dozda TCZ intraperitoneal olarak verilmiştir.<sup>246</sup> Sepsis grubu sadece LPS ile muamele görmüştür. Sağlıklı grup ise LPS veya TCZ'den herhangi biri ile muamele görmemiştir. LPS ile sepsis indüksiyonundan sonraki 24 saatlik sürecin sonunda ise tüm gruplar 100mg/kg ketamin ve 10mg/kg ksilazin kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra kardiyak kan, akciğer dokusu, böbrek dokusu örnekleri alındı. Alınan böbrek ve akciğer dokuların yarısı %10 formalin çözeltisi içinde histopatolojiye gönderildi ve ivedi bir şekilde parafin bloklara gömülerek gerekli histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar yapıldı. Kalan akciğer ve böbrek dokuları ve santrifüjlenip süpernatantları alınan kan dokuları ise

Glacier marka NU-9483 NuAire model -80°C ultra soğutucuda uygun şartlarda saklanıp moleküler çalışmalar için bekletildi.

### **3.7. Sağkalım İzlem Çalışması**

Sağkalım analizi çalışmasına dahil edilecek olan hayvanlarla; yapılan korelasyon testleri sonucu belirlemiş olduğumuz 1. Saat TCZ tedavisi, 6. Saat TCZ tedavisi, 8. Saat TCZ tedavisi, 10. Saat TCZ tedavisi ve 16. saat TCZ tedavisi grupları ve Sağlıklı grup, Sağlıklı + 1. saat TCZ tedavisi grubu ve Sepsis gruplarıyla birlikte sağkalım izlem çalışması yapıldı. Hayvanlar 72 saat boyunca sağkalım analizi için gözlemlenmiştir. Sağkalım süreleri için ortalama ve medyanlar hesaplanmıştır. Tahmini yaşam süreleri hesaplanmıştır. 72 saat sonu yaşam yüzdeleri ve total yaşam yüzdesi hesaplanmıştır. İstatistiksel açıdan gruplar birbiriyle ikili olarak karşılaştırılmıştır.

### **3.8. Moleküler Analizler**

#### **3.8.1. ELISA Analizleri**

##### **3.8.1.1. IL-6 Sitokin Salınım Kinetiği Çalışması ELISA Analizi**

IL-6 sitokin salınım kinetiği tespit çalışması grubu hayvanlarından elde edilen kan dokuları serumları saklandığı -80° C'de buzdolabından çıkarılıp -20° C buzdolabına alınıp 6 saat bekletildi daha sonra +4° C buzdolabına alınıp çözülmeye bırakıldı. Her bir sıçandan elde edilen kan serum örnekleri kit içindeki örnek dilüe edici solüsyon ile 1:10 oranında dilüe edildikten sonra ELISA yöntemi kullanılarak Biotek (ABD) marka Epoch Spektrofotometri ve Take 3 Pleyt model cihazda ölçüldü ve konsantrasyon pg/ml cinsinden hesaplandı. ELISA yöntemi kit içeriğinde yer alan manuel kitapçığında ifade edilen şekline uygun olarak yapıldı. IL-6 ölçümünde Elabscience (ABD) marka Cat.No.:E-EL-R0015 rat IL-6 ELISA kiti kullanıldı.

### **3.8.1.2. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku IL-1 $\beta$ Seviyesi**

#### **ELISA Ölçüm Analizi**

TCZ tedavi çalışmasına katılan Sağlıklı, Sepsis, TCZ1, TCZ6, TCZ8, TCZ10 ve TCZ16 gruplarındaki sıçanlar ketamin-ksilazin kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra alınan akciğer dokusu ve böbrek dokusu örnekleri Qiagen marka TissueLyser II model doku homojenizatöründe çelik bilya ve kavanoz seti kullanılarak sıvı nitrojen içinde öğütüldü. Yaklaşık 200 mg öğütülmüş doku eppendorf tüpte 200  $\mu$ l hacminde doku lizis tamponu ile 90 saniye boyunca 3 kez homojenize edildi ve örnekler daha sonra en yüksek hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant fosfat tamponlu salin homojenat tamponunda 1:5 oranında dilüe edildi. Daha sonra elde edilen örnek numunelerinden akciğer ve böbrek dokusu IL-1 $\beta$  seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak Biotek marka Epoch Spektrofotometri ve Take 3 Pleyt model cihazda ölçüldü ve konsantrasyon pg/mg cinsinden hesaplandı. ELISA yöntemi kit içeriğinde yer alan manuel kitapçığında ifade edilen şekline uygun olarak yapıldı. ELISA ölçümünde SunLong Biotech (Çin) marka rat IL-1 $\beta$  Cat NO.:SL0402Ra ELISA kiti kullanıldı.

### **3.8.1.3. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku IL-6 Seviyesi**

#### **ELISA Ölçüm Analizi**

TCZ tedavi çalışmasına katılan Sağlıklı, Sepsis, TCZ1, TCZ6, TCZ8, TCZ10 ve TCZ16 gruplarındaki sıçanlar ketamin-ksilazin kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra alınan akciğer dokusu ve böbrek dokusu örnekleri Qiagen (Hollanda) marka TissueLyser II model doku homojenizatöründe çelik bilya ve kavanoz seti kullanılarak sıvı nitrojen içinde öğütüldü. Yaklaşık 200 mg öğütülmüş doku eppendorf tüpte 200  $\mu$ l hacminde doku lizis tamponu ile 90 saniye boyunca 3 kez homojenize edildi ve örnekler daha sonra en yüksek hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant fosfat tamponlu salin homojenat tamponunda 1:5 oranında dilüe edildi. Daha

sonra elde edilen örnek numunelerinden akciğer ve böbrek dokusu IL-6 seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak Biotek marka Epoch Spektrofotometri ve Take 3 Pleyt model cihazda ölçüldü ve konsantrasyon pg/mg cinsinden hesaplandı. ELISA yöntemi kit içeriğinde yer alan manuel kitapçığında ifade edilen şekline uygun olarak yapıldı. ELISA ölçümünde SunLong Biotech marka rat IL-6 Cat NO.:SL0411Ra ELISA kiti kullanıldı.

#### **3.8.1.4. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku IL-10 Seviyesi**

##### **ELISA Ölçüm Analizi**

TCZ tedavi çalışmasına katılan Sağlıklı, Sepsis, TCZ1, TCZ6, TCZ8, TCZ10 ve TCZ16 gruplarındaki sıçanlar ketamin-ksilazin kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra alınan akciğer dokusu ve böbrek dokusu örnekleri Qiagen marka TissueLyser II model doku homojenizatöründe çelik bilya ve kavanoz seti kullanılarak sıvı nitrojen içinde öğütüldü. Yaklaşık 200 mg öğütülmüş doku eppendorf tüpte 200 µl hacminde doku lizis tamponu ile 90 saniye boyunca 3 kez homojenize edildi ve örnekler daha sonra en yüksek hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant fosfat tamponlu salin homojenat tamponunda 1:5 oranında dilüe edildi. Daha sonra elde edilen örnek numunelerinden akciğer ve böbrek dokusu IL-10 seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak Biotek marka Epoch Spektrofotometri ve Take 3 Pleyt model cihazda ölçüldü ve konsantrasyon pg/mg cinsinden hesaplandı. ELISA yöntemi kit içeriğinde yer alan manuel kitapçığında ifade edilen şekline uygun olarak yapıldı. ELISA ölçümünde SunLong Biotech marka rat IL-10 Cat NO.:SL0415Ra ELISA kiti kullanıldı.

#### **3.8.1.5. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku TNF-α**

##### **Seviyesi ELISA Ölçüm Analizi**

TCZ tedavi çalışmasına katılan Sağlıklı, Sepsis, TCZ1, TCZ6, TCZ8, TCZ10 ve TCZ16 gruplarındaki sıçanlar ketamin-ksilazin kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra alınan akciğer dokusu ve böbrek dokusu örnekleri Qiagen marka

TissueLyser II model doku homojenizatöründe çelik bilya ve kavanoz seti kullanılarak sıvı nitrojen içinde öğütüldü. Yaklaşık 200 mg öğütülmüş doku eppendorf tüpte 200 µl hacminde doku lizis tamponu ile 90 saniye boyunca 3 kez homojenize edildi ve örnekler daha sonra en yüksek hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant fosfat tamponlu salin homojenat tamponunda 1:5 oranında dilüe edildi. Daha sonra elde edilen örnek numunelerinden akciğer ve böbrek dokusu TNF-α seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak Biotek marka Epoch Spektrofotometri ve Take 3 Pleyt model cihazda ölçüldü ve konsantrasyon pg/mg cinsinden hesaplandı. ELISA yöntemi kit içeriğinde yer alan manuel kitapçığında ifade edilen şekline uygun olarak yapıldı. ELISA ölçümünde SunLong Biotech marka rat TNF-α Cat NO.:SL0722Ra ELISA kiti kullanıldı.

#### **3.8.1.6. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Doku NFκB-p65 Seviyesi ELISA Ölçüm Analizi**

TCZ tedavi çalışmasına katılan Sağlıklı, Sepsis, TCZ1, TCZ6, TCZ8, TCZ10 ve TCZ16 gruplarındaki sıçanlar ketamin-ksilazin kombinasyonu ile anestezi altına alındıktan sonra alınan akciğer dokusu ve böbrek dokusu örnekleri Qiagen marka TissueLyser II model doku homojenizatöründe çelik bilya ve kavanoz seti kullanılarak sıvı nitrojen içinde öğütüldü. Yaklaşık 200 mg öğütülmüş doku eppendorf tüpte 200 µl hacminde doku lizis tamponu ile 90 saniye boyunca 3 kez homojenize edildi ve örnekler daha sonra en yüksek hızda 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant fosfat tamponlu salin homojenat tamponunda 1:5 oranında dilüe edildi. Daha sonra elde edilen örnek numunelerinden akciğer ve böbrek dokusu NFκB-p65 seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak Biotek marka Epoch Spektrofotometri ve Take 3 Pleyt model cihazda ölçüldü ve konsantrasyon pg/mg cinsinden hesaplandı. ELISA yöntemi kit içeriğinde yer alan manuel kitapçığında ifade edilen şekline uygun olarak yapıldı. ELISA

ölçümünde SunLong Biotech marka rat NFκB-p65 Cat NO.: SL0538Ra ELISA kiti kullanıldı.

### **3.9. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Analizler**

#### **3.9.1. Histopatolojik Analizler**

##### **3.9.1.1. Akciğer ve Böbrek Dokuları Zamana Bağlı Histopatolojik Değişim Analizi**

IL-6 sitokin salınım kinetiği çalışması ratlarından elde edilen akciğer ve böbrek dokuları nötral formalin (%10'luk) solüsyonunda saklandı. Dokular rutin bir şekilde alkol ve ksilol takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Lamlara alınan 4 µm boyutundaki kesitler hematoksilin-eosin boya ile boyanarak histopatolojik bulgular değerlendirildi.

##### **3.9.1.2. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Dokuları Histopatoloji Analizi**

TCZ tedavi çalışmasına katılan sıçanların nekropsileri yapılarak elde edilmiş olan akciğer ve böbrek dokuları nötral formalin (%10'luk) solüsyonunda saklandı. Dokular rutin bir şekilde alkol ve ksilol takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Lamlara alınan 4 µm boyutundaki kesitler hematoksilin-eosin boya ile boyanarak histopatolojik bulgular değerlendirildi.

#### **3.9.2 İmmünohistokimyasal Yöntem**

##### **3.9.2.1. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer ve Böbrek Dokuları İmmünohistokimyasal Analizi**

TCZ tedavi grupları çalışmasına katılan sıçanlardan elde edilen akciğer ve böbrek dokuları polilisin kaplı lamlara alınan 5 µm boyutundaki kesitler ksilol ve alkol ile muamele edilerek, fosfat ile tamponlanmış salin çözeltisi ile yıkandıktan sonra ise %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 10 dakika süre muamele görerek endojen peroksidaz etkinliği baskılandı.

Akciğer ve böbrek dokularındaki antijenleri açığa çıkarmak için antijen retrieval solüsyonu ile örneklerle 2 kez 5 dakika süre ile 500 watt' da muamele edildi. Daha sonra fosfat ile tamponlanmış salin solüsyonu ile yıkanan dokular Tablo 1'deki antikorlar ile 1/150 dilüsyon oranında +4°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Sekonder olarak; Thermofisher marka Large Volume Detection System: anti-Polyvalent, HRP (Katalog no: TP-125-HL) üretici firmanın direktiflerine uygun olarak kullanıldı. Kromojen olarak DAB (3,3'-Diaminobenzidine) kullanıldı. Mayer's Hematoksilen ile zıt boya yapıldıktan sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi. İncelemede akciğer ve böbreklerde tespit edilen immünpozitiflikler yönünden değerlendirildi.

**Tablo 3.1.** İmmünohistokimyasal Analizlerde Kullanılan Primer Antikor Listesi

<b>Antikorlar</b>	<b>Üretici Firma</b>	<b>Katalog No.</b>
JAK2 Monoclonal Antibody	Elabscience	E-AB-22272
p-Jak2 Polyclonal Antibody	Elabscience	E-AB-68172
STAT3 Monoclonal Antibody	Elabscience	E-AB-22119
p- STAT3 Monoclonal Antibody	Santa Cruz	sc-8059
SOCS-3 Monoclonal Antibody	Santa Cruz	sc-518020

### 3.10. İstatistiksel Yöntem

IL-6 sitokin salınım kinetiği tespit çalışması ELISA bulguları, aynı çalışmadan elde edilen akciğer ve böbrek histopatolojisi bulguları, TCZ tedavi grupları çalışması doku ELISA sonuçlarının istatistiksel analizlerinde IBM SPSS 20 istatistik analiz programı ve OriginPro istatistik analiz programı kullanıldı. Veriler data halinde standart sapma, ortalama, medyan, minimum, maksimum, sayı ve yüzde olarak sunuldu. Sürekli değişkenlerin normallik dağılımına Shapiro Wilk-W testi ve Kolmogorov Simirnov testi kullanılarak bakıldı. Üç ve üzeri bağımsız grup ile sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında

ise normal dağılım şartının sağlandığı durumlarda ANOVA testi, sağlanmadığı durumda ise Kruskal Wallis testi tercih edildi. ANOVA testi sonrası post-hoc testler varyanslar homojen olduğunda Tukey testi ile varyansların homojen olmadığı durumlarda ise Tamhane's T2 testi kullanılarak yapıldı. Kruskal Wallis testi sonrası post-hoc testler için Kruskal Wallis one-way ANOVA (k samples) testi tercih edildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak alındı.

Korelasyon testleri iki nicel değişkenin kıyaslanmasında normal dağılım şartı sağlanıyorsa Pearson korelasyonu ile sağlanmıyorsa Spearman korelasyon testi kullanılarak incelendi. 24 saatlik analiz için hiyerarşik aglomeratif kümeleme ve ısı haritalı dendrogram tekniği kullanıldı ve z skoru ile korelasyon değerleri verildi.

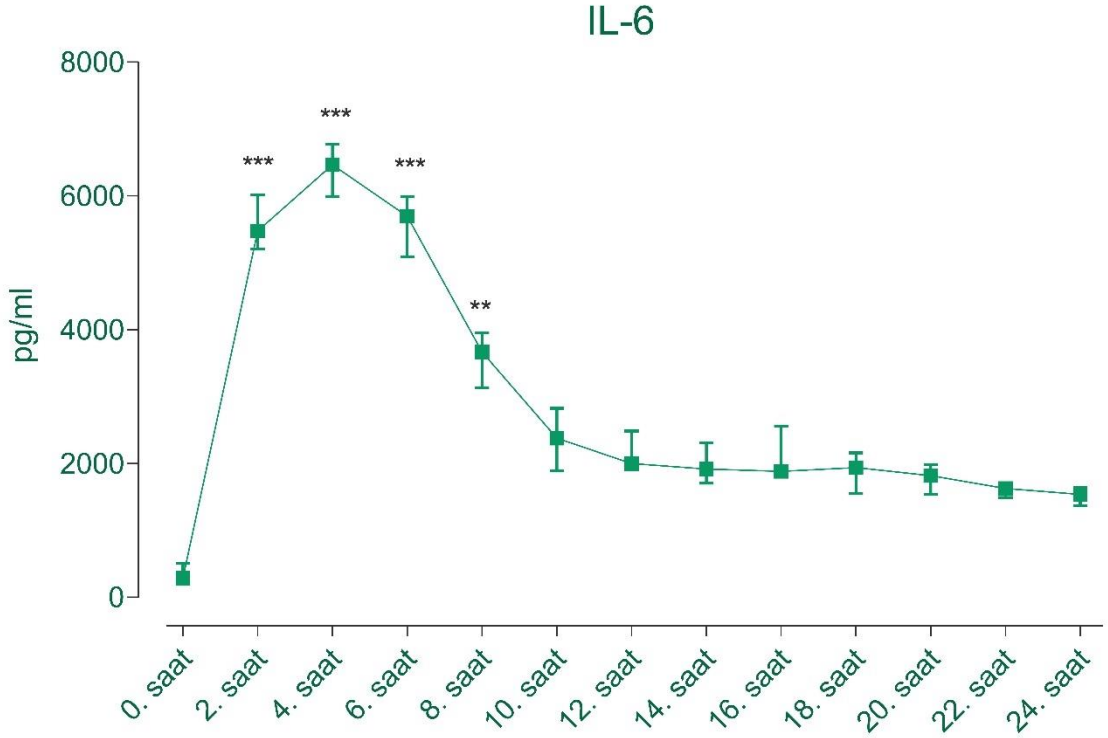
Grupların sağkalım üzerine etkileri sağkalım analizi kullanılarak yapıldı. Hastaların sağkalımları sağkalım analizinde kaplan meier yöntemi ile yapıldı. Sağkalım eğrilerinin karşılaştırmasında Log-Rank testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0,05$  olarak alındı.

TCZ tedavi grupları çalışmasının histopatolojik bulgularının ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının istatistiksel incelemesinde ise gruplar arasındaki farklılık nonparametrik testlerden olan Kruskal Wallis ile; farklılığı oluşturan grup ise Mann Whitney U testi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak alındı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. IL-6 Sitokin Salınım Kinetiği Tespit Sonuçları

Sepsis oluşturulmuş ve 24. saate kadar ikişer saat arayla sakrifiye edilmiş farklı rat gruplarının IL-6 sitokin salınım kinetiği sonuçları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu görülmüştür ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.1). IL-6 seviyesinin 0. saate göre 2. saatte oldukça yükseldiği ardından 4. saatte tepe noktaya ulaştığı ve 6. saatte de 2. saate göre daha yüksek olduğu; ancak 4. saate kıyasla daha düşük seviyede olduğu ve 2., 4. ve 6. saat gruplarının her birinin 0. saat grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklara sahip olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.1.). 8. saat grubu sonuçları incelendiğinde ise IL-6 seviyelerinin 6. saat sonuçlarına göre oldukça düşük olduğu ancak 0. saate göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmüştür ( $p<0.01$ ). Benzer ama daha düşük oranda bir düşüşün de 8. saat ile 10. saat grupları arasında olduğu gözlemlenmiştir. 12. saatten itibaren IL-6 seviyelerinde olan düşüş 24. saate kadar tedricen sürmektedir. Sonuçlarımıza göre LPS ile sepsis indüksiyonundan sonra 2. saat itibariyle artmış olan IL-6 seviyelerinin 4. saatte tepe noktaya ulaşmış olduğu görülmüştür. 4. saatten sonra deneyi sonlandırdığımız 24. saate kadar IL-6 seviyeleri anlamlı bir şekilde düşmeye başlamıştır (Şekil 4.1.)



**Şekil 4.1.** IL-6 Sitokin Salınım Zaman Grafiği

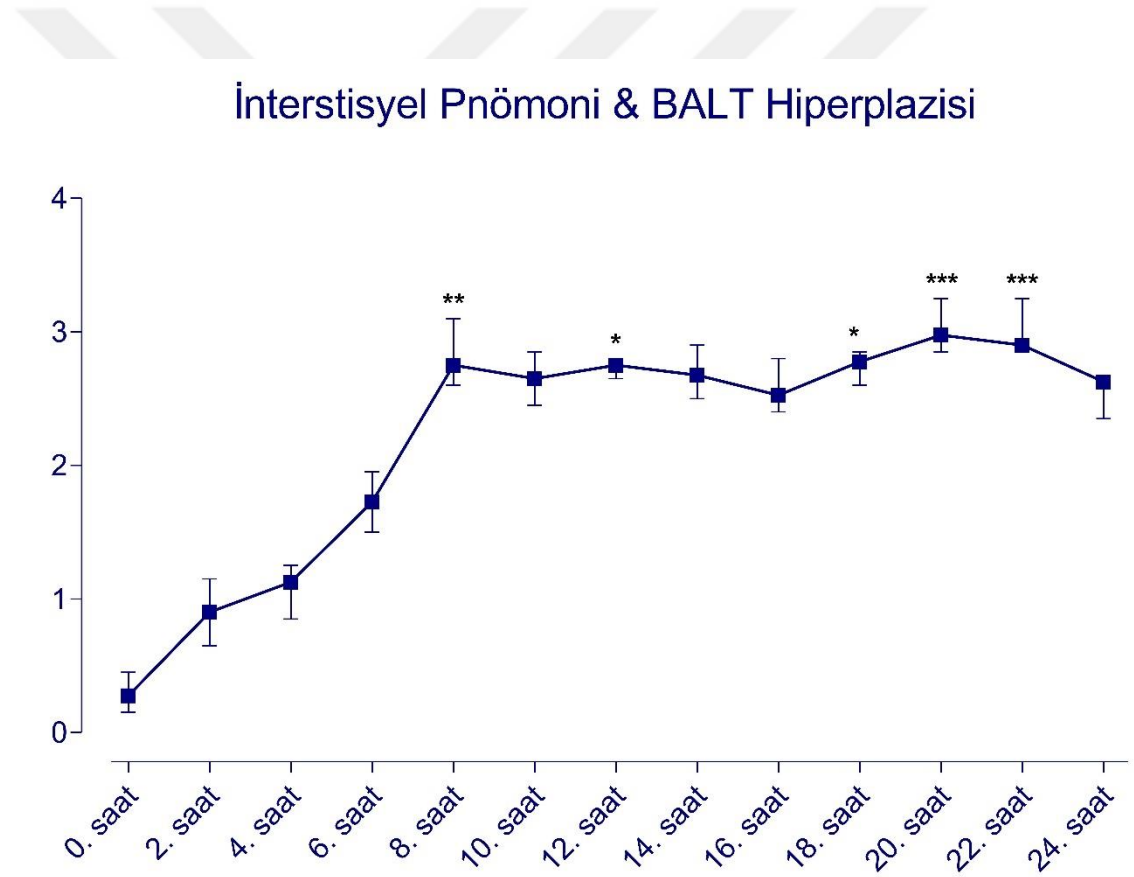
\*\*\* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p < 0.001$  değerindeki farkı, \*\* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p < 0.01$  değerindeki farkı ifade etmektedir

## 4.2. LPS ile Sepsis İndüklenmiş Sıçanlarda 24 Saatlik Sepsis Sürecindeki Akciğer ve Böbrek Dokuları Histopatoloji Bulguları

### 4.2.1. LPS ile Sepsis İndüklenmiş Sıçanlarda 24 Saatlik Sepsis Sürecindeki Akciğer Dokusu Histopatoloji Bulguları

Sepsis oluşturulmuş ve 24. saate kadar ikişer saat arayla sakrifiye edilmiş farklı sıçan gruplarının interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi sonuçları incelenmiştir. Akciğerlerin histopatolojik incelemelerinde sakrifiye edilen gruplar arasında sepsis sürecinde istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.2.). İstatistiksel olarak sonuçlar incelendiğinde 8., 12., 18., 20. ve 22. saat gruplarının 0. saat grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verdiği görülmüştür (Şekil 4.2.).

İnterstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi skorunun 2. saat itibariyle hafif derecede arttığını ve 4., 6. ve 8. saatlerde bu artışın düzenli bir biçimde sürdüğü görülmüştür. 4. saat ve 6. saat sonuçlarının 2. saat grubuna göre oldukça arttığı görülmüştür. 6. saat ile 8. saat sonuçları kıyaslandığında 8. saatte interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi skorunun son derece yükseldiği; istatistiksel olarak 6. saat ile aralarında anlamlı fark olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0.01$ ). Sonuç olarak interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi skorunun 8. saatte tepe noktasına ulaştığını ve daha sonra bu hasarın benzer şekilde 24. saat sonuna kadar sürdüğü görülmüştür (Şekil 4.2.).

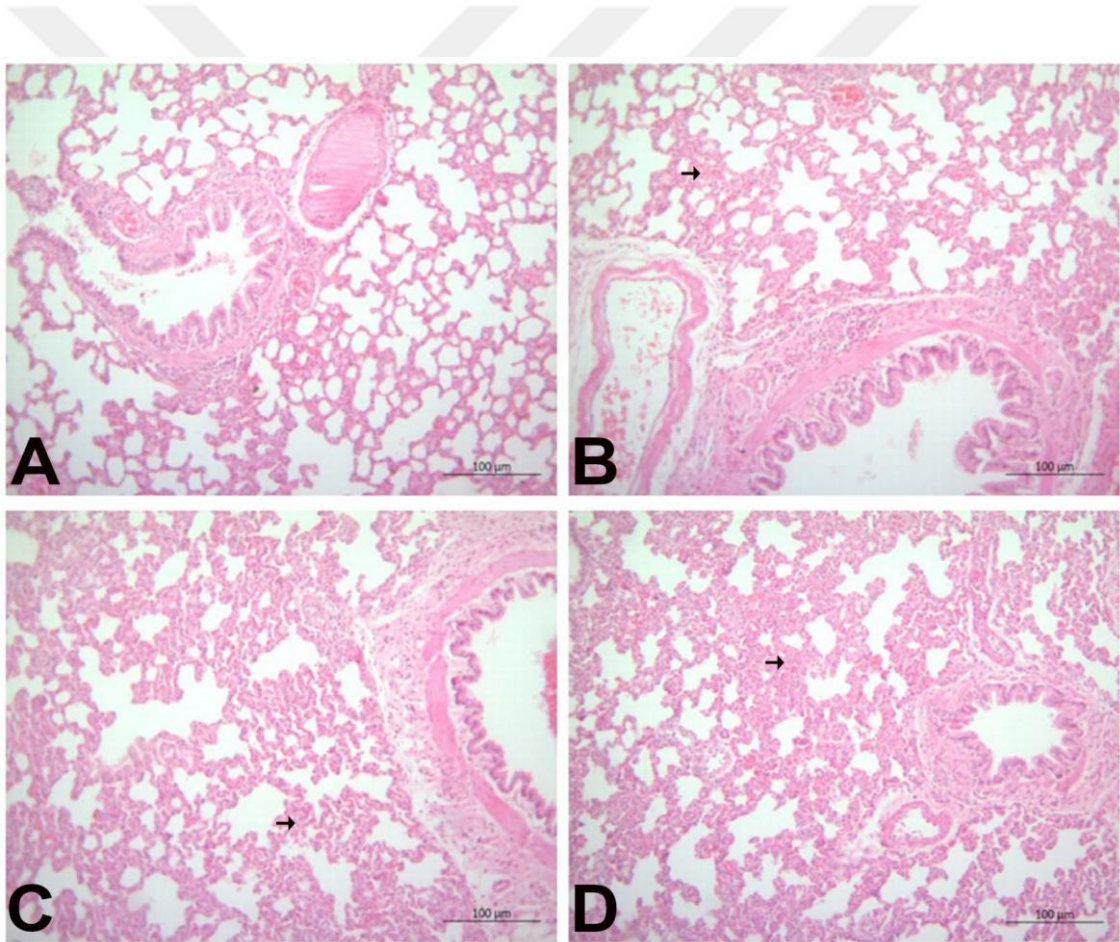


Şekil 4.2. İnterstisyel Pnömoni & BALT Hiperplazisi Skoru Zaman Grafiği

\*\*\* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p<0.001$  değerindeki farkı, \*\* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p<0.01$  değerindeki farkı, \* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p<0.05$  değerindeki farkı ifade etmektedir

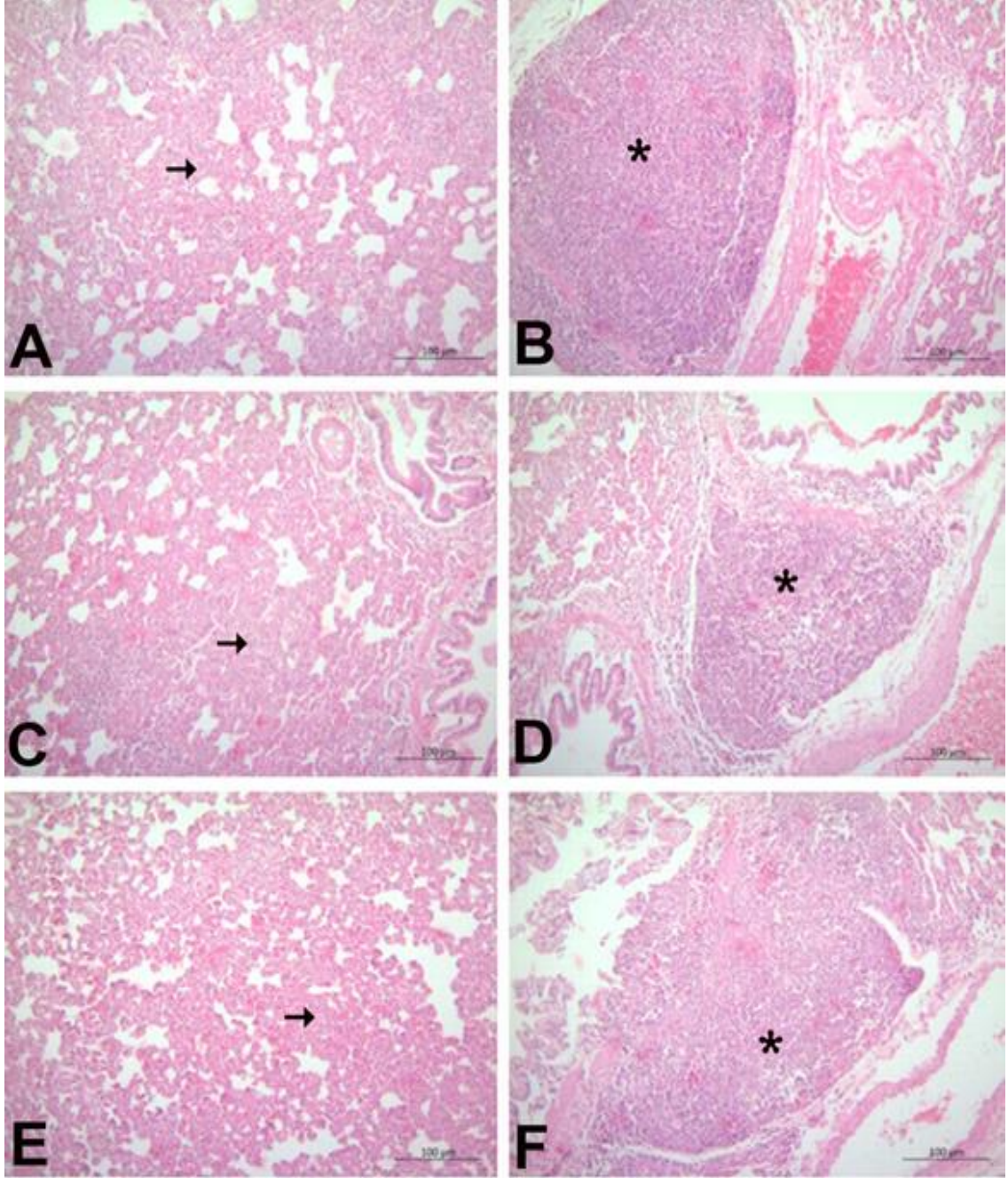
BALT: Bronşla ilişkili lenfoid doku

Sepsis oluşturulmuş ve 24. saate kadar ikişer saat arayla sakrifiye edilmiş farklı sıçan gruplarının yapılan akciğer dokusu histopatolojik incelemesinde 0. saat grubu akciğerlerinin normal histolojik yapıda olduğu görülmüştür. Diğer saat gruplarında görülen histopatolojik değişimler ise interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi şeklinde gözlemlenmiştir. Bu değişimlerden interstisyel pnömoninin 2. saat ve 4. saat grubunda hafif seviyede, 6. saat grubunda orta seviye olduğu gözlemlenmiştir. 8. saat ve sonrası gruplarda ise hem interstisyel pnömoninin hem de BALT hiperplazisinin şiddetli seviyede olduğu görülmüştür (Şekil 4.3.-4.6.).



