

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YL-2023-0085

**DENEYSEL ENDOTOKSEMİLİ NEONATAL
BUZAĞILARDA TROMBOSİT İNDEKSLERİ VE
TROMBOSİT SAYISI İLE İLGİLİ ORANLAR**

ONUR YILMAZER
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN

Bu tez, TÜBİTAK tarafından 120O638 proje numarası ile desteklenen araştırmanın bir kısmından gerçekleştirilmiştir.

AYDIN-2023

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ve Yüksek Lisans eğitim-öğrenim hayatımda ilgi, yardım, sabır ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen ve gerek mesleki tecrübeleri ile gerekse de hayat tecrübeleriyle yolumu aydınlatan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim süresince bana olan katkıları ve yardımlarından dolayı İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyeleri hocalarımdan Sayın Prof. Dr. Serdar PAŞA, Sayın Prof. Dr. Kerem URAL, Sayın Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN ve Sayın Doç. Dr. Songül ERDOĞAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitim-öğrenim hayatım süresince birlikte çalışma fırsatı bularak, akademik ve mesleki gelişim sürecimizde birbirimize destek olduğumuz meslektaşlarım başta Vet. Hek. Ece Eylül SÖNMEZ olmak üzere, Dr. Gamze GÜLTEKİN, Uzm. Vet. Hek. Tahir ÖZALP, Vet. Hek. Gizem GÖNÜLVEREN, Vet. Hek. Sena KAYA, Vet. Hek. Eyüp Can ÖZKILIÇ, Vet. Hek. Mert ÇÖLLÜ, Vet. Hek. Cansu BALIKÇI, Vet. Hek. Zeynep USTAER, Vet. Hek. Gamze GÖKÇAY, Vet. Hek. Maria MARTINIUC, Vet. Hek. Nilay ARSLAN, Vet. Hek. Tuğba ASLAN ve tüm Yüksek Lisans ve Doktora öğrencisi meslektaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak da hayatım boyunca her zaman arkamda olan, her kararımı destekleyen ve hoşgörü ile karşılayan babam Levent YILMAZER, annem Şengül YILMAZER ve kardeşim Emre YILMAZER başta olmak üzere sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sepsis	3
2.2. Endotoksemi ve Deneysel Sepsis Modeli.....	4
2.3. Sepsis ve Endotokseminin Patofizyolojisi.....	5
2.3.1. Kimyasal Mediyatör ve Sitokinler.....	6
2.3.2. Kompleman Sistem ve Nötrofiller.....	8
2.3.3. Nötrofil Hücre Dışı Tuzak Yapıları (NETs).....	9
2.4. Sepsisin Patofizyolojisinde Koagülasyon Sisteminin Rolü.....	9
2.4.1. Primer Hemostaz	10
2.4.2. Sekonder Hemostaz	10
2.5. Trombositlerin Sepsisteki Koagülasyon Dışı Rollerini	13
2.5.1. Akut Faz Yanıt	13
2.5.2. Nötrofil ve Monosit Aktivasyonu.....	14

2.5.3. T Hücre Etkileşimi	14
2.6. Sepsiste Trombositopeni Varlığı	15
2.6.1. Sepsiste Trombositopeniye Eşlik Eden Mekanizmalar	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Hayvan Materyali	17
3.2. Endotokseminin Oluşturulması	19
3.3. Klinik Muayene	19
3.4. Örneklerin Alınması ve Saklanması	21
3.5. Tam Kan Sayımı Analizleri.....	21
3.6. Koagülasyon Profili Analizleri.....	23
3.7. İstatistiksel Analizler	24
4. BULGULAR	25
4.1. Trombosit İndeksleri	25
4.2. Hematolojik Parametreler.....	26
4.3. Koagülasyon Profili.....	27
4.4. Trombosit Sayısı İle İlgili Oranlar.....	29
5. TARTIŞMA.....	38
5.1. Trombosit İndeksleri	39
5.2. Hematolojik Parametreler.....	41
5.3. Koagülasyon Profili.....	42
5.4. Trombosit Sayısı İle İlgili Oranlar.....	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	48
EKLER	57
Ek 1 (ADÜ-HADYEK)	57
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	58



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

µg: Mikrogram

ADP: Adenozin Difosfat

APC: Antijen Sunan Hücre

aPTT: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı

ARDS: Akut Solunum Yetmezliği Sendromu

AT-III: Antitrombin-III

°C: Santigrat Derece

C3a ve C5b: Anafilotoksin

CD40L: CD40 Ligandı

CRP: C-reaktif protein

DAMP: Hasarla İlişkili Moleküler Yapı

DIC: Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

ESICM: Avrupa Yoğun Bakım Derneği

F: Faktör

FIB: Fibrinojen

IBM: Uluslararası iş makineleri

IFN-γ: İnterferon gamma

Ig: İmmünoglobulin

IL: İnterlökin

kg: Kilogram

kPa: Kilopaskal

L: Litre

LPS: Lipopolisakkarit

LYM: Lenfosit

ml: Mililitre

mm³: Milimetreküp

mmHg: Milimetre Civa

MODS: Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu

MPV: Trombosit Hacmi

NaCl: Sodyum Klorür

NETs: Nötrofil Hücre Dışı Tuzak Yapıları

PAF: Trombosit Aktive Edici Faktör

PAMP: Patojenle İlişkili Moleküler Patern

PC: Protein C

PCT: Trombosit krit

PDWc: Trombosit Dağılım Genişliği

PF2: Trombosit Faktör 2

PG: Prostaglandin

PLT: Trombosit Sayısı

PS: Protein S

PSGL-1: P Selektin Glikoprotein Ligandı-1

PT: Protrombin Zamanı

RANTES: Aktivasyon Üzerine Düzenlenen, Normal T Hücre Eksprese Edilen ve Salgılanan

RBC: Eritrosit

RDWc: Eritrosit Dağılım Genişliği

rpm: Dakikadaki Devir Sayısı

SCCM: Kritik Bakım Derneği

SIRS: Sistemik Yangısal Yanıt Sendromu

SPSS: Sosyal bilimler için istatistik paketi

TLR: Toll Benzeri Reseptör

TNF: Tümör Nekrozis Faktör

TSST-1: Toksik Şok Sendromu-1

TxA2: Tromboksan A2

vWF: Von Willebrand Faktör

WBC: Total Lökosit



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sepsiste immün sistem aktivasyonu.....	7
Şekil 2. Aktif protein C (Aktif PC)'nin hemostaz üzerine etkileri	12
Şekil 3. Sepsiste koagülasyon sistemi	12
Şekil 4. Sepsiste organ disfonksiyonu.....	13
Şekil 5. LPS infüzyonunu takiben PLT sayısının saatlere göre değişimi	25
Şekil 6. LPS infüzyonunu takiben PCT değerinin saatlere göre değişimi	26
Şekil 7. LPS infüzyonunu takiben WBC sayısının saatlere göre değişimi	27
Şekil 8. LPS infüzyonunu takiben LYM sayısının saatlere göre değişimi.....	27
Şekil 9. LPS infüzyonunu takiben aPTT değerinin saatlere göre değişimi.....	28
Şekil 10. LPS infüzyonunu takiben PT değerinin saatlere göre değişimi	29
Şekil 11. LPS infüzyonunu takiben FIB değerinin saatlere göre değişimi	29
Şekil 12. LPS infüzyonunu takiben PLT/WBC değerinin saatlere göre değişimi	30
Şekil 13. LPS infüzyonunu takiben PLT/LYM değerinin saatlere göre değişimi.....	31
Şekil 14. LPS infüzyonunu takiben RDWc/PLT değerinin saatlere göre değişimi	31
Şekil 15. LPS infüzyonunu takiben MPV/PLT değerinin saatlere göre değişimi.....	32
Şekil 16. LPS infüzyonunu takiben aPTT/PLT değerinin saatlere göre değişimi.....	33
Şekil 17. LPS infüzyonunu takiben PT/PLT değerinin saatlere göre değişimi.....	33
Şekil 18. LPS infüzyonunu takiben FIB/PLT değerinin saatlere göre değişimi	34

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Araştırmada kullanılan buzağılar	18
Resim 2. Buzağı beslemesi	18
Resim 3. Endotoksemi oluşturmak için kullanılan LPS çözeltisi	19
Resim 4. Klinik muayene formu	20
Resim 5. Mindray uMEC12 Vet hasta başı monitörizasyon cihazı	21
Resim 6. Abacus VET5 kan sayım cihazı.....	22
Resim 7. Tam kan sayımı analizinin gerçekleştirilmesi.....	22
Resim 8. Teco, Coatron M2 koagülometre cihazı.....	23
Resim 9. Koagülasyon profili analizinin gerçekleştirilmesi	24

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Sepsis ile ilişkili tanımlar	4
Tablo 2. Kimyasal mediyatör ve sitokinlerin sepsisin patofizyolojisindeki temel etkileri.....	7
Tablo 3. Hematolojik parametreler ve trombosit indekslerinde zamana bağlı değişimler	35
Tablo 4. Koagülasyon parametrelerinde zamana bağlı değişimler.....	36
Tablo 5. Oranlar ile ilgili parametrelerde zamana bağlı değişimler	37



ÖZET

DENEYSEL ENDOTOKSEMİLİ NEONATAL BUZAĞILARDA TROMBOSİT İNDEKSLERİ VE TROMBOSİT SAYISI İLE İLGİLİ ORANLAR

Yılmaz, O. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: Deneysel endotoksemili neonatal buzağuların koagülasyon ve immünite profillerinin bir göstergesi olarak trombosit indeksleri ve trombosit sayısı ile ilgili oranların ortaya koyulması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Araştırmanın hayvan materyalini 1-4 haftalık yaşlar arasında 6 adet sağlıklı erkek Holstein ırkı buzağı oluşturdu. LPS (*E.coli* 0111:B4; Sigma) 1 µg/kg dozda, 100 ml %0,9'luk NaCl solüsyonu içinde çözündürülerek, intravenöz yolla 5 dakikada uygulanarak endotoksemi oluşturuldu. Örneklemeler, LPS uygulaması öncesi (0. saat) ve uygulama sonrası 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 ve 48. saatlerde olmak üzere gerçekleştirildi. Hematolojik parametreler, trombosit indeksleri, koagülasyon profili ve trombosit sayısı ile ilgili oranlar değerlendirildi.

Bulgular: LPS uygulamasını takiben ortalama WBC ($p<0,001$), LYM ($p<0,001$), PLT ($p<0,001$), PCT ($p<0,001$) değerlerinde azalış görülürken, aPTT ($p<0,01$), PT ($p<0,01$) ve FIB ($p<0,05$) değerlerinde ise artış tespit edildi. RDWc, MPV ve PDWc değerlerinde meydana gelen değişimlerin ise anlam ifade etmediği tespit edildi. Ortalama PLT/WBC, PLT/LYM değerlerinde görülen önce artış ve sonrasındaki azalış ile RDWc/PLT, MPV/PLT, aPTT/PLT, PT/PLT değerlerindeki artış ($p<0,001$) ve ortalama FIB/PLT değerindeki ($p<0,01$) artışta anlamlı fark bulundu.

Sonuç: Deneysel endotoksemili neonatal dönem buzağılarda trombosit indeksleri, hematolojik parametreler, koagülasyon profili ve trombosit sayısı ile ilgili oranların farklı düzeylerde değişebildiği ortaya konuldu. Sonuçların, bu konuya ilişkin olarak yapılabilecek olan yeni araştırmalar için yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Deneysel endotoksemi, Trombosit oranları, Trombosit sayısı.

ABSTRACT

PLATELET INDEXES AND RATIOS ASSOCIATED WITH PLATELET COUNT IN NEONATAL CALVES WITH EXPERIMENTAL ENDOTOXEMIA

Yilmazer, O. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Internal Medicine (Veterinary Medicine) Program, Master Thesis, Aydın, 2023.

Objective: It was aimed to reveal the ratios of platelet indices and platelet count as an indicator of the coagulation and immunity profiles of neonatal calves with experimental endotoxemia.

Materials and Methods: The animal material of the study consisted of 6 healthy male Holstein calves between the ages of 1-4 weeks. Endotoxemia was induced by dissolving LPS (E.coli 0111:B4; Sigma) at a dose of 1 µg/kg in 100 ml of 0.9% NaCl solution and administered intravenously in 5 minutes. Sampling was performed before the LPS application (0. hour) and at 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 and 48 hours after the application. Hematological parameters, thrombocyte indices, coagulation profile and rates of thrombocyte count were evaluated.

Results: After LPS application, while mean WBC ($p<0.001$), LYM ($p<0.001$), PLT ($p<0.001$), PCT ($p<0.001$) values decreased, aPTT ($p<0.01$), PT ($p<0, 01$) and FIB ($p<0.05$) values were increased. It was determined that the changes in RDWc, MPV and PDWc values were not significant. The increase and subsequent decrease in mean PLT/WBC, PLT/LYM values, and increase in RDWc/PLT, MPV/PLT, aPTT/PLT, PT/PLT values ($p<0.001$) and mean FIB/PLT values ($p<0.01$)) significant difference was found in the increase.

Conclusion: It was revealed that platelet indexes, hematological parameters, coagulation profile and platelet count ratios can vary at different levels in neonatal calves with experimental endotoxemia. It is thought that the results may be useful for new research on this subject.

Keywords: Calf, Experimental endotoxemia, Platelet ratios, Platelet count.

1. GİRİŞ

Sepsis, insanlar ve evcil hayvanlarda yaşamı tehdit edebilen ve olumsuz etkiler meydana getiren ciddi bir durumdur. (Fecteau ve diğerleri, 1997; Rhodes ve diğerleri, 2017). Bakteri, virüs, mantar ve parazitler gibi birçok patojen mikroorganizma tarafından meydana gelebilmekle beraber, sepsisli hastalardan en sık izole edilen mikroorganizmalar *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* olarak bilinmektedir (Fışgın, 2004; Martin ve diğerleri, 2003). Şiddetli (ilerleyici) sepsis, sepsise ek olarak organ işlev bozukluğu (böbrek, karaciğer, akciğer, kalp vb.) ile karakterize bir durumdur ve buna hipotansiyon ile hipoperfüzyon eşlik etmektedir. Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen perfüzyon anormallikleri ve hipotansiyon (sistolik basınç <90 mmHg) devam ederse (vazopresörlere ihtiyaç duyulur ve laktat artarsa) ve diğer şok bulguları görülmezse bu durum septik şok olarak nitelendirilmektedir (Pardon ve Deprez, 2018).

Gram-negatif bakteriler tarafından lipopolisakkarit (LPS) yapılı endotoksin salınımı ile oluşturulan sepsis, gram-pozitif bakterilerin oluşturduğu sepsise göre çok daha şiddetli seyretmektedir (Pardon ve Deprez, 2018). LPS yapılı endotoksinlerin kullanımı ile oluşturulan deneysel endotoksemi modellerinde meydana gelen hematolojik, metabolik ve patolojik değişimlerin, doğal olarak oluşan sepsis durumundaki hastalarda görülen değişimler ile benzerlik gösterdiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Biniek ve diğerleri, 1998; Elsasser ve diğerleri, 2005; Horadagoda ve diğerleri, 2001). Sığırların ve özellikle buzağların, diğer hayvan türlerine kıyasla LPS'ye karşı daha duyarlı oldukları gösterilmiştir (Michaels ve Banks, 1988). Sığırlarda akut faz yanıtı incelemek için çeşitli deneysel modeller bildirilmiştir. Genel olarak, *Escherichia coli* (*E. coli*) LPS'si en sık uygulanan endotoksin türüdür. LPS'nin intravenöz yolla uygulanması en yaygın kullanılan uygulama şekli olarak bilinmektedir. O55:B5 ve O111:B4 serotiplerinin her ikisi de sıklıkla uygulanmaktadır (Plessers ve diğerleri, 2015).

Trombositlerin, sepsisteki primer rolü koagülasyon kaskadı üzerine olurken aynı zamanda akut faz yanıtın indüklenmesi, nötrofil ve monosit aktivasyonu, nötrofil hücre dışı tuzak yapılarının (NETs) oluşumu ve T hücre etkileşimi gibi bağışıklık yanıt üzerine de etkileri bulunmaktadır (Vardon-Bounes ve diğerleri, 2019). Genel olarak, septik hastaların %20-58'inde trombositopeni geliştiği ve bunların %10'unda ise şiddetli trombositopeni geliştiği

bildirilmektedir (Baughman ve diğ erleri, 1993; Sharma ve diğ erleri, 2007; Venkata ve diğ erleri, 2013). İmmün sistemin neden olduğu hemodilüsyon, trombosit tüketim hızındaki artış ve trombosit yıkımının, sepsisli hastalarda trombositopeniye yol açtığı bilinmektedir (Grainacher ve Selleng, 2010). Meydana gelen şiddetli trombositopeni, düzensiz konakçı yanıtından (kontROLSüz yangısal durum) ileri gelen bir durum olarak görülmekle beraber, hastaların mortalite durumunu  n görmede rol oynayabilen bir risk faktörü olarak da nitelendirilmektedir (Vardon-Bounes ve diğ erleri, 2019).

Bu çalışmada, deneysel endotoksemi oluşturulan neonatal dönem buzağıların koagülasyon ve immünite profillerinin bir göstergesi olarak trombosit indeksleri ve trombosit sayısı ile ilgili oranların ortaya koyulması amaçlanmaktadır. Bununla birlikte çalışma sonuçlarının literatürdeki eksikliği gidermesi ve klinik veteriner hekimliğe katkı sağlaması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

Sepsis, genel anlamda mikroorganizmaların ve/veya kan dolaşımındaki toksinlerinin varlığı ile ilişkili sistemik bir hastalığı ifade etmektedir (Fecteau ve diğerleri, 2009). İnsanların ve tüm evcil hayvanların hayatını olumsuz olarak etkileyebilen ve yaşamı ciddi düzeyde tehdit edebilen bir durum olarak bilinmektedir (Fecteau ve diğerleri, 1997; Rhodes ve diğerleri, 2017). Sepsis, diğer bir ifade ile ise konakçının enfeksiyona karşı geliştirdiği “sistemik yangısal yanıt sendromu (SIRS)” olarak nitelendirilebilmektedir (Pardon ve Deprez, 2018).

Sepsis ile ilgili birçok tanımlama olmasına rağmen ilk tanımlamalar 1991 yılında American College of Chest Physicians” ve “Society of Critical Care Medicine” tarafından yapılmıştır (Bone ve diğerleri, 1992). Avrupa Yoğun Bakım Derneği (ESICM) ve Kritik Bakım Derneği (SCCM) tarafından 2016 yılında yapılan bir toplantıda ise sepsisin mevcut tanımının değiştirilmesi kararlaştırılarak, sepsis 3.0 ismiyle günümüzde güncelliğini hala koruyan yeni bir tanımlama yapılmıştır. Bu bağlamda sepsis 3.0 “enfeksiyona karşı düzensiz bir konakçı yanıtının neden olduğu yaşamı tehdit eden bir organ disfonksiyonu” olarak tanımlanmaktadır (Singer ve diğerleri, 2016).

