

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

**YOĞUN BAKIMDA TAKİP EDİLEN SEPSİS
TANILI HASTALARDA MİKROZOMAL
RİBONÜKLEİK ASİTLERİN DAMAR
YAPISI, PROGNOZ VE MORTALİTE
İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ;
PROSPEKTİF RANDOMİZE KONTROLLÜ
ÇALIŞMA**

Dr. Elif SUNGUR

UZMANLIK TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Nazim DOĞAN

ERZURUM-2024



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Adı, Soyadı : Elif SUNGUR	Sınav tarihi: 19 / 12 / 2024
Anabilim Dalı : Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
Tez Danışmanı ve Atanma Tarihi: Prof.Dr.Nazim DOĞAN– 25.11.2021	
Tezin Konusu ve Başlığı : Yoğun Bakımda Takip Edilen Sepsis Tanılı Hastalarda Mikrozomal Ribonukleik Asitlerin Damar Yapısı, Prognoz ve Mortalite İlişkisinin İncelenmesi; Prospektif Randomize Kontrollü Çalışma	
Belirlenme Tarihi : 10.06.2022	
Tezin Niteliği : ☒ Tıpta Uzmanlık Tezi ☒ Klinik Çalışmalar (X) Prospektif () Retrospektif () Kesitsel ☐ Laboratuvar Çalışmaları () Invitro (Cansız) Çalışmaları () Hayvan Çalışmaları	
Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: ☒ Yüz yüze katılım sağlanarak ☐ Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)	

II. KARAR
Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçen tezcinin, jüri üyelerince “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak; ☒ Kabulüne
1.Tez Sınavı ☐ Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY’nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine)
2.Tez Sınavı ☐ Reddine (TUEY’nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişkisinin kesilmesine)
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

III. AÇIKLAMALAR
Hazır.

IV. JÜRİ ÜYELERİ				
	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Prof.Dr. Canan ATALAY	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Prof.Dr. Hüsnü KÜRŞAD	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Prof.Dr. Nazim DOĞAN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	

ONAY

“Yoğun Bakımda Takip Edilen Sepsis Tanılı Hastalarda Mikrozomal Ribonükleik Asitlerin Damar Yapısı, Prognoz ve Mortalite İlişkisinin İncelenmesi; Prospektif Randomize Kontrollü Çalışma” konulu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı’nın 22.06.2022 tarihli ve 7 No’lu oturumunun 41 No’lu kararı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nun 30.06.2022 tarihli ve 6 No’lu oturumunun 24 No’lu kararı ve 11402 proje ID’si, TTU-2022-11402 BAP projesi onay kodu ile Prof. Dr. Nazim DOĞAN denetiminde Araştırma Görevlisi Dr. Elif SUNGUR tarafından tez olarak çalışılması uygun görülmüş ve onay verilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ONAY	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLoların DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLERİN DİZİNİ.....	vii
KISALTMALAR	viii
TEŞEKKÜR	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Sepsis.....	4
2.1.1. Tanım	4
2.1.2. Epidemiyoloji.....	4
2.1.3. Etiyoloji	4
2.1.4. Patofizyolojisi	6
2.1.5. Klinik Bulgular	8
2.1.6. Sepsis Tedavisi ve Yönetimi.....	9
2.2. Prognostik Skorlama Yöntemleri	14
2.2.1. Glasgow Koma Skoru.....	14
2.2.2. Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirme Skoru	14
2.2.3. Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru	15
2.2.4. Basitleştirilmiş Akut Fizyoloji Skoru	16
2.3. Sepsiste Kullanılan Biyobelirteçler	16
2.4. Mikrozomal Ribonükleik Asit.....	18
2.4.1. miRNA Biyogenezi.....	18
2.4.2. miRNA Fonksiyonları.....	19
2.4.3. miRNA'nın Hastalıklarla ilişkisi	19
2.4.4. miRNA ve Sepsis.....	20
3. MATERYAL METOD	23
3.1. Total RNA İzolasyonu.....	24
3.2. cDNA Sentezi.....	26
3.3. qRT-PCR aşamaları.....	26

3.4. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ	50
7. KAYNAKLAR	51
8. EKLER	66
8.1. EK-1: APACHE-II Skorlama Sistemi	66
8.2. EK-2: SAPS-II Skorlama Sistemi	67



TABLÖLARIN DİZİNİ

Tablo 2.1 Sepsise Neden Olan Mikroorganizmalar ve Prevelansları.....	5
Tablo 2.2 Antimikrobiyal Tedavi Başlama Önerisi	11
Tablo 2.3 Glasgow Koma Skalası ve Puanlaması	14
Tablo 2.4 Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru.....	15
Tablo 3.1 qRT-PCR Döngü Basamakları.....	27
Tablo 4.1 Hasta Grubuna Ait Sosyodemografik Veriler, Laboratuvar ve Yoğun Bakım Skorları	29
Tablo 4.2 Hasta Grubuna Ait Ek Hastalıklar.....	30
Tablo 4.3 Hasta Grubuna Ait Ek Hastalıklara Göre Mortalite Oranları.....	30
Tablo 4.4 Hasta Grubunda Mortaliteye Göre Bazı Numerik Verilerin Değerlendirilmesi.....	31
Tablo 4.5 Sağlıklı Gönüllü Grubu İçin RT-PCR Ct Değerleri.....	32
Tablo 4.6 Hasta Grubu İçin RT-PCR Ct Değerleri	33
Tablo 4.7 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarına Göre Yaş ve SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p Ortalama Ct Değerlerinin Karşılaştırılması	34
Tablo 4.8 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarında hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-23b-5p ve SNORD48 için Tespit Edilen Ortalama Ct Değerleri.....	35
Tablo 4.9 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarında hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-23b-5p ve SNORD48 için Tespit Edilen Delta Ct Değerleri.....	35
Tablo 4.10 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarında hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-23b-5p ve SNORD48 için Tespit Edilen Kat Değişimi ..	36
Tablo 4.11 Hasta Grubunda SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p Genlerinin Sağlıklı Gönüllü Grubuna Kıyaslanarak Belirlenen Ekspresyonu ve p Değerleri	37
Tablo 4.12 Hasta Grubunda Mortaliteye Göre Ekspresyonun Değerlendirilmesi	37

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Şekil 2.1 miRNA Biyogenezinin Şematik Gösterimi	19
Şekil 4.1 miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p Genlerinin Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Grubundaki Ekspresyon Düzeyleri.....	36



KISALTMALAR

ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ACTH	: Adrenokortikotropin Hormon
ADAM	: Bir Disintegrin ve Metalloproteaz
Ang	: Anjiopietin
AP	: Adaptör Protein
APACHE	: Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirme Skoru
APC	: Aktif Protein C
APS	: Akut Fizyoloji Skoru
ARDS	: Akut Respiratuvar Distres Sendromu
ATF	: Aktifleştirici Transkripsiyon Faktörü
AVP	: Arginin Vazopressin
Cf-DNA	: Plazma Hücresiz Deoksiribonükleik Asit
CHOP	: C/EBP Homolog Protein
CLR	: C-Tipi Lektin Reseptör
CRH	: Kortikotropin Salgıtıcı Hormon
CRP	: C-Reaktif Protein
DIC	: Yaygın İntravasküler Koagülasyon
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EBSL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz
ECMO	: Ekstrakorporeal Mebran Oksijenasyonu
EKO	: Ekokardiyografi
ER	: Endoplazmik Retikulum
HHA	: Hipotalamik-Hipofiz-Adrenal
GBD	: Küresel Hastalık Yüğü
GKS	: Glasgow Koma Skalası
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HES	: Hidroksietil Nişasta
IL	: İnterlökin
INR	: Uluslararası Normalleştirilmiş Oran
IRE	: İnositol Gerektiren Enzim

IRF	: İnterferon Düzenleyici Faktör
iNOS	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidazı
JNK	: C-Jun N-Terminal Protein Kinaz
KIM	: Böbrek Hasar Molekülü
LPS	: Lipopolisakkarit
MAP	: Ortalama Arter Basıncı
MCP	: Monosit Kemoatraktan Protein
MDR	: Çoklu İlaç Dirençli
MEWS	: Modifiye Edilmiş Erken Uyarı Skoru
miRNA	: Mikrozomal Ribonükleik Asit
MMP	: Matriks Metalloproteaz
MRSA	: Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus
NA	: Noradrenalin
NAMPT	: Nikotinamid Fosforiboziltransferaz
NEWS	: Ulusal Erken Uyarı Skoru
NK	: Doğal Öldürücü
NLR	: Nükleotid Bağlayan Lösinden Zengin Tekrar Reseptörleri
PAI	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
PCT	: Prokalsitonin
PEEP	: Pozitif Ekspiryum Sonu Basıncı
PKR	: RNA Bağımlı Protein Kinaz
PRR	: Model Tanımlama Reseptörleri
ROS	: Reaktif Oksijen Ürünleri
RLR	: RIG-1 Benzeri Reseptör
RNA	: Ribonükleik Asit
RRT	: Renal Replasman Tedavi
SAPS	: Basitleştirilmiş Akut Fizyoloji Skoru
SERP	: Endoplazmik Retikulum Proteini
SIRS	: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
siRNA	: Küçük Enterferansçı Ribonükleik Asit
SOFA	: Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirmesi
TLR	: Toll Benzeri Reseptör

TNF : Tümör Nekroz Faktör
qSOFA : Hızlı Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirmesi



TEŞEKKÜR

Anesteziyoloji ve Reanimasyon uzmanlık eğitimi süresince daima yanımda olan, eğitimimize büyük katkısı olan her sıkıntıda bize yol gösteren, engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığımız, bu tezin oluşturulmasında beni başından sonuna kadar yönlendiren, çalışmamı birlikte yapmaktan mutluluk duyduğum tez yöneticim sevgili hocam Prof. Dr. Nazim DOĞAN'a,

Asistanlık sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Hüsnü KÜRŞAD'a, Prof. Dr. Canan ATALAY'a, Prof. Dr. Ayşenur DOSTBİL'e, Prof. Dr. Elif ORAL AHISKALIOĞLU'na, Prof. Dr. Mehmet AKSOY'a, Prof. Dr. Ali AHISKALIOĞLU'na, Doç. Dr. Özgür ÖZMEN'e, Doç. Dr. Erkan Cem ÇELİK'e, Doç. Dr. İrem ATEŞ'e, Doç. Dr. Muhammed Enes AYDIN'a ve Doç. Dr. Ahmet Murat YAYIK'a,

Sepsiste biyobelirteç olarak miRNA türlerinin tespiti ve verilerin istatistiksel analizi konusunda destek ve yardımları için Tıbbi Genetik A.B.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Abdulgani TATAR ve Doç. Dr. Çiğdem YÜCE KAHRAMAN'a,

Tıbbi genetik laboratuvarında birlikte uyum ve keyif içinde çalıştığım Sağlık Teknikeri Ayşe GÖKÇE'ye,

Her işimizi çözen, asistanlığı ve bitirme dönemini bizim için kolay hale getiren bölüm sekreterimiz Fatih USLU'ya, yoğun akademik dönemlerine rağmen çalışmamıza katkıda bulunan Dr. Berkay OKYAR, Dr. Sinem ATABEY USTA ve tüm araştırma görevlisi doktor arkadaşlarıma,

Yoğun bakım ünitesinde ve ameliyathanede görevli hemşire, teknisyen ve personel arkadaşlarıma,

Tüm öğrenim hayatım boyunca sevgi ve fedakarlıkla yanımda olan babam Ali Haydar SUNGUR'a ve annem Züleyha SUNGUR'a, kardeşlerim Süleyman SUNGUR, Hafize İmran SUNGUR, Ali İhsan SUNGUR ve Fatih SUNGUR'a ve biricik yeğenlerim Duru SUNGUR ve İmge SUNGUR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif SUNGUR

ERZURUM-2024

ÖZET

Yoğun Bakımda Takip Edilen Sepsis Tanılı Hastalarda Mikrozomal Ribonükleik Asitlerin Damar Yapısı, Prognoz ve Mortalite İlişkisinin İncelenmesi; Prospektif Randomize Kontrollü Çalışma

Amaç: Sepsis tanılı hastalarda tanı, izleme ve tedavinin yönlendirilmesi için miRNA türlerinin biyobelirteç olarak kullanılabileceğini veya kullanılıp kullanılamayacağını belirlemeyi amaçladık.

Yöntem: Sepsis tanısı bulunan (n=40) ve sağlıklı gönüllülerden (n=40) olmak üzere çalışmamız iki gruptan oluşturuldu. Çalışmaya 18-85 yaş arasında; sepsis tanısıyla yoğun bakımda takip edilen erkek ve kadın hastalar dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik verileri, yoğun bakım ünitesine yatış nedenleri, yatış günündeki GKS, PCT, CRP, lökosit, trombosit, hastalık ciddiyet skorlama sistemi olarak hastaların yatışının ilk yirmi dört saatinde hesaplanan APACHE II, SOFA ve SAPS II ile gelişen mortalite ve morbidite durumları değerlendirilerek kaydedildi. Hastalardan ve gönüllülerden, alınan periferik kan örneğinden miRNA izolasyonu yapıldı. RNA izolasyon kitinin protokol talimatları uygulanarak total RNA izolasyonu yapıldı.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması 64,92±12,91 (Min:34; Max:85) idi. Sepsis tanısı almış hasta grubunda incelediğimiz miR-23b-5p, miR-29a-3p, miR-10a-5p, miR-21-5p belirteçlerinin hepsinde sağlıklı gönüllü grubuna kıyasla ekspresyon azalması mevcuttu. Bu biyobelirteçler arasından sadece miR-21-5p ekspresyonunun azalması istatistiki olarak anlamlı bulundu (p=0,009). Ayrıca sepsis tanılı hastalar, eksitus olanlar ve taburcu olanlar olarak 2 gruba ayrıldığında, eksitus grubundaki miR-21-5p ekspresyonunun azalması istatistiki olarak anlamlı olarak bulundu.

Sonuç: Sepsis tanılı hastalarda miR-23b-5p, miR-29a-3p, miR-10a-5p, miR-21-5p ekspresyonları azalmakla birlikte sadece miR-21-5p ekspresyonunun azalması istatistiki olarak anlamlı bulundu. Özellikle yaşayanlara göre eksitus grubundaki ekspresyon azalmasının anlamlı bulunması, miR-21-5p'in prognostik bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir. miR-21-5p düzeyinin düşüklüğü damar endotel hasarının olduğunu gösterebilir.

Anahtar Kelime: miRNA, Mortalite, Prognoz, Sepsis, Tanı.

ABSTRACT

Investigation of the Relationship of Microsomal Ribonucleic Acids with Vascular Structure, Prognosis and Mortality in Patients with Sepsis Followed in Intensive Care Unit; Prospective Randomized Controlled Study

Objective: We aimed to determine whether miRNA types can be used as biomarkers for the diagnosis, monitoring, and guidance of treatment in patients diagnosed with sepsis.

Materials and Methods: Our study consisted of two groups: patients with a diagnosis of sepsis (n=40) and healthy volunteers (n=40). Patients aged 18-85, both male and female, who were monitored in the intensive care unit with a sepsis diagnosis, were included in the study. Demographic data of the included patients, reasons for admission to the intensive care unit, Glasgow Coma Scale (GCS) on the day of admission, PCT, CRP, leukocyte and platelet counts, and mortality and morbidity status were evaluated using the APACHE II, SOFA, and SAPS II scoring systems calculated during the first twenty-four hours of admission. miRNA isolation was performed from peripheral blood samples obtained from patients and volunteers. Total RNA isolation was conducted according to the protocol instructions of the RNA isolation kit.

Result: The average age of the patients was 64.92 ± 12.91 (Min: 34; Max: 85). In the patient group diagnosed with sepsis, a decrease in expression was observed in all the markers we examined, including miR-23b-5p, miR-29a-3p, miR-10a-5p, and miR-21-5p, compared to the healthy volunteer group. Among these biomarkers, only the decrease in miR-21-5p expression was statistically significant ($p=0.009$). Additionally, when the septic patients were divided into two groups—those who died and those who were discharged—the decrease in miR-21-5p expression in the deceased group was found to be statistically significant.

Conclusion: Although the expression of miR-23b-5p, miR-29a-3p, miR-10a-5p, and miR-21-5p were decreased in septic patients, only the decrease in miR-21-5p expression was found to be statistically significant. Particularly, the significant reduction in expression observed in the exitus group compared to the living suggests that miR-21-5p could be a prognostic indicator. Low levels of miR-21-5p may indicate vascular endothelial damage.

Keywords: miRNA, Mortality, Prognosis, Sepsis, Diagnosis

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sepsis, bir enfeksiyonun potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir komplikasyonudur. Sepsisin birçok kez farklı ifadelerle tanımlaması yapılmış olsa da son olarak “*konağın, enfeksiyon ve yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonuna karşı verdiği anormal ve kontrolsüz cevap*” diye tanımlaması güncellenmiştir (1).

Sepsisin etiyolojisinde gram (+) ve gram (-) bakteriler, mantarlar ve az da olsa viral patojenler suçlanmaktadır. Çoğunlukla bakteriyel enfeksiyonlara bağlı olarak ortaya çıkan sepsiste en sık kültürlenen patojen ise gram (+) bakterilerden *Staphylococcus Aureus* ve gram (-) bakterilerde *Psödomonans türleri* ile *Escherichia Coli*’dir (2, 3).

Sepsisin patofizyolojisi tek başına enfeksiyona veya immün sistemin baskılanmasına bağlı olmadığından dolayı karmaşık görünmektedir. Bu karmaşıklığın nedenlerinden biri de organ fonksiyonlarında bozukluklara neden olması yer almaktadır. Bu karmaşık patofizyolojiyi özetlemek gerekirse inflamatuvar kararsızlık, immün sistem disfonksiyonu, koagülasyon bozuklukları, nöroendokrin bozukluklar, mitokondriyal hasar, endoplazmik retikulum (ER) stresi ve otofaji bulunmaktadır (4).

Sepsisin klinik bulguları sistemik hastalıklarda olduğu gibi görülmektedir. Kardiyovasküler, pulmoner, renal, hematolojik, nörolojik, gastrointestinal ve endokrin sistemine göre görülen bulgular çok çeşitlidir. Kardiyovasküler sistemde arteriyel ve venöz dilatasyona bağlı hipotansiyon sık görülen klinik bulgularıdır (5).

Sepsis tedavi ve yönetimine dair yayınlanan son kılavuzda erken teşhisin hayati önemi olduğu vurgulanmıştır. Bu amaçla sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) kriterleri, sıralı organ yetmezliği değerlendirmesi (Sequential Organ Failure Assessment, SOFA) veya hızlı SOFA (quick SOFA, qSOFA) kriterleri, ulusal erken uyarı skoru (National Early Warning Score, NEWS) ve modifiye edilmiş erken uyarı skoru (Modified Early Warning Score, MEWS) tarama araçlarının kullanılması önerilmektedir (6). Bu skorlama sistemlerinin yanında kılavuzlarda belirtilmiş olmasa da kritik hastalarda tedaviye yanıtı ve prognozu değerlendirmek amacıyla kullanılan Glasgow Koma

Skalası (GKS), Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirme Skoru (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, APACHE II) ve Basitleştirilmiş Akut Fizyoloji Skoru (Simplified Acute Physiology Score II, SAPS II) değerlendirmesinde sepsis tanılı hastalarda prognozu belirlemede faydalı olabilmektedir (7-9).

Sepsiste tedaviye yanıtı ve prognozu belirlemek amacıyla enfeksiyona, immün sistem fonksiyon bozukluğuna ve organ fonksiyon bozukluğuna ait biyobelirteçler kullanılmaktadır. Enfeksiyona ait biyobelirteçler içerisinde prokalsitonin (PCT), C-Reaktif Protein (CRP), sitokin ve kemokinler bulunmaktadır. İmmün sistem fonksiyon bozukluğuna ait sepsisle ilişkili biyobelirteçler arasında monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), programlanmış hücre ölüm reseptörleri, myeloid hücre reseptörleri, nötrofil yüzey reseptörleri, kompleman yolu, mikrozomal RNA (miRNA), plazma hücresiz DNA (cf-DNA) ve presepsin bulunmaktadır. Sepsise bağlı organ fonksiyon bozukluğu hakkında bilgi edinmemizi sağlayan biyobelirteçler ise serum laktat seviyesi, anjiopietin (Ang) ve matriks metalloproteaz (MMP)'dır (4).

miRNA, kodlayıcı olmayan ve 19-24 nükleotid uzunluğundaki RNA çeşitleridir. Virüs, bakteri, nematodlar da dahil olmak üzere tüm canlı organizmalarda bulunmaktadır. miRNA'ların 500'e yakın çeşidi bulunmaktadır. Hücresel çeşitli fonksiyonlarda görev aldıkları bilinmektedir (10).

miRNA ailesinin yaklaşık olarak % 17'sinin dokuya veya organa spesifik olduğu bilinmektedir. miRNA ailesindeki üyelerin delesyonu veya ekspresyonundaki değişkenlik gibi patolojik durumların insanlarda hastalık veya kanserlerle ilişkilendirilmiştir (11). miRNA türlerinden bazılarının sepsis sırasında bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- α 'yı doğrudan etkilediği düşünülmektedir. Bazı türleri ise TLR/NF- κ B yolunu etkileyerek sepsise neden olan enfeksiyöz patojenlere karşı doğal bağışıklılığın oluşmasında görev aldığı bilinmektedir. Kısacası miRNA ailesi üyelerinin sepsisin oluşumunda veya engellenmesinde görev aldığı bilinmektedir. Bununla birlikte bu üyelerden bazılarının sepsis tanısı kesinleşmiş hastalarda organ fonksiyonlarını etkileyerek prognozu değiştirmektedir (12, 13).

