



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE ARTEMİSİNİN VE HİDROKSİKLOROKİN'İN PROİNFLAMATUAR SİTOKİN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mustafa Büyükcavlak

UZMANLIK TEZİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Ateş DUMAN

KONYA 2021

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE ARTEMİSİNİN VE
HİDROKSİKLOROKİN'İN PROİNFLAMATUAR SİTOKİN ÜRETİMİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mustafa Büyükcavlak

UZMANLIK TEZİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Ateş DUMAN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 20122020 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince anestezi ve yoğun bakım disiplinin temel değerlerini öğrendiğim, manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, klinik dışında insani ilişkilerde ve akademik çalışmalarda da yol göstericim olan saygıdeğer hocalarım; başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Jale Bengi ÇELİK ve tez danışmanım Prof. Dr. Ateş DUMAN hocalarım olmak üzere kliniğimiz öğretim üyelerinden Prof. Dr. Bahar Öç, Prof. Dr. İnci KARA, Prof. Dr. Oğuzhan Arun, Doç. Dr. İbrahim Özkan Önal, Doç. Dr. Faruk Çicekci, Doç. Dr. İskender KARA, Doç. Dr. Mehmet SARGIN, Dr. Öğr. Üy. Emine Arslanlar, Dr. Öğr. Üy. Mehmet Selçuk ULUER hocalarıma, tez sürecimde verdiği destekten ötürü Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ali Ünlü, Farmakolog Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN hocalarıma, asistanlığım süresince gece gündüz birlikte çalıştığım asistanlık döneminin stresini ve güzelliğini birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma, anestezi teknikeri arkadaşlarıma, ameliyathane, yoğun bakım, derlenme ünitesi hemşire ve personeli ile bölüm sekreterlerine ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına, beni ve kardeşlerimi yetiştiren, hayatını hayatımıza adayan, her konuda yardım, tecrübe ve desteğini bizden esirgemeyen kıymetli anneciğim Fûrızan Büyükcavlak'a, muhayyilemden bıraktığı kültürel miras ile hayatıma her zaman rehber olan rahmetli babam Nafiz Büyükcavlak'ın manevi şahsına ve daima bana itici güç olan sevgili kardeşlerim Ayşe İriş, Emine Özcan, Ahmet Büyükcavlak'a, kendisini tanıdığım andan itibaren hayatımın en değişilmez parçası olan, varlığında hayatın anlamının vücut bulduğu, eşim Nazife Büyükcavlak'a ve dünyaya geldiği andan itibaren evimizin neşe kaynağı kızım Ayşe Büyükcavlak'a sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	II
RESİM ve ŞEKİL DİZİNİ	V
TABLO DİZİNİ	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.SEPSİS	3
2.1.1.Sepsis Tanımlamaları.....	4
2.1.2.Sepsis Epidemiyolojisi, Etyolojisi ve Risk Faktörleri	12
2.1.3.Sepsis Patofizyolojisi.....	16
2.1.4.Sepsiste Sistemler Ve Klinik	22
2.1.5. Sepsis Tedavisi	26
2.2.SİTOKİNLER	33
2.2.1. TNF- α	35
2.2.2. IL-1	37
2.2.3. IL-6	38
2.2.4. IL-10	39
2.3.İLAÇLAR.....	40
2.3.1.Artemisinin	40
2.3.2.Hidroksiklorokin.....	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. DENEY GRUPLARI VE DENEY PROTOKOLÜ	46
3.1.1. İlaçların Hazırlanması.....	46
3.1.2. Deney Grupların Oluşturulması ve İlaç uygulamaları.....	47
3.2. DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ	48
3.2.1. Biyokimyasal Ölçümler	48
3.2.2. İstatiksel Değerlendirme	49
4. BULGULAR.....	50
4.2. ÇALIŞMA ÇIKTILARI VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	50
4.1.1 IL-1 Sonuçları	52
4.1.2 TNF- α Sonuçları	53
4.1.3 IL-6 Sonuçları	54

4.1.4 IL-10 Sonuçları	56
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ	62
7. KAYNAKLAR	63
8. ÖZET	72
9. EKLER.....	74
EK 1: ETİK KURUL RAPORU	74
10. ÖZGEÇMİŞ	75



RESİM ve ŞEKİL DİZİNİ

Resim 1: Artemisinin ve Türevlerinin Kimyasal Yapısı

Resim 2: Kinin Türevlerinin Tarihsel Gelişimi ve Kimyasal Yapıları

Resim 3: İlaçlar ve Gavaj Uygulaması İçin Ayarlanmış Dozlar

Resim 4: Gavaj ve İP Uygulamalar

Şekil 1: Sepsiste Endotel Hasarı ve Organ Disfonksiyonu

Şekil 2: Sepsis Patofizyolojisi

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: SIRS Kriterleri

Tablo 2: Sepsis İçin Diagnostik Kriterler

Tablo 3: SOFA Skoru

Tablo 4: SSC İlk 1 Saat Demeti

Tablo 5: İnflamasyondaki Rollerine Göre Bazı Sitokinler

Tablo 6: Araştırmaya Katılan Tüm Gruplara Ait Tanımlayıcı İstatistikler ve Tüm Grupların Sitokin Düzeylerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

Tablo 7: Varyansların Homojenliği Değerlendirmesi İçin Yapılan Levene Testi Sonuçları

Tablo 8: IL-1 Ölçümlerine Yönelik Gruplar Arası Farklılık Analizi İçin Uygulanan Testler ve P Değerleri

Tablo 9: TNF- α Ölçümlerine yönelik gruplar arası farklılık analizi için uygulanan Testler ve P Değerleri

Tablo 10: IL-6 Ölçümlerine Yönelik Gruplar Arası Farklılık Analizi İçin Uygulanan Testler ve P Değerleri

Tablo 11: IL-10 Ölçümlerine Yönelik Gruplar Arası Farklılık Analizi İçin Uygulanan Welch F Testi ve P Değeri

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C: Santigrad Derece

ABY: Akut Böbrek Yetmezliği

ACCP: American College of Chest Physicians

ARDS: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

ART: Artemisinin

ATS: Artesunat

cm: Santimetre

CQ: Klorokin

DAMP: Tehlike İlişkili Moleküler Patern

DHA: Dihidroartemisin

dk: Dakika

dl: Desilitre

ESICM: European Society of Intensive Care Medicine

FiO₂: Fraksiyone İnspiratuar Oksijen Konsantrasyonu

HCQ: Hidroksiklorokin

HMGB1: High Mobility Grup Box 1 Protein

HT: Hipertansiyon

IFN- γ : İnterferon Gama

IL: İnterlökin

kg: Kilogram

LPS: Lipopolisakkarit

mg: Miligram

MIF: Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktörü

ml: Mililitre

mm³: Milimetreküp

mmHg: Milimetre Civa

MODS: Çoklu Organ Disfonksiyon Sendromu

NF-κb: Nükleer Faktör Kappa b

ng: Nanogram

NLR: Nod Benzeri Reseptörler

OAB: Ortalama Arteriyel Basıncı

PAMP: Patojen İlişkili Moleküler Patern

PaO₂: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı

pg: pikogram

PMNL: Polimorfnüveli Lökositler

PRR: Patern Tanıma Reseptörü

RLR: Retinoik asitle indüklenebilir gen-I Benzeri Reseptörler

SCCM: Society of Critical Care Medicine

SIRS: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu

SKB: Sistolik Kan Basıncı

sn: Saniye

SOFA: Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assesment

SSC: Surviving Sepsis Campaign

TGF: Transforming Growth Faktör

TH: Yardımcı T Lenfosit

TLR: Toll Benzeri Reseptörler

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü Alfa

YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, enfeksiyona karşı konağın anormal sistemik inflamatuvar yanıtının neden olduğu, yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonuna yol açan bir sendromdur (Singer, Deutschman et al. 2016). Hastanelerde ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Bu nedenle sepsise bağlı ölümü azaltabilecek etkili bir tedavi stratejisi büyük önem arz etmektedir.

Sepsisin patofizyolojisinde son derece karmaşık olaylar rol oynar. Yoğun bakım ünitelerindeki en önemli mortalite nedeni olan sepsisin, son yıllarda insidansında ciddi oranda artış görülmektedir ve daha da artması beklenmektedir. Dünyada yılda 30 milyon civarı insan sepsis öntanısı almakta ve 6 milyon civarı insan bu sebeple ölmektedir (Kara 2019). Aynı zamanda yüksek morbidite oranı ve sağlık hizmetleri maliyetinde ciddi artışa neden olması ile önemli bir halk sağlığı sorunudur.

Sepsis hücre ve doku seviyelerinde çeşitli patofizyolojik mekanizmalarla hasarlara neden olmaktadır. Sitokin fırtınası, endotelial disfonksiyon ve damar geçirgenliğinde artış, vazodilatasyon, doku hipoperfüzyonu, koagülasyon sistemindeki bozukluklar sepsis patofizyolojisinin temelinde yatan en önemli sorunlardandır (Rs and Karl 2003, Cinel and Dellinger 2007, Chousterman, Swirski et al. 2017).

Bağışıklık hücrelerinin gram-negatif bakteriyel hücre duvarı bileşeni lipopolisakkarite (LPS) maruz bırakılması, tümör nekroz faktörü α (TNF α), interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6), makrofaj migrasyon inhibitör faktörü (MIF), high mobility group box 1 protein (HMGB1) gibi birçok iltihabi mediyatör üretimini ve salgılanmasını indüklemektedir. LPS ve LPS ile indüklenen iltihabi sitokinler endotel geçirgenliğini artırmaktadır ve bu da çoklu organ yetmezliğine gidişi hızlandırmaktadır (Chaudhry, Zhou et al. 2013, Schulte, Bernhagen et al. 2013).

Karmaşık patofizyolojisinin tam olarak anlaşılabilmesi ve anormal inflamatuvar yanıtı baskılamak için yeterince efektif ajanlar olmaması nedeniyle, sepsis önemli bir mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Bu nedenle sepsisin önlenmesi ve etkin tedavi edilmesi yoğun bakımlarda mortalite, morbidite oranları ve sağlık hizmetleri maliyetlerinin azaltılması adına önem arz etmektedir.

Bakteriyel LPS'ler abartılı inflamatuvar yanıtı neden olduğu bilinen ana patojenik moleküllerdendir. Bu inflamatuvar yanıt sonucu ortaya çıkan sitokin fırtınası sepsisin önemli bir patolojik basamağıdır (Chousterman, Swirski et al. 2017).

Artemisinin (ART) geleneksel Çin tıbbında kullanılan bitkisel kaynaklı etkili bir bileşendir. Klinikte insan üzerinde ve preklinik olarak yapılan birçok çalışmada ART'in antiinflamatuvar, antimalaryal, immünomodülatör, antitümör aktivite gibi birçok biyolojik etkisinin olduğunu göstermiştir (Dai, Zhou et al. 2017).

Hidroksiklorokin (HCQ) birçok hastalığın tedavisinde denenmiş immünsüpresif, immünomodülatör, antiviral ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu bilinen klasik bilgi olarak bir antimalaryal ilaçtır (Al-Bari 2015). Biz bu çalışmada ratlarda bakteriyel LPS ile deneysel sepsis modellemesi oluşturarak, antiinflamatuvar etkinliği bilinen ART ve HCQ ilaçlarının, sepsis patofizyolojisinde önemli yer tutan proinflamatuvar sitokin üretimi ve salgılanması üzerine kısa süredeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.SEPSİS

Sepsis terimi Yunanca kökenlidir ve “bitkisel veya hayvansal organik maddelerin bakteri varlığında bozunması, ayrışması” anlamında eski Yunan kaynaklarında geçmektedir. Sepsis teriminin kökenine ışık tutacak “sepo” fiiline ilk defa Antik Yunan’da Homeros’un şiirlerinde rastlanmaktadır ve “çürümek” anlamında kullanılmıştır. Hipokrat Koleksiyonu’nda ise “bağlantıların bozunması, çürümesi” anlamında “sepidon” kelimesi görülmektedir. Daha sonraları Galen ve Aristoteles tarafından sepsis kelimesinin Hipokrat ile aynı anlamda kullanıldığı görülmektedir. Sepsis kelimesi 2500 yılı aşkın bir süreden bu yana birbirine yakın anlamlarla kullanılagelmıştır (Geroulanos and Douka 2006).

"Küçük görünmez canlıların" aracılık ettiği hastalığın ilk tanımları milattan önce 2. yüzyılda yapılmış ve bunu bulaşma ve izolasyon kavramlarının ortaya atılması izlemiştir. Canlı bakterilerin ilk belgelenmiş gözlemleri, 1674'te van Leeuwenhoek tarafından yapılmıştır. Ancak, enfeksiyöz hastalık, etiyolojisi ve patogenezi arasındaki ilişki tam olarak ortaya konamamıştır. Sepsisin modern tanımının temeli Hugo Schottmuller tarafından, 1914 yılında atılmış ve enfeksiyon varlığının hastalığın temel bir bileşeni olduğunu açıklayan ilk kişi olmuştur (Singh and Evans 2006).

1800’lerde Semmelweis el yıkamanın puerperal sepsisi azalttığını gözlemlemiştir. Lister ise aynı yıllarda yayınlanan Pasteur’ün germ teorisi prensiplerinden esinlenerek cerrahi yaralara karboksilik asit ile pansuman yaparak postoperatif sepsis oranını önemli ölçüde azaltıp cerrahi dezenfeksiyon ve antisepsiyon ilkelerinin temellerini atmıştır. 1800’lerin sonları 1900’lerin başlarında Ludwig Brieger ekzotoksinleri, Richard Pfeiffer ise endotoksinleri tanımlamıştır (Funk, Parrillo et al. 2009).

Konakçının enfeksiyona verdiği tepkinin önemi ilk olarak 1880’lerde tanımlanmış ve hücre aracılı ve humoral bağışıklık açısından ayrı ayrı sınıflandırılmıştır. (Singh and Evans 2006). Rich ve Lewis'in 1932 yılında nötrofil ve makrofaj migrasyonunun antijen aracılı inhibisyonunu gözlemlmeleri sitokinlere yönelik bilinen ilk çalışmadır (Oppenheim 2003). Sonraki yıllarda bu alanda artarak

yapılan çalışmalarda keşfedilen moleküllere genel kapsayıcı bir kavram olarak sitokin adı 1980'li yıllarda Cohen tarafından verilmiştir (Cohen, Bigazzi et al. 1974).

20. yüzyılın başında antibiyotiklerin ve aşılanmanın keşfinin sepsisi ortadan kaldırma potansiyeline rağmen sepsis önemli bir medikal sorun olmaya devam etmektedir.

2.1.1.Sepsis Tanımlamaları

Sepsis, enfeksiyon ve bakteriyemiden başlayarak, septik şok ve bunun sonucunda oluşan çoklu organ disfonksiyon sendromu (MODS) ve ölüme kadar ilerleyebilen klinik durumlara neden olan bir hastalıktır. Sepsis terimi yıllar boyunca geniş bir dizi tıbbi durumu tanımlamak için kullanılmıştır. 1990 öncesinde yapılan çalışmalarda ortak bir terminoloji olmaması nedeniyle birçok sorun ortaya çıkmış bu nedenle sepsis ve septik şok tanımları 1990'lı yılların başından beri hızla değişerek gelişmiştir(Bone, Balk et al. 1992, Levy, Fink et al. 2003, Annane, Bellissant et al. 2005, Seymour, Liu et al. 2016, Shankar-Hari, Phillips et al. 2016, Singer, Deutschman et al. 2016).

Literatürde net bir tanım olmaması nedeniyle klinisyenler ve araştırmacılar arasında kullanılacak standardize edilmiş bir terminoloji oluşturmak amacıyla "American College of Chest Physicians (ACCP)" ve "Society of Critical Care Medicine (SCCM)" tarafından 1991 yılında konferans düzenlenmiş ve bazı tanımlamalar getirilmiştir. Bu konferansta önceleri kullanılan sepsisemi, septik sendrom gibi nonspesifik ifadeler kullanımdan çıkarılmış olup kullanılması önerilen enfeksiyon, bakteriyemi, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), sepsis, şiddetli sepsis, septik şok, sepsise bağlı hipotansiyon ve MODS terimlerinin tanımlamaları 1992 yılında yayımlanmıştır(Bone, Balk et al. 1992). Buna göre;

Enfeksiyon: Mikroorganizmaların varlığına inflamatuvar yanıt veya bu mikroorganizmalar tarafından steril dokunun istilası ile karakterize mikrobik fenomendir.