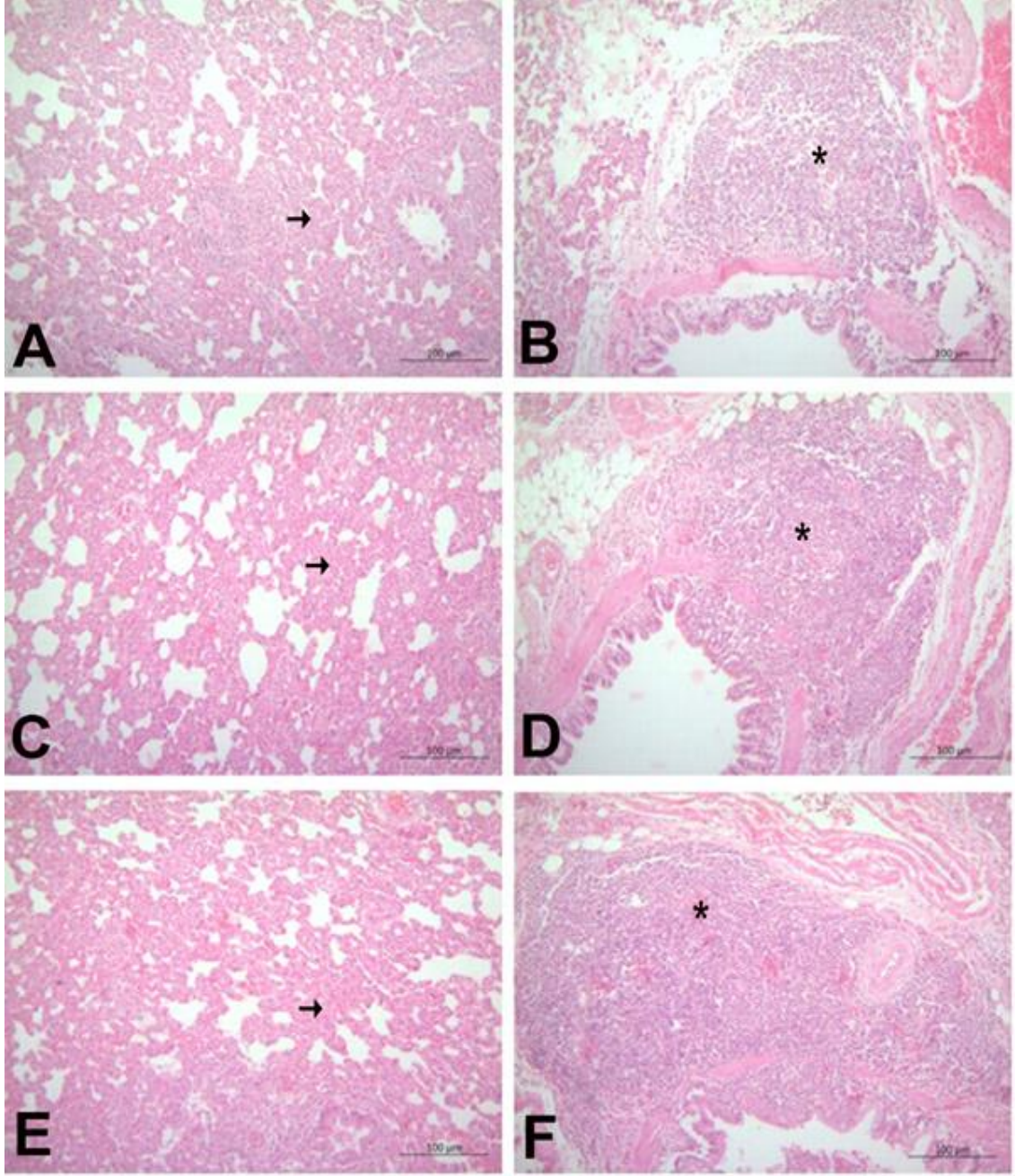
**Şekil 4.3.** 0., 2., 4. ve 6. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi

**A- 0. saat grubu,** Normal histolojik görünüm, **B- 2. saat grubu.** Hafif düzeyde interstisyel pnömoni (ok), **C- 4. saat grubu.** Hafif düzeyde interstisyel pnömoni (→), **D- 6. saat grubu.** Orta düzeyde interstisyel pnömoni (ok), H-E.



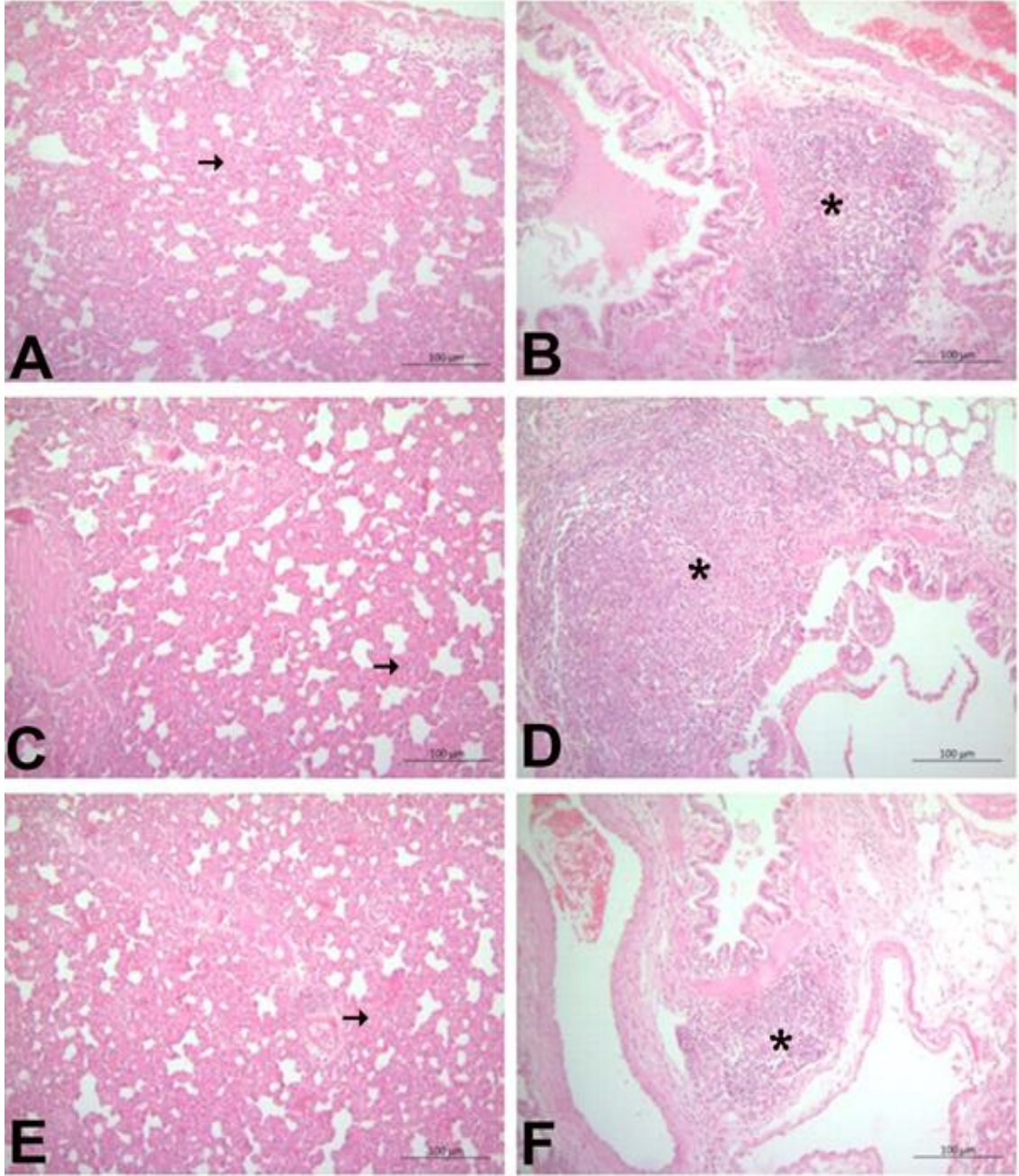
**Şekil 4.4.** 8.,10. ve 12. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi

**A,B-** 8. saat grubu, **C,D-** 10.saat grubu, **E,F-** 12.saat grubu. Şiddetli düzeyde interstisyel pnömoni (→) ve şiddetli düzeyde BALT hiperplazisi (\*), H-E.



**Şekil 4.5.** 14.,16. ve 18. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi

**A,B-** 14. saat grubu, **C,D-** 16.saat grubu, **E,F-** 18. saat grubu. Şiddetli düzeyde interstisyel pnömoni (→) ve şiddetli düzeyde BALT hiperplazisi (\*), H-E.



**Şekil 4.6.** 20., 22. ve 24. saat grupları İnterstisyel Pnömoni ve BALT Hiperplazisi İncelemesi

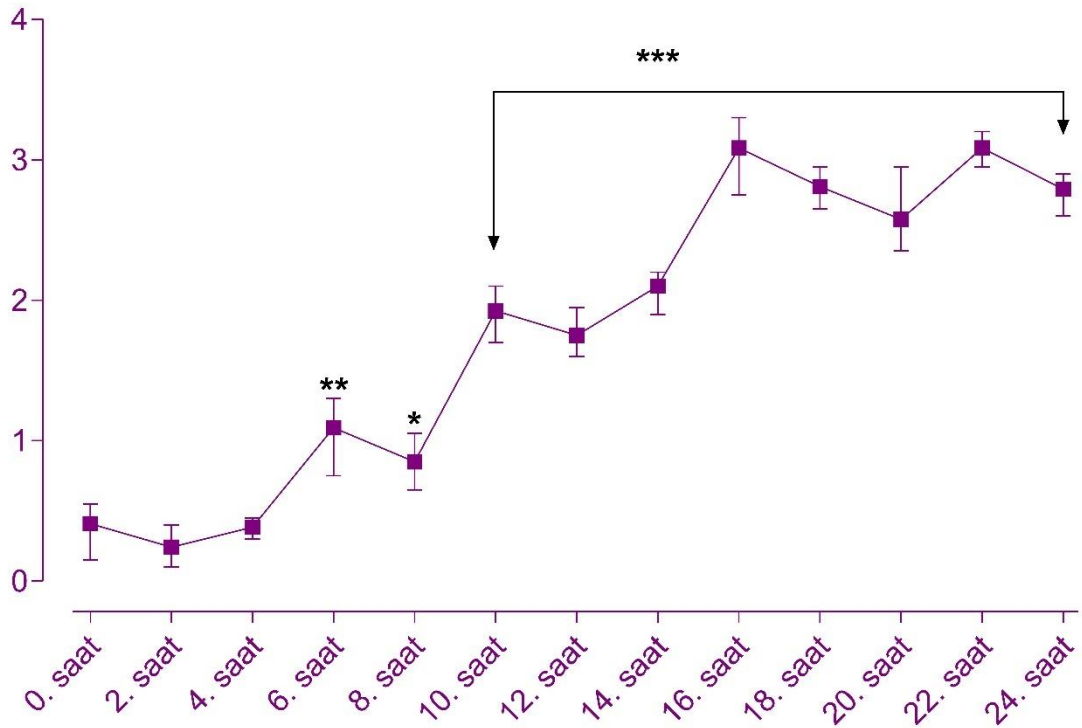
**A,B-** 20. saat grubu, **C,D-** 22. saat grubu, **E,F-** 24. saat grubu. Şiddetli düzeyde interstisyel pnömoni (→) ve şiddetli düzeyde BALT hiperplazisi (\*), H-E.

#### **4.2.2. LPS ile Sepsis İndüklenmiş Sıçanlarda 24 Saatlik Sepsis Sürecindeki Böbrek Histopatolojisi Bulguları**

Sepsis oluşturulmuş ve 24. saate kadar ikişer saat arayla sakrifiye edilmiş farklı rat gruplarının böbrek dokularında tübüler dejenerasyon ve intertübüler hemoraji

sonuçları incelenmiştir. Böbreklerin histopatolojik incelemelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.7.). Yapılan incelemelerde 0. saat sonuçları ile 6. saat ve sonraki saat sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdiği gözlemlenmiştir ( $p<0.001$ ). 2. ve 4. saat gruplarının ise birbiriyle aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.7.) LPS ile sepsis uyarımından sonraki 24 saatlik zaman dilimine bakıldığında sepsis böbrek hasarının 6. saatte istatistiksel olarak anlamlı olmaya başladığını ve 16. saatte ise intertübüler hemoraji ve tübüler dejenerasyon hasarının tepe noktasına ulaşarak 24 saat sonuna kadar aynı seviyede kaldığı gözlemlenmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.7.).

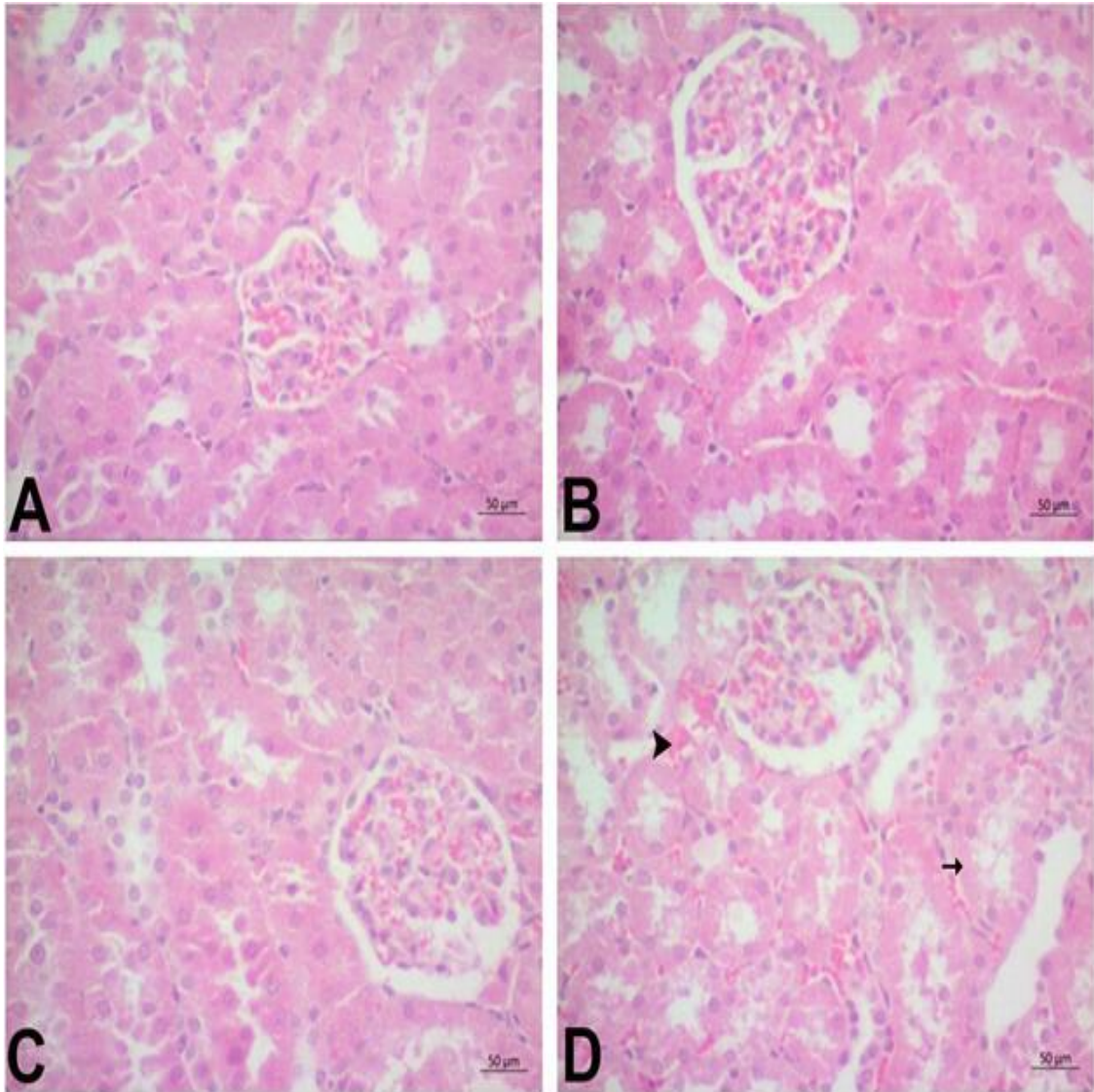
### Tübüler Dejenerasyon ve İntertübüler Hemoraji



Şekil 4.7. Tübüler Dejenerasyon & İntertübüler Hemoraji-Zaman Grafiği

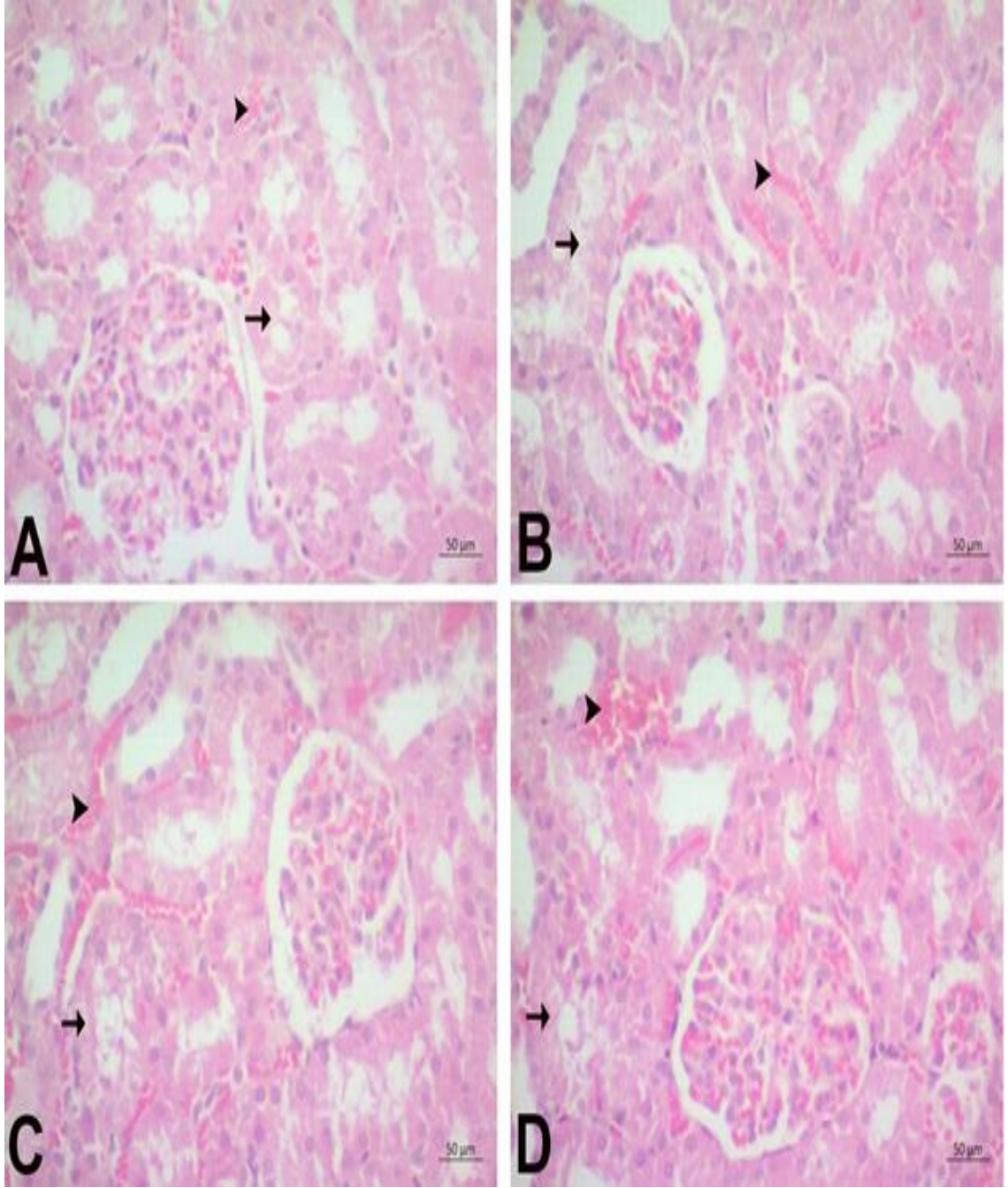
\*\*\* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p<0.001$  değerindeki farkı, \*\* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p<0.01$  değerindeki farkı, \* 0. saat grubu ile istatistiksel olarak  $p<0.05$  değerindeki farkı ifade etmektedir.

Sepsis oluşturulmuş ve 24. saate kadar ikişer saat arayla sakrifiye edilmiş farklı sıçan gruplarının böbrek dokusu histopatolojik incelemelerinde 0. saat, 2. saat ve 4. saat gruplarının normal histolojik yapıda olduğu görülmüştür. 6. ve 8. saat gruplarında hafif düzeyde intertübüler hemoraji ve tübüler dejenerasyon görülmüştür. 10., 12. ve 14. saat gruplarında bu histopatolojik bulguların orta düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. 16. saat ve sonrasındaki tüm gruplarda ise intertübüler hemoraji ve tübüler dejenerasyonun şiddetli düzeyde olduğu görülmüştür (Şekil 4.8.-4.10.).



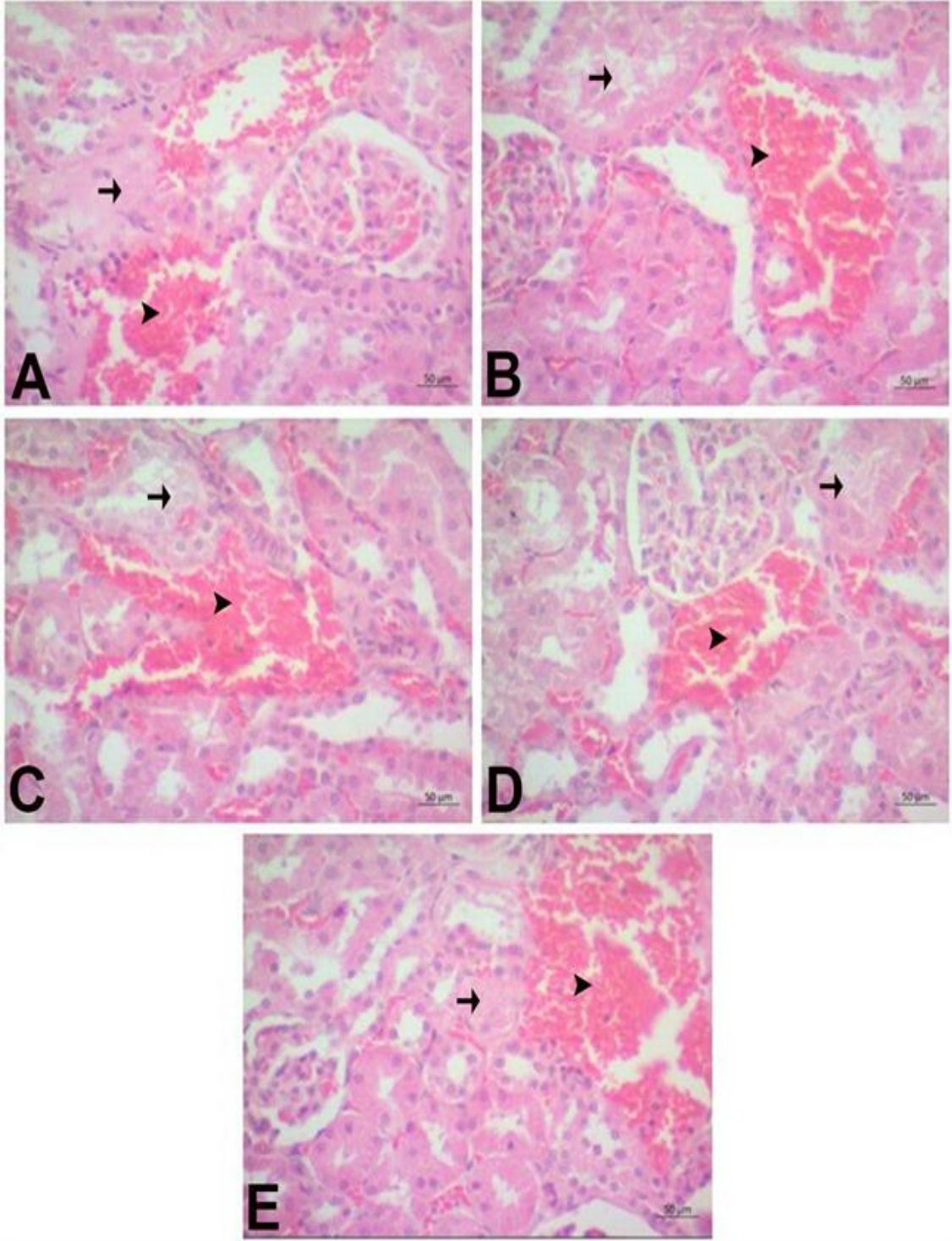
**Şekil 4.8.** 0., 2., 4. ve 6. saat grupları Tübüler Dejenerasyon ve İntertübüler Hemorajisi İncelemesi

**A- 0. saat grubu, B- 2.saat grubu, C- 4. saat grubu.** Normal histolojik görünüm, **D- 6. saat grubu.** Hafif düzeyde intertübüler hemoraji (►) ve tübüler dejenerasyon (→), H-E.



**Şekil 4.9.** 8., 10., 12. ve 14. saat grupları Tübüler Dejenerasyon ve İntertübüler Hemorajisi İncelemesi

**A- 8. saat grubu,** Hafif düzeyde intertübüler hemoraji (►) ve tübüler dejenerasyon (→), **B- 10.saat grubu,** C- **12. saat grubu,** D- **14. saat grubu.** Orta düzeyde intertübüler hemoraji (►) ve tübüler dejenerasyon (→), H-E.



**Şekil 4.10.** 16., 18., 20., 22. ve 24. saat grupları Tübüler Dejenerasyon ve İntertübüler Hemorajisi İncelemesi

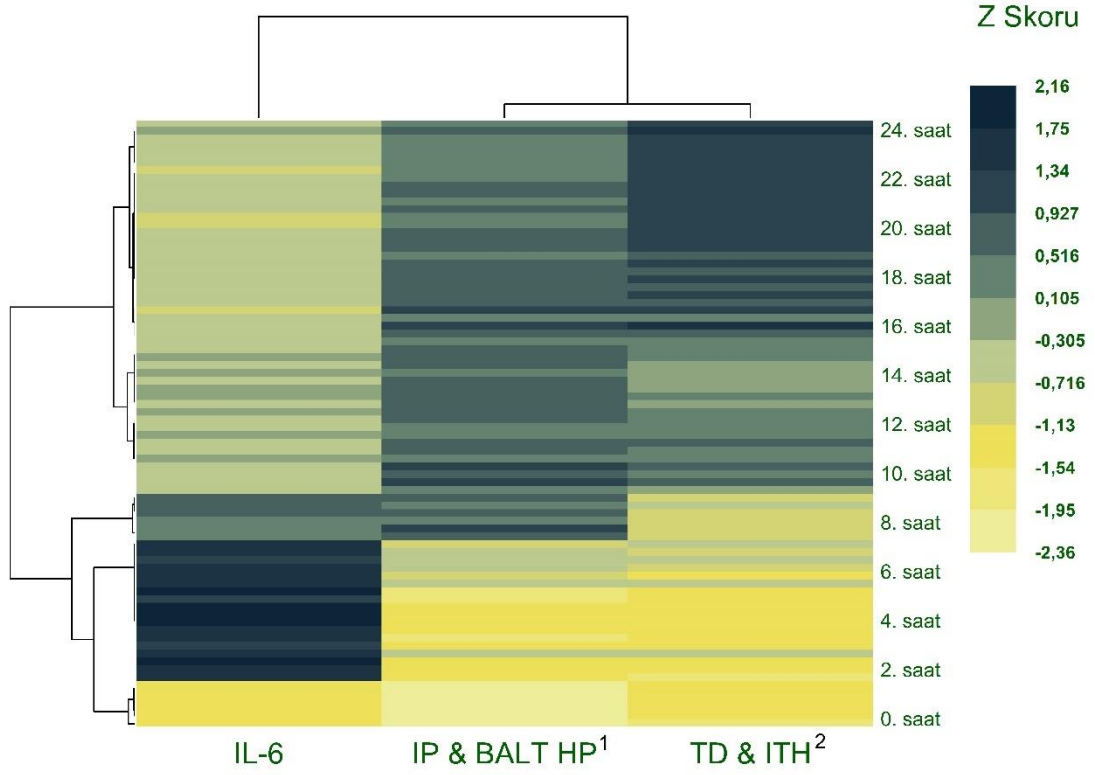
**A- 16. saat grubu, B- 18.saat grubu, C- 20. saat grubu, D- 22. saat grubu, E- 24. saat grubu, Şiddetli düzeyde intertübüler hemoraji (►) ve tübüler dejenerasyon (→), H-E.**

### 4.3. Korelasyon Sonuçları

#### 4.3.1. Sepsiste Sitokin Seviyeleri ve Organ Hasarı Sonuçlarının Korelasyonu

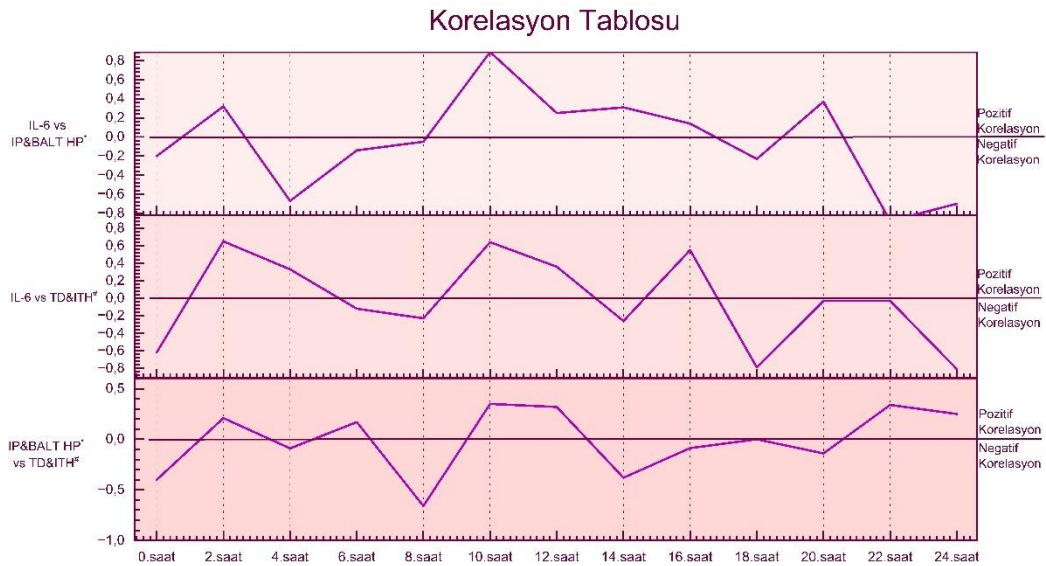
IL-6, interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi ve tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçları 24 saatlik zaman dilimi içerisinde incelenerek birbirleriyle ve süreçle korelasyon sonuçları belirlendi. IL-6 sonuçları incelendiğinde; IL-6 seviyelerinin 0. saatte en düşük seviyelerde seyrettiği ancak 2. saatte ve 6. saatte yükseldiği; 4. saatte ise tepe noktasına ulaştığını görülmüştü. Isı haritalı dendrogram ile z skoru sonuçlarına bakıldığında IL-6 sonuçlarının 2., 4. ve 6. saatlerin süreç ile yüksek derecede pozitif korelasyon verdiğini gözlemlenmiştir (Şekil 4.11., 4.12.). Yani 6. saate kadar IL-6 zamana göre artış göstermiştir. 8. saat IL-6 sonuçlarının 6. saate göre düşmüş olduğu incelenmiştir. 8. saat z skoru sonuçlarının ise 2., 4. ve 6. saat sonuçlarına göre daha az derece pozitif korelasyon sonucu verdiğini gözlemlenmiştir (Şekil 4.11., 4.12.). 10. saatten itibaren IL-6 sonuçlarının tepe noktası sonuçlara göre anlamlı bir şekilde düştüğünü gözlemlenmişti. Sonuçlar incelendiğinde IL-6 seviyesinin süreç ile olan korelasyonunun düşük ve orta derecede negatif z skoru değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Özetle; 6. saatten sonra IL-6 seviyesi zamana bağlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.11., 4.12.). İnterstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi sonuçları incelendiğinde 0. saatte normal histolojik sonuçlar geldiği, 2. ve 4. saat sonuçlarında hafif derecede pnömoni geliştiği, 6. saatte ise orta derecede pnömoni geliştiği ve 8. saat ve sonraki saat gruplarında ise şiddetli düzeyde pnömoni gözlemlenmişti. Sepsisteki süre ile akciğer interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi sonuçlarının korelasyonu özetlenecek olursa 8. saate kadar akciğer hasarının zamana bağlı olarak korele olmadığı; yalnız 8. saatten sonra zamana bağlı olarak akciğer hasarının 24. saate kadar arttığı ve bu artışın zamana bağlı şekilde devam ettiği istatistiksel olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.11., 4.12.).

Tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçları incelendiğinde ilk 4 saate ait grupların normal histolojik görünümüne sahip olduğu, 6. ve 8. saat gruplarının hafif derecede tübüler hasar ve hemorajiye sahip olduğu, 10., 12. ve 14. saat gruplarının orta derecede tübüler hasar ve hemorajiye sahip olduğu ve 16. saat ve sonraki grupların ise şiddetli derecede tübüler hasar ve hemorajiye sahip olduğu gözlemlenmişti. Tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçlarının zaman ile olan ilişkisini incelediğimizde normal histolojiye sahip olan ve hafif derecede histopatoloji bulgusu veren grupların orta ve düşük derecede negatif z skoruna sahip olduğu ve bu saat dilimlerinde zaman ile negatif korelasyon gösterdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.11., 4.12.). Orta derecede ve şiddetli düzeyde histopatoloji bulgusu veren grupların zaman ile olan korelasyonları incelendiğinde yüksek ve orta derecede pozitif z skoruna sahip oldukları ve bu saat dilimleri içinde zaman ile pozitif korelasyon verdikleri görülmüştür. Özetle; sepsiste zamana bağlı böbrek hasarının korelasyonu sepsis oluşturulduktan sonraki 14. saate kadar herhangi bir anlamlı hasar oluşmadığı için zamana bağlı negatif korelasyon ile sonuçlandığı, 16. saatten sonra ise zamana bağlı olarak böbrek hasarının arttığı ve pozitif korele olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.11., 4.12.).



**Şekil 4.11.** Hiyerarşik Aglomeratif Kümeleme ve Isı Haritalı Dendrogram

1 İnterstisyel Pnömoni & BALT Hiperplazisi, 2 Tübüler Dejenerasyon & İntertübüler Hemoraji



**Şekil 4.12.** Saatlik Korelasyon İzlem Tablosu

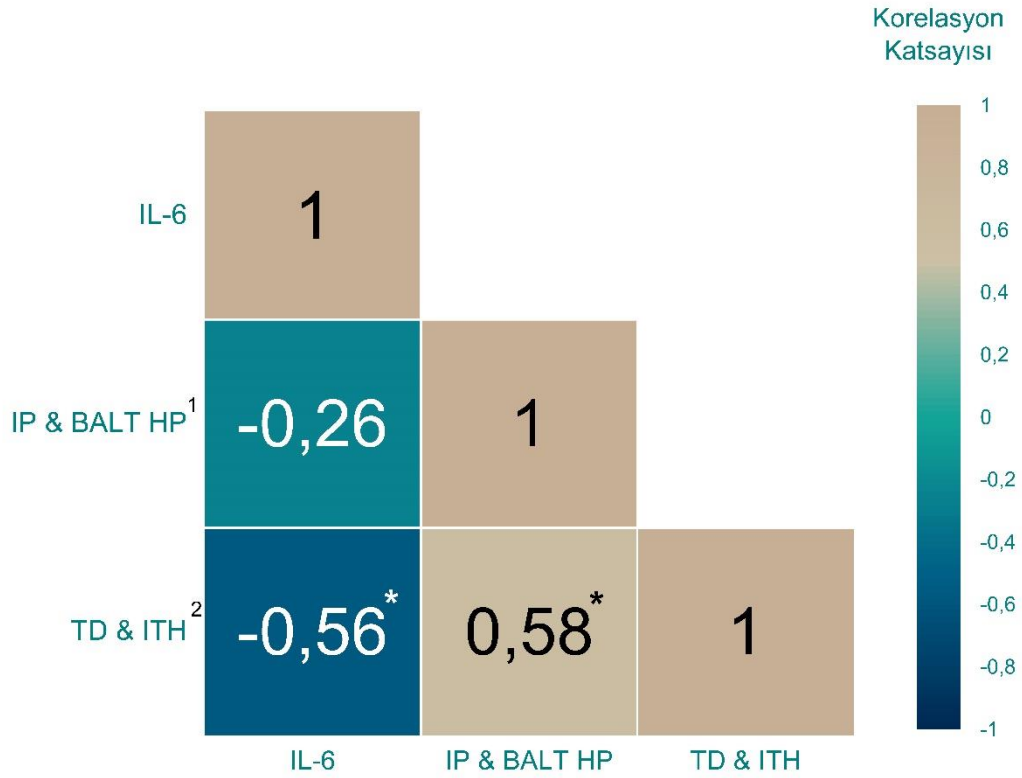
\*İnterstisyel Pnömoni & BALT Hiperplazisi, #Tübüler Dejenerasyon & İntertübüler Hemoraji

IL-6, interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi ve tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçları 24 saatlik deney içinde her saat için birbirleriyle Spearman korelasyon testine tabi tutulmuştur ve korelasyon katsayısı sonuçları verilmiştir. IL-6 ve interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi sonuçları incelendiğinde; IL-6'nın 24 saatlik süreçte genel olarak interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi sonuçlarının düşük derecede seyrettiği zaman diliminde yüksek sonuçlar verdiğini ve IL-6'nın organ hasarı oluşturmaya başladıktan sonra kan seviyesi olarak düştüğü zaman aralığında ise interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi skorlarının yükselmiş olduğu gözlemlenmiştir. 24 saatlik total süreç incelendiği zaman yapılan spearman korelasyon testi sonucu IL-6 ve interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi sonuçlarının birbirleriyle negatif korelasyon verdiği gözlemlenmiştir. Özetle; IL-6'nın tepe noktasına ulaşacağı süreye kadar interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisinin gelişmeye başladığı, IL-6'nın en yüksek seviyesinde ise organ hasarının tepe noktasına ulaştığı ve daha sonra IL-6 seviyesi ne kadar düşerse düşün organ hasarının devam ettiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.13.).

IL-6 ve tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçları incelendiğinde; IL-6'nın 24 saatlik deney sürecinde genel olarak tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçlarının düşük derecede seyrettiği zaman diliminde yüksek sonuçlar verdiğini ve IL-6'nın organ hasarını oluşturmaya başladıktan sonra kan seviyesi olarak düşmeye başladığı zaman aralığında ise tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji skorlarının yükselmiş olduğu gözlemlenmiştir. 24 saatlik total süreç incelendiği zaman yapılan spearman korelasyon testi sonucu IL-6 ve tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçlarının birbirleriyle negatif korelasyon verdiği gözlemlendi. Özetle; IL-6 seviyelerinin en yüksek olduğu saatten sonra böbrek hasarının başladığı, böbrek hasarının devam ederken IL-6 seviyesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Yalnız bu korelasyon sonucu akciğer hasarı

sonuçlarından farklı olarak sepsisin daha ileriki saatlerinde oluşmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.13.).

İnterstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi ve tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçları incelendiğinde; her iki sonucunda süreç içinde düşük seviyede seyrettikleri ve yüksek seviyede seyrettikleri zaman dilimlerinin yaklaşık olarak aynı olduğu gözlemlenmişti. 24 saatlik total süreç incelendiği zaman yapılan spearman korelasyon testi sonucu interstisyel pnömoni-BALT hiperplazisi ve tübüler dejenerasyon-intertübüler hemoraji sonuçlarının birbiriyle pozitif korelasyon verdiği gözlemlenmiştir ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. Spearman Korelasyon Testi

<sup>1</sup> İnterstisyel Pnömoni & BALT Hiperplazisi, <sup>2</sup> Tübüler Dejenerasyon & İntertübüler Hemoraji,

\* istatistiksel olarak  $p<0.05$  değerindeki farkı ifade etmektedir

#### 4.4. Tosilizumab Tedavi Grupları Histopatoloji ve İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları

##### 4.4.1. Tosilizumab Tedavi Grupları Histopatoloji Bulguları

LPS ile sepsis oluşturulduktan sonra birbirlerinden farklı saatlerde TCZ tedavisi alan gruplar ile yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının histopatolojik incelemelerinde akciğer dokularında interstisyel pnömoni ve interstisyel hemoraji bulguları gözlemlenmiştir. Tespit edilen bu histopatolojik bulgular açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (Tablo 4.1.).

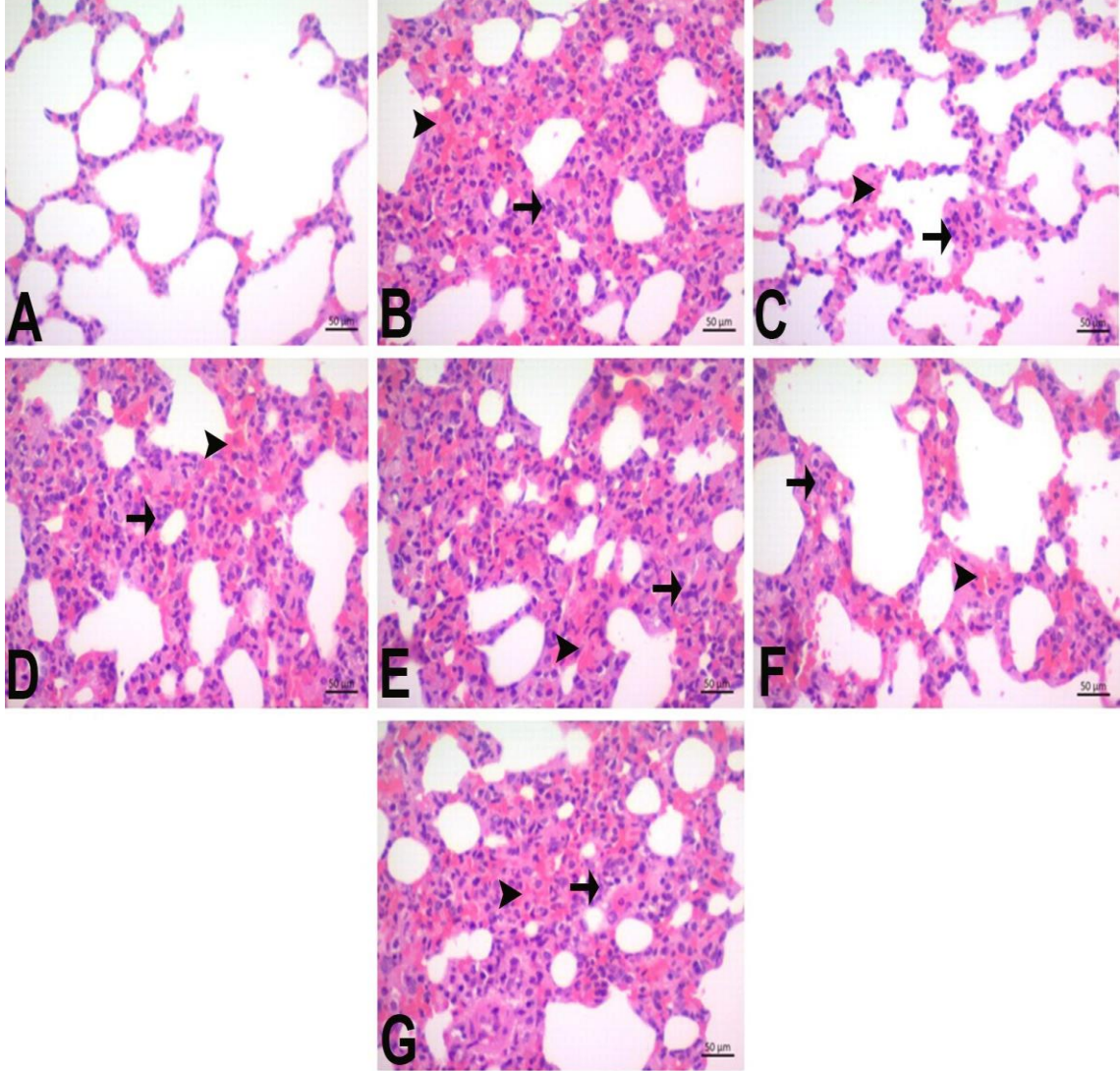
**Tablo 4.1.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu Histopatoloji Bulguları İstatistiksel Veri Tablosu.

<sup>a,b,c,d</sup> Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Gruplar	İnterstisyel Pnömoni	İnterstisyel Hemoraji
Sağlıklı	0,33±0,51a	0,16±0,40a
Sepsis	2,83±0,40b	2,83±0,40b
TCZ-1	1,16±0,40c	1,00±0,00c
TCZ-6	2,83±0,40b	2,66±0,51b
TCZ-8	2,66±0,51b	2,83±0,40b
TCZ-10	2,16±0,40d	2,00±0,00d
TCZ-16	2,83±0,40b	2,66±0,51b

LPS ile sepsis oluşturulduktan sonra birbirlerinden farklı saatlerde TCZ tedavisi alan gruplar ile yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının akciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir. Sağlıklı grubu sıçanlarının akciğer dokularının normal histolojik yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Sepsis oluşturulmuş gruplarda akciğerlerde görülen histopatolojik değişimler ise interstisyel alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonlarına bağlı olarak şekillenen interstisyel pnömoni ve interstisyel

hemoraji olarak gözlemlenmiştir. Bu histopatolojik bulguların Sepsis, TCZ-6, TCZ-8 ve TCZ-16 gruplarında şiddetli, TCZ-10 grubunda orta, TCZ-1 grubunda ise hafif düzeyde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.14.).



**Şekil 4.14.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu Histopatoloji Bulguları

**A- Sağlıklı grubu,** Normal histolojik görünüm. **B- Sepsis grubu,** Şiddetli düzeyde interstisyel pnömoni ve hemoraji, **C- TCZ-1 grubu,** Hafif düzeyde interstisyel pnömoni ve hemoraji, **D- TCZ-6 grubu** ve **E- TCZ-8 grubu,** Şiddetli düzeyde interstisyel pnömoni ve hemoraji, **F- TCZ-10 grubu,** Orta düzeyde interstisyel pnömoni ve hemoraji, **G- TCZ-16 grubu,** Şiddetli düzeyde interstisyel pnömoni ve hemoraji.

(İntersitisyel pnömoni: →, hemoraji: ▶) Akciğer, H-E.

LPS ile sepsis oluşturulduktan sonra birbirlerinden farklı saatlerde TCZ tedavisi alan gruplar ile yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının histopatolojik

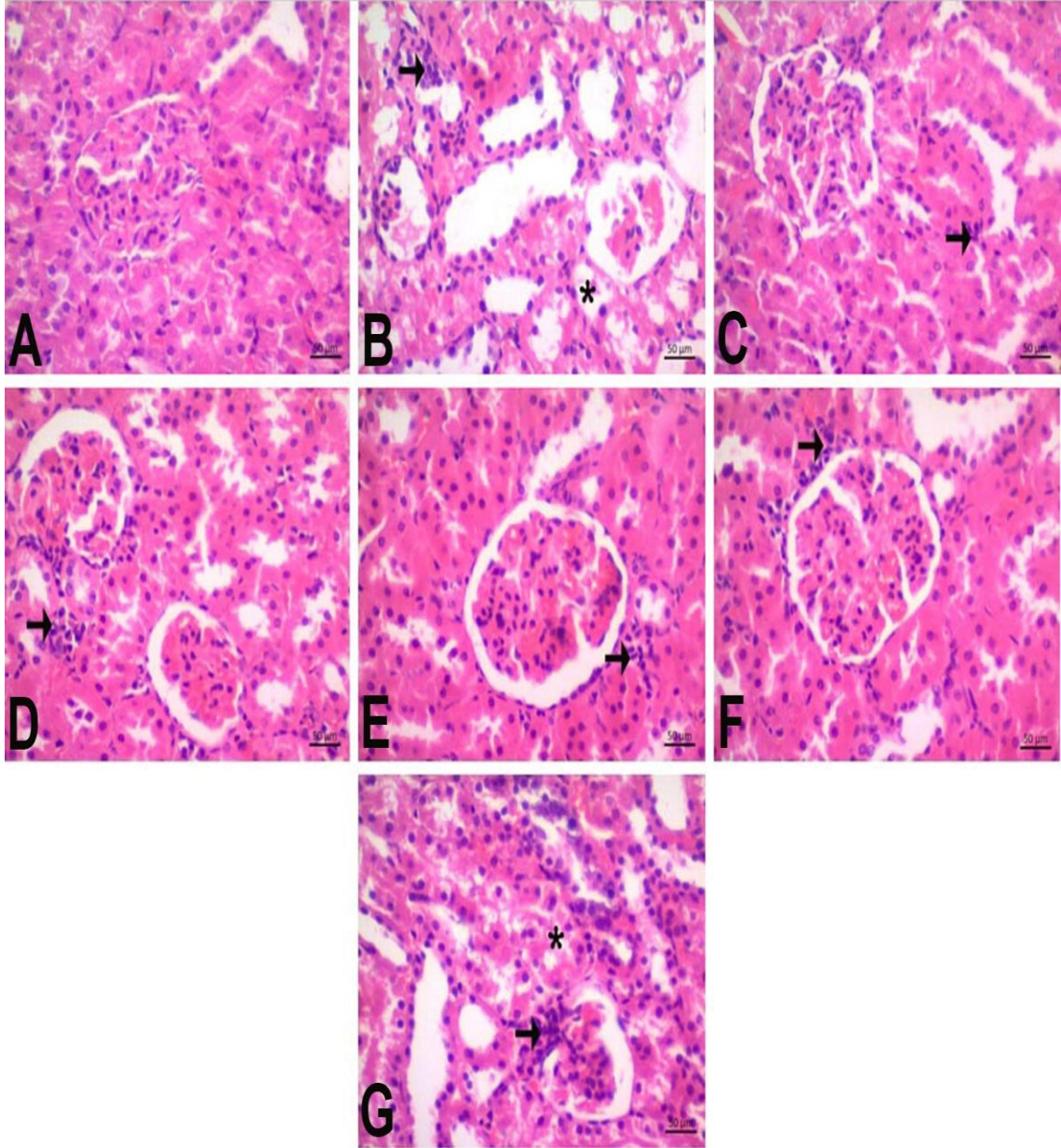
incelemelerinde böbrek dokularında interstisyel nefritis ve tübüler dejenerasyon bulguları gözlemlenmiştir. Tespit edilen bu histopatolojik bulgular açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (Tablo 4.2.).

**Tablo 4.2.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu Histopatoloji Bulguları İstatistiksel Veri Tablosu.

<sup>a,b,c,d</sup> Gruplar arası farklılığı göstermektedir ( $p<0.05$ ).

Gruplar	İnterstisyel Nefritis	Tübüler Dejenerasyon
Sağlıklı	0,16±0,40a	0,16±0,40a
Sepsis	2,66±0,51b	1,44±0,40b
TCZ-1	1,16±0,40c	0,33±0,51a
TCZ-6	2,00±0,00d	0,33±0,51a
TCZ-8	2,16±0,40d	0,16±0,40a
TCZ-10	2,00±0,00d	0,33±0,51a
TCZ-16	2,83±0,40b	1,66±0,51b

LPS ile sepsis oluşturulduktan sonra birbirlerinden farklı saatlerde TCZ tedavisi alan gruplar ile yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının histopatolojik incelemelerinde sağlıklı grubu sıçanlarının böbrek dokularının normal histolojik yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Sepsis oluşturulmuş gruplarda ise böbreklerde görülen histopatolojik bulgular, intertübüler alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonları ile birlikte oluşan interstisyel nefritis ve tübüler dejenerasyon şeklinde olmuştur. Sepsis oluşturulmuş gruplarda ise interstisyel nefritisin Sepsis ve TCZ-16 grubunda şiddetli, TCZ-6, TCZ-8 ve TCZ-10 grubunda orta, TCZ-1 grubunda ise hafif düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. Tübüler dejenerasyon Sepsis ve TCZ-16 orta düzeyde görülürken, diğer ilaç gruplarında bu histopatolojik bulguya rastlanılmamıştır (Şekil 4.15.).



**Şekil 4.15.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu Histopatoloji Bulguları

**A- Sağlıklı grubu,** Normal histolojik görünüm. **B- Sepsis grubu,** Şiddetli düzeyde interstisyel nefritis ve orta düzeyde tübüler dejenerasyon, **C- TCZ-1 grubu,** Hafif düzeyde interstisyel nefritis, **D- TCZ-6 grubu, E- TCZ-8 ve F- TCZ-10 grubu,** Orta düzeyde interstisyel nefritis, **G- TCZ-16 grubu,** Şiddetli düzeyde interstisyel nefritis ve orta düzeyde tübüler dejenerasyon, (İntersitisyel nefritis: →, tübüler dejenerasyon: ►) Böbrek, H-E.

#### 4.4.2. Tosilizumab Tedavi Grupları İmmünohistokimyasal Analiz Bulguları

LPS ile sepsis oluşturulduktan sonra birbirlerinden farklı saatlerde TCZ tedavisi alan gruplar ile yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının immünohistokimyasal olarak

JAK-2, p-JAK-2, STAT3, p-STAT3 ve SOCS-3 ile yapılan boyamalarında akciğer dokularında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (Tablo 4.3.).

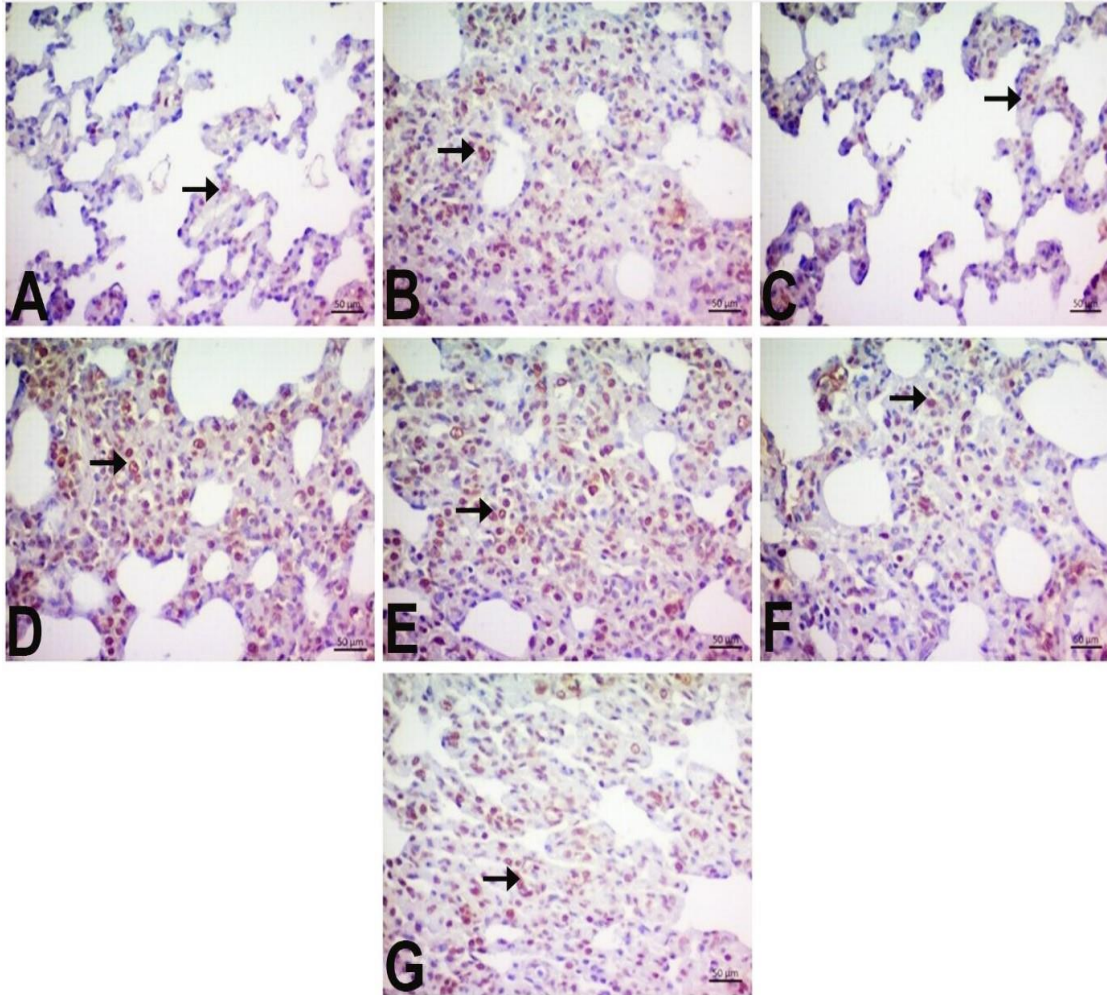
**Tablo 4.3.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokuları İmmünohistokimyasal Boyama İstatistiksel Veri Tablosu

<sup>a,b,c,d</sup> Aynı sütundaki gruplar arası farklılığı göstermektedir (p <0.05) <sup>A,B,C</sup> Aynı satırdaki gruplar arası farklılığı göstermektedir (p <0.05)

Gruplar	JAK-2	p-JAK-2	STAT3	p-STAT3	SOCS-3
Sağlıklı	0,83±0,40 <sup>aA</sup>	0,16±0,40 <sup>aA</sup>	0,83±0,40 <sup>aB</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aA</sup>
Sepsis	3,00±0,00 <sup>bA</sup>	1,33±0,51 <sup>bB</sup>	3,00±0,00 <sup>bA</sup>	1,83±0,40 <sup>bC</sup>	1,00±0,00 <sup>bB</sup>
TCZ-1	1,16±0,40 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>	0,83±0,40 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>
TCZ-6	3,00±0,00 <sup>cA</sup>	1,00±0,00 <sup>bB</sup>	2,16±0,40 <sup>cC</sup>	0,83±0,40 <sup>cB</sup>	0,83±0,40 <sup>bB</sup>
TCZ-8	3,00±0,00 <sup>cA</sup>	1,16±0,40 <sup>bB</sup>	2,00±0,00 <sup>cC</sup>	0,83±0,40 <sup>cB</sup>	0,83±0,40 <sup>bB</sup>
TCZ-10	1,83±0,40 <sup>dA</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>	1,16±0,40 <sup>aC</sup>	0,83±0,40 <sup>cC</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>
TCZ-16	2,83±0,40 <sup>bA</sup>	2,16±0,40 <sup>cB</sup>	2,16±0,40 <sup>cB</sup>	1,83±0,40 <sup>bB</sup>	0,66±0,51 <sup>bC</sup>

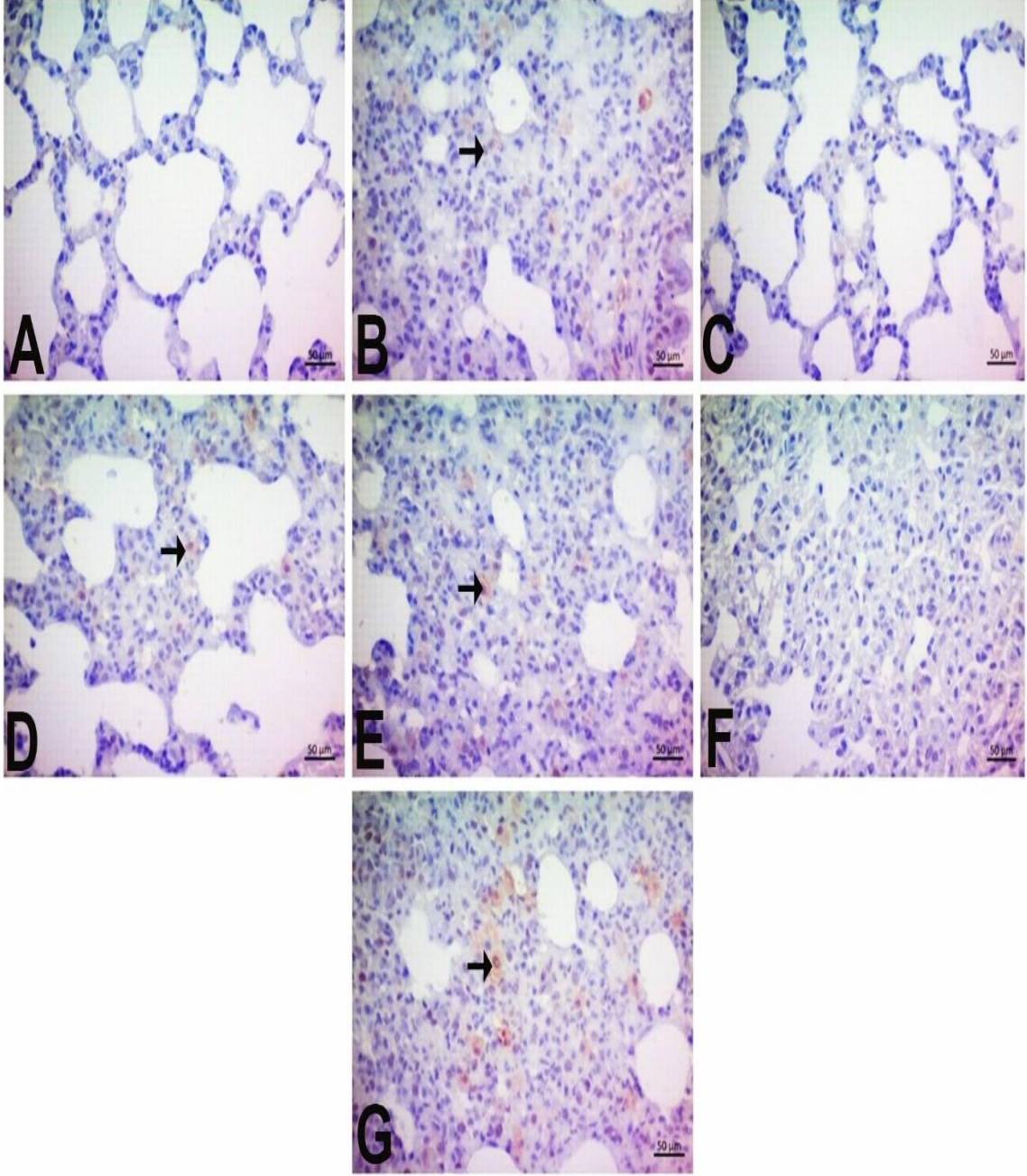
TCZ tedavi grupları çalışması Sağlıklı grubu akciğer örneklerinde JAK-2 ve STAT3 immunpozitifliği hafif düzeyde tespit edilirken, fosforile JAK-2 ile fosforile STAT3 ve SOCS-3 immunpozitifliği önemli düzeyde tespit edilememiştir. Sepsis oluşturulmuş gruplarda genel olarak JAK-2 ve STAT3 immunpozitifliğinin p-JAK-2, p-STAT3 ve SOCS-3'e göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. JAK-2 immunpozitifliği Sepsis, TCZ-6, TCZ-8 ve TCZ-16 gruplarında şiddetli, TCZ-10'da orta, TCZ-1 ile Sağlıklı grupta hafif düzeyde görülmüştür. STAT3 immunpozitifliği ise Sepsis grubunda şiddetli, TCZ-6, TCZ-8 ve TCZ-16 gruplarında orta, Sağlıklı, TCZ-1 ve TCZ-10 gruplarında ise hafif olarak belirlenmiştir. Fosforile JAK-2, fosforile STAT3 ile SOCS-3 immünpozitiflikleri genel olarak sepsis oluşturulmuş gruplarda hafif olarak

belirlenmiştir. Bunlardan p-JAK-2 immünpozitifliğine sadece TCZ-16 grubunda orta düzeyde, Sepsis, TCZ-6, TCZ-8 gruplarında ise hafif düzeyde rastlanmıştır. Sağlıklı gruba ile TCZ-1 ve TCZ-10 gruplarında önemli düzeyde p-JAK-2 pozitifliği tespit edilememiştir. SOCS-3’te görülen immünpozitiflikler de p-STAT3 immünpozitifliklerine benzer şekildedir. Fakat p-STAT3’ten farklı olarak Sepsis ve TCZ-16 grubundaki SOCS-3 immünpozitifliği hafif şekilde gözlemlenmiştir. Sağlıklı, TCZ-1 ve TCZ-10 gruplarında önemli düzeyde SOCS-3 immünpozitifliği görülmemiştir. p-STAT3 immünpozitifliği ise Sepsis ve TCZ-16’da orta, TCZ-6, TCZ-8 ve TCZ-10’da hafif olarak belirlenmiştir (Şekil 4.16.-4.20.).