Bu çalışmadaki amacımız ise sepsis tanılı hastalarda tanı, izleme ve tedavinin yönlendirilmesi için miRNA türlerinin biyobelirteç olarak kullanılma olasılığını belirleyebilmek ve vurgulamaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

2.1.1. Tanım

Sepsis, ilk olarak Yunan hekim Hipokrat (MÖ 460-MÖ 370) tarafından “*organik maddelerin çürümesi ve ayrışması*” şeklinde ifade edilmiştir (14). Günümüze kadar pek çok yeni tanımlama ile karşımıza çıkan sepsis, 45. Yoğun Bakım Derneği (Society of Critical Care Medicine) konferansında “*konağın, enfeksiyon ve yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonuna karşı verdiği anormal ve kontrolsüz cevap*” betimlemesiyle ve Sepsis-3 ifadesiyle son güncel tanımlanması yapılmıştır. Bu güncel tanımla ile şiddetli sepsis ifadesi kaldırılmıştır. Septik şok ise sepsis ile birlikte sıvı resüsitasyonuna rağmen vazopressör gereksiniminin olması veya serum laktat seviyesinin > 2 mmol/L olması şeklinde güncellenmiştir (1).

2.1.2. Epidemiyoloji

Sepsis epidemiyolojisi coğrafik konuma ve ülkelerin gelişmişlik düzeyine göre değişkenlik göstermektedir. Sepsisin global yükünü belirlemedeki zorluklar, yapılan çalışmalara orta-düşük gelirli ülkelerden katılımın az olması ve Afrika, Güneydoğu Asya gibi coğrafik bölgelerden gelen yetersiz veri akışına bağlanmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerdeki hastanelerin katılımının yüksek olduğu bilinen bir meta-analizde sepsis insidansı her 100.000 kişiden 189’unda görüldüğü belirtilmiş olsa da orta ve düşük gelirli ülkelerdeki sepsis insidansının daha fazla olduğu düşünülmektedir (15). Küresel Hastalık Yüğü (Global Burden of Diseases, GBD)’nin yaptığı çalışmalarda ise sepsis her 100.000 kişiden 677,5 kişide görüldüğü belirtilmektedir (16).

2.1.3. Etiyoloji

Sepsis etiyojijisinde çoğunlukla bakteriler olmak üzere bakteriler, mantarlar ve az da olsa viral patojenler suçlanmaktadır. Bakteriler içerisinde ise gram negatif bakterilerin daha yaygın bir etken olarak karşımıza çıktığı belirtilmektedir. Gram negatif bakteriler özellikle Güney Amerika ve Asya’da sık olarak izole edilen patojenken, gram pozitif bakteriler ise Kuzey Amerika ve Asya’da daha yaygın olduğu bildirilmektedir (2, 3).

Sepsise neden olan mikroorganizmalar içerisinde en sık kültürlenene patojenler *Staphylococcus Aureus* (Gram pozitiflerde sık), *Psödomonans türleri* (Gram negatiflerde sık), *Escherichia Coli* (Gram negatiflerde sık)'dir. Fungal patojenler içerisinde ise *Candida Albicans*'tır. Viral enfeksiyonlar içerisinde sepsisle ilişkili en sık karşılaşılan patojen *İnfluenza* serotipleridir. Hastane ya da yoğun bakım ünitesi kaynaklı enfeksiyonlarda en sık tespit edilen patojenler ise *metisiline dirençli Staphylococcus Aureus (MRSA)* ve *genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (Extended spectrum beta-lactamases, EBSL) üreten Enterobacteriaceae* ailesidir (2, 3). Sepsis etiolojisinde yer alan patojenlerin prevelansı ve en sık karşılaşılan mikroorganizmalar Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1 Sepsise Neden Olan Mikroorganizmalar ve Prevelansları (2, 3)

Sınıf	Prevelans	Sık karşılaşılan mikroorganizma
Gram (+) Bakteri	Dünya'da: % 47-50 Kuzey Amerika: % 50-55 Güney Amerika: % 38-45 Avrupa: % 49-55 Asya: % 32-34 Afrika: % 44-50 Okyanus bölgeleri: % 51-54	<i>Staphylococcus Aureus</i>
Gram (-) Bakteri	Dünya'da: % 62-67 Kuzey Amerika: % 50-56 Güney Amerika: % 71-75 Avrupa: % 60-66 Asya: % 70-74 Afrika: % 56-57 Okyanus bölgeleri: % 60-63	<i>Psödomonans türleri</i> <i>Escherichia Coli</i>
Mantar	Dünya'da: % 17-19 Kuzey Amerika: % 5-23 Güney Amerika: % 10-14 Avrupa: % 15-21 Asya: % 12-18 Afrika: % 11-13 Okyanus bölgeleri: % 10-15	<i>Candida Albicans</i>
Virüs	Dünya'da: < % 5-5015	<i>İnfluenza virüsü</i>

2.1.4. Patofizyolojisi

Sepsis, sadece enfeksiyona ve bağışıklığın baskılanmasına bağlı gelişen patolojik durumdan ziyade birçok organda fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. Bu nedenle sepsis patogenezi karmaşıktır. Patofizyolojisinde inflamatuvar kararsızlık, immün sistem disfonksiyonu, koagülasyon bozuklukları, nöroendokrin bozukluklar, mitokondriyal hasar, ER stresi ve otofaji bulunmaktadır (4).

Bakteri, mantar, virüs ve parazit gibi mikroorganizmalardan çıkan patojenlere karşı gelişen inflamasyon sepsisin en önemli basamağıdır. Konağın akut dönemde ilk tepkisi ise patojenlere karşı bağışıklık sisteminin aktivasyonu ve proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesiyle invazif patojenitelerin zayıflatılmasıdır. Bu bağışıklık sisteminin aktivasyonu hem patojene ait lipopolisakkarit (LPS) gibi ekzojen faktörlere hem de konağa ait endojen faktörlere göre şekillenmektedir. Model tanımlama reseptörleri (Pattern-recognition receptors, PRR) ile etkileşime giren endojen ve ekzojen faktörler sayesinde bağışıklık sistemi aktifleşmektedir. Toll benzeri reseptör (Toll-like receptor, TLR), C-tipi lektin reseptör (C-type lectin receptor, CLR), RIG-1 benzeri reseptör (RIG-1 like receptor, RLR) ve NOD benzeri reseptörler (NOD like receptor, NLR) PPR reseptörleri olarak bilinmektedir (17). İnflamatuvar süreçte reseptör aktivasyonunun peşinden interlökin-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-18, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interferon düzenleyici faktör-7 (Interferon Regulatory Factor-7, IRF-7) ve adaptör protein 1 (AP-1) gibi sitokinlerin üretimi artmaktadır (18).

İnflamasyon sırasında nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler patojenleri tanıyarak fagositik aktivite göstermektedir. Fakat sepsis sırasında dalak ve lenf düğümlerinde dentritik hücrelerin aktivasyonları baskılanmaktadır. Buna bağlı olarak monosit, doğal öldürücü hücreler (Natural Killer, NK), granülositler de dahil olmak üzere fagositik etkinlik gösteren veya fagositoya yardımcı hücresel elemanlar salgılayan birçok hücrenin aktivasyonu engellenerek bağışıklığın fonksiyonel bozukluğu ortaya çıkmaktadır (19).

Koagülasyon sistemi normal şartlar altında antitrombotik sistem, aktif protein C (APC) ve doku faktör inhibitör sistemi olmak üzere üç kontrol edici mekanizmaya bağlı olarak düzenlenmektedir. Sepsis sırasında bu düzenleyici basamakların her

birinde bozukluklar oluşmaktadır. Trombomodulin, protein C reseptörler ekspresyonu ve fibrinolizin azaldığı bilinmektedir. Doku plazminojen aktivatörü, ürokinaz gibi plazminojen aktivatörlerinin artması ile plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1)'in etkisi azalmaktadır (20).

Sepsiste immün sistem ve nöroendokrin sistem arasındaki ilişki otonom sinir sistemine dayandırılmaktadır. Vagus gibi primer afferent sinirlerinin ve duyu sinirlerinin patojenle ilişkili moleküllerle etkileşimi sayesinde Hipotalamik-Hipofiz-Adrenal (HHA) aksını etkilemektedir. Buna bağlı olarak hem sempatik hem de parasempatik sistemden oluşan otonom sinir sistem aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bununla birlikte sepsis sırasında HHA aksının disfonksiyonuna bağlı olarak kortikotropin salgılayıcı hormon (Corticotropin Releasing Hormone, CRH) ve Arginin Vazopressin (AVP) dolaşımdaki seviyeleri düşmektedir. CRH tarafından indüklenen ve kardiyovasküler homeostazda görevli adrenokortikotropin hormon (ACTH) ve kortizol sentezinde azalmaya neden olmaktadır. Ayrıca otonom sinir sisteminin bileşenlerinden biri olan sempatik sistem aktivasyonu sayesinde, aksonlardan salınan noradrenalin (NA) TNF- α ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinlerin dolaşımdaki miktarını azaltırken, IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokin düzeylerini artırmaktadır (21, 22).

Enerji üretimi ve protein metabolizması için kritik önemi bulunan mitokondrinin sepsise bağlı hasarı sonucunda oksidatif reaksiyonlar ve oksidan-antioksidan denge bozulmaktadır. Doku hasarına ya da patojene bağlı oluşan moleküller için aktive edilmiş lökositler inflamatuvar sitokinleri artırarak dolaylı yollardan sitokinlerle indüklenebilir NADPH oksidazı (iNOS) tetiklemektedir. Reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) ve özellikle nitrik oksit (NO) aşırı artması sonucu oksidatif hasar oluşmaktadır. Artan ROS'a bağlı olarak elektron transfer zincir fonksiyonları tamamen bozulmaktadır. Tüm bunların sonucunda oksidatif reaksiyonlarını yapamayan mitokondride sırasıyla deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı gerçekleşir, mitokondri membran parçalanır ve apoptoz gelişir (23, 24).

Sepsise bağlı protein metabolizmasının bozulmasıyla katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinler ER içerisinde birikerek oksidatif strese ve ER stresine neden olmaktadır. ER stresinde ise çift sarmallı ribonükleik asit (RNA) bağımlı protein

kinaz (double-stranded RNA dependent Protein Kinaz, PKR) benzeri ER kinaz (PERK), inositol gerektiren enzim-1 (İnositol-requiring enzyme-1, IRE-1), aktifleştirici transkripsiyon faktörü-6 (Activating transcription factor-6, ATF-6) etkisiyle C/EBP homolog protein (CHOP) geninin transkripsiyonel aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bununla birlikte c-Jun N-terminal protein kinaz (JNK) yolunun, TNF ile ilişkili faktör 2'nin, apoptotik sinyalle düzenlenen kinaz-1'in ve kaspaz 12'nin aktivasyonu gerçekleşmektedir. ER'den sitozole geçen aktif kaspaz 12 kaspaz 9'u parçalar ve kaspaz 3'ü aktifleştirmektedir. R stresine bağlı tüm bu mekanizmaların etkisi ile anormal apoptotik süreçler başlamaktadır (25).

2.1.5. Klinik Bulgular

Sepsis, doku ve organ sistemleri etkilemesinden dolayı klinik bulguları sistemik hastalıklarda olduğu gibi görülmektedir. Kardiyovasküler, pulmoner, renal, hematolojik, nörolojik, gastrointestinal ve endokrin sistemine göre görülen bulgular çok çeşitlidir. Kardiyovasküler sistemde arteriyel ve venöz dilatasyona bağlı hipotansiyon sıklıkla görülmektedir. Bunun yanında miyokardiyak depresyon da tespit edilmektedir (5).

Sitokin ekspresyonunun artmasına bağlı olarak akciğerlerde alveolakapiller geçirgenliğin bozulmasına, ventilasyon-perfüzyon dengesizliğine, non-kardiyojenik akciğer ödeme neden olmaktadır. Hipoksi ve metabolik asidoza sekonder olarak hastalarda takipne görülmektedir. Uzun süreli takipneye bağlı solunum kas yorgunluğu gelişebilmektedir (26). Alveolakapiller geçirgenliğin bozulmasına bağlı olarak sepsis tanılı hastaların yaklaşık %7'sinde Akut Respiratuvar Distres Sendromu (ARDS) gelişmektedir (27).

Renal fizyolojide ise sepsis akut böbrek hasarı (ABH) ile böbrekleri etkilemektedir. ABH, sepsise bağlı mortalite ve morbiditenin gelişmesinde çok değerli klinik bulgu olarak görülmektedir. ABH gelişmesinde hemodinamik unstabilite, endotel fonksiyon bozuklukları ve renal tübüler nekroza bağlı obstrüksiyonlar gösterilmektedir (28).

Hematolojik sistemde sepsisle birlikte anemi, lökositoz, nötropeni, trombositopeni ve yaygın intravasküler koagülasyon (Disseminated Intravascular Coagulation, DIC) görülmektedir (29).

Sepsis karaciğeri de etkilemektedir. Hepatik disfonksiyona bağlı serum bilirubin seviyelerinin 2 mg/dL'den yüksek bulunması, uluslararası normalleştirilmiş oran (International Normalized Ratio, INR)> 1,5 olması sonucu gelişen koagülopati ile teşhis konulmaktadır. Klinik bulguları arasında kolestaz, koagülopati, hiperamonyemi ve hipoksik hepatit nedeniyle gelişen hepatik ensefalopati görülebilmektedir. Karaciğer yetmezliğinin özellikle septik şokta mortalite ve morbidite için klinik önemi büyüktür (30).

Sepsiste antiinsülinler hormonlardan glukagon, katekolamin, kortizol ve büyüme hormonlarının artmasına bağlı olarak hiperglisemi görülmektedir. Hipotalamus-Hipofiz-Tiroid bez aksının etkilenmesine bağlı olarak sepsisle ilişkilendirilmiş klinik hipotiroidizm de oluşabilmektedir (31).

Nörolojik sistem içerisinde sepsis tanısı almış hastalarda mental durum değişiklikleri, yer-zaman-oryantasyon bozuklukları, halüsilasyonlar, uyku düzensizlikleri ve ajitasyon görülmektedir (32).

2.1.6. Sepsis Tedavisi ve Yönetimi

Sepsisin erken teşhisi ve erken tedavisi hastaların mortalite ve morbiditesini önemli ölçüde azaltmaktadır. Bu nedenle klinisyenlere yol göstermek amacıyla en son 2021 yılında sepsis ve septik şokun yönetimi konusunda uluslararası bir kılavuz yayınlanmıştır (6).

Kılavuzlara göre sepsisin erken teşhisi tedavi için çok önemli bir basamağı oluşturmaktadır. Bu amaçla SIRS kriterleri, SOFA veya qSOFA kriterleri, NEWS ve MEWS tarama araçlarının kullanılması önerilmektedir (6).

qSOFA enfeksiyonu bulunan hastalarda prognostik önemi olduğu bilinmektedir. Fakat qSOFA'nın erken tarama için kullanılabilecek bir tarama yöntemi olma konusunda yapılan çalışmalara göre çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (33). Bu tarama araçları içerisinde qSOFA'nın SIRS, MEWS, NEWS ile

karşılaştırıldığında duyarlılığı düşük olmasından dolayı tek başına kullanılmaması önerilmektedir (6).

Serum laktat seviyesinin enfeksiyonlarla olan pozitif korelasyonu nedeniyle sepsis şüphesi bulunan hastalarda serum laktat düzeylerinin takip edilmesi önerilmektedir (6).

Sepsis tanısı konulan ya da sepsis nedeniyle şüphe duyulan hastalarda tedavinin hemen başlanması şiddetle önerilmektedir. Sepsise bağlı hipoperfüzyonu bulunan veya septik şok kliniği gösteren hastalarda ilk üç saat içerisinde en az 30 ml/kg intravenöz kristaloid sıvı replasmanı yapılması gerekmektedir. Sıvı replasmanı sırasında hastaların tedavi süresince fizik muayene ve kardiyak debi, kalp atım hacmi, nabız basıncı değişiklikleri, ekokardiyografi (EKO) ile kalbin dinamik ölçümleri gibi dinamik ölçümlerle tekrar tekrar değerlendirilmesi önerilmektedir. Bu dinamik ölçümlerin yapılamayacağı teknik ya da ekipman eksikliğinde özellikle periferik ekstremitte ısısı, ekstremitelerin cilt rengi veya kapiller dolum süresi de tedavi açısından yol gösterici olabileceği düşünülmektedir (6).

Sepsis veya septik şoka bağlı vazopressör gerektiren hipotansif hastalarda hedef ortalama arter basıncı (MAP)'nın 65 mmHg üzerinde olacak şekilde belirlenmesi önerilmektedir. Bunun yanında sepsis veya septik şok tanısı konulan ya da sepsisten şüphelenen hastaların altı saat içerisinde yoğun bakım ünitelerinde nakledilmesi önerilmektedir (6).

Sepsis veya septik şok tanısı ya da şüphesi bulunan hastalarda antimikrobiyal tedavi başlanmadan önce enfeksiyona neden olan patojenler için gerekli tüm kültürlerinin alınması önerilmektedir. Bunun yanında septik şok kliniği veya sepsis tanısı yönünden yüksek riskli hastalarda antimikrobiyotiklerin en geç bir saat içerisinde kullanılması önerilmektedir. Sepsis şüphesi bulunan fakat septik şok tablosunda olmayan hastalarda enfeksiyöz nedenlerin en kısa zamanda değerlendirilmesi ve sepsis tanısının enfeksiyöz nedenlerden dolayı gelişmesinin kanıtlanması halinde uygun antimikrobiyal tedavinin tanı konulduktan sonra ilk üç saat içerisinde başlanması tavsiye edilmektedir. Enfeksiyöz patojenler tespit edilemeyen veya şok kliniği bulunmayan hastalarda antimikrobiyal tedavinin

ertelenmesi önerilmektedir (6). Sepsis şüphesi veya tanısı olan hastalarda antimikrobiyal tedavi protokolü Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2 Antimikrobiyal Tedavi Başlama Önerisi (6)

	Septik Şok (+)	Septik Şok (-)
Sepsis tanısı kesin	Septik şok olsun ya da olmasın antimikrobiyal tedavi hemen (en geç 1 saat içerisinde) başlanmalı	
Sepsis tanısı şüpheli	Antimikrobiyal tedavi hemen (en geç 1 saat içerisinde) başlanmalı	Enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz nedenler araştırılmalı
		Enfeksiyöz nedenler kesinleştirilmişse antimikrobiyal tedavi en geç 3 saat içerisinde başlanılmalı

Kılavuza göre sepsis veya septik şok şüphesiyle takip edilen hastalarda antimikrobiyal tedavi başlanma ve sonlandırma kararının serum PCT seviyesi ve klinik değerlendirmeye göre yapılmasının, tek başına serum PCT seviyesine göre yapılmasından daha değerli olduğu belirtilmiştir (6).

Antimikrobiyal tedavi seçiminde ise MRSA etkeni nedeniyle sepsis veya septik şok tanısı almış hastalarda MRSA kapsamı bulunan ampirik antibiyotiklerin başlanması, MRSA riski düşük olan hastalarda ise bu antibiyotiklerin kullanılmaması önerilmektedir (6).

Çoklu ilaç dirençli (Multidrug resistans, MDR) patojen riski yüksek bulunan sepsis veya septik şok tanılı hastalarda gram negatif patojenlere etkinliği bulunan ikili antibiyotiğin kullanılması ve MDR riski düşük olan hastalarda gram negatif patojenlere etkinliği bulunun ikili antibiyotiğin kullanılmaması önerilmektedir (6).

Fungal enfeksiyon riski yüksek bulunan sepsis veya septik şoklu hastalarda ampirik antifungal tedavinin kullanılması ve fungal enfeksiyon riski düşük olanlarda ise ampirik antifungal tedavinin kullanılmaması önerilmektedir. Bunun yanında viral

patojenlerden dolayı gelişen sepsis veya septik şok tanılı hastalar için kılavuz herhangi bir antimikrobiyal tedavi önermemektedir (6).

Kılavuzlara göre sepsis veya septik şok tanısı bulunan hastalarda beta laktam antibiyotiklerin bolus infüzyonlarından sonra etkili konsantrasyonlara çıkabilmesi için uzun süreli intravenöz infüzyonların kullanılması önerilmektedir (6).

Sepsis veya septik şok tanısı almış hastalarda enfeksiyona neden olabilecek apse, perforasyon, kolanjit, nekrotizan dokular, enfeksiyon şüphesi bulunan vasküler ekipmanlar gibi kaynak tespitinin hızlı bir şekilde yapılması ve cerrahi müdahale edilmesi önerilmektedir (6).

Enfeksiyöz ajanların uzun süreli antimikrobiyal tedaviye maruz kalması neticesinde antimikrobiyal direnci gelişmemesi için sepsis veya septik şok tanılı hastaların günlük değerlendirilmesi ve gerekli olması halinde antimikrobiyal ajanların azaltılması önerilmektedir (6).