Bakteriyemi: Kanda canlı bakteri bulunmasıdır.

SIRS: Bir dizi ciddi enfeksiyöz veya nonenfeksiyöz klinik duruma karşı sistemik inflamatuvar yanıttır. Sistemik inflamatuvar yanıt aşağıdakilerden kriterlerden iki ya da daha fazlasının saptanmasıyla belirlenir (Tablo 1).

Tablo 1: SIRS Kriterleri(Bone, Balk et al. 1992)

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

Sepsis: Enfeksiyona sistemik inflamatuvar yanıttır. SIRS ile birlikte enfeksiyon varlığı olarak tanımlanmıştır.

Sepsise Bağlı Hipotansiyon: Sistolik kan basıncı (SKB)'nın $<90 \text{ mmHg}$ olması veya hipotansiyona yol açacak farklı neden yokken SKB'da başlangıca göre 40 mmHg 'dan fazla azalma olmasıdır.

Şiddetli Sepsis: Sepsis ile birlikte sepsis kaynaklı organ disfonksiyonu, hipotansiyon ya da doku hipoperfüzyonudur. Doku hipoperfüzyonu bulguları; laktik asit artışı, oligüri ve akut mental durum değişikliğini içeren bir takım anormalliklerdir.

Septik Şok: Yeterli sıvı resusitasyonuna rağmen doku hipoperfüzyonu bulguları ile birlikte sepsise bağlı hipotansiyon durumudur.

Çoklu Organ Disfonksiyon Sendromu (MODS): Akut hastada müdahale olmaksızın homeostazın sürdürülemeyeceği şekilde ilerleyici organ fonksiyon bozukluğudur.

Bu tanımlamalar ile birlikte, özellikle SIRS'ın nonspesifik doğası ve enfeksiyon dışında ki durumlarda ortaya (örn: pankreatit, yanık, travma, otoimmün bozukluklar, vaskülit, tromboembolizm) çıkabilmesi nedeniyle yeni tartışmalar ortaya çıkmıştır. Yayınlanmalarından kısa bir süre sonra, 1991 tanımlarının birincil mimarı Roger Bone, kompensatuar antiinflamatuvar yanıt sendromu olan CARS'ın varlığını öne sürerken, diğer katılımcılar bu bulgunun organ disfonksiyonu ile tutarlı olmadığını ve organ fonksiyonundaki değişikliklerin hayatta kalmayla düzeltildiğini düşünmüşlerdir (Bone 1996). Devam eden tartışmalar tanımlamalarının revize edilmesi gereksinimini ortaya çıkarmıştır ve yapılan yeni çalışmalar ışığında tanımlamaları gözden geçirmek amacıyla 2001 yılında “Uluslararası Sepsis Tanımlamaları Konferansı” düzenlenmiştir ve sonuçları 2003 yılında yayınlanmıştır. Sepsis tanımlamaları için düzenlenen bu ikinci uzlaşma konferansında, SIRS kriterlerinin genişletilmiş hali özelliğinde olan ve bunlara ek olarak sistemik inflamatuvar yanıtın bulguları olabilecek diğer klinik bulguların yanında biyokimyasal parametreleri, laboratuvar anormalliklerini ve organ disfonksiyonu bulgularını da içeren “sepsis için diagnostik kriterler” belirtilmiştir (Tablo 2) (Levy, Fink et al. 2003).

Tablo 2: Sepsis İçin Diagnostik Kriterler (Levy, Fink et al. 2003)

Şüpheli veya kesin enfeksiyon ile beraber aşağıdaki bulgulardan bazıları

GENEL KRİTERLER

- Vücut ısı $> 38.3^{\circ}\text{C}$ veya $< 36^{\circ}\text{C}$
- Kalp hızı > 90 atım/dk veya yaşa göre normal değerin 2 SS üstü
- Takipne
- Mental durum değişikliği
- Belirgin ödem veya pozitif sıvı dengesi (24 saatte $> 20\text{ml/kg}$ üzerinde)
- Diyabeti olmayan hastalarda hiperglisemi (plazma glikozu >120 mg/dl)

HEMODİNAMİK KRİTERLER

- Arteriyel hipotansiyon (SKB <90 mmHg, OAB <70 mmHg olması, erişkinde SKB 'nda > 40 mmHg düşüş veya yaş için normal olanın 2 SS altı)
- Miks Venöz Oksijen Satürasyonu (SvO₂) $> \%70$
- Kardiyak indeks $<3,5$ L/dk/m²

İNFLAMATUAR KRİTERLER

- Lokosit sayısının $<4000 / \text{mm}^3$ veya $>12.000 / \text{mm}^3$ olması veya
- Normal Lökosit sayısına rağmen $>\% 10$ immatur band form görülmesi
- Plazma C-reaktif protein normal değerin 2 SS üstü
- Plazma prokalsitonin normal değerin 2 SS üstü

DOKU PERFÜZYON KRİTERLERİ

- Hiperlaktatemi ($>1 \text{ mmol/L}$)
- Kapiller dolumun azalması veya mottling oluşumu

ORGAN DİSFONKSİYONU KRİTERLERİ:

- Arteriyel hipoksemi ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)
- Akut oligüri (yeterli sıvı verilmesine karşın en az 2 saat boyunca idrar miktarının $0,5 \text{ mL/kg/saat}$ 'in altında olması)
- Kreatinin artışı ($>0,5 \text{ mg/dl}$)
- Koagülasyon anormallikleri ($\text{INR} > 1,5$ veya $\text{aPTT} > 60 \text{ sn.}$)
- İleus
- Trombositopeni ($<100.000 / \text{mm}^3$)
- Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin $>4 \text{ mg/dl}$)

SS: Standart Sapma, OAB: Ortalama Arteriyel Basınç, SKB: Sistolik Kan Basıncı, SvO₂: Miks Venöz Oksijen Saturasyonu, PaO₂: Arteriyel Oksijen Basıncı, FiO₂: Fraksiyone İnspiratuar Oksijen Konsantrasyonu

Bu toplantıda ilk toplantıdaki sepsis ve şiddetli sepsis tanımları büyük oranda aynı kalmış olup, 1991 tanımlarından farklı olarak hastalarda sistemik inflamatuvar yanıt bulguları ile birlikte kesin enfeksiyon varlığının yanında şüpheli enfeksiyon varlığının da sepsisi kuvvetle düşündürmesi gerektiği özellikle vurgulanmıştır. Septik şok için daha belirgin olan “diğer nedenlerle açıklanamayan kalıcı arteriyel hipotansiyon ile karakterize bir akut dolaşım yetmezliği durumu” tanımı kullanılmıştır. Hipotansiyon ise, “yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen 90 mmHg'nin altındaki SKB, 60 mmHg'nin altındaki OAB veya sistolik kan basıncında başlangıca göre 40 mmHg azalma” olarak tanımlanmıştır. SIRS kriterleri korunmakla beraber, nonenfeksiyöz durumlarda (örn. pankreatit, yanık) ortaya çıkabilmesi nedeniyle

sepsisi tanımlamada yeterli faydayı sağlayacak kadar spesifik olmadığından ve enfeksiyona farklı bir konakçı yanıtını belirlemede yetersiz olduğundan bahsedilmiştir. Bu nedenle sepsisi düşündürecek, erken tanıya imkan sağlayacak, tanısal spesifiteyi artıracak geniş bir “sepsis için diagnostik kriterler listesi” tanımlanmıştır. Bu listede sistemik enflamasyonun klinik bulgularının yanında immünolojik ve biyokimyasal belirteçlere yer verilmiştir. Gelecekte inflamatuvar yanıt düşünmede klinik bulgulardan daha ziyade biyokimyasal ve immünolojik kriterlerin yararlı olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca hemodinamik bulgular ve hipoperfüzyona özel önem verilmiştir. Hiperglisemi gibi endokrin parametrelere ve organ disfonksiyonunu düşündüren bulgulara yer verilmiştir. Organ disfonksiyonunu gösteren bulguların klinisyenler tarafından not edilen ilk semptomlar olabileceğinden ve yatakbaşı, erken tanıya yardımcı olacağından bahsedilmiştir. Yatakbaşı erken ve doğru tanının kritik öneme sahip olduğu bildirilmiştir. Listedeki kriterlerin hiçbirinin sepsis için spesifik olmadığını tek başlarına birçok hastalıkta görülebileceği özellikle vurgulanmıştır. Bir uygulayıcının listedeki bulgulardan herhangi birisini sepsis tanısına dahil etmesi için bu bulgunun diğer nedenlerle kolayca açıklanamaması gerektiğine önem atfedilmiştir. Ayrıca bu konferansta artık günümüzde kullanılmayan sepsisin evrelemesinde kullanılması düşünülen “PIRO evrelemesi” sisteminden bahsedilmiştir (Levy, Fink et al. 2003).

2001 yılındaki toplantıya rağmen sepsis ile alakalı bilgiler ve tartışmalar günden güne artmaktaydı. Birçok araştırmacıya göre SIRS, tehlikeye normal bir yanıt olan enflamasyonu yansıtmaktaydı ve bu nedenle ne patolojik ne de sadece enfeksiyona bağlıydı. Kesin veya şüpheli enfeksiyon varlığında iki veya daha fazla SIRS kriterinin pozitif olmasının sepsis olarak tanımlanması sorunluydu. Gaieski ve ark 2001 yılı sepsis tanımını kullanarak, aynı hasta popülasyonuna farklı ayırma yöntemleri uyguladığında sepsis insidansında 3,5 kat, hastane mortalitesinde iki kat varyasyon bulmuşlardı (Gaieski, Edwards et al. 2013). Kaukonen ve ark’nın yaptığı araştırmada ise enfeksiyon ve organ yetmezliği ile yoğun bakım ünitelerine kabul edilen önemli sayıda hastanın SIRS kriterlerini karşılamadığını gösterilmiştir (Kaukonen, Bailey et al. 2015). Ayrıca SIRS kriterlerinin, hastanede yatan ve enfeksiyon geliştirmeyen birçok hastada mevcut olduğuna ve SOFA skoru gibi diğer skorlarla karşılaştırıldığında enfekte hastada ölümü tahmin etme yeteneğinin zayıf olduğuna dair çalışmalar ortaya konmuştur (Churpek, Zdravetz et al. 2015,

Kaukonen, Bailey et al. 2015, Seymour, Liu et al. 2016). Bu nedenle SIRS kriterleri kullanımı birçok uzman tarafından gözden düşmüştür.

Devam eden tartışmalar nedeniyle 2014 yılında “Society of Critical Care Medicine (SCCM)” ve “European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)” derneklerinin desteği ile yeni çalışmalar sonucu güncellenen bilgiler ışığında sepsis ve ilişkili tanımların yenilenmesi amacıyla, 19 kişilik bir özel görev grubu oluşturulmuştur. Görev grubu, çalışmalar sonucu ortaya çıkan nihai ortak kararlarını 2016’da yayınlamışlardır (Singer, Deutschman et al. 2016). Bu yayın “Sepsis-3” olarak adlandırıldığından 1991 ve 2001 yıllarında düzenlenen sepsis uzlaş toplantılarının sonuçları “Sepsis-1” ve “Sepsis-2” olarak anılmaktadır.

Sepsis tanımlamalarına yönelik en güncel kaynak olan Sepsis-3’te önceki tanımların kısıtlılıkları arasında inflamasyona aşırı odaklanma, sepsisin şiddetli sepsisten septik şoka kadar bir süreç izlediğini belirten yanıltıcı model ve SIRS kriterlerinin yetersiz özgüllüğü ve duyarlılığının olduğu bildirilmiştir (Singer, Deutschman et al. 2016).

Sepsis-3’te sepsisin yeni tanımı, enfeksiyona düzensiz konak tepkisi sonucu ortaya çıkan hayatı tehdit eden organ disfonksiyonu olarak bildirilmiştir. 1991 yılından beri sepsis tanımında yer alan SIRS çıkarılmıştır. Ayrıca klinik kullanılabilirlik açısından; organ disfonksiyonu, “Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment (SOFA)” skorunda 2 ve üzeri artış şeklinde net olarak tanımlanmıştır (Tablo 3) (Singer, Deutschman et al. 2016).

Tablo 3: SOFA Skoru (Vincent, Moreno et al. 1996)

SOFA SKORU	1	2	3	4
SOLUNUM				
PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	<400	<300	<200	<100
KOGÜLASYON				
Trombosit(10 ³ /mm ³)	<150	<100	<50	<20
KARACİĞER				
Bilirubin(mg/dl)	1.2-1.9	2-5.9	6-11.9	>12

SSS				
Glaskow Koma Skalası	13-14	10-12	6-9	<6
BÖBREK				
Kreatin(mg/dl) ya da idrar çıkışı(L/gün)	1.2-1.9	2-3.4	3.5-4.9 ya da <500 ml/gün	>5 ya da <200 ml/gün
KARDİYOVASKÜLER				
Hipotansiyon	OAB<70 mmHg	Dopamin veya dobutamin $\leq 5^*$	dopamin >5* adrenalin $\leq 0,1^*$ noradrenalin $\leq 0,1^*$	dopamin >15* adrenalin >0,1* noradrenalin >0,1*

* : Son 1 saattir belirtilen $\mu\text{g kg}^{-1} \text{dk}^{-1}$ dozunda vazopressör ajan verilmesine rağmen OAB

PaO₂: Arteriyel Oksijen Basıncı, FiO₂: Fraksiyone İnspiratuar Oksijen Konsantrasyonu, OAB: Ortalama Arteriyel Basınç, SSS: Santral Sinir Sistemi

Önemli olarak, SOFA skoru bir organ disfonksiyon skorudur. Tek başına sepsis için tanı koydurucu değildir ve organ disfonksiyonunun gerçekten enfeksiyona bağlı olup olmadığını tanımlamaz, bunun yerine potansiyel olarak enfeksiyondan ölme riski yüksek olan hastaların belirlenmesine yardımcı olur ve genel olarak daha yüksek SOFA skoru daha yüksek ölümle ilişkilidir (Vincent, De Mendonça et al. 1998). Ek olarak, bireysel tedavi stratejilerini belirlemez ve demografik özelliklere veya altta yatan duruma dayalı ölüm oranını tahmin etmez.

Sepsis tanımında organ disfonksiyonunun direk var olması nedeniyle “şiddetli sepsis” tanımı da “Sepsis-3” tanımlarıyla kaldırılmıştır.

Septik şok ise, ciddi dolaşımsal, hücresel ve metabolik anormalliklerin olduğu, tek başına sepsise göre daha büyük bir mortalite ile ilişkili olan bir sepsis alt kümesi olarak tanımlanmıştır. Klinik olarak yeterli sıvı replasmanına rağmen, ortalama arteriyel basıncı 65 mmHg’ın üzerinde tutmak için vazopressör gereksinimi ve serum laktat düzeyinin 2 mmol/L’den yüksek olması olarak belirlenmiştir. Bu kombinasyon, %40’ın üzerindeki hastane ölüm oranları ile ilişkilidir (Shankar-Hari, Phillips et al. 2016, Singer, Deutschman et al. 2016).

Sepsis-3'te SIRS'in tanımlamalardan çıkarılmasıyla inflamatuvar süreç eski önemini kaybederek dikkatler daha çok enfeksiyona, organ disfonksiyonlarına ve sepsisin erken tanınip zamanında tedavi edilmesine çekilmiştir. Yeni tanımlama ile birlikte enfeksiyon ile başvuran bir hastada organ disfonksiyonunun araştırılmasının veya tersine organ disfonksiyonu olan hastada enfeksiyon odağı araştırılmasının sepsisin erken tanınması açısından önemli olduğu vurgulanmıştır.