Sepsis, bakteriler, mantarlar, parazitler ve virüsler gibi birçok mikroorganizma tarafından oluşturulabilmekle beraber sepsisli insan ve hayvanlardan en sık izole edilen mikroorganizmalar *Escherichia coli* , *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus*’dur (Fışgın, 2004; Martin ve diğerleri, 2003). Özellikle gram-negatif bakterilerle oluşan sepsiste, LPS yapısındaki endotoksinler, gram-pozitif bakterilere göre çok daha şiddetli bir yangısal yanıtı neden olmaktadır. Şiddetli (ilerleyici) sepsis, sepsise ek olarak organ işlev bozukluğu (böbrek, karaciğer, akciğer, kalp vb.) ile karakterizedir ve hipotansiyon ile hipoperfüzyon eşlik etmektedir. Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen perfüzyon anormallikleri ve hipotansiyon (sistolik basınç <90 mmHg) devam ederse (vazopresörlere ihtiyaç duyulur ve laktat artarsa) ve diğer şok belirtileri görülmezse hastalar septik şok kriterlerini karşılamaktadır. Septik şok, kardiyojenik, hipovolemik ve dağılımsal şok türlerinin bir kombinasyonudur. Şiddetli sepsis ve septik şoku takiben hastalarda meydana gelen çoklu organ yetmezliği sendromu (MODS) ise

birden fazla organın fonksiyonlarını kaybettiği bir sendrom olarak nitelendirilmektedir (Pardon ve Deprez, 2018).

Tablo 1. Sepsis ile ilişkili tanımlar (Singer ve diğerleri, 2016).

Terim	Tanımlama
Sistemik Yangısal Yanıt Sendromu (SIRS)	İki veya ikiden fazla parametrenin varlığı: - Vücut sıcaklığı $>38^{\circ}\text{C}$ veya $<36^{\circ}\text{C}$ - Kalp frekansı >90 atım/dakika - Solunum frekansı >20 nefes/dakika veya $\text{PaCO}_2 <32$ mmHg (4,3 kPa) - Total lökosit $>12000/\text{mm}^3$ veya $<4000/\text{mm}^3$
Sepsis	SIRS kriterlerinin eşlik ettiği, mikroorganizmaların ve/veya kan dolaşımındaki toksinlerinin varlığı ile karakterize sistemik hastalık
Şiddetli (İlerleyici) Sepsis	Sepsisin ilerleyici versiyonudur ve sepsise ek olarak organ işlev bozukluğu, hipoperfüzyon ve hipotansiyon ile karakterizedir
Septik Şok	Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen devam eden hipotansiyon, perfüzyon anormallikleri ve vazopresör ihtiyacı ile karakterizedir
Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu (MODS)	Şiddetli sepsis ve septik şoku takiben birden fazla organda meydana gelen disfonksiyon sendromu ile karakterizedir

2.2. Endotoksemi ve Deneysel Sepsis Modeli

Endotoksemi, insan ve evcil hayvanların kanındaki endotoksinlerin varlığını tanımlayan bir terimdir (Pardon ve Deprez, 2018). Endotoksinler, gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarındaki lipopolisakkarit tabakasının yüzeyinde bulunan ve bu bakteriler ile enfekte olan canlılardaki sepsisin başlangıcını oluşturan moleküllerdir. Hücre duvarları yıkımlanmadığı takdirde inaktif olan endotoksinler, bu bakterilerin büyüüp, gelişmelerini takiben yıkımlanan hücre duvarı ile kanda serbest hale geçerek canlılardaki sepsisinin oluşumunu indüklerler (Fışgın, 2004).

Doğal enfeksiyona bağlı olarak gelişen sepsis durumunun yanı sıra deneysel endotoksemi modeli ile sepsisin oluşturulması için iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilki tek bir bakteriye ait olan endotoksinin kullanımı olurken, diğer yöntem ise çoklu

suş içeren bakteriyel endotoksinlerin kullanımıdır (Spitzer, 1993). Geleneksel olarak, sıçan ve daha az yaygın olmakla beraber tavşan gibi hayvanlar immün sisteme yönelik çalışmalarda tercih edilirken, köpekler ve primatlar ise sepsisin hemodinamik ve kardiyovasküler sistem üzerine etkilerinin araştırılması için kullanılmaktadır. Ayrıca sıçanlar, sepsiste metabolik ve kardiyovasküler sistem üzerine yapılacak olan çalışmalar için de tercih haline gelmiştir (Spitzer, 1993).

Endotoksemi ile indüklenen sepsis modellerinde, en sık gram-negatif bakterilerden elde edilen LPS yapılı endotoksinler kullanılmaktadır. Bu bağlamda *Pseudomonas spp.*, *Escherichia coli* ve *Bacteroides fragilis* gibi bakterilerin endotoksinleri yaygın olarak kullanım alanı bulmaktadır. Endotoksinler intravenöz katater ile infüzyon, çekal ligasyon ve punksiyon, çoklu bölgelere yapılan subkutan enjeksiyonlar gibi üç farklı şekilde uygulanabilmektedir (Spitzer, 1993).

Saflaştırılmış standart LPS'nin intravenöz uygulamasının, gram-negatif bakterilerin doğal olarak oluşturduğu sepsise benzer şekilde akut SIRS'a yol açtığı bilinmektedir. Bu bağlamda, endotoksemi modelleri sepsis ve septik şokun patofizyolojisinin incelenmesi amacıyla yıllardır kullanılmaktadır (Andreasen ve diğerleri, 2008; Hoffman ve Natanson, 1993; Remick ve Ward, 2005). Endotoksemi modelleri standardizasyon, tekrarlanabilirlik ve karşılaştırılabilir olma açısından avantajlar sağlamaktadır (Michaels ve Banks, 1988).

Buzağılarda endotoksemi modelleri, yangısal süreçleri ve ilişkili spesifik olmayan semptomları anlamak ya da tedaviye yönelik girişimlerin etkinliğini değerlendirmek amacıyla araştırmacılar tarafından başarıyla kullanılmaktadır (Elmas ve diğerleri, 2013; Plessers ve diğerleri, 2015; Şen ve Coşkun, 2008; Yılmaz ve diğerleri, 2013).

2.3. Sepsis ve Endotokseminin Patofizyolojisi

Sepsisin patofizyolojisi oldukça karmaşık olmakla beraber, mikroorganizmaların hücresel yapılarının ya da salgıladıkları toksinlerin sepsisi başlatan ana etmenler olduğu düşünülmektedir. Özellikle gram-negatif bakterilerin salgıladığı LPS yapısındaki endotoksinlerin iç katmanlarında yer alan lipid A maddesi, toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1), virüs ve mantarların antijenleri, gram-pozitif bakteri veya mantarların hücre duvarı yapıları gibi etmenler canlılarda sepsisi başlatan ana unsurlardır (Bone, 1991; Guidet ve diğerleri 1994; Natanson ve diğerleri, 1994).

Sepsisi oluşturan mikroorganizmal etmenler başlıca unsur olarak olaylar dizisini başlattığı taktirde, salgıladıkları patojenle ilişkili moleküler patern (PAMP) ve hasarla ilişkili moleküler yapı (DAMP) gibi moleküllerin insan ve hayvanlar gibi konak canlının immün sistemindeki patern tanıyıcı reseptörler tarafından algılanmasıyla birlikte primer olaylar başlamaktadır. Bu moleküller, antijen sunan hücreleri (APC) ve monositlerin yüzeyindeki toll benzeri reseptörleri (TLR) aktif hale getirirler ve onlara bağlanarak immün sistem üzerinde bir sinyal oluşumuna neden olurlar. Böylece dolaşımdaki mononükleer fagositler, endotel hücreler ve diğer birçok hücre uyarılarak, kimyasal mediyatörlerin ve sitokinlerin salımına neden olurlar ve patolojik mekanizmaların başlamasına öncülük ederler (Tamayo ve diğerleri, 2011; Tang ve diğerleri, 2010).

Sepsisin patofizyolojisinde rol oynayan mekanizmalar temel olarak pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar dengenin bozulması ile karakterize bir immün yanıtın ileri gelmektedir (Jarczak ve diğerleri, 2021).

2.3.1. Kimyasal Mediyatör ve Sitokinler

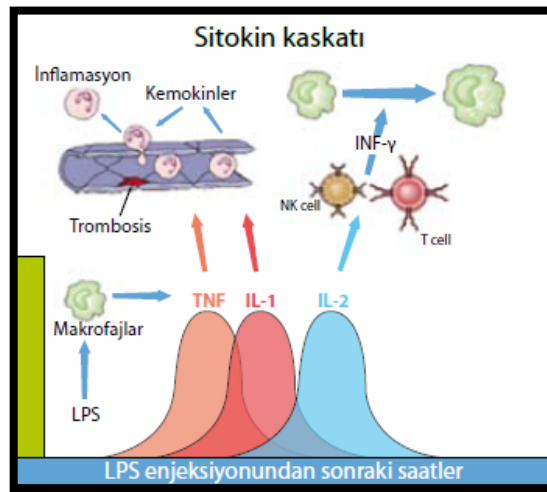
Sepsisin patogenezinde rol oynayan ve monositlerden salınan başlıca mediyatör ve sitokinler; tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) interlökin-1 (IL-1), interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6) ve trombosit aktive edici faktör (PAF)'dür (Bone, 1991; Natanson ve diğerleri, 1994; Sáez-Llorens ve McCracken, 1993). Uyarılmalarını takiben vücuda salındıktan sonra ise koagülasyon mekanizması, kompleman sistem, fibrinolizis ve kinin sistemi gibi farklı sistemler aktif hale gelerek patolojik mekanizmaları başlatırlar (Bone, 1991; Dinarello, 1991; Poll ve diğerleri, 1990).

TNF- α sepsisin patofizyolojisindeki en önemli sitokinlerden bir tanesidir ve birçok farklı sitokin ve mediyatörün salınımından sorumlu olarak görev yapmaktadır. Özellikle PAF ve IL-1'in salınımını takiben, araşidonik asit, prostaglandin E2 (PGE2), prostaglandin I2 (PGI2), tromboksan A2 (TxA2) ve lökotrienlerin salınımını stimüle edecek şekilde metabolize olmaktadır. Beraberinde IL-1 ve IL-6 gibi sitokinler T hücrelerini aktive ederek granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör, IL-2, IL-4 ve interferon gamma (IFN- γ) salınımını gerçekleştirirler. Ayrıca TxA2, araşidonik asit, TNF- α , IL-1 ve hatta endotoksinler canlılardaki endotel permeabilitenin artışına ve endotel hasarına neden olmaktadır (Fışgın, 2004). Sepsisin erken evrelerinde bu mediyatörlerin kandaki düzeyleri düşük iken, ileri evrelerde ise

IL-1 ve IL-4 gibi baskılama özelliği olan sitokinlerin kandaki düzeyleri önemli ölçüde artmaktadır ve bu da “sitokin fırtınası” denilen olumsuz bir duruma yol açmaktadır. Sitokin fırtınası, endotel hücrelerde hasara ve hemodinamik değişiklikler sonucunda da doku perfüzyonunda bozulma ile birlikte organ disfonksiyonlarına yol açmaktadır (Camcıoğlu ve Aytaç, 2007).

Tablo 2. Kimyasal mediyatör ve sitokinlerin sepsisin patofizyolojisindeki temel etkileri (Yorgancı, 2005).

Mediyatör	Temel Etki
Sitokinler: IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18 ve TNF	Nötrofil, lenfosit ve endotel aktivasyonu, hücrel adezyon moleküllü aktivasyonu, akut faz proteinleri ve prostaglandin aktivasyonu, makrofaj aktivasyonu (IL-8 aracılığı ile)
Lipid mediyatörler: PAF, prostaglandinler, lökotrienler, tromboksan ve doku faktörleri	Endotel aktivasyonu, vasküler tonunun düzenlenmesi, dışsal koagülasyon kaskadının aktivasyonu



Şekil 1. Sepsiste immün sistem aktivasyonu (Karaali ve Tabak, 2015).

2.3.2. Kompleman Sistem ve Nötrofiller

Kompleman sistem normalde üç farklı işleve sahiptir. Bunlardan ilki, vücuda yabancı olan antijenik hücrelerin tahrip edilmesiyle, ikinci önemli görevi ise vücuda yabancı olan bu antijenik yapıların fagositoza uğramalarına aracılık etmeleridir. Bir diğer önemli görevleri ise immün sistemin ve vücuttaki inflamasyonun düzenlenmesi için gerekli olan peptid yapılı moleküllerin açığa çıkarılmasıdır (Camcıoğlu ve Aytaç, 2007). Kompleman sistemin aktivasyonu ile birlikte membran atak kompleksi (MAK) oluşturularak yabancı hücreler içerisinde bir delik açılmak suretiyle hücre içerisindeki onkotik basınç artırılmakta ve hücre içerisine su çekilerek, hücrenin şişerek patlaması ve yıkımlanması sağlanmaktadır. Bununla birlikte kompleman sistemin aktive olduğu durumda C3a ve C5a gibi moleküller açığa çıkmaktadır ve sepsis kaynaklı meydana gelen birçok yangısal olayda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Aktivasyon sırasında açığa çıkan C5a, sepsisli hastalardaki kemotaktik aktivitenin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Kompleman sistemdeki aktivasyon ile birlikte bir taraftan antijenik yabancı yapıların fagositoz ve inflamasyon gibi olaylar dizisi ile baskılanması ve vücuttan atılması söz konusu olurken; bir diğer taraftan ise kontrolden çıkan kompleman sistem nedeniyle bazofil ve mast hücresi gibi hücrelerin salgıladığı histaminin artışı sonucunda düz kaslarda kasılma, kapillar damarların permeabilitesinde artış, nefritis, vaskülit, hemoliz, artrit ve hipotansiyon gibi durumlar şekillenmektedir (Camcıoğlu ve Aytaç, 2007; Sáez-Llorens ve McCracken, 1993).

Kompleman sistemin aktivasyonu ile birlikte gerçekleşen kemotaksis sonucunda nötrofillerin kemik iliğinden periferik kan dolaşımına ve inflamasyon bölgesine doğru aşırı salınımı söz konusu olmaktadır. İmmünoglobulin M (IgM) ve immünoglobulin G (IgG) gibi hücresel bağışıklık elemanları, nötrofillerin yüzeyinde bulunan Fc reseptörlerine bağlanmak suretiyle fagositozun başlaması için gerekli olan sürece öncülük ederler. Bu sayede nötrofiller antijenik yabancı yapıları hücre içerisine alarak fagozom oluştururlar. Lizozim, laktoferrin ve proteaz gibi peptid yapılı moleküller bu yabancı yapıların parçalanmasında önemli bir rol oynarlar. Aynı zamanda fagozom içerisindeki pH, hidrojen iyonlarının salınımı ile düşürülür ve böylece laktoferrin, bakterilerin üremesi için gerekli olan demir iyonunu bağlayarak bakterilerin üremesini engellemekte ve tahrip edilmelerinde de önemli bir rol oynamaktadır (Camcıoğlu ve Aytaç, 2007). Nötrofillerin salınımının kontrolden çıktığı durumlarda ise tüm bu olumlu etkilerinin yanı sıra endotel hasarı, mikrovasküler alanda tromboz ve beraberinde doku hasarı gelişmekle birlikte özellikle akciğer gibi organlarda nötrofillerin aşırı birikimi

sonucunda, hastalarda akut solunum yetmezliği sendromu (ARDS) gibi yaşamı ciddi derecede tehdit edici olaylar şekillenebilmektedir (Camcıoğlu ve Aytaç, 2007).

Endotel permeabilitesindeki bir diğer artış nedeni ise oksijen radikalleri ve lizozomal enzimlerin açığa çıkışıdır. Bu maddeler nötrofillerin degranülasyonu ile birlikte açığa çıkmaktadırlar. Meydana gelen endotel hasarı ve permeabilite artışı, mikrotombüs oluşumuna zemin hazırlayarak damar içerisinde birikmelerine ve organ yetmezliklerinin (özellikle akciğer, karaciğer, kalp ve böbrek yetmezliği) gelişimine katkıda bulunmaktadır (Dinarelli, 1991; Doğanay, 1996). Bununla birlikte bozulan hemostaz nedeniyle yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) gibi yaşamı tehdit edici durumların meydana gelişine de neden olmaktadır (Levi ve Cate, 1999).

2.3.3. Nötrofil Hücre Dışı Tuzak Yapıları (NETs)

Nötrofillerin immün yanıtındaki bir diğer rolü ise NETs'lerin oluşturulmasıdır. Oluşan bu yapılar, patojen hücreleri inflamasyon bölgesinde hapsederek, sınırlandırmak ve çevre dokulara yayılımını önlemek şeklinde görev yapmaktadırlar. Ayrıca yapılarındaki histon, myeloperoksidaz ve elastaz gibi enzimler ve laktoferrin ve katepsin gibi proteinler ile birlikte bakterilerin yıkılmasını sağlamak ve enfeksiyonun şiddetini azaltmak şeklinde görev yaptıkları da bilinmektedir. Gerçekleşen bu mekanizmaya “netosis” adı verilmektedir (Brinkmann ve Zychlinsky, 2012).

2.4. Sepsisin Patofizyolojisinde Koagülasyon Sisteminin Rolü

Sepsisli hastalarda koagülasyon mekanizmasının başlangıcı tam olarak ortaya konulmamış olmakla beraber oldukça karmaşık bir süreçtir ve primer ile sekonder hemostaz mekanizmalarına dayandırılmaktadır. Bu süreç trombositler ile pıhtılaşma faktörlerinin iş birliği yapması şeklinde ilerlemektedir. Pıhtılaşma faktörleri kanda serbest haldeyken “zimojen”, aktive haldeyken ise “serin proteaz” olarak isimlendirilmektedirler ve serin proteazlar aktif rol oynayarak tromboz oluşumuyla koagülasyonu desteklemektedirler (Fışgın, 2004; Palta ve diğerleri, 2014). Hemostazda önemli bir denge söz konusu olmaktadır ve bu denge öncü enzimler, aktivatör ve inhibitör sistemler ile kontrol edilmektedir (Fışgın, 2004).

2.4.1. Primer Hemostaz

Canlılarda sepsisi oluşturan patojen hücreler, damar endoteline verdikleri hasar sonucunda koagülasyon mekanizmasının başlamasına neden olmaktadır. Endotelde meydana gelen hasar ile birlikte uyarılan PAF, hasarlı bölgeye trombositlerin göç etmesine ve bölgede “trombosit tıkaçı”nın oluşumuna neden olmaktadır (Levi ve van der Poll, 2017). Damar endotelindeki hasarlı bölgeye göç eden trombositler ilk olarak subendotelial kollajen ve Von Willebrand faktörü (vWF)’üne bağlanmaktadır. vWF, trombosit yüzey reseptörleri GpIb ve endotelial kollajenler arasında bağlayıcı etki göstererek, trombositlerin endoteldeki hasarlı bölgeye adezyonuna katkı sağlamaktadır. Adezyon sonrasında ise trombosit granüllerinden biri olan kalsiyum iyonlarının fosfolipidler ile birleşmesini takiben trombosit salgısını artırmakta ve çeşitli pıhtılaşma faktörlerinin birleşmesi için yüzey oluşturmaktadır. Trombositlerin yüksek düzeydeki aktivasyonu sonucunda, TxA2 ve adenosin difosfat (ADP) molekülleri iş birliği yapmakta ve hasarlı damar endotel bölgesinde gerçekleşecek olan trombosit agregasyonunu uyararak bu bölgede bir “trombosit tıkaçı” oluşumuna katkı sağlamaktadırlar. Bu olaylar dizini sepsisli hastalardaki “primer hemostaz” mekanizması olarak değerlendirilmektedir (Palta ve diğerleri, 2014).

