

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**YENİDOĞAN SEPSİSİNDE  
TÜMÖR NEKROSİS FAKTÖR- $\alpha$ ,  
İNERLÖKİN-1 $\alpha$ , İNERLÖKİN-1 $\beta$   
ve İNERLÖKİN-6 DÜZEYLERİ**

T830/1-1

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ali ÖZDEMİR**

**Tez Yönetmeni: Prof. Dr. Olcay YEĞİN**

"Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir "

**ANTALYA, 1994**

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

## İÇİNDEKİLER

<b>Kısaltmalar</b> . . . . .	<b>.1</b>
<b>Giriş ve Amaç</b> . . . . .	<b>.2</b>
<b>Genel Bilgiler.</b> . . . . .	<b>.3-23</b>
<b>Olgular ve Yöntem.</b> . . . . .	<b>.24-25</b>
<b>Bulgular</b> . . . . .	<b>.26-33</b>
<b>Tartışma</b> . . . . .	<b>.34-42</b>
<b>Sonuçlar</b> . . . . .	<b>.43</b>
<b>Özet</b> . . . . .	<b>.44</b>
<b>Kaynaklar</b> . . . . .	<b>.45-50</b>

## **KISALTMALAR**

- İL :** İnterlökin  
**TNF:** Tümör nekrosis faktör  
**CRP:** C-reaktif protein  
**G-CSF:** Granülosit koloni uyarıcı faktör  
**GM-CSF:** Granülosit monosit koloni uyarıcı faktör  
**M-CSF:** Monosit koloni uyarıcı faktör  
**TGF:** Transforming growth factor  
**NK :** Natural killer  
**İFN:** İnterferon

## GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis ve septik şok yenidoğan ünitelerinde mortalitenin önemli nedenlerindedir. Sepsisin erken tanımlanması ve tedavinin erken başlanması prognozu etkiler. Yenidoğanın enfeksiyonlara olan eğilimi bilinmektedir ve enfeksiyonların kolaylıkla sistemik hale geçmesi nedeniyle yenidoğan immunolojisi geniş araştırmalara konu olmuştur. Yenidoğanın, özellikle prematüre doğanların, immun sisteminin yeterince olgunlaşmadığı ve enfeksiyöz ajanlara yanıtının yetersiz olduğunu belirten pekçok araştırma vardır (1-5).

Son 10 yıl içinde sepsis patogeneğinde ve iltihabi yanıtın oluşmasında sitokinlerin önemli rol oynadığının gösterilmesi ile çalışmalar bu yönde yoğunlaşmıştır. Tümör nekrosis faktör (TNF), interlökin-1 (İL-1) ve interlökin-6 (İL-6) sepsisin erken döneminde yükselen ve akut faz reaksiyonlarını başlatmada önemli rol oynayan sitokinlerdir (6-19).

Normal ve sepsisli yenidoğanlarda sitokin düzeylerinin belirlenmesi, bu döneme ait savunma sisteminde görevli hücrelerin işlevsel durumunu ve enfeksiyonlara yetersiz yanıtını açıklayabilir.

Yenidoğanda sitokin düzeyleri ile ilgili bilinmeyenlerin fazla oluşu gerçeğini göz önüne alarak bu çalışmayı, hastanemiz yenidoğan ünitesinde sepsis tanısı olarak izlenen bebeklerde serum TNF- $\alpha$ , İL-1 $\alpha$ , İL-1 $\beta$  ve İL-6 düzeylerini belirlemek amacıyla planladık.

## GENEL BİLGİLER

Neonatal sepsis terimi, hayatın ilk ayı içinde bebeğin kan dolaşımındaki enfeksiyon olarak tanımlanır, menenjit birlikte gözlenebilir. Yenidoğanın hayatını tehdit eder, tedavi edilse bile ciddi nörolojik sekel olasılığı bulunur. Gelişmiş ülkelerde insidansı her 1000 canlı doğumda 1-8 arasındadır (20). Ülkemizde ise genel bir insidans çalışması yoktur. Erkek yenidoğanlarda kızlara oranla sepsis daha sık görülmektedir. Erken membran rüptürü, erken doğum, düşük doğum tartısı, ikiz gebelikler sepsis için predispozan faktörlerdir. Yenidoğan bakım ünitelerinde bebeğe müdahale gerektiren durumlar (kan alma, aspirasyon, kateter takılması, kan değişimi, ventilatör ile solutma gibi) sonucunda Staf. epidermiditis, Staf. aureus, Klebsiella, Pseudomonas, Candida gibi ajanlarla olan nozokomial enfeksiyonlar son yıllarda artmıştır (21).

Neonatal sepsise neden olan ajanlar ortaya çıkış süresine göre değişir. Erken sepsis hayatın ilk 4 günü içinde ortaya çıkar, genellikle doğum yolunda bulunan mikroorganizmalar etiolojide sorumludur. Erken sepsiste % 75 sıklıkla grup B streptokok ve E. coli etkindir. Mortalite % 15 ile 50 arasında değişir. Geç sepsis 5. günden sonra ortaya çıkar. Doğum kanalı ve çevresel ortam enfeksiyon kaynağını oluşturur. E. coli ve B grubu streptokokların yanısıra Staf. aureus, Staf. epidermiditis, Pseudomonas, Klebsiella gibi ajanlar da geç sepsiste sorumludur (22).

Yenidoğanda sepsis kliniği başlangıçta tipik değildir. Emmeye karşı isteksizlik, vücut ısısında düzensizlik gibi belirtiler gözlenebilir. Geç dönemde ise apne, siyanoz, hipotansiyon, kanama gibi ciddi belirtiler vardır. Yapılan bir çalışmada, 455 bakteriyel sepsis tanısı alan

yenidoğanın klinik bulguları şöyledir; % 51 hipertermi, % 15 hipotermi, % 33 solunum sıkıntısı, % 22 apne, % 24 siyanoz, % 35 sarılık, % 33 hepatomegali, % 28 iştahsızlık, % 25 letarji, % 25 kusma, % 17 karın şişliği, % 16 irritabilite ve % 11 ishal (23).

Sepsis tanısında en önemli laboratuvar bulgusu kan kültürü, eğer menenjitte birlikte ise BOS kültürüdür. Ancak etken patojen en erken 48 ile 72 saat içinde gösterilebilir. İdrar, boğaz, trakeal aspirasyon gibi kültürlerde etkeni saptamada yardımcı olabilir. Bakteriyemi varlığında, hızlı tanıda kullanılan ve etken mikroorganizmayı çöktürülmüş kanın lökositten zengin kısmından yapılan yaymalarda gösteren "buffy-coat" tekniğidir. Buffy-coat preparatlarında, gram ve metilen mavisi boyalarının kullanılması ile % 77 oranında bakteriyi saptamak mümkün olur. Kanda endotoksini saptamada kullanılan diğer hızlı teknikler arasında endotoksinle reaksiyona giren limulus lizat testi, bakteriyel antijen varlığını saptayan counter immünelektroforez, lateks aglutinasyon testi sayılabilir (22).

Diğer yardımcı laboratuvar tetkikleri arasında sedimentasyon, C-reaktif protein, beyaz küre sayısı, immatür/total nötrofil oranı, trombosit sayısı, nitroblue tetrazolium boyası, lökosit alkalin fosfataz gibi yöntemler sayılabilir (20). Ancak bu tetkikler sepsise özgü yöntemler değildir, başlangıçta yardımcı olmayabilir. Oysa sepsisin erken tanımlanması ve tedaviye erken başlanması prognozu etkileyen en önemli faktördür.

Yenidoğanda sepsis klinik ve laboratuvar bulgularının tipik olmamasında altta yatan neden, yenidoğanın immunolojik özelliğinden kaynaklanır. Fetal savunma sistemindeki hücrelerin fonksiyonel ve

ontogenetik gelişimi üzerinde geniş araştırmalar yapılmıştır. Erişkin savunma sistemi ile karşılaştırıldığında fonksiyonel gelişimini tamamlamamış olduğunu gösteren pekçok çalışma mevcuttur.

Yenidoğanın karaciğer ve kemik iliğinde monosit üretimi erişkinle karşılaştırıldığında sayısal olarak normal veya daha fazladır, fagositoz ve antimikrobial işlevlerinde bozukluk yoktur. Ancak opsonize olmayan antijenleri sindirmeleri yavaştır. Fetal monosit ve makrofajların antijen sunumundaki eksiklik ve HLA-DR antijen ifadesinde bozukluk gösterilmiştir. İnflamasyon bölgesine gidişte ve hücreyel immun reaksiyonlarda, yenidoğan monositlerinin yanıtı erişkin monositlerine göre gecikmiştir. İn vitro çalışmalarda makrofaj fonksiyonlarının interferon- $\gamma$  ile düzeltilmesi, yenidoğan T lenfositlerinden yetersiz lenfokin salınımı ile ilgili olduğunu göstermektedir (24,25).

Neonatal B lenfositleri erişkin B lenfositleri ile karşılaştırılacak düzeyde Ig M üretebilir ancak Ig G ve Ig A gibi diğer immunglobulinlerin üretiminde azalma vardır. Ig G plasentadan özellikle 32-34. haftalardan sonra geçtiği uzun süredir bilinen antikordur. Ig M ise plasentadan geçmez ve 34 haftadan küçük gestasyon yaşlarında zamanında doğanlara göre belirgin azlığı gözlenmiştir. Yenidoğanın erişkinle karşılaştırıldığında azalmış antikor yanıtı, B lenfosit ve plazma hücrelerinin intrinsek immatüritesi ve T lenfositlerinin antikor yanıtına katkılarının azalmasıyla açıklanabilir (25).

Genelde fetus ve yenidoğan T lenfositleri erişkinle karşılaştırıldığında yetersiz fonksiyonları vardır. Yenidoğanda deneyimsiz T lenfositleri (CD 45RA) çoğunluğu oluşturur (26). Fetal T lenfositlerinin immunolojik olarak yardımcı rolü, hücre yüzey antijen ve reseptör tanımlaması, öldürme fonksiyonunda bozukluk belirlenmiştir (1,27,28).

Neonatal lenfosit ve makrofajların göçünü aktive edici faktörlerin doğumda ve sonraki bir hafta içinde belirgin düşüklüğü gösterilmiştir. Neonatal hücrelerden üretilen interferon- $\alpha$  ve  $\beta$  normal düzeylerde olmasına karşılık interferon- $\gamma$  üretimi azdır. Interferon- $\gamma$  üretimi 2-4 ay sonra erişkin seviyesine ulaşır (24,25).

Fagositer savunma sistemindeki eksiklik ise yenidoğanda daha iyi bilinmektedir. İn vitro yapılan çalışmalarda, yenidoğan polimorf nüveli lökositlerin enfeksiyon yerine göçündeki bozukluklar:

- 1) Belirli kemotaktik faktörlere bağlanmada azalma,
- 2) İstirahat ve uyarı durumlarında yüzeye yapışmada azalma,
- 3) Kemotaktik uyaranlara geri dönüşümsüz yanıt,
- 4) Kapiller endotel hücrelerinden geçerken hücresel bütünlüğü korunmada azalma,
- 5) Kemotaktik uyarıya karşı hareket yeteneğinde azalma olarak belirlenmiştir (29).

Prematüre ve miadında doğan bebeklerin nötrofillerinin bakteriye bağlanma ve sindirme işlevi normal veya hafif azalmıştır. Kısıtlı opsonin varlığında ise bu işlev daha da azalmıştır. Sağlıklı yenidoğanda nötrofillerin gram (+) ve gram (-) bakteriler ile candida'yi öldürme işlevi normaldir. Ancak pseudomonas auroginoza, staf. aureus ve bazı B grubu streptokok suşlarında bakteriyi öldürme işleminin yetersizliği saptanmıştır. Bakteriyi öldürmede yetersizlik özellikle nötrofil başına düşen bakteri sayısının fazlalığında gözlenmektedir. Yenidoğan nötrofillerinde toksik oksijen metabolitlerinden süperoksit anyonu normal bulunmasına karşılık toksik hidroksil radikalleri azalmıştır (25).

Yenidoğan sepsisinde nötrofil sayısı normal veya artmıştır. Ciddi ve hayati tehdit eden durumlarda ise inatçı nötropeni gözlenir. Nötropenin nedeni yenidoğan kemik iliğinin nötrofil depolarının yetersizliği ve ciddi enfeksiyonlarda bunların hızla ölmesidir. Etkin olmayan granülopoezin koloni uyarıcı faktörlerin yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (25).