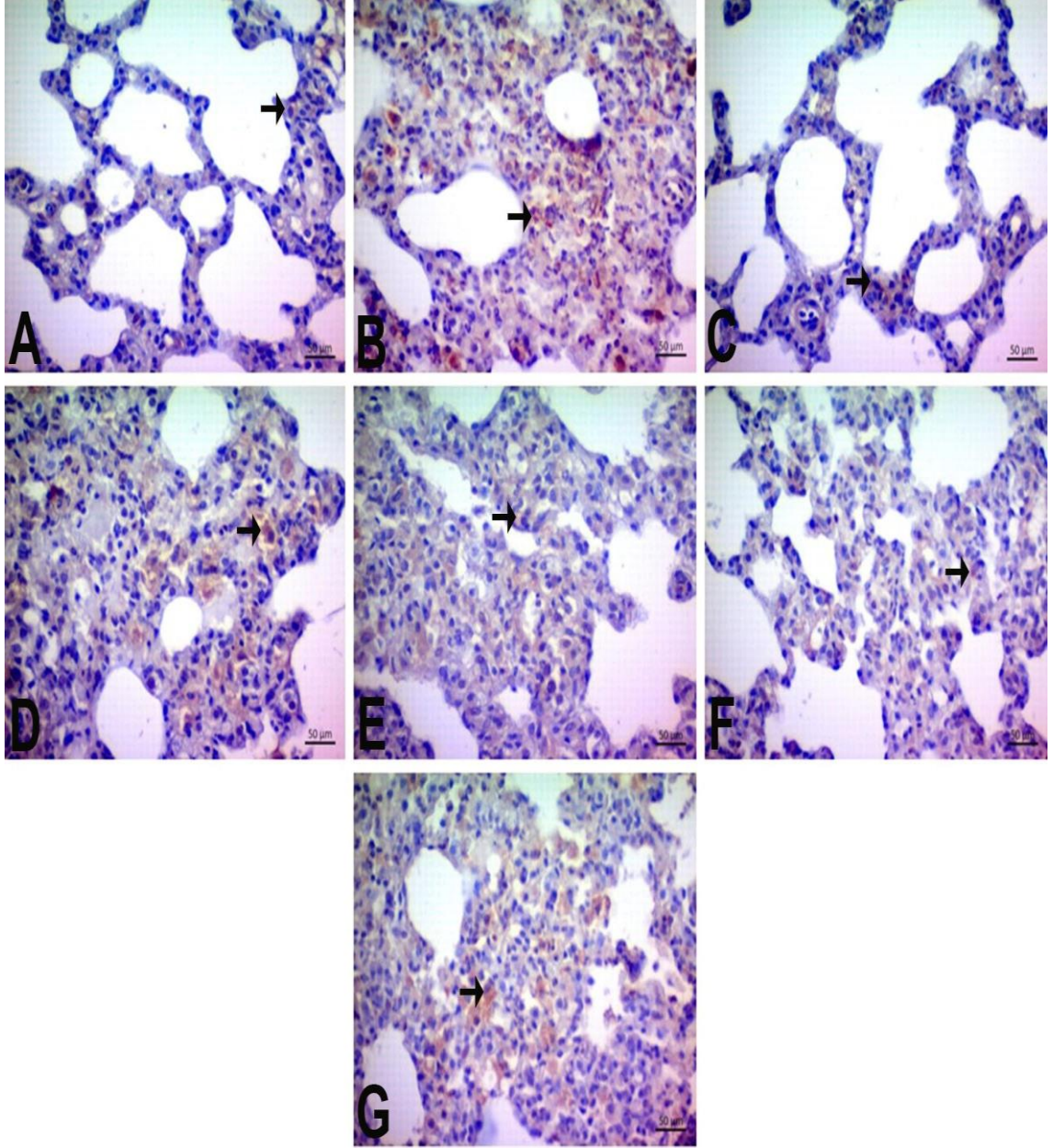
**Şekil 4.16.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu JAK-2 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu**, Hafif düzeyde; **B- Sepsis grubu**, Şiddetli düzeyde; **C- TCZ-1 grubu**, Hafif düzeyde;  
**D- TCZ-6 grubu**, Şiddetli düzeyde; **E- TCZ-8 grubu**, Şiddetli düzeyde; **F- TCZ-10 grubu**, Orta  
düzeyde; **G- TCZ-16 grubu**, Şiddetli düzeyde; immünpozitiflikler, (→) Akciğer, IHC.



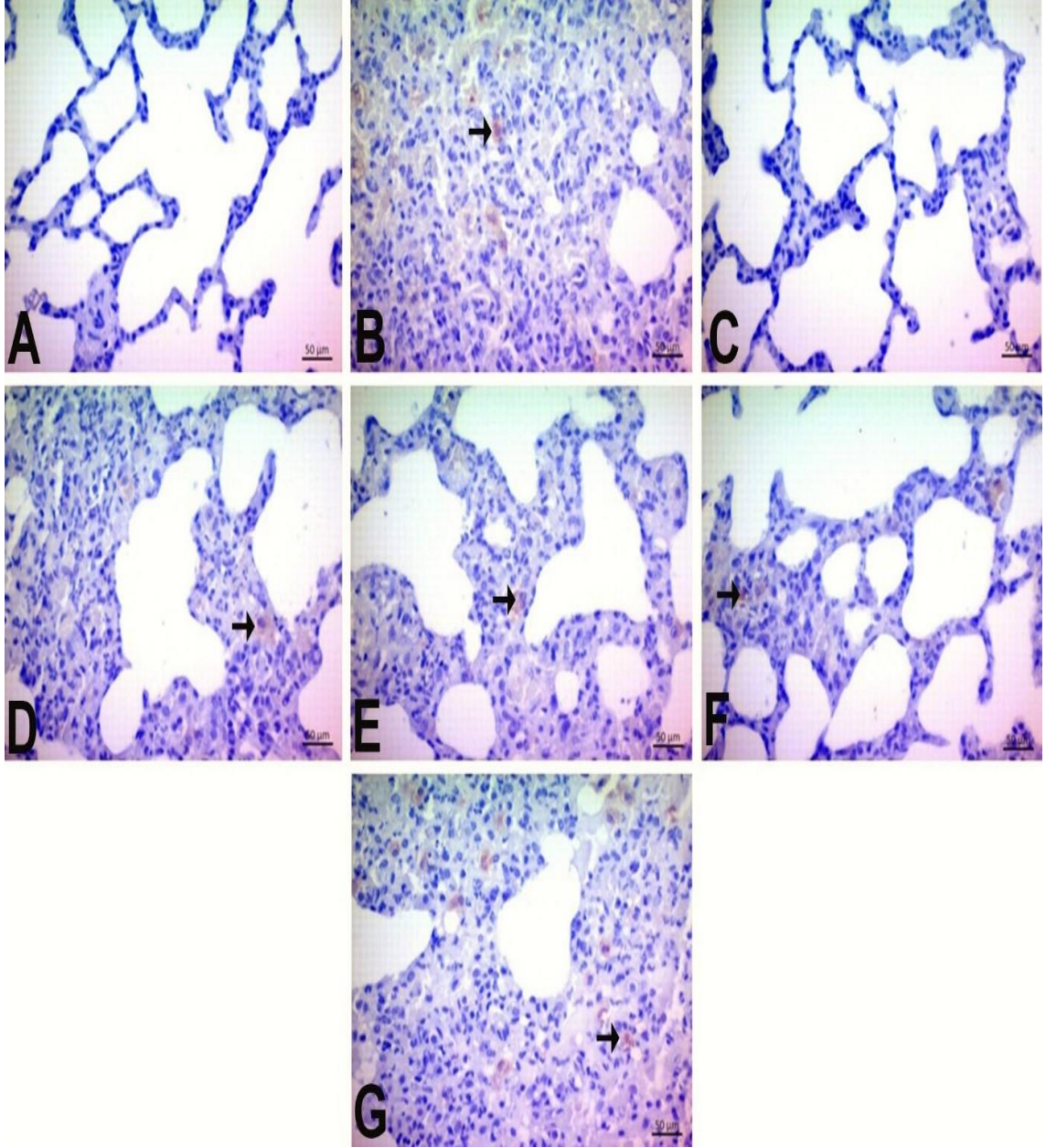
**Şekil 4.17.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu pJAK-2 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu**, İmmün negatiflik, **B- Sepsis grubu**, Hafif düzeyde immünpozitiflik, **C- TCZ-1 grubu**, immün negatiflik, **D- TCZ-6 grubu**, Hafif düzeyde immünpozitiflik, **E- TCZ-8 grubu**, Hafif düzeyde immünpozitiflik, **F- TCZ-10 grubu**, immün negatiflik, **G- TCZ-16 grubu**, Orta düzeyde immünpozitiflik, (→) Akciğer, IHC.



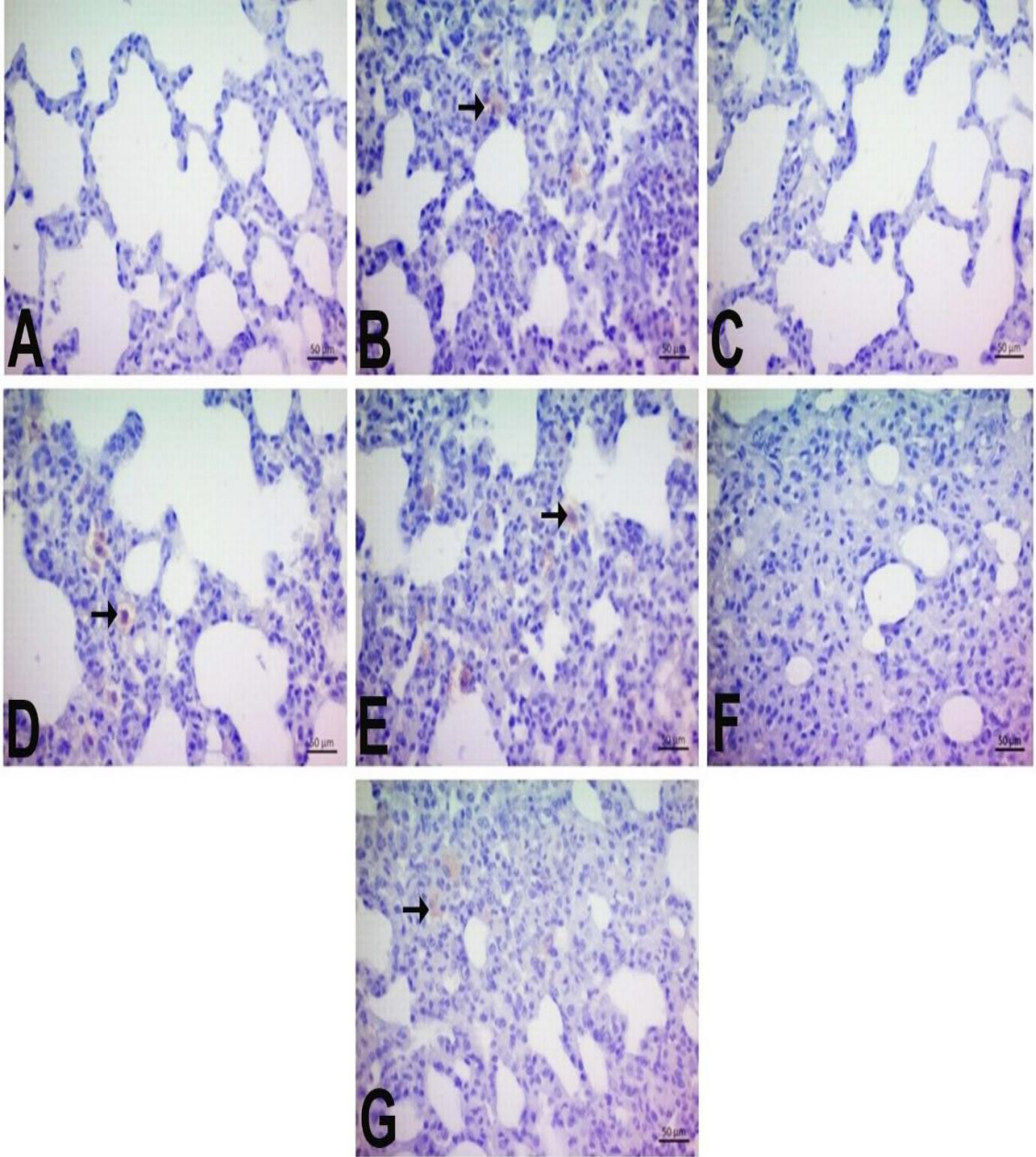
**Şekil 4.18.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu STAT3 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu,** Hafif düzeyde; **B- Sepsis grubu,** Şiddetli düzeyde; **C- TCZ-1 grubu,** Hafif düzeyde; **D- TCZ-6 grubu,** Orta düzeyde; **E- TCZ-8 grubu,** Orta düzeyde; **F- TCZ-10 grubu,** Hafif düzeyde; **G- TCZ-16 grubu,** Orta düzeyde; immünpozitiflik, (→) Akciğer, IHC.



**Şekil 4.19.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu pSTAT3 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu,** İmmün negatiflik; **B- Sepsis grubu,** Orta düzeyde immünpozitiflik; **C- TCZ-1 grubu,** İmmün negatiflik; **D- TCZ-6 grubu,** Hafif düzeyde; **E- TCZ-8 grubu,** Hafif düzeyde; **F- TCZ-10 grubu,** Hafif düzeyde; **G- TCZ-16 grubu,** Orta düzeyde; immünpozitiflik, (→) Akciğer, IHC



**Şekil 4.20.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu SOCS3 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu,** İmmün negatiflik; **B- Sepsis grubu,** Hafif düzeyde immünpozitiflik; **C- TCZ-1 grubu,** İmmün negatiflik; **D- TCZ-6 grubu,** Hafif düzeyde; **E- TCZ-8 grubu,** Hafif düzeyde immünpozitiflik; **F- TCZ-10 grubu,** İmmün negatiflik; **G- TCZ-16 grubu,** Hafif düzeyde immünpozitiflik; (→) Akciğer, IHC.

LPS ile sepsis oluşturulduktan sonra birbirlerinden farklı saatlerde TCZ tedavisi alan gruplar ile yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının immünohistokimyasal olarak

JAK-2, p-JAK-2, STAT3, p-STAT3 ve SOCS-3 ile yapılan boyamalarında böbrek dokularında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.4.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokuları İmmünohistokimyasal Boyama İstatistiksel Veri Tablosu

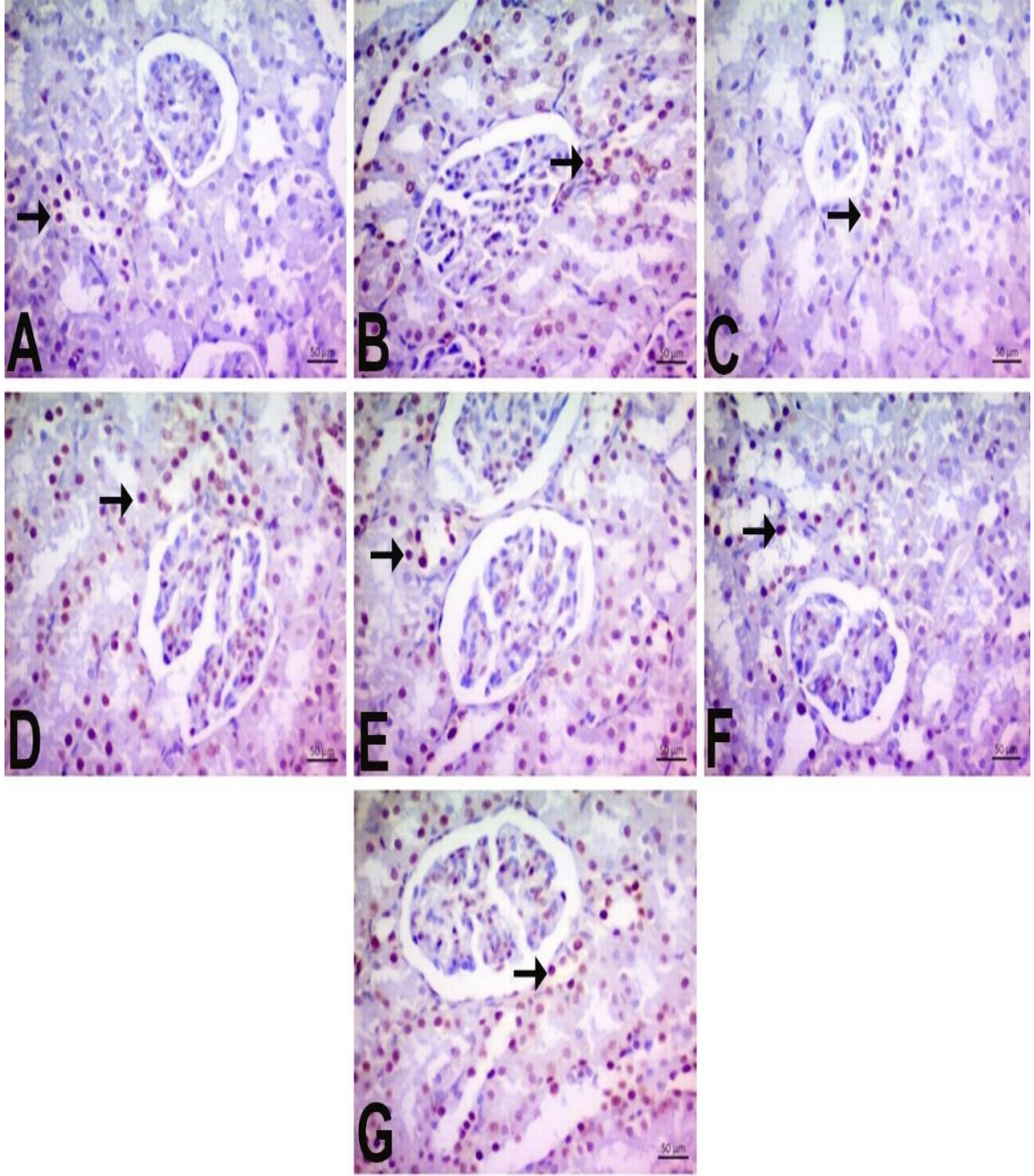
<sup>a,b,c,d</sup> Aynı sütundaki gruplar arası farklılığı göstermektedir (p <0.05) <sup>A,B,C</sup> Aynı satırdaki gruplar arası farklılığı göstermektedir (p <0.05)

Gruplar	JAK-2	p-JAK-2	STAT3	p-STAT3	SOCS-3
Sağlıklı	0,83±0,40 <sup>aA</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>	0,83±0,40 <sup>aA</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>
Sepsis	3,00±0,00 <sup>bA</sup>	0,83±0,40 <sup>bB</sup>	2,83±0,40 <sup>bA</sup>	1,83±0,40 <sup>bC</sup>	1,16±0,40 <sup>bB</sup>
TCZ-1	0,83±0,40 <sup>cA</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>	0,83±0,40 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>
TCZ-6	2,83±0,40 <sup>bA</sup>	0,33±0,51 <sup>aB</sup>	2,66±0,51 <sup>bA</sup>	0,83±0,40 <sup>cC</sup>	1,83±0,40 <sup>cD</sup>
TCZ-8	3,00±0,00 <sup>bA</sup>	0,33±0,51 <sup>aB</sup>	1,83±0,40 <sup>cC</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>	0,83±0,40 <sup>bD</sup>
TCZ-10	1,66±0,51 <sup>dA</sup>	0,16±0,40 <sup>aB</sup>	1,66±0,51 <sup>aA</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>	0,00±0,00 <sup>aB</sup>
TCZ-16	3,00±0,40 <sup>bA</sup>	0,83±0,40 <sup>bB</sup>	2,66±0,51 <sup>bA</sup>	1,83±0,40 <sup>bC</sup>	1,83±0,40 <sup>cC</sup>

TCZ tedavi grupları çalışması Sağlıklı grubu böbrek örneklerinde JAK-2 ve STAT3 immunpozitifliği hafif düzeyde belirlenmiştir. Fosforile JAK-2 ile fosforile STAT3 ve SOCS-3 immünpozitiflikleri ise önemli düzeyde tespit edilememiştir. Sepsis oluşturulmuş gruplarda JAK-2 ve STAT3 immünpozitifliklerinin p-JAK-2, p-STAT3 ve SOCS-3'e göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. JAK-2 immunpozitifliği Sepsis, TCZ-6, TCZ-8 ve TCZ-16 gruplarında şiddetli, TCZ-10'da orta, TCZ-1 ile Sağlıklı grupta hafif düzeyde gözlemlenmiştir. STAT3 immunpozitifliği ise Sepsis, TCZ-6 ile TCZ-16 gruplarında şiddetli, TCZ-8 ve TCZ-10 gruplarında orta, Sağlıklı ile TCZ-1'de ise hafif olarak belirlenmiştir. Fosforile JAK-2, fosforile STAT3 ile SOCS-3

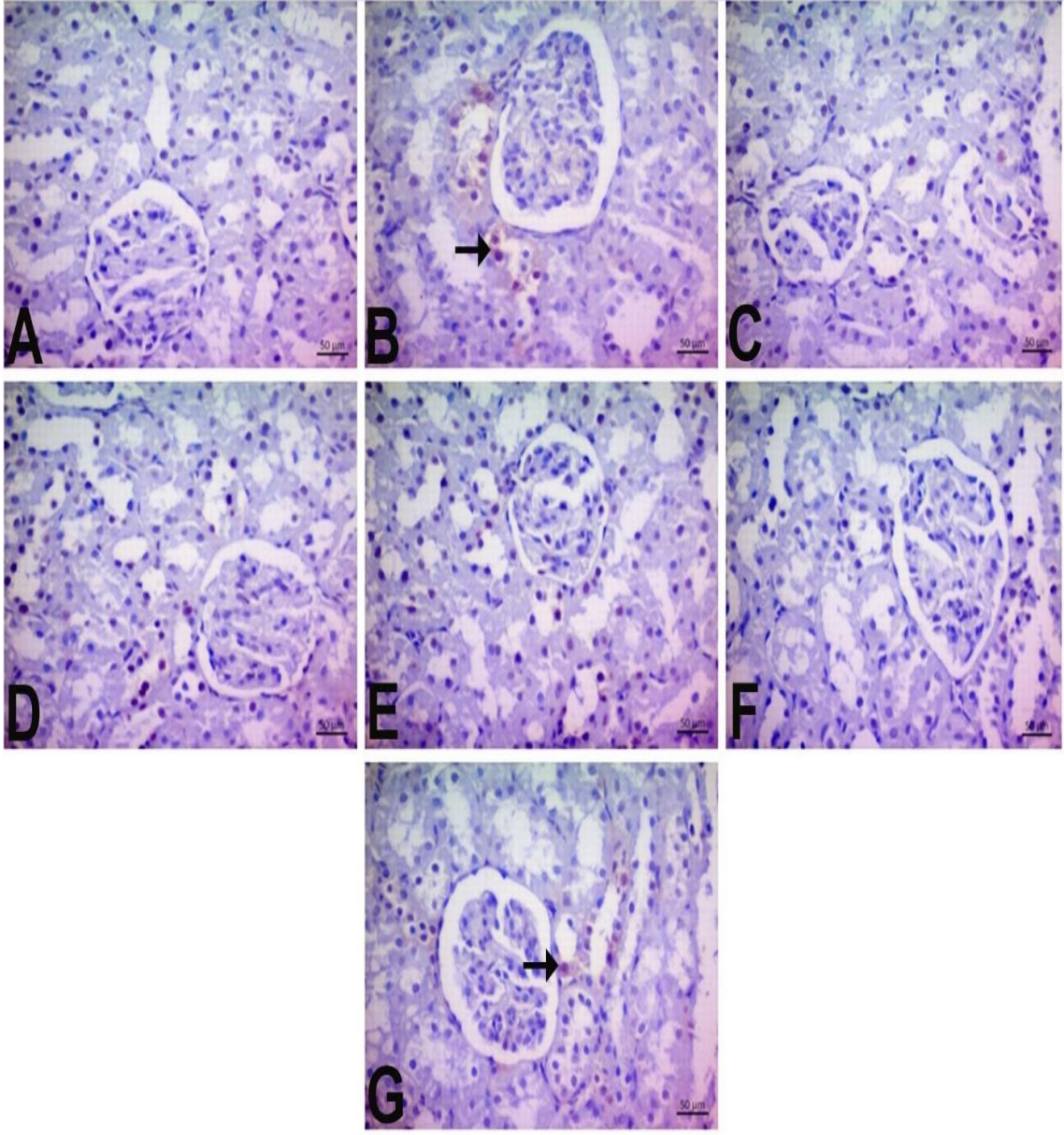
immünpozitifliklerinin uygulama gruplarında ağırlıklı olarak hafif seviyede olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan p-JAK-2 immünpozitifliği Sepsis ve TCZ-16 grubunda hafif düzeyde tespit edilirken, diğer gruplarda önemli seviyede immünpozitifliğe rastlanmamıştır. p-STAT3'e Sepsis ile TCZ-16'da orta, TCZ-6'da hafif olarak görülürken, diğer uygulama gruplarında önemli düzeyde pozitifliklere rastlanmamıştır. SOCS-3'te görülen immünpozitiflikler ise, TCZ-6 ve TCZ-16'da orta, Sepsis ve TCZ-8'de hafif olarak görülmüştür (Şekil 4.21.-4.25.).





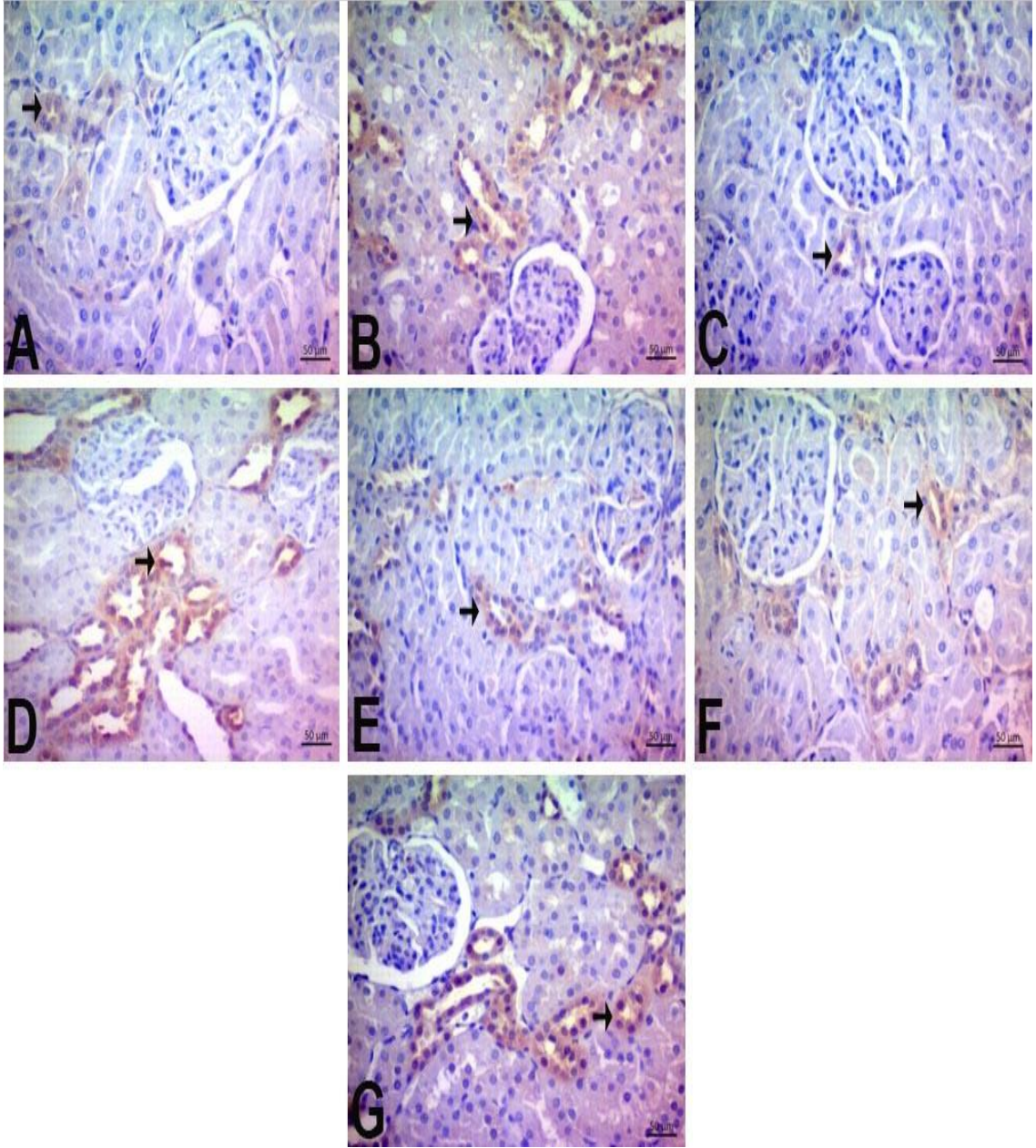
**Şekil 4.21.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu JAK2 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu,** Hafif düzeyde; **B- Sepsis grubu,** Şiddetli düzeyde; **C- TCZ-1 grubu,** Hafif düzeyde;  
**D- TCZ-6 grubu,** Şiddetli düzeyde; **E- TCZ-8 grubu,** Şiddetli düzeyde; **F- TCZ-10 grubu,** Orta düzeyde; **G- TCZ-16 grubu,** Şiddetli düzeyde; immünpozitiflikler, (→) Böbrek, IHC.



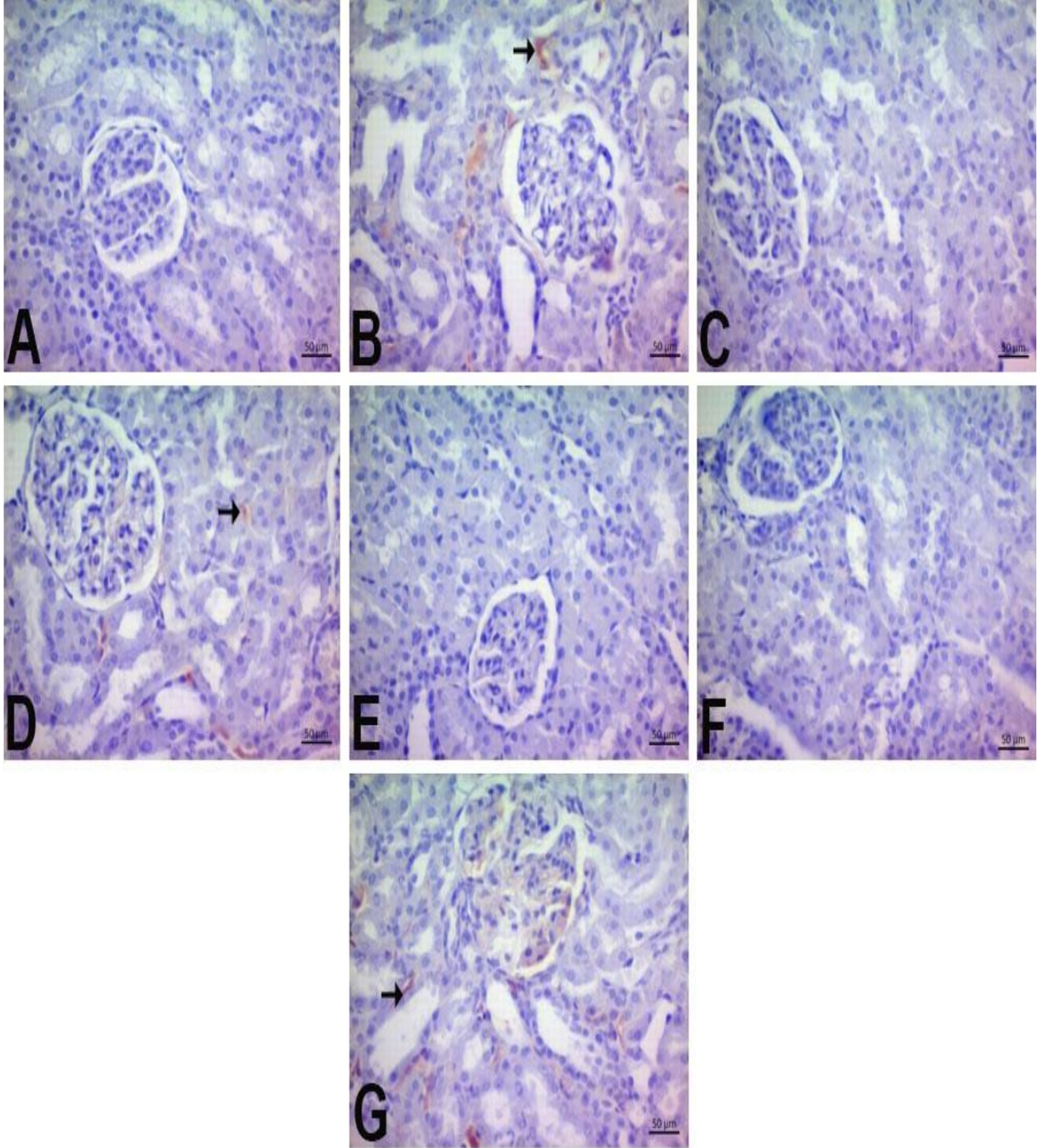
**Şekil 4.22.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu pJAK2 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu,** İmmün negatiflik; **B- Sepsis grubu,** Hafif düzeyde immünpozitiflik; **C- TCZ-1 grubu,** İmmün negatiflik; **D- TCZ-6 grubu,** İmmün negatiflik; **E- TCZ-8 grubu,** İmmün negatiflik; **F- TCZ-10 grubu,** İmmün negatiflik; **G- TCZ-16 grubu,** Hafif düzeyde immünpozitiflik; (→) Böbrek, IHC.