Sıvı resüsitasyonunda dengeli kristaloidlerin kullanılması, fazla miktarlarda kristaloid ihtiyacı bulunan hastalarda albüminin tercih edilmesi, bunun yanında hidroksietil nişasta (Hydroxyethyl starch, HES) ve gelatin gibi sentetik kolloidleri içeren sıvılardan kaçınılması önerilmektedir (6).

Septik şoklu hastalarda vazopressör tedavi seçimi için kılavuzlar ilk tercih olarak NA kullanılmasını önermektedir. NA 0,25-0,5 mikrogram/kg/dk verilmesine rağmen hedef MAP'ına ulaşılmaması durumunda vazopressin eklenmesi (0,01-0,03 U/dk) tavsiye edilmektedir. NA ve vazopressine rağmen dirençli hipotansiyonu olan hastalarda epinefrinin eklenmesi önerilirken, epinefrin kullanımına bağlı iskelet kaslarında serum laktat düzeyleri artabileceği, sepsis ve septik şok tanılı hastaların tedavi takibinin zorlaşabileceği belirtilmektedir. Bunun yanında terlipressinden kaçınılması da tavsiye edilmektedir. Yeterli intravasküler volümü bulunan fakat kardiyak disfonksiyona bağlı septik şok kliniği gerilemeyen hastalarda NA ile birlikte dobutaminin ya da tek başına epinefrinin kullanılması önerilmektedir. Kalsiyum duyarlaştırıcı ajan olan levosimendanın yüksek maliyetli, sınırlı temin imkânının olması ve istenilen faydaların olmamasından dolayı kullanılmaması tavsiye edilmektedir (6).

Sepsis veya septik şok tanısı almış hastaların takibi sırasında non-invaziv monitörizasyon yerine invaziv yöntemlerin tercih edilmesi ve santral venöz erişim sağlanana kadar gecikmeden vazopressör tedavilerinin periferik venöz erişim yollarından sağlanması önerilmektedir (6).

Sepsise bağlı gelişen hipoksik solunum yetmezliği tedavisi için hedef oksijen değerleri konusunda herhangi bir öneri bulunmamakla birlikte non-invaziv mekanik ventilatör yerine yüksek akımlı nazal oksijen desteğinin verilmesi önerilmektedir. Bununla birlikte sepsise bağlı ARDS gelişen hastalarda düşük tidal volümlü (6 mL/kg), 30 cmH₂O plato basınçları, yüksek pozitif ekspiryum sonu basınçlı (Pozitive End-Expiratory Pressure, PEEP) ventilasyon stratejilerinin kullanılması gerektiği belirtilmektedir. Recruitment manevralarının (30-40 cmH₂O, 30-40 sn) ARDS'li hastalarda etkili olduğundan dolayı kılavuzlar geleneksel recruitment manevralarının kullanılmasını desteklemektedir. Orta-şiddetli ARDS'si bulunan sepsis tanılı hastaların en az 12 saat veya üzeri prone pozisyonunda ventilasyonun devam ettirilmesinin sağkalımı iyileştirmesinden dolayı kullanılması önerilmektedir. Bu hastalarda nöromüsküler bloka edici ajanların sürekli infüzyonu yerine aralıklarla kullanılmasının daha faydalı olduğu belirtilmiştir. Mekanik ventilatöre rağmen hipoksisi düzelmeyen hastalarda venö-venöz ekstrakorporeal mebran oksijenasyonu (ECMO) önerilmektedir (6).

Sepsis veya septik şok tanılı hastalar için kılavuzlar ek tedaviler konusunda da önerilerde bulunmaktadır. Kortikosteroid tedavisinin vazopressör tedavi gereksinimi uzun olan hastalarda kullanılmasını desteklemektedir. Polimiksin B hemoperfüzyon kullanımının faydası görülmediği için kullanılmaması tavsiye edilmektedir. Hastaların klinik değerlendirmesine göre gerekmediği sürece kısıtlayıcı transfüzyon stratejilerinin kullanılması desteklenmektedir. İntravenöz immünoglobulinlerin kullanılmaması önerilmektedir. Stres ülser profilaksisi, düşük moleküler ağırlıklı heparin ile venöz tromboembolizm profilaksisi, renal replasman tedavi (RRT) ihtiyacı bulunan hastalarda sürekli veya aralıklı RRT'si, serum glukoz düzeylerinin > 180 mg/dL olması durumunda insülin kullanılması, intravenöz C vitamin kullanımından kaçınılması, hipoperfüzyona bağlı laktik asidozu bulunan hastalarda sodyum bikarbonat replasmanından kaçınılması, şiddetli metabolik asidoz (pH≤7,2) ve ABH

gelişen hastalarda sodyum bikarbonat replasmanının kullanılması ve enteral beslenme solüsyonlarının en erken 72 saat içinde başlanması önerilmektedir (6).

2.2. Prognostik Skorlama Yöntemleri

2.2.1. Glasgow Koma Skoru

GKS akut mental durum değişikliklerin değerlendirilmesinde sık kullanılan tarama aracıdır (Tablo 2.3). Akut mental durum değişikliği ve sepsis arasında ise sıkı korelasyon bulunmaktadır. Bu skorlama sistemi içerisinde hastaların oküler (E:1-4 puan), verbal (V:1-5 puan) ve motor (M:1-6 puan) muayeneleri yapılmaktadır. Puanlama, her bir muayenenin karşılığına denk gelen puanın cebirsel toplamı şeklinde ifade edilir. En düşük üç ve en yüksek 15 olmak üzere 3-15 arasında puanlama yapılmaktadır (9).

Tablo 2.3 Glasgow Koma Skalası ve Puanlaması (9)

Puan	Oküler (E)	Verbal (V)	Motor (M)
1	Oküler yanıt yok	Verbal yanıt yok	Motor yanıt yok
2	Ağrı ile gözlerini açar	Anlaşılmaz sesler mevcut	Anormal ekstansiyon (Deserebre postür)
3	Sesli komutla gözlerini açar	Uygunsuz kelimeler	Anormal fleksiyon (Dekortike postür)
4	Spontan gözlerini açar	Sorulara cevap verebiliyor	Ağrılı uyarana fleksiyon cevap
5	-	Yer-zaman-kişi oryantasyonu yerinde	Ağrıyı lokalize edebilir
6	-	-	Komutlara uyar

2.2.2. Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirme Skoru

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda kritik hastalıkların mortalite öngörücülüğünü değerlendirmek amacıyla kullanılan APACHE, ilk defa 1981 yılında Knaus ve ark. tarafından geliştirilmiştir (34). Bu skorlama sistemi 1985 yılında güncellenerek APACHE II adı altında, 12 fizyolojik değişkenin bulunduğu akut fizyoloji skoru (APS), yaş ve önceki sağlık durumunun değerlendirildiği üç bölümden oluşturulmuştur (Ek-1). Yoğun bakım ünitesine yatırılan hastaların ilk 24 saat içerisinde elde edilmiş APACHE II skoru en kötü skor olarak

değerlendirilmektedir. APACHE II skoru 0-71 arasında bir puanlamaya sahipken, skorun yükselmesi prognozun daha kötü olacağını tahmin ettirmektedir (8).

2.2.3. Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru

Hastalarda gelişen organ yetmezliklerinin niceliksel ve nesnel tanımlaması amacıyla oluşturulan SOFA, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar için günlük mortalite ve morbidite hakkında bilgi vermektedir. Respiratuvar, kardiyovasküler, nörolojik, hepatik, koagülasyon ve renal sistemlerin değerlendirildiği bu skorlamada her sistem 1-4 arasında puanlama yapılmaktadır (35).

Tablo 2.4 Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru

	Puan
Respiratuvar Sistem-PaO₂/FiO₂ (mmHg)	
• < 400	1
• <300	2
• <200 (MV desteğine rağmen)	3
• < 100 (MV desteğine rağmen)	4
Nörolojik Muayene-GKS	
• 13-14	1
• 10-12	2
• 6-9	3
• <6	4
Kardiyovasküler Sistem-MAP ya da vazopressör desteği	
• < 70 mmHg	1
• Dopamin ≤ 5 ^a yada dobutamin (herhangi doz)	2
• Dopamin > 5 ^a yada epinefrin ≤ 0,1 ^a ya da NA ≤ 0,1 ^a	3
• Dopamin > 15 ^a yada epinefrin > 0,1 ^a ya da NA > 0,1 ^a	4
Hepatik Fonksiyon-Bilirubin (mg/dL)	
• 1,2-1,9	1
• 2-5,9	2
• 6-11,9	3
• >12	4
Koagülasyon-Platalet x 10³/µL	
• < 150	1
• <100	2
• <50	3
• <20	4
Renal Sistem-Kreatinin (mg/dL) ya da üriner output	
• 1,2-1,9	1
• 2-3,4	2
• 3,5-4,9 ya da < 500 mL/dk	3
• >5 ya da < 200 mL/dk	4

(GKS: Glasgow Koma Skalası, MAP: Ortalama arter basıncı, ^a:µg/kg/dk)

2.2.4. Basitleştirilmiş Akut Fizyoloji Skoru

SAPS II, ilk olarak 1984 yılında tanımlanmıştır. APACHE skora sistemine alternatif olarak tanımlanan SOFA ilk olarak 14 fizyolojik değişkenden oluşturulmuştur ve önceden var olan hastalıklar ile ilgili puanlama yapılmamıştır. SOFA II ise 12 fizyolojik değişkenden, yaş ve önceden var olan hastalıkların değerlendirilmesi ile oluşmaktadır. Puanlama 0-163 arasında olmaktadır. Yüksek puanlar mortalite ile ilişkili iken mortalite ve SAPS II puanlamaları arasında sigmoidal ilişki bulunmaktadır (Ek-2) (7).

2.3. Sepsiste Kullanılan Biyobelirteçler

Sepsisin takibinde ve tedavinin etkinliğinde biyokimyasal belirteçler kullanılmaktadır. Bunlar kabaca enfeksiyona ait, bağışıklığın disfonksiyonuna ait ve organ yetmezliğine ait biyobelirteçler olmak üzere üç grupta incelenebilir.

Enfeksiyona ait biyobelirteçler içerisinde PCT, CRP, sitokin ve kemokinler bulunmaktadır. PCT, endojen ve ekzojen moleküllerin etkisi altında dokular tarafından salgılanan akut faz proteinidir. Bakteriyel enfeksiyona bağlı gelişen sepsiste diğer biyokimyasal belirteçlere göre daha erken tespit edilmektedir (36). Hepatositler tarafından sentezlenen CRP enfeksiyon ve inflamasyonun göstergesi olan akut faz proteinidir. Bakteriyel enfeksiyonlarda CRP duyarlılığı ve özgünlüğü sırasıyla % 68-92 ve % 40-67 olduğu bilinmektedir. Enfeksiyon sırasında CRP 36-50 saat sonra zirve yapar ve tedaviyle enfeksiyonun gerilediği süreçte CRP düşme eğilimi göstermektedir. Bu nedenle CRP sepsiste prognoza ve tedavinin etkinliğinde katkıda bulunmaktadır (37). Sepsisin hiperinflamatuvar fazında rol oynayan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α proinflamatuvar sitokinlerdir. IL-1 β ve TNF- α 'nın her ikisi birden endotel hücrelerini etkileyerek polimorfonükleer lökosit migrasyonunu sağlamaktadırlar. IL-6 ise hepatositlerde CRP gibi akut faz reaktanların üretimini artırmaktadırlar (38). Bunların dışında kemokinlerin içerisinde bulunan IL-8 sepsis tanısında etkili bir biyobelirteçtir (39).

Sepsisle ilişkili biyobelirteçler arasında MCP-1, programlanmış hücre ölüm reseptörleri, myeloid hücre reseptörleri, nötrofil yüzey reseptörleri, kompleman yolu, miRNA, cf-DNA ve presepsin bulunmaktadır. Bunlar sepsiste immün disfonksiyona işaret etmektedir. Ayrıca vasküler endotelial hücrelerin morfolojisinin bozulmasıyla

gelişen endotelial disfonksiyon patofizyolojisinde de görülmektedir. MCP-1 monosit, makrofaj, fibroblast ve vasküler endotel hücrelerinden salgılanmaktadır. Sepsisin mortalite öngörücülüğünü belirlemektedir ve anti-inflamatuvar sitokin olan IL-10'un sentezini artırmaktadır (40). Programlanmış hücre ölüm reseptörleri T, B ve NK lenfosit membranlarında bulunan reseptörlerdir. Sepsise bağlı azalmış immün sistem aktivitesinin bu reseptörlere bağlı olarak lenfositlerin programlanmış ölümüne bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (41). Myeloid hücrelerde bulunan tetikleyici reseptörler (Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cell-1, sTREM-1) TLR-2 ve TLR-4'e bağlanarak proinflamatuvar sitokinlerin artmasına, nötrofil granülasyonunda bozulmalara, antiinflamatuvar sitokinlerden IL-10'un azalmasına neden olmaktadır. sTREM-1'in sepsisteki tanısallık duyarlılığı ve özgünlüğü sırasıyla % 79 ve % 80 olduğu bildirilmiştir (42). CD64 olarak tanınan nötrofil yüzey reseptörleri immün sistemde görevli bir immünmodülatördür. CD64 ekspresyonu sepsis şiddetiyle korelasyon göstermektedir (43). Kompleman yolu proinflamatuvar sitokin üretiminde ve hücre ölümünde etkili olmaktadır. Bu yolun bileşenlerinden C5a ve C3a'nın bakteriyel enfeksiyonlarda ve sepsiste inflamatuvar süreci desteklediği belirtilmektedir (44). Mitokondrilerde bulunan DNA'nın hücrel nekroz ve apoptozdan sonra dolaşımda tespit edilen parçasına cf-DNA denilmektedir. Dolaşımdaki cf-DNA'nın PRR bağlanması sonucu inflamatuvar sitokin üretiminde artış görülmektedir. Septik şok prognozunu belirlemede kullanılmaktadır. Sepsiste duyarlılığı ve özgünlüğü sırasıyla %88 ve % 94 olduğu bilinmektedir (45, 46). Sağlıklı insanda yok denilecek kadar düşük seviyelerde bulunan presepsin, mantar ya da bakteriyel enfeksiyonlardan sonra dolaşımda fazla miktarda bulunan, sepsis için tanısallık belirteçler içerisinde yeni bir aday olan, hastalığın prognozu ve mortalitesi hakkında fikir edinmemizi sağlayan miyeloid hücre kökenli bir yüzey glikoproteinidir (47).

Sepsise bağlı organ fonksiyon bozukluğu hakkında bilgi edinmemizi sağlayan biyobelirteçler ise serum laktat seviyesi, Ang ve MMP'dir. Serum laktat seviyesi organ fonksiyon bozukluğunda en sık kullanılan biyobelirteçtir. Doku perfüzyon bozukluğunun olması halinde yüksek düzeylere çıkan serum laktat seviyeleri sepsis için tanısallık öneme sahiptir (48). Sepsis sırasında enfeksiyöz patojenlerden salınan endotoksinlerin Ang fonksiyonlarında bozulmalara neden olmaktadır. Endotel hücre

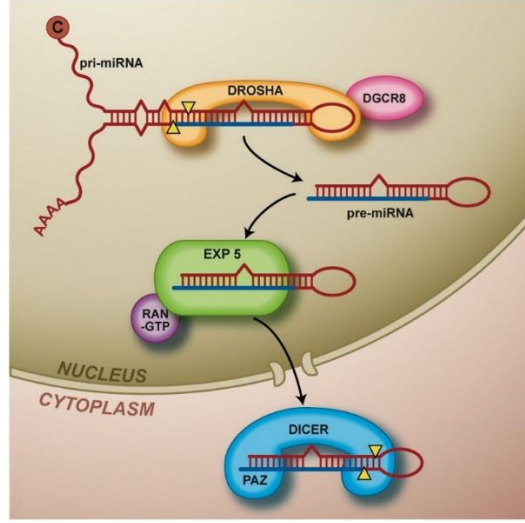
bütünlüğün bozulması, vasküler geçirgenliğin artması, inflamasyon ve koagülasyon yollarının bozulmasına neden olarak organ fonksiyonları etkilenmektedir. Düşük Ang düzeyine bağlı olarak endotel hücre stabilizasyonun bozulduğu ve sepsiste kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmektedir (49). MMP ve doku inhibitörleri (TIMP) yara iyileşmesinde anahtar rol oynayan matriks bileşenleridir. Şiddetli sepsis ve sepsise bağlı gelişen ABH’de yüksek serum seviyelerinde MMP ve TIMP bulunmasının prognostik önemleri olduğu belirtilmektedir (50).

2.4. Mikrozomal Ribonükleik Asit

miRNA, kodlayıcı olmayan ve 19-24 nükleotid uzunluğundaki RNA çeşitleridir. Virüs, bakteri, nematodlar da dahil olmak üzere tüm canlı organizmalarda bulunmaktadır. miRNA’ların 500’e yakın çeşidi bulunmaktadır. Hücresel çeşitli fonksiyonlarda görev aldıkları bilinmektedir (10).

2.4.1. miRNA Biyogenezi

miRNA biyogenezindeki ilk adım pri-miRNA kompleksinin nükleer bölünmesi ile pre-miRNA olarak tarif edilen yaklaşık 60-70 nükleotid uzunluğundaki ara döngü elemanlarının oluşmasıdır. Pri-miRNA’nın pre-miRNA’ya dönüşümünde görev alan enzim Drosha RNase III endonükleazdır. Drosha endonükleazların pri-miRNA’ları tanımasında görevli olan protein ise DCR8 proteinidir. Bu protein sayesinde Drosha endonükleazı pri-miRNA’ları tanır ve bağlanır. Oluşan pre-miRNA molekülleri Ran-GTP ve Exportin-5 taşıyıcıları sayesinde aktif taşımayla nükleustan sitoplazmaya taşınır. Sitoplazmada bulunan ve RNase III endonükleaz ailesinin diğer üyesi olan Dicer endonükleazı ise miRNA ve küçük enterferansçı RNA (small interference RNA, siRNA) oluşumunda görev yapmaktadır. Oluşan miRNA-miRNA kompleksi RNA helikaz tarafından ayrılmaktadır (Şekil 2.1) (51).



Şekil 2.1 miRNA Biyogenezinin Şematik Gösterimi (51)

2.4.2. miRNA Fonksiyonları

miRNA'nın biyolojik işlevi çoğunlukla deneysel hayvan çalışmalarında ve transgenetik çalışmalarda gösterilmeye çalışılmıştır. miRNA ailesindeki bir parçanın delesyonu türler arasında fenotip üzerine farklı etkilere neden olmaktadır. Buna örnek vermek gerekirse fenotip değişikliği fare türlerinde miRNA ailesindeki birçok parçanın silinmesiyle olurken, *Drosophila Melanogaster* türlerinde tek bir parçanın silinmesiyle gerçekleşmektedir. İnsanlar için örnek verilmek gerekirse miR-96 delesyonuyla sağırılık, miR-17-92 delesyonuyla iskelet anomaliliklerinin ortaya çıktığı belirtilmektedir (52).

miRNA ailesinin sadece bulunduğu hücre için etkileri olmamaktadır. Hücreler arası iletişimden ve madde alışverişinden sorumlu tutulan gap junction vasıtasıyla veya dolaşıma salgılanarak eksozom, apoptotik cisim, mikroveziküler kesecikler ya da yüksek yoğunluklu lipoprotein (High Density Lipoprotein, HDL) gibi taşıyıcılarla uzak bölgelerdeki hücreleri de etkileyebilmektedir (53).

2.4.3. miRNA'nın Hastalıklarla ilişkisi

miRNA ailesinin yaklaşık olarak % 17'sinin dokuya veya organa spesifik olduğu bilinmektedir. miR-122 karaciğer için, miR-9-124 beyin için, miR-7 hipofiz bezi için, miR-205 deri için ve miR-514 üreme sistemi için özgü oldukları belirtilmektedir (54). Bu nedenle miRNA ailesindeki üyelerin delesyonu veya

ekspresyonundaki değişkenlik gibi patolojik durumların insanlarda hastalık veya kanserlerle ilişkilendirilmiştir (11).

Kardiyovasküler sistem içerisinde miRNA ailesinden bazılarının önemli etkileri bulunmaktadır. miR-21'in miyokard fibrozisinde arttığı ve sonuç olarak kardiyomegaliye neden olduğu (55), miR-143-145'in vasküler düz kas hücre proliferasyonunu etkileyerek hipertansiyon ve kalp yetmezliğine neden olduğu (56), miR-29'un strese bağlı kollajen birikimine neden olarak kardiyomyositlerde hipertrofiye neden olduğu (57) bilinmektedir.