Yenidoğanda akut inflamasyona yanıtta önemli olan kompleman sisteminin alternatif yolunda orta derecede, klasik yolunda ise belirgin yetersizlik vardır. Prematüre doğan bebeklerde ise her iki yolda da belirgin yetersizlik gözlenmiştir. C<sub>3</sub>, properdin, faktör B ve C<sub>3</sub>'ten C<sub>9</sub>'ya kadar olan hemolitik aktivitede azalma vardır. Klasik kompleman yolunun tetiğini oluşturan C1q yenidoğanlarda erişkin seviyesine göre %75, C<sub>9</sub> ise %10 ile %25 oranında saptanmıştır (24).

Opsonik aktivite, mikroorganizmanın fagositozu ve öldürülme işlemini artırır. Yenidoğanda düzeyi erişkinin % 40'ı kadardır. C-reaktif proteinin opsonin gibi etki edebildiği bilinmektedir. Prematüre ve miadında doğan bebeklerin bu proteini üretebilme yetenekleri erişkinle aynıdır (25).

Fibronektin, nötrofil yapışmasını ve monositlerin kandan dokuya göçünü sağlayan önemli bir glikoproteindir. Yenidoğan, özellikle prematüre doğanlarda fibronektin düzeylerinde belirgin azalma vardır (25).

Görüldüğü gibi, yenidoğanın vücut savunmasını oluşturan immun sisteminin pek çok aşamasında yetersizlik vardır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, septik şok patogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve bakteri endotoksininin sepsiste önemli rol oynadığını göstermiştir. Endotoksinin direkt olarak vücutta metabolik

veya toksik etki göstermediği, buna karşılık vücutta yarattığı uyarı sonucu üretilen faktörler ile şok ve ölüme neden olduğu belirlenmiştir (30). İmmun sistemin düzenlenmesi de dahil pekçok hücre sel yanıt a katılan polipeptid yapısındaki bu faktörler "sitokin" olarak adlandırılmıştır (17).

**Sitokinler 4 ana grup altında toplanır:**

- A) İnterlökinler (İL-1, İL-2,..... İL-12),
- B) İnterferon ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ),
- C) Tümör nekrosis faktör ( $\alpha$ ,  $\beta$ ), TGF- $\beta$ ,
- D) Koloni uyarıcı faktörler (G-CSF, GM-CSF).

Sitokinler vücudun her tarafında üretilir ve işlev görür, ancak öncelikle makrofaj ve lenfositler tarafından üretilir. Bu moleküllerin farklı özellikleri olsada bazı ortak özellikleri vardır:

- 1)Hepsi küçük molekül ağırlığındadır (< 80 kDa) ve glikolizedir,
- 2)Hemen hepsi immunitede rol oynar, inflamasyonu düzenler, oluşan yanıtın şiddet ve süresini belirler,
- 3)Genelde lokal olarak oluşturulurlar ve o bölgede etkili olurlar, hormonlar gibi endokrin etki göstermezler,
- 4)Son derece aktif moleküllerdir ve pikomolar yoğunluklarda etkili olurlar,
- 5)Yüksek affiniteli hücre reseptörleri ile etkileşerek etkili olurlar ki bu reseptörler hücre yüzeyinde genelde düşük sayıdadır (hücre başına 10-10000),
- 6)İnterlökinlerin hücre yüzeyine bağlanması, o hücrenin RNA, protein sentezi ve davranışını etkiler,
- 7)Her bir interlökin'in etkisi, yoğunluğu, etkilediği hücre tipi ve o sırada ortamda olan diğer interlökinlere bağlı olarak değişkenlik gösterir,

8) Interlökinler bir etkileşim ağı oluşturup bir interlökin diğerinin salınmasına, reseptörlerinin oluşmasına veya sayısının artmasına, etkisinin artırılmasına veya durdurulmasına neden olabilir. Ayrıca salgılandıkları hücreyi de etkileyebilirler (otokrin etki) (31).

Pikomolar konsantrasyonlarda bile hedef hücrelerde etkilerini göstermeleri biyoyöntemler ile sitokinlerin saptanmasını kolaylaştırmakta ancak bunların saf olarak elde edilmelerini zorlaştırmaktadır. Geliştirilen çeşitli teknik yöntemler ile sitokinlerin tanımlanması mümkün olmuştur.

Bu yöntemler;

1) Hücre klonlanması (sınırlı sayıdaki sitokinlerin büyük miktarlarda üretilmesini sağlamıştır),

2) Yüksek performanslı sıvı kromatografisi,

3) Monoklonal antikorların nötralizasyon ve tesbit etmede kullanılması,

4) Gen klonlanması tekniği (32).

İltihabi yanıtın oluşmasında önemli rolü olan sitokinlerle ilgili bilgiler aşağıda gözden geçirilmiştir.

İlk kez 1940'lı yıllarda endojen pirojen olarak tanımlanan İL-1, 1984 yılında bugün bilinen 2 tipinden İL-1 $\alpha$  fare makrofajlarından, İL-1 $\beta$  insan monositlerinden klonlanmıştır. İL-1 $\alpha$  ve İL-1 $\beta$  genleri 2. kromozom üzerindedir. İL-1 $\alpha$  271 aminoasit, İL-1 $\beta$  269 aminoasit içerir. İL-1 sentezi yapan pekçok hücre belirlenmiştir: makrofaj/monosit, polimorf nüveli lökosit, T ve B lenfositleri ve NK hücresi başta olmak üzere endotel hücresi, mikroglia, astrosit, keratin hücresi, fibroblast, sinoviyal, intestinal, gingival ve servikal ve lösemik hücreler. Trombositler İL-1 içerir ancak sentez yetenekleri henüz aydınlatılamamıştır (33).

İnsan periferik kan monositlerinde IL-1 $\beta$  miktarı, IL-1 $\alpha$ 'ya göre 25-50 kat daha fazladır. Her iki IL-1'in aynı transkripsiyon kontrolü olduğu kabul edilmektedir. Antijen, toksin, inflamasyon ve doku hasarında IL-1'in RNA transkripsiyonu 15 dakika içinde gözlenir, salınımı 3-4 saatte en üst düzeye ulaşır, 6-8 saat devam eder ve sonrasında hızla azalır. Uyarının yapısına göre, IL-1 öncelikle intrasellüler aralığa ya da ekstrasellüler ortama salınır. Lateks parçacıkları ve lipopolisakkarit hem intra hem de ekstrasellüler ortama, silikon ve forbol miristat asetat ekstrasellüler alana IL-1 salgılanmasını sağlar. Hücrelerde IL-1 salgılanmasını düzenleyen intrinsek faktörler belirlenememiştir (33).

IL-1 herhangi bir uyarın olmadığı halde bazı dokularda saptanmıştır. Örneğin, amniotik sıvı ve idrarda belirli oranda IL-1 vardır. Menstrasyonun luteal fazında ve zorlu eksersizlerde insan plazmasında IL-1 düzeyi artmıştır (32).

IL-1 transkripsiyonu diğer sitokinler tarafından da kontrol edilir. TNF, GM-CSF ve M-CSF IL-1 üretimini artırır. Endotoksin yokluğunda, interferon- $\gamma$  IL-1 sentezini uyarmaz. Diğer taraftan interferon- $\gamma$ , TNF veya endotoksin tarafından uyarılan IL-1 sentezini düzenler. IL-4, IL-6, IL-10 ve TGF- $\beta$  ise IL-1 transkripsiyonunu baskılar. Kortiko-steroidler IL-1'i transkripsiyon ve ön sentez aşamasında baskılar, transkripsiyonun sonunda ise az etkilidir (32).

IL-1 reseptörü kendine özgüdür, 60-80 kDa ağırlığında ve glikoprotein yapısındadır (32). IL-1'in  $\alpha$  ve  $\beta$  formları aynı reseptörü uyarmalarına rağmen bağlanma yerlerinde farklılıklar vardır. IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ 'ya göre reseptöre 25-50 kat daha fazla bağlanır (33).

Lipoprotein, lipid ve  $\alpha$ -2 makroglobulin doğal olarak İL-1 aktivitesini baskılar. Bu moleküller ayrıca İL-2, İL-6 gibi sitokinleri de baskılar. Gönüllü olarak bakteriyel endotoksin enjekte edilen kişilerin serumları, hemodializ sonrası hastaların plazması, monositik lösemili ve ateşli hastaların idrarlarında saptanan polipeptid yapısındaki moleküllerin de İL-1 aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (32).

### **İL-1'in biyolojik etkileri**

#### **1)İmmunolojik özellikler:**

Rekombinant İL-1'in infüzyonla verilmesi T ve B lenfositlerinin uyarılmasını sağlar. İL-1 reseptörleri, istirahat halindeki T ve B lenfositlerinde mevcuttur ancak bunların sayısı azdır (200-600 arası). Çeşitli çalışmalarda, olgun T lenfositlerinin İL-6 varlığında, İL-1 ile uyarılması sonucunda sayılarında belirgin artış gözlenmiştir. Yine İL-1 ve İL-6 sinerjistik etki ile İL-2 sentez ve reseptör sayısını artırdığı belirlenmiştir (33,34).

B lenfositleri üzerine yardımcı uyaran rolü vardır. İL-4 ile sinerjistik etki göstererek B lenfosit uyarır ve bunun sonucunda İL-6 üretimini sağlar. İL-1, İL-2 ve interferon- $\gamma$  sinerjistik etkileri ile NK hücrelerinin aktivitesini artırır (32). İL-1, enfeksiyon ve travmaya maruz kalmada özgün olmayan bağışıklık sistemini de uyarır (32).

#### **2)Hemapoez üzerine etkileri:**

İL-1 hemapoezin çeşitli aşamalarında etkili olur. GM-CSF, G-CSF, M-CSF, İL-3 ve diğer sitokinlerin üretimini uyarır. İL-1, hemapoetik öncül hücre dizilimlerini düzenler ve sitotoksik ajanlardan korur. İL-3, İL-6, G-CSF ve GM-CSF ile sinerjistik etki göstererek özelleşmiş hücre dizilimini sağlar (33).

İL-1 dolaşan kanda granülosit sayısını ve nötrofil yapışmasını artırır. Endotel hücre aktivasyonunu sağlar. Trombosit üretimini direkt olarak uyarır. Sitokrom P 450 üretimini azaltarak kompleman yapımı için gen uyarımını sağlar (33).

### 3)Endokrinolojik etkileri:

Pankreas adacık hücreleri İL-1 ile inkübe edildiğinde, insulin üreten beta hücrelerinde sitotoksik etki gözlenmiştir. Yine düşük doz İL-1'in sistemik enjeksiyonu sonucu hipoglisemi gözlenir. Düşük doz İL-1 spermatogenezi artırırken, yüksek dozda baskılar. İL-1'in intravenöz enjeksiyonu ile ACTH, vazopressin ve somastatin düzeyleri artarken, prolaktin düzeyi azalır (33).

### 4)Santral sinir sistemine etkileri:

Sistemik olarak salgılanan İL-1 BOS'a geçmez. Ancak beyinde endojen olarak olası nöron ve glial hücrelerden salgılanarak uyku, ateş ve iştahsızlık oluşumundan sorumludur (33).

### 5)Karaciğer üzerine etkileri:

İL-1, İL-6 yapımını uyararak akut faz proteinlerinin yapımını artırır. İL-1 normal karaciğer proteinlerini 2-3 kat artırırken patolojik proteinleri 100- 1000 katı artırır. Örnek olarak, sekonder amiloid gelişiminden sorumlu amiloid A proteini sayılabilir. Ayrıca hepatositlerden fibrinojen, kompleman bileşikleri, faktör B ve çeşitli pıhtılaşma faktörlerinin salınımını uyarır. Albumin, transferrin ve lipoprotein lipaz'ı kodlayan RNA'nın transkripsiyonunu azaltır (33).

#### 6)Böbrek üzerine etkileri:

Farelerde sistemik IL-1 enjeksiyonu, sodyum atılımını arttırmaktadır. Bu etki böbrek kan akımına bağlı değildir. Mezangial hücrelerde çoğalma, araşidonik asit metabolizması ve süperoksit üretiminde IL-1 etkisi gösterilmiştir. İmmun kompleks glomerulonefriti ve lupus nefriti oluşmasında rolü olduğu belirlenmiştir (33).

#### 7)Vasküler etkileri:

Sistemik IL-1 enjeksiyonu ile hayvanlarda hipotansiyon, azalmış vasküler direnç, myokard hasarı, laktik asidoz, akciğer ödemi, şok ve ölüm gözlenmiştir (33).

#### 8)Diğer etkiler:

Kollagen sentezini ve osteoblast aktivasyonunu artırır. Kronik hastalıklarda negatif azot bilançosu ve kas erimelerinde rolü belirlenmiştir (33).