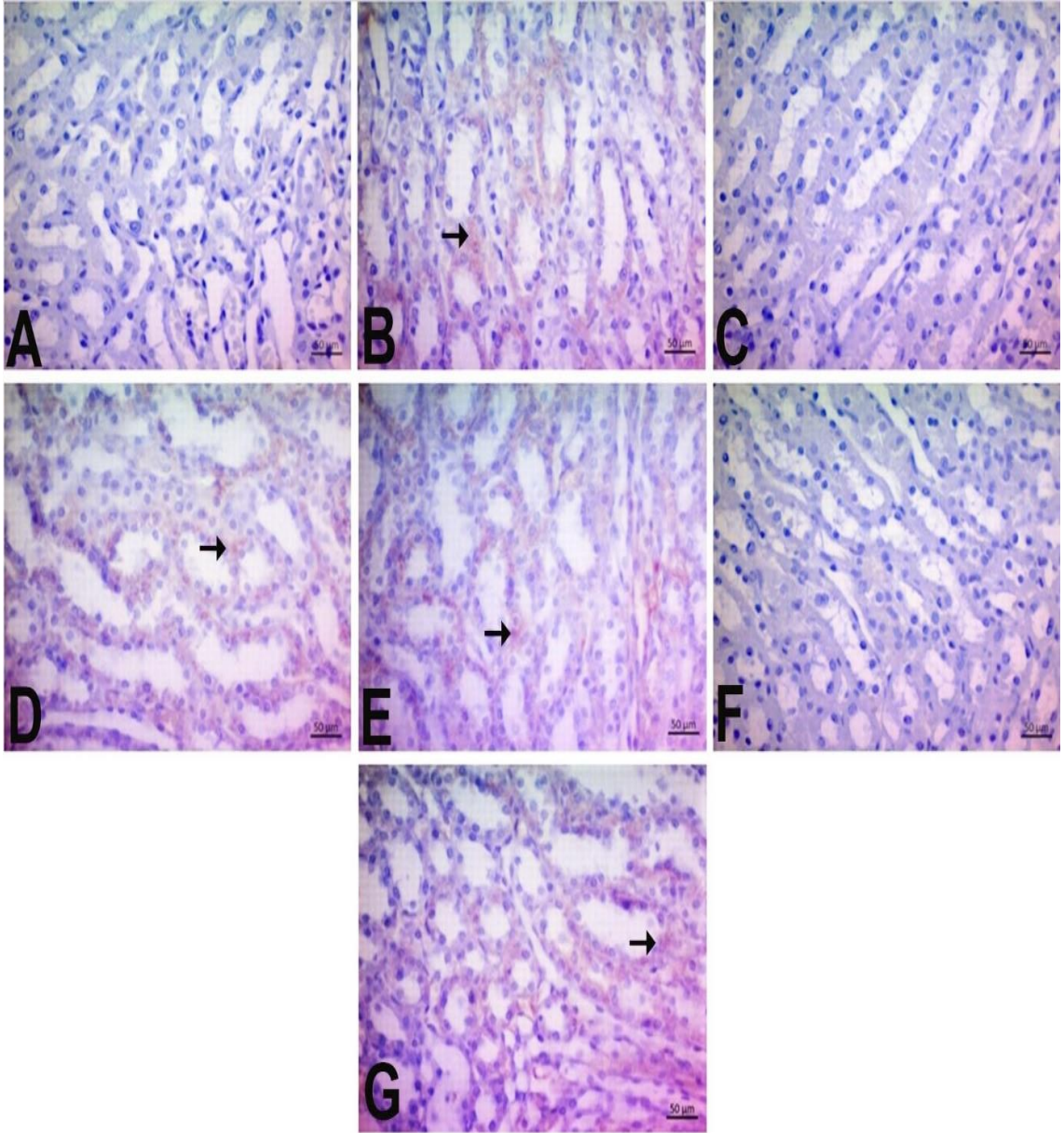
**Şekil 4.23.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu STAT3 İmmünpozitiflikleri

**A- Sağlıklı grubu**, Hafif düzeyde; **B- Sepsis grubu**, Şiddetli düzeyde; **C- TCZ-1 grubu**, Hafif düzeyde; **D- TCZ-6 grubu**, Şiddetli düzeyde; **E- TCZ-8 grubu**, Orta düzeyde; **F- TCZ-10 grubu**, Orta düzeyde; **G- TCZ-16 grubu**, Şiddetli düzeyde; immünpozitiflik, (→) Böbrek, IHC.



**Şekil 4.24.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu pSTAT3 İmmünpozitiflikleri

A- **Sağlıklı grubu**, immün negatiflik; B- **Sepsis grubu**, Orta düzeyde immünpozitiflik; C- **TCZ-1 grubu**, immune negatiflik; D- **TCZ-6 grubu**, Hafif düzeyde; E- **TCZ-8 grubu**, immün negatiflik; F- **TCZ-10 grubu**, immune negatiflik; G- **TCZ-16 grubu**, Orta düzeyde immünpozitiflik; (→) Böbrek, IHC



**Şekil 4.25.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu SOCS3 İmmünpozitiflikleri

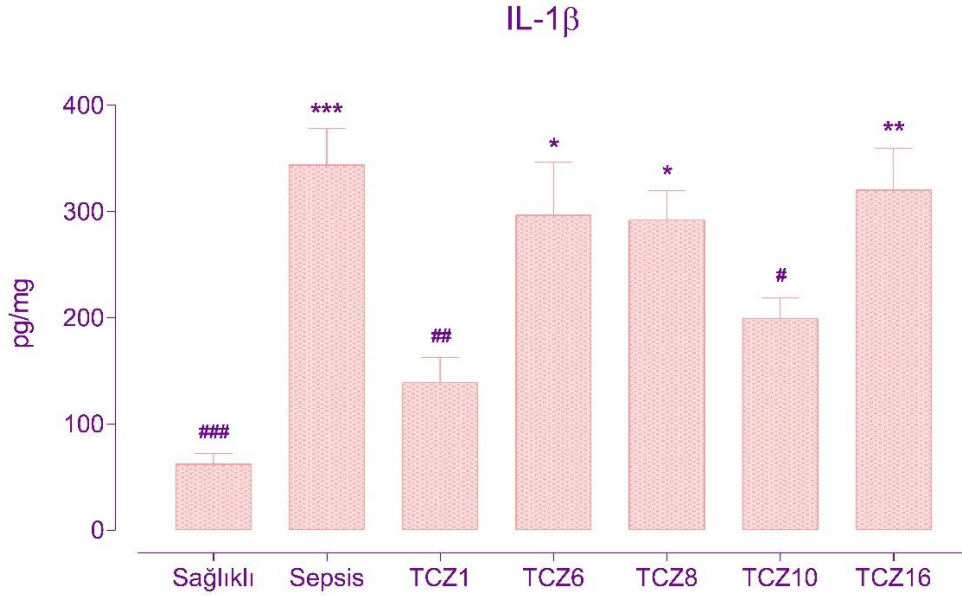
**A- Sağlıklı grubu**, immün negatiflik; **B- Sepsis grubu**, Hafif düzeyde immünpozitiflik; **C- TCZ-1 grubu**, immune negatiflik; **D- TCZ-6 grubu**, Orta düzeyde; **E- TCZ-8 grubu**, Hafif düzeyde immünpozitiflik; **F- TCZ-10 grubu**, immün negatiflik; **G- TCZ-16 grubu**, Orta düzeyde immünpozitiflik; (→) Böbrek, IHC.

## **4.5. Tosilizumab Tedavi Çalışması Akciğer ve Böbrek Dokusu ELISA Bulguları**

### **4.5.1. Tosilizumab Tedavi Çalışması Akciğer Dokusu ELISA Bulguları**

#### **4.5.1.1 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda IL-1 $\beta$ Üzerine Olan Etkileri**

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının akciğer dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde IL-1 $\beta$  seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.26.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman IL-1 $\beta$  seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve Sepsis, TCZ6, TCZ8 ve TCZ16 grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmüştür. Sepsis grubu IL-1 $\beta$  seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış olduğu; en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip olduğu ve Sağlıklı, TCZ1 ve TCZ10 grupları ile aralarında anlamlı fark gözlemlenmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.26.). Tedavi grupları incelendiğinde ise TCZ6, TCZ8 ve TCZ16 gruplarının sonuçlarının sağlıklı grup sonuçlarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiş olduğu görülmüştür (Şekil 4.26.). Sonuçlarımız incelendiğinde TCZ1 ve TCZ10 gruplarındaki IL-1 $\beta$  seviyelerinin Sağlıklı gruba yakın bir sonuç verdiği ve istatistiksel olarak Sağlıklı gruptan anlamlı farklar içermediği görülmüştür. TCZ6, TCZ8 ve TCZ16 gruplarının ise Sepsis grubuyla aralarında anlamlı farklar olmadığı görülmüştür ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.26.).



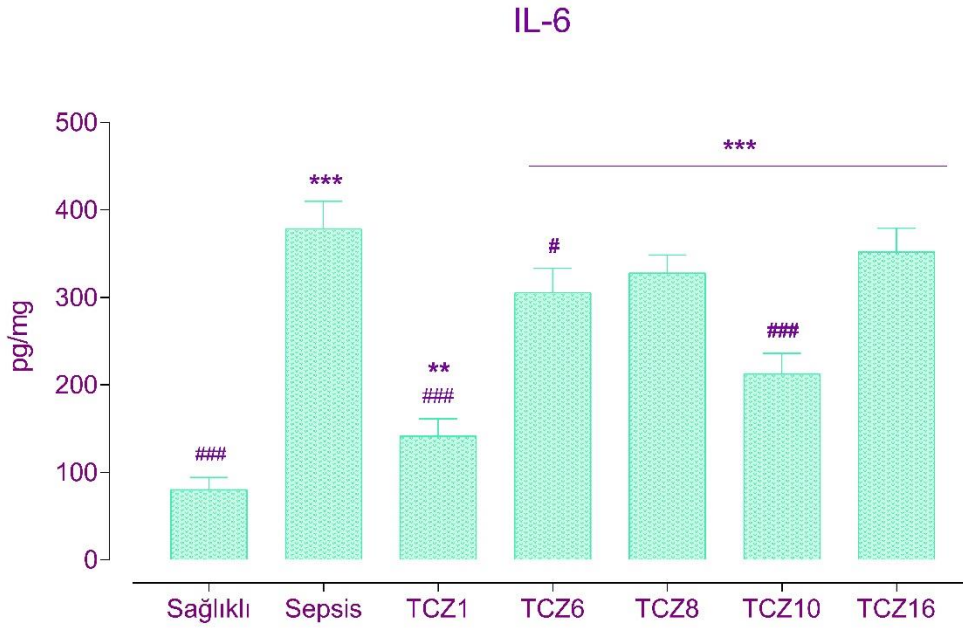
**Şekil 4.26.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu IL-1 $\beta$  Seviyeleri

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\* p<0.001'i, \*\* p<0.01'i, \* p<0.05'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ### p<0.001'i, ## p<0.01'i, # p<0.05'i ifade etmektedir.

#### 4.5.1.2 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda IL-6 Üzerine Olan Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının akciğer dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde IL-6 seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (p<0.001) (Şekil 4.27.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman IL-6 seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı farklar içerdiği görülmüştür (p<0.001) (Şekil 4.27.). Sepsis grubu IL-6 seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış olduğu; en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip olan grup olduğu ve TCZ8 ve TCZ 16 grupları hariç diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmektedir (p<0.001) (Şekil 4.27.). TCZ1 ve TCZ10 gruplarının sonuçları incelendiğinde her iki grubunda diğer tüm

gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu ve yapılan tedaviler sonucu sağlıklı gruba en yakın sonuç veren gruplar bu iki grup olmuştur. TCZ8 grubunun sonuçlarına bakıldığında IL-6 konsantrasyonunun sağlıklı gruba göre olduğu ve Sepsis grubu sonuçlarına yaklaşmış olduğu görülmüştür (Şekil 4.27.).



**Şekil 4.27.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu IL-6 Seviyeleri

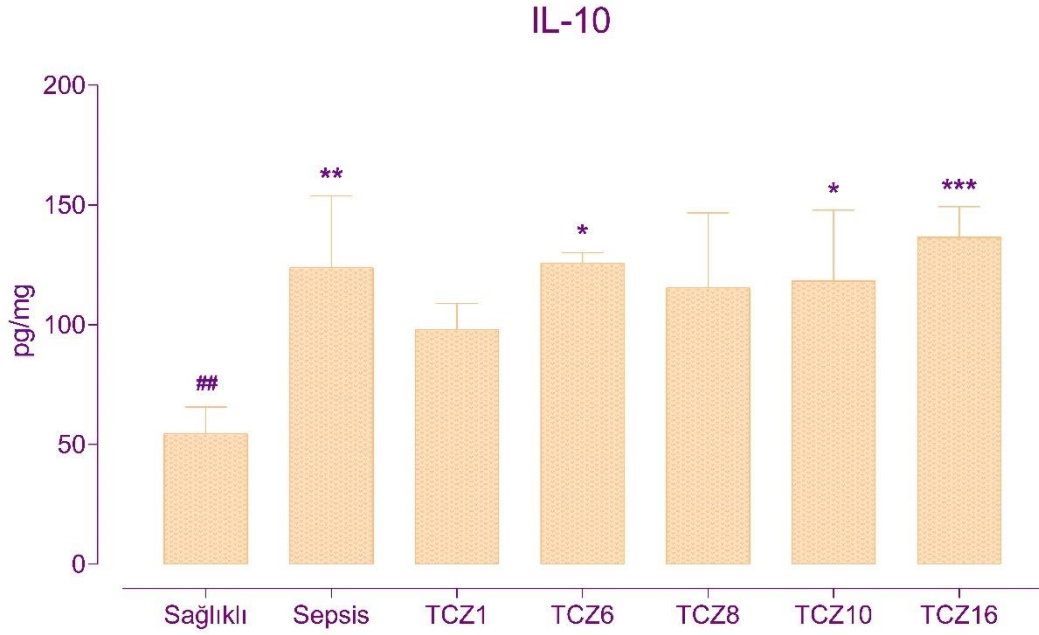
Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p < 0.001$ 'i, \*\*  $p < 0.01$ 'i, \*  $p < 0.05$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ###  $p < 0.001$ 'i, ##  $p < 0.01$ 'i, #  $p < 0.05$ 'i ifade etmektedir.

#### 4.5.1.3 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda IL-10 Üzerine Olan

##### Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının akciğer dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde IL-10 seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.28.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman IL-10 seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu görülmektedir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.28.). Sepsis grubu sonuçları incelendiğinde ise

sağlıklı gruba göre oldukça yüksek sitokin seviyelerine sahip olduğu ve istatistiksel olarak sağlıklı grupla aralarında anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p < 0.01$ ) (Şekil 4.28.). TCZ16 grubu sonuçlarını incelediğimizde ise sitokin seviyelerinin Sepsis grubundan daha yüksek seviyelerde olduğu görülmektedir (Şekil 4.28.).



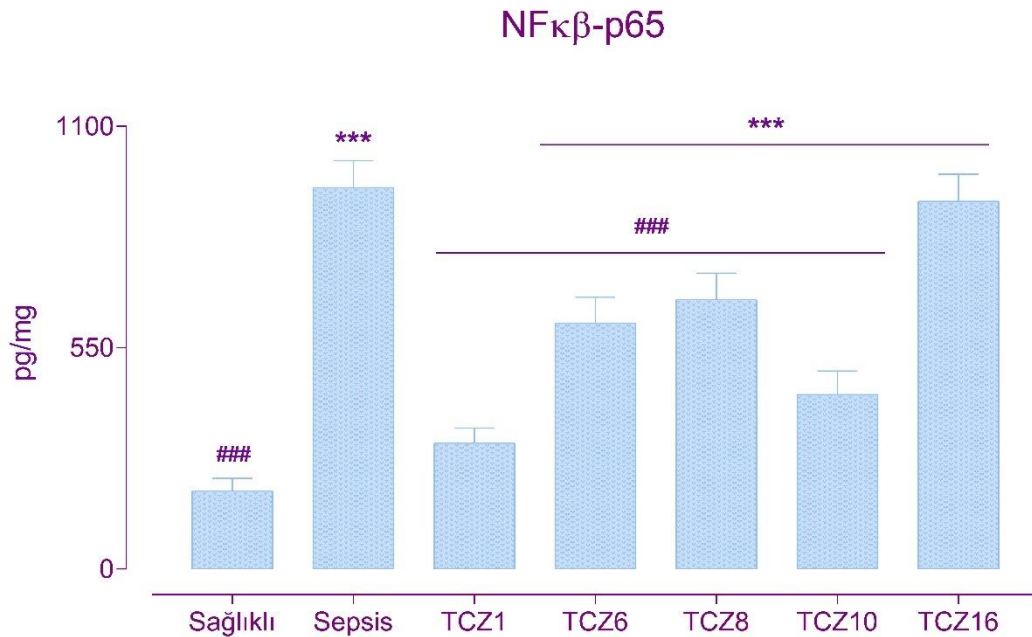
**Şekil 4.28.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu IL-10 Seviyeleri

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p < 0.001$ 'i, \*\*  $p < 0.01$ 'i, \*  $p < 0.05$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ##  $p < 0.01$ 'i ifade etmektedir.

#### **4.5.1.4 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda NFκB-p65 Üzerine Olan Etkileri**

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının akciğer dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde NFκB-p65 seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.29.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman NFκB-p65 seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve Sağlıklı grup sonuçlarının TCZ1 grubu hariç diğer tüm gruplar

ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmüştür ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.29.). Sepsis grubu NF $\kappa$ B-p65 seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış olduğu, en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip olduğu ve TCZ 16 grubu hariç diğer tüm gruplar ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmektedir ( $p < 0.001$ ). TCZ1 grubu sonuçları incelendiğinde diğer tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar ( $p < 0.001$ ) olduğu ve yapılan tedavi sonucu sağlıklı gruba en yakın sonuç veren grup olduğu görülmüştür (Şekil 4.29.). TCZ6 grubunun sonuçlarına bakıldığında TCZ8 ve TCZ10 grubu ile istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark olmamakla beraber NF $\kappa$ B-p65 konsantrasyonu sağlıklı gruba göre oldukça yükselmiş olduğu görülmektedir. TCZ8 grubu sonuçları incelendiğinde TCZ6 grubu ve TCZ10 grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Şekil 4.29.). TCZ16 grubu sonuçları incelendiğinde ise Sepsis grubu hariç diğer tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. TCZ 16 sitokin seviyelerine bakıldığında ise Sağlıklı gruba göre oldukça yükselmiş olduğu ve Sepsis grubuna oldukça yakın sonuçlar verdiği görülmektedir (Şekil 4.29.).

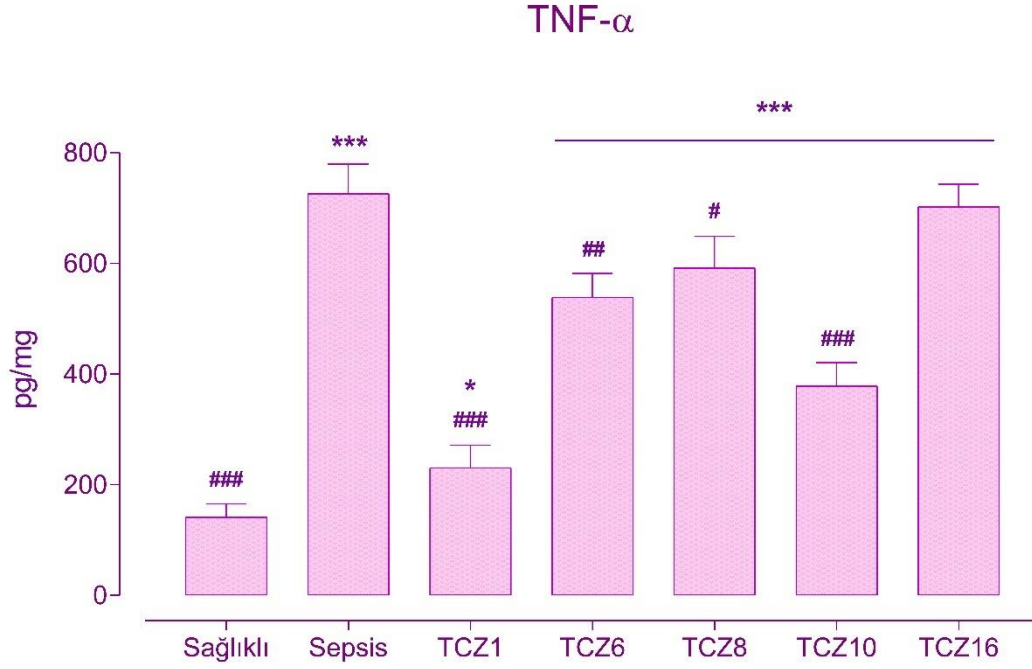


#### Şekil 4.29. Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu NFκB-p65 Seviyeleri

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p<0.001$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ###  $p<0.001$ 'i ifade etmektedir.

#### 4.5.1.5 Tosilizumab Tedavisinin Akciğer Dokusunda TNF-α Üzerine Olan Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının akciğer dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde TNF-α seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.30.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman TNF-α seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve diğer tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmüştür ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.30.). Sepsis grubu TNF-α seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış olduğu; en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip olduğu ve TCZ16 grubu hariç diğer tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmektedir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.30.).



**Şekil 4.30.** Tosilizumab Tedavi Grupları Akciğer Dokusu TNF- $\alpha$  Seviyeleri

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\* p<0.001'i, \* p<0.05'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ### p<0.001'i, ## p<0.01'i, # p<0.05'i ifade etmektedir.

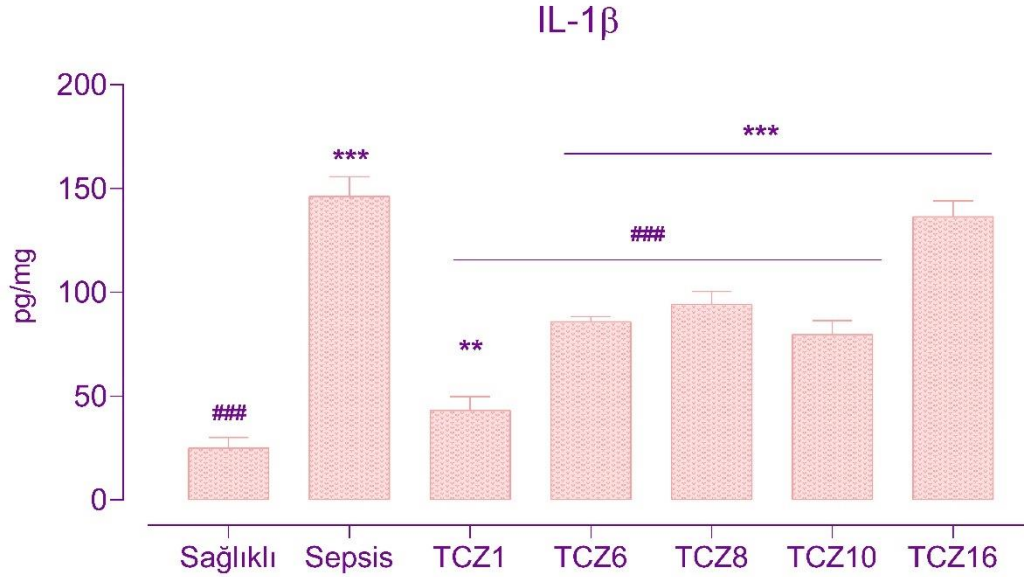
#### 4.5.2. Tosilizumab Tedavi Çalışması Böbrek Dokusu ELISA Bulguları

##### 4.5.2.1. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda IL-1 $\beta$ Üzerine Olan

###### Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının böbrek dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde IL-1 $\beta$  seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (p<0.001) (Şekil 4.31.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman IL-1 $\beta$  seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve diğer tüm gruplar ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmüştür (p<0.001) (Şekil 4.31.). Sepsis grubu IL-1 $\beta$  seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış olduğu; en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip

olduğu ve TCZ16 grubu hariç diğer tüm gruplar ile aralarında anlamlı fark gözlemlenmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.31.).



**Şekil 4.31.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu IL-1 $\beta$  Seviyeleri

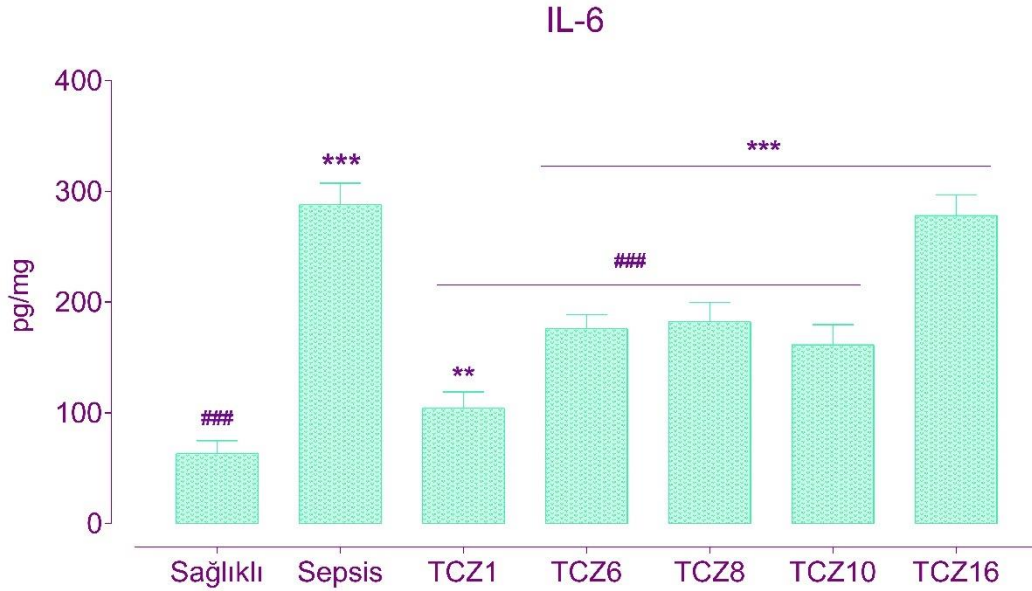
Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p<0.001$ 'i, \*\*  $p<0.01$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ###  $p<0.001$ 'i ifade etmektedir.

#### 4.5.2.2. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda IL-6 Üzerine Olan

##### Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının böbrek dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde IL-6 seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.32.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman IL-6 seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı farklar içerdiği görülmüştür ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.32.). Sepsis grubu IL-6 seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış olduğu; en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip olduğu ve TCZ 16 grubu hariç diğer tüm gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar

görülmektedir ( $p<0.001$ ). TCZ1 grubunun sonuçları incelendiğinde diğer tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu ve yapılan tedaviler sonucu sağlıklı gruba en yakın sonuç veren grubun bu grup olduğu görülmüştür (Şekil 4.32.).



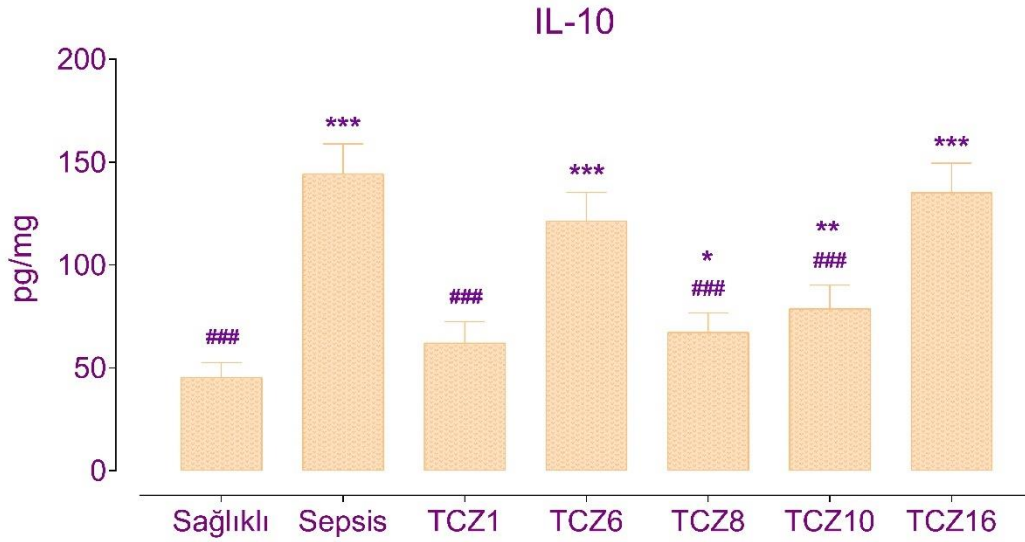
**Şekil 4.32.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu IL-6 Seviyeleri

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p<0.001$ 'i, \*\*  $p<0.01$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ###  $p<0.001$ 'i ifade etmektedir.

#### 4.5.2.3. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda IL-10 Üzerine Olan Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının böbrek dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde IL-10 seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.33.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman IL-10 seviyesinin seviyede olduğu ve istatistiksel olarak incelendiği zaman TCZ1 grubu hariç diğer tüm gruplar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmektedir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.33.). Sepsis grubu sonuçları incelendiğinde ise sağlıklı gruba göre oldukça yüksek sitokin seviyelerine sahip olduğu ve istatistiksel

olarak TCZ6 ve TCZ16 grubu hariç diğer tüm gruplarla aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.33.).



**Şekil 4.33.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu IL-10 Seviyeleri

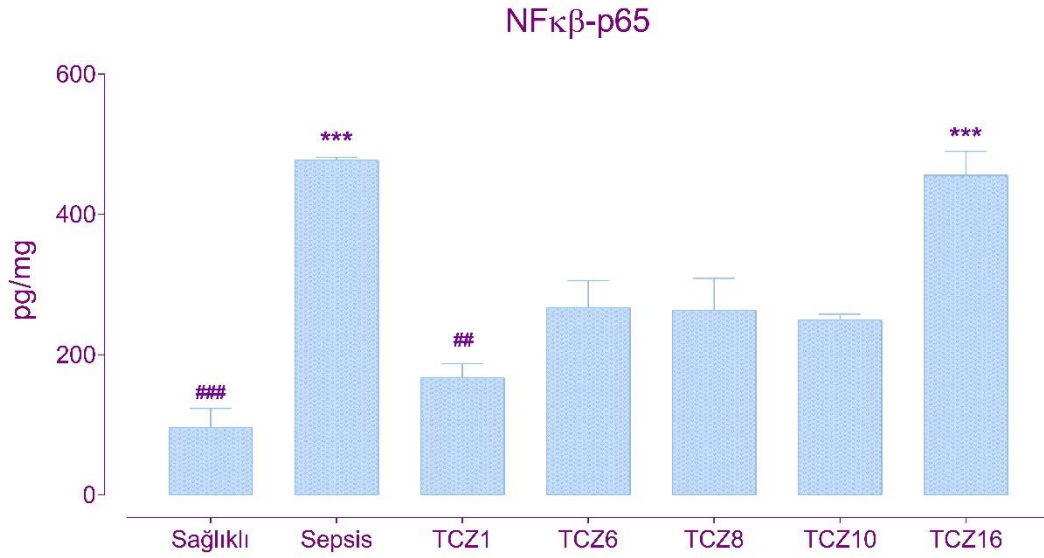
Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p<0.001$ 'i, \*\*  $p<0.01$ 'i, \*  $p<0.05$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ###  $p<0.001$ 'i ifade etmektedir.

#### 4.5.2.4. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda NFκB-p65 Üzerine Olan

##### Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının böbrek dokularından yapılan ELISA ölçümlerinde NFκB-p65 seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.34.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman NFκB-p65 seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve Sağlıklı grup sonuçlarının Sepsis ve TCZ16 grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmüştür ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.34.). Sepsis grubu NFκB-p65 seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış

olduğu; en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip olduğu; sağlıklı ve TCZ 1 grupları ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmektedir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.34.). TCZ1 grubunun sonuçlarına bakıldığında Sepsis ve TCZ16 grupları ile istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark olduğu görülmektedir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.34.).



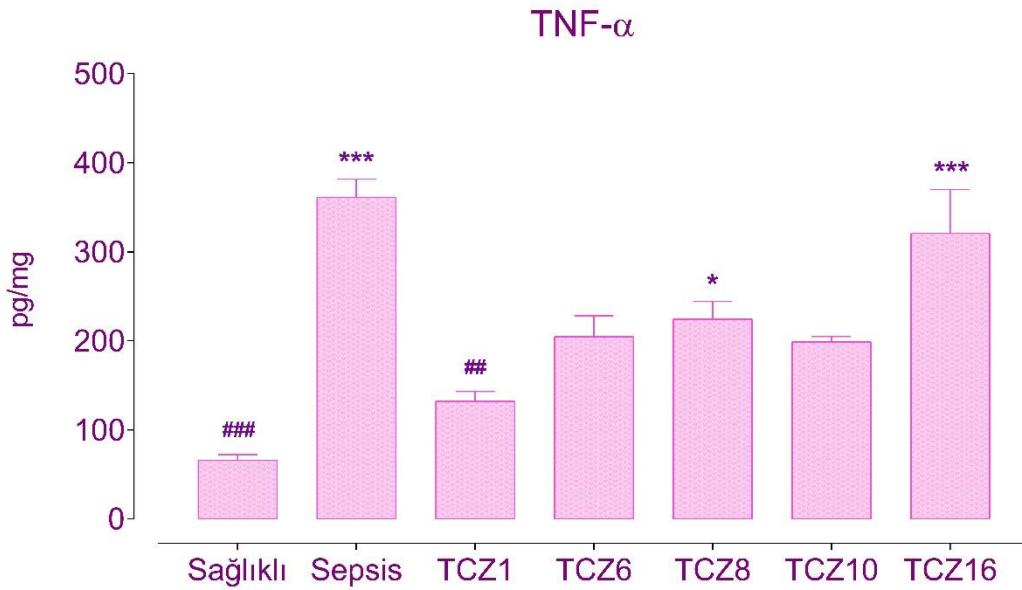
**Şekil 4.34.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu NFκB-p65 Seviyeleri

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p<0.001$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ###  $p<0.001$ 'i, ##  $p<0.01$ 'i ifade etmektedir.