Glukoz, yağ asitleri, kolesterol metabolizmasında, pankreas endokrin fonksiyonlarında miRNA ailesindeki üyelerin etkili olduğu deneysel hayvan çalışmalarında tespit edilmiştir. Yüksek miR-122 düzeyinin trigliserit düzeylerini düşürdüğü, let-7, miR-103-107'nin glukoz metabolizmasında etkili olduğu görülmüştür (58). miR-29a-29b1-29b'nin diabetes mellitus tanılı hastaların karaciğer, pankreas, böbrek ve yağ dokularında yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür (59). Deneysel hayvan çalışmalarında miR-30d'nin pankreas β hücrelerinde hasar oluşturmaya bağlı olarak insülin salınımını azalttığı tespit edilmiştir (60).

miRNA ailesi kanser türlerinde de etkili oldukları tespit edildikten sonra onkomiR veya tümör baskılayıcı miRNA'lar olarak adlandırılmıştır. OncomiR türleri kanserde yüksek düzeylerde görülürken, tümör baskılayıcı miRNA'lar düşük düzeylerde görülmektedir. Bazı durumlarda miRNA ailesinin miR-7 gibi tek bir üyesi hem onkomiR özelliğinde hem de tümör baskılayıcı miR özelliğinde görülmektedir (61). miR-155'in TGF- β reseptörlerini baskılayarak mide kanser yayılımına neden olduğu belirtilmektedir (62). miR-34a'nın akut miyeloid lösemi etiyopatogenezinde düşük düzeylerde bulunduğu tespit edilmiştir (63).

2.4.4. miRNA ve Sepsis

miRNA türlerinden bazılarının sepsis sırasında bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- α 'yı doğrudan etkilediği düşünülmektedir. Bazı türleri ise TLR/NF- κ B yolunu etkileyerek sepsise neden olan enfeksiyöz patojenlere karşı doğal bağışıklığın oluşmasında görev aldığı bilinmektedir (12, 13).

miRNA'lar damar endotel yapısına doğrudan ya da dolaylı yolla etki ederek endotel disfonksiyonuna ve buna bağlı olarak sepsisin gelişimine neden olabilmektedir. miR-126, damar endotel yapısını koruyarak vasküler bariyeri güçlendirmektedir. Bu miRNA türünün serum konsantrasyonlarının azalmasıyla vasküler bariyer bozulmaktadır. Sonuç olarak endotel disfonksiyona bağlı olarak sepsis oluşmaktadır (64, 65).

miR-34a düzeylerinin artmasının TNF- α ve NF- κ B aktivasyonun zayıflamasına ve dolaylı olarak damar endotelinde hasara neden olmaktadır (66).

miR-155'in azalmış konsantrasyonları, mikrovasküler endotel fonksiyonlarının devamlılığını sağlamaktadır. Bununla birlikte sitokin ve hücrel adeziv molekülleri baskılamaktadır. Bu sayede Ang aktivitesini iyileştirmektedir. Sepsise bağlı oluşan nitrik oksit üretimini azaltmaktadır (67).

Sepsiste gelişen ABH'de serum miR-107 düzeyleri azalmaktadır. Bu azalmayla birlikte böbrek tübül hücrelerinde E-kadherin düzeylerinin azalmasına ve hücrel apoptoza neden olmaktadır. Sonuç olarak azalan miR-107 konsantrasyonları böbrek tübül hücrelerinin endotel fonksiyonlarını bozmaktadır (68).

miR-25: Aerobik aktiviteler ve ozon terapi gibi nedenlerle de düşük düzeylerde bulunan miR-25'in bunların yanında kanıtlanmış bakteriyel enfeksiyonuna sekonder gelişen sepsiste tanısal doğruluğunun yüksek olmasından dolayı teşhis için ve sağ kalımı etkilemesinden dolayı prognoz için bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (69).

miR-122: Karaciğere özgü olan miR-122'nin yüksek düzeylerde olması karaciğer maliniteleri ve hastalıklarıyla ilişkili olmasının yanında sepsiste de yüksek bulunmaktadır. Fakat bakteriyel enfeksiyon veya sepsise özgü biyobelirteç olmasından ziyade sepsise bağlı hipoperfüze organların hasarı ile ilgili daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Karaciğere özgü bir miRNA parçası olmasından dolayı özellikle sepsis ilişkili karaciğer hasarında, karaciğer enzimleri ile birlikte yüksek tespit edilmesi organ hasarı için bir biyobelirteç olduğunu doğrulamaktadır (70, 71).

miR-133a: Fibroziste, malinite gelişiminde ve inflamasyonda önemli rol oynamaktadır. Deneysel hayvan çalışmalarında yapılan farklı sepsis

modellemelerinde miR-133a'nın yüksek düzeylerde bulunmuştur. Buna bağlı olarak miR-133a'nın yüksek düzeylerde olması sepsis ve organ disfonksiyonu için iyi bir biyobelirteç olmasının yanında kötü sağ kalımla da ilişkili bulunduğundan mortalitenin bağımsız bir biyobelirteci olabileceği düşünülmektedir (72).

miR-150: B lenfositlerin olgunlaşma sürecinde yer alan c-Myb proteinin miR-150 ile ters korelasyon göstermesi pre-B lenfositlerin pre-B lenfositlere dönüşümünü etkilemektedir. Bu nedenle miR-150'nin immün sistemin şekillenmesinde etkili olduğu bilinmektedir (73). miR-150 sepsis tanısı almış hastalarda ilk incelenen miRNA ailesi üyesidir. Sepsis tanılı hastalarda düşük miR-150 seviyesi ile yüksek SOFA arasında ters korelasyon olduğu tespit edilmiştir (74).

miR-223: Hematopoietik farklılaşmada görev alan, kolon mukozasında bulunan, immün sistemin güçlenmesinde görev alan ve inflamatuvar bağırsak hastalığı, romatoid artrit gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisi bulunan miRNA üyesidir (75, 76). miR-223 enfeksiyon ve sepsisle ilişkisi de bulunmaktadır. Özellikle miR-223 eksikliğinin sepsisin şiddetini artırdığı ve mortaliteyle ilişkili olduğu bilinmektedir (77). Yüksek düzeylerde miR-223'ün yüksek TNF- α düzeyleriyle korelasyon göstermektedir. Bu korelasyona bağlı olarak hastalık prognozunun kötüleştiği bilinmektedir (78).

miR-297 ve miR-574-5p: Kritik hastalığı bulunan veya sepsis tanılı hastalarda her ikisinin de pognostik biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirtilmektedir. Özellikle miR-574-5p düzeylerindeki değişikliklerin prognoz için prediktifliği SOFA göre daha fazla olabileceği düşünülmektedir (79).

miR-4772: Sepsis tanısı kesinleşmiş hastalarda miR-4772 ailesi, miR-150 ile birlikte yüksek seviyelerde tespit edilmektedir (80).

3. MATERİYAL METOD

Çalışmamız randomize kontrollü prospektif bir çalışmadır. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nde 2022-2024 yılları arasında Üniversitemiz Anestezi ve Reanimasyon Ana Bilim Dalı, Yoğun Bakım Bilim Dalı Kliniğinde sepsis tanısı ile takip edilmekte olan hastalarda ve sağlıklı gönüllülerde gerçekleştirildi.

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Etik Kurulu'nun 30.06.2022 tarihli, 6 No'lu oturumunun 24 No'lu kararı ve 11402 proje ID'si, TTU-2022-11402 BAP projesi onay kodu ile 29.07.2022-19.12.2024 tarihleri arasında Erzurum Atatürk Üniversitesi Genetik Laboratuvarı'nda yapıldı.

miRNA'lar, damar endotel yapısını doğrudan veya dolaylı olarak etkileyerek endotel disfonksiyonuna ve buna bağlı olarak sepsis gelişimine yol açabilir. Örneğin, miR-126, damar endotelini koruyarak vasküler bariyerin güçlenmesine katkıda bulunur; bu miRNA'nın serum düzeylerindeki düşüş ise vasküler bariyerin bozulmasına neden olur ve sonuç olarak sepsis oluşumuna zemin hazırlar (64, 65). Ayrıca, miR-34a seviyelerindeki artış, TNF- α ve NF- κ B aktivasyonunun azalmasına yol açarak damar endotelinde hasar meydana getirebilir. Bu durum, endotel disfonksiyonunu daha da kötüleştirebilir (66).

Çalışmamızda miRNA türleri içerisinde miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p düzeylerine bakıldı. miR-10a-5p ve miR-21-5p'in damar endotelinde glikokaliks yapısının düzenlenmesindeki potansiyel etkileri göz önünde bulundurularak, çalışmamızda bu iki miRNA'nın sepsis tanılı hastalardaki kat değişimlerine bakıldı. Bunun yanında miR-23b-5p ve miR-29a-3p'nin sepsis üzerindeki etkilerini inceleyerek, bu miRNA'nın hastalığın seyrini nasıl etkilediği araştırıldı.

Fatmi ve ark. (81, 82) ile Jouza ve ark. (83)'nin makaleleri referans alınarak eğri altında kalan alanın (AUC=0,80) olduğu durumdan hedef eğri altında kalan alanın (AUC=0,95) bulunabilmesi için %80 güçle %95 güven düzeyinde sepsis tanılı hasta grubunda ve herhangi bir akut ya da kronik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllü grubunda 35'er toplamda 70 hastanın alınması gerektiği NCSS/PASS programı ile

hesaplandı. Çalışmamızda kayıplar göz önünde bulundurularak hesaplanan sayının %10 fazlası düşünülerek çalışmaya 40+40 toplamda 80 kişiden alınmasına karar verildi. Yaş-cinsiyet gibi demografik özellikler kaydedildi.

Çalışmamız iki gruptan oluşturuldu. Hasta grubunda sepsis tanısı bulunan 40 hasta ve sağlıklı gönüllü grubunda akut ya da kronik herhangi bir rahatsızlığı bulunmayan 40 sağlıklı gönüllülerden oluşturuldu.

Çalışmaya 18-85 yaş arasında; sepsis tanısıyla yoğun bakımda takip edilen erkek ve kadın hastalar dahil edildi. Çalışmayı kabul etmeyen hastalar, septik şoktaki hastalar, konjenital genetik bozukluğu olan hastalar ve gebe hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Tüm olgulara standart yoğun bakım monitörizasyonu uygulandı.

Çalışmaya katılan hastaların demografik bilgileri, yoğun bakım ünitesine yatış nedenleri, yatış günündeki GKS, PCT, CRP, lökosit, trombosit verileri ve hastalığın ciddiyetini belirleyen APACHE II, SOFA ve SAPS II skorları ile gelişen mortalite ve morbidite durumları değerlendirildi. Bu veriler, yoğun bakım ünitemizde sepsis tanısı almış hastalarda prognostik faktörleri incelemek amacıyla istatistiksel analizlere tabi tutuldu.

Çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu doldurup imzalayan, çalışmaya katılmayı ve örnek vermeyi kabul eden hastalardan ve gönüllülerden, 2-3'er mL periferik kan örneği alınarak miRNA izolasyonu yapıldı. Alınacak RNA izolasyon kitinin protokol talimatları uygulanarak total RNA izolasyonu yapıldı.

3.1. Total RNA İzolasyonu

Sepsis tanısı bulunan hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Bu örnekler 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmından 200 µl plazma oluşturuldu. Numuneler, izolasyon sürecine kadar -80°C'de saklandı. İzolasyon için dondurulmuş numunelerin tamamen çözülmesi sağlandı. Çözülen plazmalardan, miRNeasy Serum/Plasma Kit (QIAGEN, Almanya) kullanılarak üretici talimatlarına uygun olarak toplam RNA izolasyonu yapıldı. Üretici firmanın prosedürü doğrultusunda sırasıyla;

- I. Serum/plazmanın hazırlanması veya donmuş numunelerin çözülmesi,

- II. Numunelere, numunelerin beş katı kadar QIAzol Lysis Reagent eklenmesi ve eklendikten sonra pipet yardımıyla yukarı-aşağı doğrultuda karıştırılması,
- III. Homojenatin oda sıcaklığında (15-25°C) beş dakika kadar inkübe edilmesi,
- IV. Başlangıçtaki numunenin hacmi kadar kloroform eklendikten sonra ağzı kapalı tüpün 15 saniye boyunca kuvvetlice çalkalanması,
- V. Tekrar oda sıcaklığında (15-25°C) 2-3 dakika boyunca inkübe edilmesi,
- VI. 12000xg'de 15 dakika boyunca 4°C'de santrifüj edilmesi,
- VII. Üst kısımda kalan aköz formdaki sıvının başka tüpe aktarılması ve üzerine 1,5 katı kadar %100 etanol eklendikten sonra tekrar pipet yardımıyla karıştırılması,
- VIII. Çökeltide dahil olmak üzere 700 µL'ye kadar numuneyi 2 mL'lik bir toplama tüpündeki RNeasy MinElute spin kolonuna pipetlenmesi, sonrasında kapağı kapalı tüpün $\geq 8000xg$ 'de oda sıcaklığında (15-25°C) 15 saniye boyunca santrifüjlenmesi ve ardından akışkanın boşaltılması,
- IX. Geriye kalan numuneye tekrar VIII. adımın yapılması,
- X. RNeasy MinElute spin kolon içerisinde 700 µL Buffer RPE eklenmesi, kapağı kapalı tüpün $\geq 8000xg$ 'de oda sıcaklığında (15-25°C) 15 saniye boyunca santrifüjlenmesi ve ardından akışkanın boşaltılması,
- XI. RNeasy MinElute spin kolon içerisinde 500 µL Buffer RWT eklenmesi, kapağı kapalı tüpün $\geq 8000xg$ 'de oda sıcaklığında (15-25°C) 15 saniye boyunca santrifüjlenmesi ve ardından akışkanın boşaltılması,
- XII. RNeasy MinElute spin kolon içerisinde 500 µL %80 etanol eklenmesi, kapağı kapalı tüpün $\geq 8000xg$ 'de oda sıcaklığında (15-25°C) iki dakika boyunca santrifüjlenmesi ve ardından akışkanın boşaltılması,
- XIII. RNeasy MinElute spin kolonundaki numuneyi 2 mL'lik yeni bir tüpe yerleştirilmesi, kapağı açık olan tüpün membranı kurutmak amacıyla tam hızda beş dakika boyunca santrifüjlenmesi ve ardından akışkan ile toplama tüpün boşaltılması,
- XIV. RNeasy MinElute spin kolonundaki numuneyi 1,5 mL'lik toplama tüpüne aktarılması, 14 µL Rnase-free suyunun spin kolon membranının merkezine eklenmesi, kapağı kapalı tüpün RNA'nın elitasyonu için tam hızda bir dakika boyunca santrifüjlenmesi adımları izlendi.

3.2. cDNA Sentezi

Elde edilmiş miRNA içerikli total RNA üzerinde miRCURY LNA RT Kit (QIAGEN, Hidden, Almanya) kullanılarak üretici firmanın prosedürü uygulandı ve cDNA sentezi gerçekleştirildi. Alınacak miRNA primerleri ile total cDNA içinden ilgili miRNA'lara ait cDNA'ların RT-PCR ile amplifikasyon düzeyleri belirlendi. Laboratuvarında bulunan ve rutin olarak kullanılan Rotor-Gene® Q 72-Well Rotor cihazı (QIAGEN, Hidden, Almanya) bu aşamada kullanıldı. RNA örnekleri 5 ng/μL olacak şekilde standardize edildi. Toplam volüm 10 μL olacak şekilde ependorf tüplere aşağıdaki karışım aktarıldı;

- 2 μL 5x miRCURY RT Reaction Buffer,
- 1 μL 10x miRCURY RT Enzyme Mix,
- 0,5 μL Unisp6 RNA spike
- 4 μL RNA örneği
- 2.5 μL RNaz içermeyen su

Ependorf tüpler, Sensequest Labcycler termal cycler cihazına (SensoQuest GmbH, Almanya) aşağıdaki programa uygun şekilde yüklendi. cDNA sentez programı:

- 42°C'de 60 dakika
- 95°C'de 5 dakika
- 4°C'de devam sıcaklığı

Nano Maestro spektrofotometre cihazı (MaestroGen, Tayvan) kullanılarak cDNA konsantrasyonları ölçüldü. A260/A280 oranı kullanılarak toplam RNA'nın saflığı ve kalitesi belirlendi. Elde edilen cDNA, protokole uygun olarak seyreltildi ve hemen qRT-PCR işlemine geçildi.

3.3. qRT-PCR aşamaları

Sepsis tanısı almış 40 hasta ve 40 sağlıklı gönüllü olmak üzere toplam 80 numunenin miRNA ekspresyon düzeyleri, miRCURY LNA SYBR® Green PCR Kit ve miRCURY LNA miRNA PCR Assay (QIAGEN, Almanya) kullanılarak ölçüldü. Toplam volüm 10 μL olacak şekilde;

- 5 µL 2x miRCURY SYBR® Green Master Karışımı
- 1 µL PCR primer karışımı
- 3 µL 1/30 seyreltilmiş kalıp cDNA
- 1 µL RNaz içermeyen su

miRNA ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmalı ölçümü ve normalizasyonu için SNORD48 kontrol olarak kullanıldı. miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p, Rotor Gene® cihazında (QIAGEN, Almanya) 72'lik platformda incelendi. miR-10a-5p, on hastada izole edilemedi.

Real-time qPCR reaksiyonu şu aşamalardan oluştu:

- 95°C'de 2 dakika PCR başlangıcı, ardından 95°C'de 10 saniye denatürasyon,
- 56°C'de 1 dakika bağlanma ve uzama. Bu basamaklar 40 döngü boyunca uygulandı. RT-qPCR işlemi sonrası, numunelerin floresan ışığa miktarını gösteren CT (Cycle of threshold) değerleri incelendi ve kaydedildi.

Tablo 3.1 qRT-PCR Döngü Basamakları

Basamak	Sıcaklık	Zaman
PCR Başlangıç Aşaması	95°C	2 dk
Denatürasyon	95°C	10 sn
Bağlanma ve Uzanma	56°C	1 dk
Siklus sayısı	40	

3.4. İstatistiksel Analiz

PCR sırasında amplifikasyon gerçekleşirken SYBR Green boyasının saldıgı floresans, Real-Time PCR cihazı tarafından kaydedildi ve her örneğin başlangıç konsantrasyonuna göre Ct değerleri otomatik olarak hesaplandı. Her bir örnek için miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p incelendi; normalizasyon için SNORD48 geni referans alındı.

Rotor-Gene Software programında, vaka ve sağlıklı gönüllü olarak kabul edilen 40 çift örneğin CT değerleri ve CT eğri grafikleri analiz edilip kaydedildi.

Elde edilen verilerle lncRNA, mRNA ve miRNA ekspresyon değişiklikleri (fold change), $2^{-\Delta Ct}$ ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak) yöntemiyle hesaplandı.

$$2^{-\Delta Ct} \rightarrow \Delta Ct = (CT \text{ hedef gen}) - (CT \text{ referans gen})$$

$$2^{-\Delta\Delta Ct} \rightarrow \Delta\Delta Ct = (\text{Hasta grubu } \Delta Ct) - (\text{Sağlıklı gönüllü grubu } \Delta Ct)$$

Çalışmanın istatistiği yapılırken, tanımlayıcı istatistiklerde numerik veriler ortalama ve standart sapma, kategorik veriler ise sayı ve yüzde olarak sunuldu. Numerik verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. İki grup arasındaki numerik veriler, normal dağılıma uygun olduğunda Student t testi; uygun olmadığında Man Whitney U testi ile analiz edildi. Kategorik veriler için ki-kare testi kullanıldı. Numerik verilerin korelasyonu Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi. p değeri <0,05 anlamlı kabul edildi. Analizler için SPSS 23.0 yazılımı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya her grupta 40 kişi olacak şekilde toplamda 80 vaka dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 64,92±12,91 (Min:34; Max:85) olarak hesaplandı.

Sadece hasta grubuna ait sosyodemografik veriler, laboratuvar ve yoğun bakım skorları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Hasta Grubuna Ait Sosyodemografik Veriler, Laboratuvar ve Yoğun Bakım Skorları

	Hasta	
	Ort±SS	Median (Min-Maks)
Boy	167,08±9,34	168,50 (150,00-180,00)
Kilo	77,82±16,74	79,00 (40,00-130,00)
SKB	100,18±22,96	95,00 (71,00-185,00)
DKB	56,23±14,95	55,50 (8,00-95,00)
Nabız	108,18±22,69	106,50 (58,00-155,00)
Solunu sayısı	23,95±5,64	24,50 (12,00-35,00)
GKS	8,30±4,47	8,00 (3,00-15,00)
PCT	39,94±54,38	9,45 (0,02-150,00)
CRP	180,98±100,78	174,00 (21,00-442,00)
Laktat	3,62±3,37	2,45 (0,70-18,00)
WBC	15,34±11,71	13,05 (0,04-55,00)
PLT	182,00±127,69	147,00 (9,00-484,00)
APACHE-II	26,03±7,64	25,50 (13,00-41,00)
SAPS	57,78±19,20	58,50 (20,00-102,00)
SOFA	8,10±3,44	8,00 (1,00-16,00)
qSOFA	2,42±0,50	2,00 (2,00-3,00)

(Veriler Ort±SS, Median(Min-Maks) şeklinde verilmiştir. Ort:Ortalama, SS:Standart Sapma, Med:Median, Min:Minimum, Maks:Maksimum, SKB:Sistolik Kan Basıncı, DKB:Diastolik Kan Basıncı, GKS:Glaskow Koma Skalası, PCT:Prokalsitonin, CRP:C-Reaktif Protein, WBC:Beyaz Kan Hücreleri, PLT:Platelet, APACHE-II: Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirme Skoru, SAPS: Basitleştirilmiş Akut Fizyoloji Skoru, SOFA: Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru, qSOFA:Hızlı Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru)

Hastaların %62,50’si (n=50) erkek, %37,50’si (n=30) ise kadındı. Gruplara göre cinsiyetler anlamlı farklı değildi (p=0,643). Hastalarda en fazla %52,50 ile kalp ve damar hastalıkları mevcuttu. Hasta grubuna ait ek hastalıklar Tablo 4.2’de verilmektedir.