2.4.2. Sekonder Hemostaz

Sepsisli hastalardaki sekonder hemostaz mekanizmasına bakılacak olursa, iç ve dış yollar olarak adlandırılabilen ve pıhtılaşma faktörlerini içeren iki farklı durum söz konusu olmakla beraber her iki yol da aslında fibrin oluşumuna sebep olan ortak bir yola dayanmaktadır (Fışgın, 2004). Koagülasyon kaskadı, mononükleer hücreler ve endotel hücrelerdeki doku faktörü, LPS ve diğer mikroorganizmal ürünler tarafından aktifleştirilmektedir. Beraberinde doku faktörü tarafından bir dizi proteolitik kaskad aktifleşerek protrombinden trombin oluşturulmakta ve beraberinde fibrinojenden fibrin oluşumu indüklenmektedir (Karaali ve Tabak, 2015).

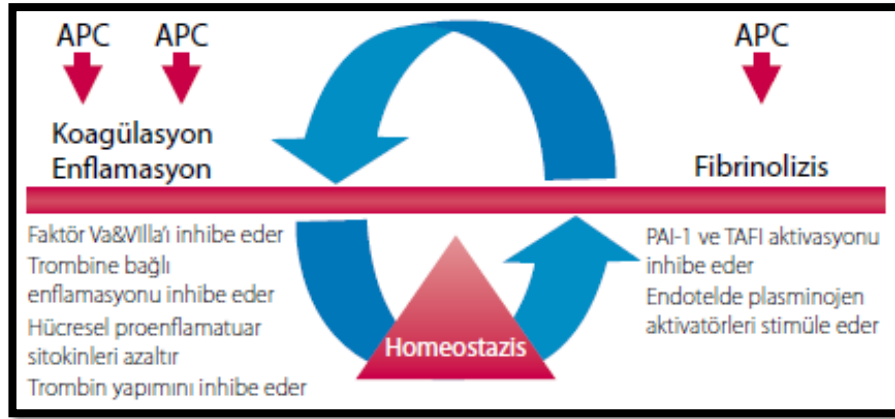
Özellikle gram-pozitif bakterilerin sebep olduğu sepsiste parçalanmış lökositler ile birlikte elastaz ve tromboplastin ortaya çıkmakta ve elastaz, antitrombin-III (AT-III)’e bağlanmaktadır. Tromboplastin de faktör VII (FVII)’yi aktif etmekte ve dışsal pıhtılaşma yolunu başlatmaktadır. Bunun yanı sıra gram-negatif bakteriler tarafından şekillenen sepsis durumunda ise salgılanan

endotoksinler, damar endotelinde meydana getirdikleri hasar sonucunda faktör XII (FXII)'yi aktif hale getirirerek, içsel yolun başlamasına neden olmaktadır (Fışgın, 2004).

Sekonder hemostazın dengede tutulabilmesi için ise inhibitör sistemler, AT-III, protein S (PS) ve protein C (PC) gibi hemostaz elemanları görev yapmaktadır (Hesselvick ve diğerleri, 1991).

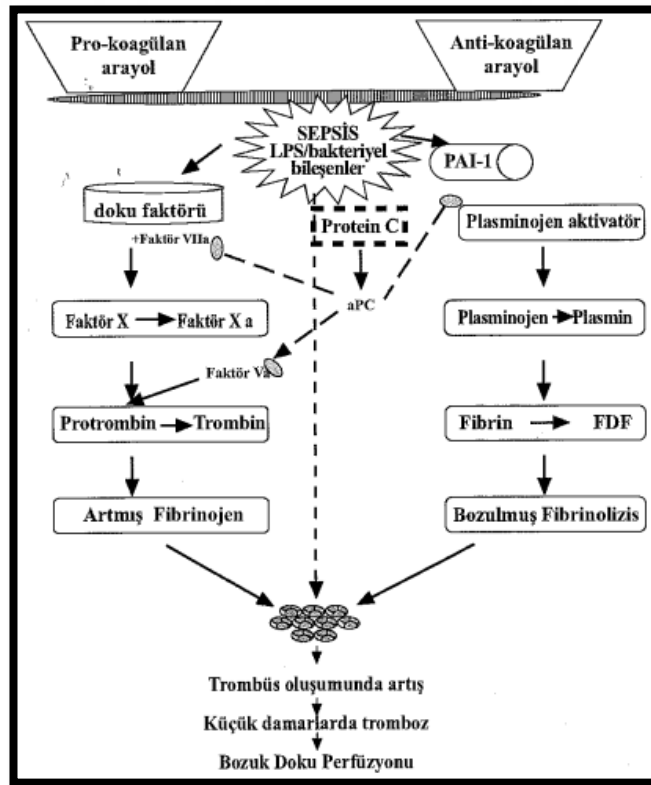
AT-III, alfa-2 glikoprotein yapılı bir moleküldür ve karaciğer tarafından sentezlenmektedir. Serin proteazların inaktif hale getirilmesinden sorumludur ve böylece hemostaz mekanizmasını dengede tutma görevi görmektedir. Bunun yanı sıra FVII, trombosit faktör 2 (PF2) ve doku faktörünü de inaktif hale getirme görevine sahiptir. Eğer ki AT-III düzeylerinde bir azalma (tüketim) söz konusu olursa, bu durumda tromboz oluşum mekanizması kontrol edilemez ve hemostaz dengesi sağlanamayarak; özellikle DIC, mikrovasküler alanda tromboz birikimi ve beraberinde doku hipoksisi ile birlikte organlarda disfonksiyon gibi durumlar meydana gelebilmektedir (Bone, 1992; Fışgın, 2004; Schwartz ve diğerleri, 1989). Benzer şekilde plazminojen-aktivatör inhibitör tip 1 (PAI-1)'in kandaki artışı nedeniyle fibrinolizis mekanizması da bozularak fibrinin yıkımlanamamasına, damarlarda fibrin tıkaçlarının oluşumuna ve beraberinde doku perfüzyonunun bozulmasıyla organlarda disfonksiyon şekillenmesine neden olmaktadır (Karaali ve Tabak, 2015).

Diğer antikoagülan maddelerden biri olan PC ise normalde inaktif halde bulunurken antikoagülan özellik gösterebilmesi için aktif hale getirilmelidir. Bu dönüşüm için rol alan tek serin proteaz trombindir. PC, hücrenin yüzeyinde bulunan trombomodülin adlı trombin bağlayıcı protein ile birlikte aktif hale getirilmektedir. Aktif PC, FV-Va ve FVIII-VIIIa'nın ağır zincirlerini parçalamak suretiyle bu faktörleri inaktif hale getirerek doğal antikoagülan etki göstermektedir. Sonuç olarak, protrombinaz kompleksinin (FXa-Va) oluşumunu engellemek suretiyle trombin oluşumu inhibe edilmektedir (Levi ve diğerleri, 1993).

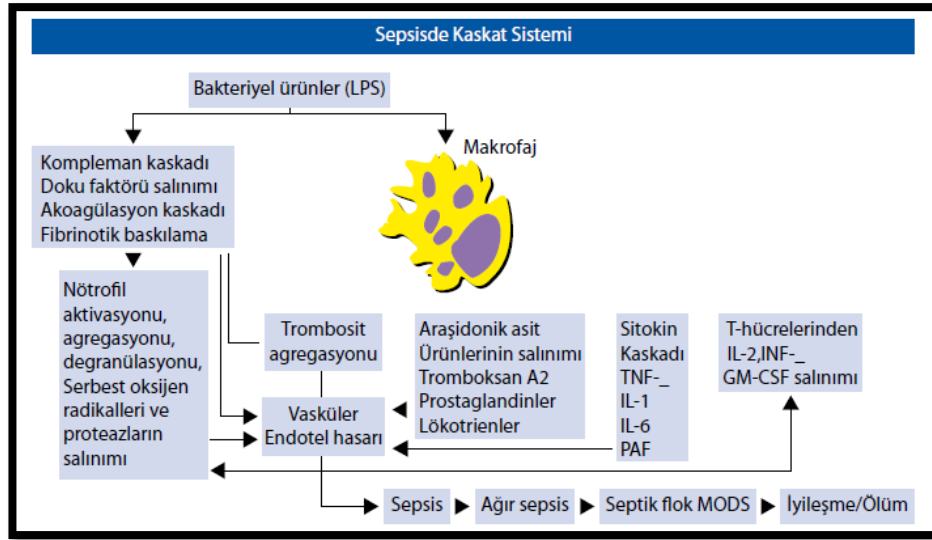


Şekil 2. Aktif protein C (Aktif PC)'nin hemostaz üzerine etkileri (Karaali ve Tabak, 2015).

PS, primer olarak karaciğerden fakat daha az miktarlarda trombositler ve endotel hücrelerden de sentezlenebilen protein yapılarıdır. Trombositler aktif hale geldikleri takdirde dolaşıma salınmaktadır. Vücuttaki temel etkilerinin aktif PC'nin oluşum hızını artırmak olduğu düşünülmektedir (D'Angelo ve diğerleri, 1988; Sheth ve Carvalho, 1991; Stricklan ve Kessler, 1987).



Şekil 3. Sepsiste koagülasyon sistemi (Camcıoğlu ve Aytaç, 2007).



Şekil 4. Sepsiste organ disfonksiyonu (Karaali ve Tabak, 2015).

2.5. Trombositlerin Sepsisteki Koagülasyon Dışı Roller

Trombositler sepsiste birden fazla rol oynamaktadır. Koagülasyon mekanizmasındaki rollerinin yanı sıra çevredeki hücreleri modüle etmek gibi farklı görevler üstlenmektedirler. Bu bağlamda trombositlerin sepsis durumundaki en önemli işlevlerinden bir tanesi de mikroorganizmalara karşı gelişen bağışıklık yanıtına katkı sağlamaktır (Vardon-Boune ve diğerleri, 2019).

2.5.1. Akut Faz Yanıt

PAF ile birlikte kana salınan trombositler, akut faz yanıtı indükleyerek vücudun enfeksiyona karşı koymasına katkı sağlamaktadırlar. Bu akut faz yanıt, tamamlayıcı proteinler, fibrinojen ve C-reaktif protein (CRP) gibi yapıların oluşumuyla meydana gelmektedir. Bu proteinler, mikroorganizmaların gelişimini engellemekte ve patojenleri lokal kan pıhtıları içerisine hapsederek enfeksiyonu sınırlayabilen prokoagülan etkiler meydana getirmektedirler. Trombositler, akut faz yanıtın aktivasyonu sırasında interlökin-1 β (IL-1 β) salınımını uyarmaktadırlar. IL-1 β 'nın, enfeksiyona karşı gelişen bu akut faz tepkisini indüklemekte önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Agger ve diğerleri, 2013; Morrel ve diğerleri, 2014).

2.5.2. Nötrofil ve Monosit Aktivasyonu

Trombositlerin, doğal bağışıklık yanıt üzerine de katkılarının olduğu bilinmektedir. Nötrofiller ve monositler gibi hücresel immünite elemanları ile etkileşime girerek, enfeksiyona karşı yanıtlarını yönlendirmektedirler. Trombosit-lökosit (nötrofiller ve monositler) etkileşiminin meydana gelmesi için P-selektin reseptörü aracılığıyla, P-selektin glikoprotein ligandı-1 (PSGL-1) ile bağlantı kurulmaktadır (Zimmerman, 2001). P-selektin yoluyla trombosit-lökosit etkileşiminin ARDS durumunda, akciğerlere lökositlerin aktivasyonu ve alımında çok önemli bir aşama olduğu tespit edilmiştir (Zarbock ve diğerleri, 2007).

Trombositler ve nötrofiller arasındaki etkileşimler, hücre takibi ve moleküler sinyallerin iletilmesi için kritik öneme sahiptirler ve NETs oluşumu buna en önemli örnek olarak gösterilebilmektedir. TLR4'ün, kandaki TLR4 ligandlarını tespit ettiği ve adherent nötrofiller ile trombositlerin birbirlerine bağlanmasını indüklediği bilinmektedir. Bu etkileşimler, güçlü bir nötrofil aktivasyonuna ve NETs'lerin oluşumuna yol açmaktadır. NETs'ler, esas olarak pulmoner kılcal damarlarda ve karaciğer sinüzoidlerinde olmak üzere vasküler alandaki bakterileri tuzağa düşürmektedir. Yani NETs'ler, dokulardaki patojenleri yakalayıp, yıkımlayabilen bir proteolitik aktivite sergilemektedir. Bu olayın yalnızca şiddetli sepsis gibi aşırı koşullar altında gerçekleştiği düşünülmektedir (Clark ve diğerleri, 2007).

2.5.3. T Hücre Etkileşimi

Trombositlerin, T hücre işlevleri dahil olmak üzere edinilmiş immün yanıtlar üzerine de etkileri bulunmaktadır. T hücresi CD40 ligandı (CD40L) ve trombosit etkileşimi sonucunda meydana gelen trombosit CD40L, endotel hücrelere bağlanarak T-hücre alımına aracılık eden RANTES (aktivasyon üzerine düzenlenen, normal T hücresi eksprese edilen ve salgılanan) oluşumunu indüklemektedir (Danese ve diğerleri, 2004). Trombosit CD40L, lenfositler, granülositler, fibroblastlar, dendritik hücreler, makrofajlar ve monositler gibi birçok hücre ile etkileşime girerek bu hücrelerin kemotaksisini uyaramaktadır (Inwald ve diğerleri, 2003; Prasad ve diğerleri, 2003).

2.6. Sepsiste Trombositopeni Varlığı

Trombositopeni, kandaki trombosit sayısının $150 \times 10^9/L$ 'nin altına düşmesi olarak tanımlanmaktayken; kandaki trombosit sayısının $50 \times 10^9/L$ 'nin altına düşmesi ise şiddetli trombositopeni olarak değerlendirilmektedir (Greinacheng ve Seller, 2010; Hui ve diğerleri, 2011; Levi ve Schultz, 2011).

Genel olarak, sepsik hastaların %20-58'inde trombositopeni geliştiği ve bunların %10'unda ise şiddetli trombositopeni geliştiği bildirilmektedir (Baughman ve diğerleri, 1993; Sharma ve diğerleri, 2007; Venkata ve diğerleri, 2013). Meydana gelen şiddetli trombositopeninin düzensiz konakçı yanıtı (kontROLSÜZ yangısal durum) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Vardon-Bounes ve diğerleri, 2019). Aslında sepsis durumunda trombositlerin kinetiği genellikle bifazik (iki fazlı) olarak seyretmektedir. Sepsisli hastalarda ilk 1-4. günde bir trombositopeni ve 4. günden sonra ise trombositoz varlığı görülmesi beklenirken (Venkata ve diğerleri, 2013); bifazik yanıtın şekillenememesi ile kalıcı bir trombositopeni meydana gelmekte ve kötü prognoza yol açtığı bilinmektedir (Akça ve diğerleri, 2002; Venkata ve diğerleri, 2013)

Sepsisli hastalarda meydana gelen trombositopeninin, hastaların mortalite durumunu ön görmede rol oynadığı ve değerlendirilmesi gereken bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir (Vardon-Bounes ve diğerleri, 2019). Yapılan prospektif bir kohort çalışması sonucunda, yoğun bakımda yatan 1.449 kritik hastanın %30'unda trombositopeni ($<150.000/mm^3$) görülürken, yatış sürelerinin 4. gününde ise hastalardaki trombosit sayısının en düşük düzeyde olduğu gösterilmiştir ve mortalite şekillenen hastalardaki trombosit sayılarının, hayatta kalanlara göre önemli ölçüde daha düşük olduğu gösterilmiştir (Akça ve diğerleri, 2002).

2.6.1. Sepsiste Trombositopeniye Eşlik Eden Mekanizmalar

Sepsisli hastalarda meydana gelen trombositopeniye çeşitli mekanizmaların eşlik ettiği bilinmektedir. Bunlar; trombositlerin artan tüketimi, hemodilüsyon, immün aracılı trombositopeni (lökositlere ve endotel hücrelerine trombosit agregasyonu/adhezyonu), trombosit üretiminin azalması (viral enfeksiyon ve ilaç kullanımına bağlı kemik iliği baskılanması sonucunda) ve trombositlerin mikrovasküler alanda artan sekestrasyonudur.

Trombin aracılığında gerçekleşen trombosit aktivasyonu yoluyla trombosit tüketimi, bu mekanizmalar içerisinde yaygın olarak görülmektedir. Bakteriyel endotoksinler tarafından meydana gelen endotel hasarına paralel olarak hasarlı bölgelere doğru trombosit agregasyonu ve adhezyonu görülmektedir (Vardon-Bounes ve diğerleri, 2019).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Bu araştırma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18.08.2022 tarih ve 64583101/2022/81 sayılı iznine dayanarak gerçekleştirildi.

Araştırmanın hayvan materyalini 1-4 haftalık yaşlar arasında altı adet sağlıklı erkek Holstein ırkı buzağı oluşturdu. Buzağılar Aydın ili çevresindeki hastalıktan ari işletme belgesine sahip olan bir çiftlikten temin edildi. Temin öncesi buzağıkların klinik muayeneleri ile birlikte laboratuvar analizleri (hematolojik ve biyokimyasal analizler, hızlı test kitleri ile dışkı analizi) gerçekleştirildi ve sağlıklı olduğu belirlenen buzağıklar seçildi.

Buzağıklar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi içerisinde, hastane işleyişinden izole, ayrı bir odada barındırıldı. Buzağıklar bireysel kulübelerde ayrı ayrı barındırılarak, altlıkları gün aşırı değiştirildi ve düzenli olarak dezenfeksiyon işlemleri uygulandı. Çalışma öncesi, süresince ve sonrasında buzağıklar sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez süt ikamesi (60 ml/kg) ile beslendi. Su ve kuru ot ad libitum olarak verildi.

Araştırma öncesi buzağıklar adaptasyon için beş gün boyunca gözlem altında tutularak, günlük klinik ve hematolojik muayeneleri tekrarlandı. Muayene sonucu sağlıklı olduğuna karar verilen buzağıklar vücut ağırlıkları tartılarak araştırmaya dâhil edildi.



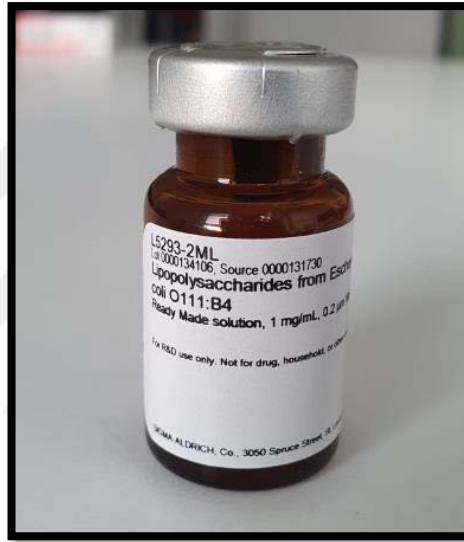
Resim 1. Araştırmada kullanılan buzağılar.



