



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE LEVOSİMENDAN'IN
PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLER ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Elif DEDELER ERTANIDIR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANESTEZİYOLOJİ ve REANİMASYON ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. ATEŞ DUMAN

Konya-2023

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE LEVOSİMENDAN’NIN
PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLER ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Elif DEDELER ERTANIDIR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANESTEZİYOLOJİ ve REANİMASYON ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. ATEŞ DUMAN

Konya-2023

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22122033 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince anestezi ve yoğun bakım disiplinin temel değerlerini öğrendiğim, klinik dışında insani ilişkilerde ve akademik çalışmalarda da yol göstericim olan saygıdeğer hocalarım; başta tez danışmanım Prof. Dr. Ateş DUMAN olmak üzere, anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. İnci KARA, kliniğimiz öğretim üyelerinden Prof. Dr. Jale Bengi ÇELİK, Prof. Dr. Bahar ÖÇ, Prof. Dr. Oğuzhan ARUN, Prof. Dr. İbrahim Özkan ÖNAL, Doç. Dr. Faruk ÇİÇEKÇİ, Doç. Dr. Mehmet SARGIN, Doç. Dr. Mehmet Selçuk ULUER, Dr. Öğr. Üyesi Emine ASLANLAR, Dr. Öğr. Üyesi Yeşim Şerife BAYRAKTAR hocalarıma, tez sürecimde verdiği desteklerden ötürü Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Duygu ONMAZ, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üy. Muslu Kazım KÖREZ hocalarıma,

İhtisas sürem boyunca birçok güzel anıyı paylaştığımız asistan arkadaşlarıma, anestezi teknikeri arkadaşlarıma, ameliyathane, yoğun bakım, derlenme ünitesi hemşire ve personeline ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına,

Evlatları olmaktan her zaman gurur duyduğum, bu günlere gelmemdeki payları ifade edilemeyecek kadar büyük olan, her hedefime ulaşabilmem için maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, hayattaki en büyük şansım, kıymetli ailem, annem Şule DEDELER, babam Osman DEDELER ve kız kardeşim, birtanem Eda DEDELER'e ,

Hayatıma girdiği günden beri dünyamı güzelleştiren, varlığı ile yaşamıma ayrı bir anlam katan, hayat arkadaşım, kıymetli eşim Op. Dr. Mehmet ERTANIDIR'a,

Varlığını öğrendiğimiz günden beri hasretle beklediğimiz, kavuşacağımız günü iple çektiğimiz bebeğimize,

Bu süreçteki destek, sabır ve paylaşımları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Elif DEDELER ERTANIDIR

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Sepsis.....	3
2.1.1 Sepsis Tanımlamaları	3
2.1.2. Sepsis Epidemiyolojisi, Etiyolojisi ve Risk Faktörleri.....	11
2.1.3. Sepsis Patofizyolojisi	15
2.1.4. Sepsiste Sistemler ve Klinik.....	18
2.1.5. Sepsis Tedavisi.....	20
2.2.Sitokinler	24
2.2.1. IL-1 β	26
2.2.2. IL-6.....	26
2.2.3. IL-8.....	27
2.2.4. IL-17 A.....	27
2.2.5. Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1)	28
2.3. İlaçlar.....	30
2.3.1. Levosimendan	30
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	33
3.1. Deney Grupları ve Deney Protokolü	33
3.1.1 İlaçların Hazırlanması	33
3.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları	35
3.2.Değerlendirme Yöntemleri.....	38
3.2.1. Biyokimyasal Ölçümler.....	38
3.2.2. İstatiksel Değerlendirme	38
KAYNAKLAR	62

RESİM, ŞEKİL ve GRAFİK LİSTESİ

Şekil 1: Septik şok patogenezinin şematik açıklaması 17

Şekil 2 : Levosimendanin etki mekanizması 31

Resim 1 : Levosimendan'ın Kimyasal Yapısı 30

Resim 2: İlaçlar..... 34

Resim 3: İntraperitoneal Uygulama İçin Ayarlanmış Dozlar..... 34

Resim 4 : İntraperitoneal İlaç Uygulaması 35

Resim 5: İntrakardiyak Kan Alımı 36

Grafik 1 : Murine Sepsis Skalası Grupların 5.Saat Değerleri..... 39

Grafik 2 : Murine Sepsis Skalası Grupların 10.Saat Değerleri 40

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: SIRS Kriterleri	4
Tablo 2: Sepsis İçin Diagnostik Kriterler	6
Tablo 3: Sepsis İlişkili Organ Yetmezlik Skorlaması (SOFA)	8
Tablo 4 Quick-SOFA kriterleri	9
Tablo 5: NEWS SINIFLAMASI	9
Tablo 6 : MEWS Sınıflaması	10
Tablo 7 : Avrupa’da en çok görülen ilk 15 mikroorganizma ve yüzdeler.....	13
Tablo 8: İnflamasyondaki Rollerine Göre Bazı Sitokinler	25
Tablo 9: Uyarlanmış Murine Sepsis Skalası.....	37
Tablo 10: IL-1 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri	43
Tablo 11 : IL-1 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri.....	43
Tablo 12 : IL-1 İçin İkili Karşılaştırmalar-Grup İçi ve p Değerleri	44
Tablo 13 : IL-6 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri	45
Tablo 14 : IL-6 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri.....	46
Tablo 15 : IL-6 İçin İkili Karşılaştırmalar-Grup İçi ve p Değerleri	46
Tablo 16 : IL-8 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri	47
Tablo 17 : IL-8 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri.....	48
Tablo 18 : IL-8 İçin İkili Karşılaştırmalar- Grup İçi ve p Değerleri	48
Tablo 19 : IL-17 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri	50
Tablo 20 : IL-17 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri.....	50
Tablo 21 : IL-17 İçin İkili Karşılaştırmalar- Grup İçi p Değerleri.....	50
Tablo 22 : MCP-1 İçin Zaman, Grup ve Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri.....	52
Tablo 23 : MCP-1 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri	53
Tablo 24 : MCP-1 İçin İkili Karşılaştırmalar- Grup İçi ve p Değerleri.....	53
Tablo 25 : TNF- α İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri	55
Tablo 26 : TNF- α İçin İkili Karşılaştırmalar-Gruplar Arası ve p Değerleri	55
Tablo 27 : TNF- α İçin İkili Karşılaştırmalar-Grup İçi ve p Değerleri	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C: Santigrad Derece

ABY: Akut Böbrek Yetmezliği

ACCP: American College of Chest Physicians

AKIN: Acute Kidney Injury Network

ARDS: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

Ca: Kalsiyum

cm: Santimetre

DAMP: Damage-associated molecular patterns

dk: Dakika

dl: Desilitre

DSÖ: Dünya sağlık örgütü

ESICM: European Society of Intensive Care Medicine

FiO₂: Fraksiyone İnspratuvar Oksijen Konsantrasyonu

HIC: yüksek gelirli ülkeler

IL: İnterlökin

ip: İntraperitoneal

kg: Kilogram

LPS: Lipopolisakkarit

LBP: Lipopolisakkarit bağlayan protein

LMIC: Düşük ve orta gelirli ülkeler

mg: Miligram

ml: Mililitre

mmHg: Milimetre Civa

MAB: Ortalama Arteriyel Basınç

MODS: Çoklu Organ Disfonksiyon Sendromu

MEWS: Modified Early Warning Score

NEWS: National Early Warning Score

ng: Nanogram

PAMP: Patojen İlişkili Moleküler Patern

PaO₂: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı

PEEP: Positive end-expiratory pressure

PIRO: predisposition, infection, response, organ dysfunction

q-SOFA: quick-SOFA

RRT: Renal Replasman Tedavisi

SCCM: Society of Critical Care Medicine

SIRS: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu

SKB: Sistolik Kan Basıncı

sn: Saniye

SOFA: Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assesment

SSC: Surviving Sepsis Campaign

TGF: Transforming Growth Faktör

TH: Yardımcı T Lenfosit

TLR: Toll Benzeri Reseptörler

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü Alfa

YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Sepsis, enfeksiyona karşı aşırı konak yanıtının neden olduğu, yaşamı oldukça tehdit eden, hatta mortal seyreden, tekli veya çoklu organ işlev bozukluğu olarak tanımlanır. Sepsiste, istilacı bir patojen tarafından başlatılan bağışıklık tepkisi, homeostaziye geri dönemez ve böylece sürekli aşırı iltihaplanma ve bağışıklık baskılanması ile karakterize edilen patolojik bir sendromla sonuçlanır. (1) Özellikle yoğun bakım ünitelerinde önemli mortalite nedenlerinden biridir. Bu sebeple sepsise bağlı mortaliteyi azaltacak etkin bir tedavi, halk sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir.

LPS, sepsis ve septik şokta en yaygın mikrobiyal aracıdır. LPS, gram-negatif bakterilerin dış zarının temel bileşenidir. Konak hücreler LPS'yi tanıdıktan sonra, proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakırlar. Pro- ve anti-inflamatuvar mediatörler arasında bir dengesizlik meydana gelirse, inflamatuvar yanıtlar düzensizleşerek sepsis gelişimine yol açar. (2) Sitokin fırtınası, damar permeabilitesindeki artış, doku perfüzyonunun bozulması, koagülopati, vazodilatasyon, endotel disfonksiyonu sepsis patofizyolojisinin temelini oluşturmaktadır. (3)

Oldukça karmaşık olan sepsis patofizyolojisini açıklayabilmek ve oluşturduğu anormal inflamatuvar yanıtı baskılayabilmek için etkin ajanlar olmadığı için, sepsis yüksek morbidite ve mortalite oranına sahip olmaya devam etmektedir. Bu sebeple sepsisin önlenmesi ve tedavi edilebilmesi sağlık hizmetlerinin maliyetinin azaltılması için de oldukça önemlidir.

Levosimendan akut dekompanse konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılan bir kalsiyum duyarlılaştırıcısıdır. Genel olarak, ilacın iki yönlü bir etki mekanizması vardır. Troponine bağlanırken kalsiyum duyarlılığını artırarak daha fazla inotropik etkiye yol açar ve bu daha büyük bir pozitif inotropik kuvvet ile sonuçlanır. Ayrıca, ilaç vasküler düz kas hücrelerinde ATP'ye duyarlı potasyum kanallarını açabilir ve ilacın damar üzerindeki dilatasyon etkileri, kalbe daha az iş yükleyerek ön yükün ve ard yükün azalmasına neden olur. Kardiyak etkisinin yanı sıra son yıllarda çalışmalar levosimendanın antiinflamatuvar etkileri de olduğu yönündedir. (4)

Uzun zamandır sepsis patogenezini açıklayabilmek için deneysel hayvan modellemeleri ile pek çok çalışma yapılmaktadır. Oldukça sık kullanılan yöntem, LPS enjeksiyonu ile sepsisi taklit eden sistemik enflamasyon oluşturmaktır.

Biz bu deneysel çalışmada ratlarda bakteriyel LPS ile deneysel sepsis modeli oluşturarak, iki farklı dozda uygulanan levosimendanın sepsisin patofizyolojisinde önemli yer tutan proinflamatuvar sitokin üretimi ve salgılanması üzerine kısa dönemdeki etkilerini incelemeyi hedefledik.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Sepsis

Sepsis günümüzdeki tanımlamasını alana kadar ‘yaygın enfeksiyon’ olarak tanımlanmış, hastane ve yoğun bakımlardaki en önemli mortalite ve morbidite nedeni olmadan önce de tıp alanında oldukça ciddi bir durum olarak değerlendirilmiştir.

Eskiden Yunancada; ‘organik maddelerin bakterilerce yıkılması’ anlamına gelen kökenden türemiştir. Sepsisin çağlar önceki kullanımına Homeros’un şiirlerinde rastlanmaktadır. MÖ 460-370 yıllarında ‘ağ örgüsünün bozulması’ anlamında Hipokrat tarafından da kullanılmıştır. Sepsis 2500 yıldır birbirine benzeyen anlamlarla kullanılagelmiştir. (5)

Van Leewenhoek 1674 yılında canlı bakterilerle ilgili gözlemlerini gerçekleştirmiştir ancak hastalık-etiyoloji-patogenez arasındaki bağlantı anlamlandırılmamıştır. Hugo Schottmuller tarafından 1914 yılında sepsisin güncel tanımının temeli atılmıştır. Hastalığın ana nedeninin enfeksiyon varlığı olduğunu ortaya atan ilk bilim adamı olmuştur.(6)

Semmelweis el hijyeninin puerperal sepsisi önlediğini savunmuştur. Lister cerrahi yaralara karboksilik asit pansumanı ile operasyon sonrası sepsisin ciddi oranda azaldığını savunarak antisepsiyon ve dezenfeksiyon kavramlarının temelini oluşturmuştur. Ludwig Brieger ekzotoksinleri, Richard Pfeiffer endotoksinleri 1900’lü yılların başında tanımlamıştır.(7)

1932 yılında nötrofil ve makrofaj migrasyonunun antijen aracılı inhibisyonu, sitokinlerle ilgili bilinen ilk çalışmadır. Rich ve Lewis’in öncülük ettiği bu çalışmalar ilerleyen yıllarda artarak , yeni tanımlanan molekülleri de kapsayan bir kavram olarak sitokin adı ile 1980 ‘li yıllarda Cohen tarafından adlandırılmıştır.(8)

Antibiyotik kullanımı ve aşılama ile sepsisi önlemek ve tedavi etmek mümkün olsa da günümüzde de halen daha ciddi bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir.

2.1.1 Sepsis Tanımlamaları

Bugünkü sepsis tanımının başlangıcı, 1914’te Schottmueller’in patojenin dolaşımında bulunmasının sistemik semptomların nedeni olduğunu ileri sürmesi ile başlamıştır.1920’li yıllarda Schwartzman reaksiyonunun tanımlanması ile konağa ait faktörler ortaya atılmış , sepsisin sistemik bir cevap olarak adlandırılmasının

temelleri atılmıştır.(9) ‘American Collage of Chest Physicians ‘ ve ‘ Society of Critical Care Medicine ‘ tarafından 1991 yılında bir konferans düzenlenmiş ve bazı tanımlamalar yapılmıştır. Bu toplantıda septisemi, septik sendrom gibi spesifik olmayan ifadelerin kullanılmaması, enfeksiyon, bakteriyemi sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), sepsis, şiddetli sepsis, septik şok, sepsise bağlı hipotansiyon, MODS gibi terimlerin kullanılmaları 1992 yılında yayımlanmıştır.(10)

Sepsis ‘konağın enfeksiyona karşı gösterdiği kontrolsüz sistemik inflamatuvar cevap’ olarak tanımlanır. Uzlaşma toplantısına göre aşağıdaki kriterlerden iki veya daha fazlasının olması ile sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) tanısı konulabilir.

SIRS: Bir dizi ciddi enfeksiyöz veya non enfeksiyöz klinik duruma karşı sistemik inflamatuvar yanıt.

Tablo 1: SIRS Kriterleri

SIRS TANI KRİTERLERİ
1. Lökosit sayısının $<4000 /\text{mm}^3$ veya $>12.000/ \text{mm}^3$ olması veya normal lökosit sayısına karşın $>\% 10$ immatur band form görülmesi
2. Vücut sıcaklığının $<36 ^\circ\text{C}$ veya $> 38^\circ\text{C}$ ölçülmesi
3. Solunum sayısının $>20/ \text{dakika}$ veya $\text{PaCO}_2 <32 \text{ mmHg}$ olması
4. Kalp hızının >90 atım/dakika olması

Sepsis: Enfeksiyona sistemik inflamatuvar yanıt. Enfeksiyon varlığı ve SIRS birlikteliği olarak tanımlanır.

Sepsise Bağlı Hipotansiyon: SKB’nin $< 90 \text{ mmHg}$ olması veya hipotansiyonu açıklayacak bir neden olmamasına karşın SKB ‘de başlangıca göre 40 mmHg ’dan fazla azalma görülmesidir.

Ciddi sepsis: Sepsisle birlikte sepsis kaynaklı organ disfonksiyonu, hipotansiyon veya doku perfüzyonunun bozulmasıdır. Bunlar; laktik asit artışı, oligüri, akut mental durum değişiklikleridir. Ancak bu tanımlama artık kullanılmamaktadır.

Septik Şok: Yeterli sıvı resusitasyonuna rağmen doku hipoperfüzyonu bulguları ile birlikte sepsise bağlı hipotansiyon durumudur. (MAB < 65 mmHg, serum laktat düzeyinin 2 mmol/L'den yüksek bulunması)

Çoklu Organ Disfonksiyon Sendromu (MODS): Organ fonksiyonlarının homeostazisinin ekstrinsik bir müdahale olmadan sürdürülemeyecek boyutta bozulması tablosudur.

2001 yılında “Uluslararası Sepsis Tanımlamaları Konferansı” düzenlenmiştir, alınan kararlar 2003 yılında yayınlanmıştır. Bu uzlaşi konferansında, SIRS kriterlerinin genişletilmiş halinde olan ve klinik bulgulara ek olarak biyokimyasal parametreleri, anormal laboratuvar ve organ disfonksiyon bulgularını da içeren ‘sepsis için diagnostik kriterler ‘ belirtilmiştir. (11) (Tablo 2)

Tablo 2 : Sepsis İçin Diagnostik Kriterler

Şüpheli veya kesin enfeksiyon ile beraber aşağıdaki bulgulardan bazıları
GENEL KRİTERLER
· Vücut sıcaklığı > 38.3°C veya < 36°C
· Kalp hızı > 90 atım/dk veya yaşa göre normalin 2 SS üstü
· Takipne
· Mental durum değişikliği
· Belirgin ödem veya pozitif sıvı balansı (24 saatte > 20ml/kg üzerinde)
· Non- diyabetik hastalarda hiperglisemi (plazma glikozu >120 mg/dl)
HEMODİNAMİK KRİTERLER
· Arteriyal hipotansiyon (SKB <90 mmHg, OAB<70 mmHg olması, erişkinde SKB 'ında > 40 mmHg düşüş veya yaş için normal olanın 2 SS altı)
· Miks Venöz Oksijen Satürasyon değeri (SvO2) >%70
· Kardiyak indeks <3,5 L/dk/m2
İNFLAMATUAR KRİTERLER
· Lökositoz (lökosit sayısı > 12.000 μ L/1)
· Lökopeni (< 4000 μ L/1)
· Normal Lökosit sayısına rağmen >% 10 non-matur band form görülmesi
· Plazma C-reaktif protein normalinin 2 SS üstü
· Plazma prokalsitonin normalinin 2 SS üstü
DOKU PERFÜZYON KRİTERLERİ
· Laktat yüksekliği (>1 mmol/L)
· Kapiller dolumda azalma veya mottling oluşumu
ORGAN DİSFONKSİYONU KRİTERLERİ:
· Arteriyel oksijen düşüklüğü (PaO ₂ /FiO ₂ <300)
· Akut oligüri (yeterli sıvı verilmesine karşın en az 2 saat idrar miktarının 0,5 mL/kg/saat'in altında olması)
· Kreatinin yükselişi (>0,5 mg/dl)
· Koagülasyon anormallikleri (INR >1,5 veya aPTT >60 sn.)
· İleus
· Trombosit düşüklüğü (<100.000 /mm ³)
· Bilirubin yüksekliği (plazma total bilirubin >4 mg/dl)
SS: Standart Sapma, OAB: Ortalama Arteriyel Basınç, SKB: Sistolik Kan Basıncı, SvO2: Miks Venöz Oksijen Saturasyonu, PaO ₂ : Arteriyel Oksijen Basıncı, FiO ₂ : Fraksiyone İnspiratuar Oksijen Konsantrasyonu

Bu konferansta, sepsis ve şiddetli sepsis tanımlamaları büyük oranda aynı kalmış, 1991 yılındaki tanımlamalardan farklı olarak hastada kesin enfeksiyon varlığı yanında sistemik inflamatuvar yanıt bulguları varsa sepsis tanısı şiddetle düşünülmeli vurgusu yapılmıştır. Septik şok için 'başka bir nedenle açıklanamayan inatçı arteriyal hipotansiyon ile seyreden akut dolaşım bozukluğu' tanımlaması yapılmıştır. "Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen SKB 'nin 90 mmHg altında olması , OAB 'nin 60 mm Hg 'dan düşük veya sistolik kan basıncının ilk ölçüme göre 40 mmHg azalması" "hipotansiyon" olarak tanımlanmıştır.

"Sepsis İçin Diagnostik Kriterler" listesinde sistemik inflamasyon klinik özellikleri yanında biyokimyasal ve immünolojik belirteçler yer almaktadır. İnflamatuvar yanıtı düşündürecek klinik bulgulardan çok bu belirteçlerin faydalı olabileceği belirtilmiştir. Endokrin parametrelere ve organ disfonksiyonunu düşündüren belirteçlere dikkat edilmiştir. Erken tanıya varmada, yatak başı bile fark edilebilecek organ disfonksiyon bulgularının fark edilmesinin önemi vurgulanmıştır. Bu listedeki kriterlerin hiçbirisi sepsise spesifik değildir. Bu konferansta güncel olarak kullanılmayan "PIRO EVRELEMESİ" ne de değinilmiştir.

Sepsis tanımlamasına duyulan ihtiyaç ve yıllardır devam eden bilgi birikimi ve aktarımının güncellenmesi amacıyla 2014 yılında "Society of Critical Care Medicine" ve "European Society of Intensive Care Medicine" dernekleri tarafından alanında önde gelen 19 hekim bir araya getirilmiştir. 2014 ve 2015 yıllarında aralarında bir konsensus oluşturarak bu kararlar yayımlanmış ve son hali "Sepsis-3" adı ile 23 Şubat 2016'da yayınlanmıştır.(12) Son tanımlamanın yapıldığı yayın "Sepsis-3" adını aldığından 1991 ve 2001 'de yayınlanan sepsis uzlaş toplantıları "Sepsis-1" ve "Sepsis-2" olarak adlandırılmıştır.

Sepsis-3; sepsis tanımlamalarına yönelik en güncel kılavuz olarak kabul edilmektedir.1992 yılından beri tanımda yer alan SIRS, sepsis tanımlamasından çıkarılmıştır. Konağın var olan enfeksiyona karşı bozulmuş, düzensiz tepkisi sonucu yaşamı tehdit eden organ fonksiyon bozukluğu olarak bildirilmiştir. 2015 yılında yapılan bir çalışmada SIRS tanımına uygun olmayan hastalar; çalışmaya dahil edilen tüm hastaların %12 'sini oluşturduğundan ;sepsis tanımlamasındaki SIRS kavramı önemini yitirmeye devam etmiştir.(13) (Tablo 3) Klinik anlamlılık için sepsiste organ disfonksiyonu önem arz ettiğinden ; Sequential (Sepsis- related) Organ Failure

Assesment (SOFA) skorunda akut olarak 2 ve üzeri artışın ,sepsiste klinik tanı kriteri olduğu ifade edilmiştir.(Tablo-3) (14)

Tablo 3: Sepsis İlişkili Organ Yetmezlik Skorlaması (SOFA) (14)

SOFA SKORU		0	1	2	3	4
SOLUNUM	P/F (mmHg)	>400	<400	<300	<220	<100
KOAGÜLASYON	Trombosit	>150	<150	<100	<50	<20
KARACİĞER	Bilirubin (mg/dl)	<1.2	1.2-1.9	2-5.9	6-11.9	>12
KARDİYOVASKÜLER	MAP	>70	<70	Dop. ≤ 5 veya Dob.*	Dop. >5/ NA ≤ 0.1 / Ep. $\leq 0.1^*$	Dop. >15 NA >0.1 Ep. >0.1*
SSS	GKS	15	13-14	10-12	6-9	<6
RENAL	Kreatinin (mg/dl) veya idrar çıkışı (ml/gün)	<1.2	1.2-1.9	2-3.4	3.4-4.9 veya <500	>5 veya <200
*: En az 1 saattir $\mu\text{g/kg/dk}$ dozunda vazodilatör ajan desteğinin olması						

SOFA skoru tek başına sepsis tanısı koydurmaz, organ disfonksiyonunun var olan enfeksiyona bağlı olup olmadığını tanımlamaz, enfeksiyon sebebiyle mortalitesi yüksek olabilecek hastaların farkındalığını artırır. Kişisel tedavi rejimleri hakkında yol gösterici değildir, altta yatan duruma bağlı mortalite oranını tahmin edemez.