Tablo 4.2 Hasta Grubuna Ait Ek Hastalıklar

		n	%
Cinsiyet	Erkek	50	62,50
	Kadın	30	37,50
Kalp ve damar hastalıkları	Var	21	52,50
	Yok	19	47,50
Pulmoner hastalıklar	Var	12	30,00
	Yok	28	70,00
Endokrinolojik hastalıklar	Var	15	37,50
	Yok	25	62,50
Genitoüriner sistem hastalıkları	Var	11	27,50
	Yok	29	72,50
Nörolojik hastalıklar	Var	10	25,00
	Yok	30	75,00
Diğer	Var	8	20,00
	Yok	32	80,00
Sonuç	Taburcu	15	37,50
	Eksitus	25	62,50

(Veriler n ve % şeklinde verilmiştir. n:sayı, %:yüzde.)

Hastaların % 62,50'si eksitus olmuşlardı. Hastaların cinsiyet ve ek hastalıklarına göre mortaliteleri anlamlı değişmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Hasta Grubuna Ait Ek Hastalıklara Göre Mortalite Oranları

		Sonuç				p
		Taburcu		Eksitus		
		n	%	n	%	
Cinsiyet	Erkek	9	60,00	15	60,00	1,000
	Kadın	6	40,00	10	40,00	
Kalp ve damar hastalıkları	Var	8	53,33	13	52,00	0,995
	Yok	7	46,67	12	48,00	
Pulmoner hastalıklar	Var	6	40,00	6	24,00	0,285
	Yok	9	60,00	19	76,00	
Endokrinolojik hastalıklar	Var	6	40,00	9	36,00	0,800
	Yok	9	60,00	16	64,00	
Genitoüriner sistem hastalıkları	Var	3	20,00	8	32,00	0,411
	Yok	12	80,00	17	68,00	
Nörolojik hastalıklar	Var	3	20,00	7	28,00	0,572
	Yok	12	80,00	18	72,00	
Diğer	Var	2	13,33	6	24,00	0,414
	Yok	13	86,67	19	76,00	

(Veriler n ve % şeklinde verilmiştir. n:sayı, %:yüzde. İstatistiksel olarak anlamlılık için $p<0,05$ kabul edilmiştir.)

Hasta grubunda mortaliteye göre bazı numerik verilerin değerlendirilmesine bakıldı. GKS ($p=0,022$) ve PCT ($p=0,047$) değerleri taburcu olanlarda anlamlı yüksek bulunurken; APACHE-II değeri ise eksitus olanlarda anlamlı yüksek bulundu ($p=0,033$). Diğer parametrelerin ise mortaliteye göre anlamlı değişmediği görüldü (Her biri için $p>0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 Hasta Grubunda Mortaliteye Göre Bazı Numerik Verilerin Değerlendirilmesi

	Sonuç						P
	Taburcu			Eksitus			
	Ort±SS	Med	(Min-Maks)	Ort±SS	Med	(Min-Maks)	
GKS	10,40±4,31	10,00	(3,00-15,00)	7,04±4,16	6,00	(3,00-15,00)	0,022
PCT	57,44±63,02	22,00	(0,50-150,00)	29,43±46,71	6,20	(0,02-150,00)	0,047
CRP	170,63±84,94	163,40	(42,00-299,00)	187,20±110,41	185,00	(21,00-442,00)	0,651
Laktat	2,87±1,99	2,40	(0,70-7,80)	4,06±3,94	2,50	(0,80-18,00)	0,562
WBC	17,51±13,16	15,50	(2,20-55,00)	14,03±10,82	13,00	(0,04-39,20)	0,371
PLT	187,93±143,80	147,00	(25,00-484,00)	178,44±119,98	147,00	(9,00-466,00)	1,000
APACHE-II	22,73±8,00	21,00	(13,00-37,00)	28,00±6,84	27,00	(17,00-41,00)	0,033
SOFA	7,67±3,44	7,00	(2,00-16,00)	8,36±3,49	9,00	(1,00-14,00)	0,544

(Veriler Ort±SS, Med(Min-Maks) şeklinde verilmiştir. Ort:Ortalama, SS:Standart Sapma, Med:Median, Min:Minimum, Maks:Maksimum, GKS:Glaskow Koma Skalası, PCT:Prokalsitonin, CRP:C-Reaktif Protein, WBC:Beyaz Kan Hücreleri, PLT:Platelet, APACHE-II: Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirme Skoru, SOFA: Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirme Skoru)

Sağlıklı gönüllü grubu için RT-PCR Ct değerleri Tablo 4.5’de gösterilmiştir.

Tablo 4.5 Sağlıklı Gönüllü Grubu İçin RT-PCR Ct Değerleri

	hsa-miR- 10a-5p	hsa-miR- 21-5p	hsa-miR- 29a-3p	hsa-miR- 23b-5p	SNORD48
SG1	33.29	22.95	27.00	32.70	30.32
SG2	32.53	24.15	28.49	33.80	32.53
SG3	32.08	23.41	30.02	27.50	30.69
SG4	33.06	23.50	31.25	26.26	31.94
SG5	33.54	23.34	32.14	30.50	32.86
SG6	34.46	24.60	32.62	34.29	33.45
SG7	32.34	22.63	29.16	30.30	29.81
SG8	31.14	22.30	29.20	29.68	29.87
SG9	31.86	20.69	27.62	30.88	28.16
SG10	30.62	20.81	26.84	28.86	27.43
SG11	32.90	23.63	16.15	28.90	30.32
SG12	31.54	21.72	31.39	30.17	32.14
SG13	32.00	22.55	34.59	31.30	32.28
SG14	30.60	21.31	31.34	28.92	26.23
SG15	26.89	17.37	31.39	32.21	31.44
SG16	30.48	21.00	35.59	34.71	29.16
SG17	30.54	21.43	32.34	29.86	31.09
SG18	33.91	23.63	30.23	24.93	30.78
SG19	29.70	17.52	30.86	35.90	32.13
SG20	32.74	23.13	28.58	35.43	31.91
SG21	32.72	25.15	30.55	31.72	31.58
SG22	27.45	22.38	31.39	33.95	33.46
SG23	31.14	22.18	31.22	31.40	32.36
SG24	31.27	21.93	30.95	26.26	32.92
SG25	31.17	21.21	32.82	31.30	31.65
SG26	31.37	21.17	31.74	30.31	34.70
SG27	32.05	21.22	32.25	31.19	34.83
SG28	30.79	20.43	30.89	31.20	31.79
SG29	32.76	23.69	31.38	31.19	32.50
SG30	31.70	21.38	35.82	27.31	32.16
SG31	32.00	22.76	31.11	29.30	32.75
SG32	31.72	22.22	31.20	30.30	33.20
SG33	31.16	21.78	31.50	33.81	34.27
SG34	30.64	21.71	32.03	32.14	32.49
SG35	30.90	20.89	31.20	29.63	30.13
SG36	31.90	18.16	33.61	30.21	30.41
SG37	32.55	23.86	31.83	31.92	32.32
SG38	32.70	20.72	29.47	31.95	32.41
SG39	31.19	23.70	29.83	30.23	32.20
SG40	31.27	21.80	31.74	31.47	32.33

(SG:Sağlıklı gönüllü)

Hasta grubu için RT-PCR Ct değerleri Tablo 4.6’da gösterilmiştir.

Tablo 4.6 Hasta Grubu İçin RT-PCR Ct Değerleri

	hsa-miR- 10a-5p	hsa-miR- 21-5p	hsa-miR- 29a-3p	hsa-miR- 23b-5p	SNORD48
P1	33.97	20.83	31.48	25.36	27.56
P2	33.44	26.98	27.55	24.76	24.71
P3	34.14	26.13	27.49	27.73	27.18
P4	34.00	25.66	26.18	26.47	25.69
P5	None	25.13	31.21	30.26	30.75
P6	34.41	25.53	31.43	34.58	31.20
P7	25.19	24.45	30.36	30.19	30.60
P8	None	23.93	30.56	29.85	30.25
P9	None	21.72	30.81	31.19	30.48
P10	None	21.58	27.51	29.20	27.24
P11	None	24.94	35.64	29.59	35.16
P12	34.27	23.30	28.97	30.39	28.61
P13	None	24.61	29.36	30.18	28.90
P14	None	22.61	28.20	29.19	27.84
P15	None	18.99	29.96	32.47	29.63
P16	None	20.87	30.80	34.98	30.27
P17	None	23.22	25.88	30.20	25.63
P18	33.27	24.80	25.61	30.72	31.35
P19	31.09	23.91	28.20	36.37	30.90
P20	32.61	23.80	29.87	35.77	30.18
P21	31.14	23.71	26.62	31.93	27.36
P22	32.62	22.89	28.74	34.23	30.26
P23	33.54	25.20	27.52	32.28	27.36
P24	33.81	25.14	29.70	26.45	30.26
P25	34.74	23.82	29.86	30.15	27.49
P26	32.46	23.60	28.62	30.50	28.15
P27	34.69	23.13	27.42	31.32	30.97
P28	33.31	22.37	21.29	29.38	28.47
P29	34.69	25.17	29.90	31.32	31.21
P30	33.31	22.92	22.74	29.58	31.20
P31	30.66	23.36	27.65	31.38	30.80
P32	30.78	22.13	28.64	30.30	25.22
P33	33.95	19.41	31.50	20.64	29.72
P34	33.35	22.44	29.52	24.83	27.60
P35	32.93	19.56	29.80	21.90	25.51
P36	29.37	16.73	25.94	18.21	23.74
P37	30.80	18.91	28.38	24.20	31.79
P38	32.54	20.51	33.55	24.22	28.26
P39	32.91	24.45	29.27	23.76	28.51
P40	31.49	20.17	30.85	24.64	27.32

(P:Hasta grubu)

Hasta ve sağlıklı gönüllü gruplarına göre yaş ve SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p için ortalama Ct değerleri Tablo 4.7’de verilmiştir. Gruplar arasında yaş açısından anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0,093$). Hasta grubundaki SNORD48 Ct değerinin ortalaması anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0,001$). Hasta grubundaki miR-10a-5p Ct değerinin ortalaması anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p=0,002$). Hasta grubundaki miR-21-5p Ct değerinin ortalaması anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p=0,035$). Hasta grubundaki miR-23b-5p Ct değerinin ortalaması anlamlı şekilde düşük bulundu ($p=0,036$) ve hasta grubundaki miR-29a-3p Ct değerinin ortalaması anlamlı şekilde düşük bulundu ($p=0,004$).

Tablo 4.7 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarına Göre Yaş ve SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p Ortalama Ct Değerlerinin Karşılaştırılması

	GRUP						p
	Hasta			Sağlıklı Gönüllü			
	Ort±SS	Med	(Min-Maks)	Ort±SS	Med	(Min-Maks)	
Yaş	67,15±13,24	71,50	(34,00-85,00)	62,70±12,33	65,00	(46,00-82,00)	0,093
Ct SNORD48	28,88±2,33	28,76	(23,74-35,16)	31,63±1,80	32,14	(26,23-34,83)	<0,001
Ct miR-10a-5p	32,65±1,98	33,29	(25,19-34,74)	31,62±1,46	31,71	(26,89-34,46)	0,002
Ct miR-21-5p	22,97±2,27	23,33	(16,73-26,98)	22,00±1,72	22,06	(17,37-25,15)	0,035
Ct miR-23b-5p	29,02±4,10	30,17	(18,21-36,37)	30,85±2,44	31,04	(24,93-35,90)	0,036
Ct miR-29a-3p	28,86±2,60	29,12	(21,29-35,64)	30,73±3,06	31,24	(16,15-35,82)	0,004

(Veriler Ort±SS, Med(Min-Maks) şeklinde verilmiştir. Ort:Ortalama, SS:Standart Sapma, Med:Median, Min:Minimum, Maks:Maksimum. İstatistiksel olarak anlamlılık için $p<0,05$ kabul edilmiştir.)

Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı gönüllü grubu örneklerinin her birinden hsa-miR-10a-5p, hsa-miR21-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-23b-5p ve normalizasyon kullanılmak üzere SNORD48 ekspresyon çalışmaları yapılmıştır ve Ct değerleri Tablo 4.8-10’da belirtilmiştir.

Hasta ve sağlıklı gönüllü gruplarına ait elde edilen Ct ve standart sapma değerleri Tablo 4.8’de verilmiştir. Bu değerler ile hesaplanan delta Ct değerleri Tablo 4.9’da yer almaktadır.

Tablo 4.8 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarında hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-23b-5p ve SNORD48 için Tespit Edilen Ortalama Ct Değerleri

	Ortalama Ct Değerleri		Standart Sapma	
	Sağlıklı gönüllü grubu	Hasta grubu	Sağlıklı gönüllü grubu	Hasta grubu
hsa-miR-10a-5p	31.62	33.24	1.458592	1.996044
hsa-miR-21-5p	22.00	22.97	1.715038	2.271769
hsa-miR-29a-3p	30.73	28.86	3.060491	2.603043
hsa-miR-23b-5p	30.85	29.02	2.442781	4.103863
SNORD48	31.63	28.88	1.803150	2.329028

(Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir.)

Tablo 4.9 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarında hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-23b-5p ve SNORD48 için Tespit Edilen Delta Ct Değerleri

	Ortalama Delta Ct Değerleri (Ct(Hedef miRNA)- Ct(SNORD48))		Standart Sapma	
	Sağlıklı gönüllü grubu	Hasta grubu	Sağlıklı gönüllü grubu	Hasta grubu
hsa-miR-10a-5p	-0.01	4.35	2.228001	2.895250
hsa-miR-21-5p	-9.62	-5.92	2.267775	2.915446
hsa-miR-29a-3p	-0.89	-0.02	3.086253	2.849595
hsa-miR-23b-5p	-0.78	0.13	2.674855	3.675409
SNORD48	0.00	0.00	0.000000	0.000000

(Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir.)

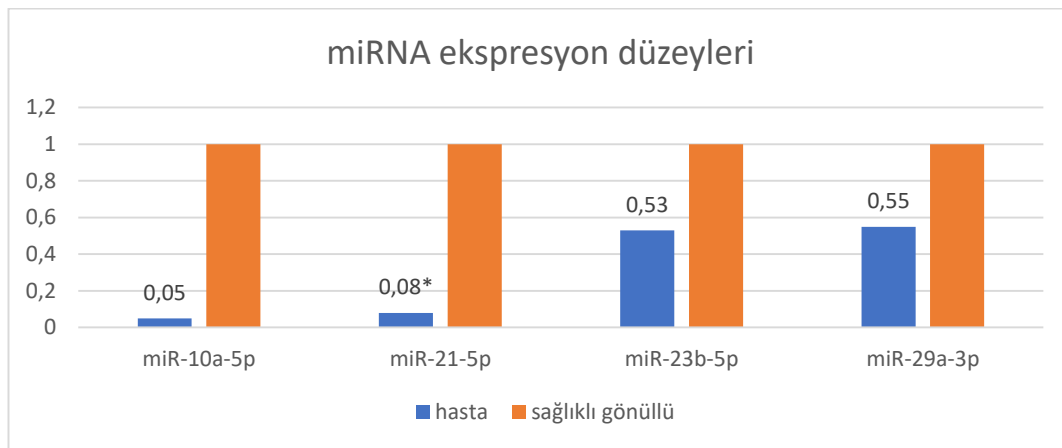
Hasta ve sağlıklı gönüllü gruplarındaki her bir miRNA'nın 2- Δ Ct değerleri Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10 Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Gruplarında hsa-miR-10a-5p, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-23b-5p ve SNORD48 için Tespit Edilen 2- Δ Ct Değerleri

	2- Δ Ct	
	Sağlıklı gönüllü grubu	Hasta grubu
hsa-miR-10a-5p	1.005735	0.048909
hsa-miR-21-5p	789.475125	60.463811
hsa-miR-29a-3p	1.855425	1.013081
hsa-miR-23b-5p	1.714455	0.911617
SNORD48	1.000000	1.000000

(Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir.)

Hasta grubu içerisinde SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p genlerinin ekspresyonu yani kat değişiminin sağlıklı gönüllü grubu ile karşılaştırılması Şekil 4.1 ve Tablo 4.11'de gösterilmiştir. Bu genler içerisinde sadece miR-21-5p geninin ekspresyon azalması sağlıklı gönüllü grubuna kıyasla sepsis grubunda anlamlı bulundu ($p=0,009$). Diğer genlerdeki ekspresyon azalmaları sağlıklı gönüllü grubuna göre anlamlı değildi (Her biri için $p>0,05$). miR-21-5p genindeki istatistiksel olarak anlamlı ekspresyon azalmasının, damar endotel yapısını bozarak sepsis ile daha güçlü bir ilişki sergilediği gözlemlendi.



Şekil 4.1 miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p Genlerinin Hasta ve Sağlıklı Gönüllü Grubundaki Ekspresyon Düzeyleri

(Ekspresyon $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülü ile hesaplanmıştır. * $p=0,009$. İstatistiksel anlamlılık için $p<0,05$ kabul edilmiştir.)

Tablo 4.11 Hasta Grubunda SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p Genlerinin Sağlıklı Gönüllü Grubuna Kıyaslanarak Belirlenen Ekspresyonu ve p Değerleri

	Ekspresyon	p
<i>miR-10a-5p</i>	0,05	0,206
<i>miR-21-5p</i>	0,08	0,009*
<i>miR-23b-5p</i>	0,53	0,324
<i>miR-29a-3p</i>	0,55	0,336
SNORD48	1	-

(Ekspresyon $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ile hesaplanmıştır. *p=0,009. İstatistiksel anlamlılık için p<0,05 kabul edilmiştir.)

Hasta grubunda mortaliteye göre ekspresyon verilerinin değerlendirilmesine bakıldı (Tablo 4.12). Çalışmamızdaki miRNA türlerinden sadece miR-21-5p'nin ekspresyonu, eksitus olan hastalarda taburcu olan hastalara göre anlamlı düzeyde azalmış bulundu (p=0,023).

Tablo 4.12 Hasta Grubunda Mortaliteye Göre Ekspresyonun Değerlendirilmesi

	Taburcu		Eksitus	
	Ekspresyon	p	Ekspresyon	p
hsa-miR-10a-5p	0,04	0,19	0,05	0,43
hsa-miR-21-5p	0,10	0,14	0,07	0,023
hsa-miR-29a-3p	0,35	0,54	0,72	0,45
hsa-miR-23b-5p	0,39	0,35	0,65	0,30
SNORD48	1,00	N/A	1,00	N/A

(Ekspresyon $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ile hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık için p<0,05 kabul edilmiştir.)

5. TARTIŞMA

Sepsis, yoğun bakım ünitesinde tedavi gören hastalarda karşılaşılan en sık ölüm nedenlerinden biridir (32). Sepsis tanısı almış hastalarda tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi klinisyenleri zorlamaya devam etmektedir (84). Bu nedenle sepsis tanısı almış hastaların tedavisinin değerlendirilmesi ve izlenmesinde özgünlüğü ve seçiciliği yüksek olan yeni protokoller geliştirilmeye çalışılmaktadır. Günümüzde bu amaçla pek çok biyobelirteç kullanılmakla beraber bunların arasında PCT, CRP ve IL-6 en sık tercih edilen geleneksel biyobelirteçlerdir (84, 85). Bununla birlikte sepsis tanısı almış hastalarda mortalite açısından GKS (9), APACHE-II (8), SOFA (35), qSOFA (7) gibi prognostik skorlama yöntemleri de kullanılmaktadır.

Bir çalışmada yoğun bakım ünitesinde sepsis tanısı ile yatan 1676 hastada prognostik skorlama yöntemlerinden GKS, SOFA ve SAPS-II kullanılmıştır. Bu yöntemler içerisinde GKS'nin sağ kalan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu, SOFA ve SAPS-II'nin eksituslarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (86). Hindistan'da yapılan bir çalışmada ise sepsis tanısı almış 969 hasta incelenmiştir. Bu hastaların prognostik skorlama yöntemlerinden APACHE-II ve SAPS-II kullanılmıştır. Bu çalışmada hastaların %31,9'unun eksitus olduğu ve her iki prognostik skorlama yönteminin de eksitus olanlarda daha yüksek puanlara ulaştığı ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu tespit edilmiştir (87). Bizim çalışmamızda ise benzer şekilde prognostik skorlama yöntemleri içerisinde sadece GKS ($p=0,022$)'nin taburcu olan hastalarda ve APACHE-II ($p=0,033$)'nin ise eksituslarda istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda bulduğumuz gibi sepsis nedeniyle tedavi edilen ve taburcu olan hastalardaki GKS yüksekliğinin ve sepsis nedeniyle takipleri sırasında eksitus olanlardaki APACHE-II yüksekliğinin literatürdeki bu çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

miRNA'lar birçok biyolojik sürecin merkezinde görev almaktadır. Bu moleküllerin düzensiz ekspresyonu ile onkolojik, kardiyovasküler, nörodejeneratif ve metabolik birçok hastalığa neden olduğu görülmüştür (88). Bununla birlikte son zamanlarda yapılan çalışmalarda geleneksel biyobelirteçlere göre yüksek stabilite,

seçicilik ve özgünlüğü bulunan miRNA'lar yeni biyobelirteçler olarak kullanılmaya başlanılmıştır (89).