#### 4.5.2.5. Tosilizumab Tedavisinin Böbrek Dokusunda TNF-α zerine Olan Etkileri

LPS ile sepsis indüklenmiş sıçanlarda birbirlerinden farklı zamanlarda TCZ tedavisi almış gruplarla yaptığımız TCZ tedavi grupları çalışmasının böbrek dokularından yapılan ELISA lmlerinde TNF-α seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.35.). Sağlıklı grup sonuçları incelendiği zaman TNF-α seviyesinin tüm gruplar arasında en düşük seviyede olduğu ve Sepsis, TCZ8 ve TCZ16 grupları ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu

görülmüştür ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.35.). Sepsis grubu TNF- $\alpha$  seviyeleri incelendiğinde ise sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba göre oldukça artmış olduğu; en yüksek sitokin konsantrasyonuna sahip olduğu ve Sağlıklı ve TCZ1 grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmektedir ( $p<0.001$ ). TCZ1 grubu sonuçları incelendiğinde Sepsis grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu görülmüştür ( $p<0.001$ ). TCZ8 grubu sonuçları incelendiğinde Sağlıklı grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ( $p<0.0$ ) (Şekil 4.35.). TCZ10 grubu incelendiğinde Sepsis ve TCZ16 grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0.001$ ). TCZ16 grubu incelendiğinde Sağlıklı, TCZ1 ve TCZ10 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmüştür (Şekil 4.35.).



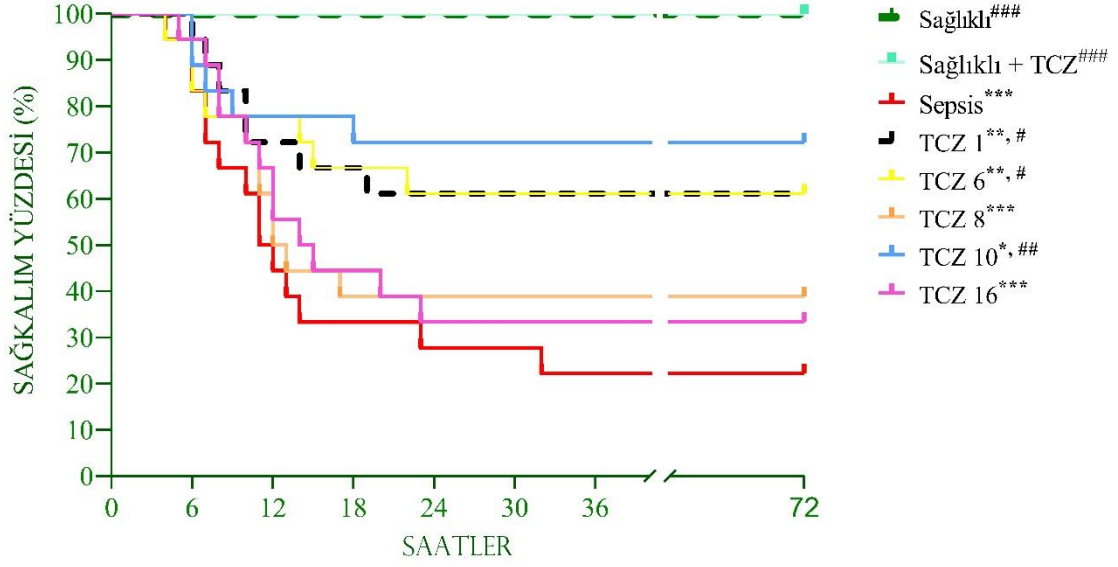
**Şekil 4.35.** Tosilizumab Tedavi Grupları Böbrek Dokusu TNF- $\alpha$  Seviyeleri

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \*\*\*  $p<0.001$ 'i, \* $p<0.05$ 'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada ###  $p<0.001$ 'i, ##  $p<0.01$ 'i ifade etmektedir.

#### 4.6. Sağkalım İzlem Çalışması Bulguları

Yapılan sağkalım analizi sonuçları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür ( $p<0.05$ ). Sağlıklı grup ve Sağlıklı+TCZ grubu 72

saat boyunca yapılan izlem sonucunda sağkalım oranı %100 olarak ölüm yaşanmadan analizi tamamlamışlardır (Şekil 4.36., Tablo 4.5.). Sepsis grubu sonuçları incelendiğinde ise sağkalım oranının Sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olarak son derece düşük olduğu; tüm gruplar içinde de sağkalım oranının en düşük olan grup olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0.001$ ) (Şekil 4.36., Tablo 4.5.). Tedavi grupları içinde en yüksek sağkalım oranını veren grup TCZ10 grubudur (Şekil 4.36., Tablo 4.5.). TCZ10 grubu sonuçları incelendiğinde Sağlıklı gruba göre sağkalım oranının daha düşük olduğu; Sepsis grubuna kıyasla ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde sağkalım oranının yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0.01$ ) (Şekil 4.36., Tablo 4.5.). TCZ1 ve TCZ6 gruplarının sonuçları incelendiğinde ise sağkalım oranının Sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu ( $p<0.01$ ); ancak sepsis grubuna kıyasla sağkalım oranlarının istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.36., Tablo 4.19.). TCZ8 ve TCZ16 gruplarının sonuçları incelendiğinde ise sağkalım oranının oldukça düştüğü ve Sepsis grubuna yaklaştığı görülmüştür (Şekil 4.36., Tablo 4.5.). TCZ8 ve TCZ16 grupları sağkalım oranı istatistiksel olarak Sağlıklı grubuna göre son derece düşmüştür ( $p<0.001$ ). Ancak istatistiksel olarak sepsis grubu ile aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 4.36., Tablo 4.5.).



**Şekil 4.36.** Sağkalım Analizi Sonuçları

Sağlıklı grup ile kıyaslamada \* p<0.05'i, \*\* p<0.01'i, \*\*\* p<0.001'i ifade etmektedir. Sepsis ile kıyaslamada # p<0.05'i, ## p<0.01'i, ### p<0.001'i ifade etmektedir.

**Tablo 4.5.** Sağkalım Analizi İstatistiksel Veri Tablosu

\* p<0.05'i, \*\* p<0.01'i, \*\*\* p<0.001'i ifade etmektedir

Gruplar	Sağlıklı	Sağlıklı +TCZ	Sepsis	TCZ1	TCZ6	TCZ8	TCZ10	TCZ16
Sağlıklı			0.000***	0.004**	0.004**	0.000***	0.017*	0.000***
Sağlıklı +TCZ			0.000***	0.004**	0.004**	0.000***	0.017*	0.000***
Sepsis	0.000***	0.000***		0.023*	0.025*	0.322	0.005**	0.371
TCZ1	0.004**	0.004**	0.023*		0.959	0.205	0.560	0.146
TCZ6	0.004**	0.004**	0.025*	0.959		0.206	0.486	0.141
TCZ8	0.000***	0.000***	0.322	0.205	0.206		0.068	0.925
TCZ10	0.017*	0.017*	0.005**	0.560	0.486	0.068		0.039*
TCZ16	0.000***	0.000***	0.371	0.146	0.141	0.925	0.039*	

Sağkalım analizi sonuçları ile çalışmaya katılan gruplar için 72 saatlik zaman dilimi içindeki tahmini yaşam süreleri ve bu sürelerin alt ve üst sınırları hesaplanmıştır (Tablo 4.6.). Yapılan analiz sonucunda Sağlıklı ve Sağlıklı+TCZ gruplarının tahmini

yaşam süreleri 72 saat olarak belirlenmiştir. Sepsis grubu tahmini yaşam süresi 25,11 saat ile en düşük tahmini yaşam süresine sahip grup olmuştur. Bu grubu sırasıyla 32.05 ile TCZ16 grubu, 34.27 ile TCZ8 grubu, 48.11 ile TCZ1 ve TCZ6 grupları ve 54.55 ile de TCZ10 grubu izlemiştir. Tedavi grupları içinde TCZ10 grubu en yüksek sağkalım oranına ve en yüksek tahmini yaşam süresine sahip olan grup olmuştur (Tablo 4.6.).

**Tablo 4.6.** Sağkalım Analizi Grupları Tahmini Yaşam Süresi Tablosu

Gruplar	Tahmini Yaşam Süresi	Standart Hata	%95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
Sağlıklı	72	0	72	72
Sağlıklı+TCZ	72	0	72	72
Sepsis	25.11	6.09	13.16	37.05
TCZ1	48.11	7.08	34.22	61.99
TCZ6	48.11	7.11	34.16	62.05
TCZ8	34.27	7.11	20.32	48.22
TCZ10	54.55	6.65	41.51	67.59
TCZ16	32.05	6.72	18.86	45.24

## 5. TARTIŞMA

Sepsis, enfeksiyona karşı düzensiz bir konak yanıtı nedeniyle yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır ve yakın zamanda Dünya Sağlık Örgütü tarafından küresel bir sağlık önceliği olarak kabul edilmiştir.<sup>42, 247</sup> Sepsis, ABD'deki tüm hastane içi ölümlerin yaklaşık yarısına neden olur veya bu ölümlere katkıda bulunur.<sup>248</sup> Sepsiste görülen yüksek mortalite oranı etkili bir sepsis tedavisinin gereğini vurgulamaktadır. İyi planlanmış, etkili bir sepsis tedavisi hastalara iki açıdan çok önemli faydalar sunacaktır. Birincisi; etkili bir tedavi ile hasta sepsisin akut enflamatuvar fazında oluşan sitokin fırtınasından en az organ hasarıyla kurtulabilir. İkincisi ise; iyi planlanmış bir tedavi ile sepsisin pro-enflamatuvar fazını aşan ve uzun bir immünsüpresyon fazına giren hastalar birincil enfeksiyonun eradike edilememesi, ölümcül nazokomiyal enfeksiyonların edinilmesi ve/veya latent virüslerin yeniden etkinleşmesi gibi sepsis immünsüpresyon fazının uzun süreli ve ölümcül etkilerinden kurtulabilir.<sup>13</sup>

Etkili bir sepsis tedavisi için iki önemli silaha ihtiyacımız bulunmaktadır; doğru zaman ve doğru farmakoterapötik ajan seçimi.<sup>39, 249</sup> Sepsis ve benzeri hastalıklarda doğru zamanı belirlemek oldukça zordur. Çünkü, hastalık seyri zamandan bağımsız olarak hastalarda süreçsel ilerleyiş gösterecektir.<sup>250</sup> Bununla beraber sepsiste COVID-19 pandemisiyle çok daha önemli bir hale gelen anti-sitokin ajanlar sepsis tedavisinde ön sıra seçenekler arasına girmiştir.

Sepsisi immün sistemin tüm elemanlarıyla topyekün savunmaya katılması olarak düşünebiliriz. İmmün sistem gibi çok karmaşık ve aynı zamanda organize bir sistemin topyekün tüm bileşenleri ile sepsise karşı savunmaya geçmesi birçok farklı fizyopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. Gerek hücresel gerekse humoral immün sistemin etkin çalışabilmesi için ana organizatör olarak karşımıza sitokinler çıkmaktadır. Değişik sitokinlerin değişik zamanlarda farklı miktarda salgılanması immün sistemin farklı

kollarının savunmaya katılmasını sağlamakla birlikte sitokinler aynı zamanda immün cevabın şiddetini de oluşturmaktadır. Tüm bu sistemlerin sitokinler tarafından doğru biçimde kontrol edilebilmesi sepsis gelişimi ve devamındaki sitokin salınımının zamanlaması ile doğru orantılı olarak devam etmektedir. Sitokin salınımının zamanlaması ve devamı sepsise bağlı organ hasarının gidişatını belirlemektedir. Bu yüzden sepsis seyri sırasında oluşan sitokin üretiminin zamanları ile hastalık sürecindeki klinik, histolojik ve moleküler bulguların ortaya çıkış dönemini birlikte değerlendirilip; tedavinin bu algoritmayla planlanması, uygulanması ve özellikle standardizasyonu ve optimizasyonu daha iyi olabilecektir.

Sepsiste doğru farmakoterapötik ajan seçimi, sepsis patofizyolojisinin ve kullanılacak olan ilacın farmakolojisinin iyi bilinmesiyle yapılabilir.<sup>251, 252</sup> Seçilen ilacın doğru ilaç olarak nitelendirilebilmesi ancak doğru kullanımı ile gerçekleşebilir.<sup>253</sup> Sepsisteki patofizyolojik süreçleri ve bu süreçler içinde yapılacak olan farmakolojik tedavi sonrası patofizyolojik hadiselerin ne yönde değişeceği iyi bilinmelidir.<sup>251</sup> Sepsiste bu zamanda kadar ki tedavi yaklaşımlarında sepsiste oluşan organ hasarlarını önlemeye yönelik destek tedavileri bulunmakta idi. Yalnız, sepsis fizyopatolojisinde immün sistemin ağırlığı ve bilinmeyenlerinin her geçen gün aydınlatılması ile sepsis tedavisinde immünterapötik ajanların yeri ve seçimi daha da önemli bir hale gelmiştir.

Sepsis patofizyolojisini çözme ve anlama üzerine son yıllarda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Ancak bu ilerlemeye rağmen sepsisteki yeni ve farklı tedavilere yönelik klinik çalışmaların istenilen başarıyı elde edememesi ve sepsisli hastalarda hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesindeki kısırlık hastalığın patofizyolojik temelini yeniden düşünülmesine yol açmıştır. Sepsis ve immün sistem ilişkisinin incelenmesi ise sepsis patofizyolojisinde yeni ufuklar açmıştır.<sup>4, 13</sup> Aynı zamanda sepsisteki immün

patofizyolojinin incelenmesi aynı zamanda sepsiste immünoterapi ile tedavi çalışmalarının gelişmesini sağlamıştır.<sup>19, 26</sup>

Sepsis patofizyolojisinden bahsederken IL-6'dan özellikle bahsetmek gerekir. IL-6 bir pleiotropik sitokin olarak adlandırılır. B hücrelerinin antikor üreten hücrelere farklılaşmasına neden olan T hücresinden türetilmiş bir faktördür ve ayrıca çeşitli biyolojik aktivitelerle çok sayıda hücre tipini etkilediği bilinmektedir. Önemli bir konu da immün stimülasyon üzerine nötrofiller ve monositler veya makrofajlar gibi bağışıklık sistemi hücreleri tarafından IL-6 salgılanmasıdır. IL-6 salgılanması üzerine endotel hücreleri, daha fazla bağışıklık hücresi toplayan kemokinleri serbest bırakır ve hepatositler, akut faz proteinlerini sentezler ve salgılar.<sup>10</sup> Anahtar sitokin IL-6'nın sepsisli hastalarda ölüm oranıyla ilişkili artan seviyeleri, IL-6 sinyalinin insan sepsisinde direkt rol oynadığını ispat etmiştir.<sup>11</sup> Remick ve çalışma arkadaşları bir fare modelinde sepsis oluşumundan 6 saat sonra ölçülen IL-6 konsantrasyonlarının deneysel sepsiste ölüm oranının kesin bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir.<sup>12</sup> Yakın tarihteki, Sepsis-3 tanımlarına göre prospektif kontrollü bir sepsis çalışması IL-6'nın sepsis ve septik şok için hem tanısal hem de prognostik değer olarak diğer bazı belirteçlerden çok daha üstün olduğunu ispatlamıştır.

Tosilizumab (TCZ) soluble ve zara bağlı IL-6 reseptörlerine yönelik immüoglobulin G1k alt sınıfının rekombinant insanlaştırılmış, anti-insan monoklonal antikorudur.<sup>28</sup> TCZ'nin sepsisteki enflamasyonu azalttığı, sepsis ilişkili böbrek hasarını azalttığı, ciddi akut pankreatiti ve eşlik eden akut akciğer hasarını da azalttığı hayvan çalışmalarında gösterilmiştir.<sup>30, 31</sup> Ancak literatürü incelediğimizde TCZ'ye bağlı olarak indüklenen sepsis vakalarının da bulunduğu görülmektedir.<sup>254</sup> Vaka sunumları incelendiğinde romatolojik hastalıklara bağlı olarak TCZ tedavisi alan iki hastanın sepsise girdikleri rapor edilmiştir.<sup>255, 256</sup> TCZ özellikle COVID-19 pandemisinde sitokin salınım

sendromuna giren ağır pnömonili hastalarda kullanılmıştır.<sup>32, 33</sup> Ancak yapılan meta-analiz çalışmaları birbirlerinden oldukça farklı sonuçlar ortaya koymuştur. Bazı hastalarda TCZ tedavisinin oldukça etkili olduğu ve yoğun bakım ihtiyacını azalttığı gözlemlenmişken; bazı çalışmalar TCZ tedavisinin etkisiz olduğunu göstermiştir.<sup>34-37</sup> Bazı meta-analiz sonuçlarına göre ise COVID-19'da normal tedavi prosedürüne ek olarak TCZ tedavisi alan hastaların mortalite oranlarıyla normal tedavi protokolü uygulanan hastaların mortalite oranları arasında anlamlı farklar olmadığı, bazı çalışmalarda ise TCZ tedavisi alan hastaların normal prosedür alan hastalardan daha yüksek mortalite oranına sahip olduğu ve TCZ tedavisi uygulanan bazı merkezlerde; bazı çalışmalarda son derece düşük olan mortalite oranının bazı çalışmalarda yüksek geldiğini görmekteyiz.<sup>257</sup> Aynı ajanın kullanımında gördüğümüz bu kadar farklı sonucun temelinde doğru zaman ve doğru farmakoterapötik ajan seçiminde yapılan farklı tercihlerin olduğunu düşünüyoruz. Yukarıda da belirttiğimiz gibi sitokin miktarı ile sepsise bağlı organ hasarlarının da beraber düşünülmesi gerekmektedir. Araştırmacılar COVID-19 pandemisi sürecinde TCZ tedavisinin zamanlaması ve doğru hasta seçimi konusuna sözel olarak değinmişlerdir ancak gerekli araştırmalar yeterince yapılmamıştır.<sup>40, 258</sup>

Sepsiste yüksek mortalite oranı ve tedavi maliyetleri dikkate alındığında etkin tedavilerin ve özelde TCZ, genelde tüm anti-sitokin ilaçların verimli kullanımının önemi daha da artmaktadır. Bu sebeple sepsis tedavisinde kullanılan ilaçların aslında sepsisin klinik seyrinde uygun bir zamanlamayla verilmesi şüphesiz tedavilerin etkinliğini arttıracaktır. Aksi halde enflamasyon homeostazının bozulup hastalarda farklı klinik seyirlerin de görülmesi işten bile değildir.

Biz de çalışmamızda sepsis sürecinde sitokinlerin zamana bağlı değişiminin ve organ hasarlarının zamana bağlı değişimlerinin incelenerek; immün sistemimizin enflamasyon homeostazını ve immün davranışlarını anlayarak uygun zamanlama ile tedavi

müdahalesinin sonuçlarını araştırdık. Ayrıca sepsis indüksiyonundan sonraki farklı zaman dilimlerinde ve bağlantılı sitokin seviyelerinde uygulanan anti-sitokin tedavilerinin sonuçlarını inceleyerek; sepsisteki tedavi zamanlamasının önemine dikkat çekmek, sepsisteki tedavi zamanlamasının hastalığın seyrine göre uygulanmasını öncelmesini hedefledik. Son olarak da aynı doz ve aynı ilaçlarla farklı zaman dilimlerinde yapılan tedavinin mortalite ve sağkalım üzerine olan etkisini araştırarak maliyetleri yüksek olan ilaçlar olan anti-sitokin ilaçların hem efektif bir şekilde hem de ekonomik bir şekilde kullanılmasını sağlamayı amaçladık.

Hedeflerimize ulaşabilmek ve hipotezlerimizi deneysel olarak inceleyebilmek için çalışmamızı 3 ana deneysel süreç ile tamamladık. İlk aşamada sepsis patofizyolojisini IL-6 salınımının zamana göre değişimi ve organ hasarı ile korelasyonunu görmek için LPS ile sepsis indüklenmiş ratlar her iki saatte bir sakrifiye edilip kanları ve dokuları alınmak üzere gruplara ayrıldı.

İlk ana çalışmamızın sonuçları incelendiğinde; 24 saat boyunca ölçülen IL-6 seviyeleri bize önemli veriler sunmaktadır. IL-6 seviyelerinin LPS ile sepsis indüksiyonundan sonra 2., 4. ve 6. saatlerde tepe noktası değerlere ulaştığını gördük. 8. saatte ise IL-6 seviyelerinde bir kırılma yaşandığı ve 24 saatlik süreç sonuna kadar IL-6 seviyelerinin düşmeye devam ettiğini gözlemledik. Bu sonuçlar literatürde yapılan diğer deneylerle de uyumludur.<sup>259</sup> Yun Te Chang ve arkadaşları LPS ile yaptıkları sepsis indüksiyonu sonrası sıçan serumlarından yapılan IL-6 ölçümlerinde 2. ve 4. saat ölçüm sonuçlarında IL-6 seviyesini sırasıyla 5168.5 pg/ml ve 4990.2 pg/ml olarak ölçmüşlerdir.<sup>259</sup> Yapılan başka bir çalışmada ise LPS ile sepsis oluşturulmuş ratlarda 0., 0.5., 1., 2., 4. 6. ve 12. saatte yapılan IL-6 serum düzeyi ölçümlerinde IL-6'nın 4. saatte 5ng/ml ile tepe noktası seviyesine ulaştığı ve ardından düşmeye başladığı ve 12. Saatte de 2ng/ml seviyelerine düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmalardan farklı olarak

çalışmamızda 24 saatlik zaman dilimi içerisinde başlangıçtan itibaren her 2 saatte bir ölçüm yapılması sepsis sürecini ve sepsis sürecindeki IL-6 salınım kinetiğini daha açık bir şekilde aydınlatmıştır. Hipotezimizin dayanaklarından biri olan fikrimiz şudur ki; anti-sitokin ilaçlar dolaşımdaki ilgili sitokin düzeyi ile körele organ hasarları göz önünde bulundurularak kullanılmalıdır. Çünkü IL-6'nın sepsis sürecindeki reflekslerini organ hasarları ile korelasyonu bilmeden ve görmeden yapılacak olan bir tedavi sonuçta eksik kalacaktır. Uzun yıllar boyunca gerçekleştirilmiş olan klinik anti-sitokin tedavi deneyleri ise çoğunlukla başarısızlıkla sonuçlanmıştır.<sup>260</sup> Ancak klinik ve deneysel çalışmalar, bireysel sitokinlerin oynadığı bazı kritik rolleri tanımlamış olsa da, sepsiste dahil olan sitokinlerin birleşik imza profili, oyundaki mekanizmaları anlamak ve daha iyi tedavi yaklaşımları sunmak için önümüzü açma potansiyeli taşımaktadır.<sup>261</sup>

Akciğer histopatolojisi bulguları incelendiğinde interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi bulgularının deney başlangıcından sonra 2. saatten itibaren düzenli olarak arttığı ve 8. saatte ise bu artışın tepe noktasına ulaştığı ve 24. saate kadar bu artışın aynı seviyede devam ettiği görülmüştür. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde Fodor ve arkadaşlarının yaptığı ratlarda LPS ile oluşturulmuş sepsis modelinde akciğer hasarı skorları 6. ve 24. saatte incelenmiştir. 6. saat sonuçları incelendiğinde kontörle göre hasarın oldukça arttığı ancak 24. saat sonuçlarına göre ise hasarın daha düşük olduğu görülmüştür.<sup>262</sup> Ancak sepsis sürecindeki akciğer hasarı gelişimini daha iyi takip edebilmek adına daha sık zaman aralıklarıyla çalışılmalıdır. Çalışmamız, 24 saatlik sepsis sürecinde her iki saatte bir yaptığımız akciğer histopatolojisi değerlendirmesi ile literatüre sepsis sürecinde akciğer hasarının nasıl ilerlediğini çok daha ayrıntılı bir şekilde sunmuştur.

Böbrek histopatolojisi sonuçları incelendiğinde ise tübüler dejenerasyon ve intertübüler hemoraji skorunun ilk 4 saat değişmediği, 6. ve 8. saatlerde hafif derecede

olduğu ve 10., 12. ve 14. saatler ise orta dereceli histopatoloji bulgusu verdiği gözlemlenmişti. 14. saatten itibaren ise böbrek hasarının 0. saate göre anlamlı olmaya başladığı ve bu hasarın 16. saatte tepe noktasına ulaşmış 24. saat sonuna kadar aynı seviyede gittiği gözlemlenmişti. Yapılan bir deneysel çalışma incelendiğinde 6., 12. ve 24. saatlerde yapılan sepsise bağlı böbrek hasarı sonuçları incelendiğinde sonuçların sırasıyla  $1.98 \pm 0.37$ ,  $2.62 \pm 0.34$  ve  $3.52 \pm 0.34$  olduğu görüldü.<sup>263</sup> Böbrek hasarı ve ilgili zaman sonuçları incelendiğinde çalışmamızla benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Ancak çalışmamız 24 saatlik süreçte her iki saatte bir yaptığı ölçümlerle literatüre sepsisteki böbrek hasarının süreçsel ilerleyişi hakkında çok daha net bilgiler sağlamıştır.

Sonuçlar beraber ele alındığında IL-6 ve akciğer hasarı (interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi) arasında şöyle bir ilişki dikkat çekmiştir. IL-6 seviyelerinin tepe noktası seviyelerinden kırılma yaşadığı saat dilimi olan 8. saatte akciğer hasarı da tepe noktası seviyesine çıkmıştır. Ancak 8. saatten sonra IL-6 seviyeleri düşmeye devam ederken akciğer hasarı skoru 24. saatin sonuna kadar yaklaşık olarak aynı kalmıştır. IL-6'nın tepe noktasında kaldığı süreç olan 2., 4. ve 6. saatler boyunca akciğer hasarının da geliştiğini görüyoruz. 8. saatte kırılma yaşayan IL-6 seviyeleri 24. saat sonuna kadar tedricen düşme gösterirken 16. saat sonuçları incelendiğinde ise böbrek hasarının (tübüler dejenerasyon ve intertübüler hemoraji) tepe noktasına ulaşmış olduğunu görüyoruz. Burada şu noktaya dikkat çekebiliriz. IL-6 seviyeleri ne kadar düşse de veya düşme eğilimi devam ettiriyor olsa bile yine de organ hasarının devam ettiği görülmüştür.

Sepsiste anti-sitokin tedavinin ne zaman yapılmasına dair tahminlerimize yardımcı olması için korelasyon testlerini de verilerimize uyguladık. Korelasyon testleri aynı zamanda bizlere sepsis süreci içerisinde IL-6 seviyelerinin organ hasarlarıyla nasıl bir ilişkisinin olduğunu ve akciğer-böbrek organ hasarlarının birbirleriyle nasıl bir ilişki içinde olduğu hakkında önemli bilgiler vermiştir. Korelasyon testlerinin sonuçları da

bulgularımızı destekler nitelikte olmuştur. Spearman korelasyon testi sonuçlarına göre 24 saatlik sepsis sürecinde IL-6 seviyeleri ve akciğer hasarı skoru arasında negatif korelasyon bulunmaktadır. IL-6'nın tepe noktasına ulaşacağı süreye kadar interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisinin gelişmeye başladığı, IL-6'nın en yüksek seviyesinde ise organ hasarının tepe noktasına ulaştığı ve daha sonra IL-6 seviyesi ne kadar düşerse düşsün organ hasarının devam ettiği istatistiksel olarak ispatlanmıştır Benzer korelasyon sonuçları IL-6 seviyeleri ve böbrek hasarı skoru ile de gözlenmiştir. Akciğer hasarı ve böbrek hasarı skoru sonuçları spearman korelasyon testine tabi tutulduğu zaman birbirleriyle pozitif korelasyona sahip oldukları görülmüştür. Sepsis seyri içerisinde akciğer ve böbrek hasarı skorlarının yüksek kaldığı zaman dilimi ve düşük seyrettiği zaman dilimleri benzer süreçler olduğu için aralarında pozitif korelasyon bulunmaktadır. Aynı çalışma hiyerarşik aglomeratif ısı haritası sonuçları ile incelendiğinde ise sepsis sürecinde IL-6, akciğer hasarı (interstisyel pnömoni ve BALT hiperplazisi) ve böbrek hasarı (tübüler dejenerasyon ve intertübüler hemoraji) sonuçlarının süreçle olan korelasyonlarını tekrar ispatlamıştır.

İlk ana çalışmamızın tüm sonuçları birlikte ele alındığında IL-6'nın sepsisin erken evrelerinde yükseldiği, IL-6 seviyeleri düştükten sonra da organ hasarlarının gelişiminin devam edebileceği, IL-6'nın sepsis sürecinde akciğer hasarı en yüksek seviyeye ulaşmaya kadar yüksek seviyede kaldığı, IL-6'nın düşük seyrettiği saatler olan 16 ve 24. saatler arasında da böbrek hasarının oluşabileceği çıkarımları yapılabilir.

Bu sonuçları birlikte incelediğimizde çalışmamızın 2. Ana aşaması olan sepsiste anti-sitokin tedavi ile ilgili zamanlama tahminleri yapılabilir. IL-6 seviyelerinin tepe noktasında durduğu son saat olan 6. saatte gerek IL-6 seviyesinin yüksekliği gerek akciğer hasarının oturmaya başlaması gerekse de böbrek hasarının ilk patolojik değişimlerinin yaşanması sebebiyle ilk seçtiğimiz zaman dilim olmuştur. 8. saat ise IL-

6'nın kırılma yaşadığı, akciğer hasarının zirveye çıktığı ve böbrek hasarının da hafif ve orta seviyeye çıktığı zaman dilimi olması ve z skoru sonuçlarına göre de IL-6'nın süreçle olan pozitif korelasyonunun zayıfladığı, akciğer hasarının ise süreçle olan korelasyonunun pozitifleştiği zaman dilimi olması nedeniyle tedavinin planlandığı ikinci zaman dilimi oldu. 10. saat ise z skoru sonuçlarına göre IL-6'nın süreçle negatif korelasyon değerlerine döndüğü, akciğer ve böbrek hasarının ise beraber süreçle pozitif korelasyona sahip olduğu ilk saat dilimi olması ve IL-6'nın 8. saatten sonra ikinci kez büyük kırılma yaşadığı zaman dilimi olması sebebiyle seçilmiştir. 16. saat grubu ise böbrek hasarının tepe noktasına ulaştığı zaman dilim olması ve genel tedavi protokollerine ek olarak kullanılacak bir ilaç olan TCZ'nin normal klinik kullanımında gerekli olan önceki rutin tedavilerden sonuç alınamaması gibi durumlardan ötürü geç klinik kullanımını da taklit etmek amaçlı seçilmiştir. 1. saat ise rutinde tespit edilemeyecek bir zaman dilimi olması nedeniyle ve de erken tedavinin olası etkilerini de gözleyebilmek amacıyla seçilmiştir. Seçilen tedavi zamanlamaları ilk ana çalışmanın sonucu ve korelasyon testleri verilerine göre seçilmiş olsa da uygun zamanlamalar olup olmadıklarını teyit etmek için belirlenen saatlerde TCZ tedavisini deneysel olarak gerçekleştirmek gerekmektedir.

İkinci ana çalışmamız olan değişik zamanlarda verilen TCZ tedavi gruplarındaki kan ve doku örnekleri; histopatolojik, immünohistokimyasal ve ELISA yöntemleri ile incelendi. TCZ uygulamasının 1., 6., 8., 10. ve 16. saatlerini incelediğimizde histopatolojik olarak 1. ve 10. saatlerde TCZ uygulaması yaptığımız gruplarda akciğer hasarının diğer saatlere göre çok daha az olduğu tespit edildi. TCZ6, TCZ8 ve TCZ16 gruplarının sonuçları ise Sepsis grubu ile benzer geldi. Akciğer dokularında ELISA yöntemi ile ölçülen pro-enflamatuvar sitokin ölçüm sonuçlarına göre 1. ve 10. saatlerde TCZ uygulaması yaptığımız gruplarda doku sitokin seviyelerinin sağlıklı gruba en yakın

çıkan iki grup olduğu görülmüştür. TCZ6, TCZ8 ve TCZ16 gruplarının sonuçları incelendiğinde ise doku pro-enflamatuvar sitokin seviyeleri Sepsis grubuna yakın gelerek yüksek seviyelerde olduğu gözlenmişti. Akciğer dokusu sonuçlarına bakıldığında TCZ1 grubu ile TCZ10 grubunun da sağlıklı gruba daha yakın sonuçlar verdiği ve diğer tedavi gruplarından bariz bir şekilde ayrıldığı görülmüştür.