Acil servise gelip ardından servise yatış endikasyonu verilen hastalar arasında sepsis şüphesi olduğunda erken tanı için “quick-SOFA” (qSOFA) kullanımı önerilmiştir. (15) qSOFA yatak başı yapılabilen bir klinik skorlamadır. Bu skorlama; mental durum değişikliği, solunum sayısının 22/dk’dan fazla olması ve sistolik kan basıncının 100 mmHg altında olması şeklinde 3 kriter ile tanımlanmıştır. Buna göre şüpheli veya ispatlanmış enfeksiyon varlığında bu kriterlerden en az 2’si var ise sepsis kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. (Tablo-4).

Tablo 4: Quick-SOFA kriterleri

Solunum sayısı $\geq 22/\text{dk}$
Mental bozukluk GKS ≤ 13
Sistolik kan basıncı $\leq 100 \text{ mmHg}$

2016 yılında yoğun bakım ünitesi dışında sepsis olduğu şüphelenilen hastalarda en faydalı ve kullanılabilir yöntem olarak değerlendirilen qSOFA; günümüzde de sepsis ve sepsise bağlı mortalite riskini tahmin etme konusunda yol göstericiliğini korumaktadır. Aslında qSOFA bir teşhis aracı değil, sepsis kaynaklı mortaliteyi tahmin etmemizi sağlayan bir ön uyarıcı olarak pratikte kullanılmaktadır. qSOFA; klinisyenleri olası organ disfonksiyonu veya enfeksiyöz durum ihtimali için uyarmak, hastaya uygun tedavi planını oluşturmak için kullanılır. Ancak qSOFA'nın henüz yeterli prospektif incelemesinin olmadığı unutulmamalıdır.

Son yıllarda erken sepsis tanımlayıcılarından NEWS (National Early Warning Score) sınıflaması da yaygın olarak kullanılmaktadır. Altı parametrenin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen NEWS Skoru, sepsis riski ile ilgili bilgi vermektedir. (Tablo 5) (16)

Sınıflamaya göre; 0-4: düşük risk, 5-6: orta risk, 7 ve üstü: yüksek risk olarak değerlendirilmektedir.

Tablo 5: NEWS SINIFLAMASI (16)

PARAMETRELER	3	2	1	0	1	2	3
Solunum Sayısı(dk)	≤ 8		9-11	12-20		21-24	≥ 25
O2 Saturasyonu(%)	≤ 91	92-93	94-95	≥ 96			
Sistolik Kan Basıncı	≤ 90	91-100	101-110	111-219			≥ 220
Nabız (dk)	≤ 40		41-50	51-90	91-110	111-130	≥ 131
Ateş (°C)	≤ 35		35.1-36	36.1-38	38.1-39	≥ 39.1	
Mental Durum				U			S,A,Y

NEWS Sınıflaması, U: uyanık, S:sese tepki verme, A:ağrıya yanıt verme, Y: yanıtız

Dr. Mitchell Levy, sepsisin tanısı ve evrelemesi için; predispozan koşullar ışığında, hasarın orijini, yaygınlığı, host yanıtın tipi ve boyutu, eşlik eden organ disfonksiyonunun derecesine göre sınıflama sağlayan varsayıma dayanan yeni bir model öne sürmüştür. PIRO adını verdiği bu modelle gelecekte klinisyenlerin sepsisin evrelemesini daha kolay yapabileceklerini belirtmiştir. PIRO sistemi, sepsisin sınıflandırılmasında kullanılan bir model olmaktan ziyade, gelecek araştırmalar için önerilen ve üzerinde çalışılması gereken faydalı bir modele sahiptir. Bu modelin detaylandırılması, sepsisin doğal gelişiminin ayrıntılı bir şekilde ele alınmasını ve sadece kötü sonuca neden olabilecek değişkenlerin değil, tedavide yanıt sağlayabilme etkisine neden olabilecek değişkenlerin de değerlendirilmesini gerektirmektedir. PIRO sistemi sayesinde, sepsis ilerlemesinin daha objektif kriterlerle evrelendirilmesi gelecekte mümkün olabilecektir.

NEWS gibi MEWS (Modified Early Warning Score) de yeni sınıflamalardandır. (Tablo 6) (16)

Sınıflamaya göre; 0-3: yakın takip, 4-5: 30dk'dan kısa sürede konsülte edilmeli, 6 ve üstü: 10 dk'dan daha kısa sürede konsülte edilmeli, hızla monitörize edilmeli.

Tablo 6 : MEWS Sınıflaması (16)

PARAMETRELER	3	2	1	0	1	2	3
Solunum Sayısı(dk)		≤ 8		9-14	15-20	21-29	29
Kalp Hızı(dk)		≤ 40	41-50	51-100	101-110	111-129	129
Sistolik KB (mmHg)	≤ 70	71-80	81-100	101-199		≥ 200	
İdrar Çıkışı (ml/kg-h)	0	≤ 0.5					
Ateş (°C)		≤ 35	35.1-36	36.1-38	38.1-38.5	≥ 38.6	
Mental Durum				U	S	A	Y

MEWS Sınıflaması, U: uyanık, S:sese tepki verme, A:ağrıya yanıt verme, Y: yanıtsız

Her ne kadar dünya genelinde bir fikir birliği oluşmasa da ‘sepsis-3 ‘ tanımları güncel olarak biz klinisyenlere tanı koymada ve yapılacak çalışmalarda bir

standardizasyon oluşturabilmeyi hedeflemiştir.’ sepsis-1 ve sepsis-2 ‘ tanımlarını kullanmaya devam eden merkezler de bulunmaktadır.

2.1.2. Sepsis Epidemiyolojisi, Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

Herhangi bir ülkede sepsisin gerçek insidansı bilinmemektedir. Bildirilen insidans, kullanılan spesifik tanıma, enfekte eden organizmaya, raporlama mekanizmasına (Uluslararası Hastalık Sınıflandırması-9 kodlama sistemlerinin kullanımı gibi) ve organ desteği veya yoğun bakım gereksinimine bağlıdır. Bu faktörler, tahminler ve ayrı coğrafi konumlar arasında belirgin farklılıklara neden olur. Sepsis insidansını açıklayan verilerin çoğu, yılda 2.8 milyon ölümün sepsise atfedilebildiği yüksek gelirli ülkelere alınmıştır. (17) Yüksek gelirli ülkelere (HIC) hastanede yatan hastalarla ilgili geniş retrospektif çalışmalardan kaynaklanmaktadır. Bu, büyük ölçüde, taburculuk tanıları veya sepsis kodlamasına ilişkin retrospektif verilerin güvenilirliğinden kaynaklanmaktadır. Düşük gelirli ve orta gelirli ülkelere (LMIC'ler) özellikle dikkat çekilerek küresel sepsis insidansının bir meta-analizinde, hastanede tedavi edilen erişkin sepsis insidansı 100.000 kişi başına 189 vakaydı.(18) Otörler, enfeksiyon hastalıklarının daha fazla yükü , enfeksiyon önleme ve sepsis tedavisi için sınırlı kaynaklar nedeniyle sepsis epidemiyolojisinin LMIC'lerde muhtemelen daha yüksek olduğunu iddia etmektedir. 2001'de Angus ve arkadaşları ABD'de şiddetli sepsis oranının yılda 750.000 vakayı geçtiğini, bu da her 100 hastaneden taburcu olan başına 2.26 vakaya eşdeğer olduğunu bildirmiştir. (19) Birleşik Krallık'ta, yoğun bakım ünitesi kaynaklı kohortlarda bildirilen sepsis yaygınlığı, total yoğun bakım yatışlarının %27'si iken Amerika'da yaygınlık %12'dir.(20) Bu fark kısmen ABD'de Birleşik Krallık'takinden önemli ölçüde daha fazla sayıda YBÜ yatağı bulunması ve dolayısıyla farklı triyaj modelleri ve kabul kriterleri ile açıklanabilir. Dünya çapında göğüs enfeksiyonlarından kaynaklanan ölümlerin tahmini %90'ının düşük gelir kaynaklı ülkelere meydana geldiğini gösterilmiştir; yenidoğanlarda ve bebeklerde göğüs enfeksiyonlarına bağlı 9 milyon ölümün yaklaşık %70'i sepsis kökenlidir ve vakaların çoğu Asya ve Afrika'da görülür. (21)

Sepsis, halihazırda başka sebeplerden (örn. ölümcül kanser) dolayı genel durumu kötü olan hastalarda ölümcül bir olay olabilir. Bu gerçeği, hastane servislerinde ve yoğun bakım ünitelerinde yaşlı ve zayıf hastaların

kabulünün artması bağlamında ve sepsisten ölüm oranlarının ne ölçüde azaltılabileceğine dair beklentilerimizi değerlendirirken özellikle hatırlamak önemlidir. Sepsis kaynaklı temel ölüm oranının, sendromun doğasının bir parçası olması çok muhtemeldir ve durumu anlamak, tanımak ve tedavi etmek için elimizden gelenin en iyisini yapmamıza rağmen, pratikte ölüm oranlarının sıfıra düşmesini beklemek mantıksızdır.

Son Dünya Sağlık Asamblesi ve DSÖ'nün sepsis hakkındaki kararı gibi olumlu gelişmelerin sepsisin küresel bir öncelik olarak farkındalığını artıracak ve sepsisin önlenmesi, tanınması ve tedavisinin dünya çapında gelişeceği umulmaktadır.

Etiyoloji

Sepsis, neredeyse tüm bulaşıcı organizmalardan kaynaklanabilir. Bu nedenle, sendromun sunum aralığı çok geniştir ve coğrafi bölgeler arasında önemli ölçüde farklılık gösterir.

Sepsis, toplum kaynaklı veya hastanede ya da başka bir sağlık kuruluşunda kalmaktan kaynaklanabilir. Hastanede tedavi edilen sepsis vakalarının yaklaşık %80'i toplumda ortaya çıkar. Sepsise yol açan en yaygın enfeksiyon bölgesi akciğerdir (vakaların %64'ü), ardından batın (%20), kan dolaşımı (%15) , böbrek ve genitoüriner yollar (%14) bu sıralamayı izler.(22)

Mikroorganizmaların sepsise sebebiyet vermesi zamanla değişiklik göstermiştir.1980'lerden beri gram pozitif bakteriler, negatiflere göre daha sık etken olmaktadır. Fungal sepsis oranı da son yıllarda artış eğilimindedir.(candida sepsisi) Çoğu sepsis hastasının kan kültüründe üreme saptanamayabilir. Bu oranlar sepsis evresiyle değişmekte olup, sepsiste % 17, ciddi sepsiste % 25 ve septik şokta ise % 69 'dur .(23)

'The sepsis Occurrence in Acutely III Patients' (SOAP) çalışması, sepsisli hastalarda Gram pozitif ve Gram negatif bakteriyel enfeksiyonların neredeyse eşit prevalansını bildirdi. (22)

Staphylococcus aureus (Gram-pozitif) ve Pseudomonas türleri ve Escherichia coli (Gram-negatif) en sık tanımlanan organizmalardır. Ancak 2012 Intensive Care Over Nations araştırmasına göre, Amerika'da Gram negatif bakteriyel enfeksiyonlar, Gram pozitif bakteriyel enfeksiyonlara göre daha siktir. (24)

Tablo 7 :Avrupa’da en çok görülen ilk 15 mikroorganizma ve yüzdeleri

Mikroorganizma	Görölme Yüzdesi %
Escherichia coli	20.0
Staphylococcus aureus	17.6
Koagülaz negatif stafilokoklar	17.1
Pseudomonas aeruginosa	5.3
Klebsiella pneumoniae	4.7
Enterococcus spp.	4.3
Enterobacter spp.	3.9
Candida spp.	2.8
Acinetobacter spp.	2.6
Viridans streptokoklar	2.5
Streptococcus pneumoniae	2.3
Proteus mirabilis	1.7
Serratia spp.	1.6
Klebsiella oxytoca	1.1
Salmonella spp.	1.1

Risk Faktörleri

Sepsis gelişimi için bildirilen risk faktörlerinin çoğu, hastanın enfeksiyona yatkınlığına odaklanmıştır. İleri yaşlı veya çok genç yaş, bağışıklık sistemini baskılayan hastalıklar (örneğin, AIDS), kanser, bağışıklık sistemini baskılayan ilaçlar, diyabet, alkol kötüye kullanımı, kalıcı kateterler veya deri bütünlüğünün bozulduğu diğer durumların tümü, yoğun bakıma yatış öyküsü, parenteral beslenme, üriner / intravasküler kataterizasyon, diyaliz alma, uzamış entübasyon hastaları enfeksiyona yatkın hale getirir.(25) Hastaların komorbiditeleri ve genetik faktörler de risk faktörüdür. Konak genetiği de sepsis oluşma riskini ve sepsisin gidişatını etkilemektedir.

Çok sayıda çalışma, tek nükleotid polimorfizmlerinin enfeksiyon ve sepsis gelişimindeki etkisini incelemiştir. En çok çalışılan polimorfizmler, tümör nekrozis faktör α 'yı ve Toll benzeri reseptörleri içerenlerdir. (26) (27) Bir bireyin genetik profiline dayalı olarak sepsis için kişiselleştirilmiş tedavi henüz elde edilemese de, bu araştırma alanı büyümeye devam edecek ve gelecekte tedaviye yönelik bireyselleştirilmiş yaklaşımlar mümkün olacaktır.

Enfeksiyon ve Sepsis İçin Tanımlanan Risk Faktörleri:

- Genetik faktörler
- 65 yaş üzerinde olmak
- Daha önce hospitalize olmak bilhassa antibiyoterapi alan hastalarda değişmiş bir flora olduğu düşünülmektedir, hospitalizasyonun ilk 3 ayı içinde 3 kat artmış sepsis riski bulunmaktadır. (28)
- Yoğun bakım ünitesine yatış; nazokomiyal enfeksiyon ihtimali yüksektir . (29)
- İmmüsupresyon: immün bozukluk durumları (AIDS, malignite, immün yetmezlik tabloları, splenektomili hasta, karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalar). (30)
- Diyabet ve obezite; sepsise sebep olan sık tekrarlayan nazokomiyal ve sekonder enfeksiyonlara sebebiyet vermektedir. (31)
- Toplum kökenli pnömoni. (32)
- Bakteriyemi; bu hastaların % 55'inde SIRS izlenirken, sepsis % 45 oranında, ağır sepsis % 5 ve septik şok % 5'den daha az hastada görülür. (33)

2.1.3. Sepsis Patofizyolojisi

Sepsisin fizyopatolojisi oldukça karmaşıktır ve birçok faktörden etkilenmektedir. Enfeksiyon hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar süreci tetikler. Bu etkilerle vücut dış faktörlerden arındırılırken aynı zamanda doku hasarı ve organ disfonksiyonu da meydana gelebilir. (34)

Enfeksiyon kaynağından, sistemik dolaşıma geçen mikroorganizmalar veya ürünleri bakteriyemiye sebep olurlar. Ancak dolaşıma geçen bu maddeler sepsis oluşumu için tek başlarına yeterli olmadığı gibi, önemli olan konakçının vereceği immun cevaptır.

Patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP), zararlı mikroorganizma ürünleri olarak adlandırılır ve bağışıklık sistemi tarafından algılanarak immun yanıtı neden olurlar. (35)

Endotoksin, proteazlar ve ekzotoksinler, sepsis oluşumunda etkin rol oynayan patojen ilişkili moleküler kalıplar arasındadır ve gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunurlar. Bu moleküler kalıplar arasında en güçlü etkili yapı gram negatif bakteri ürünü olan lipopolisakkarittir (LPS).

LPS (lipopolisakkarit), gram negatif bakterilerin hücre duvarlarının en dış kısmında bulunan bir moleküldür. O-antijen, lipid-A ve kor polisakkaridinden oluşur. Lipid-A kısmı, doymuş yağ asitlerinden oluşur ve sepsis gibi şok, yüksek ateş gibi belirtilere neden olan asıl endotoksin özelliğini gösterir. LPS ayrıca nötrofil ve makrofajlardan sitokin salınımını da indükleyebilir.

Gram-pozitif bakterilerde endotoksin bulunmaz. Bunun yerine, hemolizinler, lipoteikoik asit, ekzotoksinler, enterotoksinler ve peptidoglikanlar gibi yapılar gram-pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunur. Bu yapılar, septik süreci başlatmak için konak hücrelerde LPS bağlayıcı protein (LPB) ve plazma membranının dış kısmında bulunan CD14 reseptörleri gibi proteinlerin varlığına ihtiyaç duyar. (36) CD14'ün hücre membranında bulunan mCD14 versiyonunun yanı sıra, dolaşımda bulunan sCD14 versiyonu da vardır. CD14 reseptörünü hücre yüzeyinde bulundurmayan hücreler, örneğin dentrik hücreler, düz kas hücreleri ve fibroblastlar, sCD14 ile etkileşime girerek LPS tarafından uyarılabilirler. (37) CD14 reseptörlerinin varlığı, immun sistemin LPS'ye karşı tepkisinin daha net anlaşılmasını sağlamıştır. Ancak, mCD14 reseptörlerinin hücre içine herhangi bir etkisi tespit edilememiştir. Bu nedenle, LPS-LBP kompleksinin hangi yolları kullanarak aktivasyon oluşturduğu,

toll-like reseptörler (TLR) keşfedilene kadar anlaşılamamıştır. Toll-like reseptörleri hakkında yapılan araştırmalar kısa sürede yoğunlaşmış ve birçok TLR bulunarak bu reseptörlerin etkileri tanımlanmıştır. Örneğin, TLR-4 LPS'ye ait sinyalleri tanırken, TLR2 ise gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yapılarını tanıyan reseptördür. (36)

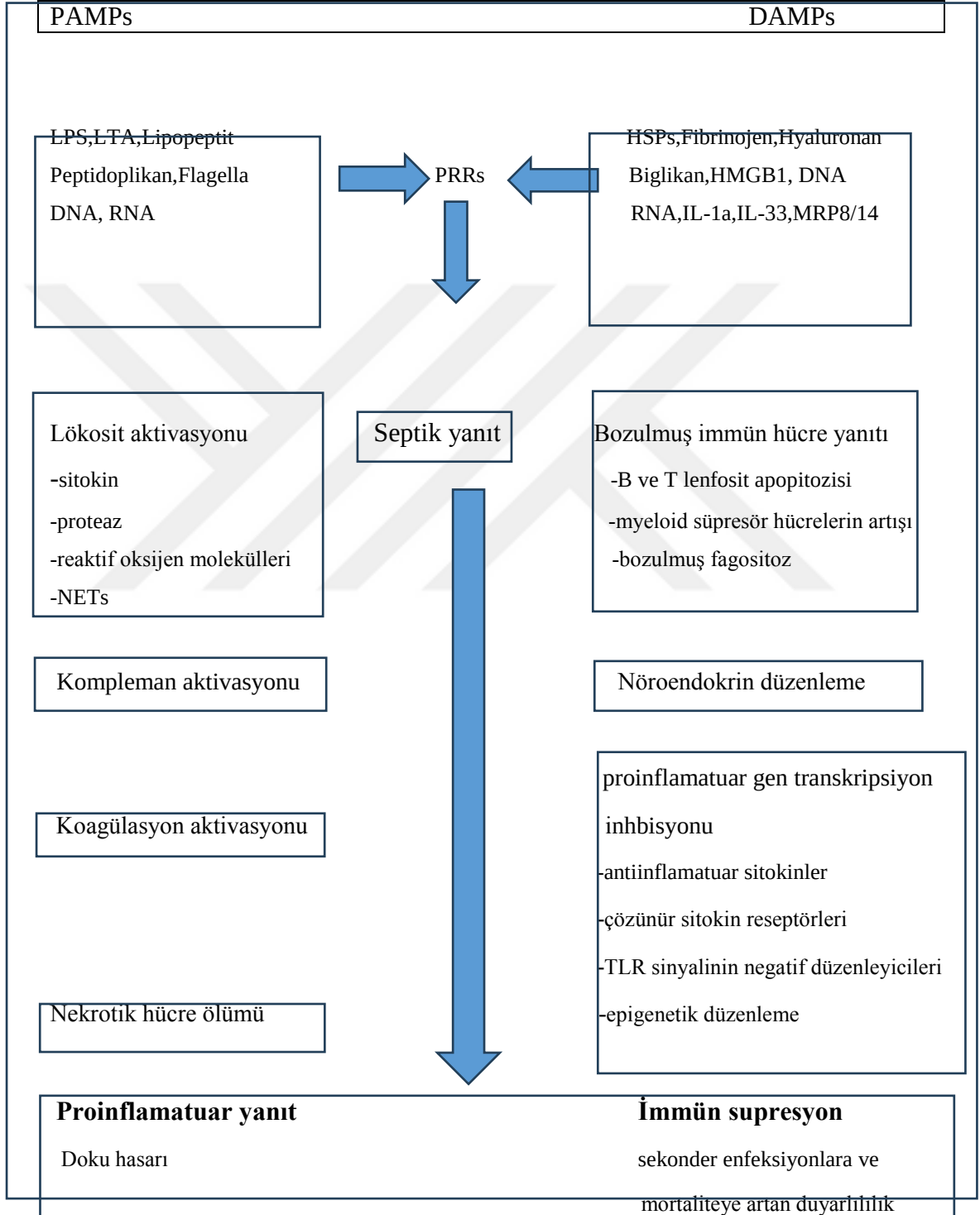
Bakteriyemi oluşumunu takiben, endotoksin, ekzotoksin ve antijenik yapılar, CD14 reseptörüne bağlanarak mononükleer fagosit sistem hücrelerini uyarır. Bu uyarım sonucunda, fagosit sistemin hücrelerinden olan monositler çeşitli sitokinleri salgılar. Trombosit aktive edici faktör (PAF), tümör nekroz faktörü (TNF), interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 8 (IL-8) bu sitokinler arasında yer alır. İnterlökin 6 ve interlökin 1, lenfositlerin bir alt kümesi olan T hücrelerinin aktivasyonuna sebep olarak granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), γ -interferon, interlökin 2 ve interlökin 4 salınmasını tetikler. Bu sitokinlerin normal şartlarda enfeksiyon odağına karşı savunma yapma görevleri vardır. Ancak sepsis durumunda, hücresel reaksiyonlar aşırı derecede aktifleşir ve denge bozulur. Sonuç olarak, aşırı salgılanan sitokinler endotel hücrelerinde yaygın hasara neden olur. TNF tarafından aktive olan adezyon molekülleri, lökositlerin dış zarında bulunur ve bu sayede nötrofiller, endotel hücrelerine yapışarak aktif hale geçer. Bu süreçte, aktif nötrofillerin sitoplazmasında bulunan granüllerin hücre dışına bırakılması sonucu endotel hasarı daha da kolaylaşır. Endotelin zedelenmesi hemodinamik değişikliklere ve organ yetmezliğine yol açabilir.