Yaptığımız çalışmada sepsis tanılı hastalarda tanı, izleme ve tedavinin yönlendirilmesi için miRNA türlerinin biyobelirteç olarak kullanılma olasılığını araştırılmıştır. Bu amaçla miRNA türleri içerisinden SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p sepsis tanısı almış hasta grubu ile sağlıklı gönüller arasında karşılaştırılmıştır.

Çalışmamız her grupta 40 vaka olacak şekilde toplam 80 hastada yapılmıştır. Olguların yaş ortalaması $64,92 \pm 12,91$ (Min:34; Max:85) olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunda SNORD48, miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p genlerinin sağlıklı gönüllü grubuyla kıyaslanarak ekspresyonları karşılaştırılmıştır. Bu miRNA türleri arasından sadece miR-21-5p geninin ekspresyonu sağlıklı gönüllü grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,009$).

Enfeksiyon, sepsis ve bunların bir biyobelirteci olarak kullanılan miRNA'lar, popülaritesini hala sürdürmektedir. Özellikle sepsisin erken dönemde immün hiperaktivitesinin ve geç dönemde immünsüpresyon etkisinin bulunmasından dolayı birçok miRNA tipi sepsisle ilişkilendirilmiş. Bu nedenle literatürde sepsisle ilişkilendirilmiş miRNA'lar hakkında oldukça fazla çalışma bulunmaktadır (88).

Sepsis ile ilişkili miRNA'ların *in vitro* ve *in vivo* modülasyonu ve bunların patofizyolojik durumlardaki rolü üzerinde oldukça fazla durulmuştur. Bu çalışmaların birinde hem *in vitro* hem de *in vivo* miR-1-3p aşırı ekspresyonunun, stresle ilişkili endoplazmik retikulum proteini-1 (SERP-1) azalmasına, hücre çoğalmasının engellenmesine, apoptoz artışına, membran hasarının artmasına ve endotel işlev bozukluğuna neden olduğu bulunmuştur (90). Bu nedenle sepsiste miR-1-3p'nin aşırı arttığı gözlemlenmiştir.

In vitro yapılan başka bir çalışmada sepsis tanısı almış hastaların hücre kültürlerinde miR-15a, miR-16, miR-93, miR-143, miR-223 ve miR-424'n arttığı, miR-150 ve miR-342'nin azaldığı tespit edilmiştir (91). Deneysel sepsis modelinde yapılan bir çalışmada ise miR-15a, miR-27a ve miR-34'n arttığı fakat septik şokta bu miRNA'ların azaldığı grlmştir (92).

Sepsis tanısı almış 214 hastada yapılan bir çalışmada sepsis nedeniyle vefat edenlerle hayatına devam edenlerin miRNA düzeyleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak miR-15a, miR-16, miR-193b ve miR-483-5p'nin sepsis kaynaklı mortaliteyle ilişkili olduğu görülmüştür (93).

Yeni doğan septisemi tanısı almış hastalarında yapılan çalışmada ise hastaların serumlarında miR-96-5p'nin düşük ekspresyonunun olduğu ve bununla birlikte nikotinamid fosforiboziltransferaz (NAMPT) enzim düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. miR-96-5p düzeylerinin yüksek olmasının nükleer faktör- $\kappa\beta$ (NK- $\kappa\beta$) sinyal yolunu inhibe ederek inflamatuvar yanıtı hafiflettiği görülmüştür (94).

miR-103a-3p'nin LPS neden olduğu karaciğer hasarındaki rolünü araştıran başka bir çalışmada ise LPS kaynaklı gelişen karaciğer hasarında ve buna bağlı gelişen sepsiste miR-103a-3p'nin aşırı arttığı belirtilmiştir. Bununla birlikte miR-103a-3p'nin baskılanmasının apoptozu ve oksidatif reaksiyonları baskılayarak septik karaciğer hasarını azalttığı bulunmuştur (95). Bu çalışmanın aksine başka bir çalışmada ise miR-103a-3p'nin sepsis tanısı almış hastaların serumlarında sağlıklı gönüllülerin serumlarına göre daha düşük düzeylerde ve bu düşüklüğün sepsis için tanısal bir biyobelirteç olduğu belirtilmiştir (96). Düşük miR-103a-3p düzeylerinin sepsisteki tanısal değeri literatürdeki başka çalışma ile desteklenmiştir (97).

İn vitro yapılan bir diğer çalışmada ise miR-106a'nın LPS kaynaklı inflamatuvar yanıtı etkisi incelenmiştir. Sepsiste, bu miRNA'nın ekspresyonunun arttığı ve inflamatuvar yanıtı artırdığı bulunmuştur (98).

miR-122'nin sepsis ve enfeksiyon ayırımında kullanılabilirliğini araştıran bir çalışmada ise miR-122 ekspresyonunun sepsis tanılı hastalarda arttığı görülmüştür. Bununla birlikte miR-122'in artmış ekspresyonu 30 günlük mortalite için bağımsız risk faktörü olduğu tespit edilmiştir (99).

ARDS, sepsis ve miR-125 arasındaki korelasyonun incelendiği bir çalışmada ise ARDS-sepsis tanısı almış hastaların ve sepsis olmaksızın sadece ARDS tanısı almış hastaların serum düzeylerinde, kontrol grubuna göre miR-125a ve miR-125b'nin her ikisinin de yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte hem ARDS

hem de sepsis tanısı olan hastaların serum düzeylerinde, sadece ARDS tanısı almış hastalara göre miR-125b'nin daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu fakat miR-125a'nın yükselmediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak miR-125'in ARDS riskini görmede, miR-125b'nin ise sepsis tanılı hastalarda prognostik önemi olduğu vurgulanmıştır (100). Fakat başka bir çalışmada ise 196 sepsis tanısı olan hastalarla 196 sağlıklı gönüllülerin serum miR-125a düzeyleri karşılaştırılmıştır. Sepsis tanısı olan hastalarda miR-125a'nın yüksek konsantrasyonlarda olduğu ve sepsis için hastalık şiddeti, organ hasarı, inflamasyon düzeyi ve mortalite açısından prognostik öneminin olduğu vurgulanmıştır (101).

Sepsis tanısı almış 50 hastanın serum miR-126a ve miR-223 düzeyleri, SIRS tanısı almış 30 hastanın ve 20 sağlıklı gönüllülerle karşılaştırılan bir çalışmada, sepsis tanılı hastalarda her iki miRNA türünün de diğer gruplara göre önemli ölçüde azaldığı, sepsis tanısı için yüksek özgünlüğünün ve duyarlılığının olmasından dolayı yeni bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (102). Benzer sonuçlar literatürdeki başka bir çalışma ile desteklenmiştir. Bu çalışmada sepsis tanısı almış hastaların (n=208), sağlıklı gönüllülerle (n=210) yapılan serum miR-126a düzeyleri karşılaştırmasında, miR-126a'nın sepsis için tanısal ve prognostik bir biyobelirteç olabileceği vurgulanmıştır (103).

İn vitro yapılan bir çalışmada sepsis modeli geliştirilmiş farelerin serum düzeylerinde miR-133a düzeyleri incelenmiştir. miR-133a'nın sepsis sırasında yüksek düzeylerde olduğu ve miR-133a ekspresyonunun azaltılması ile sepsis kaynaklı organ hasarının ve inflamasyon şiddetinin hafiflediği görülmüştür. Sonuç olarak miR-133a serum düzeylerinin ölçümleri sepsisin tedavisinde yeni bir strateji olabileceği belirtilmiştir (104).

Sepsis tanısı almış hastalarda miR-142, miR-143, miR-145 ve miR-146 da değerlendirilmiştir. miR-142 serum düzeylerinin düşük olmasının sepsis patofizyolojisinde (105, 106) ve tedavi izleminde (107) kullanılabilecek bir biyobelirteç olduğu belirtilmiştir. Serum miRNA-143 düzeylerinin yüksek olmasının sepsis ve SIRS tanılı hastaların ayırımında kullanılabileceği (108) ve sepsisin immünopatolojisiyle ilişkili (109) olabileceği gösterilmiştir. miR-145 serum düzeyleri açısından farklı iki çalışma gösterilmiştir. Bu çalışmalardan birinde serum

miR-145 düzeyinin yükselmesi sepsis ilişkili akciğer hasarını azalttığı gösterilmiştir (110). Diğer çalışmada ise miR-145'in yüksek konsantrasyonlarda olması sepsis patofizyolojisinde önemli yerinin olduğu bildirilmiştir (111). miR-146 için ise literatürdeki çalışmaların çoğunluğu sepsis tanılı hastaların serum miR-146 düzeylerinin azaldığını belirtmiştir (109, 112-116).

Deneyisel endotokseminde serum miR-150 düzeylerinin düştüğü ve düşük konsantrasyonların sepsisle ilişkili olduğu, sepsis tanısı, prognozu ve tedavisinde önemli bir biyobelirteç olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (117-119). Sepsis ve miR-155 ilişkisi açısından farklı görüşler bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda, miR-155 serum konsantrasyonlarının sepsis tanısı almış hastalarda yüksek düzeylerde bulunduğu belirtilmiştir (67, 120). Bunun aksine başka bir çalışmada ise miR-155 serum konsantrasyonlarının sepsis tanısı almış hastalarda azalmış olduğunu gösterilmiştir (109). Bunların yanında sepsis tanısı almış hastaların sağlıklı gönüllülerle yapılan karşılaştırmalarında miR-155'in önemli fark yaratacak kadar değişmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (92, 102, 121, 122).

Bazı çalışmalarda serum miR-181a-5q düzeylerinin sepsis tanısı almış hastalarda azaldığı, sepsis patogenezi ve tedavisinde kullanılabilecek yeni bir biyobelirteç olduğu belirtilmiştir (123, 124). miR-182 düzeyleri ise sepsis tanılı hastalarda yüksek bulunmuştur. Bu sayede sepsis tanılı hastaların sağlıklı kişilerden ayırmada kullanılabileceği düşünülmüştür (74, 109, 125).

In vitro yapılan deneysel sepsis modellerinde miR-204-5p ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur. Bu durum hücrenin apoptotik sürecini, canlılığını, inflamatuvar yanıtını ve oksidatif stresi etkilediği görülmüştür (126). Başka bir çalışmada serum miRNA düzeylerinin septik hastalar ile sağlıklı gönüllüler arasında önemli düzeyde farklılık gösterdiği, miR-206 konsantrasyonlarının sepsis tanılı hastalarda yüksek olduğu ve miR-206 düzeyinin sepsis şiddeti ve prognozu ile pozitif korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (127). Serum miR-223 konsantrasyonları ile sepsis arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışan farklı görüşler bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları miR-223 düzeylerinin yüksek konsantrasyonlarda olmasının (91, 105, 128), bazıları ise miR-223'ün düşük konsantrasyonlarda olmasının (93, 102) sepsisle ilişkili olduğunu savunmuştur. Ayrıca başka bir çalışma miR-223 düzeyinin sepsiste arttığı

fakat septik şokta azaldığını (129), başka bir çalışma ise miR-223 düzeyinin sepsiste arttığını fakat sepsis nedeniyle hayatını kaybedenlerde hayatına devam edenlere göre daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğunu (130) belirtmiştir. Bu çalışmalarla serum miR-223 konsantrasyonlarının sepsis için prognostik önemi olduğu vurgulanmıştır (129, 130).

Sepsiste miR-328 konsantrasyonlarının yükseldiği de belirtilmektedir (130). Ayrıca miR-342-3p için farklı görüşler bulunmaktadır. Mohne P. ve ark. (91) ile Schmidt W.M. ve ark. (73) serum miR-342-3p konsantrasyonlarının sepsiste azaldığını; Ma Y. ve ark. (80) ise arttığını tespit etmiştir.

Liu Z. ve ark. (131) ise sepsis nedeniyle gelişen ABH idrardaki miR-452 konsantrasyonundaki artışın ABH için erken dönemde tanısız bir biyobelirteç olduğunu göstermiştir. miR-486 konsantrasyonunun yüksek düzeylerde olmasının sepsis ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalarda literatürde mevcuttur (74, 92, 109).

miR-545'in yüksek konsantrasyonlarının sepsis için prognostik öneminin olduğu ve 28 günlük mortalite ile ilişkili olduğu belirten çalışmalar mevcuttur (132). *In vitro* başka bir çalışmada ise deneysel sepsis modellerinde miRNA-590-3p konsantrasyonlarının azaldığı ve inflamasyonu şiddetlendirdiği tespit edilmiştir. Tedavi izlemi için serum miR-590-3p konsantrasyonlarının önemli bir biyobelirteç olabileceği vurgulanmıştır (133). Başka bir çalışmada ise toplum kaynaklı pnömoniden gelişen sepsis için miR-1246'nın düşük düzeylerde olmasının potansiyel bir biyobelirteç olduğunu gösterilmiştir (134).

Sepsisle ilişkili miRNA düzeyleri hakkında daha önceden bahsettiğimiz gibi literatürde çok fazla çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda miRNA konsantrasyonlarının sepsisin tedavisinde, prognozunda ve sağ kalımında etkisi araştırılmıştır. Fakat çalışmamızda miRNA tiplerinden miR-10a-5p, miR-21-5p miR-23b-5p ve miR-29a-3p araştırılmıştır. Seçilen miRNA türlerinin sepsis tanımlı hastalarda tanı, izleme ve tedavinin yönlendirilmesi amacıyla biyobelirteç olarak kullanılma olasılığı incelenmiştir.

miRNA'lar sepsis gibi birçok inflamatuvar hastalık için de önemli olduğu görülmüştür. Bununla birlikte bazı miRNA türlerinin farklı popülasyonlarda benzer

inflatuvar hastalıklar için farklı rollerinin olduğu savunulmuştur. Buna örnek olarak Çin’de Han ve Tibetli popölasyonlarda yapılan bir çalışma gösterilebilir. Bu çalışmada tüberküloz duyarlılığı ile miRNA türleri arasındaki ilişkinin popölasyona göre değıştiğı belirtilmektedir (135). Başka bir çalışmada sistemik lupus eritematöz (SLE) tanılı hastalarda miRNA’nın hastalık duyarlılığına etkisi araştırılmıştır. Japon kökenli 400 SLE tanılı hastaların, sağlıklı gönüllülerle yapılan karşılaştırılmasında miR-569’un SLE ile ilişkili olduğı ve hastalık duyarlılığını gösterdiği belirtilmiştir (136). Çinde yapılan başka bir çalışmada otoimmün hastalıklarla miRNA arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu çalışmada miR-146a’nın, interferon yolundaki bozukluğa bağılı olarak aşırı arttığı ve bu artışın SLE tanısı için bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğı belirtilmiştir (137).

miRNA polimorfizimlerinin kardiyovasküler hastalık patogeneğinde de etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Elton T.S. ve ark. (138) tarafından yapılan çalışmalarda esansiyel hipertansiyon patofizyolojisinin sorumlu tutulan renin anjiotensin aldesteron sistemi (RAAS)’in miRNA gen regölasyonunu ve protein ekspresyonunu değıştirebildiğı belirtilmiştir. Bu durumun kardiyovasküler hastalıklar için hastalık duyarlılığını gösteren bir belirteç olabileceğı belirtilmiştir. Başka bir çalışmada kardiyak hipertrofi, ateroskleroz ve mikroanjiyopati ile ilişki olan anjiotensinogen geninin miRNA ile olan ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada ise miR-31 ve miR-584’ün transfeksiyonunun protein seviyelerini düşürdüğü ve bu miRNA türlerinin hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalık gelişimini azaltabilecek yeni yaklaşımlar olabileceğı bildirilmiştir (139). Kariyomiyopati ile miRNA arasındaki ilişkinin araştırıldığı başka bir çalışmada miR-499’un yüksek düzeylerde olmasının bir kariyomiyopati için bir risk faktörü olduğı görölmüştür (140). Konjenital kalp hastalıklarında ise miR-196a’nın hem hastalık duyarlılığı hem de hastalık gelişimi açısından yüksek risk oluşturduğu belirtilmiştir (141).

Çalışmamızda sepsis tanılı hastaların sağlıklı gönüllülerle yapılan karşılaştırılmasında miRNA türlerinden miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p düzeyleri içerisinde sadece miR-21-5p düzeylerindeki azalmanın sepsis tanılı hastalarda daha anlamlı olduğı görölmüştür ($p=0,009$). Bununla birlikte sepsis tanısı almış hastalar, eksitus ve taburcu olanlar olarak iki gruba ayrıldığında, eksitus

grubundaki miR-21-5p ekspresyonunun azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,022$). Ayrıca GKS ($p=0,022$) ve PCT ($p=0,047$) değerleri taburcu olanlarda anlamlı yüksek bulunurken; APACHE-II değeri ise eksitus olanlarda anlamlı yüksek bulunmuştur ($p=0,033$).

Huo R. ve ark. (142) sepsis nedeniyle gelişen ABH'da miR-10a-5p ile miR-29a düzeylerinin mortalite ile ilişkisini araştırmıştır. Bu çalışmada sepsis ve ABH tanıları olan 74 hasta ile sadece sepsis tanısı bulunan 41 hastanın 28 günlük mortalitesini etkileyen faktörler incelenmiştir. Yirmisekiz günlük takipten sonra sepsis ve ABH tanıları olan hastaların %35,53'ünün eksitus olduğu ve bu hastaların serum kreatinin, sistatin C, böbrek hasar molekülü-1 (KIM-1) miR-29a ve miR-10a-5p konsantrasyonlarının anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Pearson korelasyon analizine göre bu parametreler mortalite ile pozitif korelasyon göstermekle birlikte multivarite regresyon analizinde bakılan miRNA türlerinin mortalite için bağımsız risk faktörü olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise miRNA türlerinden miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p'ye bakılmıştır. Bunlar sepsis tanılı hastalar ile sağlıklı gönüllüler arasında karşılaştırılmıştır. Bu belirteçler içerisinde sadece miR-21-5p ekspresyonundaki azalma hasta grubunda anlamlı bulunmuştur ($p=0,009$). Bu azalma özellikle eksitus olan hasta grubunda görülmüştür. Bu belirtecin sepsis hastalarında kötü prognoz göstergesi olabileceğini düşünülmüştür. Ayrıca bizim çalışmamızda miR-21-5p'nin mortalite ile ilişkili olduğu da görülmüştür.

Zheng G. ve ark. (143)'nin yaptığı çalışmada, periferik kan mononükleer hücrelerindeki miR-10a düzeylerinin sepsisle ve anti inflamatuvar yanıtla olan ilişkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 41'i sepsis tanılı toplam 62 hasta ile 20 sağlıklı gönüllünün dahil edildiği bu çalışmada miR-10a'nın yanında miR-17, miR-27a ve miR-125b düzeyleri de iki grup arasında karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sepsis tanısı bulunan hastalardaki miR-10a düzeylerinin diğerlerine göre daha düşük düzeylerde olduğu, SOFA, APACHE-II, PCT ve CRP ile negatif korelasyon gösterdiği ve 28 günlük mortalite için prognostik önemi olduğu tespit edilmiştir. Buradan elde edilen sonuçların yaptığımız çalışmadaki bulgularla örtüşmediğini belirtmek gerekmektedir. Bu çalışmayla benzer olarak, bizim çalışmamızda da sepsis

tanılı hastalarda, miR-10a-5p ekspresyonu azalmış olmakla birlikte istatistiki olarak anlamlı bir düşüş değildir.

Wang H. ve ark. (93) yaptıkları prospektif bir çalışmada miRNA türlerinin sepsis mortalitesi üzerine etkilerini incelemiştir. Sepsis tanısı almış 214 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastalardan 97'si vefat etmiştir. Bu çalışmada miRNA türlerinden miR-223, miR-15a, miR-16, miR-122, miR-193 ve miR-483-5p incelenmiştir. Bununla birlikte SOFA, APACHE II, CRP ve PCT düzeylerinin de mortaliteyle ilişkisi araştırılmıştır. Elde ettikleri sonuçlara göre SOFA, APACHE II, miR-15a, miR-16, miR-193b ve miR-483-5p'nin mortaliteyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Serum miR-21 düzeylerinin de sepsis tanılı hastalarda yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür. Bununla birlikte Cox regresyon analizinde APACHE II, SOFA ve serum PCT düzeylerinin mortalite açısından diğerlerine göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise miR-21-5p ekspresyonu, sepsis tanılı hastalarda sağlıklı gönüllü grubuna göre anlamlı derecede azalmış olduğu bulunmuştur ($p=0,009$). Ayrıca taburcu olan hastalarda GKS ($p=0,022$) ve PCT ($p=0,047$)'nin, eksitus olanlarda ise APACHE II ($p=0,033$)'nin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Bir vaka-kontrol çalışmasında miRNA'ların sepsis patogeneziindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma sepsis tanılı ($n=180$) ve sağlıklı gönüllülerden ($n=180$) oluşan iki grup arasında gerçekleştirilmiştir. Serum miR-21, miR-145 ve miR-187 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Sepsis hastalarının plazmalarında TNF- α ve IL-6 konsantrasyonlarının sağlıklı gönüllü grubuna göre daha yüksek düzeylerde olduğu tespit edilmiştir (Her biri için $p<0.0001$). Bununla birlikte sepsis hastalarında sağlıklı gönüllü grubuna göre miRNA türlerinden serum miR-187 düzeyinin daha düşük olduğu ve serum miR-21 ile miR-145 düzeylerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Her biri için $p<0.0001$) (111). Bizim çalışmamızda ise TNF- α ve IL-6 düzeyleri ölçülüp karşılaştırılmamış olsa da miR-21-5p ekspresyonu, sepsis tanılı hastalarda sağlıklı gönüllü grubuna göre anlamlı derecede azalmış olduğu bulunmuştur ($p=0,009$).