IL-1 ile aynı pekçok sistemik özelliği olan sitokin, tümör nekrosis faktör (TNF) veya kaşektindir. Monosit/makrofajlardan üretilen TNF- $\alpha$ , NK ve T-lenfositleri tarafından üretilen ise TNF- $\beta$  olarak adlandırılır. Moleküler açıdan birbirlerine çok benzerler ve aynı biyolojik özelliği gösterirler, ancak TNF- $\alpha$  iltihabi olaylarda daha önemli rol oynar. TNF ayrıca IL-1 gibi pekçok hücreden salgınır (damar endoteli, astrosit, mikrogliya, ..). Enfeksiyöz ajan varlığı veya doku hasarında 4-8 saat içinde TNF artışı gözlenip 16-24 saatte en üst seviyeye ulaşır. Uyarının devamlılığına göre salınımı sürer (34).

İnsanda TNF- $\alpha$  geni 6. kromozomun kısa kolu üzerindedir. TNF- $\alpha$  157 aminoasit içerir. TNF'ün  $\alpha$  ve  $\beta$  formları, aynı reseptöre bağlanır ve

immunolojik etkileri birbirleriyle çakışmaz. Her bir hücre yüzeyinde TNF için sayısı 1000 ile 10000 arasında değişen reseptör saptanmıştır. TNF reseptörü 80 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Hedef hücrelerde interferon- $\gamma$ , TNF reseptör sayısını arttırarak etkisini düzenler. TNF'ün hücrelerden salınmasını düzenleyen intrinsek faktörler halen bilinmemektedir (32).

### **TNF'ün biyolojik etkileri**

#### **1)İmmunolojik etkileri:**

TNF, T lenfositlerinde İL-2 reseptör tanımlanmasını arttırır. Lenfokin üretimini uyarır. B lenfosit çoğalması ve antikor üretimini sağlar. Makrofaj, nötrofil ve eozinofil aktivasyonu, nötrofil kemotaksisini arttırır. Monosit ve makrofajlarda prostoglandin, İL-1, İL-6, GM-CSF ve İL-8 yapımını uyarır. MCH klas II antijeninin tanımlanmasını arttırır (32).

#### **2)Hematolojik etkileri:**

TNF kemik iliğinde bazı öncül hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını engeller. Endotelial prokuagulan aktiviteyi arttırarak intravasküler pıhtılaşma ve kapiller tromboza yol açar (35).

#### **3)Vasküler etkileri:**

Rekombinant TNF infüzyonu memelilerde şok ve doku hasarına yol açmaktadır. Bu değişiklikler akciğer ödemi, solunum yetmezliği, akut renal tubuler nekroz, endotelial düzeyde pıhtılaşma ve yaygın hemorajik nekroz şeklinde gözlenir. TNF infüzyonu ile oluşan hipotansiyon doza bağımlıdır (35).

Septik şok'ta TNF, makrofaj ve endotel hücrelerinden İL-1 yapımını arttırır. Bu iki sitokinin sinerjistik özelliği tetiği çeken ilk mekanizma olup

etkilerini karışık bir dizi mediatörleri (interferon- $\gamma$ , İL-6, trombosit aktive edici faktör, kompleman, glukokortikoidler,...) uyararak gösterirler. Deneysel hayvanlarında oluşturulan septik şokun, TNF'ü nötralize eden poliklonal antikorların birkaç saat öncesi ve sonrasında verilmesi ile önlenemediği gösterilmiştir (32).

#### 4) Karaciğer üzerine etkileri:

Ateş ve inflamasyona yanıtta önemli rolü olan akut faz reaktanlarının oluşumunu sağlar. Sitokrom P 450, plazma demir ve çinko düzeylerini azaltırken, kompleman C<sub>3</sub> ve plazma bakır düzeylerini artırır (35).

#### 5) Diğer etkileri:

Bakteri, virus ve tümör hücreleri üzerine öldürücü etkisi vardır. Kemik dokusunda, kollagenazı artırarak kemik resorpsiyonuna yol açar. Yağ dokusunda, lipoprotein lipaz düzeyini azaltarak lipolizi artırır (32).

1980'li yılların başında, B lenfosit yanıtını düzenleyen B-hücre büyüme faktörü (BCGF) ve B-hücre farklılaşma faktörü (BCDF) belirlenmiştir. 1986 yılında, B lenfositlerini uyaran 3 faktör klonlanmıştır. Bunlar, istirahat halindeki B lenfositlerinin erken uyarımını sağlayan İL-4, uyarılan B lenfositlerinin büyümesini sağlayan İL-5 ve antikor üreten hücrelere dönüşmesini sağlayan İL-6'dır (36,37).

İnsan İL-6'sı ilk defa Ebstein Bar virusu tarafından uyarılan mononükleer hücre kültürleri ve Staph. aureus ile uyarılan B lenfosit kültürlerinde saptanmıştır. İlk çalışmalarda interferon- $\beta_2$  olarak adlandırılmıştır. Ancak 1987 yılında yapılan çalışmalar, rekombinant İL-6'nın interferon- $\beta_2$ 'ye benzemediğini, antijenik ve fonksiyonel olarak interferon- $\beta_2$ 'yle ilişkisi olmadığını göstermiştir (32).

İL-6, 184 aminoasid içerir, G-CSF ile belirgin yapısal benzerliği vardır. T ve B-lenfositleri, monosit/makrofaj, fibroblast, keratin hücresi, astrosit, endotel, mezangeal ve kemik iliği stroma hücreleri ile bazı tümör hücrelerinden de (miksuma, myeloma, hipernefroma) salınımı gösterilmiştir (36).

Tek bir hücre yüzeyinde, 100-1000 adet İL-6 reseptörü bulunur. Bu hormon veya büyüme faktörü reseptör sayısından 100 kat azdır. İL-6 reseptörleri uyarılmış B lenfositleri, istirahat halindeki T lenfositleri, B-lenfoblast, myelom, hepatom ve monosit hücre dizilerinde gözlenir. Reseptör 2 polipeptid içerir ve 468 aminoasitten oluşur (32).

İL-6, aktive B-lenfosit reseptörlerini uyarır, istirahat halinde olanları uyarmaz. Ancak istirahat halindeki T-lenfosit reseptörlerini uyarabilir. İL-6'nın İL-2 reseptörünü uyarma ve İL-2 üretimini artırma özelliği vardır. İL-6 üretimi endotoksin, antijenik uyarmı yanında TNF, İL-1, interferon- $\beta$ , trombosit büyüme faktörü gibi bazı sitokinlerin uyarımı ile de artar. İL-6'nın uyarana cevap olarak monosit/makrofajlardan 5. saatte, T-lenfositlerinden 24-48 saat sonra en yüksek düzeyde salınımı gözlenir (36).

### **İL-6'nın biyolojik özellikleri**

#### **1) İmmun sistem üzerine etkileri:**

İL-6, B lenfositlerinin son olgunlaşması üzerine olan etkisi ile antikor üreten hücrelere dönüşümünü sağlar. Uyarılmış T lenfositlerinin çoğalması ve sitotoksik T lenfosit farklılaşmasında yardımcı faktördür. Bunu İL-2 reseptörünü uyararak ve reseptör yapımını artırarak yapar. Makrofajların son farklılaşmasında da yardımcı uyarandır (36).

## 2)Hemapoez üzerine etkileri:

İL-6 ve İL-3 sinerjistik etki göstererek hemapoetik ana hücrelerin  $G_0$  fazından  $G_1$  fazına geçmelerini sağlar. İL-6'nın myeloid  $M_1$  hücrelerinin farklılaşmasını sağlayarak makrofajlara dönüşümünde rol aldığı gösterilmiştir. Fagositozu uyardığı,  $Fc\gamma$  ve  $C3d$  reseptör uyarımını sağladığı belirlenmiştir (32).

İL-6'nın myelom hücrelerini uyardığı, meme kanser ve myeloid lösemi hücrelerini ise basskıladığı gösterilmiştir (36).

## 3)Nöral sistem üzerine etkileri:

Mikroglia ve astrositlerin deney hayvanlarında İL-6 ürettiği gösterilmiştir. İL-6, astrositlerde nöral büyüme ve gelişme faktörü salınımını uyarır. İL-1 ve İL-6, birlikte astrosit ve glioblastom hücrelerinin çoğalmasını sağlar. Farelerde, İL-6'nın intravenöz uygulanımı ile plazma ACTH artımı gösterilmiştir (36).

## 4)Diğer etkileri:

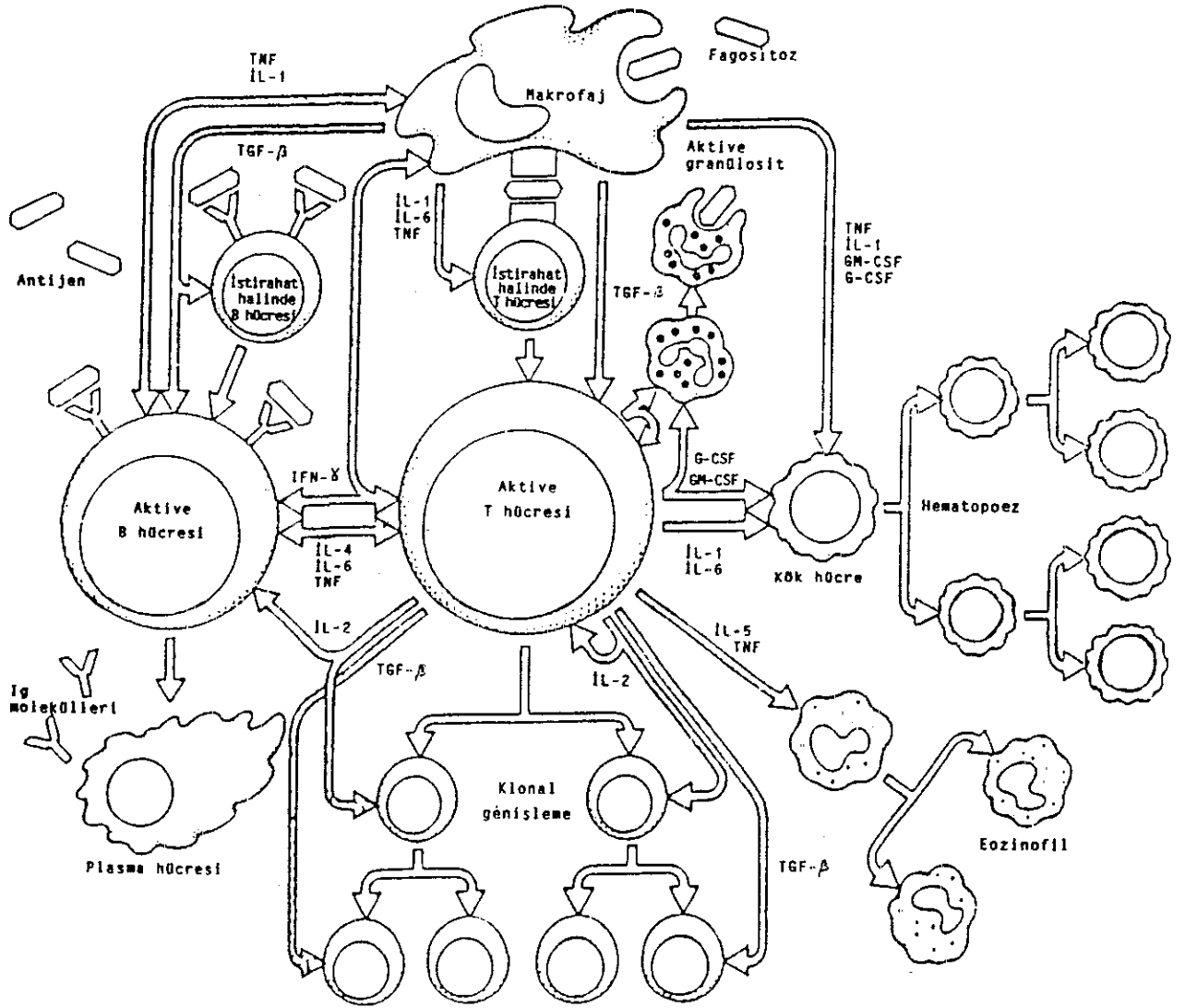
Doku hasarı ve inflamasyona yanıt olarak ortaya çıkan akut faz proteinlerinin yapımını artırır. Böbrek mezangial hücre çoğalmasının arttığı mezangioproliferatif glomerulonefrit'te, lenf düğümlerinin plazma hücreleri ile yoğun infiltre olduğu Castleman hastalığında, Lennert'in T hücreli lenfoması ve multiple myeloma hastalığında İL-6'nın anormal yapımı gösterilmiştir (36).