Sitokinlerin uyarımı veya endotoksinin doğrudan etkisiyle araşidonik asitten sentezlenen maddeler, örneğin prostaglandinler ve tromboksanlar, dolaşıma katılır. Bu maddelerin dolaşıma katılması, kapiller permeabilitede artışa neden olur. Bu artış, endotel hücrelerinde hasar ve mikrosirkülasyonda kanın birikmesi gibi sonuçlar doğurur. Bu durum, organ yetmezliği ve şok gibi ciddi sonuçlara yol açabilir.

Nitrik oksit (NO), endotel hücrelerinden salınır ve sepsis durumunda yaygın vazodilatasyona yol açabilir. Endotoksin varlığı, kompleman sisteminin de aktifleşmesine neden olur. Kompleman sistemi, savunma sisteminde ve antikor aracılığıyla doku hasarında rol oynayan bir grup hücre zarı proteinden oluşur. C3a ve C5a, kompleman reseptörleri olarak bilinen yapılar tarafından tanınır. Bu reseptörler nötrofiller, makrofajlar ve mast hücrelerinde bulunur ve uyarıldıklarında histamin gibi vazoaktif maddelerin salınımına ve hipotansiyona yol açabilirler.

Sonuç olarak, enfeksiyöz etkenlerin etkisiyle proinflamatuvar olaylar başlar ve patojenin etkisiz hale getirilmesine yardımcı olur. Aynı zamanda, dokuların

iyileşmesi için antiinflamatuvar süreç de aktive olur. Ancak, bu mekanizmalar arasındaki dengesizlik, aşırı doku hasarına, immünsupresyona ve ikincil enfeksiyonlara yatkınlığa neden olabilir. Konakçı ve patojenin özelliklerine bağlı olarak, organların tepkisi değişkenlik gösterebilir. (34)



Şekil 1: Septik şok patogenezinin şematik açıklaması

Sepsiste hücresel hasarın temel nedeni; proinflatuar mediyatörler ve inflamasyon ürünlerinin direk yaptığı tahribat ve hızlı apopitozis sürecidir. Bu durum yaygın doku iskemisinin temelidir. Endotelyal ve parankimal hücre hasarı organ yetmezliğinin öncüsüdür. Hasarın boyutu arttıkça multipl organ disfonksiyonuna gidişat hızlanır. Hücresel hasarın altında yatan sebeplerden doku iskemisinde sepsise bağlı bozulan metabolik otheregölasyon sebebiyle ihtiyaç olan oksijen karşılanamaz. Pıhtılaşma ve fibrinolitik sistem uyumsuzluğu, makro/ mikro dolaşım bozukluğuna sebebiyet verir. İmmün hücrelerin aktivasyonu sonucu oluşan endotel hasarı dokuların oksijen kullanımını bozar. Rijit eritrositler doku iskemisini artırır. (38) sepsise bağlı mitokondriyal hasar, hücrelerin enerji metabolizmasını bozarak sitotoksisteye neden olur. Sepsiste nekroz, apoptoz, piropitoz ve otofaji gibi çeşitli hücre ölüm yolları aktif hale gelir. Özellikle lenfosit apopitozu sepsisin ciddiyeti ve immün supresyonun derecesiyle yakın ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda apopitozu önlemenin organ disfonksiyonu ve ölümü azalttığını göstermektedir. (39)

2.1.4. Sepsiste Sistemler ve Klinik

Sepsise bağlı olarak oluşan hücresel tahribat, çoğunlukla organ disfonksiyonuna ilerler. Herhangi bir organ sisteminin bu tahribattan korunması pek olası değildir. Çoklu organ yetmezliği sendromuna gidiş maalesef olasıdır.

Kardiyovasküler sistem:

Endotel hasarı, pekçok organ disfonksiyonunun temel nedenidir. İnflatuar mediatörlerin salınması doğrudan olmasa da dolaylı yoldan endotel hasarı yapabilir. Vasküler geçirgenliğin artması ekstraselüler hacim artışını ve mikrotrombüs oluşumunu artırır. Böylece mikrosirkülasyon ve organ dolaşımı bozulur, organ disfonksiyonu gelişir. Endotel hücrelerinden salınan nitrik oksit ve prostasiklin, şiddetli vazodilatasyona sebep olur. Ciddi hipotansiyon ve buna bağlı dolaşım bozukluğu meydana gelebilir. Bu durum dolaşımın otonomik kontrolünü sağlayan yerlerde lokalize olan bir hasarı tetikleyebilir. (40)

İnflatuar mediyatörlerden bazıları miyokardda depresyona neden olabilir. Özellikle yaşlı ve kardiyak rahatsızlığı var olan hastalarda erken dönemde ventriküler sistolik / diyastolik disfonksiyon gelişebilir. Ayrıca kapillerlerin

etkilenmesi sonucu oksijenizasyon bozulabilmektedir. Oksijenin dokuya transfer bozukluğu sonucu da apoptozis süreci hızlanmaktadır. Splanknik vazokonstriksiyon mekanizmasının zarar görmesi sonucu kalp ve beyin gibi çok önemli organların perfüzyonu da bozulabilmektedir. (41)

Solunum Sistemi:

Sepsiste klinik tablo oldukça değişkendir. Takipne, yardımcı solunum kaslarının solunuma katılması, akut respiratuar distres sendromuna kadar ilerleyebilir ve oluşan endotel hasarı pulmoner damarları da etkileyerek permeabiliteyi bozar, ciddi alveolar ve interstisyel ödeme neden olur. Alveolokapiller membranın tahribatı sonucunda ventilasyon-perfüzyon uyumsuzluğu ve pulmoner ödem meydana gelir. Oluşan hiperkoagülabilité, yaygın damar içi koagülasyon da akut ARDS'ye ilerlemeye zemin hazırlar. (42)

Gastrointestinal ve Hepatik Sistem:

Sepsiste meydana gelen yaygın endotel hasarı sonucunda bağırsak perfüzyonu bozulur. Böylece bariyer fonksiyonu baskılanıp bakteriyel translokasyon meydana gelebilir. Bu durum da septik tablonun ağırlaşmasına sebep olur. Meydana gelen inflamatuvar süreçte mukozal ödem, villuslarda atrofi, kanama gibi histopatolojik değişiklikler meydana gelebilir. Böylece uygun nutrisyona rağmen malnutrisyon belirtileri, hemoraji oluşabilir. (43)

Renal Sistem ve Sürrenal Bezler :

Sepsiste akut böbrek yetmezliği görülebilir ve bu durum mortaliteyi artırabilir. Sistemik hipotansiyon, renal vazokonstriksiyon, sitokinler, dolaşım bozukluğu ve hipoksemiye bağlı olarak akut tübüler nekroz riskini artırır. Tübüler hasarın yanında endotoksemi sebebiyle glomerül hasarına bağlı ABY de gelişebilmektedir. Adrenal yetmezlik nedeniyle hipofiz veya sürrenal bezlerde oluşan anatomik hasar, sitokinlerin sebep olduğu adrenal hipoperfüzyon, kullanılan ilaçların steroid üretimini etkilemesi sonucunda adrenal yetmezlik gelişebilir. (44)

Sinir Sistemi:

Ensefalopati ve mental durum değişikliği, sepsiste en erken görülen bulgulardandır. Ajitasyon, oryantasyon-kooperasyon kaybı, konfüzyon, bilinçte bulanıklık şeklinde kendini belli eder. Hücresel boyuttaki hasar, kan-beyin bariyerini

bozar ve santral sinir sisteminin inflamatuvar hücre yayılımına , toksik maddelere ve sitokinlere maruziyeti artar. Daha geç dönemde de periferik sinir sisteminde polinöropati ve myopati meydana gelebilir. Böylece uzamış entübasyon, kas kayıpları oluşur ve yoğun bakım yatış süreci uzar. (45)

2.1.5. Sepsis Tedavisi

SCCM ve ESICM dernekleri tarafından 2004 yılından beri dört yılda bir uluslararası bir komite tarafından “Sepsis Sağkalım Kampanyası” (surviving sepsis campaign-SSC) adıyla sepsis ve septik şok yönetim planı ve sonuçları iyileştirmeye yönelik tedavi ve öneri klavuzları yayınlanmaktadır. Bu klavuz dünyaca da kabul görülmektedir. 2021 yılında bu klavuzun sonuncusu olan “Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021” yayınlanmıştır. (46)

Sağlık kuruluşlarında, hadisenin akut geliştiği yüksek risk sınıfındaki hastalar için sepsis tarama ve tedavisi için standart uygulama prosedürlerini kapsayan, ‘Sepsiste Prognozu İyileştirme Programı’ nın kullanılması tavsiye edilmektedir. (47)

Laktat düzeyi ölçümü: pek çok durum laktat seviyesini yükseltebilir (hipoksi, aşırı aerobik glikoliz). Yüksek laktat düzeyi, doku hipoperfüzyonunun doğrudan olmayan bir göstergesidir. Erken resüsitasyon ile laktat düzeyinin takibi, mortaliteyi azaltmaktadır. Sepsiste hedef, laktatı normal sınırlar içerisinde tutmaktır, eğer laktat düzeyi >2 mmol/L ise, yapılan resüsitasyonun etkinliğini görebilmek için 2-4 saat içinde kontrol değerler görülüp tekrar değerlendirilmelidir.

Antibiyotik öncesi kan kültürünün alınması: Antibiyotik kullandıktan sonra kültürlerin negatif çıkma ihtimali göz önüne alınarak; sorumlu patojeni saptamak için antibiyotik vermeden önce kültürler alınmalıdır (En az 2 set ; aerobik / anaerobik).

Geniş spektrumlu antibiyoterapi başlanması: Sepsis veya septik şok ön tanısı ile başvuran hastalarda viral ve fungal etkenler dahil olmak üzere tüm olası patojenleri kapsayacak geniş spektrumlu antimikrobiyal tedavi ilk 1 saat içinde (tek veya çoklu) başlanmalıdır. Kültür sonucuna göre etken belirlendikten ve etkenin tedaviye dirençli- duyarlı olması durumuna göre uygun ampirik tedavi düzenlenmelidir. Eğer hastada enfeksiyöz bir ajan yoksa tedavi sonlandırılmalıdır. Uygun antibiyoterapi sepsis yönetiminin kalite göstergesidir.

İntravenöz sıvı tedavisi: Sepsis veya septik şoklarda, sıvı replasmanında ilk olarak kristaloidlerin kullanımı ön plandadır. Replasman minimum 30 ml/kg kristaloid ile yapılmalıdır ve 3 saat içinde tamamlanmalıdır. Kristaloidlerle kıyaslandığında kolloid sıvılar daha faydalı olmadığından ve albümin solüsyonları da yüksek maliyetli olduğundan kristaloidlere tercih edilmemektedir. Yüksek hacimlerde kristaloid vermek gerekiyorsa, kristaloidlerin tek başına değil de albüminle verilmesi daha uygundur. Hipoperfüzyon semptomları devam eden hastada sıvı resusitasyonu yapılmaya devam edilmelidir.

Vazoaktif ajan kullanımı: Septik şok hastalarında ilk yapılan sıvı resusitasyonu yeterli değilse, öncelikli olarak noradrenalin kullanılmalıdır. Noradrenaline ulaşılamıyorsa alternatif olarak adrenalin veya dopamin kullanılabilir; ancak noradrenalin temini önceliklidir. Kardiyak anstabilite ihtimali olan riskli hastalarda dopamin ve epinefrin kullanılırken dikkat etmek gerekir. Noradrenalin uygulanarak hedef OAB sağlanamıyorsa, noradrenalin dozunun arttırmak yerine tedaviye vazopressin eklenmelidir. Noradrenalin dozu 0.25–0.5 µg/kg/dk aralığındayken tedaviye vazopressin eklenmelidir. Norepinefrin ve vazopressin ile yeterli OAB sağlanamıyorsa, OAB < 65 mmHg ise, tedaviye adrenalin eklenmelidir. Septik şok hastalarında terlipressin önerilmemektedir. Yeterli sıvı replasmanı ve tansiyona rağmen, septik şok ve kardiyak fonksiyon bozukluğu olan hastalarda hipoperfüzyon bulguları devam ediyorsa noradrenaline dobutamin eklenmeli veya tek başına adrenalin kullanılmalıdır.

Monitörizasyon ve intravasküler erişim: Septik şok hastalarında, invaziv kan basıncı ölçümü için arter monitorizasyonu oldukça önemlidir. Şayet santral venöz erişim yok ise vazopressör tedavi periferik yoldan, kısa süreli, antekübital fossa içinden veya proksimalindeki bir venöz yoldan uygulanmalıdır.

Ventilasyon / Oksijen hedefi: Sepsiste hipoksemik solunum yetmezliği varlığında, konservatif oksijen hedeflerinin kullanımıyla ilgili öneri bulunmamaktadır.

Yüksek akımlı nazal oksijen tedavisi: Sepsisle ilgili Tip-1 solunum yetmezliğinde, yüksek akımlı nazal oksijen tedavisi, CPAP’a tercih edilmelidir.

Non-invaziv ventilasyon: Sepsisle ilgili Tip-1 solunum yetmezliği varlığında, non-invaziv ventilasyonun invaziv ventilasyona üstünlüğü ile ilgili öneride bulunulmamaktadır.

Akut Respiratuar Distres Sendromunda (ARDS) koruyucu ventilasyon: Sepsis ilişkili ARDS'li hastalarda, düşük tidal hacim (6 mL/kg) kabul görmektedir. Bu hastalarda maksimum 30 cm H₂O plato basıncı kullanılmalıdır. Düşük PEEP yerine yüksek PEEP kullanılmalıdır.

ARDS dışı solunum yetmezliğinde düşük tidal volüm: ARDS henüz gelişmemiş solunum yetmezliği olan sepsisli hastalar, düşük tidal hacimde ventile edilmelidir.

Rekrutment manevraları: Geleneksel rekrutment manevraları, sepsis ilişkili orta ve ağır ARDS'li hastalarda kullanılmalıdır.

Pron Ventilasyon: ARDS'li yetişkinler yüz üstü pozisyonda, en fazla 12 saat ventile edilmelidir.

Nöromusküler Bloker Ajanlar (NMBA): Aralıklı NMBA bolusları, sürekli infüzyona tercih edilmelidir.

Ekstrakorporeal Membran Oksijenasyonu (ECMO): Veno-venöz (VV) ECMO, yeterli donanıma sahip hastanelerde kullanılmalıdır.

Ek Tedaviler

Kortikosteroidler: Septik şoklu yetişkin hastalarda vazopressör tedaviyi sürekli kullanmak gerekiyorsa, bazı durumlarda kortikosteroid tedavisi eklenmesi önerilebilir. Hidrokortizon, minimum 4 saat boyunca ≥ 0.25 µg/kg/dakika dozunda norepinefrin veya epinefrin alan hastalarda kullanılabilecek bir kortikosteroid ilaçtır. Hidrokortizonun dozu, 4 x 50 mg intravenöz (IV) olarak veya 200 mg/gün sürekli IV infüzyon şeklinde verilebilir. Ancak, tedaviye başlamadan önce ve dozajı belirlerken hastanın klinik durumu, böbrek fonksiyonları, yan etki potansiyeli ve diğer ilaçlarla etkileşimleri gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.

Kan dezenfeksiyonu: Kan pürifikasyon yöntemleri, sepsis tedavisinde dolaşımdaki toksinleri veya patojenleri uzaklaştırmak için kullanılan yöntemlerdir. Bunlar arasında hemodializ, hemofiltrasyon, plazmaferez gibi yöntemler bulunur. Ancak, bu yöntemlerin etkinliği konusunda kesin kanıtlar henüz mevcut değildir ve bu yöntemlerin rutin olarak kullanılması önerilmemektedir. Polimiksin B kullanımı artık önerilmemektedir.

Kırmızı Kan Hücresi (RBC) Transfüzyon Hedefleri: Evet, sepsis veya septik şoklu yetişkinlerde kısıtlayıcı kan transfüzyonu stratejisi tercih edilmelidir. Bu strateji, hastaların hemoglobin konsantrasyonunu düşük seviyelerde tutmayı hedefler. Genellikle, hedeflenen bazal hemoglobin konsantrasyonu 70 g/L olarak kabul edilir. Ancak, transfüzyon kararı yalnızca hemoglobin konsantrasyonu değerlendirmesiyle belirlenmemelidir. Hastanın genel klinik durumu, organ fonksiyonları, oksijenizasyon düzeyi ve diğer kritik parametreler de dikkate alınmalıdır. Kan transfüzyonu endikasyonu, hastanın doku oksijenizasyonunu iyileştirmek ve vital organları desteklemek amacıyla yapılmalıdır.

İmmünoglobulinler: İv immünoglobulin kullanımı önerilmemektedir.

Stres Ülser Profilaksisi: Sepsisli yetişkinde GI kanama için predispozan faktörler var ise bu profilaksi uygulanmalıdır.

Venöz Tromboembolizm (VTE) Profilaksisi: Sepsis veya septik şoku olan yetişkinlerde, kontrendikasyon yok ise farmakolojik VTE profilaksisi uygulanmalıdır.(47) Düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) tercih edilmelidir. Ek olarak mekanik VTE profilaksisi de uygulanmalıdır.

Renal Replasman Tedavisi (RRT): RRT gerektiren ABH'li yetişkinlerde, sürekli veya intermittan RRT, kesin endikasyon varlığında uygulanmalıdır.

Kan Şekeri Kontrolü: Eğer hastanın kan şekeri ≥ 180 mg/dL (10 mmol/L) ise insülin başlatılmalıdır. Hedef kan şekeri 144-180 mg/dL (8-10 mmol/L) 'dir .

C Vitamini: iv C vitamini kullanımı önerilmemektedir.

Bikarbonat tedavisi: pH < 7,2 ve AKIN skoru 2 veya 3 olan hastalarda HCO₃ verilebilir. Perfüzyon bozukluğuna bağlı laktik asidozu olanlarda inotropik ajan ihtiyacını azaltmak ve hastanın hemodinami kontrolünü sağlamak için HCO₃ verilmelidir.

Beslenme: Sepsisli erişkin hasta enteral beslenebiliyorsa ilk 72 saatte enteral nütrisyon başlatılmalıdır. Yedi gün ve üzerindeki sürede enteral beslenmesi mümkün olmayan kritik sepsis veya septik şoklu hastaların yalnız parenteral nutrisyon ile veya enteral nutrisyon ile kombine edilmesi önerilmemektedir ancak bu hastalara i.v glukoz veya tolere ettiği zaman enteral nutrisyon başlanmalıdır. Gerekli ise

prokinetik ajanlar ve postpilorik beslenme tüpleri kullanılabilir. Omega 3, glutamin, arginin, iv selenyum önerilmemektedir. (47)

2.2.Sitokinler

Sitokinler; immun veya inflamatuvar cevap veren hücrelerin etkinlikleri artırmak amacıyla, 20-30 kD ağırlığında, glikoprotein veya peptit yapısında bulunan, aktive edilmiş lenfosit, monosit, makrofaj ve bazı somatik hücrelerden salınan maddelerdir. Çözünür formda etkindirler. Sitokinler; inflamasyon hücrenin büyümesi, iyileşmesi, yaralanması durumunda sistemik cevabı da içeren inflamatuvar ve immün hadiseleri düzenlemeye yardımcı olur. (48)

“Lenfokin” denmesinin sebebi, başlangıçta sadece lenfositlerin sitokin kaynağı olduğunun düşünülmesiyle, daha sonra monositlerin de sitokin ürettiği fark edilmiş ve “Monokin” olarak adlandırılmıştır. Günümüzde bu mediatörlerin yalnızca lenfoid hücrelerden salgılanmadığı anlaşılmış, bu sebeple de “Sitokin” ismi güncel olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Sitokinler gen ekspresyonu için sekonder mediatörler ile bilhassa da tirozin kinazlar ile spesifik membran reseptörlerine bağlanarak etki ederler. Etkileşimde oldukları hücreler zar proteinlerinin artırılması, azaltılması, başka moleküllerin hücreden salgılanmasını içerir. Pek çok hücreden ekspresyonları gerçekleşebilir ve çeşitli hücrelerde etkilerini gösterebilirler. Agonist ve antagonist etkinlikleri bulunmaktadır. Hedef hücrelerde ligand spesifik reseptörlerine bağlanarak otokrin, parakrin veya endokrin etkilerini gösterirler.

Sitokinlerin Genel Etkileri:

- 1) Lenfoid sistem ve diğer bazı hücrelerin replikasyon ve diferansiyasyonunu sağlarlar.
- 2) İnflamasyonda görevli hücreleri aktiflerler, ilgili bölgeye yönlendirirler.
- 3) Yara iyileşmesini hızlandırırlar.
- 4) Hematopoietik düzenlemeye katkıda bulunurlar.
- 5) Embriyogenez ve sinir sisteminin gelişimine katkı sağlarlar.

- 6) Yüksek konsantrasyonlarda şok ve ölüme, düşük konsantrasyonlarda ateş, baş ağrısı, kas ağrısı gibi semptomlara sebep olurlar.
- 7) Bazı hipofiz hormonlarının üretimini sağlarlar.
- 8) Antiviral etkinlikleri vardır.

Sitokinler görev ve kökenlerine göre de sınıflandırılabilirler:

- 1) Doğal bağışıklık mediyatörü sitokinler: tip 1 interferonlar, kemokinler, TNF- α , IL1, IL6
- 2) Antijenlere yanıt olarak lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmayı düzenleyen sitokinler: IL-2, IL-4, TGF- β
- 3) İnflamasyonda regülatör olan sitokinler: İnterferon-gama, IL-12, IL-10 , IL-5, lenfotoksin
- 4) Hematopoetik stimülan sitokinler: stem cell faktör (SCF) IL-3, monosit-makrofaj koloni stimülan faktör (G-CSF), Granülosit monosit koloni stimülan faktör (GM-CSF) , IL-7, IL-9, IL-11

İnflamasyon sırasındaki görevlerine göre proinflamatuvar, antiinflamatuvar ve çift etkili şeklinde 3 gruba ayrılırlar.