Görev grubu tarafından acil servislerde, normal servislerde veya hastane dışında, enfeksiyon şüphesi olan yetişkin hastalarda, potansiyel olarak kötü sonuçlara sahip olma olasılığının yüksek olduğu sepsisi hızlı tanımlamak için erken tanıya imkan sağlayan “quick SOFA (qSOFA)” olarak adlandırılan yeni bir yatak başı klinik skoru kullanımı önerilmiştir(Seymour, Liu et al. 2016, Singer, Deutschman et al. 2016). Buna göre kanıtlanmış veya şüpheli enfeksiyonu olan hastalar aşağıdaki klinik kriterlerden en az 2'sine sahiplerse sepsis kötü sonuçlarla ilişkilidir.

qSOFA kriterleri:

- 22/dk veya daha yüksek solunum hızı,
- Mental durum değişikliği (GKS ≤ 13)
- Sistolik kan basıncı ≤ 100 mmHg

qSOFA skoru ilk olarak 2016 yılında yoğun bakım ünitesi (YBÜ) dışında sepsis olduğundan şüphelenilen hastalarda en faydalı yöntem olarak doğrulanmıştır (Seymour, Liu et al. 2016). O zamandan beri, YBÜ dışındaki hastalarada sepsis ve sepsise bağlı ölüm riskini doğru bir şekilde teşhis etme veya tahmin etme becerisine ilişkin çeşitli ortamlarda ileriye dönük olarak çalışılmıştır. qSOFA'nın SIRS kriterleri veya ulusal erken uyarı skoru (NEWS) gibi diğer mortalite prediktörleri ile karşılaştırmalı performansını gösteren ve sepsis teşhisini koymadaki başarısını açıklayan veriler çelişkilidir (Churpek, Snyder et al. 2017, Freund, Lemachatti et al. 2017, Haydar, Spanier et al. 2017, Goulden, Hoyle et al. 2018, Hwang, Jo et al. 2018).

qSOFA'nın klinisyenler için bir teşhis aracı olarak değil, sepsisten ölüm riskini hesaplayan bir öngörü aracı olarak tasarlandığı akılda tutulmalıdır. qSOFA en iyi şekilde, uygulayıcıları potansiyel organ disfonksiyonu veya enfeksiyon konusunda uyarmak, uygun tedavi ihtiyacını belirlemek ve daha yüksek bir bakım

düzeyinin uygun olabileceğini düşünmek için kullanılır (Deutschman and Neligan 2015).

“Sepsis-3” tanımları en güncel bilgiler ışığında klinisyenlere tanı koymada ve araştırmacılara yapacakları çalışmalarda standardizasyon sunmayı amaçlamıştır fakat dünya genelinde fikir birliği hakim değildir. Bazı merkezler halen sepsis-1 ve sepsis-2 tanımlamalarını kullanmaya devam etmektedir.

2.1.2.Sepsis Epidemiyolojisi, Etyolojisi ve Risk Faktörleri

Epidemiyoloji

Gelişen tedavi protokolleri, tıbbi ekipmanlardaki teknolojik ilerlemelere rağmen sepsis dünya çapında majör bir mortalite ve morbidite kaynağı olmaya devam etmektedir. ABD’de yapılan bir çalışmaya göre yıllık 750.000 civarı hasta ve hasta başına 50.000 dolara ulaşan maliyetler nedeniyle yetişkinlerde en fazla sağlık maliyetine sebep olan klinik durumdur (Angus, Linde-Zwirble et al. 2001).

Sepsis ile ilgili bildirilen insidans verileri kullanılan spesifik tanım, enfekte eden organizma, raporlama mekanizması, organ desteği veya yoğun bakım gerekliliği gibi bazı faktörlere bağlıdır. Bu faktörler, hastalıkla ilgili tahminlerde ve farklı coğrafi konumlar arasında belirgin farklılıklara neden olur (Cecconi, Evans et al. 2018). Bu nedenle dünya genelinde gerçek sepsis insidansı tam olarak bilinmemektedir.

Ülkemizde sepsis ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar oldukça azdır. 94 merkezden 132 YBÜ’nin katıldığı yakın tarihli bir çalışmada 1499 hasta değerlendirilmiş ve çalışmada enfeksiyon oranı %57, sepsis oranı %34,8, septik şok oranı %6,9 olarak bildirilmiştir. Mortalite oranının ise enfeksiyondan septik şoka doğru giderek arttığı ve septik şok olan hastalarda %75,9 olduğu bildirilmiştir(Baykara, Akalın et al. 2018).

Birçok çalışma yıllar içerisinde sepsis insidansının giderek arttığını bildirmektedir. Sepsis insidansındaki artışın olası nedenleri arasında yaşlanan nüfus, uzamış yoğun bakım yatışları, immünsupresyon ve ilaca dirençli enfeksiyonlar sayılabilir (Danai and Martin 2005, Blanco, Muriel-Bombín et al. 2008, Esper and Martin 2009, Kaukonen, Bailey et al. 2014). Ayrıca son yıllarda artan sepsis eğitimi

ve farkındalık kampanyalarıyla erken tanı sayısının artmasının da etkisi olduğu düşünülmektedir.

Angus ve ark tarafından 2001'de ABD'de yapılan çalışmada şiddetli sepsis insidansının 100.000 kişi başına 300 vaka olduğu ve bunun yılda 750.000'den fazla vakaya eşdeğer olduğu bildirilmiştir (Angus, Linde-Zwirble et al. 2001). Bir başka çalışmada ise, 100 hastaneye başvuru başına yaklaşık iki vakada sepsis görüldüğü ve tüm YBÜ hastalarının yaklaşık %10'unda sepsis görüldüğü bildirilmiştir (Sands, Bates et al. 1997, Linde-Zwirble and Angus 2004). Veriler, sepsisin ABD'deki tüm hastane içi ölümlerin üçte biri ila yarısına katkıda bulunduğunu göstermektedir (Wheeler and Bernard 1999, Liu, Escobar et al. 2014) .

Sepsis farkındalığında artış sağlayan kampanyalar ve özellikle “Surviving Sepsis Campaign (SSC)” tedavi kılavuzunun yayınlanmasının ardından sepsis insidansında artış mortalitesinde ise azalma meydana gelmiştir. SSC verilerine göre mortalite oranı Avrupa’da %41, ABD’de %28,3 olarak saptanmıştır (Levy, Artigas et al. 2012). Kaukonen ve ark yaptıkları çalışmada mortalite oranlarının düşme eğiliminde olduğunu ve son olarak %20 civarına indiğini rapor etmişlerdir (Kaukonen, Bailey et al. 2014). Literatürde bildirilem değişken mortalite hızlarına rağmen genel olarak organ disfonksiyonu sayısı arttıkça mortalite hızı artmaktadır.

Yakın zamanda yapılan çok uluslu, büyük çaplı “The Intensive Care Over Nations (ICON)” çalışması, YBÜ hastalarında sepsise ilişkin küresel epidemiyolojik veriler sağlamıştır. 10069 hastanın %29,5’inde YBÜ’ne kabul sırasında veya YBÜ’de yatış sırasında sepsis olduğunu, sepsisli hastalarda YBÜ mortalitesinin %25,8 ve hastane mortalitesinin %35,3 olduğunu ve bunun genel YBÜ popülasyonuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Vincent, Marshall et al. 2014).

Genel olarak, maternal ve neonatal sepsis haricinde sepsis insidansının önemli ölçüde eksik bildirildiği ve insidansın artmaya devam edeceği düşünülmektedir. Sepsis insidansını dair verilerin çoğu, yılda 2.8 milyon ölümün sepsise atfedilebildiği gelişmiş ülkelerdendir. Ancak sepsise bağlı ölümlerin çoğu, sepsis insidansını doğru bir şekilde tahmin etmenin zor olduğu az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelere meydana gelmektedir. Mevcut literatür, dünya çapında

göğüs enfeksiyonlarından kaynaklanan ölümlerin çok önemli kısmının düşük kaynaklara sahip ortamlarda meydana geldiğini göstermektedir

Sepsis insidansı, farklı ırksal ve etnik gruplar arasında değişmekle birlikte, Afro-amerikan erkekler arasında en yüksektir (Martin, Mannino et al. 2003).İnsidans, muhtemelen solunum yolu enfeksiyonlarının artan prevalansına bağlı olarak kış aylarında da en yüksektir (Danai, Sinha et al. 2007).

Tüm sepsis hastalarının çoğunluğunu, 65 yaş ve üstü yaşlı hastalar oluşturmaktadır; Artan yaşlı nüfusla birlikte, gelecekte sepsis insidansının artmaya devam etmesi muhtemeldir (Angus, Linde-Zwirble et al. 2001, Martin, Mannino et al. 2003, Kaukonen, Bailey et al. 2014).

Etyoloji

Sepsis, neredeyse tüm enfeksiyöz organizmalardan kaynaklanabilir. Bu nedenle, sendromun prezentasyonu çok geniştir ve coğrafi bölgeler arasında önemli ölçüde değişir.

Sepsis, toplum veya hastane kaynaklı olabilir. Hastanede tedavi edilen sepsis vakalarının yaklaşık %80'i toplum kaynaklıdır. Sepsise yol açan en yaygın enfeksiyon odağı akciğerdir (vakaların %64'ü), bunu abdomen (%20), kan dolaşımı (%15), böbrek ve genitoüriner yol (%14) izler (Vincent, Sakr et al. 2006, Karlsson, Varpula et al. 2007, Vincent, Rello et al. 2009).

Çeşitli enfeksiyöz organizmaların sepsis yüküne katkısı zaman içerisinde değişmiştir. 1980 öncesinin aksine günümüzde gram pozitif bakteriyel enfeksiyonlar gram negatiflerden daha yaygın görülebilmektedir. Bunun yanında fungal sepsis insidansı son on yılda artmıştır, ancak bakteriyel sepsisten daha düşüktür (Martin, Mannino et al. 2003). “The Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients (SOAP)” çalışması, sepsisli hastalar arasında gram pozitif ve gram negatif bakteriyel enfeksiyonların neredeyse eşit olduğunu bildirmiştir (Vincent, Sakr et al. 2006). Bununla birlikte, “The Intensive Care Over Nations” çalışması ise, gram negatif bakteriyel enfeksiyonların gram pozitif bakteriyel enfeksiyonlardan daha yaygın olduğunu bildirmiştir (Vincent, Marshall et al. 2014). Sepsis vakalarının üçte biri ila

yarısı kültür negatif sepsistir ve bir organizma tanımlanmaz (Wheeler and Bernard 1999, Gupta, Sakhuja et al. 2016).

En sık tanımlanan organizmalar gram pozitif mikroorganizmalardan staphylococcus aureusdur, gram negatif olanlardan pseudomonas türleri ve escherichia colidir. Bunun yanında streptococcus pyogenes, streptococcus pneumonia, koagülaz negatif stafilokok, enterokok ve klebsiella enfeksiyonları da sık görülür (Vincent, Rello et al. 2009, Vincent, Marshall et al. 2014). Fungal sepsislerde ise candida türleri ön plandadır (Ellepola and Morrison 2005).

Risk Faktörleri

Sepsis gelişimi için predispozan risk faktörlerinin çoğu, hastanın enfeksiyona yatkınlığına odaklanmıştır. Kadın cinsiyet, immün yetkinliğin oluşmadığı çok genç veya bozulduğu çok ileri yaş, immüniteyi baskılayan hastalıklar ve ilaçlar (AIDS, steroid kullanımı v.b.), kanser, diyabet, alkol bağımlılığı, kalıcı kateter kullanımı, cilt bütünlüğünün değişmesini içeren koşulların tümü (yanık, travma v.b.), yoğun bakım yatışı, parenteral beslenme, intravasküler veya üriner kateterizasyon, uzamış entübsasyon, diyaliz ve diğer ekstrakorporal dolaşım sistemlerinin uygulanması hastaları enfeksiyona yatkın hale getirir (Vincent, Bihari et al. 1995, Vincent, Sakr et al. 2006, Dellinger, Levy et al. 2013, Cecconi, Evans et al. 2018). Ayrıca bireysel komorbiditeler ve konak genetik faktörleri de enfeksiyon için risk faktörlerindendir. Konak genetiği enfeksiyon kapma riskinin yanı sıra enfeksiyondan sepsis gelişme riskini de etkilemektedir. Çok sayıda çalışma, tek nükleotid polimorfizmlerinin (TNF α alfa ve toll like reseptörlerini içerenler v.b.) enfeksiyon ve sepsis gelişimindeki etkilerini incelemiştir (O'Keefe, Hybki et al. 2002, Thompson, Holden et al. 2014).

Sepsis için risk faktörleri aşağıdakileri içerir:

- Genetik faktörler - Hem deneysel hem de klinik çalışmalar, genetik faktörlerin enfeksiyon riskini artırabileceğini doğrulamıştır.
- İleri yaş (≥ 65 yaş) - Yaşlı hastalarda sepsis insidansı belirgin olarak artar. Ayrıca yaş arttıkça olumsuz sonuçlar ve morbidite artar (Martin, Mannino et al. 2006).

- Bakteriyemi - Enfeksiyona sistemik yanıt gelişme oranı bakteriyemili hastalarda genellikle yüksektir. 270 kan kültürü örneğini içeren bir çalışmada, pozitif kan kültürlerinin yüzde 95'i sepsis veya septik şok ile ilişkilendirilmiştir (Jones and Lowes 1996).

- Daha önce hastaneye yatış – Daha önce hastaneye yatırılmanın, özellikle antibiyotiklerle tedavi edilen hastalarda, değişmiş bir insan mikrobiyotasına neden olduğu düşünülmektedir. Hastane yatışı sonraki 90 gün içinde üç kat artmış sepsis riski ile ilişkilendirilmiştir (Prescott, Dickson et al. 2015).

- Yoğun bakım ünitesi yatışı - YBÜ hastalarının nozokomiyal enfeksiyona sahip olma oranı yüksektir ve bu nedenle doğal olarak sepsis için yüksek risk altındadırlar (Vincent, Bihari et al. 1995).

- İmmünosupresyon - Konak savunmasını baskılayan komorbiditeler (AIDS, malignite, immün yetmezlik, karaciğer yetmezliği, böbrek yetmezliği, splenektomi v.b) ve immünosupresif ilaç kullanımı sepsis veya septik şok hastaları arasında yaygındır (Williams, Braun et al. 2004).

- Diyabet ve obezite - Diyabet ve obezite bağışıklık sistemini değiştirerek sepsis geliştirme riskinin artmasına neden olabilir. Hem obezite hem de tip 2 diyabet, sepsise yol açan tekrarlayan, nozokomiyal ve sekonder enfeksiyon riskinde artış ile ilişkilidir. YBÜ'nde obez hastalarda normal kilolu hastalara kıyasla, ventilatörle ilişkili pnömoni, santral venöz kateterle ilişkili enfeksiyonlar gibi sepsise yol açan enfeksiyöz komplikasyonlar daha yüksektir (Falagas and Kompoti 2006).

- Toplum kökenli pnömoni - Toplum kökenli pnömoni ile hastaneye yatırılan hastaların önemli bir kısmında sepsis ve septik şok gelişir (Dremsizov, Clermont et al. 2006).

2.1.3.Sepsis Patofizyolojisi

Enfeksiyona karşı normal konak yanıtı, mikroorganizma invazyonunu lokalize edip kontrol altına alan ve hasarlı dokunun onarımını başlatan oldukça karmaşık bir süreçtir. Bu süreç en basit haliyle dolaşımda ve/veya dokularda bulunan immün sistem hücrelerinin mikrobiyal komponentleri tanıyarak aktivasyonunu ve proinflamatuvar-antiinflamatuvar mediyatörlerin salınmasını içerir.

Sepsis ise enfeksiyona karşı yanıtta normal sürecin bozulması sonucu ortaya çıkan kontrolsüz, düzensiz ve kendi kendini devam ettirebilen, genellikle etkileri lokal olan mediyatörleri kan yoluyla yayarak enfeksiyon bölgesinden uzaktaki normal dokuları etkileyen, abartılı inflamasyonun hakim olduğu bir süreçtir. Bu özellikleri ile literatürde malign intravasküler inflamasyon olarak kavramsallaştırılmıştır (Pinsky, Vincent et al. 1993).

Enfeksiyon sırasında immün sistem tarafından tanınan ve immün sistemi aktive edebilen mikroorganizma komponentleri, patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP'ler) olarak bilinirler. Gram negatif bakterilerin LPS'leri bu moleküllerin başında gelmektedir. Bunun dışında peptidoglikanlar, gram pozitif bakterilerin hücre duvarı bileşenleri olan lipoteikoik asit, bakteriyel toksinler, enzimler, süperantijenler, flagellin, fungal ve viral antijenler immün sistemi aktive ederek sepsise giden inflamasyona neden olabilirler (Bone 1991).