Akut faz yanıtı, inflamasyon veya doku hasarında vücudun sistemik reaksiyonlarını başlatır. Bunlar, ateş, lökositoz, artmış vasküler geçirgenlik, plazma element ve steroid konsantrasyonlarında değişiklik ve akut faz proteinlerinin artışı şeklinde gözlenir. Akut faz proteinlerinin

karaciğerde sentezini kontrol eden faktörler, IL-1, TNF, HSF (hepatosit uyarıcı faktör) ve IL-6'dır. IL-1, akut faz yanıtının oluşum mekanizmasında görevli en önemli sitokindir. Yapılan çalışmalar, IL-6'nın HSF gibi işlev gördüğü ve HSF aktivitesinin IL-6 tarafından açığa çıkartıldığını göstermiştir (32).

### **İmmun Yanıtın Oluşturulmasında Sitokinlerin Rolü**

Vücuda giren antijen makrofaj tarafından alınarak istirahat halindeki T lenfositlerine klas II histokompabilite (DR) molekülü ile sunulur, aynı zamanda makrofaj tarafından TNF, IL-1 ve IL-6 salınımı olur. Özellikle IL-1 istirahat halindeki T-lenfositlerini aktif T lenfositlerine dönüştürür. Aktif T-lenfositlerinden salınan IL-2 klonal çoğalmayı sağlarken interferon- $\gamma$ , IL-4, IL-6 ve TNF B lenfositlerini uyararak immunglobulin oluşturan plazma hücrelerine dönüşmesini sağlar. B lenfositleri aynı zamanda makrofaj tarafından salınan TNF ve IL-1 etkisinde de uyarılır. Aktive olan T lenfositleri diğer yandan IL-1, IL-6, CSF (koloni uyarıcı faktör) ile kemik iliğini uyararak hemopoezi artırır. Kemik iliği ayrıca makrofaj tarafından salınan TNF, IL-1 ve CSF tarafından da uyarılır. Bu karmaşık sistem içerisinde TGF- $\beta$ , karşıt bir mekanizma ile inflamatuvar yanıtı baskılayıcı rol oynar (16,17).



**Şekil-1:** Antijenin vücuda girmesi ile başlayan immün sistem hücreleri ile sitokinler arasındaki etkileşim görülmektedir (16).

Şekil-1'de görüldüğü gibi, antijenin vücuda girmesi ile başlayan son derece karmaşık bir etkileşim ağı oluşmakta ve bu sistem içerisinde sitokinler önemli rol oynamaktadırlar.

Bu etkileşim sonucunda İL-1, TNF ve İL-6 karaciğerde akut faz proteinleri olarak bilinen fibrinojen, C-reaktif protein,  $\alpha_1$ -antitripsin, serum amilorid A, haptoglobulin,  $\alpha_1$ -antikromotripsin ve  $\alpha_1$ -asit gluko-protein yapımını arttırırlar (38,39).

İmmun yanıt oluşumundan sorumlu olan diğer sitokinler arasında İL-2'nin önemli rolü vardır. İL-2, 133 aminoasitten oluşur. Ana etkisi, T ve B lenfositleri ile NK hücrelerinin çoğalması ve bunlardan lenfokin salgılanmasını uyarmaktır. Monosit ve makrofajlarda İL-2 reseptörü içerir, ancak bu reseptörler sayıca çok azdır. İlk kez 1976 yılında belirlenmiş ve başlangıçta T hücre büyüme faktörü (TCGF) olarak isimlendirilmiştir (32).

İstirahat halindeki T lenfositleri İL-2 üretmezler. Sadece antijen veya CD2 hücreleri ile uyarılan T lenfositlerinde yapımı gözlenir. CD4 ve CD8 lenfositlerinin de İL-2 yapımını uyardığı saptanmıştır. Antijenin vücuda girmesinden 4 saat sonra İL-2 mRNA'sı saptanır, 12 saat sonra en üst düzeye ulaşır, sonrasında hızla azalır (32).

T lenfositlerin çoğalması 2 aşamada gerçekleşir. İlk aşamada, T hücresi dış uyaranla karşılaşır, çapında büyüme, gen transkripsiyonunda artış ve hücrenin G<sub>0</sub> fazından erken G<sub>1</sub> fazına geçişi gözlenir. Ancak bunlar büyümeyi yeterince uyarmaz. İkinci aşamada, İL-2 ve reseptör etkileşimi ile hücre S fazına geçer ve bölünmeye başlar (32).

### **İL-2'nin biyolojik etkileri:**

- 1) T ve B lenfositlerini S fazına geçirir.
- 2) Lenfokin salgısını uyarır.
- 3) NK hücre aktivitesini artırır.
- 4) İmmunglobulin yapımını yönlendirir.

İL-4, başlangıçta B hücre büyüme faktörü (BCGF) kullanılarak klonlanmıştır. Yardımcı T lenfositleri ve mast hücrelerinden salgılanır. İL-4 20 kDa, reseptörü ise 60 kDa'dur (32).

İL-4 ve İL-2 sinerjistik etki göstererek B hücre büyümesini uyarırlar. İstirahat halindeki B hücreleri için büyüme faktörü değildir. İL-4, B hücre yüzey MHC klas II antijenini ve IgE'nin F<sub>C</sub> reseptörlerini uyarır. İmmunglobulin alt grupları içinde ana düzenleyicidir. IgE ve IgG<sub>1</sub> yapımını artırırken IgG<sub>2b</sub> ve IgG<sub>3</sub> yapımını azaltır. Koloni uyarıcı faktörler ile birlikte hemapoetik öncül hücrelerin yapımını artırır ve olgun hücrelere farklılaşmasını sağlar. Makrofaj uyarılması ve farklılaşması için gerekli olan MHC klas II antijenlerini uyarır (32,40).

İL-5, uyarılmış B lenfositlerinin büyümesini sağlar. İL-2 ile birlikte özellikle IgA yapan B lenfositlerinin antikor yapımını yönetir. İL-4 ve İL-5 birlikte IgA ve IgE yapımını yönetir, eozinofil büyüme ve farklılaşmasını sağlar (32).

İnterferon- $\gamma$ , T lenfosit ve NK hücrelerinden antijenik veya mitojenik uyarıya karşı salgılanır. İnterferon- $\gamma$ 'nın geni 12. kromozomun üzerinde olup, 2 tip reseptörü bulunur. İmmun sistem yanıtını oluşturmada önemli görevleri vardır. MHC klas I ve II antijenleri ile F<sub>C</sub> reseptör uyarımını sağlar. Bunun sonucunda makrofajların fagositoz kabiliyetleri

artar. Makrofajların T lenfositlerini uyarmada yardımcı rolleri de vardır. Endotoksinle uyarılan makrofajlardan IL-1 salınımını uyarır. NK hücrelerinin sitotoksik etkilerini artırır. İnterferon- $\gamma$ , hücreyel immun yanıt ve antikor üretiminde de rol oynar (41).

Koloni uyarıcı faktörler (CSF) öncelikle kemik iliğinde bulunur. Eritrosit, trombosit ve myeloid hücrelerin yapımında önemli görevleri vardır. G-CSF, monosit ve fibroblastlardan salgılanır, granülositer hücre yapımını sağlar. T lenfosit, monosit, fibroblast ve endotel hücrelerinden salgılanan GM-CSF, nötrofil, monosit, eozinofil, eritrositer hücre dizisi ve megakaryositlerin yapımında rol oynar. M-CSF ise monosit, T ve B lenfositleri, fibroblast, endotel ve epitel hücrelerinden salgılanıp öncül mononükleer hücreleri için büyüme faktörüdür (42).

IL-3, T lenfositlerinden salgılanır ve tüm kemik iliği hücreleri için uyarıcı rolü vardır. Son yıllarda, eritropoetin'in de bir sitokin olduğu kabul edilmiştir. Bilindiği gibi, eritropoetin böbrekten salgılanır ve eritrositer seri hücrelerinin yapımında önemli rol üstlenir (32).

Hemapoez dolaylı veya dolaysız olarak TNF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-7 tarafından da etkilenir (32).

Günümüzde moleküler biyolojideki yeni tekniklerin geliştirilmesi ile G-CSF ve GM-CSF saf olarak elde edilmiştir. Kemoterapi sonrası nötropenik hastalar ve ciddi bakteriyel sepsiste tedavi yaklaşımları arasına girmiştir. Aynı şekilde eritropoetin, hipoplastik anemi, kronik böbrek yetmezliği ve premature anemisi tedavisinde günümüzde kullanılmaktadır.

TGF- $\beta$  geni, 19. kromozomun uzun kolu üzerinde yer alır ve yapısında 112 aminoasit bulunur. TGF- $\beta$ 'nın üç şekli tanımlanmıştır. T ve

B lenfositleri, trombosit, böbrek, kemik ve plasentadan salgılandıkları gösterilmiştir (43).

TGF- $\beta$ 'nın geniş bir hücre grubu (T ve B lenfositleri, erken myeloid öncül hücreler, endotel ve düz kas hücreleri) üzerine çoğalmayı engelleyici etkisi vardır. TGF- $\beta$ , tek başına inflamatuvar yanıtı baskılayan bir düzenleyici görünümündedir (43).

Sitokinlerin iltihabi olaylarda rolünün aydınlatılmasıyla birlikte enfeksiyonlara yetersiz immün yanıtı olan yenidoğanların sitokin düzeylerini belirlemek ve erişkin düzeyleri ile karşılaştırmak amacıyla çalışmalar başlamıştır. Yaşamın erken dönemindeki TNF, IL-1 ve IL-6 düzeyleri ile ilgili henüz pek az bilgi mevcuttur. İn vivo ve in vitro yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmalarda, TNF düzeyi normal veya düşük, IL-1 düzeyi yüksek, normal veya düşük, IL-6 düzeyi ise genelde normal bulunmuştur.

Yenidoğanda inflamasyonun erken düzenleyicileri olarak bilinen TNF, IL-1 ve IL-6 düzeyleri ve bu sitokinlerin erişkin düzeyleri ile olan farklılığı hakkında kesin veriler yoktur. Sitokin düzeylerinin belirlenmesi miadında, özellikle erken doğanların enfeksiyona olan eğilimi ve savunma sistemindeki hücrelerin enfeksiyöz ajanlara yetersiz yanıtının aydınlatılmasında yardımcı olacaktır.

## OLGULAR VE YÖNTEM

Araştırma kapsamına Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Ünitesinde Haziran 1992 Ekim 1992 tarihleri arasında izlenen 3 grup yenidoğan bebek alındı:

1. Grup'ta; yaşları 29 ile 40 gestasyon haftasında, ağırlıkları 2310+/-1110 gr, sepsis tanısını klinik (ateş veya hipotermi, hipoaktivite, takipne, beslenmeyi tolere edememe,....) ve laboratuvar bulguları (beyaz küre, trombosit sayısı, CRP, kan veya trakeal aspirasyon kültürlerinde bakteri üremesi) ile alan 10 yenidoğan bulunmaktaydı.

2. Grup'ta; gestasyon yaşları 37-40 hafta, Apgar skorları 1 ve 5. dakikada 7-10 olan, ağırlıkları 3100±600 gr arasında değişen sağlıklı 12 yenidoğan kontrol grubu olarak alındı. Bu grupta yeralan yenidoğanların annelerinde, doğum önce ve sonrasında enfeksiyon bulguları gözlenmemesi ve bebeklerin takiplerinde enfeksiyon bulguları olmaması öngörüldü.

3. Grup'ta; sağlıklı, herhangi bir akut veya kronik hastalık öyküsü bulunmayan 9 erişkin kontrol grubu olarak alındı.

Bebeklerin ailelerine çalışma ile ilgili bilgi verildi.

Yenidoğanların kan örnekleri başvuru anında ve/veya sepsis bulguları saptandığı anda alındı. Steril tüplere alınan kan, 10 dakika +4 derecede bekletildikten sonra 1500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumu ayrıştırıldı. Serumlar çalışma gününe kadar -50 derecede saklandı.

TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerinin saptanmasında Eliza yöntemi (Research and Diagnostic INC Minneapolis MW USA) kullanıldı (13). Test edilecek sitokin düzeyi için monoklonal antikorla kaplı olan plastik plakalara standartlar ve serum örnekleri konularak inkübatöre alındı. Bağlanmayan antikor-enzim substratını ortamdan uzaklaştırmak için plakalar yıkandı. Araştırılacak substrat eklendi ve yeniden inkübatöre alındı. Reaksiyon sülfirik asitle durdurularak plakalar uygun dalga boylarında okundu. Her sitokin için ölçülen standart düzeyler alınarak eğriler elde edildi. Her örnek 2 kez test edildi.

Standard eğriler ile elde edilen serum sitokin düzeylerinin normal değerleri; TNF- $\alpha$  için 11-25 pikogram/ml, IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  için 3.9 pikogram/ml altı, IL-6 için ise 3.13-6.25 pikogram/ml' dir.