TCZ uygulamasının 1., 6., 8., 10. ve 16. saatlerini incelediğimizde histopatolojik olarak 1. saatte TCZ uygulaması yaptığımız grupta böbrek hasarının diğer saatlere göre çok daha az olduğu tespit edildi. TCZ 6, TCZ8 ve TCZ10 gruplarında ise bu hasarın orta derecede olduğu; TCZ16 grubunda ise Sepsis grubu ile benzer sonuçlar geldiği görülmektedir. Böbrek dokularında ELISA yöntemi ile ölçülen pro-enflamatuvar sitokin ölçüm sonuçlarına göre TCZ1 grubunun sağlıklı gruba en yakın grup olduğu tespit edilmiştir. TCZ6, TCZ8 ve TCZ10 gruplarının ise Sağlıklı grup ve TCZ1 grubundan daha yüksek sonuçlar verdiği ancak TCZ16 ve Sepsis grubundan anlamlı derecede daha düşük sonuçlara sahip olduğu görülmüştür. TCZ16 grubu sonuçları incelendiğinde ise Sepsis grubu ile benzer sonuçların geldiği görülmüştür. Böbrek dokusu sonuçları incelendiğinde sağlıklı gruba en yakın grubun yine TCZ1 grubu olduğu gözlemlenmiştir. TCZ6, TCZ8 ve TCZ10 grupları ise orta dereceli böbrek hasarı sonuçları ile birbirlerine benzer gruplar olmuştur. Ancak bu üç grup arasında da en düşük sitokin seviyesine sahip olan grup TCZ10 grubu olmuştur. TCZ 6 ve TCZ8 gruplarında akciğer dokularında görülen şiddetli hasar seviyesi böbrek dokularında orta dereceli hasar olarak görülmüştür. İlk ana çalışmamızın sonuçları incelendiğinde sepsiste akciğer hasarının daha önce oluşmaya başladığını ve tepe noktaya çıktıktan daha sonra böbrek hasarının oluşmaya başladığı ve çok daha geç bir saat diliminde böbrek hasarının tepe noktaya çıktığını söylemiştik. Tedavilerle beraber böbrek hasarı zirve noktasına çıkmadan yapılan tedavinin böbrekleri koruyabildiğini göstermiş olduk. Ancak 16. saatte tedavi yaptığımız grup olan TCZ16

grubunun ise sepsis grubuyla benzer sonuçlar aldığını görmüştük. Böbrek hasarını engellemek adına geç yapılan tedavinin kesinlikle tedavi edici özelliği olmadığı görülmektedir. Böbrek hasarına akciğer hasarının da yol açabileceği, böbreklerin akciğer hasarının enflamasyon mediyatörlerinin üretiminde ve ortadan kaldırılmasında önemli bir rol oynadığını unutulmamalıdır.<sup>264</sup> Öte yandan, akciğer hasarı kaynaklı enflamatuvar yüke maruz kalma ve sepsiste mekanik ventilasyon kaynaklı akciğer hasarının böbrek hasarın oluşumunu hızlandırabileceği literatürde gösterilmiştir.<sup>264</sup> Eğer böbrek hasarı uygun bir zamanlama ile tedavi edilemezse sepsisin en ölümcül komplikasyonlarından olan akut böbrek hasarı ile hastada uzun dönem mortalite yüksekliği bekleyebiliriz.<sup>265</sup>

Sonuçlar incelendiğinde TCZ tedavi grupları içerisinde en iyi sonuçlara sahip olan grubun en erken tedavinin yapıldığı grup olan TCZ1 grubu olduğunu görmekteyiz. Çalışmamızın sonuçları literatüre uygun olarak sepsiste erken tedavinin enflamasyonu azalttığını ve sitokin seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir.<sup>266</sup> ELISA yöntemiyle ölçtüğümüz pro-enflamatuvar sitokinlerin seviyesinin düşüklüğü ve histopatolojide yapılan hematoksilen-eosin boyama yöntemi ile bakılan enflamatuvar hasarların düşüklüğü ile TCZ1 grubu örneğinde olduğu gibi erken dönem anti-sitokin tedavinin enflamasyonu ve organ hasarlarını azaltacağı unutulmamalıdır. Ancak organ hasarlarının ve pro-enflamatuvar sitokin seviyelerinin düşüklüğüne rağmen erken dönem tedavinin kesinlikle seçilebilirliği net değildir. Çünkü sepsis ve benzeri hastalıklarda erken dönemde yapılan immün sistem baskılayıcı tedavilerin ilgili patojenin henüz vücuttan eradike edilmeden yapılmış olması, hastaları erken bir vakitte immünsüpresyona sokabilir ve sekonder enfeksiyonlara sebep verebilir.<sup>250</sup>

Sonuçlar incelendiğinde TCZ16 grubunun her iki dokuda da tüm ölçüm sonuçları açısından en yüksek değerlere sahip olan grup olduğu görülmüştür. Sepsiste geç uygulanan tedavinin enflamasyonu daha az derece azaltabildiğini ve sitokin seviyeleri

üzerine daha az etkili olduğunu yapılan literatür çalışmalarında da önceden gösterilmiştir.<sup>266</sup> Literatürde yapılan başka bir çalışmaya göre geç uygulanan TCZ tedavisinin sitokin salınım sendromundan koruyamayacağı da gösterilmiştir.<sup>267</sup> Anti-sitokin tedavilerle ilgili yapılan bir çalışmada anti-sitokin ajanın geç uygulanmasının hastalarda hastane yatışlarını azaltmadığı ve etkisiz olduğu gösterilmiştir.<sup>268</sup> Yaptığımız çalışmada TCZ16 grubu ile hastalığın progresyonu ilerledikten sonra ve hastalıktaki organ hasarlarının şiddeti tepe noktaya çıktığı zaman diliminden sonra yapılan tedavilerin hastalık modeli yapılan ve tedavi almayan gruptan bir farkının olmadığı gösterilmiştir.

Diğer tedavi grupları olan TCZ6, TCZ8 ve TCZ10 grupları incelendiğinde ise daha farklı sonuçlar göze çarpmaktadır. Tüm pro-enflamatuvar sitokin ölçümlerimizde TCZ10 tedavi grubu TCZ6, TCZ8 ve TCZ16 gruplarından daha iyi sonuçlar vermiştir. TCZ10 tedavi grubu akciğer dokusunda yapılan histopatolojik organ hasarları incelemesinde bu gruplardan daha iyi sonuç vermiştir. İlk ana çalışmamızın sonuçlarına göre 10. saatte organ hasarlarının derecesi hem 6. saate göre ve 8. saate göre yüksek olmasında rağmen 10. saatte yapılan tedavi hem pro-enflamatuvar sitokin seviyeleri açısından hem de histopatolojik organ hasarları açısından TCZ1 hariç diğer tüm tedavi gruplarına göre daha iyi gelmiştir.

Bu durum birkaç şekilde açıklanabilir. Sepsis esnasında sitokinlerin bazı görevleri bulunmaktadır. Sepsis, kan dolaşımında saptanabilen hem pro- hem de anti-enflamatuvar sitokinlerin ağırlaştırılmış üretimi ile ilişkilidir. Onların 'yarı melek, yarı şeytan' özellikleri sepsiste tam olarak gösterilmiştir. Sepsis gibi hastalıklarda enfeksiyonla savaşmak için bir ön koşul olsalar da, aşırı üretimleri zararlıdır.<sup>269</sup> Yani sepsiste enfektif ajanın eradikasyonu için yeterli süre boyunca sitokinlerin belli bir seviyede dolaşımında bulunmaları gereklidir. Sepsiste patojen eradikasyonu sağlanmadan önce yapılacak olan

bir anti-sitokin tedavi immün sistemi belli bir ölçüde baskılayıp patojen eradikasyonun yarıda kalmasına yol açabilir.

TCZ10 grubu TCZ1 grubuna göre çalışmamızın klinik translasyonu açısından çok daha önemli bir gruptur. TCZ1 grubu sepsis indüksiyonu sonrası 1. saatte tedavi verilen grup olarak aslında klinikte en az yakalayabileceğimiz hasta grubunu temsil etmektedir. Çünkü hastanede yatan hastalarda dahil edilmiş olsa bile sepsisin başlangıcından 1. saat sonra teşhis edilebilmesi genellikle imkansıza yakındır. Bu yüzden TCZ6, TCZ8, TCZ 10 ve TCZ 16 grupları klinik olarak daha kolay tespit edilebilecek grupları temsil etmektedir.

Yapılan TCZ tedavi grupları çalışması son derece önemli bulgular sunmuştur. Ancak bazı taşların yerine daha iyi oturması gerekmektedir. TCZ tedavi grupları çalışmasının sonucu bize sepsis sürecinde farklı zamanlamalarda yapılan tedavi sonuçlarının 24. saatin sonunda nasıl etki etmiş olacağını göstermiştir. Sonuçlar 24 saatlik sürecin sonunda farklı tedavi gruplarının etkilerini anlık bir bulguyla göstermektedir. Tedavilerimizi sepsis süreci boyunca en net klinik göstergelerden biri sayılan sağkalım analizi sonuçlarıyla inceleyerek alınan anlık sonuçlarla birlikte tedavilerin sepsisteki etkinliklerini tüm süreç boyunca izlemiş olarak hem tedavilerin 24 saat sonundaki sonuçlarının anlık fotoğrafına bakmanın yanında tüm sürecin bir filmini de izleyerek konunun daha iyi anlaşılmasını sağlamış olduk.<sup>270</sup>

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak hipotezimizde planlamış olduğumuz şekilde sepsis sürecinde sitokinlerin zamana bağlı değişiminin ve organ hasarlarının zamana bağlı değişimlerinin incelenerek; immün sistemimizin enflamasyon homestazını ve immün davranışlarını anlayarak uygun zamanlama ile tedavi müdahalesini desteklemek üzerine yapış olduğumuz çalışmalar bize önemli bulgular vermiştir. Çalışmalarımızın sonuçları bizlere sepsis sürecinin organ hasarları ve sitokin seviyeleri izlenerek nasıl ilerlediğine dair yapmış olduğumuz saatlik izlem çalışmalarıyla oldukça net ve açık veriler sunmuştur. İlgili ilacımız ile yaptığımız tedavi sonuçları ve sağkalım izlem çalışması sonuçları farklı zamanlamalarla yapılan tedavilerin etkinliklerini ve birbirlerine üstünlüklerini göstermiştir.

Çalışmamızın sonucunda anti-sitokin tedavilerin mutlaka ilgili sitokin seviyesinin incelenerek planlanması gerektiği; anti-sitokin ilaçların sepsisin erken veya geç dönemlerinde farklı etkiler gösterdiği ve bunun sonucunda organ ve doku hasarında büyük değişikliklerin olduğu göz önünde bulundurularak tedavi planlaması yapılması gerektiği ortaya çıkmıştır.

Çalışmamızın sonuçları sepsis tedavisi ve anti-sitokin ilaç kullanımıyla alakalı bazı öneriler sunmuştur. Sırasıyla özetleyecek olursak sepsis tedavisinde sepsisin patofizyolojik seyri çok iyi takip edilmelidir; sepsis tedavisini yapacak olan hekimin sepsis patofizyolojisini inceleyerek tedavi yöntemlerine translasyonu gerekmektedir; tedavide kullanılacak olan ajanın hastanın hiper-enflamatuvar cevabını erken dönemde baskılamaması gerekmektedir; yine kullanılacak olan ilacın hastayı sepsisin immünsüpresyon fazında iken daha derin bir immünsüpresyona ilerletmemesi gerekmektedir; anti-sitokin ilaçların ilgili sitokin seviyelerinin ve ilgili sitokinin sepsisteki seyrinin bilinip uygun zamanlama ile kullanılması gerekir; anti-sitokin ilaçların

erken dönemde kullanımın sepsiste patojen eradikasyonunu engelleyebileceği unutulmamalıdır; anti-sitokin ilaçların geç dönem uygulanımının ise derin bir immünsüpresyon fazına neden olacağı ve tedavisel etkinliğinin olmadığı unutulmamalıdır.



## KAYNAKLAR

1. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent J-L. Sepsis and septic shock. *Nature reviews Disease primers*, 2016, 2: 16045.
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche J-D, Cooper-Smith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent J-L, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 2016, 315: 801-810.
3. Hotchkiss RS, Karl IE. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *New England Journal of Medicine*, 2003, 348: 138-150.
4. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nature Reviews Immunology*, 2017, 17: 407-420.
5. Weighardt H, Heidecke C-D, Emmanuilidis K, Maier S, Bartels H, Siewert J-R, Holzmann B. Sepsis after major visceral surgery is associated with sustained and interferon- $\gamma$ -resistant defects of monocyte cytokine production. *Surgery*, 2000, 127: 309-315.
6. Newton K, Dixit VM. Signaling in innate immunity and inflammation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2012, 4: a006049.
7. Nedeva C, Menassa J, Puthalakath H. Sepsis: inflammation is a necessary evil. *Frontiers in cell and developmental biology*, 2019, 7: 108.
8. Riedemann NC, Guo R-F, Ward PA. The enigma of sepsis. *The Journal of clinical investigation*, 2003, 112: 460-467.
9. HILDEBRAND F, PAPE H-C, HARWOOD P, WITTEWERT 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. *Clinical and Experimental Immunology*, 2004, 138: 221-229.
10. Calabrese LH, Rose-John S. IL-6 biology: implications for clinical targeting in rheumatic disease. *Nature Reviews Rheumatology*, 2014, 10: 720-727.
  11. Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, De Groote D, Franchimont P, Lamy M. Cytokine serum level during severe sepsis in human IL-6 as a marker of severity. *Ann Surg*, 1992, 215: 356-362.
  12. Krüttgen A, Rose-John S. Interleukin-6 in sepsis and capillary leakage syndrome. *J Interferon Cytokine Res*, 2012, 32: 60-65.
  13. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 2013, 13: 862-874.
  14. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *The Lancet infectious diseases*, 2013, 13: 260-268.
  15. Hotchkiss RS, Opal SM. Immunotherapy for sepsis: a new approach against an ancient foe. *The New England journal of medicine*, 2010, 363: 87.
  16. Munford RS, Pugin J. Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2001, 163: 316-321.
  17. Stearns-Kurosawa DJ, Osuchowski MF, Valentine C, Kurosawa S, Remick DG. The pathogenesis of sepsis. *Annual review of pathology*, 2011, 6: 19.

18. Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, Cuschieri J, Cuenca AG, Gao H, Hayden DL, Hennessy L, Moore EE, Minei JP. A genomic storm in critically injured humans. *Journal of Experimental Medicine*, 2011, 208: 2581-2590.
19. Watanabe E, Thampy LK, Hotchkiss RS. Immuno-adjunct therapy in sepsis: novel strategies for immunosuppressive sepsis coming down the pike. *Acute medicine & surgery*, 2018, 5: 309-315.
20. Payen D, Monneret G, Hotchkiss R. Immunotherapy - a potential new way forward in the treatment of sepsis. *Crit Care*, 2013, 17: 118.
21. Muller Kobold AC, Tulleken JE, Zijlstra JG, Sluiter W, Hermans J, Kallenberg CG, Tervaert JW. Leukocyte activation in sepsis; correlations with disease state and mortality. *Intensive Care Med*, 2000, 26: 883-892.
22. Marshall JC. Why have clinical trials in sepsis failed? *Trends in molecular medicine*, 2014, 20: 195-203.
23. Leentjens J, Kox M, van der Hoeven JG, Netea MG, Pickkers P. Immunotherapy for the adjunctive treatment of sepsis: from immunosuppression to immunostimulation. Time for a paradigm change? *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2013, 187: 1287-1293.
24. Patil NK, Bohannon JK, Sherwood ER. Immunotherapy: a promising approach to reverse sepsis-induced immunosuppression. *Pharmacological Research*, 2016, 111: 688-702.
25. 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 medicine*, 2011, 37: 525-532.
26. Payen D, Monneret G, Hotchkiss R. Immunotherapy-a potential new way forward in the treatment of sepsis. *Critical Care*, 2013, 17: 1-2.

27. Mackall CL, Fry TJ, Gress RE. Harnessing the biology of IL-7 for therapeutic application. *Nature Reviews Immunology*, 2011, 11: 330-342.
28. Sheppard M, Laskou F, Stapleton PP, Hadavi S, Dasgupta B. Tocilizumab (actemra). *Human vaccines & immunotherapeutics*, 2017, 13: 1972-1988.
29. Srirangan S, Choy EH. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 2010, 2: 247-256.
30. Ibrahim YF, Moussa RA, Bayoumi AMA, Ahmed AF. Tocilizumab attenuates acute lung and kidney injuries and improves survival in a rat model of sepsis via down-regulation of NF- $\kappa$ B/JNK: a possible role of P-glycoprotein. *Inflammopharmacology*, 2020, 28: 215-230.
31. Chen KL, Lv ZY, Yang HW, Liu Y, Long FW, Zhou B, Sun XF, Peng ZH, Zhou ZG, Li Y. Effects of Tocilizumab on Experimental Severe Acute Pancreatitis and Associated Acute Lung Injury. *Crit Care Med*, 2016, 44: e664-677.
32. Luo P, Liu Y, Qiu L, Liu X, Liu D, Li J. Tocilizumab treatment in COVID-19: a single center experience. *Journal of medical virology*, 2020, 92: 814-818.
33. Moore JB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*, 2020, 368: 473-474.
34. Lan S-H, Lai C-C, Huang H-T, Chang S-P, Lu L-C, Hsueh P-R. Tocilizumab for severe COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *International journal of antimicrobial agents*, 2020, 56: 106103.
35. Mahroum N, Watad A, Bridgewood C, Mansour M, Nasr A, Hussein A, Khamisy-Farah R, Farah R, Gendelman O, Lidar M. Systematic review and meta-analysis of tocilizumab therapy versus standard of care in over 15,000 COVID-19 pneumonia

- patients during the first eight months of the pandemic. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18: 9149.
36. Tocilizumab in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *The Lancet*, 2021, 397: 1637-1645.
37. Somers EC, Eschenauer GA, Troost JP, Golob JL, Gandhi TN, Wang L, Zhou N, Petty LA, Baang JH, Dillman NO, Frame D, Gregg KS, Kaul DR, Nagel J, Patel TS, Zhou S, Luring AS, Hanauer DA, Martin E, Sharma P, Fung CM, Pogue JM. Tocilizumab for Treatment of Mechanically Ventilated Patients With COVID-19. *Clinical Infectious Diseases*, 2020, 73: e445-e454.
38. Tleyjeh IM, Kashour Z, Damlaj M, Riaz M, Tlayjeh H, Altannir M, Altannir Y, Altannir M, Tleyjeh R, Hassett L, Kashour T. Efficacy and safety of tocilizumab in COVID-19 patients: a living systematic review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*, 2021, 27: 215-227.
39. Romão VC, Vital EM, Fonseca JE, Buch MH. Right drug, right patient, right time: aspiration or future promise for biologics in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther*, 2017, 19: 239.
40. Hasanin A, Mostafa M. Tocilizumab in patients with COVID-19: which patient, time, and dose? *Journal of Anesthesia*, 2021, 35: 896-902.
41. Huang M, Cai S, Su J. The pathogenesis of sepsis and potential therapeutic targets. *International journal of molecular sciences*, 2019, 20: 5376.
42. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche J-D, Coopersmith CM. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *Jama*, 2016, 315: 801-810.

43. Kumar V. Targeting macrophage immunometabolism: dawn in the darkness of sepsis. *International immunopharmacology*, 2018, 58: 173-185.
44. Majno G. The ancient riddle of σήψις (sepsis). *The Journal of infectious diseases*, 1991, 163: 937-945.
45. Hawiger J, Veach R, Zienkiewicz J. New paradigms in sepsis: from prevention to protection of failing microcirculation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2015, 13: 1743-1756.
46. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, Colombara DV, Ikuta KS, Kisson N, Finfer S. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*, 2020, 395: 200-211.
47. Genga KR, Russell JA. Update of sepsis in the intensive care unit. *Journal of innate immunity*, 2017, 9: 441-455.
48. Rowe T, Araujo KL, Van Ness PH, Pisani MA, Juthani-Mehta M In *Outcomes of older adults with sepsis at admission to an intensive care unit*, Open Forum Infectious Diseases, (editör).^(editörler). Oxford University Press: 2016.
49. Rhee C, Klompas M. Sepsis trends: increasing incidence and decreasing mortality, or changing denominator? *Journal of Thoracic Disease*, 2020, 12: S89.
50. Apitzsch S, Larsson L, Larsson A-K, Linder A. The physical and mental impact of surviving sepsis—a qualitative study of experiences and perceptions among a Swedish sample. *Archives of Public Health*, 2021, 79: 1-9.
51. Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *Jama*, 2010, 304: 1787-1794.
52. Physicians ACoC. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit care med*, 1992, 20: 864-874.

53. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent J-L, Ramsay G. 2001 sccm/esicm/accp/ats/sis international sepsis definitions conference. *Intensive care medicine*, 2003, 29: 530-538.
54. Rathour S, Kumar S, Hadda V, Bhalla A, Sharma N, Varma S. PIRO concept: staging of sepsis. *Journal of postgraduate medicine*, 2015, 61: 235.
55. Vincent J-L, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions: time for change. *Lancet (London, England)*, 2013, 381: 774.
56. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, Angus DC, Reinhart K. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2016, 193: 259-272.
57. Becker JU, Theodosis C, Jacob ST, Wira CR, Groce NE. Surviving sepsis in low-income and middle-income countries: new directions for care and research. *The Lancet infectious diseases*, 2009, 9: 577-582.
58. Jawad I, Lukšić I, Rafnsson SB. Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality. *Journal of global health*, 2012, 2.
59. Murray CJ, Lopez AD. Measuring the global burden of disease. *New England Journal of Medicine*, 2013, 369: 448-457.
60. Mayanja B, Todd J, Hughes P, Van der Paal L, Mugisha J, Atuhumuza E, Tabuga P, Maher D, Grosskurth H. Septicaemia in a population-based HIV clinical cohort in rural Uganda, 1996–2007: incidence, aetiology, antimicrobial drug resistance and impact of antiretroviral therapy. *Tropical Medicine & International Health*, 2010, 15: 697-705.

61. Gordon M, Walsh AL, Chaponda M, Soko D, Mbwwinji M, Molyneux ME, Gordon S. Bacteraemia and Mortality Among Adult Medical Admissions in Malawi—Predominance of Non-typhi Salmonellae and *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Infection*, 2001, 42: 44-49.
62. Sundararajan V, MacIsaac CM, Presneill JJ, Cade JF, Visvanathan K. Epidemiology of sepsis in Victoria, Australia. *Critical care medicine*, 2005, 33: 71-80.
63. Seymour CW, Iwashyna TJ, Cooke CR, Hough CL, Martin GS. Marital status and the epidemiology and outcomes of sepsis. *Chest*, 2010, 137: 1289-1296.
64. Fleischmann C, Thomas-Rueddel DO, Hartmann M, Hartog CS, Welte T, Heublein S, Dennler U, Reinhart K. Hospital incidence and mortality rates of sepsis: an analysis of hospital episode (DRG) statistics in Germany from 2007 to 2013. *Deutsches Ärzteblatt International*, 2016, 113: 159.
65. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Critical care medicine*, 2007, 35: 1244-1250.
66. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New England Journal of Medicine*, 2003, 348: 1546-1554.
67. Rhee C, Gohil S, Klompas M. Regulatory mandates for sepsis care—reasons for caution. *New England Journal of Medicine*, 2014, 370: 1673-1676.
68. Whittaker S-A, Mikkelsen ME, Gaieski DF, Koshy S, Kean C, Fuchs BD. Severe sepsis cohorts derived from claims-based strategies appear to be biased towards a more severely ill patient population. *Critical care medicine*, 2013, 41.
69. Iwashyna TJ, Angus DC. Declining case fatality rates for severe sepsis: good data bring good news with ambiguous implications. *Jama*, 2014, 311: 1295-1297.

70. McPherson D, Griffiths C, Williams M, Baker A, Klodawski E, Jacobson B, Donaldson L. Sepsis-associated mortality in England: an analysis of multiple cause of death data from 2001 to 2010. *BMJ open*, 2013, 3: e002586.
71. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent J-L. Sepsis and septic shock. *Nature reviews Disease primers*, 2016, 2: 1-21.
72. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, Sicignano A, Palazzo M, Moreno R, Boulmé R. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive care medicine*, 2002, 28: 108-121.
73. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2003, 168: 165-172.
74. Annane D, Bellissant E, Cavaillon J-M. Septic shock. *The Lancet*, 2005, 365: 63-78.
75. Rø H, Karl I. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*, 2003, 348: 138-150.
76. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive care medicine*, 2004, 30: 536-555.
77. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical care medicine*, 2006, 34: 1589-1596.

78. Dolin HH, Papadimos TJ, Chen X, Pan ZK. Characterization of pathogenic sepsis etiologies and patient profiles: a novel approach to triage and treatment. *Microbiology Insights*, 2019, 12: 1178636118825081.
79. Hagiwara S, Iwasaka H, Noguchi T. RETRACTED ARTICLE: Nafamostat mesilate inhibits the expression of HMGB1 in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Journal of anesthesia*, 2007, 21: 164-170.
80. Vincent J, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin C, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y. L (2009) International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama*, 2009, 302: 2323.
81. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik S. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *Journal of internal medicine*, 1998, 244: 379-386.
82. Cohen J, Vincent J-L, Adhikari NK, Machado FR, Angus DC, Calandra T, Jaton K, Giulieri S, Delaloye J, Opal S. Sepsis: a roadmap for future research. *The Lancet infectious diseases*, 2015, 15: 581-614.
83. Taylor PR, Roy S, Leal SM, Sun Y, Howell SJ, Cobb BA, Li X, Pearlman E. Activation of neutrophils by autocrine IL-17A–IL-17RC interactions during fungal infection is regulated by IL-6, IL-23, ROR $\gamma$ t and dectin-2. *Nature immunology*, 2014, 15: 143-151.
84. Miguel-Montanes R, Hajage D, Messika J, Bertrand F, Gaudry S, Rafat C, Labbé V, Dufour N, Jean-Baptiste S, Bedet A. Use of high-flow nasal cannula oxygen therapy to prevent desaturation during tracheal intubation of intensive care patients with mild-to-moderate hypoxemia. *Critical care medicine*, 2015, 43: 574-583.

85. Pittet D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections: secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Archives of internal medicine*, 1995, 155: 1177-1184.
86. Trick WE, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infection in the 1990s. *Revista iberoamericana de micologia*, 1998, 15: 2-6.
87. Zahar J-R, Timsit J-F, Garrouste-Orgeas M, Francais A, Vesim A, Descorps-Declere A, Dubois Y, Souweine B, Haouache H, Goldgran-Toledano D. Outcomes in severe sepsis and patients with septic shock: pathogen species and infection sites are not associated with mortality. *Critical care medicine*, 2011, 39: 1886-1895.
88. Research SAIDC. Causes and outcomes of sepsis in southeast Asia: a multinational multicentre cross-sectional study. *The Lancet Global health*, 2017, 5: e157-e167.
89. Chowell G, Bertozzi SM, Colchero MA, Lopez-Gatell H, Alpuche-Aranda C, Hernandez M, Miller MA. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 influenza. *New England Journal of Medicine*, 2009, 361: 674-679.
90. Shane A, Sánchez P, Stoll B. Sepsis neonatal. *Lancet*, 2017, 390: 1770-1780.
91. Lin G-L, McGinley JP, Drysdale SB, Pollard AJ. Epidemiology and immune pathogenesis of viral sepsis. *Frontiers in immunology*, 2018: 2147.
92. Li H, Liu L, Zhang D, Xu J, Dai H, Tang N. SARS-CoV-2 y sepsis viral: observaciones e hipótesis. *Lancet*, 2020, 395: 1517-1520.
93. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 2010, 140: 805-820.
94. Chan JK, Roth J, Oppenheim JJ, Tracey KJ, Vogl T, Feldmann M, Horwood N, Nanchahal J. Alarmins: awaiting a clinical response. *The Journal of clinical investigation*, 2012, 122: 2711-2719.

95. Deutschman CS, Tracey KJ. Sepsis: current dogma and new perspectives. *Immunity*, 2014, 40: 463-475.
96. Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, Ang D, McKinley BA, Moldawer LL, Moore FA. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. *The journal of trauma and acute care surgery*, 2012, 72: 1491.
97. D'Elia RV, Harrison K, Oyston PC, Lukaszewski RA, Clark GC. Targeting the “cytokine storm” for therapeutic benefit. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2013, 20: 319-327.
98. Raymond SL, Holden DC, Mira JC, Stortz JA, Loftus TJ, Mohr AM, Moldawer LL, Moore FA, Larson SD, Efron PA. Microbial recognition and danger signals in sepsis and trauma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2017, 1863: 2564-2573.
99. Lamkanfi M. Emerging inflammasome effector mechanisms. *Nature Reviews Immunology*, 2011, 11: 213-220.
100. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature immunology*, 2010, 11: 373-384.
101. Anwar MA, Basith S, Choi S. Negative regulatory approaches to the attenuation of Toll-like receptor signaling. *Experimental & molecular medicine*, 2013, 45: e11-e11.
102. Qiu Z, He Y, Ming H, Lei S, Leng Y, Xia Z-y. Lipopolysaccharide (LPS) aggravates high glucose-and hypoxia/reoxygenation-induced injury through activating ROS-dependent NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in H9C2 cardiomyocytes. *Journal of diabetes research*, 2019, 2019.

103. Deng M, Tang Y, Li W, Wang X, Zhang R, Zhang X, Zhao X, Liu J, Tang C, Liu Z. The endotoxin delivery protein HMGB1 mediates caspase-11-dependent lethality in sepsis. *Immunity*, 2018, 49: 740-753. e747.
104. Hagar JA, Powell DA, Aachoui Y, Ernst RK, Miao EA. Cytoplasmic LPS activates caspase-11: implications in TLR4-independent endotoxic shock. *Science*, 2013, 341: 1250-1253.
105. Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nature Reviews Nephrology*, 2018, 14: 121-137.
106. Shen XF, Cao K, Jiang Jp, Guan WX, Du JF. Neutrophil dysregulation during sepsis: an overview and update. *Journal of cellular and molecular medicine*, 2017, 21: 1687-1697.
107. Hou J, Chen Q, Zhang K, Cheng B, Xie G, Wu X, Luo C, Chen L, Liu H, Zhao B. Sphingosine 1-phosphate receptor 2 signaling suppresses macrophage phagocytosis and impairs host defense against sepsis. *Anesthesiology*, 2015, 123: 409-422.
108. Efron PA, Martins A, Minnich D, Tinsley K, Ungaro R, Bahjat FR, Hotchkiss R, Clare-Salzler M, Moldawer LL. Characterization of the systemic loss of dendritic cells in murine lymph nodes during polymicrobial sepsis. *The Journal of Immunology*, 2004, 173: 3035-3043.
109. Cheng S-C, Scicluna BP, Arts RJ, Gresnigt MS, Lachmandas E, Giamarellos-Bourboulis EJ, Kox M, Manjeri GR, Wagenaars JA, Cremer OL. Broad defects in the energy metabolism of leukocytes underlie immunoparalysis in sepsis. *Nature immunology*, 2016, 17: 406-413.
110. Pepin D, Godeny M, Russell D, Mehta P, Lie W-R. Profiling of soluble immune checkpoint proteins as potential non-invasive biomarkers in colorectal cancer and sepsis. 2018.

111. Honma K, Udono H, Kohno T, Yamamoto K, Ogawa A, Takemori T, Kumatori A, Suzuki S, Matsuyama T, Yui K. Interferon regulatory factor 4 negatively regulates the production of proinflammatory cytokines by macrophages in response to LPS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, 102: 16001-16006.
112. Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, van Der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence*, 2014, 5: 36-44.
113. Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement system part II: role in immunity. *Frontiers in immunology*, 2015, 6: 257.
114. de Stoppelaar SF, van't Veer C, van der Poll T. The role of platelets in sepsis. *Thrombosis and haemostasis*, 2014, 112: 666-677.
115. Tegla CA, Cudrici C, Patel S, Trippe R, Rus V, Niculescu F, Rus H. Membrane attack by complement: the assembly and biology of terminal complement complexes. *Immunologic research*, 2011, 51: 45-60.
116. Opal SM In *Immunologic alterations and the pathogenesis of organ failure in the ICU*, Seminars in respiratory and critical care medicine, (editör).<sup>^</sup>(editörler). © Thieme Medical Publishers: 2011; 569-580.
117. van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis. *Immunity*, 2021, 54: 2450-2464.
118. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. *Immunotherapy*, 2016, 8: 959-970.
119. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004, 303: 1532-1535.

120. Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, Taylor FB, Esmon NL, Lupu F, Esmon CT. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nature Medicine*, 2009, 15: 1318-1321.
121. Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thrombosis research*, 2017, 149: 38-44.
122. Kerris EW, Hoptay C, Calderon T, Freishtat RJ. Platelets and platelet extracellular vesicles in hemostasis and sepsis. *Journal of Investigative Medicine*, 2020, 68: 813-820.
123. Chong DL, Sriskandan S. Pro-inflammatory mechanisms in sepsis. *Sepsis-Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Responses*, 2011, 17: 86-107.
124. Flierl MA, Rittirsch D, Gao H, Hoesel LM, Nadeau BA, Day DE, Zetoune FS, Sarma JV, Huber-Lang MS, Ferrara JL. Adverse functions of IL-17A in experimental sepsis. *The FASEB Journal*, 2008, 22: 2198-2205.
125. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*, 2000, 118: 503-508.
126. Ye P, Rodriguez FH, Kanaly S, Stocking KL, Schurr J, Schwarzenberger P, Oliver P, Huang W, Zhang P, Zhang J. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *The Journal of experimental medicine*, 2001, 194: 519-528.
127. Pène F, Courtine E, Ouaz F, Zuber B, Sauneuf B, Sirgo G, Rousseau C, Toubiana J, Balloy V, Chignard M. Toll-like receptors 2 and 4 contribute to sepsis-induced depletion of spleen dendritic cells. *Infection and immunity*, 2009, 77: 5651-5658.
128. Roger T, Froidevaux C, Le Roy D, Reymond MK, Chanson A-L, Mauri D, Burns K, Riederer BM, Akira S, Calandra T. Protection from lethal gram-negative bacterial

- sepsis by targeting Toll-like receptor 4. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106: 2348-2352.
129. Plitas G, Burt BM, Nguyen HM, Bamboat ZM, DeMatteo RP. Toll-like receptor 9 inhibition reduces mortality in polymicrobial sepsis. *The Journal of experimental medicine*, 2008, 205: 1277-1283.
130. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, Bricker TL, Jarman SD, Kreisel D, Krupnick AS. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *Jama*, 2011, 306: 2594-2605.
131. Huang X, Venet F, Wang YL, Lepape A, Yuan Z, Chen Y, Swan R, Kherouf H, Monneret G, Chung C-S. PD-1 expression by macrophages plays a pathologic role in altering microbial clearance and the innate inflammatory response to sepsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106: 6303-6308.
132. Shao R, Fang Y, Yu H, Zhao L, Jiang Z, Li C-S. Monocyte programmed death ligand-1 expression after 3–4 days of sepsis is associated with risk stratification and mortality in septic patients: a prospective cohort study. *Critical care*, 2016, 20: 1-10.
133. Pastille E, Didovic S, Brauckmann D, Rani M, Agrawal H, Schade FU, Zhang Y, Flohé SB. Modulation of dendritic cell differentiation in the bone marrow mediates sustained immunosuppression after polymicrobial sepsis. *The Journal of Immunology*, 2011, 186: 977-986.
134. 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. *The Journal of Immunology*, 2002, 168: 2493-2500.
135. Scumpia PO, McAuliffe PF, O'Malley KA, Ungaro R, Uchida T, Matsumoto T, Remick DG, Clare-Salzler MJ, Moldawer LL, Efron PA. CD11c+ dendritic cells are

- required for survival in murine polymicrobial sepsis. *The Journal of Immunology*, 2005, 175: 3282-3286.
136. Carson WF, Cavassani KA, Dou Y, Kunkel SL. Epigenetic regulation of immune cell functions during post-septic immunosuppression. *Epigenetics*, 2011, 6: 273-283.
137. Foster SL, Hargreaves DC, Medzhitov R. Gene-specific control of inflammation by TLR-induced chromatin modifications. *Nature*, 2007, 447: 972-978.
138. Netea MG, Quintin J, Van Der Meer JW. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell host & microbe*, 2011, 9: 355-361.
139. Blok BA, Arts RJ, van Crevel R, Benn CS, Netea MG. Trained innate immunity as underlying mechanism for the long-term, nonspecific effects of vaccines. *Journal of leukocyte biology*, 2015, 98: 347-356.
140. Perl M, Chung C-S, Garber M, Huang X, Ayala A. Contribution of anti-inflammatory/immune suppressive processes to the pathology of sepsis. *Front Biosci*, 2006, 11: 272-299.
141. Shubin NJ, Monaghan SF, Ayala A. Anti-inflammatory mechanisms of sepsis. *Sepsis-Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Responses*, 2011, 17: 108-124.
142. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*, 2001, 19: 683-765.
143. Matsukawa A, Hogaboam CM, Lukacs NW, Lincoln PM, Evanoff HL, Strieter RM, Kunkel SL. Expression and contribution of endogenous IL-13 in an experimental model of sepsis. *The Journal of Immunology*, 2000, 164: 2738-2744.
144. Vyas D, Javadi P, DiPasco PJ, Buchman TG, Hotchkiss RS, Coopersmith CM. Early antibiotic administration but not antibody therapy directed against IL-6 improves survival in septic mice predicted to die on basis of high IL-6 levels. *American Journal*

- of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2005, 289: R1048-R1053.
145. Kolb WP, Granger GA. Lymphocyte in vitro cytotoxicity: characterization of human lymphotoxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1968, 61: 1250.
146. Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *European journal of immunology*, 2007, 37: S34-S45.
147. Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF In *Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis*, Seminars in immunopathology, (editör).^(editörler). Springer: 2017; 517-528.
148. Jones SA, Scheller J, Rose-John S. Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling. *The Journal of clinical investigation*, 2011, 121: 3375-3383.
149. Gouel-Chéron A, Allaouchiche B, Guignant C, Davin F, Floccard B, Monneret G, Group A. Early interleukin-6 and slope of monocyte human leukocyte antigen-DR: a powerful association to predict the development of sepsis after major trauma. *PloS one*, 2012, 7: e33095.
150. Wu H-P, Chen C-K, Chung K, Tseng J-C, Hua C-C, Liu Y-C, Chuang D-Y, Yang C-H. Serial cytokine levels in patients with severe sepsis. *Inflammation Research*, 2009, 58: 385-393.
151. Kellum JA, Kong L, Fink MP, Weissfeld LA, Yealy DM, Pinsky MR, Fine J, Krichevsky A, Delude RL, Angus DC. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Archives of internal medicine*, 2007, 167: 1655-1663.

152. Riedemann NC, Guo RF, Hollmann TJ, Gao H, Neff TA, Reuben JS, Speyer CL, Sarma JV, Wetsel RA, Zetoune FS. Regulatory role of C5a in LPS-induced IL-6 production by neutrophils during sepsis. *The FASEB Journal*, 2004, 18: 1-16.
153. Riedemann NC, Neff TA, Guo R-F, Bernacki KD, Laudes IJ, Sarma JV, Lambris JD, Ward PA. Protective effects of IL-6 blockade in sepsis are linked to reduced C5a receptor expression. *The Journal of Immunology*, 2003, 170: 503-507.
154. Jones SA, Horiuchi S, Topley N, Yamamoto N, Fuller GM. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *The FASEB Journal*, 2001, 15: 43-58.
155. Hsieh C-S, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science*, 1993, 260: 547-549.
156. Schreuder H, Tardif C, Trump-Kallmeyer S, Soffientini A, Sarubbi E, Akesson A, Bowlin T, Yanofsky S, Barrett RW. A new cytokine-receptor binding mode revealed by the crystal structure of the IL-1 receptor with an antagonist. *Nature*, 1997, 386: 194-200.
157. Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. *Nature Reviews Immunology*, 2015, 15: 271-282.
158. Yang Y-C, Ciarletta AB, Temple PA, Chung MP, Kovacic S, Witek-Giannotti JS, Leary AC, Kriz R, Donahue RE, Wong GG. Human IL-3 (multi-CSF): identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell*, 1986, 47: 3-10.
159. Weber GF, Chousterman BG, He S, Fenn AM, Nairz M, Anzai A, Brenner T, Uhle F, Iwamoto Y, Robbins CS. Interleukin-3 amplifies acute inflammation and is a potential therapeutic target in sepsis. *Science*, 2015, 347: 1260-1265.

160. Opal SM, Dellinger RP, Vincent J-L, Masur H, Angus DC. The next generation of sepsis trials: What's next after the demise of recombinant human activated protein C? *Critical care medicine*, 2014, 42: 1714.
161. Hahn EO, Houser HB, Rammelkamp CH, Denny FW, Wannamaker LW. Effect of cortisone on acute streptococcal infections and post-streptococcal complications. *The Journal of clinical investigation*, 1951, 30: 274-281.
162. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs. *New England Journal of Medicine*, 2005, 353: 1711-1723.
163. Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert P-E, François B, Korach J-M, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troché G. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *Jama*, 2002, 288: 862-871.
164. Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, Weiss YG, Benbenishty J, Kalenka A, Forst H. Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *New England Journal of Medicine*, 2008, 358: 111-124.
165. Opal SM, Fisher CJ, Dhainaut J-FA, Vincent J-L, Brase R, Lowry SF, Sadoff JC, Slotman GJ, Levy H, Balk RA. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, doubleblind, placebo-controlled, multicenter trial. *Critical care medicine*, 1997, 25: 1115-1124.
166. Qiu P, Cui X, Sun J, Welsh J, Natanson C, Eichacker PQ. Anti-tumor necrosis factor therapy is associated with improved survival in clinical sepsis trials: a meta-analysis. *Critical care medicine*, 2013, 41.
167. Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M, Van Der Poll T. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *Journal of leukocyte biology*, 2008, 83: 536-545.

- 168.Sato R, Nasu M. A review of sepsis-induced cardiomyopathy. *Journal of intensive care*, 2015, 3: 1-7.
- 169.Ricci Z, Polito A, Polito A, Ronco C. The implications and management of septic acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 2011, 7: 218-225.
- 170.White LE, Hassoun HT, Bihorac A, Moore LJ, Sailors M, McKinley BA, Valdivia A, Moore FA. Acute kidney injury (AKI) is surprisingly common and a powerful predictor of mortality in surgical sepsis. *The journal of trauma and acute care surgery*, 2013, 75.
- 171.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. *Critical care medicine*, 2001, 29: 1303-1310.
- 172.Watanabe E, Muenzer JT, Hawkins WG, Davis CG, Dixon DJ, McDunn JE, Brackett DJ, Lerner MR, Swanson PE, Hotchkiss RS. Sepsis induces extensive autophagic vacuolization in hepatocytes: a clinical and laboratory-based study. *Laboratory investigation*, 2009, 89: 549-561.
- 173.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. *Critical care medicine*, 1999, 27: 1230-1251.
- 174.Monneret G, Venet F, Pachot A, Lepape A. Monitoring immune dysfunctions in the septic patient: a new skin for the old ceremony. *Molecular medicine*, 2008, 14: 64-78.
- 175.Barochia AV, Cui X, Vitberg D, Suffredini AF, O'Grady NP, Banks SM, Minneci P, Kern SJ, Danner RL, Natanson C. Bundled care for septic shock: an analysis of clinical trials. *Critical care medicine*, 2010, 38: 668.

176. Abraham E, Singer M. Mechanisms of sepsis-induced organ dysfunction. *Critical care medicine*, 2007, 35: 2408-2416.
177. Fink MP, Evans TW. Mechanisms of organ dysfunction in critical illness: report from a Round Table Conference held in Brussels. *Intensive care medicine*, 2002, 28: 369-375.
178. Otto GP, Sossdorf M, Claus RA, Rödel J, Menge K, Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC. The late phase of sepsis is characterized by an increased microbiological burden and death rate. *Critical care*, 2011, 15: 1-8.
179. Kethireddy S, Kumar A. Mortality due to septic shock following early, appropriate antibiotic therapy: can we do better? *Critical care medicine*, 2012, 40: 2228-2229.
180. Rello J, Valenzuela-Sánchez F, Ruiz-Rodríguez M, Moyano S. Sepsis: A Review of Advances in Management. *Advances in Therapy*, 2017, 34: 2393-2411.
181. Monti G, Terzi V, Calini A, Di Marco F, Cruz D, Pulici M, Brioschi P, Vesconi S, Fumagalli R, Casella G. Rescue therapy with polymyxin B hemoperfusion in high-dose vasopressor therapy refractory septic shock. *Minerva anesthesiologica*, 2015, 81: 516-525.
182. Iwagami M, Yasunaga H, Doi K, Horiguchi H, Fushimi K, Matsubara T, Yahagi N, Noiri E. Postoperative Polymyxin B Hemoperfusion and Mortality in Patients With Abdominal Septic Shock: A Propensity-Matched Analysis\*. *Critical care medicine*, 2014, 42: 1187-1193.
183. Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: quintiles prize lecture 2005. *British journal of pharmacology*, 2006, 148: 245-254.
184. Ito K, Barnes PJ, Adcock IM. Glucocorticoid receptor recruitment of histone deacetylase 2 inhibits interleukin-1 $\beta$ -induced histone H4 acetylation on lysines 8 and 12. *Molecular and cellular biology*, 2000, 20: 6891-6903.

185. Keh D, Boehnke T, Weber-Cartens S, Schulz C, Ahlers O, Bercker S, Volk H-D, Doecke W-D, Falke KJ, Gerlach H. Immunologic and Hemodynamic Effects of “Low-Dose” Hydrocortisone in Septic Shock. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2003, 167: 512-520.
186. Marik PE, Khangoora V, Rivera R, Hooper MH, Catravas J. Hydrocortisone, vitamin C, and thiamine for the treatment of severe sepsis and septic shock: a retrospective before-after study. *Chest*, 2017, 151: 1229-1238.
187. JA AND, Rosette C, Helmberg A, Karin M. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of Ikappa B synthesis. *Science*, 1995, 270: 286-290.
188. Verma I. Nuclear factor (NF)- $\kappa$ B proteins: therapeutic targets. *Annals of the rheumatic diseases*, 2004, 63: ii57-ii61.
189. Sheehan M, Wong HR, Hake PW, Malhotra V, O'Connor M, Zingarelli B. Parthenolide, an inhibitor of the nuclear factor-kappaB pathway, ameliorates cardiovascular derangement and outcome in endotoxic shock in rodents. *Mol Pharmacol*, 2002, 61: 953-963.
190. Qiu P, Cui X, Barochia A, Li Y, Natanson C, Eichacker PQ. The evolving experience with therapeutic TNF inhibition in sepsis: considering the potential influence of risk of death. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2011, 20: 1555-1564.
191. Reinhart K, Karzai W. Anti-tumor necrosis factor therapy in sepsis: update on clinical trials and lessons learned. *Critical care medicine*, 2001, 29: S121-S125.
192. Kotsaki A, Giamarellos-Bourboulis EJ. Emerging drugs for the treatment of sepsis. *Expert opinion on emerging drugs*, 2012, 17: 379-391.
193. Panacek EA, Marshall JC, Albertson TE, Johnson DH, Johnson S, MacArthur RD, Miller M, Barchuk WT, Fischkoff S, Kaul M. Efficacy and safety of the monoclonal

- anti-tumor necrosis factor antibody F(ab')<sub>2</sub> fragment afelimomab in patients with severe sepsis and elevated interleukin-6 levels. *CRITICAL CARE MEDICINE-BALTIMORE*, 2004, 32: 2173-2182.
194. Conrad U, Plagmann I, Malchow S, Sack M, Floss DM, Kruglov AA, Nedospasov SA, Rose-John S, Scheller J. ELPylated anti-human TNF therapeutic single-domain antibodies for prevention of lethal septic shock. *Plant biotechnology journal*, 2011, 9: 22-31.
195. Unsinger J, McGlynn M, Kasten KR, Hoekzema AS, Watanabe E, Muenzer JT, McDonough JS, Tschoep J, Ferguson TA, McDunn JE. IL-7 promotes T cell viability, trafficking, and functionality and improves survival in sepsis. *The Journal of Immunology*, 2010, 184: 3768-3779.
196. Perales M-A, Goldberg JD, Yuan J, Koehne G, Lechner L, Papadopoulos EB, Young JW, Jakubowski AA, Zaidi B, Gallardo H. Recombinant human interleukin-7 (CYT107) promotes T-cell recovery after allogeneic stem cell transplantation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2012, 120: 4882-4891.
197. Levy Y, Sereti I, Tambussi G, Routy J, Lelievre J, Delfraissy J, Molina J, Fischl M, Goujard C, Rodriguez B. Effects of recombinant human interleukin 7 on T-cell recovery and thymic output in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: results of a phase I/IIa randomized, placebo-controlled, multicenter study. *Clinical infectious diseases*, 2012, 55: 291-300.
198. Kasten KR, Prakash PS, Unsinger J, Goetzman HS, England LG, Cave CM, Seitz AP, Mazuski CN, Zhou TT, Morre M. Interleukin-7 (IL-7) treatment accelerates neutrophil recruitment through  $\gamma\delta$  T-cell IL-17 production in a murine model of sepsis. *Infection and immunity*, 2010, 78: 4714-4722.

199. Singh A, Mohan A, Dey AB, Mitra DK. Inhibiting the programmed death 1 pathway rescues Mycobacterium tuberculosis-specific interferon  $\gamma$ -producing T cells from apoptosis in patients with pulmonary tuberculosis. *The Journal of infectious diseases*, 2013, 208: 603-615.
200. Döcke W-D, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, Volk H-D, Kox W. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN- $\gamma$  treatment. *Nature Medicine*, 1997, 3: 678-681.
201. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S-i, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*, 1986, 324: 73-76.
202. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature immunology*, 2015, 16: 448-457.
203. Hasegawa H, Mizoguchi I, Chiba Y, Ohashi M, Xu M, Yoshimoto T. Expanding diversity in molecular structures and functions of the IL-6/IL-12 heterodimeric cytokine family. *Frontiers in immunology*, 2016, 7: 479.
204. Murakami M, Kamimura D, Hirano T. Pleiotropy and specificity: insights from the interleukin 6 family of cytokines. *Immunity*, 2019, 50: 812-831.
205. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *International Immunology*, 2020, 33: 127-148.
206. Houssiau FA, Devogelaer JP, Damme JV, Deuxchaisnes CND, Snick JV. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 1988, 31: 784-788.

207. Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, Shimi M, Maid R, Feldmann M. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *European journal of immunology*, 1988, 18: 1797-1802.
208. Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, Kuritani T, Taeho L, Aozasa K, Nakahata T, Kawai H, Tagoh H, Komori T. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. 1989.
209. Wilkin T. The primary lesion theory of autoimmunity: a speculative hypothesis. *Autoimmunity*, 1990, 7: 225-235.
210. Boyden S. Autoimmunity and inflammation. *Nature*, 1964, 201: 200-201.
211. Masjedi A, Hashemi V, Hojjat-Farsangi M, Ghalamfarsa G, Azizi G, Yousefi M, Jadidi-Niaragh F. The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 108: 1415-1424.
212. Grivennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, Yu G-Y, Vallabhapurapu S, Scheller J, Rose-John S, Cheroutre H, Eckmann L. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer. *Cancer cell*, 2009, 15: 103-113.
213. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2014, 6: a016295.
214. Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Advances in immunology*, 1993, 54: 1-78.
215. Libermann TA, Baltimore D. Activation of interleukin-6 gene expression through the NF-kappa B transcription factor. *Molecular and cellular biology*, 1990, 10: 2327-2334.

216. Ballard DW, Bohnlein E, Lowenthal JW, Wano Y, Franza BR, Greene WC. HTLV-I tax induces cellular proteins that activate the  $\kappa$ B element in the IL-2 receptor  $\alpha$  gene. *Science*, 1988, 241: 1652-1655.
217. Anderson P. Post-transcriptional control of cytokine production. *Nature immunology*, 2008, 9: 353-359.
218. Matsushita K, Takeuchi O, Standley DM, Kumagai Y, Kawagoe T, Miyake T, Satoh T, Kato H, Tsujimura T, Nakamura H. Zc3h12a is an RNase essential for controlling immune responses by regulating mRNA decay. *Nature*, 2009, 458: 1185-1190.
219. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Interleukin (IL-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2018, 10: a028456.
220. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2014, 6: a016295-a016295.
221. Liu F, Poursine-Laurent J, Wu HY, Link DC. Interleukin-6 and the granulocyte colony-stimulating factor receptor are major independent regulators of granulopoiesis in vivo but are not required for lineage commitment or terminal differentiation. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 1997, 90: 2583-2590.
222. Chou DB, Sworder B, Bouladoux N, Roy CN, Uchida AM, Grigg M, Robey PG, Belkaid Y. Stromal-derived IL-6 alters the balance of myeloerythroid progenitors during *Toxoplasma gondii* infection. *Journal of leukocyte biology*, 2012, 92: 123-131.
223. Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *The Journal of Immunology*, 2005, 175: 3463-3468.
224. Lauder SN, Jones E, Smart K, Bloom A, Williams AS, Hindley JP, Ondondo B, Taylor PR, Clement M, Fielding C. Interleukin-6 limits influenza-induced

- inflammation and protects against fatal lung pathology. *European journal of immunology*, 2013, 43: 2613-2625.
- 225.Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, Zinkernagel R, Bluethmann H, Köhler G. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature*, 1994, 368: 339-342.
- 226.Nishimoto N, Sasai M, Shima Y, Nakagawa M, Matsumoto T, Shirai T, Kishimoto T, Yoshizaki K. Improvement in Castleman's disease by humanized anti-interleukin-6 receptor antibody therapy. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 2000, 95: 56-61.
- 227.Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol*, 2015, 16: 448-457.
- 228.Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Interleukin (IL-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2018, 10.
- 229.Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2014, 6: a016295.
- 230.Hirano T, Taga T, Yasukawa K, Nakajima K, Nakano N, Takatsuki F, Shimizu M, Murashima A, Tsunasawa S, Sakiyama F. Human B-cell differentiation factor defined by an anti-peptide antibody and its possible role in autoantibody production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1987, 84: 228-231.
- 231.Kawano M, Hirano T, Matsuda T, Taga T, Horii Y, Iwato K, Asaoku H, Tang B, Tanabe O, Tanaka H. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature*, 1988, 332: 83-85.
- 232.Sato K, Tsuchiya M, Saldanha J, Koishihara Y, Ohsugi Y, Kishimoto T, Bendig MM. Reshaping a human antibody to inhibit the interleukin 6-dependent tumor cell growth. *Cancer research*, 1993, 53: 851-856.

233. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Therapeutic targeting of the interleukin-6 receptor. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 2012, 52: 199-219.
234. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine—40 years in immunology. *Annu. Rev. Immunol.*, 2005, 23: 1-21.
235. Choy EH, De Benedetti F, Takeuchi T, Hashizume M, John MR, Kishimoto T. Translating IL-6 biology into effective treatments. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16: 335-345.
236. Sheppard M, Laskou F, Stapleton PP, Hadavi S, Dasgupta B. Tocilizumab (Actemra). *Hum Vaccin Immunother*, 2017, 13: 1972-1988.
237. Dejager L, Pinheiro I, Dejonckheere E, Libert C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends Microbiol*, 2011, 19: 198-208.
238. Traeger T, Koerner P, Kessler W, Cziupka K, Diedrich S, Busemann A, Heidecke CD, Maier S. Colon ascendens stent peritonitis (CASP)—a standardized model for polymicrobial abdominal sepsis. *J Vis Exp*, 2010.
239. Dickson K, Lehmann C. Inflammatory response to different toxins in experimental sepsis models. *International journal of molecular sciences*, 2019, 20: 4341.
240. Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, Ward PA. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nature Protocols*, 2009, 4: 31-36.
241. Herminghaus A, Picker O. Colon Ascendens Stent Peritonitis (CASP). İçinde: *Sepsis*, Springer, 2021: 9-15.
242. Lilley E, Armstrong R, Clark N, Gray P, Hawkins P, Mason K, Lopez-Salesansky N, Stark A-K, Jackson SK, Thiemermann C. Refinement of animal models of sepsis and septic shock. *Shock*, 2015, 43: 304-316.
243. Doi K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, Star RA. Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury. *The Journal of clinical investigation*, 2009, 119: 2868-2878.

244. Tunctan B, Korkmaz B, Sari AN, Kacan M, Unsal D, Serin MS, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Cuez T, Schunck W-H, Manthati VL, Falck JR, Malik KU. Contribution of iNOS/sGC/PKG pathway, COX-2, CYP4A1, and gp91phox to the protective effect of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, against vasodilation, hypotension, tachycardia, and inflammation in a rat model of septic shock. *Nitric Oxide*, 2013, 33: 18-41.
245. Ashjazadeh MA, Jahandideh A, Abedi G, Akbarzadeh A, Hesarak S. Histopathology and Histomorphological Study of Wound Healing Using Clove Extract Nanofibers (Eugenol) Compared to Zinc Oxide Nanofibers on the Skin of Rats. *Arch Razi Inst*, 2019, 74: 267-277.
246. Chen K-L, Lv Z-Y, Yang H-W, Liu Y, Long F-W, Zhou B, Sun X-F, Peng Z-H, Zhou Z-G, Li Y. Effects of Tocilizumab on Experimental Severe Acute Pancreatitis and Associated Acute Lung Injury. *Critical care medicine*, 2016, 44: e664-e677.
247. Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, Machado FR, Schachter RD, Finfer S. Recognizing sepsis as a global health priority—a WHO resolution. *New England Journal of Medicine*, 2017, 377: 414-417.
248. Liu V, Escobar GJ, Greene JD, Soule J, Whippy A, Angus DC, Iwashyna TJ. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. *Jama*, 2014, 312: 90-92.
249. Deutschman CS. Cytokine blockade in sepsis: timing is everything. *Crit Care Med*, 2001, 29: 2233.
250. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13: 862-874.
251. Sanz Codina M, Zeitlinger M. Biomarkers Predicting Tissue Pharmacokinetics of Antimicrobials in Sepsis: A Review. *Clin Pharmacokinet*, 2022, 61: 593-617.

252. Roggeveen LF, Fleuren LM, Guo T, Thorald P, de Grooth HJ, Swart EL, Klausch TLT, van der Voort PHJ, Girbes ARJ, Bosman RJ, Elbers PWG. Right Dose Right Now: bedside data-driven personalized antibiotic dosing in severe sepsis and septic shock - rationale and design of a multicenter randomized controlled superiority trial. *Trials*, 2019, 20: 745.
253. Meduri GU, Chrousos GP. Duration of glucocorticoid treatment and outcome in sepsis: is the right drug used the wrong way? *Chest*, 1998, 114: 355-360.
254. Okumura K, Shoji F, Yoshida M, Mizuta A, Makino I, Higashi H. Severe sepsis caused by *Aeromonas hydrophila* in a patient using tocilizumab: a case report. *J Med Case Rep*, 2011, 5: 499.
255. Reisinger AC, Hermann J, Vagena FR, Hackl G, Eller P. Tuberculosis sepsis after tocilizumab treatment. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26: 1493-1494.
256. Xu M, Liu C, Guo L, Yang S. Severe sepsis caused by serious gastrointestinal infection in sJIA patients treated with IL-6 receptor antagonist: a case report. *BMC Pediatr*, 2020, 20: 126.
257. Snow TAC, Saleem N, Ambler G, Nastouli E, Singer M, Arulkumaran N. Tocilizumab in COVID-19: a meta-analysis, trial sequential analysis, and meta-regression of randomized-controlled trials. *Intensive Care Medicine*, 2021, 47: 641-652.
258. Butler E, Munch MW, Venkatesh B. Time for tocilizumab in COVID-19? *Intensive Care Medicine*, 2021, 47: 692-694.
259. Chang Y-T, Huang W-C, Cheng C-C, Ke M-W, Tsai J-S, Hung Y-M, Huang N-C, Huang M-S, Wann S-R. Effects of epinephrine on heart rate variability and cytokines in a rat sepsis model. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 2020, 20: 88-98.

- 260.Schulte W, Bernhagen J, Bucala R. Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets--an updated view. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 165974.
- 261.Chaudhry H, Zhou J, Zhong Y, Ali MM, McGuire F, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. Role of cytokines as a double-edged sword in sepsis. *In Vivo*, 2013, 27: 669-684.
- 262.Fodor R, Georgescu AM, Cioc AD, Grigorescu BL, Cotoi OS, Fodor P, Copotoiu SM, Azamfirei L. Time- and dose-dependent severity of lung injury in a rat model of sepsis. *Rom J Morphol Embryol*, 2015, 56: 1329-1337.
- 263.Yang H, Zhou W, Ma S, Ma X. [Effect of dexmedetomidine on expression of tight junction protein ZO-1 in kidney tissue of rats with acute kidney injury induced by sepsis]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2020, 32: 1467-1471.
- 264.Sorino C, Scichilone N, Pedone C, Negri S, Visca D, Spanevello A. When kidneys and lungs suffer together. *Journal of Nephrology*, 2019, 32: 699-707.
- 265.Gómez H, Kellum JA. Sepsis-induced acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care*, 2016, 22: 546-553.
- 266.Keskin H, Tavaci T, Halici H, Yuksel TN, Ozkaraca M, Bilen A, Kose D, Mendil AS, Halici Z. Early administration of milrinone ameliorates lung and kidney injury during sepsis in juvenile rats. *Pediatrics International*, 2022, 64: e14917.
- 267.Peaytt R, Parsons LB, Siler D, Matthews R, Li B, Bell D, Bachier C, Pantin J, Berdeja J, Flinn I, Donnellan W, Battiwalla M. The impact of early versus late tocilizumab administration in patients with cytokine release syndrome secondary to immune effector cell therapy. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 0: 10781552211052635.
- 268.Mandel MD, Balint A, Golovics PA, Vegh Z, Mohas A, Szilagyi B, Szabo A, Kurti Z, Kiss LS, Lovasz BD, Gecse KB, Farkas K, Molnar T, Lakatos PL. Decreasing

- trends in hospitalizations during anti-TNF therapy are associated with time to anti-TNF therapy: Results from two referral centres. *Dig Liver Dis*, 2014, 46: 985-990.
- 269.Cavaillon JM, Adib-Conquy M, Fitting C, Adrie C, Payen D. Cytokine cascade in sepsis. *Scand J Infect Dis*, 2003, 35: 535-544.
- 270.Arsene CTC, Lisboa PJG. Chapter 8 - Artificial Neural Networks Used in the Survival Analysis of Breast Cancer Patients: A Node-Negative Study. İçinde:Taktak AFG, Fisher AC (editörler). *Outcome Prediction in Cancer*, Amsterdam, Elsevier, 2007: 191-239.



## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
<b>Adı Soyadı:</b>	
<b>Doğum tarihi:</b>	
<b>Doğum Yeri:</b>	
<b>Medeni Hali:</b>	
<b>Uyruğu:</b>	
<b>Adres:</b>	
<b>Tel:</b>	
<b>E-mail:</b>	
Eğitim	
<b>Lise:</b>	Anafen Gaye Fen Lisesi
<b>Lisans:</b>	Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi (2018)
<b>Yüksek lisans:</b>	Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi (2018)
<b>Doktora:</b>	Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
<b>İngilizce:</b>	İyi (YÖKDİL: 75)
<b>Çince:</b>	Çok iyi (HSK: 236)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
	Türk Farmakoloji Derneği İngiliz Farmakoloji Derneği Uluslararası Sitokin ve İnterferon Derneği Farmakogenomik Araştırma Derneği
İlgi Alanları ve Hobiler	
	Kültürel geziler

## **EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU**



## EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Tıp Fakültesi Dekanlığı  
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Başkanlığı



Sayı : E-42190979-050.01.04-2200206004

05.07.2022

Konu : HADYEK Kararı

### TIBBİ FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : 29.06.2022 tarihli ve E-42190979-041.02-2200195362 sayılı belge.

Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Zekai HALICI'nın yürüttüğü, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülen "Sıçanlarda LPS İle Oluşturulmuş Sepsis Modelinde İnterlökin 6 Reseptör Antagonist Tedavisinin Maximum Terapötik Etki Zaman Aralığının Belirlenmesi" isimli araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna ilişkin Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının 04.07.2022 tarih ve 2200200559 sayılı yazısı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi ve Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığına gönderilmesi hususunda gereğini rica ederim.

Prof.Dr. Fuat ERDEM  
Bölüm Başkanı

**TOPLANTI TARİHİ** : 30.06.2022

**TOPLANTI SAYISI** : 2022/7

**KARAR N0 145:** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülen “**Sıçanlarda LPS İle Oluşturulmuş Sepsis Modelinde İnterlökin 6 Reseptör Antagonist Tedavisinin Maximum Terapötik Etki Zaman Aralığının Belirlenmesi**” isimli araştırma çalışmasında yapılacak güncellemeler ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 30.06.2022 tarihli ve E-42190979-000-2200196000 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının güncelleme yapılarak yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ  
Başkan Vekili