Tablo 8: İnflamasyondaki Rollerine Göre Bazı Sitokinler

PROİNFLAMATUAR	ANTIİNFLAMATUAR	ÇİFT ETKİLİ
TNF- α	IL-4	TNF- β IL-6
IL-1, IL-2, IL-8,	IL-10	
IL-12, IL-15, IL-17	IL-11	
IL-18, INF- γ	IL-13	
	TGF- β	

2.2.1. IL-1

IL-1 aktif mononükleer fagositlerden, doku monosit, makrofaj, lenfosit, nötrofil, fibroblastlardan, ayrıca keratinositler ve endotelial hücreler de dahil pek çok farklı hücrelerden sentezlenir. Enflamasyonda sentezlenen pek çok geni regüle eder. IL-1, mononükleer fagositlerden IL-1- α ve IL-1- β şeklinde salgılanan 2 temel polipeptidden oluşur. Dolaşımdaki aktif olan form çoğunlukla IL-1- β dır. IL-1 'in biyolojik etkileri salınan sitokin miktarına bağlıdır ve TNF ile benzerlik gösterir. Az miktarları lokal inflamatuvar olaylara eşlik eder. Spesifik olarak IL-1, mononükleer fagositler ve damar endotelini uyararak IL-1'in ekspresyon devamlılığını sağlar ve IL-6'nın sentezini uyarır. Ayrıca TNF gibi inflamatuvar sitokin olma özelliğini de taşır. Vasküler endotel hücrelerinde pıhtılaşmayı indükler. Lökositlerin kolonizasyonuna aracılık eden yüzey moleküllerinin ekspresyonunu sağlar. Yüksek yoğunlukta ise endokrin etkisi bulunmaktadır.

IL-1- β ve IL-1- α , inflamatuvar doğal bağışıklığın proinflamatuvar araçlarıdır. Prekürsor olarak sentezlenip birlikte inflamatuvar sürecin başlangıcında salınırlar ve lokalize inflamasyondan sistemik inflamasyona geçişe neden olurlar. Piretik etkileri de bulunur. Ortak reseptörleri olan IL-1R1, Toll like IL-1 reseptör ailesinin üyesidir, aktif olmasıyla ateş, lökositoz, hipotansiyon oluşur.(49) Proinflamatuvar biyolojik etkilerden sorumludur. Diğeri IL-1 reseptörü 2'dir; hücre zarı üzerinde bulunur, kaspaz-1 aktivasyonu ile IL-1- α 'yı salgılar. (50)

IL-1 aynı zamanda IL-2 üretimini ve reseptör ekspresyonunu artırır. Böylece T lenfosit aktivasyonu başlar, immünoglobulin sentezi artar.

IL-1 santral sinir sistemini uyararak ateş, uyku, iştahsızlık yapar. Karaciğerde albümin sentezi azalır, akut faz reaktanları artar. Lökositlerin endotel hücrelerine adezyonunu uyarır. Derin hipotansiyona katkıda bulunur. Hücre dışı patojenlere karşı savunmada önemli görevi olan T helper -17 oluşumuna büyük katkı sağlar. (51)

2.2.2. IL-6

Mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar, epitel hücreler ve bazı aktive T hücrelerince sentezlenir. Erken dönemde yükselmesi klinik başlamadan alert olmayı sağlar, ölçümü de kolaydır, biyobelirteç olarak kullanımı yaygındır. Hepatositler ve B lenfositler temel hedef hücreleridir. (51)

Hepatositlerden akut faz cevabına katkıda bulunan; fibrinojen, hemopeksin, sistein proteinaz inhibitör, a1 - antikomiotripsin, a2 - makroglobulin gibi birçok plazma proteininin sentezlenmesini sağlar. B lenfositlerden immunglobulin salınımı için kofaktördür. Ayrıca T hücreleri ve timositleri için kostimulatördür. Kemik iliği hemopoetik ana hücreleri için büyüme kofaktörüdür. Bu etkisini diğer sitokinlerle birlikte gösterir. Ateş indüksiyonu yapar. IL-1R-1 sentezini uyarır. (52)

2.2.3. IL-8

İnterlökin 8 (IL-8 veya kemokin (CXC motifi) ligand 8, CXCL8), makrofajlar ve mikroglia gibi hücrelerden üretilen proinflamatuvar bir sitokindir. İki hücre yüzeyi, G proteinine bağlı reseptörlerin (CXCR1 ve CXCR2) hücre içi sinyal yollarını aktifler. IL-8'in nötrofil adezyonu, kemotaksis ve lizozomal deşarjın desteklenmesi dahil olmak üzere bir dizi proinflamatuvar etkisi vardır. Klinik olarak IL-8, çeşitli inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda çok önemli rol oynar. Çeşitli inflamatuvar ve otoimmün hastalıkla, enfeksiyon ve kanser tanılı hastalarda artan periferik IL-8 üretimi bildirilmiştir.

Periferik dokuya ek olarak, IL-8 mRNA'nın sıçan beyinlerinin paraventriküler çekirdeğinde ve hipokampusunda bolca bulunur. Beyinde IL-8 esas olarak mikroglia ve astrositler tarafından sentezlenir ve salınır. IL-8, birkaç saat içinde üretilip temizlenen diğer birçok inflamatuvar sitokinin aksine, inflamatuvar yanıtın erken dönemlerinde üretilir ve muhtemelen günler veya haftalarca varlığı devam eder.(53)

2.2.4. IL-17

İnterlökin-17 (IL-17A olarak da bilinir), T hücresi aktivasyonunu nötrofil mobilizasyonu ve aktivasyonuna bağlayan bir anahtar sitokindir. Bu haliyle IL-17, patojenlere karşı koruyucu doğuştan gelen bağışıklığa aracılık edebilir veya psoriasis ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların patogeneze katkıda bulunabilir. IL-17, yaklaşık 150 amino asit uzunluğundadır. Th17 hücreleri tarafından salınır ve pek çok otoimmün hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Bu hastalıklar arasında multipl skleroz, romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı bulunur. Th17 hücreleri, IL-17'nin karakteristik sitokini olmasına rağmen, CD8+ T hücreleri, γ δ T hücreleri, doğal öldürücü T (NKT) hücreleri ve doğal lenfoid hücreler gibi diğer adaptif ve immün hücre tipleri tarafından da eksprese edilebilir. (54)

İnterlökin-17, en başta akut faz tepkisinin aracıları olan granülopoez faktörlerinin (granülosit koloni uyarıcı faktör) ve nötrofile özgü kemokinlerin (CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL8) indüklenmesini içeren güçlü bir inflamatuvar yanıtı başlatma kabiliyetiyle bilinir.

IL-17 ,kendi başına sağlam bir inflamatuvar tepki oluşturmak için yetersiz görünmektedir; bununla birlikte, tümör nekroz faktörü gibi diğer inflamatuvar mediyatörlerle işbirliği veya sinerjizm içinde IL-17, çok sayıda hedef genin ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek güçlü bir inflamatuvar kaskadı indükleyebilir. (54)

Enfeksiyon veya iltihaplanma sırasında, doğal immün hücre tarafından salgılanan IL-23, granülosit koloni stimüle edici faktörün yukarı regülasyonu yoluyla etki ederek granülopoezi ve olgun nötrofillerin kemik iliğinden mobilizasyonunu destekleyen IL-17'yi indükler. Kemik iliğinden salınan nötrofiller kanda dolaşır ve enfekte dokulara geçebilir. (55)

IL-17, granülosit koloni stimüle edici faktörün up-regülasyonu yoluyla hareket ederek granülopoezi ve olgun nötrofillerin kemik iliğinden mobilizasyonunu destekler. IL-17, hücre dışı bakterilere ve mantar patojenlerine karşı korumada anahtar bir moleküldür. (56)

2.2.5. Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1)

Monosit kemotaktik protein-1, enflamasyon sürecince hücre göçünde görev alan bir kemokindir. Sitokin ile aktive edilmiş endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, keratinositler, fibroblastlar, mezangial hücrelerden salınır. Dolaşımdaki monositleri enflamasyon bölgesine çekmek temel görevidir. Kemokin alt ailesinin bir üyesi olan MCP-1, CCL2 adındaki gen tarafından kodlanır. Ateroskleroz, neoplazm (glioma, ovaryum, meme, ve özefagus kanseri), inflamatuvar hastalıklar, HIV gibi çeşitli hastalıkların patogenezi için önemlidir. MCP-1'in tümör hücrelerindeki ekspresyonu, tümör vaskülarizasyonu ve makrofaj infiltrasyonu ile ilişkilidir. (57) (58). MCP-1, anjiyogenik faktörler (VEGF, FGF gibi) salgılayan tümörlerle ilişkili makrofajlar aracılığıyla, doğrudan veya dolaylı olarak anjiyogenezi tetikleyebilir. (59)

MCP-1 ateroskleroz gelişiminde subendotelial bölgeye monositlerin yönelmesini sağlayarak aterosklerotik sürecin başlamasına neden olur. Monositler, vasküler endoteliumdaki hasara istinaden oraya MCP-1'in reseptörü olan CCR2'ye bağlanmasıyla ortaya çıkan konsantrasyon gradienti boyunca hareket ederek kronik inflamasyon ve düz kas hücre çoğalmasına neden olurlar. Daha ileri dönemde aterosklerotik lezyonlarda tromboz gelişimine neden olup myokard enfarktüs patogenezinde rol oynar. (60) (61)

2.2.6.Tümör Nekrozis Faktör -Alfa (TNF- α)

Primer olarak monosit ve makrofajlardan, bazı durumlarda da T-lenfosit, nötrofil, mast hücresi, fibroblast ve endotel hücrelerinden eksprese edilen glikoprotein yapılı bir sitokindir. Ağırlığı 17 kD'dır. 1975 yılında tanımlanmış ve tümörleri parçalayabildiği tespit edildiğinden ötürü "tümör nekrozis faktörü" olarak isimlendirilmiştir. Sepsis patofizyolojisinde ilk suçlanan ana sitokindir. Yarılanma ömrü takribi 20 dakikadır, başlıca karaciğer olmak üzere gastrointestinal sistem ve böbreklerde metabolize edilir. TNF- α ; TNFR1 veya TNFR2 reseptörlerinden birine bağlanarak etkisini gösterir. (62)

TNF- α 'nın vücutta parakrin ve otokrin olarak etkileri vardır, bunlara kısaca değinecek olursak;

- Nötrofillerin endotele adezyonunu artırır.
- Nötrofilleri savunma sisteminde görev alması için aktifler.
- İnflamatuar sitokinlerden IL-1, IL-6, IL-8 ve GM-CSF salınımını uyarır.
- Kemokin ekspresyonunu artırır.

-Monositlerin makrofajlara dönüşümünü, makrofaj-fagozom aktivasyonunu, nötrofil ve makrofajların bir araya gelmesiyle granülom oluşmasını ve oluşan granülomun bütünlüğünün korunmasını sağlar. (63)

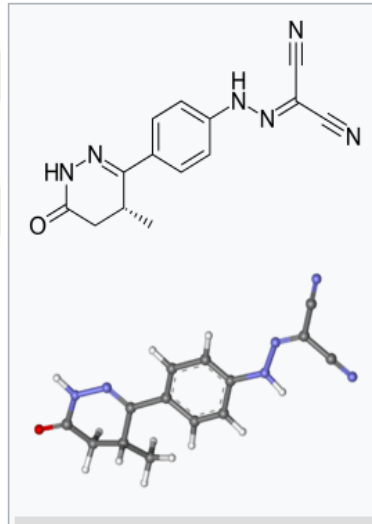
TNF- α 'nın intravenöz uygulanmasının yapılan hayvan çalışmalarında, ateş yükselmesi, solunum sayısı ve kalp hızını artırdığı, hipotansiyon, metabolik asidoz, lökosit artışı, albümin sentezinde azalma , akut faz reaktanlarında yükselme gibi sepsis lehine bulgulara sebep olduğu görülmüştür. Histopatolojik olarak da böbrek, kalp, akciğer, gastrointestinal sistemde iskemik ve hemorajik nekrozlara, endotel

fonksiyon bozukluğuna, koagölasyon kaskadının bozulmasına, dokularda iltihabi hücre infiltrasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu bulgulara dayanarak TNF- α 'nın sepsis ve sepsise sekonder olarak ortaya çıkan organ fonksiyon bozukluğunda temel mediatörlerden biri olduğu anlaşılmıştır. (63)

2.3. İlaçlar

2.3.1. Levosimendan

Levosimendan; piridazinon-dinitril derivesi, miyokardın kalsiyuma olan duyarlılığını artıran, vazodilatatör etkili inotropik ajandır. Kararlı durum konsantrasyonuna sabit doz infüzyonunda 4. saatte ulaşır. Daha hızlı etki görmek isteniyorsa yükleme dozu infüzyon şeklinde verilir ve pik seviyeye 12 dakikada ulaşır. Plazma proteinlerine %95-98 oranında bağlanır. (64)



Resim 1 : Levosimendan'nın Kimyasal Yapısı (64)

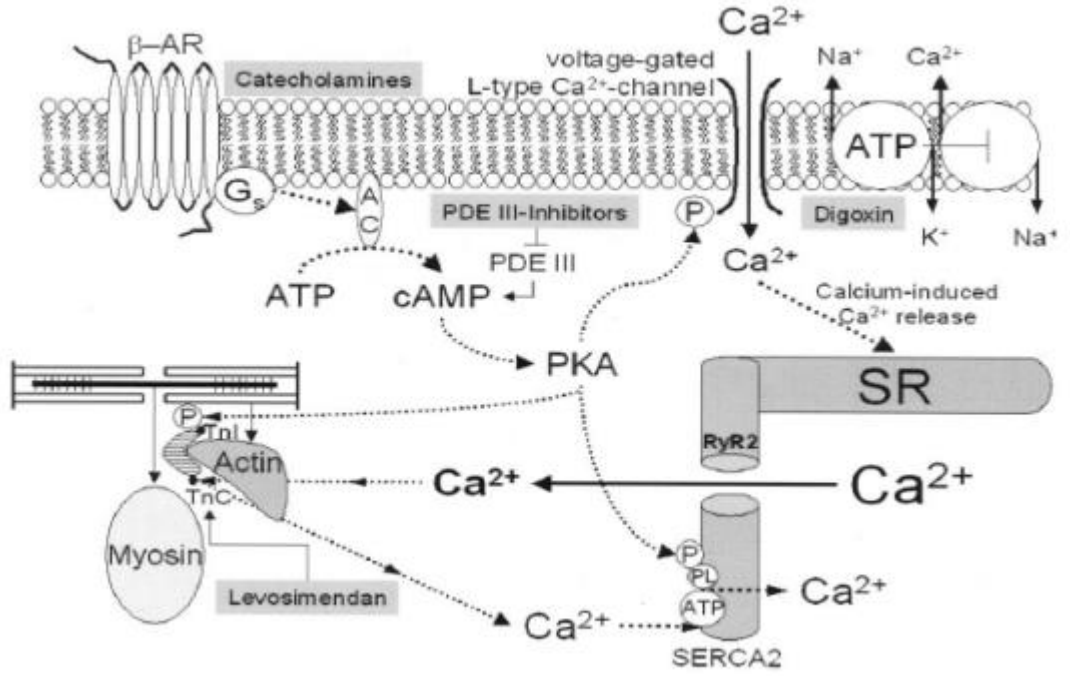
Tarihçe ve Etki Mekanizması

Levosimendan, hücre içi kalsiyum ve cAMP seviyelerini değiştirmeden, troponin C'ye tutunarak kontraktıl proteinleri kalsiyuma duyarlı hale getirir. Bu etkisiyle kardiyak performansı artırır. Diğer kalsiyum duyarlaştırmacılar terapötik dozlarda fosfodiesteraz inhibisyonu yapabilirken, levosimendan sadece troponin C'ye etki ederek kontraktıl proteini kalsiyuma duyarlı hale getirir. (Şekil 2) (64)

Kan kalsiyum miktarı, levosimendanın pozitif inotropik etkisiyle doğrudan bağlantılıdır. Levosimendan, sistolde troponin C'nin N- terminal ucuna bağlanır, Ca-

Troponin kompleksini stabiller. Ancak; diyastolde kan Ca miktarı ve duyarlılığı azaldığından gevşemenin de iyileştiği savunulmaktadır. (65) (66)

Sonuç olarak levosimendan, kalp kontraktilitesini artırmaktadır ve bunu enerji tüketimini artırmadan ve proaritmijenik etkinlik yapmadan sağlamaktadır. Levosimendan, miyozit ve endotel çeperlerindeki ATP bağımlı K kanallarını açar, böylelikle sistemik vasküler dilatasyon oluşturur. Kalp önyük ve ardyükü azaltır. Koronerlerde de dilatasyon ile kan akımını artırır ancak oksijen sarfiyatını artırmaz. (67)



Şekil 2 : Levosimendanın etki mekanizması (64)

Levosimendanın septik şokta olumlu etkileri hakkında Oldner ve ark yaptığı bir çalışmada, sistemik ve intestinal oksijen sunumunda artış, kardiyak indeks ve atım hacminde artış, ortalama arteriyel basınçta azalma, sistemik vasküler dirençte azalma ve portal kan akımında artış gözlemlendiği belirtilmiştir. (68) Bu bulgular, levosimendanın septik şokta kullanımının potansiyel faydalarını desteklemektedir. İlk kez Matejovic ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yayınlanan bir olgu sunumu ile levosimendanın septik şokta klinik kullanımı bildirilmiştir.(69) Sonraki olgu sunumları ve küçük vaka serilerinde de, levosimendanın septik şoklu hastalarda

oksijen transportunda ve hemodinamik parametrelerde iyileşme sağlayabileceği bildirilmiştir

Levosimendan, dolaşımda bulunan proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-6) ve apoptoz mediatörlerinin (Fas-Fas ligand) salınımını azaltarak anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkiler gösterir. (70)

Levosimendan, karaciğer ve böbrekler aracılığıyla metabolize edilir ve vücuttan atılır. Yaklaşık olarak 1 saatlik bir yarı ömre sahiptir. Levosimendanın %5'i aktif bir metabolit olan OR-1855'e dönüşür. Daha sonra OR-1855, daha güçlü bir metabolit olan OR-1896'ya asetillenir. OR-1896, infüzyonun kesilmesinden sonra 1-2 gün içinde en yüksek konsantrasyona ulaşır. Yaklaşık olarak %40'ı plazma proteinlerine bağlanır ve yaklaşık 80 saatlik bir yarılanma ömrüne sahiptir. Levosimendanın farmakolojik etkileri, infüzyonun kesilmesinden sonra bir haftaya kadar devam edebilir. (71)

Levosimendan; belirgin ventrikül mekanik obstrüksiyonu olanlarda, ciddi böbrek yetmezliği (kreatinin klirensi < 30 ml/dk), ileri derecede karaciğer yetmezliği, ciddi hipotansiyon (sistolik kan basıncı < 85 mm Hg), taşikardi (kalp hızı > 120/dk) ve "torsade de pointes" öyküsü olan hastalarda kullanılmamalıdır. (72) Levosimendanın en sık görülen yan etkileri baş ağrısı, hipotansiyon, bulantı, sersemlik, taşikardi, miyokard iskemisi, atriyal fibrilasyon, ekstrasistol ve ventriküler taşikardidir.

3.GEREÇ ve YÖNTEM

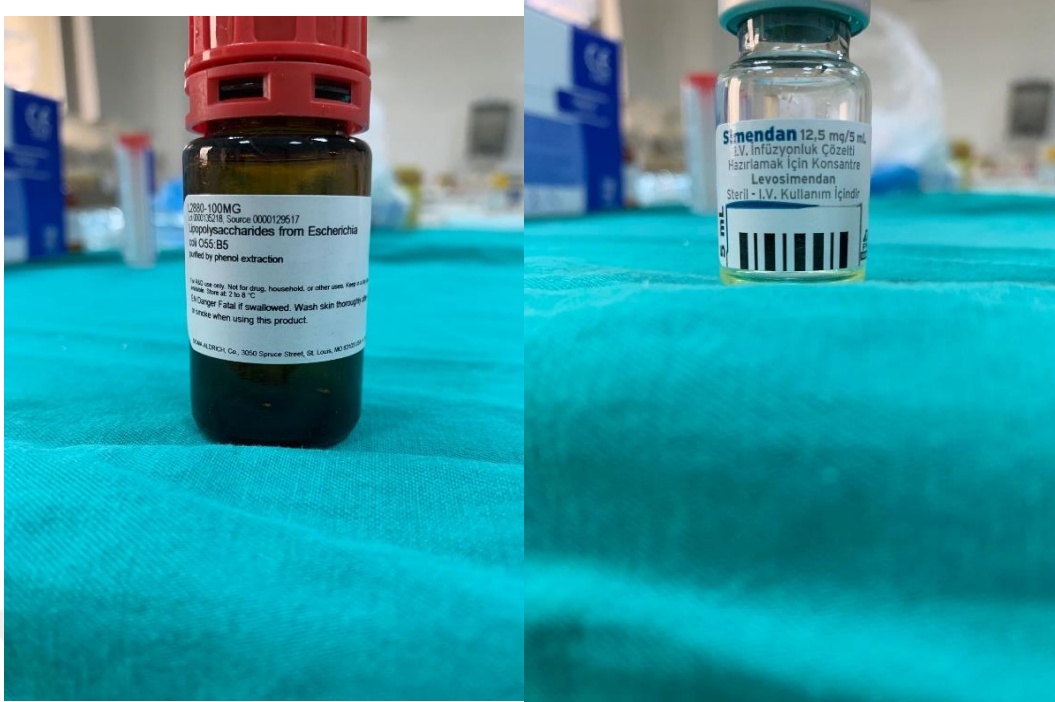
Konuyla ilgili literatür taraması yapıldıktan sonra çalışma hipotezi oluşturulup çalışmanın uygulanmasına karar verildi. Çalışma için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (SÜDAM) Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 30.09.2022 tarihli ve 2022-36 karar sayılı onayı alındı ve çalışmaya başlandı. Çalışma Helsinki Bildirisi'ndeki hayvan çalışmaları etik kurallarına uyularak SÜDAM laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Deney Grupları ve Deney Protokolü

SÜDAM tarafından yetiştirilen, 3-6 aylık, ağırlıkları 450-550 gr arasında değişen, normal aktiviteli, sağlıklı, genç erişkin, 32 adet Wistar Albino türü erkek rat araştırmaya alındı. Çalışma boyunca tüm ratlar aynı laboratuvar koşullarına tabi tutularak, standart rat yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Oda ısısında 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda tel kafeslerde yaşatıldılar.

3.1.1 İlaçların Hazırlanması

LPS (LPS from escherichia coli serotype O55:B5; Sigma-Aldrich,L2880, Missouri, ABD) 5 mg/kg dozunda olacak şekilde steril %0,9 NaCl içerisinde, Levosimendan (Simendan; konsantre infüzyon, Abbott, 2,5 mg/5 ml, flakon, ABD) 1 mg / kg ve 2 mg/ kg dozunda olacak şekilde steril %5 Dextroz içerisinde çözündürülerek, deneyden hemen önce her rat için ayrı ayrı hazırlandı.



Resim 2: İlaçlar

LPS, 2 ml/kg hacminde ve hesaplanan dozda intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi. Levosimendan 5 ml/kg hacminde ve hesaplanan dozda intraperitoneal olarak verildi. Dozaj miktarları önceki yayınlara dayanmaktadır. (73) (74)



Resim 3: İntraperitoneal Uygulama İçin Ayarlanmış Dozlar

3.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları

Her grupta 8 rat olacak şekilde toplamda 32 rat rastgele 4 gruba ayrıldı. Deney öncesi her bir ratın ağırlığı ölçüldü, kaydedildi. Ratların ağırlıklarına göre uygulanacak dozlar hesaplandı.

Grup 1: Kontrol grubu : Bu gruptaki ratlara hiçbir uygulama yapılmadı. Yalnızca kan numuneleri alındı.