Resim 2. Buzağı beslemesi.

3.2. Endotokseminin Oluşturulması

Deneysel endotoksemi; buzağılara ticari saflaştırılmış toz formunda standart referans LPS (*E.coli* 0111:B4; Sigma) 1 µg/kg dozda, intravenöz, 100 ml %0,9'luk NaCl solüsyonu içinde çözdürüldü ve yavaş intravenöz yolla 5 dakikalık sürede, tek sefer uygulanarak oluşturuldu. Uygulanan endotoksine ilgili suş (Plessers ve diğerleri, 2015), doz (Carroll ve diğerleri, 2009), uygulama yolu ve süresi (Yılmaz ve diğerleri, 2013) buzağılarda gerçekleştirilen önceki çalışmalar dikkate alınarak belirlendi.



Resim 3. Endotoksemi oluşturmak için kullanılan LPS çözeltilisi.

3.3. Klinik Muayene

Buzağıların klinik muayeneleri araştırma öncesi, sırası ve sonrasındaki süreçte günlük olarak yapıldı. Veriler, araştırma sırasında ve her örnekleme yapıldığı anda kaydedildi. Klinik muayene kapsamında deri elastikiyeti, göz küresinin orbita ukurluğundaki konumu, vücut tutuluşu, emme refleksi, mental refleks, ayağa kalkabilme durumu, mukoz membranlar, dışkı karakteri, kapillar dolum zamanı, vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansı değerlendirildi. Solunum frekansı, kalp frekansı, noninvaziv sistemik kan basıncı ve oksijen satürasyonu Mindray uMEC12 Vet (Shenzhen, in) hasta başı monitörizasyon cihazı ile izlendi.



NEONATAL BUZAĞILARDA İNTRAVENÖZ VE ORAL SİTRULİN UYGULAMALARININ
FARMAKOKİNETİĞİ VE DENEYSEL ENDOTOKSEMİDE ETKİNLİĞİ

Klinik Muayene Formu

Tarih:
Grup:
Buzağı:
Örnek alınan saat:

T:	P:	R:	KDZ:
----	----	----	------

Klinik Skoring

Klinik skor	Solunum	Mukoz membranlar	İştah-emme refleksi	Mental refleks	Ayağa kalkabilme durumu	Dışkı karakteri
5	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
4	Hızlı	Hiperemik	Hafif iştahlı	Hafif refleks kaybı	Ayakta, hafif sallantılı	Saatte 2-3 defa dışkılama
3	Abdominal	Kirli hiperemik	İştah yok	Belirgin refleks kaybı	Ayakta güç durabilme	Hafif yumuşak
2	Şiddetli abdominal	Siyanotik	Zayıf emme refleksi	Hafif bilinç kaybı	Ayağa kalkamıyor	Hafif ishal
1	Dispne	Şiddetli siyanoz, kuru	Emme refleksi yok	Bilinç kaybı	Baş önde veya yanda	İshal, pis kokulu dışkı
0	Asfeksi, ölüm	Şok, ölüm	İlgisiz	Şok, ölüm	Şok-ölüm	Şiddetli ishal

Koagülasyon Profili

Protrombin Zamanı (PT):	Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (APTT):	Fibrinojen

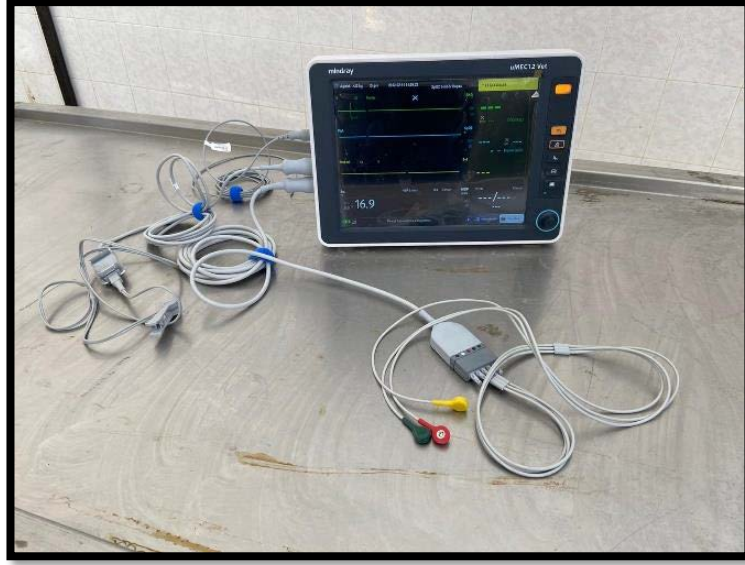
Kan Basıncı

Sistolik	Diastolik	Amonyak değeri

NOTLAR:

--

Resim 4. Klinik muayene formu.



Resim 5. Mindray uMEC12 Vet hasta başı monitörizasyon cihazı.

3.4. Örneklerin Alınması ve Saklanması

Antikoagülanlı (sitrata ve EDTA) tüplere toplamda 3 ml kan örneği alındı ve sitratlı tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm’de 10 dakika süreyle Hettich, Universal 16A (Kirchlengern, Almanya) santrifüj cihazıyla santrifüj edilerek, plazma kısımları ayrıldı. Plazma örnekleri “fibrinojen” analizlerinin gerçekleştirilmesi adına, analiz sürecine kadar (en fazla 6 ay süreyle) -40°C’de saklandı.

Buzağılarda örnekleme, LPS uygulaması öncesi (0. saat) ve uygulama sonrası 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 ve 48. saatlerde olmak üzere dokuz farklı zamanda gerçekleştirildi.

3.5. Tam Kan Sayımı Analizleri

Buzağılardan alınan EDTA’lı tüplerdeki 1 ml kan örnekleri, alındıktan sonra en fazla 15 dakikalık bir süreç içerisinde kullanılarak; total lökosit (WBC) sayısı, lenfosit (LYM) sayısı, eritrosit dağılım genişliği (RDWc), trombosit (PLT) sayısı, trombosit krit (PCT), trombosit hacmi (MPV) ve trombosit dağılım genişliği (PDWc) parametreleri Abacus VET5 (Budapeşte, Macaristan) kan sayım cihazında analiz edildi.



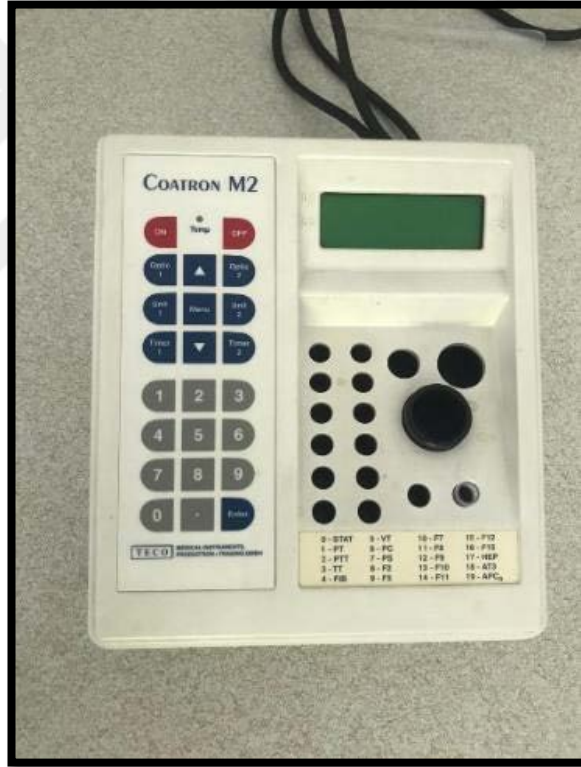
Resim 6. Abacus VET5 kan sayım cihazı.



Resim 7. Tam kan sayımı analizinin gerçekleştirilmesi.

3.6. Koagülasyon Profili Analizleri

Buzağılardan alınan sitratlı tüplerdeki 2 ml kan örnekleri, alındıktan hemen sonra 3000 rpm’de 10 dakika süreyle santrifüj edildi ve plazma kısımları ayrıldı. Ayrılan plazma örnekleri en fazla 15 dakikalık bir süreç içerisinde kullanılarak; aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve protrombin zamanı (PT) parametreleri Teco, Coatron M2 (Münih, Almanya) koagülometre cihazında analiz edildi. Geriye kalan plazma örnekleri ise fibrinojen (FIB) analizinin gerçekleştirilmesi adına analiz zamanına kadar (en fazla 6 ay süreyle) -40°C’de saklandı. Analiz zamanı aynı örnekler kullanılarak; FIB parametresi Teco, Coatron M2 (Münih, Almanya) koagülometre cihazında analiz edildi.



Resim 8. Teco, Coatron M2 koagülometre cihazı.



Resim 9. Koagülasyon profili analizinin gerçekleştirilmesi.

3.7. İstatistiksel Analizler

Araştırmanın başlangıcındaki kontrol (0. saat) verileri ile LPS infüzyonunu takiben sekiz farklı zaman diliminde elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS 22.0 (New York, Amerika Birleşik Devletleri) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen verilerin normal dağılım göstermediği belirlenerek, non-parametrik test yöntemlerinden olan Friedman's Two-Way Anova testinden yararlanıldı. Yapılan tüm analizlerde $p < 0.05$ olan farklılıkların anlamlı olduğu kabul edildi. Veriler, tablolar halinde; ortalama değer $\pm$ standart hata ve minimum-maksimum değerleri gösterecek şekilde sunuldu. Ayrıca anlamlı verilere ait grafikler, Microsoft Office 16 Excel (Washington, Amerika Birleşik Devletleri) programında oluşturularak sunuldu.

4. BULGULAR

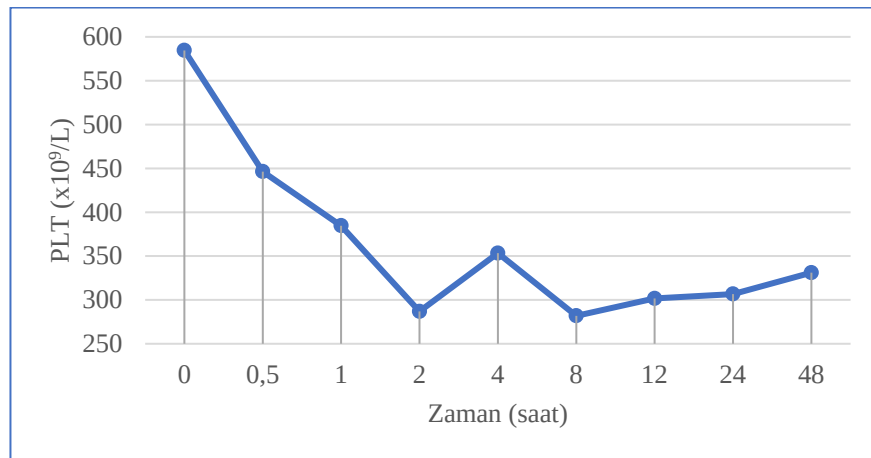
Buzağılardan alınan kan örnekleri ile gerçekleştirilen analizler kapsamında elde edilen ortalama değerler; trombosit indeksleri, hematolojik parametreler, koagülasyon profili ve trombosit sayısı ile ilgili oranlar adlı alt başlıklar kapsamında sunuldu.

4.1. Trombosit İndeksleri

Trombosit indeksleri kapsamında elde edilen ortalama PLT ve PCT değerleri sırasıyla Şekil 5 ve Şekil 6'da sunulurken; ayrıca ortalama PLT, PCT, MPV ve PDWc değerlerinin saatlere göre değişimi Tablo 3'te sunuldu.

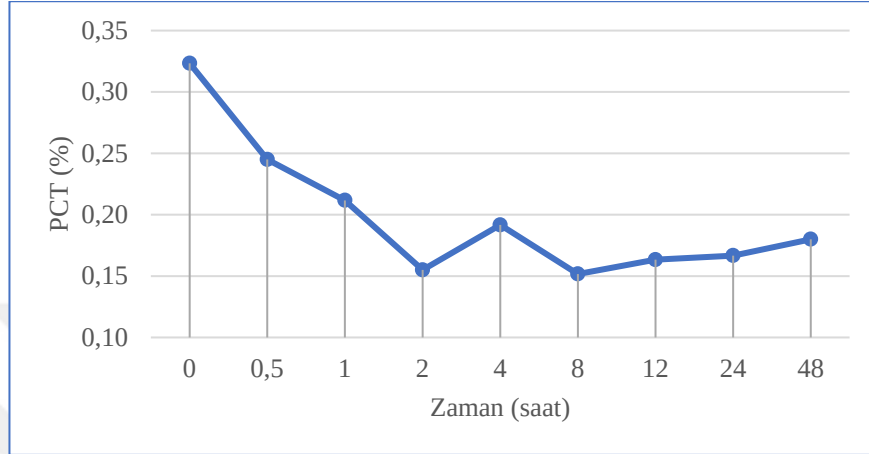
Buzağının ortalama PLT ve PCT değerlerinin (Tablo 3), başlangıca (0. saat) göre 2. saat ile 48. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı olarak azaldığı görüldü.

LPS infüzyonunu takiben ortalama PLT'de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan azalış 2. saate kadar devam etmiş, 2. ve 8. saatler arasında bir dalgalanma meydana gelmesiyle beraber, 48. saatin sonunda başlangıca göre düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Şekil 5).



Şekil 5. LPS infüzyonunu takiben PLT sayısının saatlere göre değişimi.

LPS infüzyonunu takiben ortalama PCT'de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan azalış 2. saate kadar devam etmiş, 2. ve 8. saatler arasında bir dalgalanma meydana gelmesiyle beraber, 48. saatin sonunda başlangıç değerine göre düşük bulundu ($p<0.001$) (Şekil 6).



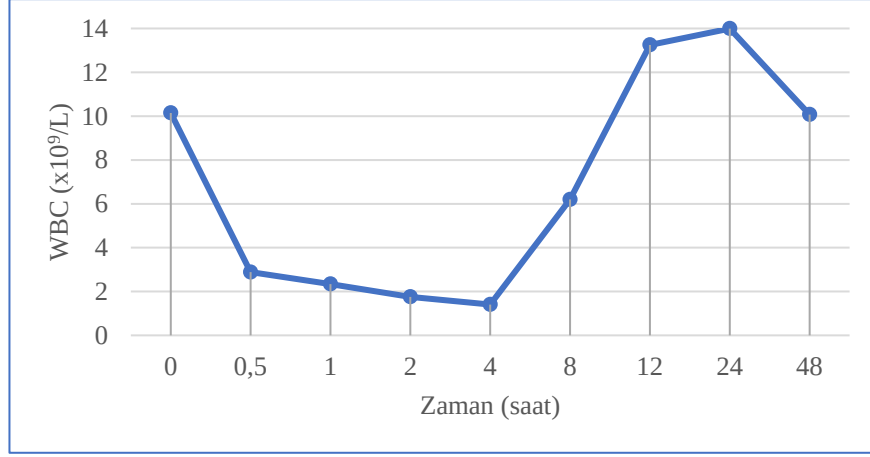
Şekil 6. LPS infüzyonunu takiben PCT değerinin saatlere göre değişimi.

4.2. Hematolojik Parametreler

Hematolojik parametreler kapsamında elde edilen ortalama WBC ve LYM sayıları sırasıyla Şekil 7 ve Şekil 8'de sunulurken; ayrıca Tablo 3'te de aynı sayıların saatlere göre değişimleri sunuldu.

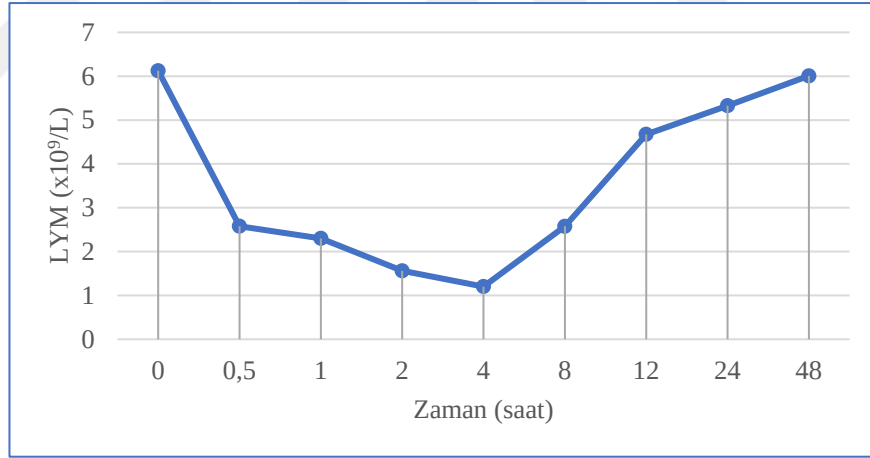
Buzağıkların ortalama WBC ve LYM sayılarının (Tablo 3), başlangıca (0. saat) göre sırasıyla 30. dakika, 1., 2. ve 4. saatlerde; yine 30. dakika, 1., 2., 4. ve 8. saatlerde anlamlı olarak azaldığı görüldü.

LPS infüzyonunu takiben ortalama WBC sayısında başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan azalma 4. saate kadar devam etmiş ve sonrasında artışa geçerek, 12. ve 24. saatlerde lökositoz; 48. saatte ise başlangıç değerine yakın bir değerde olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Şekil 7).



Şekil 7. LPS infüzyonunu takiben WBC sayısının saatlere göre değişimi.

LPS infüzyonunu takiben ortalama LYM sayısında başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan azalma 4. saate kadar devam etmiş ve sonrasında artışa geçerek, 48. saatte başlangıç değerine yakın bir değerde olduğu görüldü ($p < 0.001$) (Şekil 8).



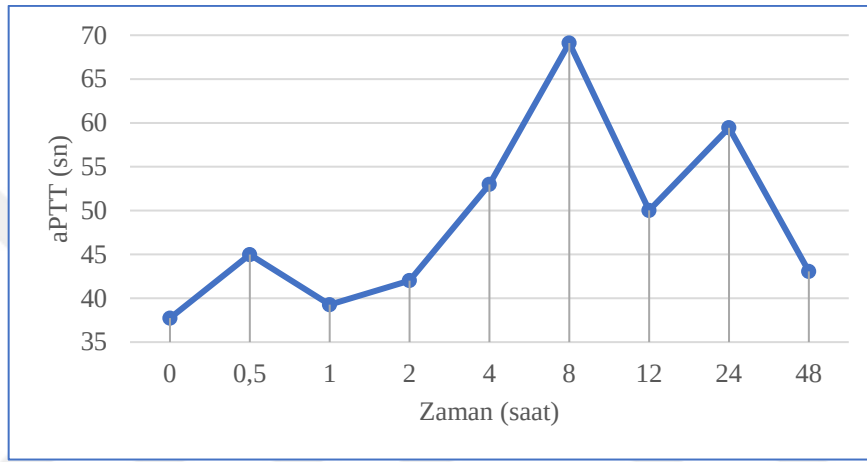
Şekil 8. LPS infüzyonunu takiben LYM sayısının saatlere göre değişimi.

4.3. Koagülasyon Profili

Koagülasyon profili kapsamında elde edilen ortalama aPTT, PT ve FIB değerleri sırasıyla Şekil 9, Şekil 10 ve Şekil 11’de sunulurken; ayrıca Tablo 4’te de aynı değerlerin saatlere göre değişimleri sunuldu.