Bir enfeksiyona karşı konak yanıtı, konağın doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin mikrobiyal bileşenleri tanıması ve bunlara bağlanmasıyla başlar. Bu olay çeşitli yollardan meydana gelebilir:

PAMP'ler bağışıklık hücrelerinin (özellikle monosit- makrofaj) yüzeyindeki membran reseptörleri olan patern tanıma reseptörleri (PRR) tarafından tanınabilir ve bunlara bağlanabilir. Toll benzeri reseptörler (TLR), Nod benzeri reseptörler (NLR) ve retinoik asitle indüklenebilir gen-I benzeri reseptörler (RLR) bilinen PRR içinde yer alırlar. Gram pozitif bakterilerin peptidoglikanı TLR-2'ye, gram negatif bakterilerin LPS'i TLR-4'e ve/veya lipopolisakkarit bağlayıcı protein-CD14 kompleksine bağlanarak konağın immün sistemini aktive ederler (Cinel and Dellinger 2007).

Özellikle nötrofiller üzerinde olmak üzere enfekte dokulara infiltre olan bağışıklık hücrelerinde yüksek düzeyde ekspresse edilen reseptörlerden “myeloid hücre üzerinde ekspresse edilen tetikleyici reseptörler (TREM-1)” ve “myeloid DAP12 ile ilişkili lektin reseptörleri (MDL-1)” de mikrobiyal bileşenleri tanıyabilir ve bunlara bağlanabilir (Bouchon, Facchetti et al. 2001).

Ayrıca, inflamatuvar hasar sırasında ortaya çıkan alarminler ya da tehlike ilişkili moleküler paternler (DAMP'ler) olarak adlandırılan endojen tehlike sinyalleri

de PRR'leri uyararak inflamatuvar sürece katkıda bulunabilirler. DAMP'ler normalde hücre içinde bulunan ancak hücre dışı ortama çıktığında yeni işlevler alan nükleer, sitoplazmik veya mitokondriyal yapılardır. Bunlara örnek olarak HMGB1, S100 proteinleri, ısı şok proteinleri ve mitokondriyal proteinler gösterilebilir (Chen and Nuñez 2010).

Konağın immün sistem hücrelerinin mikrobiyal komponentler ve endojen tehlike sinyalleri ile aktive edilmesi sonucu başlayan süreç bu aktive immün hücreler tarafından çeşitli mediyatörlerin, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasıyla devam eder. Bu sitokinler konak immün yanıtını oldukça sıkı bir şekilde düzenler.

TLR'lerin mikrobiyal komponentlerle bağlanması, hücre içinde nükleer faktör- κ b 'nin (NF- κ b) aktivasyonu yoluyla bir sinyalizasyon kaskadını tetikler. Aktive edilmiş NF- κ b, sitoplazmadan hücre çekirdeğine ulaşır, çekirdekte çeşitli gen transkripsiyon bölgelerine bağlanır. Böylece NF- κ b, konak immün yanıtında rol alan geniş bir gen kümesinin aktivasyonunu indükler. Proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8), kemokinler (ICAM-1, VCAM-1) ve nitrik oksit gibi inflamatuvar mediyatörlerin üretimi artar.

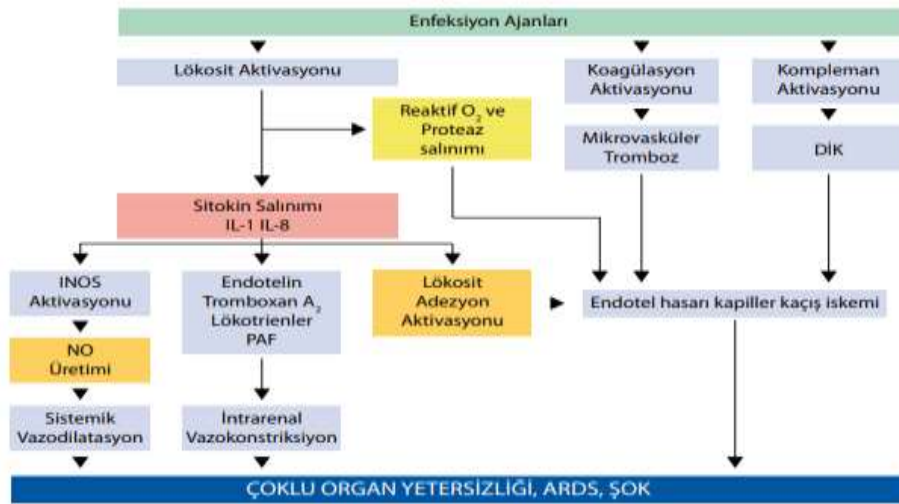
TLR'ler ayrıca pro-interlökin-1 β üretimini ve inflammasomlar olarak adlandırılan NLR-makroprotein komplekslerinin oluşumunu başlatır. İnflammasomlar ise kaspaz-1 aktivasyonu yapar ve kaspaz-1 ise pro-interlökin-1 β 'nın aktif formu olan interlökin-1 β 'ya işlenmesini sağlar. Kaspaz-1 aktivasyonu aynı zamanda piropitoz adı verilen programlanmış inflamatuvar hücre ölümüne neden olabilir (Cinel and Dellinger 2007).

Mikrobiyal komponentler ile karşılaşan polimorfnüveli lökositler (PMNL'ler) de aktive olurlar. Aynı zamanda aktive olmuş makrofajlardan salınan TNF- α nötrofilleri aktive eder. Nötrofiller, enfekte bölgeye migrasyonlarını ve bu bölgede damar endotelinde agregasyonlarını sağlayan adezyon moleküllerini eksprese ederler. Ayrıca hasarlı damar endotelinde eksprese edilen, lökosit tutunmasını sağlayan aderans molekülleri bu süreci kolaylaştırır. Nötrofil-endotel hücre yapışması reaktif oksijen türlerinin, litik enzimlerin ve vazoaktif maddelerin (nitrik oksit, endotelin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve trombosit aktive edici faktör)

hücre dışı ortama salgılanmasını indükler. Bu maddeler endotel hasarına, mikrotrombüs oluşumuna, sistemik vazodilatasyona, kapiller permeabilite artışına ve mikrovasküler disfonksiyona neden olurlar (Rs and Karl 2003).

Mikrobiyal komponentler aynı zamanda kompleman sistemini de aktive eder ve aktive olan kompleman üyelerinden C3a ve C5a bazofil ve mast hücrelerini uyarak, histamin başta olmak üzere hipotansiyona neden olan birçok mediyatörlerin salgılanmasına neden olur. C5a ayrıca nötrofillerin aktivasyonuna ve endotel hücrelerine yapışmasına katkıda bulunur. Nötrofil - endotel yapışması sonrası endotel hücresi tarafından salgılanan nitrik oksit sepsisteki yaygın vazodilatasyondan sorumludur (Karaali and Tabak 2009).

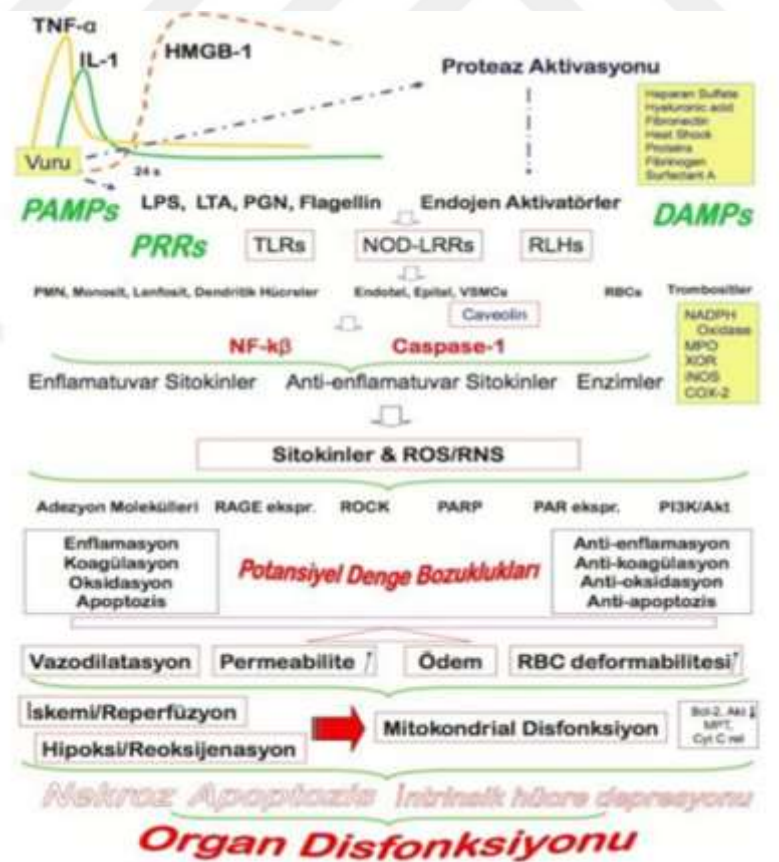
Mikrobiyal komponentler tarafından aktive edilen sistemlerden biri de koagülasyon sistemidir. Mikrovasküler yatakta fibrin trombüsleri oluşarak hücrel hasara ve organ yetersizliğine katkıda bulunur. Zamanla pıhtılaşma proteinlerinin tüketimi ile kanamaya eğilimi artırır, hastalarda hem kanama, hem trombüs gelişimi birlikte görülebilir(Şekil 1) (Karaali and Tabak 2009).



Şekil 1: Sepsiste Endotel Hasarı ve Organ Disfonksiyonu

Sepsiste hastaları organ disfonksiyonuna ve ölüme götüren temel mekanizmalar olarak endotel disfonksiyonu ve mikrovasküler disfonksiyon giderek daha fazla kabul görmektedir. Sepsiste açığa çıkan TNF-a, IL-1, trombosit aktive edici faktör, lökotrienler, prostoglandinler tromboksan A₂, serbest oksijen radikalleri, lizozomal enzimler ve nitrik oksit gibi mediyatörler ve bunların yanısıra

Enfeksiyona yanıt olarak ortaya çıkan tüm bu inflamatuvar süreç sonucu aktive olan bağışıklık hücreleri ve bunlardan salgılanan mediyatörler, aynı zamanda bu süreci kontrol altına alacak ve sonlandıracak antiinflamatuvar sitokinlerin (IL-4, IL-10, TGF- β v.b) salınmasını da uyarır. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediyatörlerin dengesi adezyon, kemotaksis, bakteriyel fagositoz ve öldürme, hasarlı doku artıklarının fagositozu, apoptozun içinde bulunduğu tüm inflamatuvar süreci düzenler. Eğer bu denge korunur ve ilk enfeksiyöz hasarın üstesinden gelinirse homeostaz sağlanacak, doku onarımı ve iyileşme gerçekleşecektir (Bone 1996). Sepsis ise bu denge korunamadığında ortaya çıkar (Şekil 2).



20

İmmün yanıtın sistematik hal alıp sepsise neden olmasının altında yatan mekanizmalar halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Suçlanan mekanizmalar arasında mikroorganizmaların ve bunların toksik ürünlerinin doğrudan etkileri, aşırı proinflatuar sitokin salınımı, kompleman aktivasyonu ve genetik yatkınlık vardır (Pinsky, Vincent et al. 1993, Pugin 1996, Frantz, Ertl et al. 2007, Liu, Lu et al. 2007). Ayrıca enfeksiyon sırasında immün hücrelerin aktivasyonu sonucu veya apoptoz ile dolaşıma prokoagülan ve proinflatuar özellikte mikropartiküller karışır. Dolaşımda bulunan bağışıklık hücrelerinden ve vasküler hücrelerden gelen bakterisidal proteinler, nükleer kromatin içeriklerinden oluşan bu mikropartiküller konak immün yanıtını artırır. Endotel hasarı ve tromboz gibi intravasküler inflamasyonun zararlı etkilerine katılarak sepsis gelişimini indükleyebilir (Cinel and Dellinger 2007).

Sepsiste, sistemik yanıt sonucu oluşan yaygın endotelyal ve parankimal hücre hasarı organ disfonksiyonunun habercisidir. Doku iskemisi, sitopatik hasar (proinflatuar araçlar ve/veya diğer inflamasyon ürünleri tarafından doğrudan hücre hasarı) ve değişmiş bir apoptoz hızı hücre hasarının temelindeki en önemli mekanizmalardır. Hücre hasarı ise boyutuna göre organ disfonksiyonuna ilerleyebilir (Singer 2014). Hücre hasarına neden olan mekanizmalar ve altlarında yatan sebepler şunlardır:

1-Doku iskemisi

- Sepsiste oksijen ihtiyacı ile oksijen sunumu arasındaki dengeyi sağlayan metabolik otheregölasyon bozulmuştur. Dokuların oksijen ihtiyacı yeterince karşılanamaz

- Sepsis sırasında her ikisi de aktive olan pıhtılaşma ve fibrinolitik sistem arasındaki dengesizlikler dokuların oksijen alışverişini bozan, çoğu zaman mikrosirkulatuar bazen de makrosirkulatuar bozukluklara (örn: septik emboli) neden olur.

- Aktive olmuş immün hücreler ve endotel hücreleri arasında etkileşimler sonucu oluşan endotel hasarı dokuların oksijen kullanımını sınırlar. Ayrıca bu etkileşimler sonucu dolaşıma katılan mikropartiküller de mikrosirkulatuar bozukluklara katkı sağlar.

- Normalde mikrosirkülasyonda deformasyon yeteneğine sahip eritrositlerin sepsiste bu yeteneği azalmıştır. Daha rijit eritrositler dokulara daha az ulaşırlar ve doku iskemisine katkıda bulunurlar (Kirschenbaum, Aziz et al. 2000).

2-Sitopatik hasar

- Proinflamatuvar sitokinler ve diğer inflamatuvar ürünler; oksidatif stres hasarı, solunum enzimlerinin doğrudan inhibisyonu ve mitokondriyal DNA yıkımı gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla sepsise bağlı mitokondriyal disfonksiyona neden olabilir. Bu tür mitokondriyal hasar hücrelerin enerji metabolizmasını bozarak sitotoksositeye yol açar (Singer 2014).

3-Hücre ölümü

- Sepsis sırasında hücresel hasara neden olan nekroz, apoptoz, piroptoz ve otofaji dahil olmak üzere çeşitli hücre ölüm yolları aktive olur.

- Sepsis ayrıca, immün yanıt etkinliğini değiştiren ve istilacı mikroorganizmaların klirensinin azalmasına neden olan geniş lenfosit ve dendritik hücre apoptozunu indükler. Hem hayvan hem de insan sepsisindeki otopsilerde lenfositlerin apoptozu gözlenmiştir. Lenfosit apoptozunun boyutu, septik sendromun ciddiyeti ve immünosupresyon seviyesi ile ilişkilidir. Apoptoz ayrıca parankimal hücrelerde, endotelial hücrelerde ve epitel hücrelerinde de gözlemlenmiştir. Çeşitli hayvan deneyleri, apoptozu inhibe etmenin organ disfonksiyonu ve mortaliteyi azalttığını göstermektedir (Coopersmith, Stromberg et al. 2002).

- NOD benzeri reseptör proteininin (NLRP) aktivasyonu, kaspaz aracılı hücre zarının hızlı yırtılmasıyla ortaya çıkan piroptoz adı verilen yüksek derecede iltihaplı programlanmış hücre ölümünü tetikleyebilir. NLRP3 inflammasomunun sepsiste önemini vurgulayan çalışmalar mevcuttur (Danielski, Giustina et al. 2020).

2.1.4.Sepsiste Sistemler Ve Klinik

Sepsiste yukarıda mekanizması açıklanan hücresel hasar, genellikle organ işlev bozukluğuna ilerler. Sepsisin sistemik etkilerinden herhangi bir organ sisteminin korunması mümkün değildir. Birden fazla organ sistemini etkilenmesi sonucu çoklu organ disfonksiyonu sendromu gelişimi yaygındır.

Kardiyovasküler Sistem

Sepsiste birçok organ disfonksiyonunun ana sebebi endotel hasarıdır. Bakteriyel endotoksinler direkt olarak veya bağışıklık sistem elamanlarını uyarıp inflamatuvar mediyatörler salınımını sağlayarak indirekt endotel hasarı yaparlar. Endotel hasarı ve bunun sonucunda vasküler permeabilitenin artması ekstrasvazasyon ve mikrotrombüslerin oluşumunu kolaylaştırır. Sonuç olarak mikrosirülasyon ve organ perfüzyonu bozulur ve organ yetmezliği gelişir (Rs and Karl 2003, Cinel and Dellinger 2007, Opal and Van Der Poll 2015).