Grup 2: Sepsis grubu; bu gruptaki ratlara deney günü 5 mg/kg dozunda LPS ip olarak verildi.

Grup 3: Düşük doz levosimendan grubu; bu gruptaki ratlara 5 mg/kg dozunda LPS ip olarak verilerek sepsis oluşturuldu, LPS verildikten 2 saat sonra 1 mg/kg ip levosimendan uygulandı.

Grup 4: Yüksek doz levosimendan grubu; bu gruptaki ratlara 5 mg/kg dozunda LPS ip olarak verilerek sepsis oluşturuldu, LPS verildikten 2 saat sonra 2 mg/kg ip levosimendan uygulandı.



Resim 4 : İntraperitoneal İlaç Uygulaması

Grup 1' den tek seansta intrakardiyak kan alınarak sonrasında ratlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

Grup 2 'ye öncelikle 5 mg/ kg dozunda İP olarak LPS uygulandı. 2 saat sonra ratlara Murine sepsis skorlaması uygulandı ve sepsise girdikleri kabul edildi. LPS uygulandıktan 5 saat sonra kuyruk venlerinde 1 ml kan alındı, LPS uygulamasından 10 saat sonra da intrakardiyak olarak kanlar alınıp, ratlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

Grup 3'e öncelikle 5 mg/ kg dozunda İP olarak LPS uygulandı. 2 saat sonra 1 mg/ kg levosimendan ip olarak 8 rata uygulandı. LPS uygulandıktan 5 saat, levosimendan uygulandıktan 3 saat sonra her bir ratın kuyruk veninden 1 ml kan alındı, LPS uygulamasından 10 saat sonra da intrakardiyak olarak kanlar alınıp, ratlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

Grup 4 'e öncelikle 5 mg/ kg dozunda ip olarak LPS uygulandı. 2 saat sonra 2 mg/ kg levosimendan ip olarak 8 rata uygulandı. LPS uygulandıktan 5 saat, levosimendan uygulandıktan 3 saat sonra her bir ratın kuyruk veninden 1 ml kan alındı, LPS uygulamasından 10 saat sonra da intrakardiyak olarak kanlar alınıp, ratlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi.

Her kan alma işlemi ve sakrifikasyon öncesinde, anestezik amaçlı 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Hollanda) ve 50 mg/kg ketamin (Ketalar ®, Pfizer Pharma GMBH, Almanya) ip olarak uygun dozlarda ratlara uygulanarak anestezi sağlandı.



Resim 5: İntrakardiyak Kan Alımı

3.1.3. Murine Sepsis Skalası

Murine Sepsis Skoru (MSS), gözlemsel özelliklere dayalı olarak sıçanlarda ve farelerde sepsisin ciddiyetini değerlendirmek için kullanılır. (75) Puanlama, iki kör gözlemci tarafından bağımsız gerçekleştirildi. Bu puanların ortalaması, her hayvandaki her bileşen 5. Ve 10.saatte kaydedildi.

8 parametreden oluşan bu skalada; dış görünüş, bilinç seviyesi, aktivite, uyarana tepki, gözler, solunum sayısı, solunum kalitesi ve rektal sıcaklık parametreleri bulunmaktadır. 0 ile 4 arasında puanlamanın olduğu bu skala, 4 grupta bulunan 32 rat için, deneyin 5. Ve 10. Saatlerinde değerlendirilmiş, puanlama 2 farklı gözlemci tarafından bağımsız bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Her bir parametrenin ortalamaları alınıp gruplar arası karşılaştırılmıştır. Değerlendirme, kan alma işlemi gerçekleşmeden dolayısıyla ratlara anestezi verilmeden önce yapılmıştır. (Tablo 9) (76)

Tablo 9: Uyarlanmış Murine Sepsis Skalası (76)

Uyarlanmış Murin Sepsis Skoru (A-MSS).

Göl	0	1	2	3	4
Dış görünüş	Ceket pürüzsüz	Piloereksiyon yapılmış saç parçaları	Sırtın büyük bir kısmı piloereksiyonlu	Piloereksiyon mevcut olabilir veya olmayabilir; fare "kabarık" görünüyor	Piloereksiyon mevcut olabilir veya olmayabilir; fare zayıflamış görünüyor
Bilinç seviyesi	Fare etkin	Fare etkin ancak dik durmaktan kaçınıyor	Fare etkinliği belirgin şekilde yavaşlar. Fare hala ayakta	Etkinlik bozulmuştur. Fare yalnızca kışkırtıldığında hareket eder; hareketlerde titreme var	Aktivite ciddi şekilde bozulmuştur. Tahrik edildiğinde, olası titreme ile sabit kalır
Aktivite	Normal aktivite miktarı. Fare yemek, içmek, tırmanmak, koşmak ve dövmekten herhangi biridir.	Biraz bastırılmış aktivite. Fare kafesin altında hareket ediyor	Bastırılmış aktivite. Fare, ara sıra araştırma hareketleriyle sabittir	Aktivite yok	Aktivite yok. Özellikle arka ayaklarında titreme yaşayan fare
uyarana tepki	Fare, işitsel uyarana veya dokunmaya hemen yanıt verir	İşitsel uyarana yavaş veya hiç yanıt vermeme; dokunmaya güçlü tepki (kaçmak için hareket eder)	İşitsel uyarana yanıt yok; dokunmaya orta düzeyde yanıt (birkaç adım hareket eder)	İşitsel uyarana yanıt yok; dokunmaya hafif tepki (hareket yok)	İşitsel uyarana yanıt yok. Dokunmaya yanıt çok az veya hiç yok. Üzerine itilirse kendini düzeltemez
Gözler	Açık	Gözler tamamen açık değil, muhtemelen salgılarla	Gözler en az yarı kapalı, muhtemelen salgılı	Gözler yarı kapalı veya daha fazla, muhtemelen salgılı	Gözler kapalı veya sütütlü
Solunum sayısı	Normal, hızlı fare solunumu	Biraz azalmış solunum (gözle ölçülemeyen hız)	Orta derecede azaltılmış solunum (gözle ölçümün üst aralığındaki hız)	Ciddi derecede azalmış solunum (gözle kolayca hesaplanabilen hız, nefesler arasında 0,5 s)	Son derece azaltılmış solunum (nefesler arasında >1 s)
Solunum kalitesi	Normal	Kısa süreli zor nefes alma dönemleri	Çalıştı, nefes nefese kalmadı	Aralıklı iç çekişlerle çalıştı	nefes nefese
Rektal sıcaklık (°C)	36-38	> 38	< 36- ≥ 35	< 35- ≥ 34	< 34

3.2.Değerlendirme Yöntemleri

3.2.1. Biyokimyasal Ölçümler

Ratlardan etik kurul onayını takiben çalışma için gerekli olan kan örnekleri serum separatör jelli tüplere alınarak 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum örnekleri ependorflara bölünerek analize kadar -80 derecede saklanmıştır. Çalışma günü örnekler çözündürülmüş, serum TNF- α (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E0764Ra), IL-6 (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E0135Ra), IL-8 (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E1167Ra), MCP-1 (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E0193Ra), IL-1 β (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E0119Ra), IL-17A (BT Lab- Biotech Co.Ltd, China, catalog number: E0116Ra), düzeylerinin ölçümü spesifik ELİSA test kitleriyle üretici prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmiş ve örneklerle ait absorbans değerleri CLARIOstar microplate reader cihazında 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Standartlardan hareketle hazırlanan kalibrasyon grafiği yardımıyla her bir örnekteki analit konsantrasyonları hesaplanmıştır. Tüm kitler için intra- ve inter-assay %CV değerleri sırasıyla %8 ve %10’dan düşüktü. TNF- α , IL-6, IL-8, MCP-1, IL-1 β ve IL-17A ELİSA kitleri için kit prosedürlerinde belirtilen ölçüm aralığı sırasıyla 5-1000 ng/L, 0.1-40 ng/ L, 5-1500 ng/ L, 4-1000 ng/ L, 0.2-60 ng/mL ve 3-750 ng/L’idi. Sensitiviteleri ise sırasıyla; 2.51 ng/L, 0.052 ng/L, 2.52 ng/L, 2.02 ng/L, 0.08 ng/mL ve 1.52 ng/L’idi.

3.2.2. İstatiksel Değerlendirme

Sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma değerleri verildi. Gruplar arasındaki farklılıkların analizinde karma etki modelleri (mixed effects models with random intercepts) kullanıldı. Grup, zaman ve grup*zaman etkileşim etkileri araştırıldı. İkili karşılaştırmalarda en küçük kareler ortalamaları (least squares means) kullanıldı. Analizler R 4.2.2 programı ile yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

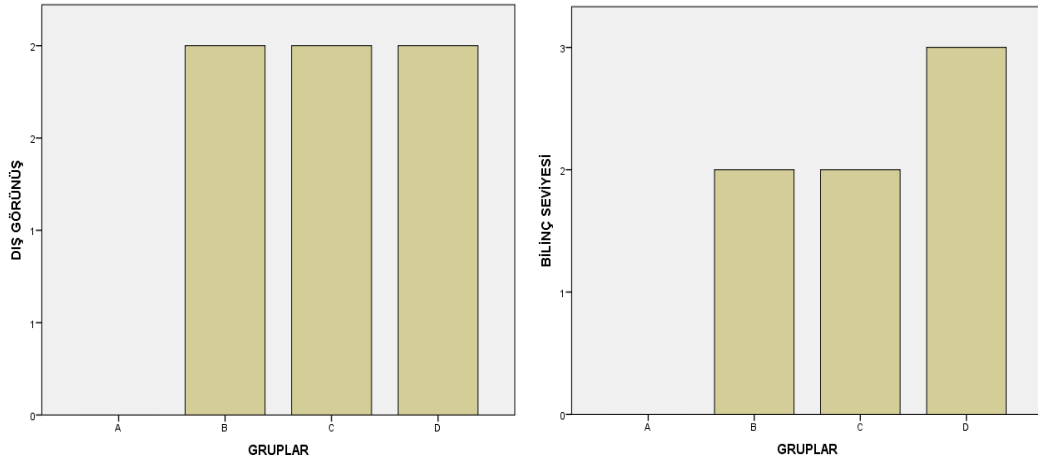
4.BULGULAR

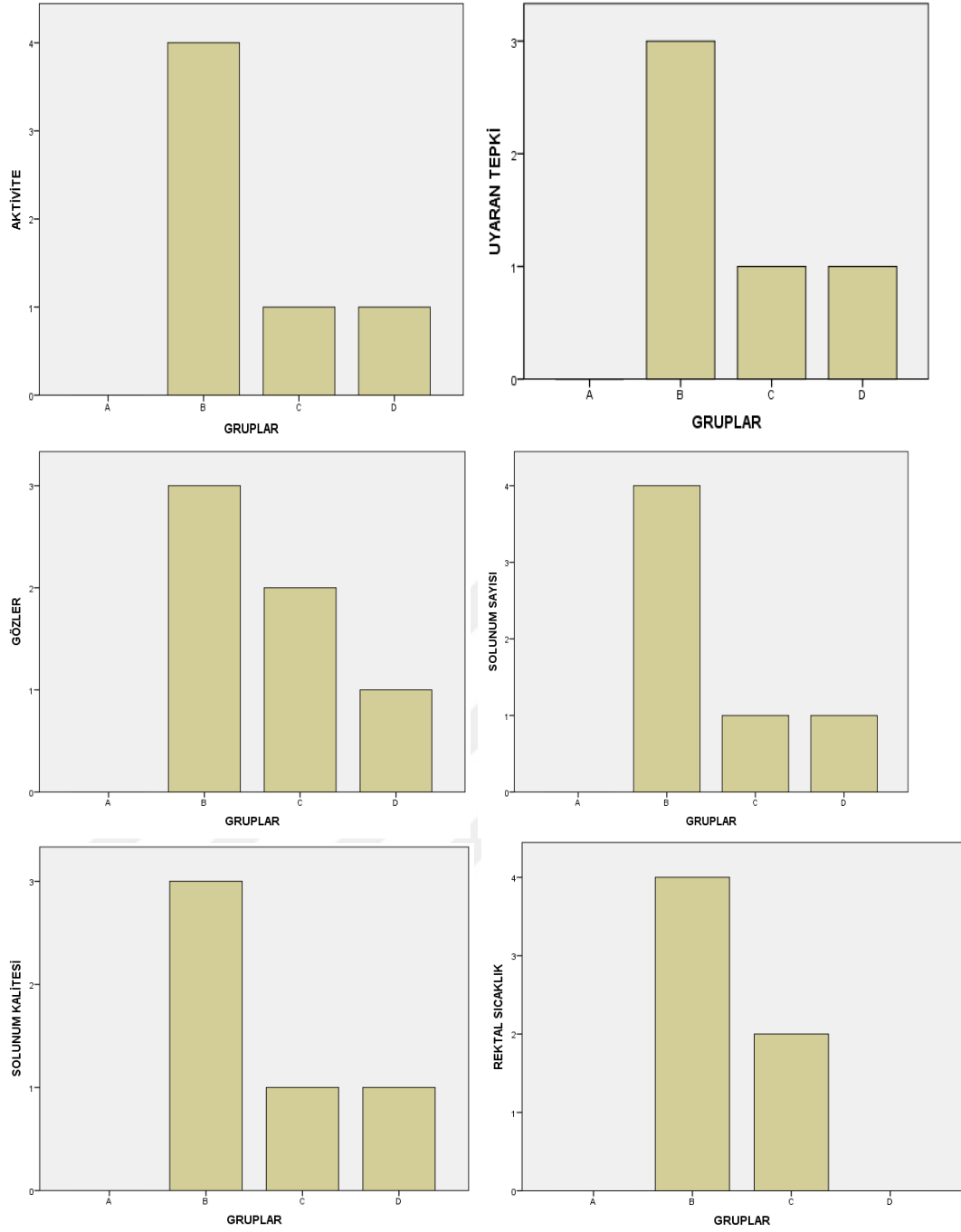
4.1. ÇALIŞMA ÇIKTILARI VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Sepsisin klinik değerlendirilmesi

Murine sepsis skalasına göre A grubu ortalama değeri her iki saatte de 0'dır. B grubu için 5.saatte 2 olan ortalama değer, 10.saatte 3,5 olmuştur. C Grubu için 5.saatte 2 olan ortalama değer 10.saatte 1,37 olmuştur. D grubu için 5.saatte 2,25 olan ortalama değer 10.saatte 0,75 olmuştur. Bu grafiklerden de anlaşılacağı gibi ip LPS sonucunda B grubunda 5.saatte deneysel sepsis modeli oluşturulduğu görülmüş, sepsisin şiddeti 10.saatte artmıştır. C ve D grubunun 5.saatteki değerleri, kontrol grubuna göre deneysel sepsis modeli oluştuğunu göstermektedir. C ve D grubunun 10.saatteki değerlerinin 5.saate kıyasla düşmesinin sebebi de Levosimendan etkisindedir. Bu durum levosimendanın antiinflamatuvar özelliğini destekler niteliktedir. .Klinik skorlamanın yanı sıra laboratuvar verileri de ip LPS verilen 24 ratta sepsis oluştuğunu göstermektedir.

Grafik 1 : Murine Sepsis Skalası Grupların 5.Saat Değerleri



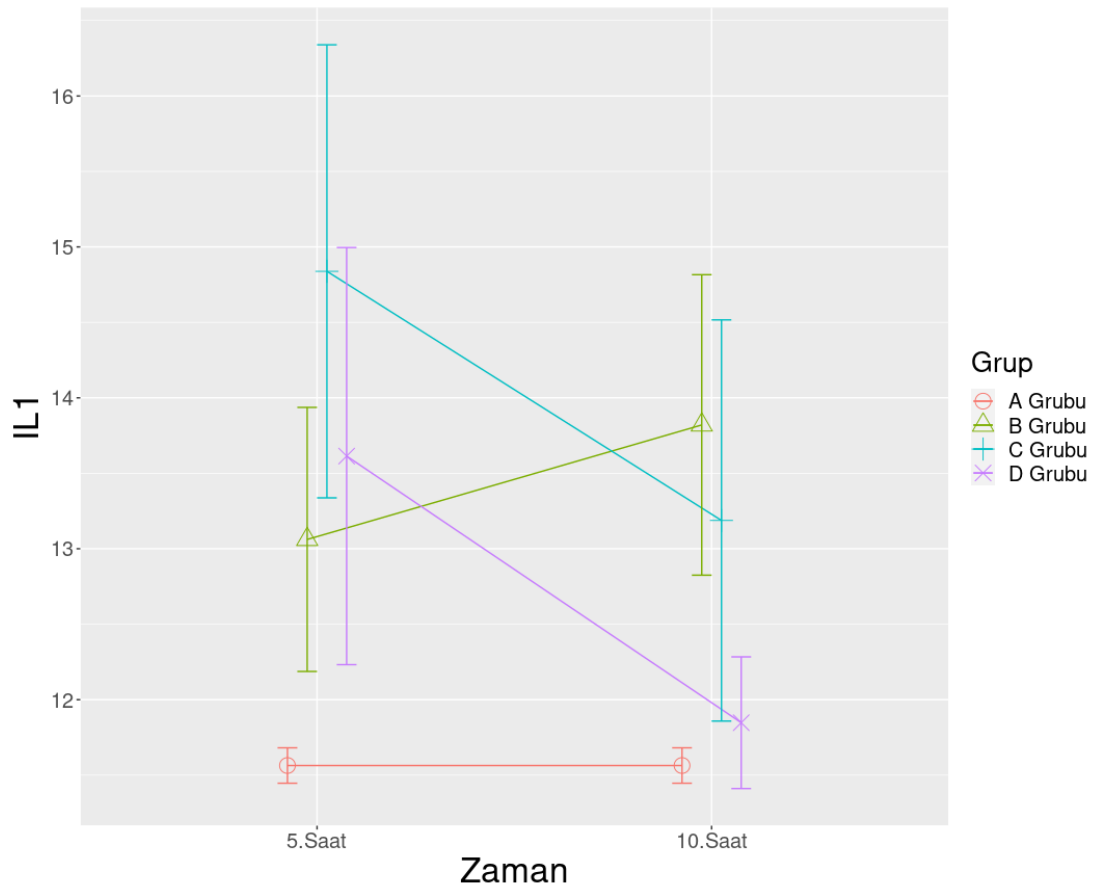


Sitokin Düzeylerinin Değerlendirilmesi

4.1.1. IL-1 Sonuçları

- IL-1 LPS enjeksiyonu sonrası kontrol değeri (Grup A) olan $11,56 \pm 0,32$ 'den 5. Saatte $13,06 \pm 0,97$ 'e (0,068), 10. Saatte $13,82 \pm 1,19$ 'e (0,002) yükselmiştir (Grup B).

- Kontrol değerine kıyasla LPS ve 1mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,000$) (Grup C) ve 2 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,006$) (Grup D) IL-1 değerleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
- LPS grubu (Grup B) sonuçlarına kıyasla, Grup C'de 5. Saatte $14,83 \pm 1,79$ olan değer ($p=0,021$) 10. Saatte $13,18 \pm 1,58$ ($p=0,712$) olarak ölçülmüştür. Grup D'de ise bu değerler 5. saatte $13,61 \pm 1,65$ ($p=0,790$) 10. Saatte ise $11,84 \pm 0,52$ ($p=0,008$) olup, anlamlı olarak düşük bulunmuştur.
- Grupların iki zaman dilimi kıyaslandığında hem 1 mg/kg levosimendan (Grup C) ($p=0.009$) hem de 2 mg/kg levosimendan (Grup D) ($p=0.005$) 5. Saatte ve 10. Saatlerde anlamlı olarak azalmıştır.
- IL-1 için yapılan Mixed model analizinde zaman ($p=0,032$), grup ($p=0,000$) ve zaman-grup ($p=0.011$) anlamlı bulunmuştur (IL-1 grafiği).



IL-1 Analizi

Tablo 10: IL-1 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri

etki	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Zaman	1	28.000	5.126	0.032
Grup	3	28.000	12.303	0.000
Zaman:Grup	3	28.000	4.499	0.011

Tablo 11 : IL-1 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri

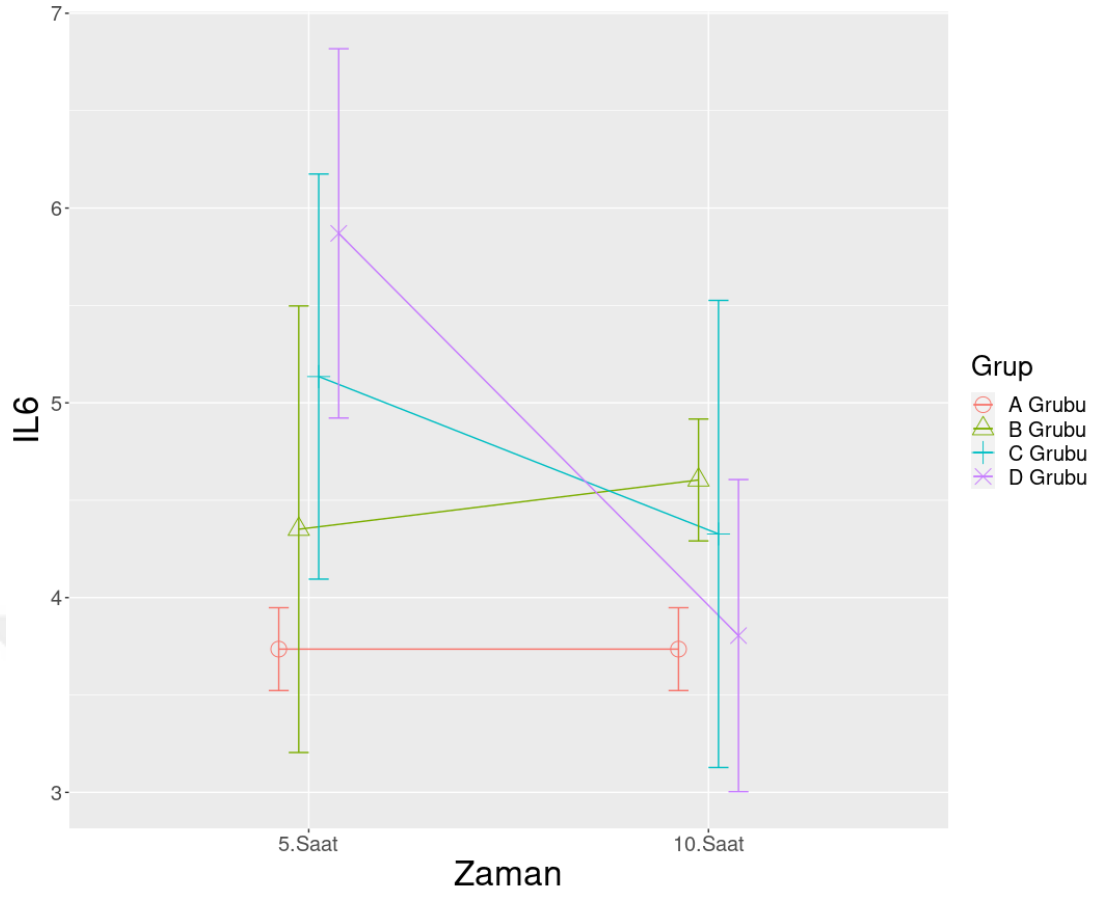
contrast	Zaman	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
A Grubu - B Grubu	5.Saat	-1.498	0.594	55.967	-2.520	0.068
A Grubu - C Grubu	5.Saat	-3.274	0.594	55.967	-5.508	0.000
A Grubu - D Grubu	5.Saat	-2.050	0.594	55.967	-3.449	0.006
B Grubu - C Grubu	5.Saat	-1.776	0.594	55.967	-2.988	0.021
B Grubu - D Grubu	5.Saat	-0.552	0.594	55.967	-0.929	0.790
C Grubu - D Grubu	5.Saat	1.224	0.594	55.967	2.060	0.179
A Grubu - B Grubu	10.Saat	-2.256	0.594	55.967	-3.796	0.002
A Grubu - C Grubu	10.Saat	-1.624	0.594	55.967	-2.731	0.041
A Grubu - D Grubu	10.Saat	-0.284	0.594	55.967	-0.477	0.964
B Grubu - C Grubu	10.Saat	0.633	0.594	55.967	1.065	0.712
B Grubu - D Grubu	10.Saat	1.973	0.594	55.967	3.319	0.008
C Grubu - D Grubu	10.Saat	1.340	0.594	55.967	2.254	0.121

Tablo 12 : IL-1 İçin İkili Karşılaştırmalar-Grup İçi ve p Değerleri

Contrast	Grup	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
5.Saat - 10.Saat	A Grubu	0.000	0.587	28.000	0.000	1.000
5.Saat - 10.Saat	B Grubu	-0.758	0.587	28.000	-1.292	0.207
5.Saat - 10.Saat	C Grubu	1.651	0.587	28.000	2.811	0.009
5.Saat - 10.Saat	D Grubu	1.767	0.587	28.000	3.009	0.005

4.1.2. IL-6 Sonuçları

- IL-6, LPS enjeksiyonu sonrası kontrol değeri (Grup A) olan $4,59 \pm 2,15$ 'den 5. Saatte $5,13 \pm 1,24$ 'e ($p=0,608$), 10. Saatte $4,60 \pm 1,43$ 'a ($p=0,313$) yükselmiştir (Grup B).
- Kontrol değerine kıyasla LPS ve 1 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,034$) (Grup C) ve 2 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,000$) (Grup D) IL-6 değerleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
- B grubu sonuçlarına kıyasla, Grup C'de 5. Saatte $4,35 \pm 1,37$ ($p=0,403$) olan değer 10. Saatte $4,32 \pm 0,37$ ($p=0,945$) olarak ölçülmüştür. Grup D'de ise bu değerler 5. saatte $5,87 \pm 1,13$ ($p=0,018$) 10. Saatte ise $3,78 \pm 0,96$ ($p=0,945$) olmuştur.
- Grupların iki zaman dilimi kıyaslandığında 2 mg/kg levosimendan (Grup D) 10. Saatte anlamlı azalmaya yol açmıştır ($p=0,000$).
- IL-6 için yapılan Mixed model analizinde zaman ($p=0,008$), grup ($p=0,031$) ve zaman-grup ($p=0,005$) değişimleri anlamlı bulunmuştur (IL-6 grafiği).