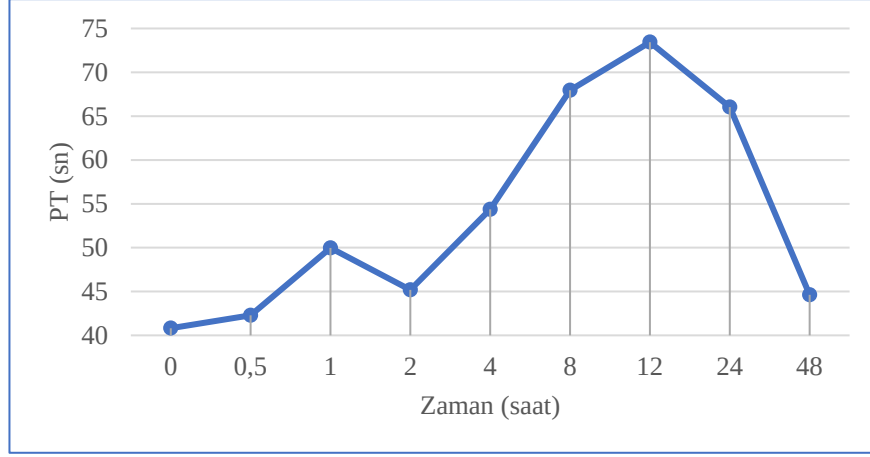
Buzağıkların başlangıca (0. saat) göre ortalama aPTT değerinin 8. ve 24. saatlerde; ortalama PT değerinin 8., 12. ve 24. saatlerde; ortalama FIB değerinin ise yalnızca 4. saatte anlamlı olarak arttığı görüldü (Tablo 4).

LPS infüzyonunu takiben ortalama aPTT'de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış dalgalanma ile birlikte devam ederek, 8. saatte en yüksek değere ulaşmış ve sonrasında azalışa geçerek yine bir dalgalanma görülmesiyle beraber, 48. saatte ise başlangıç değerine göre hafif düzeyde yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.01$) (Şekil 9).



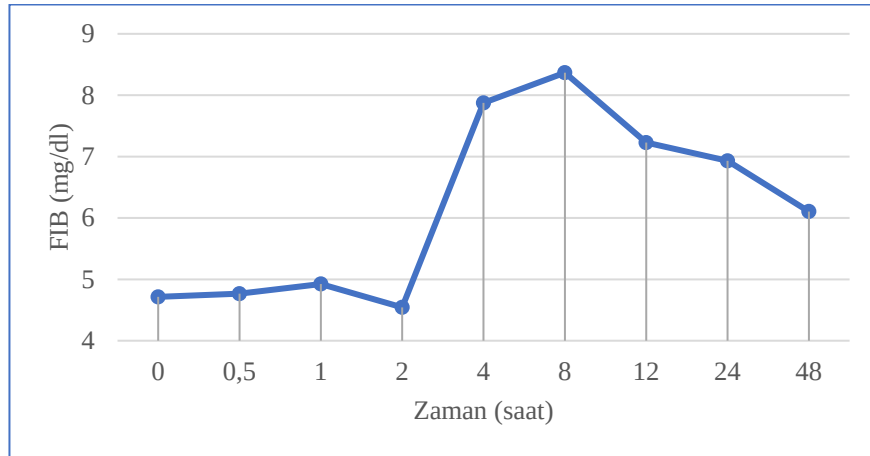
Şekil 9. LPS infüzyonunu takiben aPTT değerinin saatlere göre değişimi.

LPS infüzyonunu takiben ortalama PT'de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış dalgalanma görülerek devam etmekle birlikte, 12. saatte en yüksek değere ulaşmış ve sonrasında azalışa geçmekle beraber, 48. saatte ise başlangıç değerine göre hafif düzeyde yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.01$) (Şekil 10).



Şekil 10. LPS infüzyonunu takiben PT değerinin saatlere göre değişimi.

LPS infüzyonunu takiben ortalama FIB’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan hafif düzeyli artış dalgalanma görülerek devam etmiş ve 2. saat ile 8. saat aralığında daha yüksek düzeyli bir artış görülmekle beraber; 8. saatte en yüksek değere ulaşmış ve sonrasında azalış ile devam ederek, 48. saatte ise başlangıç değerine göre yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$) (Şekil 11).



Şekil 11. LPS infüzyonunu takiben FIB değerinin saatlere göre değişimi.

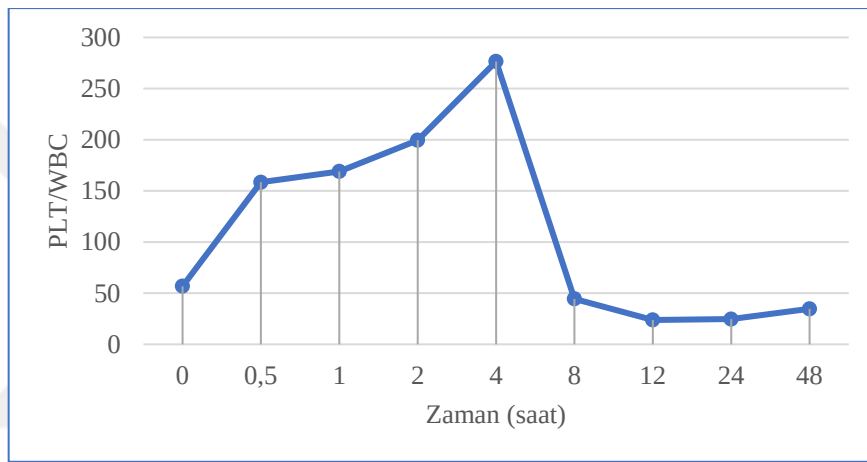
4.4. Trombosit Sayısı İle İlgili Oranlar

Trombosit sayısı ile ilgili oranlar kapsamında elde edilen ortalama PLT/WBC, PLT/LYM, RDWc/PLT, MPV/PLT, aPTT/PLT, PT/PLT ve FIB/PLT değerleri sırasıyla Şekil

12, Şekil 13, Şekil 14, Şekil 15, Şekil 16, Şekil 17 ve Şekil 18’de sunulurken; ayrıca aynı değerlerin saatlere göre değişimleri de Tablo 5’te sunuldu.

Buzağıkların ortalama PLT/WBC değerinin başlangıca (0. saat) göre 4. saatte anlamlı olarak arttığı görülürken; 12. ve 24. saatlerde ise anlamlı olarak azaldığı görüldü (Tablo 5).

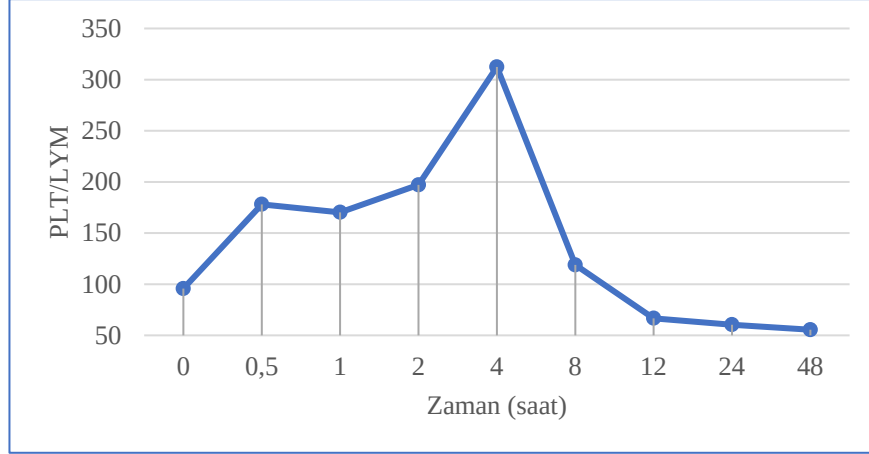
LPS infüzyonunu takiben ortalama PLT/WBC’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış 4. saate kadar devam ederek en yüksek değere ulaşmış ve sonrasında ise azalışa geçtiği görülerek, 48. saatte başlangıç değerine göre hafif düzeyde düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Şekil 12).



Şekil 12. LPS infüzyonunu takiben PLT/WBC değerinin saatlere göre değişimi.

Buzağıkların ortalama PLT/LYM değerinin başlangıca (0. saat) göre yalnızca 4. saatte anlamlı olarak arttığı görüldü. (Tablo 5).

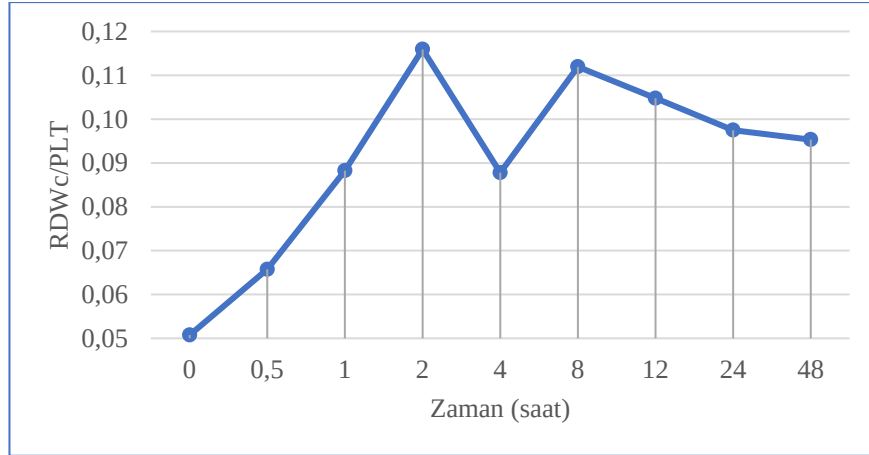
LPS infüzyonunu takiben ortalama PLT/LYM’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış dalgalanma ile birlikte 4. saate kadar devam ederek en yüksek değere ulaşmış ve sonrasında ise azalışa geçtiği görülerek, 48. saatte başlangıç değerine göre düşük olduğu saptandı ($p<0.001$) (Şekil 13).



Şekil 13. LPS infüzyonunu takiben PLT/LYM değerinin saatlere göre değişimi.

Buzağuların ortalama RDWc/PLT değerinin başlangıca (0. saat) göre 2. saat ile 48. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı olarak arttığı tespit edildi (Tablo 5).

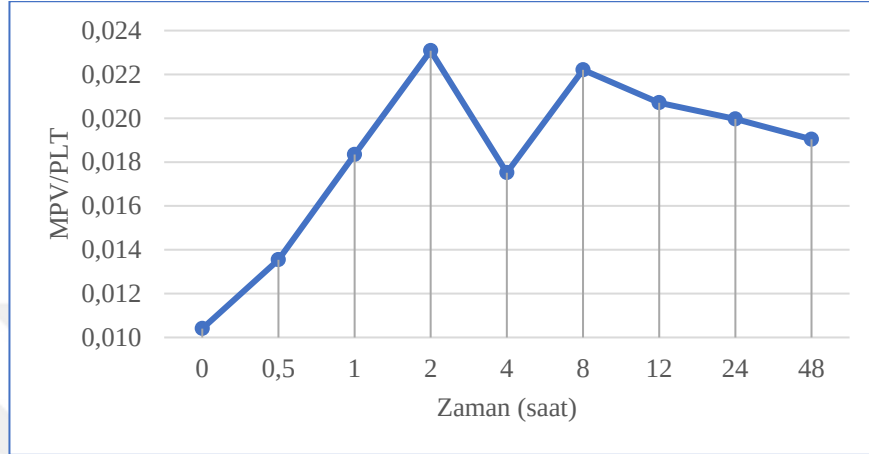
LPS infüzyonunu takiben ortalama RDWc/PLT’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış 2. saatte en yüksek değere ulaşmış, 2. ve 8. saatler arasında bir dalgalanma görüldükten sonra azalışa geçmekle beraber, 48. saatte ise başlangıç değerine göre yüksek bulundu ($p<0.001$) (Şekil 14).



Şekil 14. LPS infüzyonunu takiben RDWc/PLT değerinin saatlere göre değişimi.

Buzağuların ortalama MPV/PLT değerinin başlangıca (0. saat) göre 2. saat ile 48. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı olarak arttığı görüldü (Tablo 5).

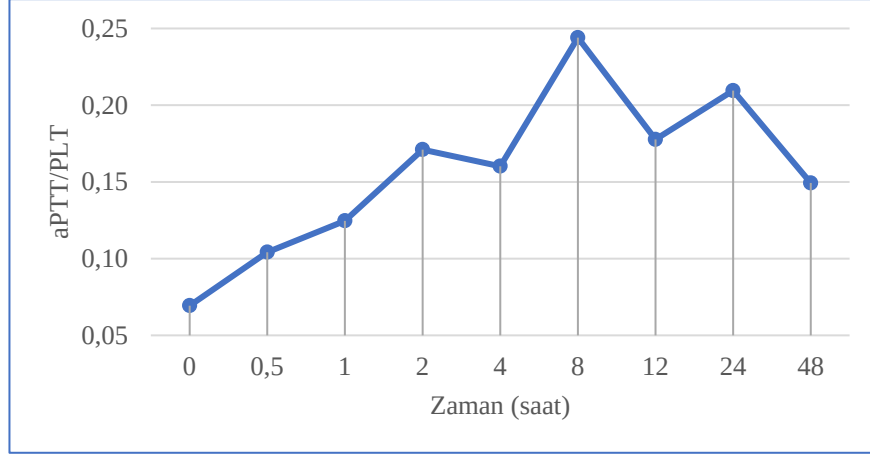
LPS infüzyonunu takiben ortalama MPV/PLT’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış, 2. saatte en yüksek değere ulaşmış ve sonrasında bir dalgalanma meydana gelmesiyle birlikte, 8. saatten sonra azalışa geçerek, 48. saatte ise başlangıç değerine göre yüksek olduğu saptandı. ($p<0.001$) (Şekil 15).



Şekil 15. LPS infüzyonunu takiben MPV/PLT değerinin saatlere göre değişimi.

Buzağıkların ortalama aPTT/PLT değerinin başlangıca (0. saat) göre 2. saat ile 48. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı olarak arttığı görüldü (Tablo 5).

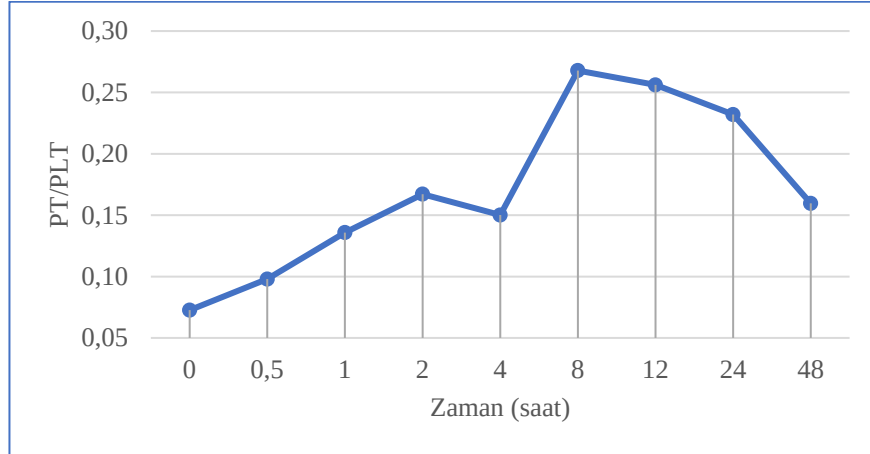
LPS infüzyonunu takiben ortalama aPTT/PLT’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış dalgalanma ile birlikte devam ederek 8. saatte en yüksek değere ulaşmış, 8. ve 24. saatler arasında bir dalgalanma görülmesiyle birlikte azalışa geçmiş ve 48. saatte ise başlangıç değerine göre yüksek olduğu ortaya konuldu ($p<0.001$) (Şekil 16).



Şekil 16. LPS infüzyonunu takiben aPTT/PLT değerinin saatlere göre değişimi.

Buzağıkların ortalama PT/PLT değerinin başlangıca (0. saat) göre 2. saat ile 24. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı olarak arttığı görüldü (Tablo 5).

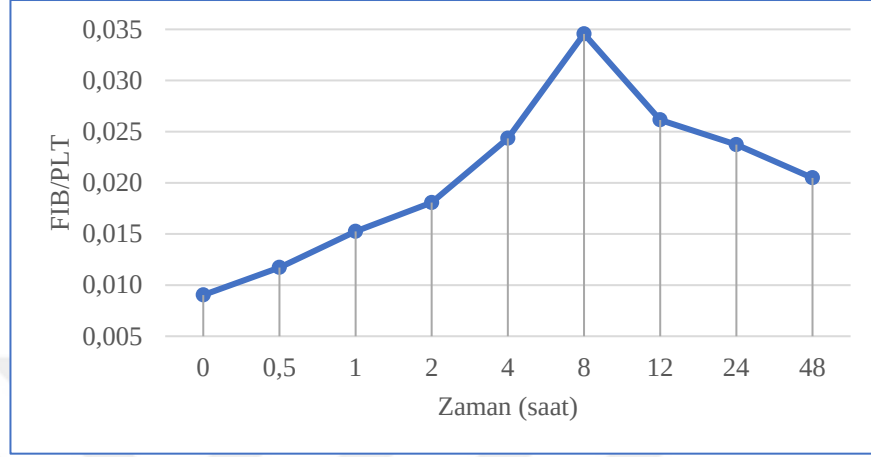
LPS infüzyonunu takiben ortalama PT/PLT’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış dalgalanma ile birlikte devam ederek, 8. saatte en yüksek değere ulaşmış ve daha sonra meydana gelen azalış ile devam etmekle birlikte, 48. saatte ise başlangıç değerine göre yüksek olduğu ortaya konuldu ($p<0.001$) (Şekil 17).



Şekil 17. LPS infüzyonunu takiben PT/PLT değerinin saatlere göre değişimi.

Buzağıkların ortalama FIB/PLT değerinin başlangıca (0. saat) göre 4. saat ile 24. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı olarak arttığı görüldü (Tablo 5).

LPS infüzyonunu takiben ortalama FIB/PLT’de başlangıç değerine göre 30. dakikadan itibaren başlayan artış, 8. saatte en yüksek değere ulaşmış ve daha sonra giderek azalmakla birlikte, 48. saatte ise başlangıç değerine göre yüksek olduğu saptandı ($p<0.01$) (Şekil 18).



Şekil 18. LPS infüzyonunu takiben FIB/PLT değerinin saatlere göre değişimi.