Sepsisli bebeklerin ve kontrol gruplarının tüm verileri Mann-Whitney U istatistik analizi ile değerlendirildi. Anlamlılık açısından sitokin düzeylerinin  $\pm$  standart sapması alındı. P değerinin 0.05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Ünitesinde izlenen ve yenidoğan sepsisi tanısı alan gestasyon yaşları 29 ile 40 hafta arasında değişen 10 bebek çalışmaya alındı. Gestasyon yaşları 37 ile 40 hafta arasında olan 12 sağlıklı yenidoğan ve 9 sağlıklı erişkin kontrol gruplarını oluşturduklar. Her 3 grupta TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerine bakıldı.

Tablo 1'de sepsis tanısı alan 10 yenidoğanın genel özellikleri görülmektedir.

No	Gestasyon yaşı (hafta)	Tanı	Kültür	BK (/mm <sup>3</sup> )	CRP (mg/dl)	Trom. sayısı	Prognoz
1	29	Sepsis RDS-NEC	Candida*	2300	96	15000	Eksitus
2	35	Sepsis	E. Coli*	26700	96	27000	İyi
3	33	Sepsis RDS	Ps.Auroginosa**	11900	6	100000	Eksitus
4	31	Sepsis	E. Coli*	4400	6	56000	Eksitus
5	35	Sepsis NEC	Klebsiella**	42700	6	97000	Eksitus
6	37	Sepsis VSD	Ps.Auroginosa*	40300	24	151000	İyi
7	40	Sepsis	E. Coli*	6600	96	181000	İyi
8	40	Sepsis	E. Coli*	12000	96	135000	İyi
9	40	Sepsis İVK	Klebsiella*	12500	96	130000	İyi
10	40	Sepsis	Staf. Aureus*	20600	96	290000	İyi

**Tablo 1:** Sepsis tanısı alan bebeklerin klinik ve laboratuvar bulguları

\* Kan kültürü

\*\* Trakeal aspirasyon

RDS : Respiratuvar distres sendromu

NEC : Nekrotizan enterokolit

İVK : İntraventriküler kanama

VSD : Ventriküler septal defekt

Gestasyon yaşları 29-40 hafta arasında değişen 1. gruptaki hastaların 6'sı prematüre, 4'ü ise miadında doğan bebektir. 4 hastanın kan kültüründe *E. coli*, 2 hastada *Klebsiella*, 1 hastada *Staf. aureus*, 1 hastada *Candida*, 2 hastanın ise trakeal aspirasyon kültürlerinde *Pseudomonas auroginosa* üretilmiştir. 5 hastada sadece sepsis kliniği varken diğerlerinde ek olarak RDS (2), nekrotizan enterokolit (2), intraventriküler kanama (1) veya ventriküler septal defekt (1) tanıları mevcuttu. Laboratuvar bulguları olarak 7 hastada artmış CRP düzeyleri, 2 hastada nötropeni, 4 hastada ise trombositopeni saptandı.

Sepsis tanısı alarak takip edilen hastalara, kan veya trakeal aspirat kültürlerinde üretilen bakterilerin antibiyogram hassasiyetine uygun olarak antibiyotik tedavisi verildi. Sepsis tanısı alan 5 prematüre yenidoğan hastanın tümüne intravenöz immunglobulin G, trombositopenisi belirgin olan (Trom. sayısı:  $30000/\text{mm}^3$ ) 2 prematüre hastaya kan değişimi, trombosit süspansiyonu ve taze donmuş plazma infüzyonu uygulandı. *Candida* sepsisi tanısı alan 1 prematüre yenidoğana antimikotik olarak flukanozol infüzyonu yapıldı. Takiplerinde 6 bebek uygulanan tedavi ile yaşatılırken, 4 hasta eksitus oldu.

Aşağıdaki tablolarda her bir grup için bakılan sitokin düzeyleri görülmektedir. 1. Grupta, sepsis tanısı alan 10 yenidoğanın TNF- $\alpha$  değerlerinin geometrik ortalaması  $292\pm 65.1$  pg/ml, IL-1 $\alpha$  değerlerinin geometrik ortalaması  $6.2\pm 3.5$  pg/ml, IL-1 $\beta$  değerlerinin geometrik ortalaması  $12.7\pm 2.8$  pg/ml ve IL-6 değerlerinin geometrik ortalaması  $361\pm 152.6$  pg/ml idi.

No	TNF- $\alpha$ *	IL-1 $\alpha$ *	IL-1 $\beta$ *	IL-6*
1	326	3.3	26	35
2	325	1.9	13	5
3	15	6.2	4.2	8
4	590	2.9	1	1000
5	370	4.3	4.5	465
6	558	37	25.3	1000
7	255	0.6	22	DS
8	80	3.9	12.5	15
9	395	0.8	8	DS
10	10	1.3	10.7	360
<b>Ortalama Düzey</b>	$292\pm 65.1$	$6.2\pm 3.5$	$12.7\pm 2.8$	$361\pm 152.6$
<b>Orta Değer (median)</b>	325.5	3.1	11.6	25

**Tablo 2:** Sepsisli bebeklerde TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri.

\*: Düzeyler pikogram/ml olarak verilmiştir.

DS:Düzeyi saptanamayacak kadar düşüktür.

2. Grupta, 12 sağlam yenidoğan kontrol grubununun TNF- $\alpha$  değerlerinin geometrik ortalaması  $10.4\pm 2.6$  pg/ml, IL-1 $\alpha$  değerlerinin geometrik ortalaması  $2.1\pm 0.4$  pg/ml, IL-1 $\beta$  değerlerinin geometrik ortalaması  $6.5\pm 1.3$  pg/ml ve IL-6 değerlerinin geometrik ortalaması  $10.8\pm 2.6$  pg/ml idi.

No	TNF- $\alpha$ *	IL-1 $\alpha$ *	IL-1 $\beta$ *	IL-6*
1	20	4	15	7
2	5	0.8	14	5
3	5	2.1	5.5	DS
4	0	0.9	8.5	5
5	5	1.8	4.5	30
6	25	1.6	4	18
7	15	3	4	9
8	10	3.9	5	7
9	5	DS	DS	20
10	15	0.8	5.5	17
11	20	2.9	1	5
12	0	1.3	5	DS
<b>Ortalama Düzy</b>	$10.4\pm 2.6$	$2.1\pm 0.4$	$6.5\pm 1.3$	$10.8\pm 2.6$
<b>Orta Değer (median)</b>	7.5	1.7	5	7

**Tablo 3:** Sağlam bebek kontrol grubunda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri

\* :Değerler pikogram/ml olarak verilmiştir.

DS: Düzyi saptanamayacak kadar düşüktür.

3. Grup'ta yer alan 9 erişkin kontrol grubunun TNF- $\alpha$  değerlerinin geometrik ortalaması  $8.9\pm 3.2$  pg/ml, IL-1 $\alpha$  değerlerinin geometrik ortalaması  $1.1\pm 0.14$  pg/ml, IL-1 $\beta$  değerlerinin geometrik ortalaması  $5.7\pm 0.45$  pg/ml ve IL-6 değerlerinin ortalaması  $3.3\pm 0.2$  pg/ml idi.

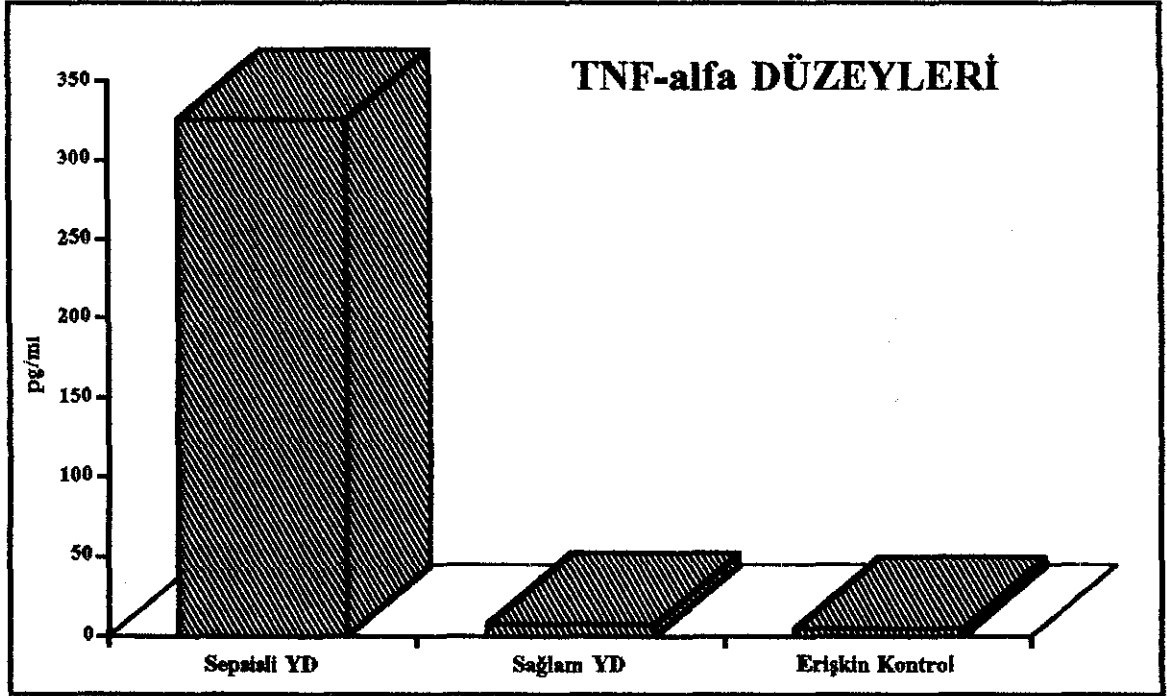
No	TNF- $\alpha$ *	IL-1 $\alpha$ *	IL-1 $\beta$ *	IL-6*
1	5	1	5	4
2	20	1.2	5	3
3	0	0.9	5.5	4
4	15	1.7	5.5	3
5	0	0.6	8	3
6	0	1.6	8	3
7	20	0.8	5	4
8	20	0.9	4.3	3
9	0	1.7	5	3
<b>Ortalama Değer</b>	<b><math>8.9\pm 3.2</math></b>	<b><math>1.1\pm 0.14</math></b>	<b><math>5.7\pm 0.45</math></b>	<b><math>3.3\pm 0.2</math></b>
<b>Orta Değer (median)</b>	<b>5</b>	<b>0.8</b>	<b>5</b>	<b>3</b>

**Tablo 4:** Sağlam erişkin kontrol grubunda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri

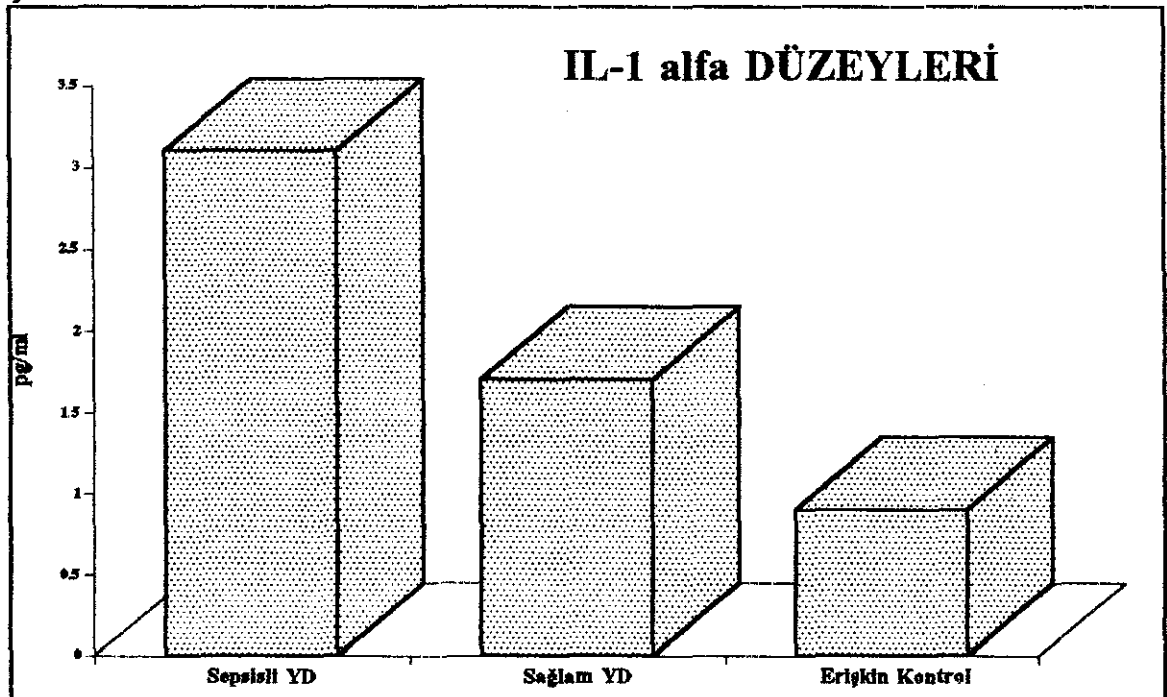
\*:Değerler pikogram/ml olarak verilmiştir.