IL-6 Analizi

Tablo 13 : IL-6 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri

etki	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Zaman	1	28.000	8.240	0.008
Grup	3	28.000	3.414	0.031
Zaman:Grup	3	28.000	5.225	0.005

Tablo 14 : IL-6 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri

Contrast	Zaman	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
A Grubu - B Grubu	5.Saat	-0.616	0.499	54.562	-1.234	0.608
A Grubu - C Grubu	5.Saat	-1.399	0.499	54.562	-2.806	0.034
A Grubu - D Grubu	5.Saat	-2.134	0.499	54.562	-4.280	0.000
B Grubu - C Grubu	5.Saat	-0.784	0.499	54.562	-1.572	0.403
B Grubu - D Grubu	5.Saat	-1.519	0.499	54.562	-3.046	0.018
C Grubu - D Grubu	5.Saat	-0.735	0.499	54.562	-1.474	0.460
A Grubu - B Grubu	10.Saat	-0.868	0.499	54.562	-1.742	0.313
A Grubu - C Grubu	10.Saat	-0.591	0.499	54.562	-1.186	0.638
A Grubu - D Grubu	10.Saat	-0.069	0.499	54.562	-0.139	0.999
B Grubu - C Grubu	10.Saat	0.277	0.499	54.562	0.556	0.945
B Grubu - D Grubu	10.Saat	0.799	0.499	54.562	1.602	0.386
C Grubu - D Grubu	10.Saat	0.522	0.499	54.562	1.046	0.723

Tablo 15 : IL-6 İçin İkili Karşılaştırmalar-Grup İçi ve p Değerleri

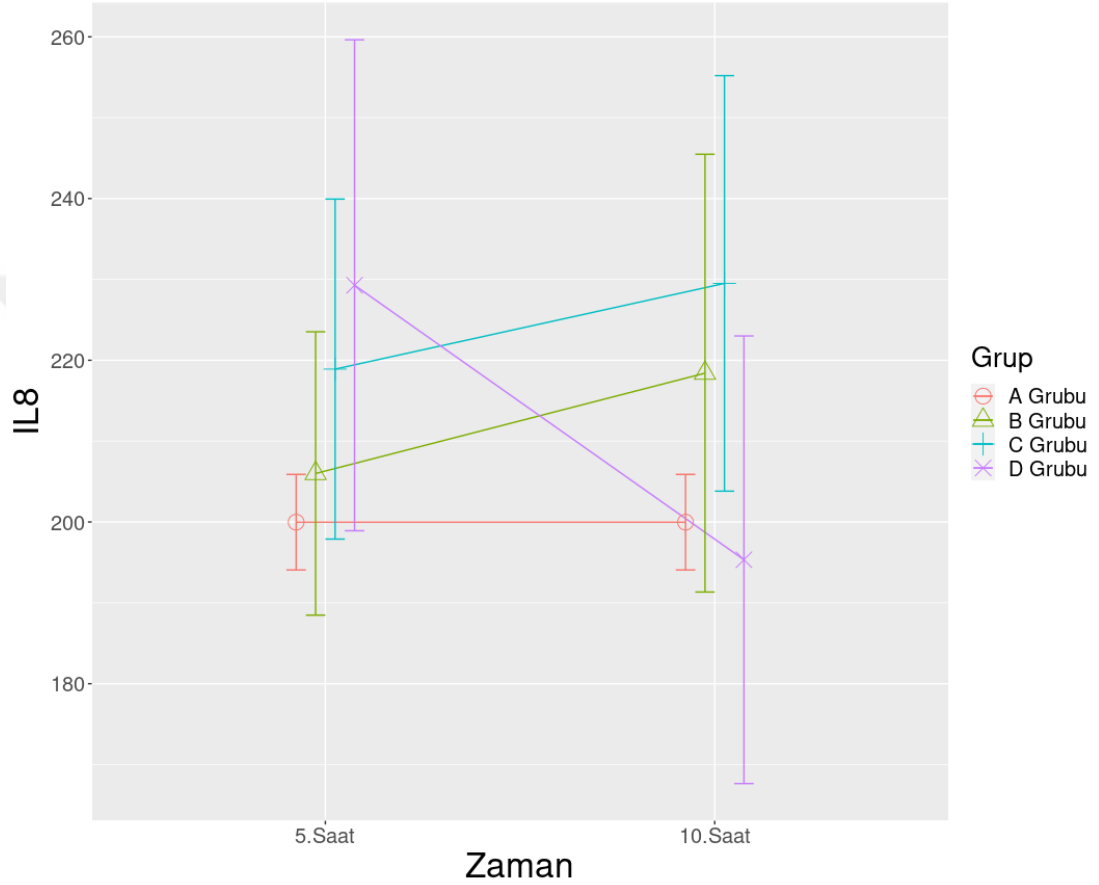
Contrast	Grup	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
5.Saat - 10.Saat	A Grubu	0.000	0.456	28.000	0.000	1.000
5.Saat - 10.Saat	B Grubu	-0.253	0.456	28.000	-0.554	0.584
5.Saat - 10.Saat	C Grubu	0.808	0.456	28.000	1.771	0.088
5.Saat - 10.Saat	D Grubu	2.065	0.456	28.000	4.525	0.000

4.1.3. IL-8 Sonuçları

- LPS enjeksiyonu sonrası kontrol değeri (Grup A) olan $200,37 \pm 7,22$ 'den 5. Saatte $205,99 \pm 20,95$ 'e ($p=0,968$), 10. Saatte $218,40 \pm 32,37$ 'e ($p=0,508$) yükselmiştir (Grup B).
- Kontrol grubuna kıyasla i.p LPS ve 1 mg/kg (Grup C) ve 2 mg/kg (Grup D) uygulanan levosimendan sonrası her iki grupta anlamlı artış görülmemiştir.
- LPS grubu sonuçlarına kıyasla (Grup B), Grup C'de 5. Saatte $218,90 \pm 25,15$ olan değer (0,763) 10. Saatte $229,50 \pm 24,34$ ($p=0,835$) olarak ölçülmüştür.

Grup D’de ise bu değerler 5. saatte $229,27 \pm 36,31$ ($p=0,303$) 10. Saatte ise $195,32 \pm 33,10$ ($p=0,310$) olmuştur.

- Grupların iki zaman dilimi kıyaslandığında 2 mg/kg levosimendan 10. Saatte anlamlı azalmaya yol açmıştır ($p=0.005$).
- MCP-1 için yapılan Mixed model analizinde zaman-grup ($p=0,025$) anlamlı bulunmuştur (IL8 grafiği).



IL-8 Analizi

Tablo 16 : IL-8 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri

etki	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Zaman	1	28.000	0.235	0.631
Grup	3	28.000	1.767	0.176
Zaman:Grup	3	28.000	3.642	0.025

Tablo 17 : IL-8 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri

Contrast	Zaman	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
A Grubu - B Grubu	5.Saat	-6.023	13.204	52.167	-0.456	0.968
A Grubu - C Grubu	5.Saat	-18.932	13.204	52.167	-1.434	0.484
A Grubu - D Grubu	5.Saat	-29.299	13.204	52.167	-2.219	0.132
B Grubu - C Grubu	5.Saat	-12.909	13.204	52.167	-0.978	0.763
B Grubu - D Grubu	5.Saat	-23.276	13.204	52.167	-1.763	0.303
C Grubu - D Grubu	5.Saat	-10.366	13.204	52.167	-0.785	0.861
A Grubu - B Grubu	10.Saat	-18.431	13.204	52.167	-1.396	0.508
A Grubu - C Grubu	10.Saat	-29.531	13.204	52.167	-2.237	0.127
A Grubu - D Grubu	10.Saat	4.645	13.204	52.167	0.352	0.985
B Grubu - C Grubu	10.Saat	-11.100	13.204	52.167	-0.841	0.835
B Grubu - D Grubu	10.Saat	23.076	13.204	52.167	1.748	0.310
C Grubu - D Grubu	10.Saat	34.177	13.204	52.167	2.588	0.058

Tablo 18 : IL-8 İçin İkili Karşılaştırmalar- Grup İçi ve p Değerleri

Contrast	Grup	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
5.Saat - 10.Saat	A Grubu	-0.000	11.273	28.000	-0.000	1.000
5.Saat - 10.Saat	B Grubu	-12.408	11.273	28.000	-1.101	0.280
5.Saat - 10.Saat	C Grubu	-10.599	11.273	28.000	-0.940	0.355
5.Saat - 10.Saat	D Grubu	33.944	11.273	28.000	3.011	0.005

4.1.4. IL-17 Sonuçları

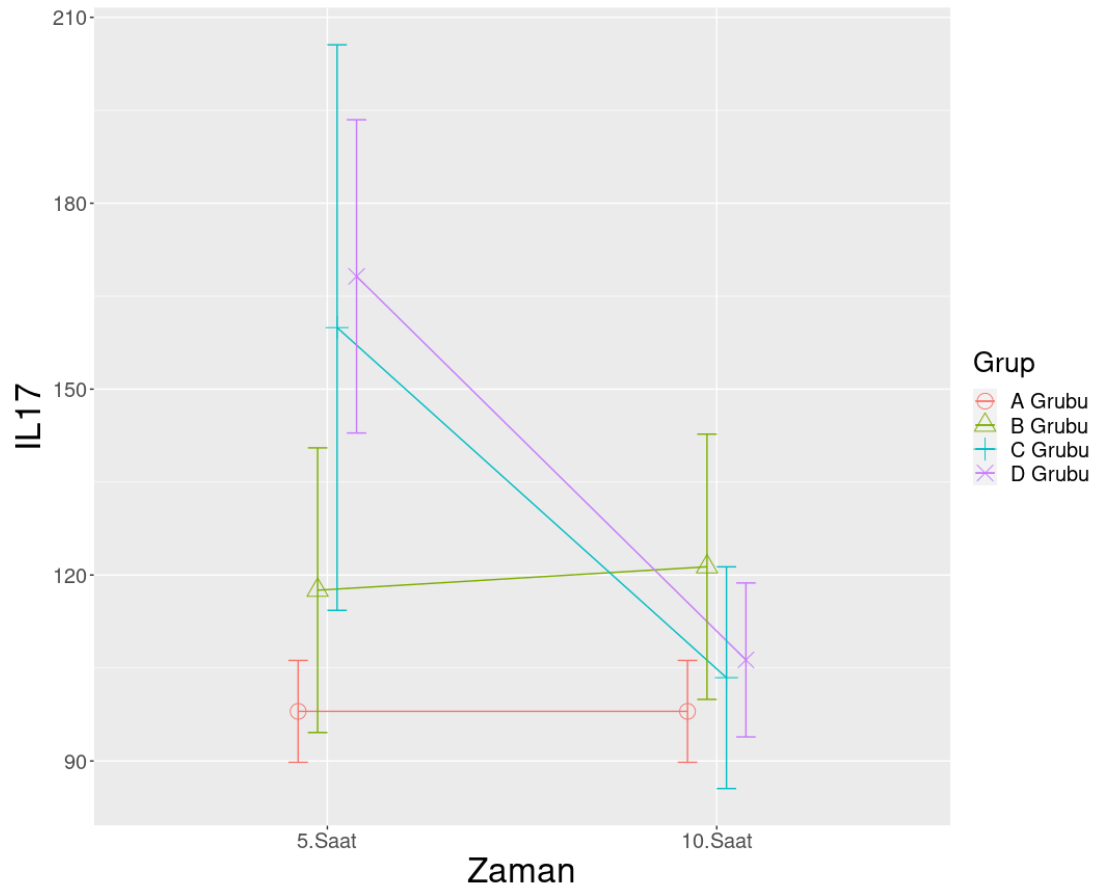
IL-17, LPS enjeksiyonu sonrası kontrol değeri (Grup A) olan $97,99 \pm 9,83$ 'den 5. Saatte $117,55 \pm 27,47$ 'e ($p=0,500$), 10. Saatte $121,33 \pm 25,59$ 'e ($p=0,344$) yükselmiştir ($p=0,395$) (Grup B).

- Kontrol değerine kıyasla LPS ve 1 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,00$) (Grup C) ve 2 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,000$) (Grup D) IL-17 değerleri 5.saatte anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

- LPS grubu (Grup B) sonuçlarına kıyasla, Grup C'de 5. Saatte $159,93 \pm 28,64$ ($p=0,018$) olan değer 10. Saatte $103,43 \pm 21,39$ ($p=0,574$) olarak ölçülmüştür. Grup D'de ise bu değerler 5. saatte $168,19 \pm 30,22$ ($p=0,003$) 10. Saatte ise $106,30 \pm 14,86$ ($p=0,702$) olmuştur.

- Grupların iki zaman dilimi kıyaslandığında 1 mg/kg ve 2 mg/kg levosimendan 10. Saatte anlamlı azalmaya yol açmıştır ($p=0.00$).

- IL-17 için yapılan Mixed model analizinde zaman ($p=0,000$), grup ($p=0,006$) ve zaman-grup ($p=0,000$) anlamlı bulunmuştur (IL-17 grafiği).



IL-17 Analizi

Tablo 19 : IL-17 İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri

etki	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Zaman	1	28.000	22.545	0.000
Grup	3	28.000	5.039	0.006
Zaman:Grup	3	28.000	8.589	0.000

Tablo 20 : IL-17 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri

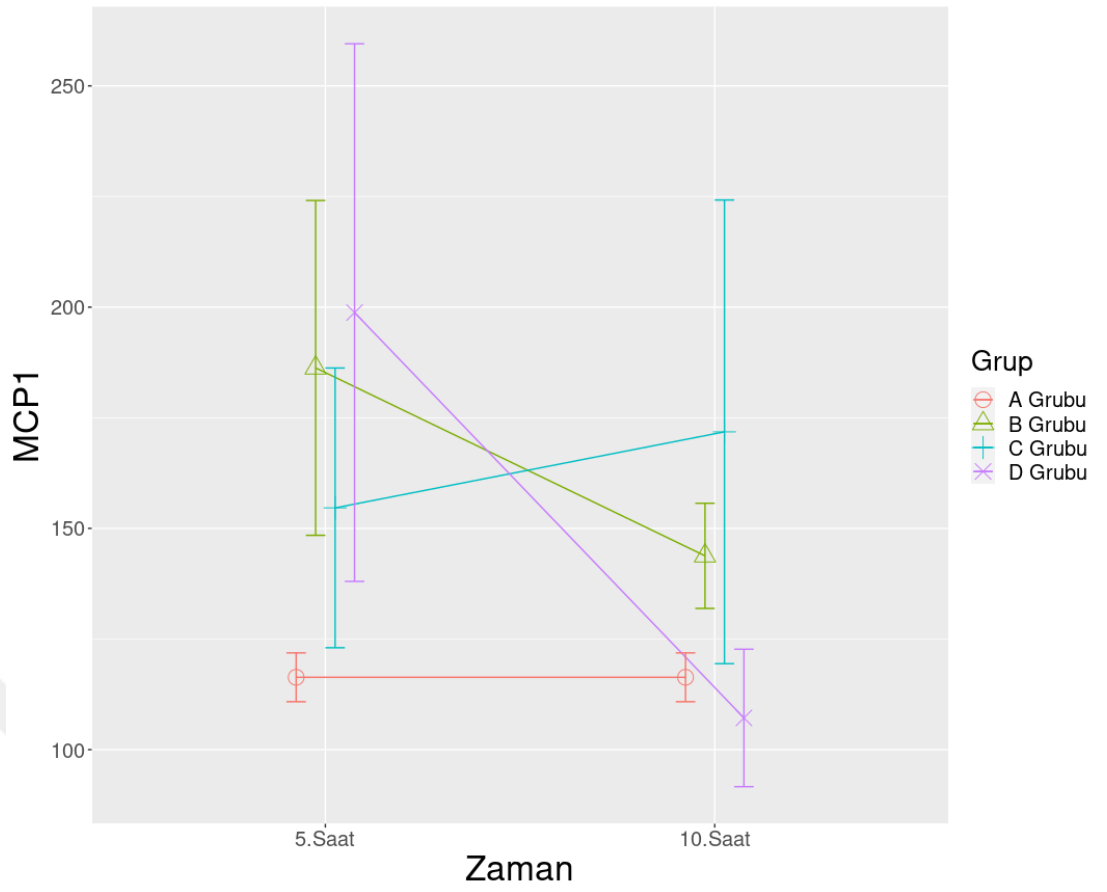
Contrast	Zaman	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
A Grubu - B Grubu	5.Saat	-19.558	13.892	52.823	-1.408	0.500
A Grubu - C Grubu	5.Saat	-61.934	13.892	52.823	-4.458	0.000
A Grubu - D Grubu	5.Saat	-70.195	13.892	52.823	-5.053	0.000
B Grubu - C Grubu	5.Saat	-42.376	13.892	52.823	-3.050	0.018
B Grubu - D Grubu	5.Saat	-50.637	13.892	52.823	-3.645	0.003
C Grubu - D Grubu	5.Saat	-8.261	13.892	52.823	-0.595	0.933
A Grubu - B Grubu	10.Saat	-23.339	13.892	52.823	-1.680	0.344
A Grubu - C Grubu	10.Saat	-5.438	13.892	52.823	-0.391	0.979
A Grubu - D Grubu	10.Saat	-8.302	13.892	52.823	-0.598	0.932
B Grubu - C Grubu	10.Saat	17.901	13.892	52.823	1.289	0.574
B Grubu - D Grubu	10.Saat	15.037	13.892	52.823	1.082	0.702
C Grubu - D Grubu	10.Saat	-2.864	13.892	52.823	-0.206	0.997

Tablo 21 : IL17 İçin İkili Karşılaştırmalar- Grup İçi p Değerleri

Contrast	Grup	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
5.Saat - 10.Saat	A Grubu	0.000	12.069	28.000	0.000	1.000
5.Saat - 10.Saat	B Grubu	-3.781	12.069	28.000	-0.313	0.756
5.Saat - 10.Saat	C Grubu	56.496	12.069	28.000	4.681	0.000
5.Saat - 10.Saat	D Grubu	61.893	12.069	28.000	5.128	0.000

4.1.5. MCP-1 Sonuçları

- MCP1, LPS enjeksiyonu sonrası kontrol değeri (Grup A) olan $116,34 \pm 6,17$ 'den 5. Saatte $186,26 \pm 45,25$ 'e anlamlı olarak yükselmiştir.($p=0,006$). 10. Saatte $143,79 \pm 14,21$ 'e ($p=0,538$) yükselmiştir (Grup B).
- Kontrol değerine kıyasla ip LPS ve 2 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,001$) (Grup D) MCP-1 değerleri 5.saatte anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
- LPS grubu sonuçlarına kıyasla, ip LPS ve 1 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası (Grup C) 5. Saatte $154,63 \pm 37,8$ olan değer (0,415) 10. Saatte $171,82 \pm 20,51$ ($p=0,521$) olarak ölçülmüştür. Grup D'de ise bu değerler 5. saate $198,77 \pm 72,66$ ($p=0,927$) 10. Saatte ise $107,16 \pm 18,57$ ($p=0,286$) olmuştur.
- İ.p. LPS ve 1 mg/kg levosimendan grubuna (Grup C) kıyasla, ip LPS ve 2 mg/kg levosimendan (Grup D) 10.saatte $171,84 \pm 20,51$ 'den $107,16 \pm 18,57$ 'ye anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,013$).
- Kontrol grubuna kıyasla, ip LPS ve 1 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası ($p=0,042$) (Grup C) MCP-1 değerleri 10.saatte istatiksel olarak anlamlı yükselmiştir.
- Grupların iki zaman dilimi kıyaslandığında ip LPS ve 1 mg/kg levosimendan (Grup C) 10.saatte ($p=0,047$) ve ip LPS ve 2 mg/kg levosimendan (Grup D) 10.saatte anlamlı olarak azalmıştır.($p=0,000$)
- MCP-1 için yapılan Mixed model analizinde zaman ($p=0,006$), grup ($p=0,004$) ve zaman-grup ($p=0,002$) anlamlı bulunmuştur (MCP1 grafiği).