İn vitro yapılan başka bir çalışmada serum miR-21 düzeylerinin LPS kaynaklı piroptoz ve septik şok patofizyolojisindeki rolü araştırılmıştır. İnsan ve farelerden

alınan myeloid hücrelerinde miR-21 geni yok edilmiştir. miR-21 eksiliği makrofajlarda nükleotit bağlayıcı-lösinden zengin-reseptör ailesi proteini-3 (NLRP-3) etkileyerek kaspaz-1 aktivasyonunu ve IL-1 β düzeyinin artmasını engellediği görülmüştür. Bu durum piroptozu inhibe ederek LPS kaynaklı septik şokun önlendiğini göstermiştir. Septik şok tanısı almış hastaların kanında miR-21 düzeylerinin yüksek olduğu ve bu yüksekliğin septik şok tanılı hastalarda tedavi açısından prognostik bir öneme sahip olduğu belirtilmiştir (144). Çalışmamızda sepsis tanılı hastaların bakılan miRNA belirteçleri içerisinde plazmadaki miR-21-5p ekspresyon düşüklüğü anlamlı bulunmuştur (0,009).

Zhang W. ve ark. (145)'nin yaptığı bir çalışmada miR-23b düzeylerinin sepsisle olan ilişkisi *in vitro* incelenmiştir. Sepsis (n=30) ve sağlıklı gönüllü (n=30) alınan hücre kültürlerinde miR-23b ve bir disintegrin ve metalloproteaz-10 (ADAM-10) düzeyleri araştırılmıştır. Sepsis tanılı hastalardan alınan örneklerde sağlıklı gönüllü grubuna kıyasla miR-23b düzeylerinin azaldığı ve ADAM-10 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte septik hastalarda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin de arttığı görülmüştür. Bunların sonucunda inflamatuvar yanıtın arttığı belirtilmiştir. miR-23b'nin artmasının ise ADAM-10 ekspresyonunu azalttığı ve dolayısıyla inflamasyonu hafiflettiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da sepsis tanılı hastaların miR-23b-5p ekspresyonunun sağlıklı gönüllü grubuna göre düşük olmakla birlikte istatistiki olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir.

Yang Z. ve ark. (146) tarafından yapılan bir *in vitro* çalışmada, LPS kaynaklı geliştirilen inflamatuvar hasarda miR-23b'nin rolü araştırılmıştır. Bu çalışmada LPS hücrelerde inflamasyona neden olarak hücre hasarını artışına, inflamatuvar sitokinlerin artışına, hücre canlılığının azalmasına ve apoptozun artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Geliştirilen hasta modelinde miR-23b düzeylerinin sağlıklı gönüllü grubuna göre daha düşük düzeylerde olduğu bulunmuştur. Serum miR-23b düzeyinin artırılması ile inflamasyona verilen hücresel cevabın önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak LPS kaynaklı inflamasyon gerilemiştir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da, sepsis tanılı hastalarda, plazma miR-23b düzeyleri sağlıklı gönüllü grubuyla yapılan karşılaştırmada düşük olduğu fakat istatistiki olarak anlamlı fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Fatmi A. ve ark. (82) tarafından yapılan çalışmada sepsis ön tanısıyla yatırılan prematür ve term yenidoğanların kan kültürlerindeki miR-23b düzeyleri PCR ile incelenmiştir. Her iki grupta da miR-23b düzeyleri erken başlangıçlı sepsis sırasında arttığı fakat sadece term yenidoğanlarda geç başlangıçlı sepsis dönemi azaldığı görülmüştür. Fakat miR-23b düzeyleri her iki sepsis dönemiyle vefat eden hastalarda önemli ölçüde düşük olduğu raporlanmıştır. Bizim çalışmamızda sepsisin erken veya geç dönemde olduğuna dair bir gruplandırma yapılmamıştır. Fakat hasta grubunda mortalite açısından yapılan karşılaştırmada miR-21-5p'nin sepsis nedeniyle vefat eden hastalarda anlamlı bir biçimde daha düşük olduğu görülmüştür. miR-21-5p'nin mortalite ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

miRNA'lar, damar endotelini etkileyerek endotel disfonksiyonu ve sepsis oluşumuna katkıda bulunabilir. Özellikle miR-126, damar endotelini koruyarak vasküler bariyeri güçlendirir. Bu miRNA'nın seviyeleri düştüğünde, vasküler bariyer zayıflar ve bu durum sepsise yol açabilir (64, 65).

Maucher D. ve ark. (147) tarafından yapılan bir çalışmada inflamasyona bağlı gelişen endotel bariyer fonksiyonun miRNA türleri ile olan ilişkisi ve sitokin tedavisi sonrası miRNA düzeylerindeki değişiklikler incelenmiştir. miRNA türlerinden miR-29a-3p, miR29b-3p ve miR-155-5p düzeylerine bakılmıştır. *In vitro* yapılan bu çalışmada inflamasyonu takiben endotel bariyer fonksiyon kaybına uğrayan insan endotel hücrelerinde, miRNA türlerinin azaldığı görülmüştür. Sitokin tedavisinden sonra miR-29a-3p, miR29b-3p ve miR-155-5p'nin serum konsantrasyonlarının arttığı ve inflamasyonu azaltacak etkilerinin olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer bir biçimde bizim çalışmamızda da, sepsis tanılı hastaların plazma miR-29a-3p düzeyleri sağlıklı gönüllü grubuyla yapılan karşılaştırmada düşük olduğu fakat istatistiki olarak anlamlı fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Hu Q. ve ark. (148), sepsisle ayırıcı tanısı zor olan ve sepsis gibi sistemik inflamatuvar bir hastalık olan erişkin Still hastalığında invaziv olmayan biyobelirteçleri bulmaya çalışmıştır. Bu amaçla Still hastalığı tanısı almış hastalardan (n=100) ve sağlıklı gönüllülerden (n=60) alınan periferik kan örneklerinde miRNA türlerinden miR-142-5p, miR-101-3p, miR-29a-3p, miR-29c-3p ve miR-141-3p düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bu miRNA türlerinin sağlıklı gönüllü grubuna göre Still

hastalığı tanısı almış hastalarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu çalışma tasarım olarak yaptığımız çalışmadan farklı olmakla birlikte yaptığımız çalışmada sepsis tanılı hastaların miR-29a-3p düzeylerinin sağlıklı gönüllü grubuna göre daha düşük fakat istatistiki olarak anlamsız olduğu tespit edilmiştir. Still hastalığı, inflamatuvar bir hastalık olmasına rağmen elde edilen sonuçlar neticesinde çalışmamızdan farklıdır.



6. SONUÇ

Çalışmamızda kullandığımız miRNA türlerinden miR-10a-5p, miR-21-5p, miR-23b-5p ve miR-29a-3p'nin tamamı sepsis tanılı hastalarda inceledik.

Sepsis tanılı hastalarda miR-23b-5p, miR-29a-3p, miR-10a-5p, miR-21-5p ekspresyonları azalmakla birlikte sadece miR-21-5p ekspresyonunun azalması istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Özellikle yaşayanlara göre eksitus grubundaki ekspresyon azalmasının anlamlı bulunması, miR-21-5p'in kötü prognoz ve artmış mortalite için bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir. miR-21-5p düzeyinin düşüklüğü damar endotel hasarının olduğuna ait bir bulgu olabileceği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. David S, Brunkhorst FM. Sepsis-3:What has been confirmed in therapy?. *Der Internist*. 2017;58(12):1264-71.
2. Sakr Y, Jaschinski U, Wittebole X, et al. Sepsis in intensive care unit patients: worldwide data from the intensive care over nations audit. *Open forum infectious diseases*. 2018;5(12):ofy313.
3. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama*. 2009;302(21):2323-9.
4. Huang M, Cai S, Su J. The pathogenesis of sepsis and potential therapeutic targets. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(21).
5. Vieillard-Baron A, Caille V, Charron C, et al. Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock. *Critical care medicine*. 2008;36(6):1701-6.
6. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive care medicine*. 2021;47(11):1181-247.
7. Godinjak A, Iglica A, Rama A, et al. Predictive value of SAPS II and APACHE II scoring systems for patient outcome in a medical intensive care unit. *Acta medica academica*. 2016;45(2):97-103.
8. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al. APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical care medicine*. 1985;13(10):818-29.
9. Lind ML, Rosas MM, McFarland L, et al. Limits of the glasgow coma scale when assessing for sepsis in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Nursing research*. 2021;70(5):399-404.
10. Tili E, Michaille JJ, Calin GA. Expression and function of micro-RNAs in immune cells during normal or disease state. *International journal of medical sciences*. 2008;5(2):73-9.
11. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(5):5451-65.

12. Tsujimoto H, Ono S, Efron PA, Scumpia PO, Moldawer LL, Mochizuki H. Role of Toll-like receptors in the development of sepsis. *Shock* (Augusta, Ga). 2008;29(3):315-21.
13. Wang ZH, Liang YB, Tang H, Chen ZB, Li ZY, Hu XC, et al. Dexamethasone down-regulates the expression of microRNA-155 in the livers of septic mice. *PloS one*. 2013;8(11):e80547.
14. Kumar V. Targeting macrophage immunometabolism: Dawn in the darkness of sepsis. *International immunopharmacology*. 2018;58:173-85.
15. Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, Cassini A, Rudd KE, Schlattmann P, et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive care medicine*. 2020;46(8):1552-62.
16. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* (London, England). 2020;395(10219):200-11.
17. Raymond SL, Holden DC, Mira JC, Stortz JA, Loftus TJ, Mohr AM, et al. Microbial recognition and danger signals in sepsis and trauma. *Biochimica et biophysica acta Molecular basis of disease*. 2017;1863(10 Pt B):2564-73.
18. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature immunology*. 2010;11(5):373-84.
19. Efron PA, Martins A, Minnich D, Tinsley K, Ungaro R, Bahjat FR, et al. Characterization of the systemic loss of dendritic cells in murine lymph nodes during polymicrobial sepsis. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950). 2004;173(5):3035-43.
20. Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Critical care medicine*. 2010;38(2 Suppl):S26-34.
21. Won E, Kim YK. Stress, the Autonomic Nervous System, and the Immune-kynurenine Pathway in the Etiology of Depression. *Current neuropharmacology*. 2016;14(7):665-73.

22. Kanczkowski W, Sue M, Zacharowski K, Reincke M, Bornstein SR. The role of adrenal gland microenvironment in the HPA axis function and dysfunction during sepsis. *Molecular and cellular endocrinology*. 2015;408:241-8.
23. Quoilin C, Mouithys-Mickalad A, Lécart S, Fontaine-Aupart MP, Hoebeke M. Evidence of oxidative stress and mitochondrial respiratory chain dysfunction in an in vitro model of sepsis-induced kidney injury. *Biochimica et biophysica acta*. 2014;1837(10):1790-800.
24. Singer M. The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence*. 2014;5(1):66-72.
25. Khan MM, Yang WL, Wang P. ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS IN SEPSIS. *Shock (Augusta, Ga)*. 2015;44(4):294-304.
26. Kim WY, Hong SB. Sepsis and Acute Respiratory Distress Syndrome: Recent Update. *Tuberc Respir Dis*. 2016;79(2):53-7.
27. Mikkelsen ME, Shah CV, Meyer NJ, Gaieski DF, Lyon S, Miltiades AN, et al. The epidemiology of acute respiratory distress syndrome in patients presenting to the emergency department with severe sepsis. *Shock (Augusta, Ga)*. 2013;40(5):375-81.
28. Zarjou A, Agarwal A. Sepsis and acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2011;22(6):999-1006.
29. Goyette RE, Key NS, Ely EW. Hematologic changes in sepsis and their therapeutic implications. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2004;25(6):645-59.
30. Woźnica EA, Inglot M, Woźnica RK, Łysenko L. Liver dysfunction in sepsis. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*. 2018;27(4):547-51.
31. Brierre S, Kumari R, Deboisblanc BP. The endocrine system during sepsis. *The American journal of the medical sciences*. 2004;328(4):238-47.
32. Sonnevile R, Verdonk F, Rauturier C, Klein IF, Wolff M, Annane D, et al. Understanding brain dysfunction in sepsis. *Annals of intensive care*. 2013;3(1):15.
33. Fernando SM, Tran A, Taljaard M, Cheng W, Rochwerf B, Seely AJE, et al. Prognostic Accuracy of the Quick Sequential Organ Failure Assessment for Mortality in Patients With Suspected Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Annals of internal medicine*. 2018;168(4):266-75.

34. Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Lawrence DE. APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Critical care medicine*. 1981;9(8):591-7.
35. Lambden S, Laterre PF, Levy MM, Francois B. The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. *Critical care (London, England)*. 2019;23(1):374.
36. Pontrelli G, De Crescenzo F, Buzzetti R, Jenkner A, Balduzzi S, Calò Carducci F, et al. Accuracy of serum procalcitonin for the diagnosis of sepsis in neonates and children with systemic inflammatory syndrome: a meta-analysis. *BMC infectious diseases*. 2017;17(1):302.
37. Jeong S, Park Y, Cho Y, Kim HS. Diagnostic utilities of procalcitonin and C-reactive protein for the prediction of bacteremia determined by blood culture. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2012;413(21-22):1731-6.
38. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2013;50(1):23-36.
39. Stryjewski GR, Nylen ES, Bell MJ, Snider RH, Becker KL, Wu A, et al. Interleukin-6, interleukin-8, and a rapid and sensitive assay for calcitonin precursors for the determination of bacterial sepsis in febrile neutropenic children. *Pediatric critical care medicine : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2005;6(2):129-35.
40. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999;340(6):448-54.
41. Holub M, Džupová O, Růžková M, Stráníková A, Bartáková E, Máca J, et al. Selected Biomarkers Correlate with the Origin and Severity of Sepsis. *Mediators of inflammation*. 2018;2018:7028267.
42. Wu Y, Wang F, Fan X, Bao R, Bo L, Li J, et al. Accuracy of plasma sTREM-1 for sepsis diagnosis in systemic inflammatory patients: a systematic review and meta-analysis. *Critical care (London, England)*. 2012;16(6):R229.
43. Lv B, Huang J, Yuan H, Yan W, Hu G, Wang J. Tumor necrosis factor- α as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a meta-analysis. *TheScientificWorldJournal*. 2014;2014:471463.

44. Karasu E, Nilsson B, Köhl J, Lambris JD, Huber-Lang M. Targeting Complement Pathways in Polytrauma- and Sepsis-Induced Multiple-Organ Dysfunction. *Frontiers in immunology*. 2019;10:543.
45. Gould TJ, Vu TT, Stafford AR, Dwivedi DJ, Kim PY, Fox-Robichaud AE, et al. Cell-Free DNA Modulates Clot Structure and Impairs Fibrinolysis in Sepsis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2015;35(12):2544-53.
46. Nakahira K, Kyung SY, Rogers AJ, Gazourian L, Youn S, Massaro AF, et al. Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: derivation and validation. *PLoS medicine*. 2013;10(12):e1001577; discussion e.
47. Klouche K, Cristol JP, Devin J, Gilles V, Kuster N, Larcher R, et al. Diagnostic and prognostic value of soluble CD14 subtype (Presepsin) for sepsis and community-acquired pneumonia in ICU patients. *Annals of intensive care*. 2016;6(1):59.
48. Mikkelsen ME, Miltiades AN, Gaieski DF, Goyal M, Fuchs BD, Shah CV, et al. Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Critical care medicine*. 2009;37(5):1670-7.
49. Gyawali N, Sanjana RK. Bacteriological profile and antibiogram of neonatal septicemia. *Indian journal of pediatrics*. 2013;80(5):371-4.
50. Lauhio A, Hästbacka J, Pettilä V, Tervahartiala T, Karlsson S, Varpula T, et al. Serum MMP-8, -9 and TIMP-1 in sepsis: high serum levels of MMP-8 and TIMP-1 are associated with fatal outcome in a multicentre, prospective cohort study. *Hypothetical impact of tetracyclines. Pharmacological research*. 2011;64(6):590-4.
51. Cullen BR. Transcription and processing of human microRNA precursors. *Molecular cell*. 2004;16(6):861-5.
52. Bartel DP. Metazoan MicroRNAs. *Cell*. 2018;173(1):20-51.
53. Bayraktar R, Van Roosbroeck K, Calin GA. Cell-to-cell communication: microRNAs as hormones. *Molecular oncology*. 2017;11(12):1673-86.
54. Ludwig N, Leidinger P, Becker K, Backes C, Fehlmann T, Pallasch C, et al. Distribution of miRNA expression across human tissues. *Nucleic acids research*. 2016;44(8):3865-77.
55. Reddy S, Hu DQ, Zhao M, Blay E, Jr., Sandeep N, Ong SG, et al. miR-21 is associated with fibrosis and right ventricular failure. *JCI insight*. 2017;2(9).

56. Zhao W, Zhao SP, Zhao YH. MicroRNA-143/-145 in Cardiovascular Diseases. *BioMed research international*. 2015;2015:531740.
57. Sassi Y, Avramopoulos P, Ramanujam D, Grüter L, Werfel S, Giosele S, et al. Cardiac myocyte miR-29 promotes pathological remodeling of the heart by activating Wnt signaling. *Nature communications*. 2017;8(1):1614.
58. Hammond SM. An overview of microRNAs. *Advanced drug delivery reviews*. 2015;87:3-14.
59. Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nature reviews Drug discovery*. 2017;16(3):203-22.
60. Wang S, Wen X, Han XR, Wang YJ, Shen M, Fan SH, et al. MicroRNA-30d preserves pancreatic islet β -cell function through negative regulation of the JNK signaling pathway via SOCS3 in mice with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Journal of cellular physiology*. 2018;233(9):7343-55.
61. Svoronos AA, Engelman DM, Slack FJ. OncomiR or Tumor Suppressor? The Duplicity of MicroRNAs in Cancer. *Cancer Res*. 2016;76(13):3666-70.
62. Qu Y, Zhang H, Sun W, Han Y, Li S, Qu Y, et al. MicroRNA-155 promotes gastric cancer growth and invasion by negatively regulating transforming growth factor- β receptor 2. *Cancer science*. 2018;109(3):618-28.
63. Liu L, Ren W, Chen K. MiR-34a Promotes Apoptosis and Inhibits Autophagy by Targeting HMGB1 in Acute Myeloid Leukemia Cells. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2017;41(5):1981-92.
64. Guo C, Goodwin A, Buie JNJ, Cook J, Halushka P, Argraves K, et al. A Stromal Cell-Derived Factor 1 α Analogue Improves Endothelial Cell Function in Lipopolysaccharide-Induced Acute Respiratory Distress Syndrome. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*. 2016;22:115-23.
65. Chu M, Qin S, Wu R, Zhou X, Tang X, Zhang S, et al. Role of MiR-126a-3p in Endothelial Injury in Endotoxic Mice. *Critical care medicine*. 2016;44(8):e639-e50.
66. Ge Y, Huang M, Ma YF. The effects of microRNA-34a regulating Notch-1/NF- κ B signaling pathway on lipopolysaccharide-induced human umbilical vein endothelial cells. *World journal of emergency medicine*. 2017;8(4):292-6.

67. Vasques-Nóvoa F, Laundos TL, Cerqueira RJ, Quina-Rodrigues C, Soares-Dos-Reis R, Baganha F, et al. MicroRNA-155 Amplifies Nitric Oxide/cGMP Signaling and Impairs Vascular Angiotensin II Reactivity in Septic Shock. *Critical care medicine*. 2018;46(9):e945-e54.
68. Wang S, Zhang Z, Wang J, Miao H. MiR-107 induces TNF- α secretion in endothelial cells causing tubular cell injury in patients with septic acute kidney injury. *Biochemical and biophysical research communications*. 2017;483(1):45-51.
69. Yao L, Liu Z, Zhu J, Li B, Chai C, Tian Y. Clinical evaluation of circulating microRNA-25 level change in sepsis and its potential relationship with oxidative stress. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(7):7675-84.
70. Bihrer V, Friedrich-Rust M, Kronenberger B, Forestier N, Haupenthal J, Shi Y, et al. Serum miR-122 as a biomarker of necroinflammation in patients with chronic hepatitis C virus infection. *The American journal of gastroenterology*. 2011;106(9):1663-9.
71. Wang H, Yu B, Deng J, Jin Y, Xie L. Serum miR-122 correlates with short-term mortality in sepsis patients. *Critical care (London, England)*. 2014;18(6):704.
72. Tacke F, Roderburg C, Benz F, Cardenas DV, Luedde M, Hippe HJ, et al. Levels of circulating miR-133a are elevated in sepsis and predict mortality in critically ill patients. *Critical care medicine*. 2014;42(5):1096-104.
73. Schmidt WM, Spiel AO, Jilma B, Wolzt M, Müller M. In vivo profile of the human leukocyte microRNA response to endotoxemia. *Biochemical and biophysical research communications*. 2009;380(3):437-41.
74. Vasilescu C, Rossi S, Shimizu M, Tudor S, Veronese A, Ferracin M, et al. MicroRNA fingerprints identify miR-150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis. *PloS one*. 2009;4(10):e7405.
75. Haneklaus M, Gerlic M, O'Neill LA, Masters SL. miR-223: infection, inflammation and cancer. *Journal of internal medicine*. 2013;274(3):215-26.
76. Fasseu M, Tréton X, Guichard C, Pedruzzi E, Cazals-Hatem D, Richard C, et al. Identification of restricted subsets of mature microRNA abnormally expressed in inactive colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *PloS one*. 2010;5(10).