Şekil 2, 3, 4 ve 5'te görülen bar grafiklerinde, 3 gruptaki hastaların orta (median) değer sitokin düzeyleri karşılaştırmalı olarak görülmektedir.

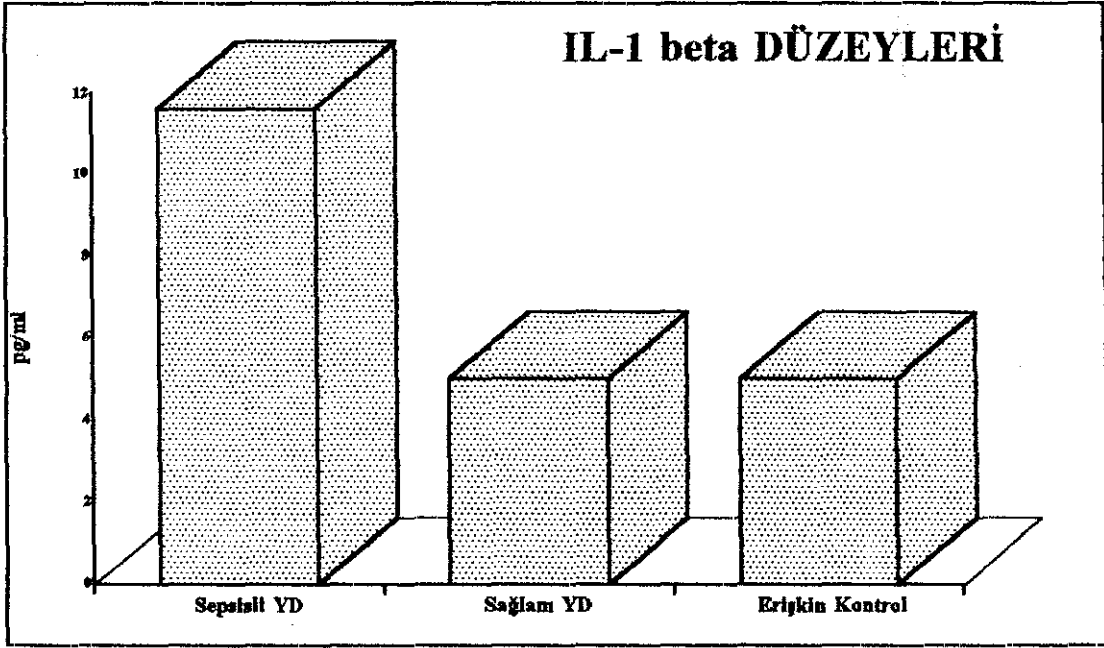
Şekil 2:



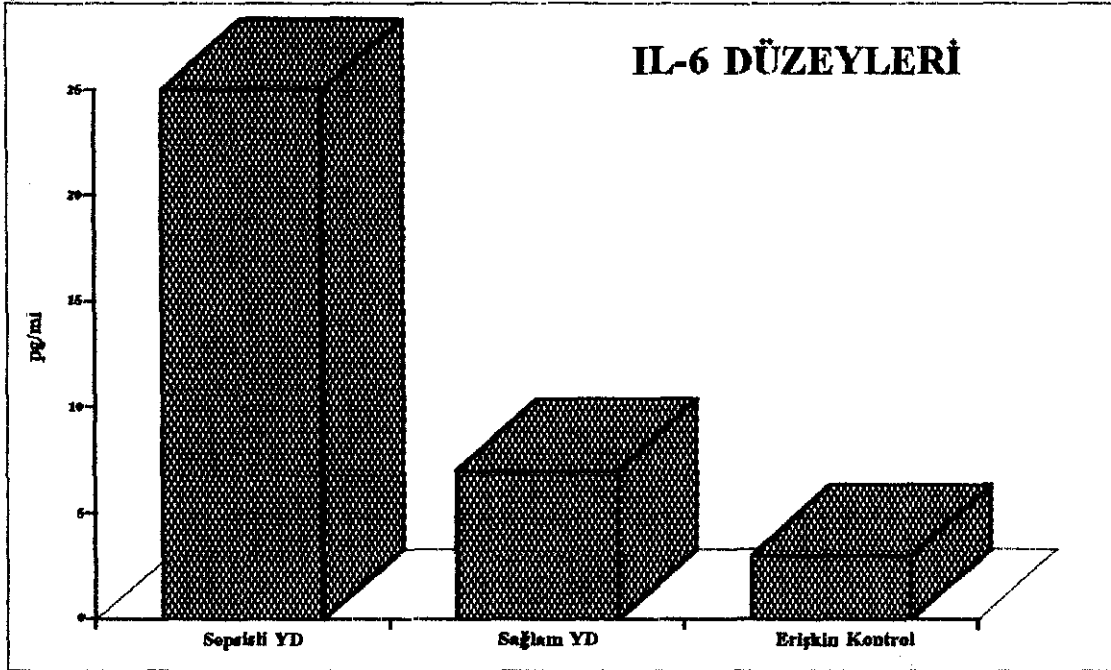
Şekil 3:



Şekil 4:



Şekil 5:



Her 3 grubun TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri, yenidoğan sepsisi tanısı alan 1. grupta 2. ve 3. kontrol grupları ile anlamlı istatistiksel fark gösterdi ( $p < 0.05$ ).

Serum IL-1 $\alpha$  düzeylerinde her 3 grup arasında istatistiksel fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ ). Serum IL-1 $\beta$  düzeylerinde 1. gruptaki 1., 6. ve 7. hastalarda yüksek bulunmasına karşılık her 3 grup ortalama değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ ).

Serum IL-6 düzeyleri arasında 1. grup ile 2. ve 3. kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel fark gözlendi ( $p < 0.05$ ).

Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri, kontrol gruplarında normal standart düzeyler arasındaydı (11-25 pg/ml). Yine kontrol gruplarının serum IL-1 $\alpha$  düzeyleri de normal standart düzeyler arasındaydı (3.9 pg/ml  $>$ ).

Serum IL-1 $\beta$  düzeyleri sağlam yenidoğan kontrol grubundaki 9 ve 11. bebekler haricinde ve erişkin kontrol grubundaki kişilerde normal standart düzeyinden (3.9 pg/ml  $>$ ) hafif yüksek olmasına karşılık grup ortalamaları arasında istatistiksel fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ ).

Serum IL-6 düzeyleri sağlam yenidoğan kontrol grubundaki 5., 6., 9. ve 10. bebeklerde normal standart düzeyinden (3.13-6.25 pg/ml) yüksek bulunmasına karşılık grup ortalamasında fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ ). Erişkin kontrol grubunda ise IL-6 ortalama değerleri normal standart düzeyi arasındaydı.

Sitokin düzeyleri ile beyaz küre, CRP, trombosit sayıları ve prognoz (hayatta kalım) arasında korelasyon bulunamadı.

## TARTIŞMA

Yenidoğan döneminde enfeksiyon hastalıkları mortalite ve morbiditenin önemli nedenlerinden biridir. Yenidoğanın, özellikle prematüre doğanların enfeksiyöz ajanlara karşı yetersiz immun yanıtı ile ilgili pekçok araştırma yapılmıştır. B-lenfositlerinin antikor üreten hücrelere dönüşmesinde yetersizlik, T-lenfositlerinin olgunlaşmasında yetersizlik ve deneyimsiz T-lenfositlerinin (CD45RA) çoğunluğu oluşturmaları, hemapoetik öncül hücrelerin sistemik dolaşıma geçişlerinde, granülositlerin göçlerinde ve yüzeye yapışmalarındaki eksiklik, fetal monosit ve makrofajların antijen sunumundaki yetersizlik, kompleman ve opsonin aktivitelerindeki eksiklikler yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (1-5,25). Bu gelişimsel eksiklikler tek tek belirlenmiş olmalarına rağmen bütün olarak bunları birleştiren bir ilişki bulunamamıştır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar enfeksiyöz ajanlara karşı akut faz reaksiyonu ve immun yanıtın oluşturulmasında 80 kDA'dan küçük molekül ağırlığına sahip glikolize protein yapısındaki sitokinlerin önemli rol oynadıklarını göstermiştir. Ateş ve inflamatuvar yanıtta sitokinlerden özellikle TNF, İL-1 ve İL-6'nın önemli rol oynadığı belirlenmiştir (16-19).

Yenidoğan, özellikle de prematüre doğan bebeklerin hücrelerinin sitokin yapabilme özellikleri ve iltihabi yanıtı karşı sitokin cevapları henüz yeterince aydınlatılmamıştır. 1987 yılından itibaren yenidoğanda sitokin düzeylerinin belirlenmesi için çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Günümüzde yenidoğan döneminde sitokin düzeylerinin belirlenmesi için yapılan çalışmaların en önemli özelliği, immun yanıt ve ateş cevabının yenidoğan döneminde bozuk olmasının altta yatan nedeninin düşük veya anormal sitokin yanıtıyla açıklanabilir olmasıdır.

Çalışma sonuçlarımızda, sepsis grubundaki tüm bebeklerde sitokin değerlerinden bir veya daha fazlası yüksek bulundu. TNF- $\alpha$  düzeyleri her 3 grup arasında karşılaştırıldığında, sepsisli bebeklerde grup ortalaması kontrol gruplarına göre yüksek bulunarak belirgin istatistiksel fark gösterdi ( $p < 0.05$ ). IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeylerinde, sepsisli bebekler ile kontrol grupları arasında istatistiksel fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ ). IL-6 düzeylerinde ise sepsisli bebek grup ortalaması kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak yüksek saptandı ( $p < 0.05$ ).

Literatürü gözden geçirdiğimizde, yenidoğan döneminde sitokin düzeyleri ile ilgili pek az çalışma olduğunu, vaka sayılarının yetersiz ve bunların sonuçlarının birbirlerinden farklı olduklarını görmekteyiz. İn vivo ve in vitro olarak TNF, IL-1 ve IL-6 ile yapılan bu çalışmalar aşağıda özetle gözden geçirilmiştir.

### İn vitro çalışmalar:

<u>Yılı</u>	<u>Araştırmacı</u>	<u>Sitokin Adı</u>	<u>Araştırılan Grup</u>	<u>Düzy</u>
1988	English ve ark. (44)	TNF	miadında doğan	düşük
1989	Weatherstone ve ark.(45)	TNF	miadında doğan prematüre	düşük düşük
1981	Dinarelo ve ark (46)	İL-1	miadında doğan	normal
1987	Wilmott ve ark (47)	İL-1	miadında doğan	normal
1987	Glover ve ark (48)	İL-1	miadında doğan	düşük
1987	Saito ve ark (49)	İL-1	miadında doğan prematüre	düşük düşük
1989	Weatherstone ve ark.(45)	İL-1	miadında doğan prematüre	normal düşük
1991	Srugo ve ark. (50)	İL-1	prematüre	normal
1990	Saito ve ark. (51)	İL-6	miadında doğan prematüre	normal normal
1990	Yachie ve ark. (52)	İL-6	miadında doğan	normal
1990	Matsuzaki ve ark (53)	İL-6	miadında doğan	normal
1991	Watson ve ark. (54)	İL-6	miadında doğan	düşük
1992	Schibler ve ark. (55)	İL-6	miadında doğan prematüre	düşük düşük
1992	Yachie ve ark. (56)	İL-6	prematüre	düşük

### **İn vivo Çalışmalar (Sepsis tanısı alan yenidoğanlar):**

<u>Yılı</u>	<u>Araştırmacı</u>	<u>Sitokin Adı</u>	<u>Araştırılan Grup</u>	<u>Düzyey</u>
1989	Girardin ve ark. (57)	TNF- $\alpha$	miadında doğan	yüksek
1990	Girardin ve ark. (58)	TNF- $\alpha$	miadında doğan prematüre	yüksek yüksek
1990	Miller ve ark. (59)	TNF	miadında doğan	normal
1992	Yuan ve ark. (60)	TNF	miadında doğan	normal
1992	Groll ve ark. (61)	TNF	miadında doğan	normal
1989	Girardin ve ark. (57)	İL-1 $\beta$	miadında doğan	yüksek
1990	Miller ve ark. (59)	İL-1 $\beta$	miadında doğan	normal
1990	Matsuzaki ve ark. (53)	İL-6	miadında doğan	normal
1990	Miller ve ark. (59)	İL-6	miadında doğan	normal
1992	Groll ve ark. (61)	İL-6	miadında doğan prematüre	normal normal

Görüldüğü gibi, yapılan çalışmalarda yenidoğan hücrelerinin sitokin üretebilme yeteneği ve enfeksiyon varlığında ulaştıkları düzeyleri kesin olarak belirlenememiştir. Çalışmamızda, sepsis tanısı alan hem miadında hem de prematüre doğan bebeklerde in vivo olarak bakılan sitokinlerden ortalama TNF- $\alpha$  ve İL-6 düzeylerini belirgin olarak yüksek saptadık. Ancak aynı yükselmeyi İL-1 $\alpha$  ve İL-1 $\beta$  düzeylerinde gözleyemedik. Grup ortalamaları incelendiğinde, İL-1 $\beta$ 'nin İL-1 $\alpha$ 'ya göre düzeyi hafif yüksektir.