Tablo 3. Hematolojik parametreler ve trombosit indekslerinde zamana bağlı değişimler.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
WBC ($\times 10^9/L$)	10,14 $\pm$ 0,89 (7,45-12,72)	2,88$\pm$0,38* (1,93-4,49)	2,34$\pm$0,21* (1,69-2,89)	1,75$\pm$0,29** (0,67-2,56)	1,4$\pm$0,38** (0,69-3,29)	6,19 $\pm$ 0,67 (4,92-9,13)	13,25 $\pm$ 1,47 (10,01-19,15)	13,99 $\pm$ 1,91 (8,1-19,07)	10,07 $\pm$ 1,14 (6-13,12)
LYM ($\times 10^9/L$)	6,12 $\pm$ 0,41 (4,53-7,24)	2,57$\pm$0,32* (1,86-3,98)	2,3$\pm$0,19** (1,63-2,69)	1,56$\pm$0,14*** (0,91-1,87)	1,2$\pm$0,18*** (0,57-1,84)	2,57$\pm$0,41* (1,27-3,88)	4,67 $\pm$ 0,51 (2,84-6,11)	5,32 $\pm$ 0,55 (2,8-6,88)	6 $\pm$ 0,58 (4,34-8,59)
RDWc (%)	27,23 $\pm$ 0,82 (25,3-30,7)	27,21 $\pm$ 0,9 (25-31,2)	27,16 $\pm$ 0,81 (25,6-31)	27,08 $\pm$ 0,76 (25,6-30,7)	27,06 $\pm$ 0,85 (24,7-30,7)	26,98 $\pm$ 0,87 (25,3-31)	27,03 $\pm$ 0,81 (25,3-30,7)	26,93 $\pm$ 0,68 (25,3-29,9)	26,9 $\pm$ 0,87 (25,1-31)
PLT ($\times 10^9/L$)	584,5 $\pm$ 73,07 (339-798)	446,3 $\pm$ 55,78 (277-658)	384,66 $\pm$ 73,1 (144-672)	286,83$\pm$62,64*** (122-579)	353,33$\pm$69,21* (233-682)	281,83$\pm$58,67*** (183-558)	301,66$\pm$55,56*** (173-544)	306,66$\pm$52,3** (208-555)	331$\pm$64,2** (200-620)
PCT (%)	0,32 $\pm$ 0,03 (0,19-0,43)	0,24 $\pm$ 0,02 (0,15-0,35)	0,21 $\pm$ 0,03 (0,08-0,36)	0,15$\pm$0,03*** (0,06-0,31)	0,19$\pm$0,03* (0,12-0,38)	0,15$\pm$0,03*** (0,09-0,3)	0,16$\pm$0,03*** (0,09-0,3)	0,16$\pm$0,02** (0,11-0,29)	0,18$\pm$0,03** (0,1-0,33)
MPV (fl)	5,51 $\pm$ 0,05 (5,3-5,7)	5,55 $\pm$ 0,05 (5,3-5,7)	5,58 $\pm$ 0,04 (5,4-5,7)	5,41 $\pm$ 0,12 (4,9-5,7)	5,43 $\pm$ 0,09 (5-5,7)	5,38 $\pm$ 0,1 (5-5,7)	5,41 $\pm$ 0,05 (5,2-5,6)	5,48 $\pm$ 0,08 (5,3-5,8)	5,46 $\pm$ 0,09 (5,2-5,8)
PDWc (%)	29,41 $\pm$ 0,67 (28,4-32,2)	29,16 $\pm$ 0,48 (28,4-30,7)	28,78 $\pm$ 0,38 (28,4-30,7)	27,48 $\pm$ 1,15 (22,3-30,7)	28,11 $\pm$ 1,4 (22,3-32,2)	27,86 $\pm$ 1,27 (22,3-30,7)	27,96 $\pm$ 0,99 (24,6-30,7)	28,6 $\pm$ 0,73 (26,7-30,7)	27,86 $\pm$ 0,83 (24,6-30,7)

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “***” ile işaretlenmiştir (*:p<0.05; **:p<0.01; ***:p<0.001).

Tabloda “ortalama değer $\pm$ standart hata” ve “minimum-maximum” değerler birlikte sunulmuştur.

Tablo 4. Koagülasyon parametrelerinde zamana bağlı değişimler.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
aPTT	37,73±3,76	44,98±11,5	39,26±3,83	42,01±5,31	52,98±8,45	69,11±15,31**	50,01±8,65	59,45±13,45**	43,06±3,06
(sn)	(25,1-47)	(29,9-102)	(30,5-56)	(29,6-65,7)	(29,4-80)	(34-134,7)	(31,9-90,5)	(40,1-126)	(34,9-55,9)
PT	40,81±3,82	42,28±4,51	49,96±13,27	45,18±9,97	54,36±12,22	67,95±9,41*	73,43±14,19**	66,03±8,16**	44,61±7,06
(sn)	(25,3-50,5)	(28,7-58,3)	(27-108,8)	(28,4-92)	(29,5-108,7)	(29,8-95,8)	(37,2-137,9)	(34-92,3)	(29,1-70,9)
FIB	4,71±0,31	4,76±0,95	4,92±0,88	4,54±0,43	7,87±0,95*	8,36±1,06	7,22±1,27	6,93±1,4	6,1±1,45
(mg/dl)	(3,89-5,97)	(2,44-8,4)	(2,36-8,8)	(2,8-5,8)	(6-12)	(4,7-12)	(4,65-13)	(3,45-12)	(3-11,2)

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “*” ile işaretlenmiştir (*:p<0.05; **:p<0.01; ***:p<0.001).

Tabloda “ortalama değer ± standart hata” ve “minimum-maximum” değerler birlikte sunulmuştur.

Tablo 5. Oranlar ile ilgili parametrelerde zamana bağlı değişimler.

Parametre	Zaman (saat)								
	0	0,5	1	2	4	8	12	24	48
PLT/WBC	56,8±3,42	158,45±15,95	169,03±29,07	199,52±55,19	276,51±29,81*	44,5±5,16	23,8±3,91*	24,67±5,12*	34,72±7,33
PLT/LYM	95,7±11,54	178,1±20,71	170,27±28,13	197,12±46,95	312,38±44,84* *	118,81±20,01	66,66±10,94	60,43±10,73	55,51±9,07
RDWc/PLT	0,0507±0,0068	0,0657±0,0079	0,0883±0,0211	0,1159±0,0235 ***	0,0878±0,0124 *	0,1119±0,0173 ***	0,1048±0,0185 ***	0,0975±0,0120 **	0,0953±0,016 4**
MPV/PLT	0,0104±0,0015	0,0135±0,0018	0,0183±0,0045	0,0231±0,0045 ***	0,0175±0,0023 *	0,0222±0,0031 ***	0,0207±0,0031 ***	0,0200±0,0025 **	0,0190±0,002 6**
aPTT/PLT	0,0694±0,0106	0,1042±0,0228	0,1246±0,0324	0,1711±0,0306 **	0,1602±0,0230 *	0,2440±0,0233 ***	0,1777±0,0255 ***	0,2095±0,0478 ***	0,1493±0,023 2*
PT/PLT	0,0726±0,0065	0,0980±0,0088	0,1358±0,0259	0,1671±0,0250 **	0,1501±0,0078 ***	0,2678±0,0467 ***	0,2561±0,0439 ***	0,2320±0,0348 **	0,1596±0,035 7
FIB/PLT	0,0090±0,0016	0,0117±0,0028	0,0153±0,0040	0,0181±0,0022	0,0243±0,0030 **	0,0346±0,0061 ***	0,0261±0,0040 **	0,0237±0,0046 **	0,0205±0,004 7

Her bir parametre özelinde aynı satırda 0. saate göre farklılıklar “*” ile işaretlenmiştir (*:p<0.05; **:p<0.01; ***:p<0.001).

Tabloda “ortalama değer ± standart hata” sunulmuştur.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, deneysel endotoksemi ile sepsis oluşturulan neonatal dönem buzağuların koagülasyon ve immünite profillerinin bir göstergesi olarak, trombosit indeksleri kapsamında PLT, PCT, MPV ve PDWc; oranlamalar kapsamında ise PLT/WBC, PLT/LYM, RDWc/PLT, MPV/PLT, aPTT/PLT, PT/PLT ve FIB/PLT değerleri sunulurken, sepsisli hastalarda bu parametrelerde meydana gelen değişimlerin, sağlıklılarından farklı olarak nasıl değişebileceğinin gösterilmesinin yararlı olabileceği düşünüldü.

Sepsis, insan ve evcil hayvanlarda yaşamı ciddi derecede tehdit edebilen ve olumsuz etkiler meydana getiren bir durumdur (Fecteau ve diğerleri, 1997; Rhodes ve diğerleri, 2017). Bakteri, virüs, mantar ve parazit gibi birçok mikroorganizma tarafından oluşturulabilmekle beraber, sepsisli insan ve hayvanlardan en sık izole edilen mikroorganizmalar *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus*'dur (Fışgın, 2004; Martin ve diğerleri, 2003). Gram-negatif bakteriler tarafından LPS yapılı endotoksin salınımı ile oluşturulan sepsis, gram-pozitif bakterilerin oluşturduğu sepsise göre çok daha şiddetli seyretmekte ve önemli sonuçlara neden olmaktadır (Pardon ve Deprez, 2018).

LPS yapılı endotoksinlerin kullanımı ile indüklenen deneysel endotoksemi modellerinde meydana gelen hematolojik, metabolik ve patolojik değişimlerin, doğal olarak oluşan sepsis durumundaki hastalarda görülen değişim ve sonuçlar ile benzerlik gösterdiği çeşitli araştırmacılar ve çalışmaları tarafından bildirilmiştir (Biniek ve diğerleri, 1998; Elsasser ve diğerleri, 2005; Horadagoda ve diğerleri, 2001). Bu bağlamda, LPS yapılı endotoksinlerin uygulanması ile oluşturulan endotoksemi modelleri, yangısal süreçleri ve endotoksemi ile ilişkili non-spesifik bulguları anlamak ve tedaviye yönelik uygulamaları geliştirmek amacıyla ülkemizdeki araştırmacılar tarafından da başarıyla kullanılmıştır (Elmas ve diğerleri, 2013; Şen ve Coşkun, 2008; Yılmaz ve diğerleri, 2013).

Sığırların, diğer hayvan türlerine kıyasla LPS'ye karşı daha duyarlı oldukları bilinmektedir (Michaels ve Banks, 1988). Sığırlarda akut faz yanıtı incelemek için çeşitli deneysel modeller bildirilmiştir. Genel olarak, *E. coli* LPS'si en sık uygulanan endotoksin türüdür. LPS'nin intravenöz yolla uygulanması en yaygın kullanılan uygulama şekli olarak bilinmektedir. O55:B5 ve O111:B4 serotiplerinin her ikisi de sıklıkla uygulanmaktadır. Daha eski yıllarda yapılan deneysel endotoksemi modelleri ile ilgili çalışmalarda O55:B5 serotipi

kullanılırken, son zamanlarda O111:B4 serotipinin kullanımının daha sık tercih edildiği dikkat çekmektedir. Bu durum bazı araştırmacılar tarafından, O55:B5 serotipinin oluşturduğu yangısal yanıtın her zaman aynı şiddette olmaması ile ilişkilendirilmektedir (Plessers ve diğerleri, 2015). Buzağılarda intravenöz uygulanan *E. coli* LPS dozları, O55:B5 ve O111:B4 serotipleri için sırasıyla 0.01-20 µg/kg ve 0.1-2.5 µg/kg olarak belirtilmektedir (Plessers, 2015).

Bu çalışmada deneysel endotoksemi, ticari saflaştırılmış toz formunda standart referans LPS (*E.coli* 0111:B4; Sigma) 1 µg/kg dozda, 100 ml %0,9'luk NaCl solüsyonunun içerisinde çözündürülerek ve yavaş intravenöz yolla 5 dakikalık sürede, tek sefer uygulanarak oluşturuldu. Klinik, hematolojik ve biyokimyasal bulgular temelinde endotokseminin başarıyla oluşturulduğu tespit edildi.

5.1. Trombosit İndeksleri

Trombositler, endotoksemili ve sepsisli hastalarda gerek patogeneizde oynadıkları rolleri ile gerekse de diğer hematolojik parametreler üzerine olan etkileri nedeniyle büyük önem arz etmektedir (Yılmaz ve diğerleri, 2008). İmmün sistemin neden olduğu hemodilüsyon, trombosit tüketim hızındaki artış ve trombosit yıkımının sepsisli hastalarda trombositopeniye yol açtığı bilinmektedir (Grainacher ve Selleng, 2010). Aynı zamanda kandaki PLT sayısında meydana gelen değişim, sepsisin erken tanısı değerlendirilmesi ve prognozu açısından da önemli bir risk faktörü olarak görülmektedir (Yılmaz ve diğerleri, 2008). MPV ise kemik iliğinde megakaryositlerden trombosit oluşumu sırasında belirlenmektedir (Klein, 2001). Endotoksemi sırasında salınan yangısal mediyatörler, artan trombosit ihtiyacına karşın trombopoezisi uyarak kemik iliğinden daha büyük trombositlerin salınımına neden olurlar ve böylece MPV ile PDWc'de bir artış söz konusu olabilir ve bu durum endotoksine karşı oluşan yangısal bir yanıt olarak değerlendirilmektedir (Kaser ve diğerleri, 2001). MPV'de görülen bu değişiklikler, PLT'de meydana gelen sayıca değişimden daha önce görülmektedir. Bu nedenle MPV'de görülen değişimin inflamasyonun erken dönemde saptanmasında faydalı olabileceği düşünülmektedir (Klein, 2001; Nalbantoğlu ve diğerleri, 2011). PLT ve trombosit indekslerinin sepsisli durumdaki hastalarda prognostik öneminin olduğu gösterilmiştir (Leader ve diğerleri, 2012).

Yapılan bir çalışmada, toplam 20 köpek kullanılarak iki farklı grup oluşturulmuş ve 10 köpekte intravenöz yolla 1 mg/kg dozda LPS (*E. coli*) enjeksiyonu ile indüklenen deneysel

endotoksemi oluşturulurken, diğer 10 köpeğe ise intravenöz yolla 0.2 ml/kg salin uygulaması yapılarak kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışma sonucuna göre LPS enjeksiyonunu takiben 30. dakikada PLT'nin %73 oranında azaldığı ve 24. saatte ise başlangıca göre %70 oranında azalmış olduğu; PCT'nin 30. dakikada %93 oranında azaldığı ve 24. saatte ise başlangıca göre %85 oranında azalmış olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada MPV ve PDWc değerlerinin 30. dakikada sırasıyla %45 ve %28 oranında yükseldiği; 24. saatlerde de başlangıca göre sırasıyla %56 ve %8-21 oranında yüksek kalmaya devam ettiği görülerek, PLT ve PCT ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Yılmaz ve diğerleri, 2008). Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne başvuran 5-29 günlük yaştaki 26 septik şok şüpheli buzağı ve aynı yaş grubundaki 10 sağlıklı buzağıda yapılan bir çalışmada, gruplar arasındaki PLT sayısı farklılığı araştırılmış ve septik şoklu buzağılarda, sağlıklı olanlara göre anlamlı derecede düşük bir PLT sayısı olduğu gösterilmiştir (Irmak ve diğerleri, 2006). Yine bir başka çalışmada da Mısır Ulusal Araştırma Birimi'nden temin edilen yetişkin erkek Sraguo Dawely albino sıçanları üzerinde deneysel endotoksemi modeli ile sepsis indüklenmiş ve kontrol grubundaki 10 sıçana 1 mg/kg dozda salin uygulaması yapılırken; 10 farklı sıçana da intraperitoneal yolla 1 mg/kg dozda *E. coli* (LPS) uygulaması yapılmış ve 24. saatte PLT sayısının kontrol grubuna kıyasla %35 oranında; 72. saatte ise %47 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Al-Sagair ve diğerleri, 2009). Sepsisli hastalarda artan trombosit yıkımı sonucunda buna yanıt olarak artan trombosit üretimi ve/veya MPV değerlerinin arttığı gösterilmiştir (Guida ve diğerleri, 2003; Tajarennmuang ve diğerleri, 2016). Yapılan bir çalışmada 156 sepsisli yeni doğan incelenmiş ve MPV değerinin kontrol grubuna göre belirgin yüksek çıktığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar MPV'nin sepsisin tanısı için duyarlılığı ve özgüllüğünü sırasıyla %42 ve %95 olarak bildirmişlerdir (Patrick ve Lazarchick, 1990). Yapılan bir başka çalışmada ise koagülaz negatif Staphylococcal sepsisli 18 yeni doğan incelenmiş ve kontrol grubuna kıyasla daha yüksek MPV değerine sahip oldukları bildirilmiştir (O'Connor ve diğerleri, 1993). Yapılan bu tez çalışmasında da buzağuların ortalama PLT ve PCT değerlerinin başlangıca göre (0. Saat), LPS uygulamasını takiben 2. saat ile 48. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı azaldığı (Tablo 3) görüldü. PLT ve PCT değerlerinde meydana gelen bu azalışın Yılmaz ve diğerleri (2008) ile uyumlu olduğu görüldü. PLT sayısındaki azalma, Irmak ve diğerleri (2006) ve Al-Sagair ve diğerleri (2009) ile de uyumlu bulundu. Bu durum trombositlerin artan kullanımı ile ilişkilendirilebilir. Çalışma sonucunda MPV değerinin ise 30. dakika ve 1. saatte artarken, devam eden saatlerde başlangıca göre azaldığı ve bu değişimlerin anlamlı olmadığı tespit edilerek; Yılmaz ve diğerleri (2008), Patrcik ve Lazarchick (1990) ve O'Connor ve diğerleri (1993) ile uyumlu olmadığı belirlendi. PDWc değeri de başlangıca göre

(0. saat), LPS uygulamasını takiben 30. dakikadan itibaren azalmaya başlayarak, 48. Saatte başlangıca göre azalmış olarak saptandı (Tablo 3) ve meydana gelen bu değişimlerin anlamlı olmadığı tespit edilerek, Yılmaz ve diğerleri (2008) ile uyumlu olmadığı görüldü. Çalışmada, MPV ve PDWc'de meydana gelen bu azalmaların literatürle uyumlu bulunmamasının; çalışma popülasyonunun sınırlı boyutta olması, çalışmalarda hayvan türlerinin farklılığı ya da çalışmaların insanlarda yapıyor oluşu ve endotoksemi oluşturulan buzağılarda bireysel bazdaki klinik özelliklerin farklı olabilme durumu ile birlikte endotoksine verilen yangısal yanıtın farklı düzeylerde olabileceği ile ilişkili olması gibi durumlar düşünülebilir.

5.2. Hematolojik Parametreler

Total lökosit sayısı, enfeksiyonlarda artabildiği gibi kemik iliğinin baskılandığı ya da tüketiminin çok fazla miktarda gerçekleştiği durumlarda azalabilen bir hematolojik parametre olmakla birlikte, sepsisli hastalarda da önem arz etmektedir. Özellikle sepsisin şiddeti ile negatif kolerasyon gösterebilmekte; yani enfeksiyonun şiddetinin arttığı sepsis durumunda lökopeni ile karakterize olarak ilerleyebilmektedir (Hornik ve diğerleri, 2012). Endotoksemilerde meydana gelen lökopeninin; granülositlerin, monositlerin ve trombositlerin endotelial yüzeye olan adezyonları ve agregasyonu ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Templeton ve diğerleri, 1988). Bu durumun endotoksinin uygulandığı doz sonucunda değişebileceği düşünülmektedir. Düşük dozlarda endotoksin uygulaması sonrasında geçici bir lökopeni fazı meydana gelirken bir sonraki fazda lökositozis görülebilmektedir. Lökositozis durumunun kemik iliğinden olgunlaşmış lökositlerin dolaşıma salınmasıyla ilişkili olabileceği tespit edilmiştir (Andersen, 2003). Sepsisli hastalarda meydana gelen lenfopeninin ise apoptozisten kaynaklandığı düşünülmüştür (Agnello ve diğerleri, 2021). Sepsis durumlarında aynı şekilde eritrosit (RBC)'lerde de bir yıkımlanma söz konusu olduğu bilinmektedir. Pro-inflamatuvar sitokinlerin etkisiyle RBC'lerin kandaki sirkülasyonlarının artmasına ve kemik iliğinden yenilerinin üretilerek kana salınımlarına neden olmaktadır. Bu durum da RDWc'de meydana gelene artış ile sonuçlanmaktadır (Mahmood ve diğerleri, 2014).