MCP-1 Analizi

Tablo 22 : MCP-1 İçin Zaman, Grup ve Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri

etki	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Zaman	1	56.000	8.206	0.006
Grup	3	56.000	4.935	0.004
Zaman:Grup	3	56.000	5.666	0.002

Tablo 23 : MCP-1 İçin İkili Karşılaştırmalar- Gruplar Arası ve p Değerleri

contrast	Zaman	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
A Grubu - B Grubu	5.Saat	-69.913	20.401	56.000	-3.427	0.006
A Grubu - C Grubu	5.Saat	-38.287	20.401	56.000	-1.877	0.250
A Grubu - D Grubu	5.Saat	-82.423	20.401	56.000	-4.040	0.001
B Grubu - C Grubu	5.Saat	31.627	20.401	56.000	1.550	0.415
B Grubu - D Grubu	5.Saat	-12.510	20.401	56.000	-0.613	0.927
C Grubu - D Grubu	5.Saat	-44.137	20.401	56.000	-2.163	0.146
A Grubu - B Grubu	10.Saat	-27.449	20.401	56.000	-1.345	0.538
A Grubu - C Grubu	10.Saat	-55.471	20.401	56.000	-2.719	0.042
A Grubu - D Grubu	10.Saat	9.184	20.401	56.000	0.450	0.969
B Grubu - C Grubu	10.Saat	-28.023	20.401	56.000	-1.374	0.521
B Grubu - D Grubu	10.Saat	36.633	20.401	56.000	1.796	0.286
C Grubu - D Grubu	10.Saat	64.655	20.401	56.000	3.169	0.013

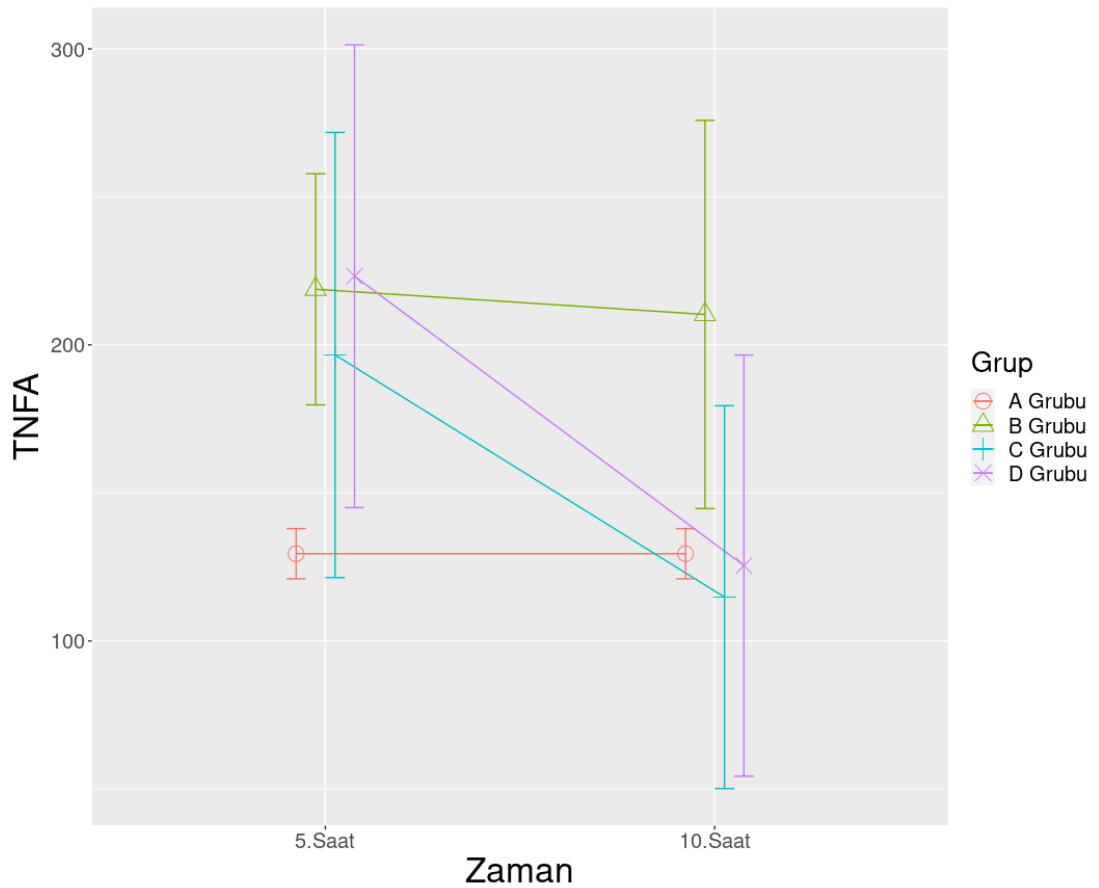
Tablo 24 : MCP-1 İçin İkili Karşılaştırmalar- Grup İçi ve p Değerleri

contrast	Grup	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
5.Saat - 10.Saat	A Grubu	0.000	20.401	28.000	0.000	1.000
5.Saat - 10.Saat	B Grubu	42.464	20.401	28.000	2.081	0.047
5.Saat - 10.Saat	C Grubu	-17.185	20.401	28.000	-0.842	0.407
5.Saat - 10.Saat	D Grubu	91.607	20.401	28.000	4.490	0.000

4.1.6. TNF α Sonuçları

- TNF- α , LPS enjeksiyonu sonrası kontrol değeri (Grup A) olan 129,46 $\pm$ 10,14'den 5. Saatte 212,53 $\pm$ 54,28'e (0,061), 10. Saatte 210,27 $\pm$ 78,44'e (p=0,105) yükselmiştir (Grup B).
- Kontrol değerine kıyasla ip LPS ve 2 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası (p=0,045) (Grup D) TNF- α değerleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

- LPS grubu (grup B) sonuçlarına kıyasla, ip LPS ve 1 mg/kg uygulanan levosimendan sonrası (Grup C) 5. Saatte $196,58 \pm 19,02$ olan değer ($p=0,919$) 10. Saatte $114,78 \pm 63,75$ ($p=0,04$) olarak ölçülmüştür. Grup D’de ise bu değerler 5. saatte $223,20 \pm 43,28$ ($p=0,999$) 10. Saatte ise $125,42 \pm 20,98$ ($p=0,082$) olmuştur.
- Grupların iki zaman dilimi kıyaslandığında ip LPS ve 1 mg/kg levosimendan grubu (Grup B) 5.saatten 10. saate anlamlı olarak azalmıştır. ($p=0,009$) . ip LPS ve 2 mg/kg levosimendan grubu (Grup D) da 5. saatten 10. saate anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,002$).
- TNF- α için yapılan Mixed model analizinde zaman ($p=0,003$), grup ($p=0,035$) ve zaman-grup ($p=0,051$) anlamlı bulunmuştur (TNF- α grafiği).



TNF- α Analizi

Tablo 25 : TNF- α İçin Zaman, Grup, Zaman*Grup Anlamlılık Değerleri

etki	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
Zaman	1	28.000	10.380	0.003
Grup	3	28.000	3.282	0.035
Zaman:Grup	3	28.000	2.927	0.051

Tablo 26 : TNF- α İçin İkili Karşılaştırmalar-Gruplar Arası ve p Değerleri

contrast	Zaman	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
A Grubu - B Grubu	5.Saat	-89.318	34.729	51.555	-2.572	0.061
A Grubu - C Grubu	5.Saat	-67.122	34.729	51.555	-1.933	0.227
A Grubu - D Grubu	5.Saat	-93.740	34.729	51.555	-2.699	0.045
B Grubu - C Grubu	5.Saat	22.196	34.729	51.555	0.639	0.919
B Grubu - D Grubu	5.Saat	-4.422	34.729	51.555	-0.127	0.999
C Grubu - D Grubu	5.Saat	-26.618	34.729	51.555	-0.766	0.869
A Grubu - B Grubu	10.Saat	-80.815	34.729	51.555	-2.327	0.105
A Grubu - C Grubu	10.Saat	14.676	34.729	51.555	0.423	0.974
A Grubu - D Grubu	10.Saat	4.036	34.729	51.555	0.116	0.999
B Grubu - C Grubu	10.Saat	95.491	34.729	51.555	2.750	0.040
B Grubu - D Grubu	10.Saat	84.851	34.729	51.555	2.443	0.082
C Grubu - D Grubu	10.Saat	-10.640	34.729	51.555	-0.306	0.990

Tablo 27 : TNF- α İçin İkili Karşılaştırmalar-Grup İçi ve p Değerleri

contrast	Grup	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
5.Saat - 10.Saat	A Grubu	0.000	29.189	28.000	0.000	1.000
5.Saat - 10.Saat	B Grubu	8.503	29.189	28.000	0.291	0.773
5.Saat - 10.Saat	C Grubu	81.798	29.189	28.000	2.802	0.009
5.Saat - 10.Saat	D Grubu	97.776	29.189	28.000	3.350	0.002

Çalışmamızda değerleri ölçülen altı sitokin (IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1, TNF- α) tümünde, kontrol grubundaki sitokin seviyelerinin ortalamasına intraperitoneal olarak bakteriyel LPS enjeksiyonuyla deneysel sepsis modeli oluşturulan ratların sitokin seviyelerinin ortalamalarının daha yüksek olduğu bulundu (Tablo 6). Mevcut sonuç, literatürde ratlarda ip LPS enjeksiyonu sonucu sitokin yapımının arttığı sonuçları ile uyumluydu. (74) (77) (75)

Düşük ve yüksek doz levosimendan verilen ratların sitokin düzeylerinin ortalamalarının, sepsis grubundakilerin ortalamalarına göre özellikle 10.saate daha düşük olduğu görüldü. Bu durum düşük ve yüksek doz levosimendanın deneysel sepsis modelinde sitokin üretimini baskılayabileceğini şeklinde değerlendirildi.

5.TARTIŞMA

Sepsis, mikroorganizmalara karşı konağın aşırı immün yanıt vermesi sonucu oluşan, yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olan, oldukça önemli bir halk sağlığı sorunudur. Spekturumu oldukça geniş antibiyoterapiye rağmen günümüzde dahi pekçok klinisyeni de zor yönetimi ve yıkıcı sonuçları sebebiyle oldukça uğraştıran önemli bir klinik durum olmaya devam etmektedir. Sepsis patogenezinin sorumlu olan yıkıcı proinflamatuvar sitokinlerin salınması, kritik hastalık sırasında morbidite ve mortalitenin önde gelen sebeplerinden biri olan sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ile sonuçlanır. Bu aşırı inflamatuvar yanıtı durduracak etkin bir medikal tedavi ise maalesef bulunmamaktadır. Bu sebeple sepsis tedavisi için yapılan çalışmalar oldukça kıymetlidir ve ilgi görmektedir. (78)

Bu amaca yönelik olarak deneysel hayvan modelleri çok sık kullanılmaktadır. Sepsis modelini oluşturmak için pek çok metot bulunmaktadır; çekum bağlama ve delme modeli, iv/ip bakteriyel materyal (LPS), bakteri enjeksiyonu veya aşılama, fekal sepsis modeli bunlardandır. Bunların içinde insan sepsisine en yakın olan çekal ligasyon ve ponksiyon modelidir, ancak; insan sepsisini net olarak karşılayan bir model yoktur. Bizim bu çalışmadaki hipotezimiz; sepsis patogenezinin temel sebeplerinden biri olan proinflamatuvar sitokin yapımını, buna sekonder oluşacak olan inflamatuvar hasarı, antiinflamatuvar özelliği bilinen levosimendan ile baskılayabilmek ve levosimendanın önemli bir sepsis tedavi seçeneği olabileceğiydi.

Çalışmamızda sepsis oluşturabilmek için ip LPS tercih etmemizin sebebi, ip LPS verilmesinin kolay uygulanması, ihtiyaç halinde tekrarlanabilmesi, daha uygun standardizasyon koşullarını karşılaması ve Gr (-) enfeksiyon etkilerini başarıyla karşılayabilmesiydi.

Çalışmamızda 6 adet proinflamatuvar sitokin çalıştık. (IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1, TNF- α) Sepsis grubunda (Grup B) tüm sitokinlerin ortalamalarının, hem 5.saat hem de 10.saatte , kontrol grubundaki ratlardan daha yüksek olduğu bulundu. Ayrıca klinik gözlem ve ölçüme dayalı olarak uygulanan Murine Sepsis Skorundaki analizimiz de deneysel modellememizin başarılı olduğunu göstermekte idi.

TNF- α , sepsis patofizyolojisinde öncelikle suçlanan sitokindir. Literatüre bakıldığında TNF- α ile sepsisin olumsuz klinik sonuçları bağlantılıdır. TNF- α sepsiste hızlı ve ilk yükselip, bazal düzeyine de en hızlı dönen sitokin olma özelliği taşır. Wang ve ark yaptığı bir çalışmada; çekal ligasyon ve ponksiyon yöntemi ile farelerde sepsis oluşturulmuş, farelere levosimendan verilerek akut akciğer hasarına karşı bir koruma sağlamaya çalışmışlardır, verilen levosimendan sayesinde septik farelerde akciğerlerde proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ile IL-6'nın ve kemotaktik sitokinlerin yüksek seviyelerinin büyük ölçüde inhibe edildiğini bildirmişlerdir. (79)

Bizim çalışmamızda TNF- α düzeyi sepsis grubunda, kontrol grubuna göre hem 5. Hem de 10.saatte yüksekti, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sepsis+ yüksek doz levosimendan grubunda 5.saatte, kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek, sepsis+ düşük doz levosimendan grubunda 10.saatte anlamlı olarak düşük ve bazal değere yaklaşık olarak bulundu. Sepsis+ yüksek doz levosimendan ve sepsis+düşük doz levosimendan grupları kendi içlerinde de anlamlı olarak 10.saatte daha düşük bulundu, bu durum levosimendanın sepsiste TNF- α 'yı baskıladığını göstermektedir.

IL-6 post-enfeksiyon 4-6.saatte pik değerine ulaşır. Yaklaşık 10-12 gün kadar de kanda saptanabilir düzeydedir. Klinik olarak da ateş oluşumu ve akut faz reaktan üretimi gibi IL-1 ile benzer etkileri mevcuttur. Aynı zamanda antiinflamatuvar etkinliği de vardır. IL-1 ve TNF- α üretimini inhibe eder. Pek çok çalışmada IL-6'nın mortalite artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (80). Huang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada LPS ile ratlarda oluşturulan deneysel sepsis modelinde düşük ve

yüksek doz levosimendan uygulamış, hemostaz düzensizliğini ve çoklu organ disfonksiyonunu hafiflettiğini bulmuşlardır. Her 2 ilaç grubunda da IL-6 ve IL-1 seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir. (74) Polat ve ark yaptığı bir çalışmada, bağırsak iskemi-reperfüzyon modeli kullanılarak sepsis oluşturulmuş, düşük ve yüksek doz levosimendan verilerek bağırsak dokularındaki değişiklik ve plazma IL-6, TNF- α ve IL-1 düzeyleri çalışılmış, her 2 grupta da levosimendanın proinflamatuvar sitokinlerin plazma değerlerini kontrol grubuna göre azalttığını bildirmişlerdir. (73) Bizim çalışmamızda da IL-6 değeri 5.saatte kontrol grubuna kıyasla sepsis+ düşük doz levosimendan ve sepsis+yüksek doz levosimendan grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sepsis+yüksek doz levosimendan grubunda 5. saatten 10.saate anlamlı olarak IL-6 düzeyi düşük bulunmuştur. Bu da bize yüksek doz levosimendanın sepsiste IL-6'yı baskıladığını göstermektedir.

IL-8, esas olarak mikroglia ve astrositler tarafından sentezlenir ve salınır, inflamatuvar yanıtın erken dönemlerinde üretilip günler veya haftalarca plazmada ölçülebilir düzeydedir. Çeşitli inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda önemli rolü vardır. Krychtiuk ve ark yaptığı bir çalışmada; myokardial nekroza bağlı kardiyak miyosit ve kalp mikrovasküler endotel hücrelerinde levosimendanın antiinflamatuvar etkinliğini göstermişler, in vitro olarak IL-8 ve IL-6 ekspresyonunun azaldığını bildirmişlerdir. (81) Bizim çalışmamızda da sadece sepsis+yüksek doz levosimendan grubunda 5.satten 10.saate anlamlı olarak IL-8 seviyesinde düşüş bulunmuştur.

IL-17 başlıca granülopoez faktörleri ve nötrofillere özgü kemokinlerin indüklenmesini içeren güçlü bir inflamatuvar yanıtı başlatma yeteneğiyle tanınır. TNF- α ile birlikte çok sayıda hedef gen ekspresyonunu up-regüle ederek inflamatuvar yolağı aktifler. Freitas ve ark yapmış olduğu bir çalışmada çekal ligasyon ve ponksiyon ile indüklenen sepsis modelinde, IL-17'nin göç eden nötrofillerin mikrobisidal aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir. (82) Ding ve ark yapmış olduğu bir çalışmada, sepsis kaynaklı akut solunum sıkıntısı sendromu olan hastalarda artmış IL-17A gözlenmiş; IL-17 antikor uygulaması, ROR γ t seviyesini ve PI3K yolunu etkileyerek akut akciğer hasarı semptomlarını hafiflettiği bildirilmiştir. (83) Meng ve ark yapmış olduğu bir başka çalışmada ise IL-17A nötralizasyonunun, bariyer bütünlüğünü koruduğu ve septik farelerin hayatta kalmasını sağladığı bildirilmiştir. (84) Bizim çalışmamızda 5.saatte kontrol grubu ile sepsis+düşük doz levosimendan ve sepsis+yüksek doz levosimendan karşılaştırıldığında; IL-17 seviyeleri anlamlı

olarak yüksek bulundu. Sepsis grubu ile sepsis+düşük doz levosimendan ve sepsis+yüksek doz levosimendan grupları karşılaştırıldığında da yine IL-17 seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulundu. Sepsis+düşük doz levosimendan ve sepsis+yüksek doz levosimendan grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında; 10.saat değerleri, 5.saat değerlerine göre anlamlı olarak düştü, bu durum levosimendanın proinflatuar sitokin olan IL-17'yi inhibe ettiğini göstermektedir.

MCP-1, mononükleer hücrelerin güçlü bir kemoatraktanı ve sepsiste düzenleyici bir araçtır. MCP-1, sepsiste proinflatuar ve antiinflatuar sitokinler arasındaki dengeyi korumak için temel bir immünmodulatördür. Sepsis ve septik şoku olan yetişkin hastalarda yüksek MCP-1 konsantrasyonları bildirilmiştir. Behnes ve ark yapmış olduğu bir çalışmada, yoğun bakım ünitesinde yatan sepsis veya septik şokun başlamasından sonraki 30 gün ve 6. ayda tüm nedenlere bağlı mortaliteyi öngörmek için önemli prognostik faktör olabileceği ortaya konmuştur. (85) Zhu ve ark yapmış olduğu prospektif bir kohort çalışmasında; MCP-1'in sepsis tanı ve prognozunda prediktif bir belirteç olarak kullanılabileceğini savunmuşlardır. (86) Yuxiao ve ark yaptığı bir çalışmada ip LPS ile sepsis oluşturulup ip levosimendan verilerek sıçan kardiyomiyositlerinde IL-1 ve MCP-1 seviyelerine bakılmış, levosimendanın LPS ile indüklenen apoptozu, IL-1 ve MCP-1 salınımını azalttığını bildirmişlerdir. (87)

Biz de çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla sepsis grubu ve sepsis+ yüksek doz levosimendan grubunda 5.saat değerlerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulduk.10.saatte ise, sepsis+düşük doz levosimendan grubuna kıyasla sepsis+yüksek doz levosimendan grubunda anlamlı olarak düşüş bulduk, bu da yüksek doz levosimendanın MCP-1'i sepsiste baskılayabileceğini göstermektedir. Sepsis grubu ve sepsis+ yüksek doz levosimendan grupları da kendi içlerinde 10.saat değerleri 5.saat değerlerinden anlamlı olarak daha düşük bulundu. Yine burda da yüksek doz levosimendanın antiinflatuar etkinliği görülmektedir.

TNF- α , akut ve kronik inflammatuar yanıtların önemli bir pleiotropik aracıdır. Hem diğer kemokinlerin ve sitokinlerin üretimini destekler, hem de hücre apoptozunu ve proliferasyonunu düzenleyebilir. Bunun yanı sıra, anti-tümör yanıtların, kontrol enflamasyonunun ve bağışıklık sistemi homeostazının yanında çeşitli fizyolojik süreçlerde de rol alır. Zager ve ark yaptığı bir çalışmada, ratlara LPS

verilerek sepsis oluşturulmuş, levosimendan tedavisi sonucunda ratların akut böbrek hasarı histolojik olarak ve plazma TNF- α ve MCP-1 düzeyleri ile değerlendirilmiştir. Levosimendan, hem histopatolojik hem de plazma TNF- α ile MCP-1 düzeylerini belirgin azalttığını bildirmişlerdir. (88) Sakaguchi ve ark yaptığı bir çalışmada; LPS verilerek deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda levosimendanın nitroz oksit aracılı hepatoprotektif etkilerini görebilmek için histopatolojik olarak incelenmiş, plazma örneklerinde de TNF- α , IL-6 ve IL-1 β çalışılmış ve düşük bulunmuştur. (89) 2017 yılında Ateş ve ark yaptığı bir çalışmada; künt göğüs travması oluşturulan ratlara düşük ve yüksek doz levosimendan intravenöz uygulanmış, 6 saat sonra serum örneklerinde düşük ve yüksek doz levosimendanın IL-1 seviyesini azalttığını, yüksek dozun IL-6 ve NO seviyesini azalttığını ancak TNF- α seviyesini ise her 2 dozun da azaltmadığını bildirmişlerdir. (90) Yine Sakaguchi ve ark yapmış olduğu bir çalışmada intravenöz LPS uygulaması ardından tek doz ip levosimendan verilmiş, 1.saatte alınan numunelerde TNF- α , IL-1 ve IL-6 seviyeleri anlamlı azalmışken, 4.saatte alınan numunelerde anlamlı bir azalma olmadığını bildirmişlerdir. (91)

Biz de çalışmamızda 5.saatte kontrol grubuna göre sepsis+ yüksek doz levosimendan grubunda anlamlı bir yükseliş bulduk.10.saatte ise sepsis grubuna kıyasla sepsis+ düşük doz levosimendan grubunda TNF- α seviyesini anlamlı olarak düşük bulduk. Yine sepsis+ düşük doz levosimendan grubu ve sepsis+ yüksek doz levosimendan gruplarında kendi içinde 5.saatten 10.saate anlamlı olarak TNF- α seviyesini düşük bulduk. Böylece hem düşük, hem de yüksek doz levosimendanın sepsiste antiinflamatuvar etkinliği ile TNF- α 'yı baskıladığını göstermiş olduk.

Mevcut çalışmamızın bazı sınırlılıkları da mevcuttu. Öncelikle etik değerler göz önünde bulundurarak, minimum sayıda deney hayvanıyla çalıştık. Sepsis modellemesi yapılan ratlardan kısa sürede kan numuneleri aldık. Daha uzun sürede levosimendan infüzyonu ile yapılabilecek daha geniş kapsamlı deneyler ile daha ayrıntılı sonuçlar edinilebilir. Klinikte sepsis hastalarının pek çoğunda altta yatan hastalıkları ve komorbiditeleri mevcuttur, bizim çalışmamız önceden sağlıklı olduğu bilinen ratlarda oldukça kontrollü şartlar altında yürütülmüştür. Çalışmamızda levosimendanın organ disfonksiyonu oluşturabilme ihtimalini göz önünde

bulundurarak antibiyotik kullanmadık. Ayrıca klinik kullanımdaki sürekli levosimendanın infüzyonunun yalnızca iki farklı ip dozunu kullandık. Daha uzun tedavi süresinin daha iyi antiinflamatuvar sonuçlar verme ihtimalini göz ardı edemeyiz.