Sonuçlarımızla, yenidoğanın enfeksiyonlara karşı yeterli TNF- $\alpha$  ve IL-6 cevabının olduğunu belirtebiliriz. IL-1 düzeylerinde artış gözlenmemesi yenidoğan hücrelerindeki yapım eksikliğinden olabilir. Bu eksiklik diğer çalışmalarla da doğrulanırsa yenidoğanın enfeksiyonlara karşı ateş ve akut faz reaktanlarının oluşmama veya geç oluşmasının etiolojisindeki sorulara bir yanıt oluşturabilir. Ancak genel bilgiler bölümünde anlatıldığı gibi sitokinlerin ömürleri saatlerle ölçülecek kadar kısadır. Enfeksiyonun erken döneminde kanda yükselen IL-1 düzeyini, hastalarımızda sepsisin kaçınıcı saatinde saptadığımızı belirlemek mümkün değildir. Bu nedenle artmamış IL-1 düzeyini hastalarımızda gözlememiz şaşırtıcı bir sonuç değildir.

Literatürde en geniş hasta grubu olan in vivo çalışmayı Miller ve ark. (59) yapmışlardır. 92 Bebekte yapılan bu çalışmada, ciddi perinatal komplikasyon, acil sezaryen ve indüksiyonla doğanlarda özellikle IL-1 $\beta$  yüksek bulunurken TNF ve IL-6 düzeylerinde fark gözlenmemiştir. Yine aynı çalışmada, sepsis tanısı alan yenidoğanlarda IL-6 yüksek, TNF düşük, IL-1 $\beta$  düzeyi ise saptanamayacak kadar düşük bulunmuştur. Sepsisli bebeklerdeki TNF ve IL-1 $\beta$  düzeylerindeki düşüklüğü, maternal veya fetal prostoglandin E2'nin baskılaması veya IL-6'nın IL-1 ve TNF'ü protein transkripsiyonu düzeyinde baskılayabileceği şeklinde yorumlamışlardır.

Girardin ve ark. (58) sistemik ve lokal enfeksiyonu olan prematüre ve miadında doğan 62 bebekte (49 bebek sağlam kontrol grubunu oluşturmaktadır), TNF düzeylerine bakmışlardır. Hem prematüre hem de miadında doğan bebeklerde, sepsis kliniğinin ağırlığı ve şok tablosu ile doğru orantılı olarak TNF düzeylerini yüksek saptamışlardır. Yine Girardin ve ark. (57) tek vaka olarak bildirdikleri neonatal Listeria

enfeksiyonu tanısı alan miadında doğan bebeğin, TNF- $\alpha$  ve İL-1 $\beta$  düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Kendi sonuçlarımızı gözden geçirdiğimizde, çok yüksek sitokin düzeylerine sahip bebeklerin yaşadığını, düşük değerleri olanların kaybedildiğini ve sitokin düzeyleri ile mortalite arasında Girardin ve ark.'nın gözlediği bir ilişki bulunmadığını gözledik. Aynı şekilde beyaz küre, CRP ve trombosit sayıları ile sitokin düzeyleri arasında da ilişki kuramadık. Ancak olgu sayısının az olması nedeniyle bu konuda bir yorum yapabilmek mümkün değildir.

Matsuzaki ve ark. (53) intraamniotik enfeksiyon bulguları ile miadında doğan 12 bebeğin İL-6 düzeylerini yüksek bulmuşlar ve İL-6'nın yenidoğan enfeksiyonlarını erken saptamada önemli bir laboratuvar bulgusu olduğunu belirtmişlerdir.

Groll ve ark. (61) gestasyon yaşları 29-40 hafta arasında değişen, nozokomial enfeksiyonu kanıtlanmış 10 yenidoğandan 8'inin İL-6 değerlerinde normalin 80 katına ulaşan yükseklik saptamışlardır. Kan kültürlerinde üreme olan 2 hastada, İL-6 düzeyleri normal bulunmuştur. Kendi çalışmamızda, sepsis grubumuzda saptanan normal sitokin değerlerinin literatürde yapılan çalışmalarda da gözlendiğini görmekteyiz.

Yuan ve ark. (60) 22 miadında doğan sepsisli bebekte, TNF düzeylerini yüksek saptamışlardır. Bu çalışmada dikkati çeken, TNF değerlerinin  $356.36 \pm 286.56$  pg/ml gibi geniş dağılım göstermesidir. Kendi çalışmamızda, aynı geniş dağılım düzeylerini TNF- $\alpha$  ve İL-6 için gözledik.

Damas ve ark. (6) in vivo olarak yaptıkları çalışmada, erişkin sepsisinde TNF'ü yüksek düzeyde bulurken İL-1 $\beta$  düzeyini aksine normal düzeyde gözlemişlerdir. Çalışma erişkin grupla yapılmasına rağmen

sonuçları bizim çalışmamızdaki TNF ve İL-1 $\beta$  değerleri ile uyumludur. Sullivan ve ark. (13) yaşları 1 ile 9 arasında değişen sepsisli hasta grubunda yaptıkları çalışmada, İL-6'nın yüksekliği ile mortalite arasında doğru orantılı ilişki gözlerken, Hack ve ark. (12) erişkin sepsisli hasta grubunda İL-6 ile kliniğin ağırlığı arasında ilişki bulamamışlardır. Yine Hack ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, gram (+) ve gram (-) enfeksiyonlarla İL-6 düzeyleri arasında ilişki bulunamamıştır.

Literatürde yenidoğan dönemine ait in vivo ve in vitro yapılan çalışmalarda kullanılan yöntemlerin farklı olması nedeniyle kendi aralarında ve bizim in vivo çalışmamızla karşılaştırma yapmamız güçtür. Ancak çalışmamızdaki TNF, İL-1 ve İL-6 düzeylerinin genelde literatürdeki çalışmalar ile uyumlu olduğunu belirtebiliriz.

Çalışmamızda ilgi çekici bir bulgu, 29 haftalık Candida sepsisi tanısı alan prematüre bebeğin TNF- $\alpha$ , İL-1 $\beta$  ve İL-6 düzeylerindeki belirgin yüksekliktir. Literatür taramasında in vivo Candida sepsisinde sitokin düzeyi ile ilgili yapılan bir yayına rastlayamadık.

İlginç olan bir diğer bulgu da sağlam yenidoğan kontrol grubumuzda 3 bebeğin İL-1 $\beta$ , 4 bebeğin İL-6 ve erişkin kontrol grubunda 2 kişinin İL-1 $\beta$  düzeylerinin hafif veya orta derecede yüksek bulunmasıydı. Literatür taramasında Girardin ve ark.'nın (58) sağlam kontrol grubunda 1 bebekte TNF düzeyini yüksek bulduğunu gözledik. Yenidoğanın doğum şekli ve stresin varlığı bunun nedeni olabilir. Erişkin kontrol grubumuzda o sırada saptanamayan bir enfeksiyon odağı yine bu yüksekliklerde etken olabilir. Ayrıca daha önce belirtildiği gibi yenidoğan dönemine ait sitokin düzeyleri ile ilgili bilgilerimiz henüz yetersizdir.

Literatürde ve kendi çalışmamızda sonuçları etkileyen pek çok faktör vardır. Bunların başında vaka sayılarının sınırlı olması gelmektedir. Ayrıca sepsis tanısı alan bebeklere tedavi (antibiyotik, taze kan, taze donmuş plazma, trombosit, intravenöz immunglobulin G) verilmesi, hastaların kanlarında  $\text{mm}^3$ 'teki bakteri sayısı, sitokinlerin kısa ömürlü olmaları, birbirlerini zincir reaksiyonu ile etkilemeleri, birbirlerini antagonize etmeleri, hücre yüzeyindeki reseptör ve antagonistlerinin varlığı (anti-TNF, anti-IL-1, TGF- $\beta$ ) sonuçları önemli ölçüde etkileyen faktörlerdir. Bütün bu faktörler, yapılan çalışmalardan sağlıklı sonuç ve çıkarımlar yapılmasını güçleştirmektedir.

Literatür çalışmalarında olmayan ancak araştırılması gereken bir hususta, sepsis tanısı alan yenidoğan ve erişkin gruplarının sitokin düzeylerinin karşılaştırılmasıdır. Böyle bir çalışma ile yenidoğanın enfeksiyonlara karşı sitokin cevabının yeterli düzeyde olup olmadığının belirlenmesini sağlayabilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, sepsisin erken tanısında özellikle IL-6'nın gelecek yıllarda rutin laboratuvar tetkiki arasına gireceğini göstermektedir. Günümüzde sitokin düzeyi en kısa 6 saatte belirlenebilmektedir ve pahalı bir tetkiktir. Gelecek yıllarda, kısa sürede bakılması ve ucuza maledilmesi ile kliniklerde yaygın olarak kullanılacak ve sepsis tanısı hastalara erken dönemde konulacaktır.

Günümüzde antibiyotikler ile enfeksiyonların tedavisinde son aşamada olduğumuz bir gerçektir. Her geçen gün mikroorganizmalar yeni direnç mekanizmaları geliştirerek ciddi enfeksiyonlara neden olmakta ve antibiyotikler ile tedavi güçleşmektedir. Bu durum, özellikle gelişmesini tamamlayamamış immun sisteme sahip olan yenidoğanlarda gelecek

yıllarda çok önemli bir sorun teşkil edecektir. Sitokinlerin hem kendi hem de reseptör düzeyindeki antagonistleri (anti-TNF, anti-İL-1 gibi) sepsis tedavisinde gelecekte kullanılabilir tedavi yaklaşımları arasına girebilir.

Sonuç olarak çalışmamızda, hem prematüre hem de miadında doğan bebeklerin erişkinlerle karşılaştırılacak kadar TNF, İL-1 ve İL-6 düzeylerine sahip olduğunu söyleyebiliriz. Ancak bu konuyla ilgili araştırmaların henüz başındayız. Günümüzde yenidoğanın sitokin düzeyleri ile ilgili iyi planlanmış, geniş gruplarla yapılan çalışmalara gereksinim vardır.

## SONUÇLAR

- 1) Son yıllarda tanımlanan sitokinler, immün yanıtta önemli görevleri olan, hücreler arası mesaj ve koordinasyonu sağlayan küçük molekül ağırlığında glikolize proteinlerdir.
- 2) Yenidoğanın enfeksiyöz ajanlara yetersiz immün yanıtına anormal veya azalmış sitokin cevapları neden olabilir. Literatürde bu konuyla ilgili yetersiz çalışmalar ve çelişkili sonuçlar vardır.
- 3) Çalışmamızda, yenidoğanların prematüre doğanlar dahil, sepsiste anlamlı olarak TNF- $\alpha$  ve İL-6 cevabının bulunduğunu saptadık. Ancak İL-1 $\alpha$  ve İL-1 $\beta$  düzeylerinde ise belirgin değişiklik bulunamadı.
- 4) Çalışmamızda, sağlam kontrol grubunda yer alan yenidoğanların erişkinlere eşit TNF- $\alpha$ , İL-1 $\alpha$ , İL-1 $\beta$  ve İL-6 düzeylerine sahip olduklarını saptadık.
- 5) Çalışmamızdaki sonuçlarımız genelde literatür ile uyumlu olmasına rağmen sitokin düzeylerini belirlemede kullanılan metodların literatürle farklı olması nedeniyle karşılaştırma yapmak mümkün olamadı.
- 6) TNF, İL-1 ve İL-6 düzeylerinin yenidoğan döneminde belirlenmesi yenidoğan immunolojisinin aydınlatılmasında anahtar rol oynayacaktır.
- 7) TNF, İL-1 ve İL-6'nın serum düzeylerini kısa sürede saptayabilecek yöntemlerin geliştirilmesi, sepsis tanısının hastalara daha kısa süre içinde konulmasına yardımcı olabilir.

## ÖZET

Sepsis ve septik şok yenidoğan ünitelerinde halen mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir. Yenidoğanın enfeksiyonlara olan eğilimi ve yetersiz immün yanıtı ile ilgili pekçok araştırma yapılmıştır. 1980'li yılların başında tanımlanan sitokinler, immün yanıtı oluşturan hücreler arasında iletişim ağını oluştururlar. Hücreler sitokinlerin varlığında dış etmenlere karşı belirli bir düzen içerisinde vücudun yanıtını oluşturur.