Sepsisli hastalarda ciddi hipotansiyon ve buna bağlı dolaşım bozukluğu ortaya çıkabilir. Bu durumun altında yatan en belirgin sebep endotel hücreleri tarafından salınan prostasiklin ve nitrik oksitin oluşturduğu yaygın vazodilatasyondur. Damar endoteli ve düz kasının endotoksin ile uyarılması ile indüklenen nitrik oksit sentaz enziminin aşırı nitrik oksit üretimi ile birlikte dolaşımın tüm metabolik otheregölasyonu bozulur, ayrıca nitrik oksit santral sinir sisteminde dolaşımın otonomik kontrolünü düzenleyen bölgelerde lokalize olan bir hasarı tetikleyebilir (Sharshar, Gray et al. 2003).

Endotel düzeyinde meydana gelen bu değışikler yaygın sistemik sonuçlar doğururken; sepsisin bölgesel etkileri de vardır. Sepsiste salınan mediyatörlerden bazılarının miyokard üzerine depresan etkileri vardır. Özellikle yaşlı ve altta yatan kardiyak hastalığı (kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, hiperansiyon) olanlarda erken dönemde ventriküler sistolik-diyastolik disfonksiyon gelişebilir (Hoffmann, Werdan et al. 1999).

Mikrosirkülasyonu sağlayan kapillerler sepsiste ciddi oranda etkilenmektedir. Sepsis, mikrotrombüsler ve ödem nedeniyle fonksiyonel kapiller yoğunluğunda ve kapiller miktarında azalma ile ilişkilidir, bu da oksijenin dokuya transferini bozmaktadır (De Backer, Creteur et al. 2002).

Normalde oksijen iletimi bozulduğunda kan akışının organ sistemleri arasında uygun şekilde dağıtılmasını sağlayan splanknik vazokonstrüksiyon gibi otheregölasyon mekanizmaları sepsiste bozulmuştur. Bu durum kalp ve beyin gibi hayati organların perfüzyonunun bozulmasına katkı sağlar (Fink 1989).

Solunum Sistemi

Sepsiste solunum sistemi bulguları sık olarak karşımıza çıkar ve prognozu etkiler. Klinik tablo sadece takipneden akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS)'na kadar oldukça değişkendir. Solunum sayısında artma, hipoksi, yardımcı solunum kaslarının kullanımı gibi belirtiler görülebilir.

Sepsiste sistemik endotel hasarı pulmoner damarları da etkileyerek kapiller kan akımını ve vasküler permeabiliteyi bozar, interstisyel ve alveolar pulmoner ödeme neden olur. Ayrıca nötrofil aktivasyonu alveolokapiller membran hasarına neden olur. Sonuç, ventilasyon-perfüzyon uyumsuzluğu ve hipoksemiye yol açan pulmoner ödemdir. Pulmoner ödeme neden olan akciğer hasarı ARDS'ye kadar ilerleyebilir. Endotel hasarının yanında kompleman aktivasyonu, sepsiste ortaya çıkan hiperkoagulabilite, yaygın intravasküler koagülasyon da ARDS gelişimini tetikler (Ghosh, Latimer et al. 1993).

Gastrointestinal ve Hepatik Sistem

Sepsiste meydana gelen dolaşım bozuklukları ve yaygın endotel hasarı sonucu bağırsak perfüzyonu bozulur. Bu durum bağırsağın normal bariyer fonksiyonunu baskılayıp bakteriyel translokasyona sebep olabilir. Bakteriyel translokasyon septik tablonun ağırlaşmasına ve immün yanıtın uzamasına sebep olur (Luce 1987, Ghosh, Latimer et al. 1993, Upperman, Deitch et al. 1998).

Sepsiste, bağırsak hücrelerinde inflamasyon, konjesjon, mukozal ödem, villüs atrofi, hemoraji gibi farklı düzeylerde histopatolojik değişimler oluşabilir. Sonuç olarak sepsisli hastalarda uygun beslenme stratejilerine rağmen malnutrisyon bulguları, gastrointestinal kanama görülebilir (Luce 1987, Ghosh, Latimer et al. 1993, Upperman, Deitch et al. 1998).

Normalde bağırsaktan translokasyon sonucu portal sisteme geçen bakteriler ve endotoksinlere karşı ilk savunma basamağını karaciğerdeki retiküloendotelial sistem hücreleri oluştururlar. Sepsiste karaciğer fonksiyonları da bozulmuş olduğundan enterik kaynaklı bakteri ve endotoksinler elemine edilemez, uygun immün yanıt oluşamaz. Bu durum sistemik dolaşıma enfeksiyon ajanlarının potansiyel geçişine sebep olur.

Renal Sistem ve Sürrenal Bezler

Sepsise akut böbrek yetmezliği (ABY) eşlik edebilir ve mortalite ABY varlığında artmaktadır. Sepsiste ABY'ye neden olan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Hipoperfüzyon ve hipoksemiye bağlı akut tübüler nekroz olası bir mekanizmadır. Bununla birlikte hipovolemi, sistemik hipotansiyon, doğrudan renal vazokonstriksiyon, sitokinlerin salınımı ve nötrofillerin bakteriyel ürünlerle aktivasyonu da renal hasara katkıda bulunabilir (Luce 1987, Ghosh, Latimer et al. 1993).

Sepsiste renal hipoperfüzyon ABY oluşumuna sadece kısmen katılmaktadır. Yeni gelişen kanıtlar septik ABY oluşumunda peritübüler mikrovasküler disfonksiyon ve düzensiz inflamasyonla indüklenen tübüler epitel hücrelerinin deformasyonu daha etkilidir (Takasu, Gaut et al. 2013, Shum, Yan et al. 2016). Tübüler hasar dışında endotoksemi nedenli glomerüler hasara bağlı ABY de oluşabilir.

Yoğun bakım hastalarının yaklaşık üçte birinde adrenal yetmezlik görülürken, sepsis ve septik şokta bu oran %50 civarına çıkmaktadır. Adrenal yetmezlik sebebi hipofizde veya sürrenal bezlerde anatomik hasar, toksik sitokinler nedeniyle adrenal hipoperfüzyon ve disfonksiyon, kullanılan ilaçların steroid üretimini baskılaması, yıkımını hızlandırması ve hücre düzeyinde steroidlere verilen yanıtın azalmasıdır. Adrenal yetmezliğin en sık gözlenen bulgusu hipotansiyon ve hipoglisemidir. Fakat hastalarda hipoglisemi nadir görülür. Enfeksiyona verilen akut metabolik cevapta glikojenoliz, glukoneogenez ve insülin direnci olduğundan, hastalar genellikle hiperglisemiktir.

Sinir Sistemi

Sepsiste santral sinir sistemi bulguları genellikle en erken ortaya çıkan bulgulardandır ve en sık görülen santral sinir sistemi bulgusu ensefalopati ve mental durum değişikliğidir. Ensefalopati bilinçte küntlük, ajitasyon, oryantasyon kaybı, konfüzyon, letarji şeklinde ortaya çıkabilir. Ensefalopatinin altında yatan mekanizma sitokinlerin salınımıyla beyin metabolizmasındaki ve hücresel sinyalizasyonlardaki değişikliklerdir. Sistemik hücresel hasara neden olan durumların birçoğu kan-beyin bariyeri fonksiyonlarını bozar ve santral sinir sisteminin inflamatuvar hücre

infiltrasyonlarına, toksik mediyatörlere ve aktif sitokinlere maruziyeti artar (Iacobone, Bailly-Salin et al. 2009).

Sepsisin geç dönem nörolojik sonuçlarından biri de periferik sinir sisteminde myopati ve polinöropati olarak kabul edilir. Bu durum hastaları ventilatörden ayrılmada başarısızlık, kas güçsüzlüğü ve kas kaybına neden olur. YBÜ’nde hastalara sedoanaljezik, nöromusküler bloker ajanların uygulanması ve steroid tedavisi myopati ve polinöropatiyi potansiyalize eder (Latronico and Bolton 2011).

2.1.5. Sepsis Tedavisi

SCCM ve ESICM derneklerinin desteği ile 2004 yılından sonra her dört yılda bir uluslararası bir komite tarafından “sepsis sağkalım kampanyası (surviving sepsis campaign-SSC)” adı altında sepsis ve septik şok yönetimini ve sonuçlarını iyileştirmeye yönelik tedavi ve öneri kılavuzları yayınlanmaktadır. Bu kılavuzlar dünyaca geniş çapta kabul görmektedir. 2017 yılında bunlardan sonuncusu olan “Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016” yayınlanmıştır (Rhodes, Evans et al. 2017). Son kılavuzun yayınlanmasını ardından yazarlardan bir kısmı tarafından 2018 yılında kılavuzun temel uygulaması olan “sepsis sağkalım kampanyası demeti” güncellemesi yayınlanmıştır (Levy, Evans et al. 2018).

SSC şimdiye kadar tüm rehberlerde ilk bir saat içinde antibiyotik başlanmasını önermiştir. 2016 öncesinde yayınlanan kılavuzlarda; erken hedefe yönelik tedavi olarak adlandırılan sepsiste hipoperfüzyonu düzeltmeyi ve erken sıvı resüsitasyonunu öneren uygulamalara ilk 6 saatte başlanması önerilirken, 2016’da ise bu süre 3 saate düşürülmüştür. 2018’de yayınlanan son güncellemede sepsisin acil müdahale gerektiren bir durum olduğu ve gerekli tüm uygulamalara ilk bir saat içinde başlanması gerektiği vurgulanmaktadır. Erken hedefe yönelik tedavi için sıfır zamanı ise acil serviste triyajın yapıldığı an veya hasta başka bir yerden sevk ediliyorsa sepsis veya septik şok tanısının konduğu an olarak vurgulanmıştır. 2018 güncellemesine göre sepsis tedavisi için hedeflenen “ilk 1 saat demeti” Tablo 4’teki gibidir (Levy, Evans et al. 2018).

Tablo 4: SSC İlk 1 Saat Demeti

SSC İlk 1 Saat Demeti	
İlk 1 saatte yapılması gerekenler	Öneri Gücü ve Kanıt Düzeyi.
Laktat düzeyini ölç. İlk laktat >2mmol/L ise tekrar ölç.	Zayıf öneri, düşük kanıt kalitesi
Antibiyotik öncesi kan kültürlerini al	Bildirilen en iyi uygulama
Geniş spektrumlu antibiyotik ver.	Güçlü öneri, orta kanıt kalitesi
Hipotansiyon durumunda veya laktat düzeyi $\geq$ 4mmol/L ise 30ml/kg kristalloid başla.	Güçlü öneri, düşük kanıt kalitesi
Sıvı resüsitasyonu esnasında veya sonrasında hipotansiyon varsa OAB $\geq$ 65mmHg değerine ulaşmak amacıyla vazopressör ver.	Güçlü öneri, orta kanıt kalitesi

Laktat ölçümü: Serum laktat düzeyi yükselmeleri doku hipoksisi, beta-adrenerjik uyarıya bağlı aşırı aerobik glikolize bağlı olabilir. Laktat doku perfüzyonunun dolaylı göstergesidir. Laktat rehberliğinde sıvı resüsitasyonunun mortaliteyi azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ölçülen laktat >2 mmol/L ise, başlanmış olan resüsitasyonun başarısını değerlendirmek için 2-4 saat içerisinde tekrar ölçülüp tedavi buna göre yönlendirilmelidir. Hedef, laktatın normal sınırlarda tutulması olmalıdır (Levy, Evans et al. 2018).

Antibiyotik öncesi kan kültürünün alınması: Antibiyotik kullanımı sonrası alınan kültürler negatif çıkabilir. Bu nedenle kültürde patojenleri saptama ihtimalini arttırmak için kültürler antibiyotik verilmeden önce alınmalıdır. Aerobik ve anaerobik olmak üzere en az 2 set kan kültürü alınmalıdır (Levy, Evans et al. 2018).

Geniş spektrumlu antibiyotik başlanması: Septik şok veya sepsis ile başvuran hastalarda, virüsler ve mantarlar dahil olmak üzere tüm olası patojenleri içine alacak şekilde geniş spektrumlu (tek veya çoklu) antimikrobiyal tedavi başlanmalıdır. Patojen tanımlandıktan ve antibiyotik hassasiyeti belirlendikten sonra veya yeterli tedavi yanıtı alındıktan sonra ampirik tedavi uygun şekilde

daraltılmalıdır. Hastada enfeksiyon olmadığına karar verilirse tedavi kesilmelidir. Sepsiste antibiyotiklerin uygun kullanımı sepsis yönetiminin kalitesini belirlemektedir (Levy, Evans et al. 2018).

İntravenöz sıvı tedavisi: Erken ve etkili sıvı tedavisi, sepsis kaynaklı doku hipoperfüzyonu veya septik şokun yönetiminde çok önemlidir. Laktat yüksekliği ile beraber sepsis ve/veya hipotansiyon olan bir hasta fark edilir edilmez intravenöz sıvı replasmanı başlamalı ve 3 saat içinde tamamlanmalıdır. Replasman minimum 30 ml/kg kristaloid sıvı ile yapılmalıdır. Kristalloid sıvılarla karşılaştırıldığında net bir yararının olmaması nedeniyle kolloid sıvıların, yüksek maliyeti nedeniyle albümin solüsyonlarının kullanılması önerilmemektedir. YBÜ'de sürekli bir pozitif sıvı dengesinin olası zararlı etkileri nedeniyle sıvı resüsitasyonu sonrası yanıt iyi değerlendirilmelidir (Levy, Evans et al. 2018).

Vazopressör uygulanması: Vital organların perfüzyonlarının hızla düzeltilmesi resüsitasyonun ana hedefidir. Eğer başlangıç sıvı replasmanı ile yeterli arter kan basıncı sağlanamaz ise OAB için 65 mmHg hedefini sağlamak amacıyla ilk 1 saatte vazopresör başlanması önerilmektedir (Levy, Evans et al. 2018).

Sepsis doğası gereği acil bir durumdur. Hastaların acil bir değerlendirmeye ve bunun yanında hastalıkla ilgili laboratuvar- hemodinamik veri toplanırken ve kaynak kontrolü sağlanırken tedaviye ihtiyaçları vardır. Bu sürecin tamamında da uygulanan tedaviye yanıt sürekli değerlendirilmelidir. Bu değerlendirme, hastanın kalp hızı, kan basıncı, arteriyel oksijen saturasyonu, solunum hızı, sıcaklığı, idrar çıkışı gibi klinik durumunu tanımlayabilen fizyolojik değişkenlerin kapsamlı bir değerlendirilmesi ile mümkündür.

Son yıllarda klinisyenlerin kullanımına daha çok sunulan ekokardiyografi, hemodinamik sorunların altında yatan sebeplerin daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesini sağlayan bir yöntemdir. Santral venöz basıncın sıvı resüsitasyonunu yönlendirmek için tek başına kullanılması artık önerilmemektedir. Aynı durum sağ veya sol kalp basınçlarının diğer statik ölçümleri için de geçerlidir. Bir hastanın resüsitasyona rağmen sıvı ihtiyacını değerlendirmek için pasif bacak kaldırma, sıvı tedavisine karşı atım hacmi değişikliği ölçümü, mekanik ventilasyon nedenli intratorasik basınç değişikliklerine karşı sistolik basınç, nabız basınç ve atım

hacmi varyasyonlarının değerlendirilmesini içeren dinamik yöntemlerin kullanımı önerilmektedir. SSC 2016 ilk 1 saat hedeflerinin dışında sepsis tedavisi ile ilgili diğer öneriler aşağıdakilerdir (Rhodes, Evans et al. 2017).

A. Antimikrobiyal Tedavi

- Septik şoku olan hastalarda ampirik tedavi için en olası bakteriyel patojenleri kapsayan kombinasyon tedavisi (farklı antimikrobiyal sınıflardan en az iki antibiyotik kullanarak) önerilmektedir. Septik şok olmaksızın rutin kombine antimikrobiyal uygulanmalıdır.
- Başlangıçta septik şok için kombinasyon tedavisi kullanılıyorsa, klinik iyileşme ve enfeksiyonun çözüldüğüne dair kanıtlar görüldüğünde ilk birkaç gün içinde kombinasyon tedavisinin kesilmelidir ve antibiyotik azaltılmalıdır.
- Birçok ciddi enfeksiyon için 7-10 günlük antimikrobiyal tedavi süresinin yeterlidir. Yavaş klinik yanıt olması, drene edilemeyen enfeksiyon odakları olması, stafilococcus aureus ile bakteriyemi, bazı mantar ve viral enfeksiyonlar veya nötropeni dahil immün yetmezlik olan hastalarda daha uzun kürlerin uygulanması uygun olabilir.
- Antimikrobiyal tedavinin azalması için günlük değerlendirme önerilmektedir.