6.SONUÇ

Ratlarda oluşturulan deneysel sepsis modeli kullandığımız çalışmamızın sonuçları şöyledir: Wistar-albino tipi ratlara ip LPS verildiğinde kontrol grubu dışındaki ratlarda sepsis oluşmaktadır. Deneysel sepsis oluşturmak amacıyla LPS enjekte edilen ve klinik sepsis belirtileri gözlenen ve biyokimyasal olarak sepsis tanısı desteklenen ratlara ip düşük doz (1 mg/kg) levosimendan verildiğinde; 5. Saatte yükselen proinflamatuvar sitokinler IL-1, IL-17, MCP-1 ve TNF- α , 10.saatte anlamlı bir şekilde azalmaktadır. Yüksek doz (2 mg/kg) levosimendan verildiğinde ise; IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1 ve TNF- α sitokin düzeyleri anlamlı şekilde azalmaktadır. IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1 'de yüksek doz levosimendan, düşük doz levosimendana göre 10. Saatte sitokin değerlerini, bazal değere daha çok yaklaştırmış; IL-17 ve TNF- α 'da düşük doz levosimendan, yüksek doz levosimendana göre sitokin değerlerini bazal değere daha çok yaklaştırmıştır.

Bu sonuçlar neticesinde, sepsisin erken döneminde verilen levosimendan tedavisi ratların sepsise verdiği sitokin cevabını baskılayabilmektedir. Proinflamatuvar sitokin yanıtları levosimendan dozunun yanı sıra her sitokinin özelliklerine göre farklılık göstermektedir.

Bu araştırma levosimendanın antiinflamatuvar etkilerini daha iyi anlamamıza ve sepsis gibi inflamatuvar durumların tedavisinde yeni yaklaşımlar geliştirilmesine yardımcı olabilir. Klinik olarak farklı endikasyonlarda kullanım onayı olan Levosimendanın, sitokinlerin üretimi, immün hücre fonksiyonları ve inflamasyon süreçlerini nasıl etkilediğini inceleyen daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

7.KAYNAKLAR

1. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol* 2017;17:407-20.
2. Gabarin RS, Li M, Zimmer PA, Marshall JC, Li Y, Zhang H. Intracellular and Extracellular Lipopolysaccharide Signaling in Sepsis: Avenues for Novel Therapeutic Strategies. *J Innate Immun* 2021;13:323-32.
3. Trzeciak S, Cinel I, Phillip Dellinger R, et al. Resuscitating the microcirculation in sepsis: the central role of nitric oxide, emerging concepts for novel therapies, and challenges for clinical trials. *Acad Emerg Med* 2008;15:399-413.
4. Tsao CM, Li KY, Chen SJ, et al. Levosimendan attenuates multiple organ injury and improves survival in peritonitis-induced septic shock: studies in a rat model. *Crit Care* 2014;18:652.
5. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word "sepsis". *Intensive Care Med* 2006;32:2077.
6. Gyawali B, Ramakrishna K, Dhamoon AS. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Med* 2019;7:2050312119835043.
7. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin* 2009;25:83-101, viii.
8. Cohen S, Bigazzi PE, Yoshida T. Commentary. Similarities of T cell function in cell-mediated immunity and antibody production. *Cell Immunol* 1974;12:150-9.
9. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017;43:304-77.
10. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992;101:1644-55.
11. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003;29:530-8.
12. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* 2016;315:801-10.
13. Kaukonen KM, Bailey M, Bellomo R. Systemic Inflammatory Response Syndrome Criteria for Severe Sepsis. *N Engl J Med* 2015;373:881.
14. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med* 1998;26:1793-800.
15. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* 2016;315:762-74.
16. Brunetti E, Isaia G, Rinaldi G, et al. Comparison of Diagnostic Accuracies of qSOFA, NEWS, and MEWS to Identify Sepsis in Older Inpatients With Suspected Infection. *J Am Med Dir Assoc* 2022;23:865-71.e2.
17. Adhikari NK, Fowler RA, Bhagwanjee S, Rubenfeld GD. Critical care and the global burden of critical illness in adults. *Lancet* 2010;376:1339-46.
18. Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2020;46:1552-62.

19. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303-10.
20. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* 2014;5:4-11.
21. Black RE, Cousens S, Johnson HL, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. *Lancet* 2010;375:1969-87.
22. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama* 2009;302:2323-9.
23. Bilevicius E, Dragosavac D, Dragosavac S, Araújo S, Falcão AL, Terzi RG. Multiple organ failure in septic patients. *Braz J Infect Dis* 2001;5:103-10.
24. Vincent JL, Lefrant JY, Kotfis K, et al. Comparison of European ICU patients in 2012 (ICON) versus 2002 (SOAP). *Intensive Care Med* 2018;44:337-44.
25. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013;39:165-228.
26. Tang GJ, Huang SL, Yien HW, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism and septic shock in surgical infection. *Crit Care Med* 2000;28:2733-6.
27. Thompson CM, Holden TD, Rona G, et al. Toll-like receptor 1 polymorphisms and associated outcomes in sepsis after traumatic injury: a candidate gene association study. *Ann Surg* 2014;259:179-85.
28. Prescott HC, Dickson RP, Rogers MA, Langa KM, Iwashyna TJ. Hospitalization Type and Subsequent Severe Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;192:581-8.
29. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *Jama* 1995;274:639-44.
30. Williams MD, Braun LA, Cooper LM, et al. Hospitalized cancer patients with severe sepsis: analysis of incidence, mortality, and associated costs of care. *Crit Care* 2004;8:R291-8.
31. Falagas ME, Kompoti M. Obesity and infection. *Lancet Infect Dis* 2006;6:438-46.
32. Dremsizov T, Clermont G, Kellum JA, Kalassian KG, Fine MJ, Angus DC. Severe sepsis in community-acquired pneumonia: when does it happen, and do systemic inflammatory response syndrome criteria help predict course? *Chest* 2006;129:968-78.
33. Jones GR, Lowes JA. The systemic inflammatory response syndrome as a predictor of bacteraemia and outcome from sepsis. *Qjm* 1996;89:515-22.
34. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013;369:840-51.
35. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991;115:457-69.
36. Wright SD, Detmers PA, Aida Y, et al. CD18-deficient cells respond to lipopolysaccharide in vitro. *J Immunol* 1990;144:2566-71.
37. Landmann R, Zimmerli W, Sansano S, et al. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gram-negative septic shock. *J Infect Dis* 1995;171:639-44.
38. Kirschenbaum LA, Aziz M, Astiz ME, Saha DC, Rackow EC. Influence of rheologic changes and platelet-neutrophil interactions on cell filtration in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1602-7.
39. Coopersmith CM, Stromberg PE, Dunne WM, et al. Inhibition of intestinal epithelial apoptosis and survival in a murine model of pneumonia-induced sepsis. *Jama* 2002;287:1716-21.
40. Sharshar T, Gray F, Lorin de la Grandmaison G, et al. Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock. *Lancet* 2003;362:1799-805.
41. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:98-104.

42. Ghosh S, Latimer RD, Gray BM, Harwood RJ, Oduro A. Endotoxin-induced organ injury. *Crit Care Med* 1993;21:S19-24.
43. Luce JM. Pathogenesis and management of septic shock. *Chest* 1987;91:883-8.
44. Takasu O, Gaut JP, Watanabe E, et al. Mechanisms of cardiac and renal dysfunction in patients dying of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187:509-17.
45. Latronico N, Bolton CF. Critical illness polyneuropathy and myopathy: a major cause of muscle weakness and paralysis. *Lancet Neurol* 2011;10:931-41.
46. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Crit Care Med* 2021;49:e1063-e143.
47. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 2021;47:1181-247.
48. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:775-86.
49. Boraschi D, Italiani P, Weil S, Martin MU. The family of the interleukin-1 receptors. *Immunol Rev* 2018;281:197-232.
50. Zheng Y, Humphry M, Maguire JJ, Bennett MR, Clarke MC. Intracellular interleukin-1 receptor 2 binding prevents cleavage and activity of interleukin-1 α , controlling necrosis-induced sterile inflammation. *Immunity* 2013;38:285-95.
51. Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, et al. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature* 2010;467:967-71.
52. Ridker PM, Rane M. Interleukin-6 Signaling and Anti-Interleukin-6 Therapeutics in Cardiovascular Disease. *Circ Res* 2021;128:1728-46.
53. Nordsieck K, Baumann L, Hintze V, et al. The effect of interleukin-8 truncations on its interactions with glycosaminoglycans. *Biopolymers* 2018;109:e23103.
54. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* 2007;8:942-9.
55. Dragon S, Rahman MS, Yang J, Unruh H, Halayko AJ, Gounni AS. IL-17 enhances IL-1 β -mediated CXCL-8 release from human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:L1023-9.
56. Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat Rev Immunol* 2009;9:556-67.
57. McDermott DH, Yang Q, Kathiresan S, et al. CCL2 polymorphisms are associated with serum monocyte chemoattractant protein-1 levels and myocardial infarction in the Framingham Heart Study. *Circulation* 2005;112:1113-20.
58. Melgarejo E, Medina MA, Sánchez-Jiménez F, Urdiales JL. Monocyte chemoattractant protein-1: a key mediator in inflammatory processes. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41:998-1001.
59. Jemaa R, Rojbani H, Kallel A, et al. Association between the -2518G/A polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene and myocardial infarction in Tunisian patients. *Clin Chim Acta* 2008;390:122-5.
60. Tanaka Y, Adams DH, Hubscher S, Hirano H, Siebenlist U, Shaw S. T-cell adhesion induced by proteoglycan-immobilized cytokine MIP-1 β . *Nature* 1993;361:79-82.
61. Harrington JR. The role of MCP-1 in atherosclerosis. *Stem Cells* 2000;18:65-6.
62. Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF--a primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 1989;7:625-55.
63. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, et al. Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. *Lancet Infect Dis* 2003;3:148-55.

64. Michels G, Herzig S, Hoppe UC. [Levosimendan]. *Dtsch Med Wochenschr* 2005;130:2444-6.
65. Antoniadou C, Tousoulis D, Koumallos N, Marinou K, Stefanadis C. Levosimendan: beyond its simple inotropic effect in heart failure. *Pharmacol Ther* 2007;114:184-97.
66. Figgitt DP, Gillies PS, Goa KL. Levosimendan. *Drugs* 2001;61:613-27; discussion 28-9.
67. Lehtonen LA, Anttila S, Pentikäinen PJ. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous inotropic agents. *Clin Pharmacokinet* 2004;43:187-203.
68. Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A, Rossi P, Wanecek M. Effects of levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:2185-93.
69. Avgeropoulou C, Andreadou I, Markantonis-Kyroudis S, et al. The Ca²⁺-sensitizer levosimendan improves oxidative damage, BNP and pro-inflammatory cytokine levels in patients with advanced decompensated heart failure in comparison to dobutamine. *Eur J Heart Fail* 2005;7:882-7.
70. Kyrzopoulos S, Adamopoulos S, Parissis JT, et al. Levosimendan reduces plasma B-type natriuretic peptide and interleukin 6, and improves central hemodynamics in severe heart failure patients. *Int J Cardiol* 2005;99:409-13.
71. Kivikko M, Anttila S, Eha J, Lehtonen L, Pentikäinen PJ. Pharmacodynamics and safety of a new calcium sensitizer, levosimendan, and its metabolites during an extended infusion in patients with severe heart failure. *J Clin Pharmacol* 2002;42:43-51.
72. Moiseyev VS, Pöder P, Andrejevs N, et al. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction. A randomized, placebo-controlled, double-blind study (RUSSLAN). *Eur Heart J* 2002;23:1422-32.
73. Polat B, Albayrak A, Halici Z, et al. The effect of levosimendan in rat mesenteric ischemia/reperfusion injury. *J Invest Surg* 2013;26:325-33.
74. Huang HC, Tsai HJ, Wang CC, et al. Levosimendan mitigates coagulopathy and organ dysfunction in rats with endotoxemia. *J Chin Med Assoc* 2017;80:432-41.
75. Abad C, Tan YV, Cheung-Lau G, Nobuta H, Waschek JA. VIP deficient mice exhibit resistance to lipopolysaccharide induced endotoxemia with an intrinsic defect in proinflammatory cellular responses. *PLoS One* 2012;7:e36922.
76. Sulzbacher MM, Sulzbacher LM, Passos FR, et al. Adapted Murine Sepsis Score: Improving the Research in Experimental Sepsis Mouse Model. *Biomed Res Int* 2022;2022:5700853.
77. Guo H, Ting JP. Inflammasome Assays In Vitro and in Mouse Models. *Curr Protoc Immunol* 2020;131:e107.
78. Lu LH, Chao CH, Yeh TM. Inhibition of autophagy protects against sepsis by concurrently attenuating the cytokine storm and vascular leakage. *J Infect* 2019;78:178-86.
79. Wang Q, Yokoo H, Takashina M, et al. Anti-Inflammatory Profile of Levosimendan in Cecal Ligation-Induced Septic Mice and in Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophages. *Crit Care Med* 2015;43:e508-20.
80. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol* 1990;8:253-78.
81. Krychtiuk KA, Watzke L, Kaun C, et al. Levosimendan exerts anti-inflammatory effects on cardiac myocytes and endothelial cells in vitro. *Thromb Haemost* 2015;113:350-62.
82. Freitas A, Alves-Filho JC, Victoni T, et al. IL-17 receptor signaling is required to control polymicrobial sepsis. *J Immunol* 2009;182:7846-54.
83. Ding Q, Liu GQ, Zeng YY, et al. Role of IL-17 in LPS-induced acute lung injury: an in vivo study. *Oncotarget* 2017;8:93704-11.
84. Meng J, Banerjee S, Li D, et al. Opioid Exacerbation of Gram-positive sepsis, induced by Gut Microbial Modulation, is Rescued by IL-17A Neutralization. *Sci Rep* 2015;5:10918.

85. Barre M, Behnes M, Hamed S, et al. Revisiting the prognostic value of monocyte chemotactic protein 1 and interleukin-6 in the sepsis-3 era. *J Crit Care* 2018;43:21-8.
86. Zhu T, Liao X, Feng T, et al. Plasma Monocyte Chemoattractant Protein 1 as a Predictive Marker for Sepsis Prognosis: A Prospective Cohort Study. *Tohoku J Exp Med* 2017;241:139-47.
87. Liu Y, Zhuang L, Chen C, Qi X, Ye S, Gu Z. Levosimendan Protects Cardiomyocytes from Sepsis-Induced Inflammation, Endoplasmic Reticulum Stress, and Cell Death. *JOURNAL OF BIOLOGICAL REGULATORS AND HOMEOSTATIC AGENTS* 2023;37:577-86.
88. Zager RA, Johnson AC, Lund S, Hanson SY, Abrass CK. Levosimendan protects against experimental endotoxemic acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;290:F1453-62.
89. Sakaguchi T, Sumiyama F, Kotsuka M, et al. Levosimendan Increases Survival in a D-Galactosamine and Lipopolysaccharide Rat Model. *Biomedicines* 2022;10.
90. Ateş G, Yaman F, Bakar B, Kısa U, Atasoy P, Büyükköçak Ü. Evaluation of the systemic antiinflammatory effects of levosimendan in an experimental blunt thoracic trauma model. 2017.
91. Sakaguchi T, Hashimoto Y, Matsushima H, et al. Levosimendan pretreatment improves survival of septic rats after partial hepatectomy and suppresses iNOS induction in cytokine-stimulated hepatocytes. *Scientific Reports* 2019;9:13398.

8.ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE LEVOSİMENDAN'IN PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Elif DEDELER ERTANIDIR

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ / Konya 2023

Amaç: Sepsis, enfeksiyona karşı konakta anormal sistemik inflamatuvar yanıtın ortaya çıkmasıyla meydana gelir. Antibiyotik tedavisi enfeksiyonu kontrol altına alamadığında sistemik inflamasyon engellenemez ve bu durum enfeksiyondan daha tehlikeli olabilir. Çalışmamızda ratlara i.p. bakteriyel lipopolisakkarit vererek deneysel sepsis modeli oluşturduk. Kardiyovasküler sistemde kullanılan bir ilaç olmasının yanı sıra antiinflamatuvar özelliği de bilinen Levosimendanın, sepsis patofizyolojisinde önemli yeri olan proinflamatuvar sitokin üretimi ve salınımı üzerine kısa süre içindeki etkisini göstermeyi amaçladık.

Yöntem: Wistar Albino tipi 32 rat rastgele 4 gruba ayrıldı. 1.Grup: Kontrol grubu; bu gruptaki ratlara hiçbir uygulama yapılmadı. 2.Grup: Sepsis grubu; bu ratlara deney günü 5 mg/ kg Lipopolisakkarit intraperitoneal olarak verildi. Grup 3: sepsis + düşük doz Levosimendan grubu; bu gruptaki ratlara deney günü 5mg/kg i.p.LPS verildi, 2 saat sonra 1mg/kg Levosimendan i.p. olarak uygulandı. Grup 4: sepsis+ yüksek doz Levosimendan grubu; bu gruptaki ratlara deney günü 5mg/kg i.p.LPS verildi, 2 saat sonra 2mg/kg Levosimendan i.p. olarak uygulandı. Grup 2'ye LPS uygulandıktan 5 saat sonra ratlar anestezize edilerek kuyruk veninden 1 ml kan alındı, Grup 3 ve Grup 4'ten LPS uygulandıktan 5 saat, Levosimendan verildikten 3 saat sonra anestezisi altında kuyruk venlerinden 1 ml kan alındı. Tüm gruplardan deney başlangıcından itibaren 10.saatte anestezisi altında intrakardiyak olarak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Alınan numuneler soğuk zincir ile biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. Tüm ratlardan IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1 ve TNF- α çalışıldı.

Bulgular : İP LPS verilerek oluşturduğumuz deneysel sepsis modeli, Murine Sepsis Skalası ile de desteklenerek kontrol grubu dışındaki gruplarda başarıyla oluşturulmuştur. Düşük doz Levosimendan tedavimiz; 10.saatte IL-1, IL-17, MCP-1, TNF- α proinflamatuvar sitokinleri anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Yüksek doz Levosimendan tedavimiz; IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1, TNF- α tüm proinflamatuvar sitokinleri anlamlı bir düzeyde azaltmıştır. IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1 'de yüksek doz Levosimendan, düşük doz Levosimendana göre sitokin değerlerini, bazal değere daha çok yaklaştırmış; IL-17 ve TNF- α 'da düşük doz Levosimendan, yüksek doz Levosimendana göre sitokin değerlerini bazal değere daha çok yaklaştırmıştır.

Sonuç: Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuç; Levosimendanın yüksek dozunun daha etkili olarak, sepsise verilen inflammatuar yanıtı baskılayabileceğidir. Levosimendan'ın antiinflammatuar potansiyelini daha iyi anlamamıza ve sepsis gibi inflammatuar durumların tedavisinde yeni yaklaşımlar geliştirmemize yardımcı olabilir. Klinik olarak farklı endikasyonlarda kullanım onayı olan bu ilacın, antiinflammatuar potansiyelini tam olarak anlamak için, Levosimendan'ın sitokinlerin üretimi, immün hücre fonksiyonları ve inflamasyon süreçlerini nasıl etkilediğini inceleyen daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: İnflamasyon, Levosimendan, proinflammatuar sitokin, sepsis.

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF LEVOSIMENDAN ON PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN EXPERIMENTAL SEPSIS

MODEL

Elif DEDELER ERTANIDIR, MD

DEPARTMENT OF ANESTHESIOLOGY AND REANIMATION

KONYA 2023

Aim: Sepsis occurs when an abnormal systemic inflammatory response occurs in the host to infection. When antibiotic therapy fails to control the infection, systemic inflammation cannot be prevented and this may be more dangerous than infection. In our study, we created an experimental sepsis model by giving intraperitoneal bacterial lipopolysaccharide to rats. We aimed to show the short term effects of Levosimendan, which is known for its anti-inflammatory properties in addition to being a drug used in the cardiovascular system, on the production and release of proinflammatory cytokines, which have an important place in the pathophysiology of sepsis.

Methods: Thirty two Wistar Albino type rats were randomly divided into 4 groups. Group 1: Control group; No application was made to the rats in this group. 2. Group: Sepsis group; 5 mg/kg Lipopolysaccharide was given intraperitoneally to these rats on the day of the experiment. Group 3: sepsis + low dose Levosimendan group; The rats in this group were given 5mg/kg i.p. LPS on the day of the experiment, 2 hours later 1mg/kg intraperitoneally Levosimendan implemented was administered intraperitoneally 2 hours later. Group 4: sepsis + high dose Levosimendan group; The rats in this group were given 5mg/kg of LPS intraperitoneally on the day of the experiment, and 2mg/kg of Levosimendan was administered intraperitoneally 2 hours later. 5 hours after LPS was applied to Group 2, rats were anesthetized and 1 ml of blood was taken from the tail vein. From Group 3 and Group 4, 1 ml of blood was taken from the tail veins under anesthesia 5 hours after LPS was applied and 3 hours after Levosimendan was given. The rats were sacrificed by intracardiac blood sampling from all groups at the 10th hour from the beginning of the experiment. The samples were sent to the biochemistry laboratory by cold chain. IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1 and TNF- α from all rats studied.

Results: The result of our study; Higher dose of levosimendan can more effectively suppress the inflammatory response to sepsis. It may help us better understand the anti-inflammatory potential of levosimendan and develop new approaches to the treatment of inflammatory conditions such as sepsis.

To fully understand the anti-inflammatory potential of this drug, which is clinically approved for use in different indications, further experimental and clinical studies are needed to examine how Levosimendan affects the production of cytokines, immune cell functions and inflammation processes.

Key Words: inflammation, levosimendan, proinflammatory cytokine, sepsis.

9.EKLER

EK 1: ETİK KURUL RAPORU

T.C. SELÇUK ÜNİVERSİTESİ DENEYSEL TIP UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI	
Karar Sayısı:2022-36	Toplantı Tarihi: 30.09.2022
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ateş Duman ve Araş. Gör. Elif Dedeler Ertanır, Dr. Öğr. Üyesi İpek Duman, Doç. Dr. Duygu Eryavuz Onmaz, Prof. Dr. Ali Ünüvar tarafından sunulan "Deneysel Sepsis Modelinde Levosimendan'ın Proinflatuar Sitokinler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması" başlıklı uzmanlık tezi projesi kurul tarafından değerlendirildi. Projede belirtilen anesteziik maddenin (Xylazine 10 mg/kg, Ketamin 50 mg/kg) kullanılması uygun görülmüştür. Projede belirtilen ve istatistiksel olarak en güvenilir sonuç elde edilebilecek asgari sayıda kullanılacak olan (32 adet sıçan) hayvan sayısı uygun görülmüştür. Projenin hayvan deneylerine ilişkin yönlerinin Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesinde belirtilen "Etik Kurallar" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesinde yer alan kurallar ve belirtilen "Hayvan Deneyleri ile ilgili Etik İlkeler" saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikasına" sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.	