77. Essandoh K, Fan GC. Role of extracellular and intracellular microRNAs in sepsis. *Biochimica et biophysica acta*. 2014;1842(11):2155-62.
78. Wu Y, Li C, He Y, Li Q, Wang G, Wen P, et al. [Relationship between expression of microRNA and inflammatory cytokines plasma level in pediatric patients with sepsis]. *Zhonghua er ke za zhi = Chinese journal of pediatrics*. 2014;52(1):28-33.
79. Wang H, Meng K, Chen W, Feng D, Jia Y, Xie L. Serum miR-574-5p: a prognostic predictor of sepsis patients. *Shock (Augusta, Ga)*. 2012;37(3):263-7.
80. Ma Y, Vilanova D, Atalar K, Delfour O, Edgeworth J, Ostermann M, et al. Genome-wide sequencing of cellular microRNAs identifies a combinatorial expression signature diagnostic of sepsis. *PloS one*. 2013;8(10):e75918.
81. Fatmi A, Chabni N, Cernada M, Vento M, González-López M, Aribi M, et al. Clinical and immunological aspects of microRNAs in neonatal sepsis. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2022;145:112444.
82. Fatmi A, Rebiahi SA, Chabni N, Zerrouki H, Azzaoui H, Elhabiri Y, et al. miRNA-23b as a biomarker of culture-positive neonatal sepsis. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*. 2020;26(1):94.
83. Jouza M, Bohosova J, Stanikova A, Pecl J, Slaby O, Jabandziev P. MicroRNA as an Early Biomarker of Neonatal Sepsis. *Frontiers in pediatrics*. 2022;10:854324.
84. Trancă SD, Petrișor CL, Hagău N. Biomarkers in polytrauma induced systemic inflammatory response syndrome and sepsis - a narrative review. *Romanian journal of anaesthesia and intensive care*. 2014;21(2):118-22.
85. Sinha M, Desai S, Mantri S, Kulkarni A. Procalcitonin as an adjunctive biomarker in sepsis. *Indian journal of anaesthesia*. 2011;55(3):266-70.
86. Ren Y, Zhang L, Xu F, Han D, Zheng S, Zhang F, et al. Risk factor analysis and nomogram for predicting in-hospital mortality in ICU patients with sepsis and lung infection. *BMC pulmonary medicine*. 2022;22(1):17.
87. Arabi Y, Haddad S, Goraj R, Al-Shimemeri A, Al-Malik S. Assessment of performance of four mortality prediction systems in a Saudi Arabian intensive care unit. *Critical care (London, England)*. 2002;6(2):166-74.
88. Antonakos N, Gilbert C, Théroutte C, Schrijver IT, Roger T. Modes of action and diagnostic value of miRNAs in sepsis. *Frontiers in immunology*. 2022;13:951798.

89. Perfetti A, Greco S, Bugiardini E, Cardani R, Gaia P, Gaetano C, et al. Plasma microRNAs as biomarkers for myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscular disorders : NMD*. 2014;24(6):509-15.
90. Gao M, Yu T, Liu D, Shi Y, Yang P, Zhang J, et al. Sepsis plasma-derived exosomal miR-1-3p induces endothelial cell dysfunction by targeting SERP1. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2021;135(2):347-65.
91. Möhnle P, Hirschberger S, Hinske LC, Briegel J, Hübner M, Weis S, et al. MicroRNAs 143 and 150 in whole blood enable detection of T-cell immunoparalysis in sepsis. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*. 2018;24(1):54.
92. Goodwin AJ, Guo C, Cook JA, Wolf B, Halushka PV, Fan H. Plasma levels of microRNA are altered with the development of shock in human sepsis: an observational study. *Critical care (London, England)*. 2015;19:440.
93. Wang H, Zhang P, Chen W, Feng D, Jia Y, Xie L. Serum microRNA signatures identified by Solexa sequencing predict sepsis patients' mortality: a prospective observational study. *PloS one*. 2012;7(6):e38885.
94. Chen X, Chen Y, Dai L, Wang N. MiR-96-5p alleviates inflammatory responses by targeting NAMPT and regulating the NF- κ B pathway in neonatal sepsis. *Bioscience reports*. 2020;40(7).
95. Zhou YP, Xia Q. Inhibition of miR-103a-3p suppresses lipopolysaccharide-induced sepsis and liver injury by regulating FBXW7 expression. *Cell biology international*. 2020;44(9):1798-810.
96. Yang M, Zhao L, Sun M. Diagnostic Value of miR-103 in Patients with Sepsis and Noninfectious SIRS and Its Regulatory Role in LPS-Induced Inflammatory Response by Targeting TLR4. *International journal of genomics*. 2020;2020:2198308.
97. Wang Q, Feng Q, Zhang Y, Zhou S, Chen H. Decreased microRNA 103 and microRNA 107 predict increased risks of acute respiratory distress syndrome and 28-day mortality in sepsis patients. *Medicine*. 2020;99(25):e20729.
98. Heng J, Wu D, Lu S, Zhao Y. miR-106a Targets Anoctamin 1 (ANO1) to Regulate Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammatory Response in Macrophages. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2020;26:e922479.

99. Rahmel T, Schäfer ST, Frey UH, Adamzik M, Peters J. Increased circulating microRNA-122 is a biomarker for discrimination and risk stratification in patients defined by sepsis-3 criteria. *PloS one*. 2018;13(5):e0197637.
100. Li S, Zhao D, Cui J, Wang L, Ma X, Li Y. Correlation of microRNA-125a/b with acute respiratory distress syndrome risk and prognosis in sepsis patients. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2020;34(3):e23098.
101. Liu W, Geng F, Yu L. Long non-coding RNA MALAT1/microRNA 125a axis presents excellent value in discriminating sepsis patients and exhibits positive association with general disease severity, organ injury, inflammation level, and mortality in sepsis patients. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2020;34(6):e23222.
102. Wang JF, Yu ML, Yu G, Bian JJ, Deng XM, Wan XJ, et al. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010;394(1):184-8.
103. Lin R, Hu H, Li L, Chen G, Luo L, Rao P. The potential of microRNA-126 in predicting disease risk, mortality of sepsis, and its correlation with inflammation and sepsis severity. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2020;34(9):e23408.
104. Chen L, Xie W, Wang L, Zhang X, Liu E, Kou Q. MiRNA-133a aggravates inflammatory responses in sepsis by targeting SIRT1. *International immunopharmacology*. 2020;88:106848.
105. Qin Y, Guo X, Yu Y, Dong S, Yan Y, Bian X, et al. Screening key genes and microRNAs in sepsis by RNA-sequencing. *Journal of the Chinese Medical Association : JCMA*. 2020;83(1):41-7.
106. Ge QM, Huang CM, Zhu XY, Bian F, Pan SM. Differentially expressed miRNAs in sepsis-induced acute kidney injury target oxidative stress and mitochondrial dysfunction pathways. *PloS one*. 2017;12(3):e0173292.
107. Zhen J, Chen W. MiR-142 inhibits cecal ligation and puncture (CLP)-induced inflammation via inhibiting PD-L1 expression in macrophages and improves survival in septic mice. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2018;97:1479-85.

108. Han Y, Dai QC, Shen HL, Zhang XW. Diagnostic value of elevated serum miRNA-143 levels in sepsis. *The Journal of international medical research*. 2016;44(4):875-81.
109. Zhou J, Chaudhry H, Zhong Y, Ali MM, Perkins LA, Owens WB, et al. Dysregulation in microRNA expression in peripheral blood mononuclear cells of sepsis patients is associated with immunopathology. *Cytokine*. 2015;71(1):89-100.
110. Cao X, Zhang C, Zhang X, Chen Y, Zhang H. MiR-145 negatively regulates TGFBR2 signaling responsible for sepsis-induced acute lung injury. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2019;111:852-8.
111. Zhang Y, Li M, Bao L, Hu P. A case-control study on the relationship between miRNAs single nucleotide polymorphisms and sepsis risk. *Medicine*. 2019;98(33):e16744.
112. Karam RA, Zidan HE, Karam NA, Abdel Rahman DM, El-Seifi OS. Diagnostic and prognostic significance of serum miRNA-146-a expression in Egyptian children with sepsis in a pediatric intensive care unit. *The journal of gene medicine*. 2019;21(11):e3128.
113. Möhnle P, Schütz SV, van der Heide V, Hübner M, Luchting B, Sedlbauer J, et al. MicroRNA-146a controls Th1-cell differentiation of human CD4⁺ T lymphocytes by targeting PRKC ϵ . *European journal of immunology*. 2015;45(1):260-72.
114. Shao Y, Li J, Cai Y, Xie Y, Ma G, Li Y, et al. The functional polymorphisms of miR-146a are associated with susceptibility to severe sepsis in the Chinese population. *Mediators of inflammation*. 2014;2014:916202.
115. Wang L, Wang HC, Chen C, Zeng J, Wang Q, Zheng L, et al. Differential expression of plasma miR-146a in sepsis patients compared with non-sepsis-SIRS patients. *Experimental and therapeutic medicine*. 2013;5(4):1101-4.
116. Chen W, Liu L, Yang J, Wang Y. MicroRNA-146b correlates with decreased acute respiratory distress syndrome risk, reduced disease severity, and lower 28-day mortality in sepsis patients. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2020;34(12):e23510.
117. How CK, Hou SK, Shih HC, Huang MS, Chiou SH, Lee CH, et al. Expression profile of MicroRNAs in gram-negative bacterial sepsis. *Shock (Augusta, Ga)*. 2015;43(2):121-7.

118. Ma Y, Liu Y, Hou H, Yao Y, Meng H. MiR-150 predicts survival in patients with sepsis and inhibits LPS-induced inflammatory factors and apoptosis by targeting NF- κ B1 in human umbilical vein endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2018;500(3):828-37.
119. Braza-Boïls A, Barwari T, Gutmann C, Thomas MR, Judge HM, Joshi A, et al. Circulating MicroRNA Levels Indicate Platelet and Leukocyte Activation in Endotoxemia Despite Platelet P2Y(12) Inhibition. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(8).
120. Liu J, Shi K, Chen M, Xu L, Hong J, Hu B, et al. Elevated miR-155 expression induces immunosuppression via CD39(+) regulatory T-cells in sepsis patient. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2015;40:135-41.
121. Tacke F, Spehlmann ME, Vucur M, Benz F, Luedde M, Cardenas DV, et al. miR-155 Predicts Long-Term Mortality in Critically Ill Patients Younger than 65 Years. *Mediators of inflammation*. 2019;2019:6714080.
122. Roderburg C, Benz F, Koch A, Loosen SH, Spehlmann M, Luedde M, et al. A Combined Score of Circulating miRNAs Allows Outcome Prediction in Critically Ill Patients. *Journal of clinical medicine*. 2019;8(10).
123. Liu G, Liu W, Guo J. Clinical significance of miR-181a in patients with neonatal sepsis and its regulatory role in the lipopolysaccharide-induced inflammatory response. *Experimental and therapeutic medicine*. 2020;19(3):1977-83.
124. Wang Y, Xu Z, Yue D, Zeng Z, Yuan W, Xu K. Linkage of lncRNA CRNDE sponging miR-181a-5p with aggravated inflammation underlying sepsis. *Innate immunity*. 2020;26(2):152-61.
125. Tudor S, Giza DE, Lin HY, Fabris L, Yoshiaki K, D'Abundo L, et al. Cellular and Kaposi's sarcoma-associated herpes virus microRNAs in sepsis and surgical trauma. *Cell death & disease*. 2014;5(12):e1559.
126. Chen X, Song D. LPS promotes the progression of sepsis by activation of lncRNA HULC/miR-204-5p/TRPM7 network in HUVECs. *Bioscience reports*. 2020;40(6).

127. Liang G, Wu Y, Guan Y, Dong Y, Jiang L, Mao G, et al. The correlations between the serum expression of miR-206 and the severity and prognosis of sepsis. *Annals of palliative medicine*. 2020;9(5):3222-34.
128. Zhang W, Jia J, Liu Z, Si D, Ma L, Zhang G. Circulating microRNAs as biomarkers for Sepsis secondary to pneumonia diagnosed via Sepsis 3.0. *BMC pulmonary medicine*. 2019;19(1):93.
129. Wang HJ, Zhang PJ, Chen WJ, Feng D, Jia YH, Xie LX. Four serum microRNAs identified as diagnostic biomarkers of sepsis. *The journal of trauma and acute care surgery*. 2012;73(4):850-4.
130. Liu D, Wang Z, Wang H, Ren F, Li Y, Zou S, et al. The protective role of miR-223 in sepsis-induced mortality. *Scientific reports*. 2020;10(1):17691.
131. Liu Z, Yang D, Gao J, Xiang X, Hu X, Li S, et al. Discovery and validation of miR-452 as an effective biomarker for acute kidney injury in sepsis. *Theranostics*. 2020;10(26):11963-75.
132. Wei B, Yu L. Circular RNA PRKCI and microRNA-545 relate to sepsis risk, disease severity and 28-day mortality. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2020;80(8):659-66.
133. Liu L, Liu F, Sun Z, Peng Z, You T, Yu Z. LncRNA NEAT1 promotes apoptosis and inflammation in LPS-induced sepsis models by targeting miR-590-3p. *Experimental and therapeutic medicine*. 2020;20(4):3290-300.
134. Hermann S, Brandes F, Kirchner B, Buschmann D, Borrmann M, Klein M, et al. Diagnostic potential of circulating cell-free microRNAs for community-acquired pneumonia and pneumonia-related sepsis. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2020;24(20):12054-64.
135. Li D, Wang T, Song X, Qucuo M, Yang B, Zhang J, et al. Genetic study of two single nucleotide polymorphisms within corresponding microRNAs and susceptibility to tuberculosis in a Chinese Tibetan and Han population. *Human immunology*. 2011;72(7):598-602.
136. Hikami K, Kawasaki A, Ito I, Koga M, Ito S, Hayashi T, et al. Association of a functional polymorphism in the 3'-untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*. 2011;63(3):755-63.

137. Luo X, Yang W, Ye DQ, Cui H, Zhang Y, Hirankarn N, et al. A functional variant in microRNA-146a promoter modulates its expression and confers disease risk for systemic lupus erythematosus. *PLoS genetics*. 2011;7(6):e1002128.
138. Elton TS, Sansom SE, Martin MM. Cardiovascular Disease, Single Nucleotide Polymorphisms; and the Renin Angiotensin System: Is There a MicroRNA Connection? *International journal of hypertension*. 2010;2010.
139. Mopidevi B, Ponnala M, Kumar A. Human angiotensinogen +11525 C/A polymorphism modulates its gene expression through microRNA binding. *Physiological genomics*. 2013;45(19):901-6.
140. Zhou B, Rao L, Peng Y, Wang Y, Chen Y, Song Y, et al. Common genetic polymorphisms in pre-microRNAs were associated with increased risk of dilated cardiomyopathy. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2010;411(17-18):1287-90.
141. Xu J, Hu Z, Xu Z, Gu H, Yi L, Cao H, et al. Functional variant in microRNA-196a2 contributes to the susceptibility of congenital heart disease in a Chinese population. *Human mutation*. 2009;30(8):1231-6.
142. Huo R, Dai M, Fan Y, Zhou JZ, Li L, Zu J. [Predictive value of miRNA-29a and miRNA-10a-5p for 28-day mortality in patients with sepsis-induced acute kidney injury]. *Nan fang yi ke da xue xue bao = Journal of Southern Medical University*. 2017;37(5):646-51.
143. Zheng G, Qiu G, Ge M, Meng J, Zhang G, Wang J, et al. miR-10a in Peripheral Blood Mononuclear Cells Is a Biomarker for Sepsis and Has Anti-Inflammatory Function. *Mediators of inflammation*. 2020;2020:4370983.
144. Xue Z, Xi Q, Liu H, Guo X, Zhang J, Zhang Z, et al. miR-21 promotes NLRP3 inflammasome activation to mediate pyroptosis and endotoxic shock. *Cell death & disease*. 2019;10(6):461.
145. Zhang W, Lu F, Xie Y, Lin Y, Zhao T, Tao S, et al. miR-23b Negatively Regulates Sepsis-Induced Inflammatory Responses by Targeting ADAM10 in Human THP-1 Monocytes. *Mediators of inflammation*. 2019;2019:5306541.
146. Yang Z, Tang Y, Zhao Q, Lu H, Xu G. Down-regulation of microRNA-23b aggravates LPS-induced inflammatory injury in chondrogenic ATDC5 cells by targeting PDCD4. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2018;21(5):529-35.

147. Maucher D, Schmidt B, Schumann J. Loss of Endothelial Barrier Function in the Inflammatory Setting: Indication for a Cytokine-Mediated Post-Transcriptional Mechanism by Virtue of Upregulation of miRNAs miR-29a-3p, miR-29b-3p, and miR-155-5p. *Cells*. 2021;10(11).
148. Hu Q, Gong W, Gu J, Geng G, Li T, Tian R, et al. Plasma microRNA Profiles as a Potential Biomarker in Differentiating Adult-Onset Still's Disease From Sepsis. *Frontiers in immunology*. 2018;9:3099.



8. EKLER

8.1. EK-1: APACHE-II Skorlama Sistemi

Fizyolojik Ölçüler	Yüksek Olağandışı Değer				Normal	Düşük Olağandışı Değer			
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Vücut Isısı °C (Aksiller)	≥41	39-40,9		38,5-38,9	36-37,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	≤29,9
Ortalama Arteriyel Basınç (mmHg)	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
Kalp Atım Sayısı (vuru/dk)	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤39
Solunum Hızı (SS/dk)	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
Oksijenasyon: a. FiO ₂ ≥0.5 ise A-aDO ₂ b. FiO ₂ <0.5 ise PaO ₂	≥500	350-499	200-349		<200 PaO ₂ >70	PaO ₂ 61-79		PaO ₂ 55-60	PaO ₂ <55
Arterial pH	≥7,7	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	<7,15
Serum Sodyum (mEq/L)	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
Serum Potasyum (mEq/L)	≥7	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		<2,5
Serum Kreatinin (mg/dL)	≥3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
Hematokrit (%)	≥60		50-59,9		30-45,9		20-29,9		<20
Beyaz Kan Hücre Değeri (WBC) (x10 ³ hücre/μL)	≥40		20-39,9		3-14,9		1-2,9		<1
Glaskow Koma Skalası (GKS)									
(A) TOTAL AKUT FİZYOLOJİK SKOR (APS)									

(B) YAŞ PUANLARI

≤ 44 → 0 puan
45-54 → 2 puan
55-64 → 3 puan
65-74 → 5 puan
≥ 75 → 6 puan

(C) KRONİK SAĞLIK DURUMU:

Hastanın ciddi bir organ sistem yetmezliği veya immünoompromise olması durumunda puanları şu şekilde veriniz:

- a. operatif olmayan veya acil postoperatif hastalar için → 5 puan
b. Seçilmiş postoperatif hastalar için → 2 puan

(A) APS Puanı: ____

(B) Yaş Puanı: ____

(C) Kronik Sağlık Puanı: ____

APACHE-II SKORU
[(A)+(B)+(C)]: ____

8.2. EK-2: SAPS-II Skorlama Sistemi

Parametre	Değer (Puan)				
Kalp Atım Sayısı (vuru/dk)	<40 (11)	40-69 (2)	70-119 (0)	120-159 (4)	>160 (7)
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	<70 (13)	70-99 (5)	100-199 (0)	>200 (2)	
Vücut Isısı °C			<39 (0)	>39 (3)	
PaO ₂ /FiO ₂	<110 (11)	100-199 (9)	>200 (6)		
BUN		<500 (11)	>1000 (0)		
Serum Üre			<28 (0)	28-83 (6)	>84 (10)
Beyaz Kan Hücre Değeri (WBC) (x10 ³ hücre/μL)		<1 (12)	1-20 (0)	>20 (3)	
Serum Potasyum		<3 (3)	3-4,9 (0)	>5 (3)	
Serum Sodyum		<125 (5)	125-144 (0)	>145 (1)	
Serum Bikarbonat		<15 (6)	15-19 (3)	>20 (0)	
Serum Bilirubin			<4 (0)	4-5,9 (4)	>6 (9)
Glaskow Koma Skalası	<6 (26)	6-8 (13)	9-10 (7)	11-13 (5)	14-15 (0)

YAŞ PUANLARI

<40 → 0 puan
 40-59 → 7 puan
 60-69 → 12 puan
 70-74 → 15 puan
 75-79 → 16 puan
 ≥80 → 18 puan

KRONİK HASTALIK:

Metastatik kanser → 9 puan
 Hematolojik malignite → 10 puan
 AIDS → 17 puan

KABUL TÜRÜ:

Planlı cerrahi → 0 puan
 Medikal tedavi → 6 puan
 Acil cerrahi → 8 puan