Prokalsitonin düzeylerinin ölçümünün antimikrobiyal tedavi süresinin kısaltılmasını ve ampirik antibiyotiklerin kesilmesini desteklemek için kullanılabilir.

B. Kaynak Kontrolü

- Sepsis veya septik şoku olan hastalarda acil kaynak kontrolü gerektiren spesifik bir enfeksiyon tanısının mümkün olduğunca hızlı bir şekilde belirlenmesi veya dışlanması gerekmektedir ve gerekli herhangi bir kaynak kontrol müdahalesinin tanıdan sonra en kısa sürede uygulanmalıdır
- Başka vasküler erişim sağlandıktan sonra olası bir sepsis veya septik şok kaynağı olan intravasküler erişim cihazlarının derhal çıkarılmalıdır.

C. Sıvı Tedavisi

- Hemodinamik parametreler iyileşmeye devam ettiği sürece sıvı yüklemesi uygulanmalıdır. Replasman için sıvı olarak dengeli kristaloidler ve izotonik salin önerilir.
- Yüksek miktarlarda kristaloid kullanıldığında ek olarak albümin kullanılabilir.
- Hidroksietil nişastaların (HES'ler) kullanılmamalıdır. Jelatin yerine kristaloidlerin ön planda kullanılmalıdır.

D. Vazoaktif İlaçlar

- İlk seçim olarak norepinefrin kullanılmalıdır. OAB hedefine ulaşmak için gerekirse ilave olarak vazopressin veya epinefrin önerilmektedir.
- Dopaminin alternatif bir vazopressör ajan olarak yalnızca seçilmiş hastalarda (örn. düşük taşiaritmi riski ve bradikardisi olan hastalar) kullanılabilir. Böbrek koruması için düşük doz dopamin kullanılmasını önerilmemektedir.
- Yeterli sıvı yüklenmesine ve vazopressör ajanların kullanımına rağmen kalıcı hipoperfüzyon kanıtı gösteren hastalarda dobutamin kullanılabilir.
- Vazopressöre ihtiyaç duyan hastalarda arteriyel kateterizasyon yapılması ve risk minimize edildiğinde çıkarılması önerilmektedir.

E. Kortikosteroidler

- Yeterli sıvı resüsitasyonu ve vazopressör tedavisi ile hemodinamik stabilite sağlanıyorsa steroid kullanımı önerilmemektedir. Bu mümkün değilse, günde 200 mg IV hidrokortizon kullanılabilir.

F. Kan Ürünleri

- Sepsis ile ilişkili aneminin tedavisi için eritropoetin kullanılmaması ve miyokardiyal iskemi, şiddetli hipoksemi veya akut kanama gibi durumlar yoksa hemoglobin <7.0 g/dL'ye düştüğünde eritrosit transfüzyonu önerilmektedir.
- Aktif kanama veya planlanmış invaziv prosedürler uygulanmayacaksa pıhtılaşma anormalliklerini düzeltmek için taze donmuş plazma kullanılmamalıdır.
- Profilaktik trombosit transfüzyonu, belirgin kanama yoksa trombosit sayısı $<10.000/\text{mm}^3$ olduğunda veya hastanın kanama riski varsa

<20.000/mm³ olduğunda verilmelidir. Aktif kanama varsa cerrahi veya invaziv prosedürler uygulanacaksa trombosit sayısının $\geq 50.000/\text{mm}^3$ olması önerilir.

- İmmünglobülin tedavisi ve kan temizleme teknikleri kullanımı önerilmemektedir.

G. Antikoagülanlar

- Sepsis ve septik şok tedavisinde antitrombin kullanılmasını önerilmemektedir Trombomodulin veya heparin kullanımına ilişkin herhangi bir tavsiyede bulunulmamaktadır.
- Venöz tromboemboli profilaksisi için farmakolojik ve mekanik uygulamaların kombinasyonu önerilmektedir. Farmakolojik ajan olan ise kontraendikasyon yoksa düşük molekül ağırlıklı heparin önerilmektedir.

H. Sedoanaljezi ve Mekanik Ventilasyon

- Aralıklı veya sürekli sedoanaljezi mekanik ventilatöre bağlı hastalarda minimize edilmelidir.
- Mekanik ventilasyonda akciğer koruyucu strateji (düşük tidal völüm, plato basıncı <30 cmH₂O) önerilmektedir. Noninvaziv mekanik ventilasyon ile ilgili öneride bulunulmamaktadır. Mekanik ventilasyonun sonlandırılmasına hazırlık için spontan solunum denemeleri yapılmalıdır. Tolere edebileceği düşünülen hastalarda weaning için belirlenmiş bir protokol uygulanmalıdır.
- Sepsis kaynaklı ARDS'li yetişkin hastalarda düşük pozitif ekspirasyon sonu basıncına (PEEP) göre daha yüksek PEEP ve recruitment manevraları kullanılmalıdır. Yüksek frekanslı osilatör ventilasyon kullanılmamalıdır.
- Sepsise bağlı ARDS ve PaO₂ / FiO₂ oranı <150 olan yetişkin hastalarda pron pozisyon ve 48 saatten daha az süreyle nöromüsküler bloke edici ajanların kullanılabilir.

İ. Kan Şekeri Kontrolü

- İki ardışık kan şekeri seviyesi >180 mg/dL olduğunda insülin başlanmalıdır. Kan şekeri 180 mg/dL'nin altında tutulmalıdır. Ölçümler,

insülin infüzyon hızları stabil olana kadar her 1-2 saatte bir, stabil olunca 4 saatte bir yapılmalıdır.

- Glukoz ölçümlerinde hasta başında yapılan kapiler ölçüm testi tercih edilememelidir. Hasta başı ölçüm yöntemlerinde arteriyel kateter varsa arteriyel kan kullanılmalıdır.

J. Renal Replasman ve Bikarbonat Tedavisi

- Akut böbrek hasarı olan septik hastalarda renal replasman tedavisi kullanılabilir. Başka kesin endikasyonlar olmaksızın kreatinin artışı veya oligüri için renal replasman tedavisi kullanımı önerilmemektedir.
- pH $\geq 7,15$ olan hipoperfüzyona bağlı laktik asidemili hastalarda sodyum bikarbonat tedavisi önerilmemektedir.

K. Ülser Profilaksisi

- GİS kanaması için risk faktörleri olmayan hastalarda stres ülseri profilaksi önerilmez. Risk faktörleri varsa stres ülseri profilaksisinde proton pompası inhibitörleri ya da histamin-2 reseptör antagonistleri kullanılabilir.

L. Beslenme

- Sepsis veya septik şokta mümkünse tam açlık veya sadece i.v. glikoz yerine enteral beslenmeye erken başlanması önerilmektedir. Trofik/hipokalorik veya erken tam enteral beslenme başlanabilir.
- Enteral beslenebilen sepsis veya septik şoku olan hastalarda erken parenteral nütrisyon tek başına veya enteral beslenmeyle kombinasyon halinde uygulanmamalıdır. Bunun yerine erken enteral tam beslenmeye başlanmalıdır.
- Erken dönemde enteral beslenmesi mümkün olmayacak sepsis veya septik şoku olan hastalarda ilk 7 gün boyunca parenteral besinlerin tek başına veya enteral besinler ile kombinasyon halinde uygulanmamalıdır. Bunun yerine i.v. glikoz sonrasında ise tolere edildiği şekilde enteral beslenme başlanmalıdır.
- Beslenme intoleransı olan hastalarda prokinetik ajanlar ve postpilorik beslenme tüpleri kullanılmalıdır.
- Sepsiste omega 3 yağ asitleri, glutamin, arginin ve intravenöz selenyum kullanılması önerilmemektedir. Karnitin için öneri yoktur.

2.2.SİTOKİNLER

Sitokinler, başta aktive olmuş fagositik hücreler (lenfositler, makrofajlar v.b.) olmak üzere birçok hücre tarafından sentezlenebilen ve sentezlendiği hücrenin yanı sıra diğer hücrelerin görevlerinin düzenlenmesinde etkili olan glikoprotein yapıdaki maddelerdir. İmmün yanıtın başlatılmasında, sürdürülmesinde ve daha sonra sonlandırılmasında kritik bir rol oynarlar.

Modern sitokin araştırmalarının kökeni Rich ve Lewis'in 1932'deki tüberküline duyarlı dokuda nötrofil ve makrofaj göçünün antijen aracılı inhibisyonunu gözlemlmelerine dayanır (Oppenheim 2003). 1944'te, Menkin, hayvanlarda febril yanıtı neden olan çeşitli faktörleri tanımlayarak bu faktörlere Yunanca'da yangın anlamına gelen "piros" kelimesinden türeyen "pirojenler" olarak adını vermiştir (Menkin 1944). Daha sonra bu inflamatuvar yanıtı etki eden faktörler alandaki çalışmalar hız kazanmıştır ve özellikle 1970'lerden sonra birçok hücre tarafından farklı fonksiyonları olan faktörler tanımlanmıştır. Başlarda bu faktörler keşfedildikçe salgılandığı hücrelere veya işlevlerine göre interferon, monokin, lenfokin gibi isimlerle adlandırılmıştır. Ancak çok çeşitli hücre tiplerinin, çok çeşitli bağışıklık fonksiyonuyla ilgili, farklı hücrelere etki edebilen (pleotropik) biyolojik faktörleri oluşturabileceğinin ortaya çıkmasıyla bu tanımlamalar yetersiz kalmıştır. Bu nedenle Cohen tarafından bu faktörler için daha kapsayıcı kapsayıcı olarak "sitokin" terimi önerilmiştir (Cohen, Bigazzi et al. 1974, Cohen 2004)

İmmün sistemi uyarabilen, bakteriyel antijenler ve toksik maddeler gibi ajanlar sitokin salınımına sebep olmaktadır. Sitokinler uyarıcı etkisi ile kısa süreli ve geçici olarak sentezlenip salınırlar, depo edilmezler. Uyarıcıya spesifik değildirler. İmmün yanıtın ilk adımında bulunmaktadır. Bağışıklık yanıtı ve inflamasyonu tetikleyen süreçlerde; hücrelerin aktivasyonunda, hücreler arası etkileşimde rol alırlar ayrıca doku hasarının onarımında ve hücre bölünmesi ile transformasyonunda büyüme faktörü benzeri etkileri bulunmaktadır.

Sitokinler, hormonlardaki gibi hedef hücre membranında protein yapıda, kendilerine özel, transmembran özelliğe sahip reseptörlerine tutunarak etkilerini başlatırlar. Sitokin reseptörlerin sahip oldukları ekstrasellüler domainleri özel olarak sitokinleri tanırlar ve bağlarlar. Sitokinler bağlanmasına verilen yanıt çoğunlukla hedef

hücrede yeni mRNA ve protein sentezini başlatır. Sitokinler, otokrin, parakrin veya endokrin etki gösterebilen hücresel çapta düzenleyici proteinlerdir. Bu özellikleri ile hormonlara benzerler fakat tam olarak hormon değildirler (Noronha, Niemir et al. 1995).

Sitokinlerin etkinlikleri fazla olup genelde çok küçük miktarlarda olsalar dahi hedef hücre üzerinde etkilerini gösterirler ve farklı birçok etkileri vardır (Resim 1). Bu etkiler eş zamanlı veya farklı zamanlarda ortaya çıkabilir. Sitokinlerin birbirleri üzerine de etkileri vardır. Birbirlerinin sentezlerini artırıp azaltabilirler, aynı hedef hücrede birbirlerine sinerjistik veya antagonistik etki edebilirler. Kemotaksis, yara iyileşmesine katkı, hematopoetik regülasyon, enfeksiyon bulgularının (ateş, myalji, baş ağrısı akut faz cevabı) oluşması, antiviral etkinlik bazı etkilerindendir (Borish and Steinke 2003).

Çoğunlukla mononükleer fagositik hücreler tarafından üretilen sitokinler, hem immün tepkileri başlatırlar hem de enfeksiyon ve inflamatuvar bozukluklarla ilişkili semptomların ortaya çıkmasını sağlarlar. Daha sonra ortaya çıkacak immün yanıtın dizaynı, uyarılan yardımcı T lenfositler (TH) tarafından üretilen sitokin kombinasyonlarının bir sonucudur. TH-1 lenfositler, IFN- γ üretimi ile ön plandadırlar ve öncelikle hücresel bağışıklığa katkıda bulunurlar. TH-2 lenfositler, IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 üretirler bu sayede humoral bağışıklık ve alerjik yanıtlara katkıda bulunurlar. TH-3 lenfositler, immünosupresif eğilimlere sahiptir ve IL-10 ve TGF- β üretirler (Borish and Steinke 2003).

Sitokinler işlevlerine göre dört ana gruba ayrılmaktadırlar (Bilgehan 1987):

- 1) Doğal bağışıklık mediyatörü sitokinler;** Tip 1 interferonlar, Kemokinler, TNF, IL-1, IL-6
- 2) Antijenlere yanıt olarak lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;** IL-2 (T-hücre büyüme faktörü), IL-4 (IgE sentez regülatörü), TGF
- 3) İnflamasyonda regülatuar rol oynayan sitokinler;** IFN- γ (Mononükleer fagositlerin birincil aktivatörü), Lenfotoksin (Nötrofil aktivatörü), IL-12 (Naturel Killer ve T hücre stimülatörü), IL-10 (Mononükleer fagositlerin negatif regülatörü), IL-5 (Eosinofil aktivatörü)

4) Hematopoetik stimulan sitokinler; Stem cell faktör (SCF), IL-3, Monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF), Granülosit koloni stimüle eden faktör (G-CSF), Granülosit monosit koloni stimüle eden faktör(GM-CSF), IL-7, IL-9, IL-11.

İnflamasyon sırasında aldıkları rollere göre ise proinflamatuvar, antiinflamatuvar ve çift etkili olarak 3 gruba ayrılabilirler (Tablo 5). İmmün yanıtın başlaması ve devamı için gerekli olan ve inflamatuvar sürecin başında salınan sitokinler proinflamatuvar sitokinlerdir. İnsan bağışıklık sisteminde ilk salınan ve diğer sitokinlerin salınmasını sağlayan bu nedenle temel proinflamatuvar sitokinler olarak bilinenler TNF- α ve IL-1'dir. İnflamasyonun daha geç dönemlerinde ise inflamatuvar yanıtın kontrolü ve sınırlandırmasını sağlayan antiinflamatuvar sitokinler salınırlar. Bunların en önemlileri ise TGF- β , IL-4, IL-10, IL-11, IL-13'tür(Cohen 2002, Collighan, Giannoudis et al. 2004).

Tablo 5: İnflamasyondaki Rollerine Göre Bazı Sitokinler

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

IL: İnterlökin, INF: İnterferon, TNF: Tümör nekroz faktör, TGF: Trombosit growth faktör

2.2.1. TNF- α

1975 yılında tanımlanan TNF- α 'nın çeşitli in vitro deneylerde ve fare modellerinde tümörleri parçalama kabiliyeti görülmüş ve bu nedenle "tümör nekrozis faktörü" olarak adlandırılmıştır. Özellikle gram negatif enfeksiyona karşı konak yanıtında en erken salgılanan sitokin, en güçlü proinflamatuvar mediatör ve sepsis patofizyolojisinde ilk suçlanan temel sitokin olma özelliklerine sahiptir (Beutler and Cerami 1989).

TNF- α aktive edilmiş makrofajlar ve T hücreleri tarafından başlangıçta bir transmembran öncü protein olarak sentezlenir. Bu proteinin sitoplazmik kısmı daha sonra çözülebilir TNF- α salmak üzere bölünür. Yarı ömrü yaklaşık 20 dakikadır ve karaciğer, cilt, gastrointestinal sistem, böbreklerde metabolize olmaktadır. TNF- α 'nın biyolojik aktivitesinin gerçekleşebilmesi için üç monomerinin bir araya gelerek, trimerik yapıdaki TNF- α 'yı oluşturması gerekir. Oluşan bu yapı daha sonra sırasıyla p55 ve p75 olarak da bilinen TNFR1 veya TNFR2 reseptörlerinden birine bağlanarak etki eder (Beutler and Cerami 1989).

TNFR1 ve TNFR2'nin her ikisinin de immün sistem üzerinde başta IL-1, IL-6, IL-8 olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin ve GM-CSF salınımının uyarılması, endotel kaynaklı adezyon molekülleri ve kemokinlerin ekspresyonunun artırılması, lökositlerin hedef organlara migrasyonunun koordinasyonu gibi birçok etkisi vardır (Roach, Bean et al. 2002).