Yapılan bir çalışmada 12 farklı buzağıda deneysel olarak *E.coli* (LPS)'nin 0,5-20µg/kg dozda intravenöz ve 10µg/kg-40µg/kg dozlarda intraperitoneal olarak uygulanması ile endotoksemi oluşturulmuş, tüm buzağılarda WBC ve LYM sayılarında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Templeton ve diğerleri, 1988). Yetişkin erkek Sraguo Dawely albino

sıçanlarında deneysel endotoksemi ile sepsis indüklenmiş ve kontrol grubundaki 10 sıçana salin uygulaması yapılırken; 10 farklı sıçana da intraperitoneal yolla 1 mg/kg dozda *E. coli* (LPS) uygulaması yapılmış ve 24. saatte WBC ve LYM sayılarının kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %65 ve %86 oranında azaldığı, 72. saatte ise sırasıyla %72 ve %90 oranında azalmış olduğu tespit edilmiştir (Al-Sagair ve diğerleri, 2009). Yapılan bir başka çalışmada ise 5-29 günlük yaştaki 26 septik şok şüpheli buzağı ve aynı yaş grubundaki 10 sağlıklı buzağı karşılaştırıldığında WBC sayısının, septik şoklu hastalarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Irmak ve diğerleri, 2006). Buzağılarda yapılan bir çalışmada LPS uygulamasını takiben 1., 2., 4. ve 6. saatlerde lökopeni ve lenfopeni gözlenirken, 12. saatten itibaren lökosit sayısındaki artışla beraber, 18. saatten itibaren ise lökositosis belirlenmiştir (Coşkun ve diğerleri, 2014). Mevcut çalışmada buzağların ortalama WBC ve LYM sayılarının (Tablo 3) başlangıca göre (0. Saat), LPS uygulamasını takiben sırasıyla 30. dakika, 1., 2. ve 4. saatlerde; yine 30. dakika, 1., 2., 4. ve 8. saatlerde anlamlı azaldığı tespit edildi; 12. ve 24. saatlerde ise lökositosis gözlemlendi. Elde edilen bulguların Coşkun ve diğerleri (2014) ile uyumlu olduğu değerlendirilebilir. WBC sayısında meydana gelen bu bifazik değişimin, başta hasarlı damar endoteline göç ile birlikte tüketimi ve sonrasında ise endotoksinin etkilerinin iyileştiği durumda kemik iliğinden kana salınan olgun lökositlerin varlığı ile ilişkili olduğu düşünülebilir (Andersen, 2003; Templeton ve diğerleri, 1988).

5.3. Koagülasyon Profili

Sepsis görülen hastalarda sıklıkla meydana gelen sendromlardan biri DIC'in şekillenmesidir. DIC, özellikle sekonder hemostaz dengesinin bozulduğu durumlarda aşırı fibrin üretimi ve beraberinde damar içerisinde tromboz oluşumuyla karakterize bir pıhtılaşma bozukluğudur (Fışgın, 2004). Özellikle gram-negatif bakteriler tarafından meydana gelen sepsis tablolarının %50'sinde DIC geliştiği bildirilmiştir (Thomson ve diğerleri, 1974). Endotokseminin DIC'in yaygın sebepleri arasında olduğu bilinmektedir (Thijs ve diğerleri, 1993). DIC, aPTT, PT ve FIB gibi parametrelerdeki değişim ve trombositopeninin varlığı ile ortaya konulabilmektedir. Bu bağlamda aPTT, içsel ve ortak pıhtılaşma yollarını değerlendirmek için kullanılırken; PT ise dışsal ve ortak pıhtılaşma yollarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Uzamış aPTT ve PT'nin en yaygın nedeni, DIC sırasında artan pıhtılaşma faktörlerinin tüketimi olarak görülmektedir (Irmak ve diğerleri, 2006).

Sığırlarda 20 µg/kg dozda ve intravenöz yolla uygulanan endotoksin ile oluşturulan sepsisi takiben, plazma FIB konsantrasyonunun 12. saate kadar bu düştüğü, 36. saatte ise başlangıç seviyesine geri döndüğü görülmüştür. Aynı çalışmada PT değerinin ise endotokseminin ilk 3 saatlik diliminde artış gösterdiği, 48. saatte ise başlangıç seviyesine geri döndüğü görülmüştür (Thomson ve diğerleri, 1974). Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne başvuran 5-29 günlük yaştaki 26 septik şok şüpheli buzağıda aPTT ve FIB düzeylerinde bir artış görülürken; PT de ise hafif bir artış tespit edilmiştir (Irmak ve diğerleri, 2006). Tavşanlarda deneysel endotoksemi oluşturularak yapılan bir çalışmada ise aPTT ve PT'de önemli bir artış meydana geldiği fakat FIB değerinde ise önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir (Çöl ve Durgun, 2004). Buzağılarda 0,1µ/kg dozda LPS uygulamasını takiben FIB değerinin 30. dakika ile 6. saat aralığında giderek azaldığı, 12. saatten sonra ise başlangıç seviyesine doğru yükseldiği görülmüştür (Şen ve Coşkun, 2008). Bu araştırma sonucunda buzağıkların ortalama aPTT değerinin (Tablo 4) başlangıca (0. saat) göre, LPS uygulamasını takiben 8. ve 24. saatlerde; ortalama PT değerinin de 8., 12. ve 24. saatlerde anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Bu değişimler Irmak ve diğerleri (2006) ve Çöl ve Durgun (2004) çalışmaları ile uyumludur. Meydana gelen bu artışın, endotokseminin etkilerinden ileri gelen pıhtılaşma faktörlerinin tüketimi ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Bu çalışmada ortalama FIB değerinin ise yalnızca 4. saatte anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Bu artışın Irmak ve diğerleri (2006) ile uyumlu olduğu görülürken; Şen ve Coşkun (2008), Çöl ve Durgun (2004) ve Thomson ve diğerleri (1974) ile uyumlu olmadığı saptandı. Bu durum, sepsisin şiddetine göre canlıların her birinde farklı düzeylerde DIC'in gelişebileceği ile ilişkilendirilebilir (Coşkun ve diğerleri, 2014).

5.4. Trombosit Sayısı İle İlgili Oranlar

Tartışmanın bu bölümünde trombosit sayısı ile ilgili oranlar kapsamında; PLT/WBC, PLT/LYM, RDWc/PLT, MPV/PLT, aPTT/PLT, PT/PLT ve FIB/PLT'nin literatür ve tez çalışması kapsamında elde edilen verilerin karşılaştırılması sunulmuştur.

PLT/WBC değerinde görülen azalışın, yüksek mortalite oranı için bir risk faktörü olarak görüldüğü ve mortalite açısından biyobelirteç niteliği taşıyabileceği; bununla birlikte yalnızca PLT değerinde meydana gelen değişime kıyasla mortalite oranını tahmin etmede daha yararlı olabildiği çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Lathouras ve diğerleri, 2019; Zhang

ve diğerleri, 2020). Yapılan retrospektif bir çalışmada Ocak 2013 ve Ekim 2018 arasındaki splenektomi operasyonu yapılan 95 hastanın 17'sinde postoperatif dönemde 3. derece sepsis gelişmiş ve bu hastalarda PLT/WBC değeri araştırılmıştır. Hastaların 5. günde PLT/WBC değerlerinde meydana gelen düşüş ve yüksek düzeydeki WBC sayısı sonucu incelendiğinde bu değerlerin sepsisi ön görmede başarılı olabileceği gösterilmiştir (Lathouras ve diğerleri, 2019). Mevcut çalışma sonucunda buzağuların ortalama PLT/WBC değerinin (Tablo 5) başlangıca (0. saat) göre, LPS uygulamasını takiben 4. saatte anlamlı olarak arttığı görülürken; 12. saat ile 24. saatlerde ise anlamlı olarak azaldığı görülmekle birlikte, 12. saatten sonraki zaman dilimlerinde meydana gelen azalışların, Lathouras ve diğerleri (2019) ile uyumlu olduğu saptandı.

PLT/LYM değerinde görülen artışın, köpeklerde sepsisin prognozunu değerlendirilmesi açısından önem arz ettiği gösterilmiştir (Pierini ve diğerleri, 2020). Pisa Üniversitesi Veteriner Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 2012-2020 yıllarında başvuran, 57 SIRS pozitif fakat sepsisi bulunmayan ve 57 sepsis tanısı koyulan iki farklı gruba ayrılmış köpekler üzerinde yapılan retrospektif bir çalışmanın sonucunda; sepsisli gruptaki köpeklerin, SIRS grubundaki septik olmayan köpeklere göre daha yüksek düzeyde PLT/LYM değerine sahip olduğu gösterilmiştir (Pierini ve diğerleri, 2020). Bu çalışmada da buzağuların ortalama PLT/LYM değerinin (Tablo 5) başlangıca (0. saat) göre, LPS uygulamasını takiben yalnızca 4. saatte anlamlı olarak arttığı görülmekle birlikte, 8. saate kadar olan artışların Pierini ve diğerleri (2020) ile uyumlu olduğu görüldü.

RDWc/PLT değerindeki artışın, septik durumdaki insanlar için sepsisin tanınması ve prognozu ile ilişki olduğu düşünülmektedir (Ge ve diğerleri, 2020; Karabulut ve Argacok, 2020). Perinatal dönemde sistemik hastalık geliştirme riski yüksek olan tayların, sağlıklı olanlara göre daha yüksek RDWc/PLT değerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Scalco ve diğerleri, 2023a). RDWc/PLT değerindeki artışın yangısal süreçlerin şiddetini göstermede önemli olabileceği düşünülmektedir (Scalco ve diğerleri, 2023b). Yapılan retrospektif bir vaka kontrol çalışmasında 2012-2021 yılları arasında Kaliforniya Davis Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne başvuran 7 günlük yaştan küçük septik taylarda RDWc, PLT ve RDWc/PLT değerleri değerlendirilmiştir. Araştırmaya 85 sağlıklı ve 83 septik tay dahil edilmiştir. Septik durumdaki tayların RDWc değerleri sağlıklı taylara göre daha yüksek bulunurken, RDWc/PLT oranlamasının da septik taylarda sağlıklı oranlara göre yüksek olduğu belirlenmiş ve bu oranlamanın sepsisin tanınmasını destekleyici nitelikte olduğu düşünülmüştür (Scalco ve diğerleri, 2023b). Bu çalışma kapsamında da buzağuların ortalama RDWc/PLT değerinin

(Tablo 5) başlangıca (0. saat) göre, LPS uygulamasını takiben 2. saat ile 48. saat aralığında anlamlı artış gösterdiği tespit edilerek, Scalco ve diğerleri (2023b) ile uyumlu olduğu saptandı.

MPV/PLT değerinde meydana gelen artışın, sepsisli hastalarda özellikle ilk 72 saatlık zaman diliminde prognoz ve mortalite açısından bir biyobelirteç niteliği taşıyabileceği ve verilerin elde edilmesinin tam kan sayımı ile gerçekleştirilmesinden dolayı hem ekonomik hem de pratik açıdan yararlı olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmektedir (Greco ve diğerleri, 2017; Vélez-Páez ve diğerleri, 2022; Yun ve diğerleri, 2016). Yapılan bir araştırma sonucunda MPV/PLT'nin, tek başına MPV değerine göre sepsisin erken dönem mortalitesini ön görmede daha büyük anlam ifade ettiği tespit edilmiştir (Yun ve diğerleri, 2016). Ekvador Cumhuriyeti'nin başkenti Quito'da yer alan Pablo Arturo Hastanesi'nde, 2017-2019 yılları arasında yoğun bakım ünitesinde sepsis tanısıyla yatan 18-97 yaşlarındaki 163 hastada yapılan prospektif bir kohort çalışmasında, hastalar 28 gün süreyle izlenmiş; 1. 2. ve 3. Günlerde MPV/PLT düzeyleri değerlendirilmiş ve ölen 56 hastada bu oranın, yaşayan 107 hastaya göre 3 gün boyunca giderek arttığı ve her 3 günde anlamlı yüksek olduğu gösterilmiştir (Vélez-Páez ve diğerleri, 2022). Yonsei Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gangnam Severance Hastanesi'nde yapılan retrospektif bir çalışmada Ocak-Aralık 2012 yıllarında acil servise başvurarak, sepsis ve/veya septik şok tanısı alan 120 hasta 28 gün boyunca izlenmiş ve 28. günün sonunda hastaların 103'ü hayatta kalırken, 17'si ölmüştür. MPV/PLT düzeyleri 0. 1. 3. ve 4. Günlerde değerlendirilmiş ve acil servise başvurulduğu gün olan 0. gün ve 1. günde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken; 3. ve 4. günlerde anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Oh ve diğerleri, 2017). Bu araştırma kapsamında buzağuların ortalama MPV/PLT değerinin (Tablo 5) başlangıca (0. saat) göre, LPS uygulamasını takiben 2. saat ile 48. saat aralığında anlamlı olarak arttığı görüldü. Meydana gelen bu değişimin Vélez-Páez ve diğerleri (2022) ve Oh ve diğerleri (2017) ile uyumlu olduğu değerlendirildi.

FIB/PLT değerindeki artışın, sepsisli hastalarda yangısal ve pıhtılaşma süreçlerinin bir göstergesi olduğu ve kötü prognoz ile ilişkilendirilebileceği gösterilmiştir (Li ve diğerleri, 2022). 2022 yılında piyojenik karaciğer apsesi ile hastanede yatan 372 hastanın 80'inde sepsis geliştiği ve bu hastalarda FIB/PLT düzeylerinde artış olduğu tespit edilerek, meydana gelen bu artışın sepsisli hastalarda kötü bir prognoza işaret ettiği belirtilmiştir (Li ve diğerleri, 2022). Yapılan bu tez çalışması kapsamında da buzağuların ortalama FIB/PLT değerinin (Tablo 5) başlangıca (0. saat) göre, LPS uygulamasını takiben 4. saat ile 24. saat aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Elde edilen sonucun Li ve diğerleri (2022) ile uyumlu olduğu görüldü.

Yapılan literatür taraması kapsamında, aPTT/PLT ve PT/PLT değerlerinin endotoksemi ve/veya sepsis durumunda değişimlerini gösteren bir araştırmaya rastlanmamıştır. Tez çalışması kapsamında aPTT/PLT ve PT/PLT’de sırasıyla; 2. ve 48. saatler aralığındaki zaman dilimleri ile 2. ve 24. saatler aralığındaki zaman dilimlerinde anlamlı artışlar saptanmıştır. Bu bağlamda elde edilen verilerin, bu konuda yapılabilecek olan yeni araştırmalar için bir ön çalışma niteliği taşıyabilme kapsamında fayda sağlayabileceği düşünülebilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu tez çalışması kapsamında sonuç ve öneriler aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

- Endotoksemi ile sepsis geliştirilen neonatal buzağılarda WBC, LYM, RDWc, PLT, PCT, MPV ve PDWc değerlerinde bir azalma olduğu; fakat aPTT, PT ve FIB değerlerinde ise bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda PLT/WBC ve PLT/LYM değerlerinde önce bir artış görülerek, devam eden zamanlarda ise bir azalışın olduğu saptanmıştır. RDWc/PLT, MPV/PLT, aPTT/PLT, PT/PLT ve FIB/PLT değerlerinde ise artışların söz konusu olduğu görülerek, çalışmadaki verilerde meydana gelen değişimler ortaya konulmuştur.

- Özellikle PLT sayısı ile ilgili oranlara ait olan verilerin yapılacak diğer çalışmalar için bir ön çalışma niteliği taşıyabileceği ve klinik veteriner hekimlikte endotokseminin/sepsisin erken tanınma ve prognoz ile ilişkili bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

- Araştırmada değerlendirilen parametrelerin endotokseminin/sepsisin tanınmasında bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğine ilişkin kanıtların ortaya konulması için daha geniş popülasyonları içeren yeni çalışmaların yapılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Agnello, L., Giglio, R. V., Bivona, G., Scazzone, C., Gambino, C. M., Iacona, A., ... & Ciaccio, M. (2021). The value of a complete blood count (CBC) for sepsis diagnosis and prognosis. *Diagnostics*, 11(10), 1881. doi:10.3390/diagnostics11101881
- Akca, S., Haji-Michael, P., De Mendonça, A., Suter, P., Levi, M., & Vincent, J. L. (2002). Time course of platelet counts in critically ill patients. *Critical Care Medicine*, 30(4), 753-756. doi:10.1097/00003246-200204000-00005
- Al-Sagair, O. A., El-Daly, E. S., & Mousa, A. A. (2009). Influence of bacterial endotoxins on bone marrow and blood components. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 17(1), 23-36.
- Andersen, P. H. (2003). Bovine endotoxemia—some aspects of relevance to production diseases. A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44(1), 1-15. doi:10.1186/1751-0147-44-S1-P57
- Andreasen, A. S., Krabbe, K. S., Krogh-Madsen, R., Taudorf, S., Pedersen, B. K., & Moller, K. (2008). Human endotoxemia as a model of systemic inflammation. *Current Medicinal Chemistry*, 15(17), 1697-1705. doi:10.2174/092986708784872393
- Baughman, R. R., Lower, E. E., Flessa, H. C., & Tollerud, D. J. (1993). Thrombocytopenia in the intensive care unit. *Chest*, 104(4), 1243-1247. doi:10.1378/chest.104.4.1243
- Bieniek, K., Szuster-Ciesielska, A., Kamińska, T., Kondracki, M., Witek, M., & Kandefer-Szerszeń, M. (1998). Tumor necrosis factor and interferon activity in the circulation of calves after repeated injection of low doses of lipopolysaccharide. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 62(4), 297-307. doi:10.1016/S0165-2427(98)00102-0
- Bone, R. C. (1991). Pathophysiology of sepsis. *Annals of Internal Medicine*, 115(6), 457-469. doi:10.7326/0003-4819-115-6-457
- Bone, R. C. (1992). Modulators of coagulation: a critical appraisal of their role in sepsis. *Archives of Internal Medicine*, 152(7), 1381-1389. doi:10.1001/archinte.1992.00400190023007

- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B., ... & Sibbald, W. J. (1992). American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992; 101. doi:10.1378/chest.101.6.1644
- Brinkmann, V., Zychlinsky, A. (2012). Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin?. *Journal of Cell Biology*, 198(5), 773-783. doi:10.1083/jcb.201203170
- Camcıoğlu, Y., Aytaç, E. (2007). Sepsisin immünopatogenezi. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi*, 5(1), 81-85.
- Carroll, J. A., Reuter, R. R., Chase Jr, C. C., Coleman, S. W., Riley, D. G., Spiers, D. E., ... & Galyean, M. L. (2009). Profile of the bovine acute-phase response following an intravenous bolus-dose lipopolysaccharide challenge. *Innate Immunity*, 15(2), 81-89. doi:10.1177/1753425908099170
- Coşkun, A., Güzelbekteş, H., Şen, İ., & Constable, P. D. (2014). Endotoksemili buzağların tedavisinde tek başına kolistin'in ve kolistin+ meloksikam kombinasyonunun etkisi. Tübitak Proje Sonuç Raporu. Proje No: 112O396
- Çöl, R., & Durgun, Z. (2004). Tavşanlarda endotoksin ile oluşturulan dissemine intravasküler koagülasyon üzerine vitamin E ve prednisolon'un etkileri. *Veteriner Bilimleri Dergisi. Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 20(1), 29-38.
- D'Angelo, A., Vigano-D'Angelo, S., & Esmon, C. T. (1988). Acquired deficiencies of protein S. Protein S activity during oral anticoagulation, in liver disease, and in disseminated intravascular coagulation. *The Journal of Clinical Investigation*, 81(5), 1445-1454. doi:10.1172/JCI113475
- Dinarello, C. A. (1991). The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. *Journal of Infectious Diseases*, 163(6), 1177-1184. doi:10.1093/infdis/163.6.1177
- Doğanay, M. (1996). Sepsis yeni tanımlar ve patogenezi. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(1), 3-10.
- Elmas, M., Yazar, E., Üney, K., Er, A., Altan, F. (2013). Seftiofurun Yeni Doğan Buzağlardaki Dozaj Rejimi Üzerine Deneysel Şok ve Kombine Tedavi Uygulamalarının Etkilerinin Belirlenmesi. Tübitak Proje Sonuç Raporu. Proje no: 110O404

- Elsasser, T. H., Blum, J. W., & Kahl, S. (2005). Characterization of calves exhibiting a novel inheritable TNF- α hyperresponsiveness to endotoxin: Associations with increased pathophysiological complications. *Journal of Applied Physiology*, 98(6), 2045-2055. doi:10.1152/japplphysiol.01050.2004
- Fecteau, G., Pare, J., Van Metre, D. C., Smith, B. P., Holmberg, C. A., Guterbock, W., & Jang, S. (1997). Use of a clinical sepsis score for predicting bacteremia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm. *The Canadian Veterinary Journal*, 38(2), 101.
- Fecteau, G., Smith, B. P., & George, L. W. (2009). Septicemia and meningitis in the newborn calf. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 195-208. doi:10.1016/j.cvfa.2008.10.004
- Fışgın, N. T. (2004). Sepsis. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 21(2). doi:10.5835/jecm.v21i2.115
- Ge, S., Lin, S., Zhang, L., & Zeng, M. (2020). The association of red blood cell distribution width to platelet count ratio and 28-day mortality of patients with sepsis: a retrospective cohort study. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 999-1006. doi:10.2147/TCRM.S268523
- Greco, E., Lupia, E., Bosco, O., Vizio, B., & Montrucchio, G. (2017). Platelets and multi-organ failure in sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2200. doi:10.3390/ijms18102200
- Greinacher, A., & Selleng, K. (2010). Thrombocytopenia in the intensive care unit patient. *Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book*, 2010(1), 135-143. doi:10.1182/asheducation-2010.1.135
- Guida, J. D., Kunig, A. M., Leef, K. H., McKenzie, S. E., & Paul, D. A. (2003). Platelet count and sepsis in very low birth weight neonates: is there an organism-specific response?. *Pediatrics*, 111(6), 1411-1415. doi:10.1542/peds.111.6.1411
- Guidet, B., Barakett, V., Vassal, T., Petit, J. C., & Offenstadt, G. (1994). Endotoxemia and bacteremia in patients with sepsis syndrome in the intensive care unit. *Chest*, 106(4), 1194-1201. doi:10.1378/chest.106.4.1194
- Hesselvik, J. F., Malm, J., Dahlbäck, B., & Blombäck, M. (1991). Protein C, Protein S and c4b-binding protein in severe infection and septic shock. *Thrombosis and Haemostasis*, 65(02), 126-129. doi:10.1055/s-0038-1647469

- Hoffman, W. D., & Natanson, C. (1993). Endotoxin in septic shock. *Anesthesia & Analgesia*, 77(3), 613-624. doi:10.1213/00000539-199309000-00032
- Horadagoda, N. U., Hodgson, J. C., Moon, G. M., Wijewardana, T. G., & Eckersall, P. D. (2001). Role of endotoxin in the pathogenesis of haemorrhagic septicaemia in the buffalo. *Microbial Pathogenesis*, 30(3), 171-178. doi:10.1006/mpat.2000.0423
- Hui, P., Cook, D. J., Lim, W., Fraser, G. A., & Arnold, D. M. (2011). The frequency and clinical significance of thrombocytopenia complicating critical illness: a systematic review. *Chest*, 139(2), 271-278. doi:10.1378/chest.10-2243
- Inwald, D. P., McDowall, A., Peters, M. J., Callard, R. E., & Klein, N. J. (2003). CD40 is constitutively expressed on platelets and provides a novel mechanism for platelet activation. *Circulation Research*, 92(9), 1041-1048. doi:10.1161/01.RES.0000070111.98158.6C
- Irmak, K., Sen, I., Cöl, R., Birdane, F. M., Güzelbektes, H., Civelek, T., ... & Turgut, K. (2006). The evaluation of coagulation profiles in calves with suspected septic shock. *Veterinary Research Communications*, 30 (5), 497–503. doi:10.1007/s11259-006-3258-8
- Jarczak, D., Kluge, S., ... & Nierhaus, A. (2021). Sepsis - pathophysiology and therapeutic concepts. *Frontiers in Medicine*, 8, 628302. doi:10.3389/fmed.2021.628302
- Karaali, R., Tabak, F. (2015). Sepsis patogenezi. *Klinik Gelişim*. Erişim tarihi: 01.07.2023, https://www.klinikgelisim.org.tr/kg22_3/12.pdf adresinden erişildi.
- Karabulut, B., & Arcagok, B. C. (2020). New diagnostic possibilities for early onset neonatal sepsis: red cell distribution width to platelet ratio. *Fetal and Pediatric Pathology*, 39(4), 297-306. doi:10.1080/15513815.2019.1661051
- Kaser, A., Brandacher, G., Steurer, W., Kaser, S., Offner, F. A., Zoller, H., ... & Tilg, H. (2001). Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 98(9), 2720-2725. doi:10.1182/blood.V98.9.2720
- Klein, J. O. (2001). Bacterial sepsis and meningitis. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 943-948.
- Lathouras, K., Panagakos, G., Bowden, S. J., Saliaris, K., Saso, S., Haidopoulos, D., & Fotopoulou, C. (2019). Diagnostic value of post-operative platelet-to-white blood cell

- ratio after splenectomy in patients with advanced ovarian cancer. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 29(8). doi:10.1136/ijgc-2019-000712
- Leader, A., Pereg, D., & Lishner, M. (2012). Are platelet volume indices of clinical use? A multidisciplinary review. *Annals of Medicine*, 44(8), 805-816. doi:10.3109/07853890.2011.653391
- Levi, M., & Schultz, M. (2011). Hematologic failure. In *Seminars In Respiratory and Critical Care Medicine* (Vol. 32, No. 05, pp. 651-660). © Thieme Medical Publishers. doi:10.1055/s-0031-1287873
- Levi, M., & Ten Cate, H. (1999). Disseminated intravascular coagulation. *New England Journal of Medicine*, 341(8), 586-592. doi:10.1056/NEJM199908193410807
- Levi, M., & van der Poll, T. (2017). Coagulation and sepsis. *Thrombosis Research*, 149, 38-44. doi:10.1016/j.thromres.2016.11.007
- Levi, M., ten Cate, H., van der Poll, T., & van Deventer, S. J. (1993). Pathogenesis of disseminated intravascular coagulation in sepsis. *The Journal of the American Medical Association*, 270(8), 975-979. doi:10.1001/jama.1993.03510080079035
- Li, S., Yu, S., Qin, J., Peng, M., Qian, J., & Zhou, P. (2022). Prognostic value of platelet count-related ratios on admission in patients with pyogenic liver abscess. *BMC Infectious Diseases*, 22(1), 1-8. doi:10.1186/s12879-022-07613-x
- Mahmood, N. A., Mathew, J., Kang, B., DeBari, V. A., & Khan, M. A. (2014). Broadening of the red blood cell distribution width is associated with increased severity of illness in patients with sepsis. *International Journal of Critical Illness and Injury Science*, 4(4), 278. doi:10.4103/2229-5151.147518
- Martin, G. S., Mannino, D. M., Eaton, S., & Moss, M. (2003). The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New England Journal of Medicine*, 348(16), 1546-1554. doi:10.1056/NEJMoa022139
- Michaels, F. H., & Banks, K. L. (1988). Contribution of various host factors to resistance to experimentally induced bacterial endotoxemia in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 49(4), 557-562.
- Michaels, F. H., & Banks, K. L. (1988). Contribution of various host factors to resistance to experimentally induced bacterial endotoxemia in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 49(4), 557-562.

- Nalbantoğlu, B., Bozan, H. İ., Nalbantoğlu, A., Demirsoy, U., Uysalol, M., & Şirenci, R. (2011). Yenidoğan Sepsisi Tanısında Trombosit Sayısı ve Ortalama Trombosit Hacminin Prediktif Değeri. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*. doi:10.16948/zktb.64691
- Natanson, C., Hoffman, W. D., Suffredini, A. F., Eichacker, P. Q., & Danner, R. L. (1994). Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Annals of Internal Medicine*, 120(9), 771-783. doi:10.7326/0003-4819-120-9-199405010-00009
- O'Connor, T. A., Ringer, K. M., & Gaddis, M. L. (1993). Mean platelet volume during coagulase-negative staphylococcal sepsis in neonates. *American Journal of Clinical Pathology*, 99(1), 69-71. doi:10.1093/ajcp/99.1.69
- Oh, G. H., Chung, S. P., Park, Y. S., Hong, J. H., Lee, H. S., Chung, H. S., ... & Park, I. (2017). Mean platelet volume to platelet count ratio as a promising predictor of early mortality in severe sepsis. *Shock: Injury, Inflammation, and Sepsis: Laboratory and Clinical Approaches*, 47(3), 323-330. doi:10.1097/SHK.0000000000000718
- Palta, S., Saroa, R., & Palta, A. (2014). Overview of the coagulation system. *Indian Journal of Anaesthesia*, 58(5), 515. doi:10.4103/0019-5049.144643
- Pardon, B., & Deprez, P. (2018). Rational antimicrobial therapy for sepsis in cattle in face of the new legislation on critically important antimicrobials. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 87(1), 37-46. doi:10.21825/vdt.v87i1.16094
- Patrick, C. H., & Lazarchick, J. (1990). The effect of bacteremia on automated platelet measurements in neonates. *American Journal of Clinical Pathology*, 93(3), 391-394. doi:10.1093/ajcp/93.3.391
- Pierini, A., Gori, E., Lippi, I., Lubas, G., & Marchetti, V. (2020). Are leukocyte and platelet abnormalities and complete blood count ratios potential prognostic markers in canine sepsis?. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 578846. doi:10.3389/fvets.2020.578846
- Plessers, E. (2015). Immunomodulatory properties of gamithromycin, dexamethasone and ketoprofen in lipopolysaccharide-induced inflammation in calves. Doktora Tezi, Ghent Üniversitesi, Belçika.
- Plessers, E., Wyns, H., Watteyn, A., Pardon, B., De Backer, P., & Croubels, S. (2015). Characterization of an intravenous lipopolysaccharide inflammation model in calves with

- respect to the acute-phase response. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 163(1-2), 46-56. doi:10.1016/j.vetimm.2014.11.005
- Prasad, K. S., Andre, P., He, M., Bao, M., Manganello, J., & Phillips, D. R. (2003). Soluble CD40 ligand induces $\beta 3$ integrin tyrosine phosphorylation and triggers platelet activation by outside-in signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(21), 12367-12371. doi:10.1073/pnas.2032886100
- Remick, D. G., & Ward, P. A. (2005). Evaluation of endotoxin models for the study of sepsis. *Shock*, 24, 7-11. doi:10.1097/01.shk.0000191384.34066.85
- Rhodes, A., Evans, L. E., Alhazzani, W., Levy, M. M., Antonelli, M., Ferrer, R., ... & Dellinger, R. P. (2017). Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Medicine*, 43(3), 304-377. doi:10.1007/s00134-017-4683-6
- Sáez-Llorens, X., & McCracken Jr, G. H. (1993). Sepsis syndrome and septic shock in pediatrics: current concepts of terminology, pathophysiology, and management. *The Journal of Pediatrics*, 123(4), 497-508. doi:10.1016/S0022-3476(05)80942-4
- Scalco, R., Aleman, M., Nogueira, C. E., Freitas, N. B., & Curcio, B. R. (2023a). Red cell distribution width values and red cell distribution width-to-platelet ratio in Thoroughbred foals in the first 24 hours of life. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 33(2), 217-222. doi:10.1111/vec.13274
- Scalco, R., de Oliveira, G. N., da Rosa Curcio, B., Wooten, M., Magdesian, K. G., Hidai, S. T., ... & Aleman, M. (2023b). Red blood cell distribution width to platelet ratio in neonatal foals with sepsis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. doi:10.1111/jvim.16793
- Schwartz, R. S., Bauer, K. A., Rosenberg, R. D., Kavanaugh, E. J., Davies, D. C., Bogdanoff, D. A., & Antithrombin III Study Group. (1989). Clinical experience with antithrombin III concentrate in treatment of congenital and acquired deficiency of antithrombin. *The American Journal of Medicine*, 87(3), S53-S60. doi:10.1016/0002-9343(89)80533-9
- Sharma, B., Sharma, M., Majumder, M., Steier, W., Sangal, A., & Kalawar, M. (2007). Thrombocytopenia in septic shock patients—a prospective observational study of incidence, risk factors and correlation with clinical outcome. *Anaesthesia and Intensive Care*, 35(6), 874-880. doi:10.1177/0310057X0703500604

- Sheth, S. B., & Carvalho, A. C. (1991). Protein S and C alterations in acutely III patients. *American Journal of Hematology*, 36(1), 14-19. doi:10.1002/ajh.2830360104
- Singer, M., Deutschman, C. S., Seymour, C. W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., ... & Angus, D. C. (2016). The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *The Journal of the American Medical Association*, 315(8), 801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287
- Spitzer, J. A. (1993). Animal models of endotoxemia and sepsis. *Pathophysiology of Shock, Sepsis, and Organ Failure*, 1108-1118. doi:10.1007/978-3-642-76736-4_74
- Strickland, D. K., & Kessler, C. M. (1987). Biochemical and functional properties of protein C and protein S. *Clinica Chimica Acta*, 170(1), 1-23. doi:10.1016/0009-8981(87)90379-2
- Şen, İ., Coşkun, A., (2008). Lipopolisakkarid (E.Coli) İle Deneyisel Olarak Endotoksemi Oluşturulan Buzağılarda Akut Faz Proteinlerin Klinik Teşhisteki Önemi. Tübitak Proje Sonuç Raporu. Proje no: 106O254
- Tajarernmuang, P., Phrommintikul, A., Limsukon, A., Pothirat, C., & Chittawatanarat, K. (2016). The role of mean platelet volume as a predictor of mortality in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care Research and Practice*, 2016. doi:10.1155/2016/4370834
- Tamayo, E., Fernández, A., Almansa, R., Carrasco, E., Heredia, M., Lajo, C., ... & Bermejo-Martin, J. F. (2011). Pro-and anti-inflammatory responses are regulated simultaneously from the first moments of septic shock. *European Cytokine Network*, 22(2), 82-87. doi:10.1684/ecn.2011.0281
- Tang, B. M., Huang, S. J., & McLean, A. S. (2010). Genome-wide transcription profiling of human sepsis: a systematic review. *Critical Care*, 14, 1-11. doi:10.1186/cc9392
- Templeton, C. B., Bottoms, G. D., Fessler, J. F., & Turek, J. J. (1988). Hemodynamics, plasma eicosanoid concentrations, and plasma biochemical changes in calves given multiple injections of Escherichia coli endotoxin. *American Journal of Veterinary Research*, 49(1), 90-95.
- Thijs, L. G., De Boer, J. P., De Groot, M. C. M., & Hack, C. E. (1993). Coagulation disorders in septic shock. *Intensive Care Medicine*, 19, S8-S15. doi:10.1007/BF01738944

- Thomson, G. W., McSherry, B. J., & Valli, V. E. O. (1974). Endotoxin induced disseminated intravascular coagulation in cattle. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 38(4), 457.
- Van Der Poll, T., Büller, H. R., Ten Cate, H., Wortel, C. H., Bauer, K. A., van Deventer, S. J., ... & Ten Cate, J. W. (1990). Activation of coagulation after administration of tumor necrosis factor to normal subjects. *New England Journal of Medicine*, 322(23), 1622-1627. doi:10.1056/NEJM199006073222302
- Vardon-Bouines, F., Ruiz, S., Gratacap, M. P., Garcia, C., Payrastre, B., & Minville, V. (2019). Platelets are critical key players in sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 3494. doi:10.3390/ijms20143494
- Vélez-Páez, J. L., Legua, P., Vélez-Páez, P., Irigoyen, E., Andrade, H., Jara, A., ... & Baldeón, L. (2022). Mean platelet volume and mean platelet volume to platelet count ratio as predictors of severity and mortality in sepsis. *Plos One*, 17(1), e0262356. doi:10.1371/journal.pone.0262356
- Venkata, C., Kashyap, R., Farmer, J. C., & Afessa, B. (2013). Thrombocytopenia in adult patients with sepsis: incidence, risk factors, and its association with clinical outcome. *Journal of Intensive Care*, 1(1), 1-10. doi:10.1186/2052-0492-1-9
- Yılmaz, Z., Cansev, M., Baykal, A.T., Haçarız, O., Hatipoğlu, İ., Eralp, O., Kocatürk, M., Ulus, İ.H. (2013). Buzağı endotoksemisinin tanı ve tedavisinde yeni yaklaşımlar: Proteomik İnceleme ve İntravenöz Kolin Etkisi. Tübitak Proje Sonuç Raporu. Proje no: 111O026
- Yılmaz, Z., Eralp, O., & Ilcol, Y. O. (2008). Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(2), 159-163. doi:10.1111/j.1939-165X.2008.00023.x
- Yorgancı, K. (2005). Sepsis patofizyolojisi. *Yoğun Bakım Dergisi*, 5, 80-84.
- Yun, S. H., Sim, E. H., Goh, R. Y., Park, J. I., & Han, J. Y. (2016). Platelet activation: the mechanisms and potential biomarkers. *BioMed Research International*, 2016. doi:10.1155/2016/9060143
- Zhang, J., Qiu, Y., He, X., Mao, W., & Han, Z. (2020). Platelet-to-white blood cell ratio: a novel and promising prognostic marker for HBV-associated decompensated cirrhosis. *Journal Of Clinical Laboratory Analysis*, 34(12), e23556. doi:10.1002/jcla.23556