Yenidoğanın normalde ve enfeksiyon varlığındaki sitokin düzeyleri ile ilgili bilgilerimiz yetersizdir. Çalışmamıza, klinik ve laboratuvar bulguları ile sepsis tanısı alan, kan veya trakeal aspirasyon kültürleri ile sepsisi desteklenen gestasyon yaşları 29-40 hafta arasında değişen 10 yenidoğan alındı. Bunların serum TNF- $\alpha$ , IL- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeylerine Eliza yöntemi ile bakıldı. 12 sağlıklı yenidoğan ve 9 sağlıklı erişkin kontrol gruplarını oluşturdu. Sepsis grubunda olan yenidoğanların ortalama TNF- $\alpha$  ( $292 \pm 65.1$  pg/ml) ve IL-6 ( $361 \pm 152.6$  pg/ml) düzeyleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında belirgin olarak yüksek saptandı ( $p < 0.05$ ). Ortalama IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeyleri, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel fark saptanamadı ( $p > 0.05$ ).

Çalışma sonuçlarımızdaki sitokin düzeylerini etkileyen faktörler arasında sepsis tanısı alan yenidoğanlara uygulanan tedavi, hastaların kanında  $\text{mm}^3$ 'teki bakteri sayısı, sitokinlerin kısa ömürlü olmaları, birbirlerini zincirleme reaksiyon ile etkilemeleri ve hücre yüzeyinde reseptör ve antagonistlerin varlığı (anti-TNF, anti-IL-1, TGF- $\beta$ ) sayılabilir. Çalışma grubunda olgu sayısının geniş tutulduğu, serum sitokin ve bunların antagonistlerinin de belirlendiği, ayrıca zaman içerisinde sitokin düzeylerindeki değişimlerin izlendiği çalışmalar yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- 1) Stiehm ER, Winter HS, Bryson YJ. Cellular (T-cell) immunity in the human newborn. *Pediatrics* 1979; 64 (Suppl): 814-821.
- 2) Stiehm ER, Szein MB, Steeg D, Mann C, Newland BM, Oppenheim J. Deficient DR antigen expression on human cord blood monocytes. Reversal with lymphokines. *Clin Immunol Immunopathol* 1984; 30: 430-436.
- 3) Anderson U, Bird AG, Britton S, Paracios R. Humoral and cellular immunity in human studied of the level from birth to two years of age. *Immunol Rev* 1981; 57: 61-88.
- 4) Fao R, Guibellino MC, Fiero MT, Lusso P, Ferrando ML. Immature T lymphocyte in human cord blood identified by monoclonal antibodies: a model for the study of the differentiation pathway of T cells in human. *Cell Immunol* 1984; 89: 194-201.
- 5) Saito S, Saito M, Moriyama I, Hino K, Ichijo M. Ontogenetic development of human natural killer (NK) cells and lymphokine activated killer (LAK) cells. *Nippon-Sanka-Fujinka-Gakkai-Zasshi* 1987; 39: 591-598.
- 6) Damas P, Reuter A, Gysen P, Demonty J, Lamy M, Franchimont P. Tumor necrosis factor and interleukin 1 serum levels during severe sepsis in humans. *Crit-Care-Med* 1989; 17: 975-978.
- 7) Michie H, Manogue K, Spriggs D. Detection of circulating TNF after endotoxin administration. *N Eng J Med* 1988; 318: 1481-1486.
- 8) Cannon J, Tompkins R, Gelfand J. Circulating IL-1 and TNF in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis* 1990; 161: 79-84.
- 9) Movat HZ. Tumor necrosis factor and interleukin-1: role in acute inflammation and microvaskuler injury. *J Lab Clin Med* 1987; 110: 668-681.

- 10) Movat HZ, Burrowes CE, Cybulsky MI, Dinarello CA. Acute inflammation and schwartzmann-like reaction induced by interleukin-1 and tumor necrosis factor: synergistic action of the cytokines in the induction of inflammation and microvascular injury. *Amer J Pathol* 1987; 129: 463-476.
- 11) Nijsten MWN, De Groot ER, Ten Duis HJ, Klasen HJ, Hack CE, Aarden LA. Serum levels of IL-6 and acute phase responses. *Lancet* 1987; 2: 921.
- 12) Hack CE, De Groot ER, Felt-Berssem RJJ, Nuijens JH, Van Schijndel RDM, Eerenberg Behmer AJM, Thijs LG, Aarden LA. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood* 1989; 74: 1704-1710.
- 13) Sullivan JS, Kilpatrick L, Costarino AT, Chi Lee S, Harris MC. Correlation of plasma cytokine elevations with mortality rate in children with sepsis. *J Pediatr* 1992; 120: 510-515.
- 14) Silva AT, Cohen J. Role of interferon- $\delta$  in experimental gram negative sepsis. *J Infect Dis* 1992; 166: 331-335.
- 15) Girardin E, Grau GE, Dayer JM, Roux-Lombard P, The J5 study group, Lambert PH. Tumour necrosis factor and interleukin-1 in the serum of severe infectious purpura. *N Eng J Med* 1988; 319: 397-400.
- 16) Balkwil F. Cytokines-soluble factors in immune responses. *Cur Op Immunol* 1988; 1: 241-249.
- 17) Dinarello CA, Mier JW. Lymphokines. *N Eng J Med* 1987; 317: 940-945.
- 18) Parkman R. Cytokines and T lymphocytes in pediatrics. *J Pediatr* 1991; 118: 521-523.
- 19) Tracey KJ, Cerami A. Cachectin/ tumor necrosis factor and other cytokines in infectious disease. *C Op Immunol* 1989; 1: 454-461.

- 20) Siegel JD, McCracken GH. Sepsis neonatorum. *N Eng J Med* 1981; 304: 642-646.
- 21) Placzek MM, Whitelaw A. Early and late onset neonatal septicemia. *Arch Dis Child* 1983; 58: 728-731.
- 22) Klein JO, Remington JS, Marcy MS. Infectious diseases of the fetus and newborn infant, third ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1990: 602-638.
- 23) Gluck L, Wood HF, Fousek MD. Septisemia of the newborn. *Pediatr Clin North Am* 1966; 13: 1131.
- 24) Wilson CB. Immunologic basis for increased susceptibility of the neonate to infection. *J Pediatr* 1986 108; 1- 12.
- 25) Remington JS, Klein JD. Infectious diseases of the fetus and newborn infant, third ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1990: 27-48.
- 26) Parkman R. Cytokines and T lymphocytes in pediatrics. *J Pediatr* 1991; 118 ( Suppl ): 21-23.
- 27) Watson W, Oen K, Ramdahin R, Harman C. Immunglobulin and cytokine production by neonatal lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 1991; 83: 169-174.
- 28) Matsuzaki N, Saji F, Kameda T, Yoshizaki K, Okada T, Sawai K, Tanizawa O. In vitro and in vivo production of interleukin-6 by fetal mononuclear cells. *Clin Immun Immunopathol* 1990; 55: 305-314.
- 29) Pabst HF, Kreth HW. Ontogeny of the immune response as a basis of childhood disease. *J Pediatr* 1980; 97: 519-534.
- 30) Nossal GJV. The basic components of the immun system. *N Eng J Med* 1987; 316: 1320-1326.
- 31) Yeğın O. Temel immunoloji ve immun sistem eksiklik hastalıkları. Akdeniz Üniversitesi Yayınları Antalya 1992; 87-96.

- 32) Stites DP, Terr AI. Basic and clinical immunology, third ed. Connecticut: Appleton and Lange Co; 1991: 78-92.
- 33) Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. Blood 1991; 77: 1627-1652.
- 34) Mizell SB. Interleukin-1 and T-cell activation. Immunol Today 1987; 8: 330.
- 35) Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). Science 1985; 230: 630.
- 36) Kishimoto T. The biology of interleukin-6. Blood 1989; 74: 1-10.
- 37) Wong GC, Clark SC. Multiple actions of interleukin-6 within a cytokine network. Immunol Today 1988; 9: 137.
- 38) Shalaby MR, Waage A, Aarden L, Espevik T. Endotoxin, tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1 induce interleukin-6 production in vivo. Clin Immun Immunopathol 1989; 53: 488-498.
- 39) Perlmutter DH, Dinarello CA, Punsal PI, Colten HR. Cachectin/ tumor necrosis factor regulates hepatic acute-phase gene expression. J Clin Invest 1986; 78:1349.
- 40) Paul WE, Ohara J. B cell stimulatory factor-1/ interleukin-4. Annu Rev Immunol 1987; 5:429.
- 41) Friedman RM, Vogel SN. Interferons with special emphasis on the immun system. Adv Immunol 1983; 34: 97.
- 42) Clark S, Kamen R. Human hemapoietic colony-stimulating factors. Science 1987; 236: 1226.
- 43) Sporn MB. TGF- $\beta$  biological function and chemical structure. Science 1986; 233: 532.
- 44) English BK, Burchet SK, English JD, Amman AJ, Wara DW, Wilson CB. Production of lymphotoxin and tumor necrosis factor by human neonatal mononuclear cells. Pediatr Res 1988; 24: 717-722.

- 45) Weatherstone KB, Rich EA. Tumor necrosis factor/ cachectin and interleukin-1 secretion by cord blood monocytes from premature and term neonates. *Pediatr Res* 1989; 25: 342-346.
- 46) Dinarello CA, Shparber M, Kent EF. Production of leukocyte pyrogen from phagocytes of neonates. *J Infect Dis* 1981; 144: 337.
- 47) Wilmott RW, Harris MC, Haines KM, Douglas SD. Interleukin-1 activity from human cord blood monocytes. *Diagn Clin Immunol* 1987; 5: 201-204.
- 48) Glover DM, Brownstein D, Burchett S. Expression of HLA class II antigens and secretion of interleukin-1 by monocytes and macrophages from adults and neonates. *Immunology* 1987; 61: 195.
- 49) Saito M, Saito S, Moriyama I, Ibaragi T, Ichijo M. Immunoglobulin production of neonate T lymphocyte subset and production of cytokine. *Nippon-Sanka-Fujinka-Gakkai-Zasshi* 1987; 39: 1973-1979.
- 50) Srugo I, Berger A, Lapidot Z, Katz R, Pollak S. Interleukin-1 secretion by blood monocytes of septic premature infants. *Infection* 1991; 19: 150-154.
- 51) Saito S, Saito M, Kato Y, Maruyama M, Moriyama I, Ichijo M. Production of IL-6 (BSF-2/ IFN  $\beta$ 2) by mononuclear cells in premature and term infants. *J Rep Immunol* 1990; 17: 17-26.
- 52) Yachie A, Takano N, Yokoi T, Kato K, Kasahara Y, Miyawaki T, Taniguchi N. The capability of neonatal leukocytes to produce IL-6 on stimulation assessed by whole blood culture. *Pediatr Res* 1990; 27: 227-233.
- 53) Matsuzaki N, Saji F, Kameda T. In vitro and in vivo production of interleukin-6 by fetal mononuclear cells. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 55: 305-314.

- 54) Watson W, Oen K, Ramdahin R, Harman C. Immunglobulin and cytokine production by neonatal lymphocytes. Clin Exp Immunol 1991; 83: 169-174.
- 55) Schibler KR, Liechty KW, White WL, Rothstein G, Christensen RD. Defective production of interleukin-6 by monocytes: a possible mechanism underlying several host deficiencies of neonates. Pediatr Res 1992; 31: 18-21.
- 56) Yachie A, Takano N, Ohta K, Vehara T, Fujita S, Myawaki T, Taniguchi N. Defective production of interleukin-6 in very small premature infants in response to bacterial pathogens. Infect-Immun 1992; 60: 749-753.
- 57) Girardin EP, Berner ME, Grau GE, Dayer JM, Roux-Lombard P, Suter S. Tumour necrosis factor in neonatal listeriosis: a case report. Eur J Pediatr 1989; 148: 644-645.
- 58) Girardin EP, Berner ME, Grau GE, Suter S, Lacourt G, Paunier L. Serum tumour necrosis factor in newborns at risk for infections. Eur J Pediatr 1990; 149: 645-647.
- 59) Miller LC, LoPreste SIG, Schaller JG, Dinarello CA. Neonatal interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6 and tumor necrosis factor: cord blood levels and cellular production. J Pediatr 1990; 117: 961-965.
- 60) Yuan S, Gi-kao S, Jiang-huai W, Shi-weng Q. Plasma levels of tumor necrosis factor during neonatal sepsis. J Pediatr 1992 (lett); 120: 831.
- 61) Groll AH, Meiser A, Weise M. Interleukin-6 as early mediator in neonatal sepsis. Pediatr Infect Dis 1992; 11: 496.