TNF- α monositlerin makrofajlara transformasyonu, makrofaj ve fagozom aktivasyonu, nötrofil ve makrofajların toplanmasıyla granülom oluşumu ve oluşan granülomun bütünlüğünün korunması işlevlerinde rol alır (Koo, Marty et al. 2010).

TNF- α , konak savunma mekanizmaları tarafından bertaraf edilmesi zor olan mycobacterium türleri, cryptococcus neoformans, aspergillus fumigatus, toxoplasma gondii, histoplasma capsulatum gibi patojenlere karşı korunmada katkı verir. Bu patojenlerin iltihabi hücreler (makrofaj, lenfosit, multinükleer dev hücreler) tarafından oluşturulan granülomlar içinde tutulmasını ve granülom yapısının sürdürülmesini sağlar (Gardam, Keystone et al. 2003).

DeneySEL hayvan çalışmalarında intravasküler TNF- α enjeksiyonunun klinik olarak ateş, takipne, taşikardi, hipotansiyon, metabolik asidoz, lökositoz, albümin sentezinde azalma, katabolik faaliyetlerde ve akut faz reaktanlarında artış gibi sepsis bulgularına yol açtığı histopatolojik olarak ise böbrek, kalp, akciğer, gastrointestinal sistemde iskemik ve hemorajik nekrozlara, endotel disfonksiyonuna, hiperkoagülasyon bulgularına, dokularda iltihabi hücre infiltrasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (Abbas, Lichtman et al. 2014). Bu bilgiler ışığında TNF- α 'nın sepsis ve sepsise bağlı organ disfonksiyonunda önemli yer tuttuğu bilinmektedir.

2.2.2. IL-1

1970'lerde Waksman ve diğerk birkaç araştırmacı tarafından miyeloid hücrelerden salınan lenfositleri aktive eden çözüner bir faktör tanımlanmıştır ve bu faktör için kullanılan “lenfosit aktivasyon faktörü” terimi, 1979'da interlökin olarak değıştirilmiştir. Bu terim, ilk kez makrofajlardan ve lenfositlerden salındığı gösterilen ilk mediyatörler olan IL-1 ve IL-2 için kullanılmıştır (Dinarello 2002). 1984 yılında insan IL-1 cDNA'sı izole edilmiştir. Bir yıl sonra IL-1 α ve IL-1 β ilk olarak farklı proteinler olarak ayırt edilmiştir (Auron, Webb et al. 1984, March, Mosley et al. 1985).

IL-1 ailesi doğuştan gelen bağışıklığın düzenlenmesinde önemli rol alır. 11 üyeden oluşmaktadır (IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-36Ra, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , IL-37, IL- 38 ve IL-33) (Dinarello, Arend et al. 2010). Bunlardan ilk dördü haricindekiler şimdiye kadar iyi tanımlanamamıştır.

IL-1 üretimi; bakteriyel endotoksinler, lipopolisakkaritler, viral partiküller, sitokinler, mikroorganizmalar, antijenler ve ultraviyole ışınlar dahil çeşitli ajanlar tarafından indüklenebilir ve esas olarak mononükleer fagositik hücreler tarafından olmak üzere keratinositler, endotel hücreleri, sinovyal hücreler, kemik hücreleri, nötrofiller, glial hücreler ve çok sayıda başka hücre tarafından da sağlanabilir (Feldmeyer, Keller et al. 2007).

IL-1 α ve IL-1 β benzer etkilere sahiptirler. İkisi de doğuştan gelen bağışıklığın proinflatuar aracıları olup prekürsör proteinler olarak sentezlenirler. IL-1 β , IL-1 α ile birlikte, inflammatuar sürecin başlangıç döneminde salınır ve ilk olarak lokalize inflamasyona daha sonra ise sistemik inflamasyona ve ateşe neden olur. Hem IL-1 α hem de IL-1 β , ortak reseptörleri IL-1R1'in aktivasyonu ile ateş, lökositoz ve hipotansiyona sebep olurlar (Dinarello 1996).

IL-1 α ve IL β için 2 tip reseptör vardır. IL-1 reseptörü 1 (IL-1R1), Toll benzeri/IL-1 reseptör (TIR) reseptörleri süper ailesinin üyesidir. IL-1'e atfedilen proinflatuar biyolojik etkilerin ortaya çıkmasında aracılık eder (Sims, Gayle et al. 1993). IL-1 reseptörü 2 (IL-1R2), çözüner veya zara bağlı bir reseptördür ve IL-1 sinyalizasyonunu inhibe ettiği düşünülerek başlangıçta IL-1R1'in endojen antagonisti olarak kabul edilmiştir(Re, Muzio et al. 1994). Daha sonra yapılan araştırmalarda IL-

1R2'nin, IL β 'yı bağlamayıp IL-1 α 'yı bağlayan ve bölünmesini engelleyen ancak kaspaz-1 aktive olunca IL-1 α 'yı salgılayan hücre içi bir formunu tanımlanmıştır (Zheng, Humphry et al. 2013). Böylece IL-1R2'nin farklı aktivasyonu görülmüştür.

IL-1'in en önemli görevlerinden biri IL-2 üretimini ve IL-2 reseptörlerinin ekspresyonunu artırarak T lenfositlerinin aktive edilmesine aracılık etmesidir. IL-1, B hücresi proliferasyonunu artırır ve immünoglobulin sentezini artırır.

IL-1 immün yanıt sırasında merkezi sinir sistemini etkileyerek, ateş, yorgunluk, uyku ve iştahsızlığa neden olur. Karaciğerde albumin sentezini azaltır ve akut faz reaktanları (örn., Amiloid peptit, C-reaktif peptit, kompleman) sentezini artırır. Endotelde ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektinin sentezini artırarak lökositlerin endotelial hücre yapışmasını uyarır. Septik şokta hipotansiyona katkıda bulunur. TNF- α ve IL-1, çok sayıda biyolojik aktiviteyi paylaşır; ana ayrım, TNF- α 'nın lenfosit proliferasyonu üzerinde doğrudan bir etkisinin olmamasıdır.

Diğer sitokinlerle uyum içerisinde salınan IL-1, hücre dışı patojenlerin savunması için önemli olan yardımcı T-17 hücrelerinin (Th17) oluşumunda kritik bir şekilde rol oynamaktadır (Ghoreschi, Laurence et al. 2010).

2.2.3. IL-6

7. kromozomun kısa kolunda kodlanmış tek bir gende bulunan IL-6, 184 amino asitlik bir monomerdur ve hematopoetin ailesine ait bir immün proteindir (Ray, Tatter et al. 1989). Önemli oranda mononükleer fagositik hücrelerden üretilmesinin yanında B ve T lenfositleri, fibroblastlar, endotelial hücreler, keratinositler, hepatositler ve kemik iliği hücreleri tarafından üretilir (Akira, Taga et al. 1993). Özellikle enfeksiyonun erken döneminde, 60 dakikada belirlenmeye başlamakta, 4-6 saatte pik yapmaktadır ve dolaşımda 10 güne kadar kalmaktadır. Erken dönemde yükselmesiyle klinik belirtiler başlamadan bilgi verme potansiyeline sahiptir, ölçümü kolaydır bu nedenlerle biyobelirteç olarak kullanıma uygundur (Van Snick 1990, Biffi, Moore et al. 1996).

IL-6 enfeksiyona, yanıklara, travmaya ve neoplastik hastalıklara yanıt olarak salınır. Hepatositlerde akut faz proteinlerinin sentezinin en önemli indükleyicisi olarak kabul edilir. T hücresi aktivasyonuna, büyümesine ve farklılaşmasına aracılık

eder. IL-6'nın etkisi altında, B lenfositleri olgun plazma hücrelerine dönüşür ve immünoglobülinleri salgılar. Lenfosit aktivasyonuna ek olarak IL-6, ateşin indüksiyonu ve akut faz proteinlerinin üretimi dahil olmak üzere IL-1 ile benzer aktiviteleri yapar (Medzhitov, Preston-Hurlburt et al. 1997). Bu proinflatuar etkilerinin yanında IL-6 birçok antiinflatuar etkiye aracılık eder. IL-1 ve TNF- α birbirlerinin ve IL-6'nın sentezini indüklerken, IL-6 bu artan inflammatuar süreci sonlandırır ve IL-1 ile TNF sentezini inhibe eder. Ayrıca IL-6, IL-1Ra'nın sentezini uyarır.

2.2.4. IL-10

18 kilodaltonluk bir sitokindir. TH-1 ve TH-2 lenfositleri, sitotoksik T hücresi, B lenfositleri, mast hücreleri ve mononükleer fagositik hücreler dahil olmak üzere çok sayıda hücrenin bir ürünüdür. Bununla birlikte, T lenfositleri, monositler ve B lenfositleri, insanlarda IL-10'un ana kaynaklarıdır (Del Prete, De Carli et al. 1993).

IL-10 birçok hücre üzerine etki ederek sitokin üretimini azaltır. TH-1 lenfositlerinden IFN- γ ve IL-2 üretimini, TH-2 lenfositlerinden IL-4 ve IL-5 üretimini, makrofajlardan IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 ve TNF- α üretimini ve NK hücrelerinden IFN- α ve TNF- γ üretimini engeller.

IL-10 ayrıca, sınıf II MHC, CD23, ICAM-1 ve B7 moleküllerinin ekspresyonunu inhibe eder. B7 ekspresyonunun inhibisyonu, antijen sunan hücrelerin yardımcı T hücresini aktive etmesini engeller. Bu aksesuar fonksiyon inhibisyonu, TH-1 ve TH-2 hücrelerinin sitokin üretiminin inhibisyonundan sorumludur (Ding, Linsley et al. 1993).

Normal insanlarda IL-10, iyi huylu alerjenlere karşı toleransın sağlanması ve sürdürülmesinde kritik bir role sahiptir. IL-10 eozinofil sağ kalımını ve IL-4 ile indüklenen IgE sentezini inhibe eder. Astım ve alerjik rinit gibi hava yolu hassasiyetindeki artışın, azalmış IL-10 ekspresyona bağlı inflammatuar ortamın gelişmesi ile ilgili olabileceği gösterilmiştir (Borish, Aarons et al. 1996).

T lenfositlerdeki inhibitör etkilerinin aksine B lenfositler üzerinde hücre proliferasyonunu ve immünglobin salgılanmasını uyaran bir aktive edici faktör

olarak işlev görür. İmmünglobülin G4'ün olgunlaşmasını sağlar ve sitotoksik T hücreleri için bir büyüme faktörü olarak işlev görür. Bu nedenle IL-10, hümmoral ve sitotoksik immün tepkileri indüklerken, hüccresel bağışıklık ve alerjik enflamasyon ile ilişkili sitokinleri inhibe eder (Borish and Steinke 2003).

2.3.İLAÇLAR

2.3.1.Artemisinin

Artemisinin yapısında endoperoksit köprüsü içeren seskiterpen lakton kategorisine ait bir moleküldür. Moleküler formülü C₁₅H₂₂O₅'tir. Moleküler ağırlığı 282 dalton ve erime noktası 156–157 °C olan renksiz, kristal bir maddedir.

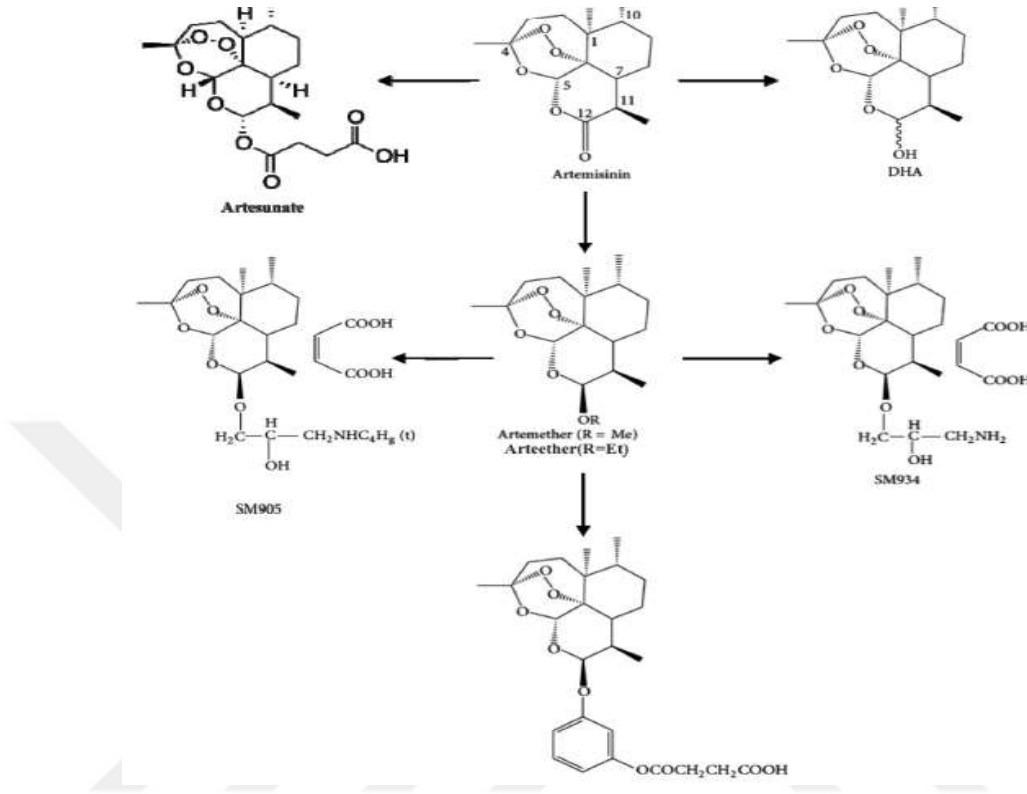
Tarihçe ve Etki Mekanizması

Artemisinin (ART) ilk olarak, Çinli profesör Youyou Tu tarafından 1972 yılında, geleneksel Çin tıbbında kullanılan “*artemisia annua*” bitkisinden izole edilmiştir (Jianfang 2013).

İlk başlarda ön planda antimalaryal etkinliği ile kullanılan ilaç daha sonraları birçok amaçla denenmiştir. ART'nin kesin etki mekanizması ve birincil hedefi belirsizliğini korumaktadır (Olliaro, Haynes et al. 2001). Bununla birlikte yapısında bulunan endoperoksit köprüsünün biyolojik aktivitesinde kilit rol oynadığı düşünülmektedir. Endoperoksit bağının, indirgenmiş hem veya ferröz demir tarafından aktive edilmesiyle, sitotoksik ve oldukça güçlü alkilleyici ajanlar olan karbon merkezli radikaller açığa çıkar ve bu radikaller antimalaryal etkinlikten sorumludur (Meshnick, Thomas et al. 1991). Yüksek etkinlik, düşük toksisite ve minimal yan etkiler nedeniyle, ART ve türevleri sıtma tedavisinde giderek daha fazla kullanılmaktadır. Diğer sıtma ilaçlarıyla karşılaştırıldığında, ART ve türevleri sıtma üzerinde en hızlı etkiye sahiptir.

Bugüne kadar, dihidroartemisin (DHA), artemether, arteether, artesunate (ATS), SM735, SM905, SM934 molekülleri dahil olmak üzere bir dizi aktif ART türevi üretilmiştir (Resim 2) (Dai, Zhou et al. 2017).

Antimalaryal özelliklerine ek olarak; antiinflamatuvar ve immünmodülatör, antitümöral, antiviral, antibakteriyel, antiparazitik, antifibrotik özelliklerine yönelik kanıtlar bulunmaktadır(Dai, Zhou et al. 2017).



Resim 1: Artemisinin ve Türevlerinin Kimyasal Yapısı

Literatürdeki birçok çalışma ve sonuçları incelendiğinde artemisinin ve derivelerinin immünsüpresif, immünmodülatör ve sepsiste koruyucu olabileceği düşünülmektedir.

Artemether'in, T hücrelerinde protein kinaz kaskadlarının aktivasyonunu düşürerek hem in vivo hem de in vitro T hücreleri üzerinde immünosupresif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Wang, Tang et al. 2007). Ayrıca dihidroartemisinin murin T lenfositlerinin proliferasyonu üzerinde immünosupresif bir etkiye sahip olduğunu bildirilmiştir (Yanxia, Zeng et al. 2010).

ART ve türevlerinin endotoksinlerin indüklediği inflamasyonu antagonize edebileceği sepsis tedavisinde kullanılabileceği ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Farelerdeki deneysel modellerde ATS'ın NF- κ B, TLR4 ve TLR9 mRNA ekspresyonunu azaltarak doza bağımlı bir şekilde sepsisten koruyabileceği

gösterilmiştir(LI, YANG et al. 2008). Bir diğer çalışmada yine ATS'ın hem in vivo hem de in vitro endotoksin ile indüklenen makrofajlardan inflamatuvar mediyatörlerin üretimini dramatik bir şekilde inhibe edebileceği gösterilmiştir (LIANG, XUE et al. 2002).

Absorbsiyon ve Metabolizması

ART ve türevleri eritrositler dahil olmak üzere zarlara ve plazma proteinlerine önemli oranda bağlanır. Plazmada arteeter, hem albümine hem de a-l asit glikoproteine bağlanır, ancak ikincisi için bağlanma afinitesi yaklaşık 20 kat daha fazladır. Plazmadaki ilacının yaklaşık % 75'i proteine bağlıdır (White 1994).

İnvivo veriler hem ana bileşik artemisininin hem türevlerinin, indirgeme ürünü dihidroartemisine hızla hidrolize edildiğini gösterir (Lee and Hufford 1990).

Rektal artemisinin süpozituarlarının uygulanmasını takiben plazma pik konsantrasyona kadar geçen ortalama süre yaklaşık 11 saat ve eliminasyon yarı ömrü 4 saat olarak tahmin edilmiştir. Oral artemisinin uygulamasında ilaç ciddi bir ilk geçiş metabolizmasına maruz kalmaktadır. Artemisinin hidrofilik oral süspansiyonu, lipofilik kas içi süspansiyona kıyasla daha az biyoyararlanım ile ancak çok daha hızlı emilmektedir (ortalama absorbsiyon yarı ömrü 32 dakika, maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi yaklaşık 1 saat). Kas içi enjeksiyon veya rektal damlatma yoluyla verilen hidrofilik süspansiyon ise zayıf bir şekilde emilmektedir(White 1994).

Artemisininin tekrarlayan oral dozları ile 5-7 günlük dozlamadan sonra plazma konsantrasyonlarının, başlangıç değerlerinin %20 -%30'una düştüğünü ve artemisinin intrensek klirensinde artış olduğunu gösteren çalışmalar, ilacın zamana bağlı farmakokinetiğe ve otoindüksiyon metabolizmasına sahip olduğunu düşündürmektedir (Gupta, Svensson et al. 2001). İlaç eliminasyonu, kapsamlı bir karaciğer ekstraksiyonu ile tutarlıdır ve sistemik klirens ve dolayısıyla ilaç yarı ömrü karaciğer kan akımına bağlıdır.

Genel olarak, artemisinin bileşikleri iyi emilir, biyolojik olarak aktif metabolite hızla hidrolize olur ve hızla ortadan kaldırılır. Çocuklarda, hayati organ

disfonksiyonu olan hastalarda veya diğer ilaçlarla etkileşimleri hakkında veriler sınırlıdır.

2.3.2.Hidroksiklorokin

HCQ, yapısında amin grubu ve kinolon halkası bulunduran aminokinolin grubu bir moleküldür. Klorokin (CQ) hidroksile edilmesi ile üretilmektedir. Moleküler formülü $C_{18}H_{26}ClN_3O$ 'dur. CQ'ne kıyasla HCQ daha polardır, daha az lipofiliktir (Rand, Wu et al. 2008).

Tarihçe ve Etki Mekanizması

Doğal antimalaryal madde olan kinin tarihte ilk kez kınakına ağacı kabuğundan üretilmiştir. Güney Amerika yerlilerinin sıtma tedavisinde kullandığı kınakına ağacı kabuğu Avrupa'ya ilk defa 1640'lı yıllarda getirilmiştir. Bu tarihten sonra Avrupa'da yaygınlaşan kınakına ağacı kabuğu üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. (Mates, Nesher et al. 2007).

Sentetik kinin üretme çabaları ise, 18. yüzyıl sonlarında Paul Ehrlich'in sıtmaya neden olan parazitler tarafından emilen sentetik bir boya olan metilen mavisi ile sıtma hastalarını tedavi etme çabalarına dayanmaktadır. Bu, insan sıtmasının tedavisi için kullanılan ilk sentetik ilaçtır. Daha sonra metilen mavisi üzerindeki çalışmalar sonucunda 1925'te pamakin bulunmuştur.

Pamakin üzerinde yapılan çalışmalarla kinakrin bulunmuştur. Kinakrinin yapısını araştıran çalışmalar sonucunda ise sontokin, primakin ve ardından klorokin bulunmuştur. Klorokin üzerinde yapılan çalışmalar oldukça etkin bir antimalaryal ilaç olduğunu göstermiş ve 1946'da kendisinden daha az toksik, hidroksilasyonla üretilmiş türevi olan HCQ'nin ortaya çıkmasına öncülük etmiştir (Resim 3) (Al-Bari 2015).

2. Dünya Savaşı sırasında sıtma profilaksisi amacıyla sentetik kinin türevlerinin geniş popülasyonlar tarafından kullanılmasıyla antiinflamatuvar etkileri gözlenmiş ve sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda faydalı olduğu dikkat çekmiştir. Günümüzde romatizmal hastalıklar başta olmak üzere immünolojik, neoplastik, dermatolojik ve enfeksiyöz hastalıklarda kullanılmaktadırlar (Mushtaque 2015).

daha az uyarılmasına ve daha az sitokin üretimine neden olur. Ayrıca lizozomlarda artan pH, aynı zamanda MHC sınıf II aracılı antijen sunan dendritik hücreler, B hücreleri ve makrofajlar gibi hücrelerinde antijen sunumunu azaltmaktadır (Taherian, Rao et al. 2013, Rodriguez-Caruncho and Marsol 2014). Bu mekanizmalar dışında da birçok şekilde antiinflamatuvar etkinlik gösterirler.

Antimalaryal etkinliklerini parazitin asidik yapıdaki besin vakuolünde birikerek, parazitin metabolizması sonucu ortaya çıkan toksik ara bileşenlerin yıkılmasını sağlayan bir takım enzimleri inhibe ederek ve parazitin DNA replikasyonunu bozarak gösterirler (Schlesinger, Krogstad et al. 1988).

Absorbsiyon ve Metabolizması

CQ ve HCQ'nin özellikle trombositler ve granülositler olmak üzere kan bileşenlerine güçlü afiniteleri vardır. Başta albümin ve α -1 asit glikoprotein olmak üzere plazma proteinlerine değişen oranlarda bağlanırlar. HCQ'nin proteine bağlanma oranı yaklaşık %50'dir (Tett, Cutler et al. 1989, Ducharme and Farinotti 1996). Kimyasal yapıları ve farmakokinetik özellikleri benzer olmasına rağmen HCQ'ne kıyasla CQ yaklaşık 3 kat fazla toksiktir (McChesney 1983).

CQ ve HCQ suda çözünebilen moleküllerdir. Oral biyoyararlanımları yüksektir. Gastrointestinal sistemden neredeyse tamamen emilirler. Emilimleri beraberinde yiyecek alımından etkilenmemektedir. Oral tek doz alımdan sonra 4-12 saat içinde en yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşırlar. Bireyler arası önemli farklılıklar olmasına rağmen günlük sabit dozlama ile 4-6 haftalık süreçte denge plazma seviyelerine ulaşırlar. Yarılanma ömürleri uzun olup 40 ila 50 gün arasında değişkendir (Moore, Page-Sharp et al. 2011).

Hidroksiklorokin CYP3A4 enzimi tarafından karaciğerde metabolize edilir ve esas olarak renal yolla itrah edilir. Yaklaşık %25'i değişmeden böbreklerden atılmaktadır. Özellikle böbrek yetmezliği olan hastalarda biyoyararlanımlarının artabildiği bildirilmiştir (McChesney 1983, Tett, Cutler et al. 1989, Collins, Jackson et al. 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Konu ile ilgili literatürdeki yayınların taraması yapıldıktan sonra çalışma hipotezi oluşturulup çalışmanın uygulanmasına karar verildi. Çalışma için Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (SÜDAM) Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 26.06.2020 tarihli ve 2020-27 karar sayılı onayı alındı ve ardından çalışma başlatıldı. Çalışma Helsinki Bildirisi'ndeki hayvan çalışmaları etik kurallarına uyularak SÜDAM laboratuvarında yürütüldü.

3.1. DENEY GRUPLARI VE DENEY PROTOKOLÜ

SÜDAM tarafından yetiştirilen, 16-20 haftalık, ağırlıkları 450-550 gram arası değişen, normal aktiviteye sahip, sağlıklı, genç erişkin, 24 adet Wistar Albino türü erkek rat araştırmaya alındı. Çalışma boyunca tüm ratlar aynı laboratuvar koşullarına tabi tutularak, aynı rat yemi ve musluk suyuyla beslendiler. Oda ısısında 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ışık düzenlemesi yapılarak tel kafeslerde muhafaza edildiler.

3.1.1. İlaçların Hazırlanması

LPS (LPS from Escherichia coli serotype O55:B5; Sigma-Aldrich, L2880, Missouri, ABD) 5 mg/kg dozunda olacak şekilde steril %0.9 NaCl içerisinde, ART (Artemisinin, 361593, Sigma-Aldrich, Missouri, ABD) 33.33 mg/kg dozunda olacak şekilde steril soya yağı içerisinde ve HCQ (Hydroxychloroquine Sulfate, A14208, Adooq, Kaliforniya, ABD) 33.33 mg/kg dozunda olacak şekilde steril %0.9 NaCl içerisinde çözülürölerek, deneyden hemen önce, her rat için ayrı ayrı hazırlandı (Resim 3).



Resim 3: İlaçlar ve Gavaj Uygulaması İçin Ayarlanmış Dozlar

LPS, 2 ml/kg hacimde ve hesaplanan dozda intraperitoneal (İP) olarak enjekte edildi. ART ve HCQ ise 5 ml/kg hacimde ve hesaplanan dozda olacak şekilde oral gavaj ile verildi. Dozlamalar önceki yayınlara dayanmaktadır (Can, Demirci et al. 2003, Bai, Li et al. 2019).

3.1.2. Deney Grupların Oluşturulması ve İlaç uygulamaları

Her grupta 6 rat olacak şekilde toplam 24 rat rastgele 4 gruba ayrıldı. Ratların ağırlıklarına göre uygulanacak dozlar hesaplandı. Deney öncesi ilaç dozlarını ayarlayabilmek için her bir ratın ağırlığı ölçüldü ve kayıt altına alındı.

Grup 1: Kontrol grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü steril %0.9 NaCl oral gavaj ile verildi. Ardından, deney günü gavaj uygulamasından 2 saat sonra steril %0.9 NaCl ise İP olarak uygulandı.

Grup 2: Sepsis grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü steril %0.9 NaCl oral gavaj ile verildi. Ardından deney günü gavaj uygulamasından 2 saat sonra 5mg/kg dozda LPS İP olarak uygulandı.

Grup 3: ART grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü 33.33 mg/kg dozda ART oral gavaj ile verildi. Ardından, deney günü uygulanan ART' den yarım saat sonra 5 mg/kg dozda LPS İP olarak uygulandı.

Grup 4: HCQ grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü 33.33 mg/kg dozda HCQ oral gavaj ile verildi. Ardından, deney günü uygulanan HCQ' den 2 saat sonra 5 mg/kg dozda LPS İP olarak uygulandı.

Oral gavaj yoluyla yapılan bütün uygulamalar 5 ml/kg, İP yapılan uygulamalar ise 2 ml/kg olacak şekilde ağırlığa göre standart hacimde verildi. ART steril soya yağı ve HCQ steril %0.9 NaCl içerisinde çözülerek belirlenen dozlarda ve hacimde olacak şekilde deneyden hemen önce ayarlandı. Deneyden bir gün önce ve deneyin başlangıcında grup 1 ve grup 2'deki ratlara steril %0.9 NaCl, grup 3'teki ratlara ART, grup 4'teki ratlara HCQ oral gavaj ile verildi. Deney günü gavaj uygulamalarının ardından; grup 1'deki ratlara 2 saat sonra İP %0.9 NaCl, grup 3'teki ratlara 30 dakika sonra İP LPS ve diğer gruplardaki ratlara 2 saat sonra İP LPS uygulandı (Resim 4).



Resim 4: Gavaj Uygulamaları ve İP Uygulama

LPS uygulamalarını takiben üçer saat sonra (grup 3'teki ratlara deneyin üçüncü saat otuzuncu dakikasında diğer gruplardaki ratlara deneyin beşinci saatinde) anestezi amaçlı 10mg/kg xylazine hidrokloride (Alfazyne®, %2, Alfasan International, Woerden, Hollanda) ve 50mg/kg ketamin (Ketalar®, Pfizer Pharma, GMBH, Almanya) İP olarak uygulandı. Ardından genel anestezi altında intrakardiyak yolla kan alındı ve sonrasında ratlar kurban edildi.

3.2. DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

3.2.1. Biyokimyasal Ölçümler

Kan numuneleri grup 3'teki ratlar için deney başlangıcından 3 saat otuz dakika sonra diğer ratlar için ise deney başlangıcından 5 saat sonra, direkt olarak intrakardiyak yolla alındı. Elde edilen numunelerin bir kısmı antikoagülanlı mor kapaklı hemogram tüpüne alındı ve soğuk zincirde biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. Bir kısmı ise antikoagülan içermeyen, sarı kapaklı, vakumlu, plastik jelli tüplere alınıp 3000G'de 10 dk değerlerinde santrifüj edildi. Plazma kısmı ayrılıp TNF alfa, IL-1, IL- 6, IL-10 değerleri ölçülene kadar -80°C 'de saklandı.

Sitokin düzeyleri ölçümü Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan mikropalak okuyucu cihaz (CLARIOstar, BMG Labtech, Ortenberg, Almanya) ile ELISA yöntemiyle yapıldı. Ölçümlerde BT LAB (Şanghay, Çin) marka TNF- α (Katalog no; E0764Ra), IL-1 (Katalog no; E0107Ra),

IL-6 (Katalog no; E0135Ra), IL-10 (Katalog no; E0108Ra) rat ELİSA kitleri kullanıldı.

3.2.2. İstatiksel Değerlendirme

Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS 21.0 paket programı yardımıyla gerçekleştirildi. Analizler öncesinde verilerin normalliği Shapiro-Wilk normallik testi, Q-Q grafikleri ve Box-Plot grafikleri yardımıyla, grup varyanslarının homojenliği ise Levene varyans homojenlik testi ile kontrol edildi. Değişkenlere ilişkin tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu.

Çalışmada kullanılan belirteçlerden IL-1 ve TNF- α 'nın gruplar arası karşılaştırmalarında Tek Yönlü Varyans analizi (ANOVA) devamında Tukey HSD çoklu karşılaştırması, IL-6 ve IL-10'nın gruplar arası karşılaştırmasında ise (grup varyanslarının homojenlik varsayımının ihlali nedeniyle) Welch F testi ve devamında Games-Howell çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiksel analizlerde anlam seviyesi %5 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.2. ÇALIŞMA ÇIKTILARI VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Tablo 6: Araştırmaya Katılan Tüm Gruplara Ait Tanımlayıcı İstatistikler ve Tüm Grupların

Sitokin Düzeylerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

	Deney Grupları	n	Ortalama	Standart sapma	Ortalama İçin %95 Güven Aralığı		Min	Max
					Alt Sınır	Üst Sınır		
IL-1 (pg/ml)	4.grup	6	5,23	1,18	3,99	6,47	3,59	6,57
	3.grup	6	5,63	0,93	4,65	6,60	4,50	6,88
	2.grup	6	8,70	2,08	6,51	10,89	7,12	12,26
	1.grup	6	3,37	1,08	2,23	4,51	1,47	4,20
	Total	24	5,73	2,34	4,74	6,72	1,47	12,26
IL-6 (ng/l)	4.grup	6	6,39	1,57	4,74	8,04	3,54	8,06
	3.grup	6	8,61	3,62	4,81	12,42	5,54	13,46
	2.grup	6	11,33	2,57	8,63	14,03	9,48	14,94
	1.grup	6	6,14	1,02	5,07	7,22	5,04	7,51
	Total	24	8,12	3,09	6,81	9,43	3,54	14,94
IL-10 (pg/ml)	4.grup	6	215,21	20,37	193,82	236,60	187,09	237,34
	3.grup	6	232,73	37,19	193,69	271,77	184,46	282,55
	2.grup	6	255,91	38,79	215,20	296,63	221,92	316,98
	1.grup	6	205,36	10,95	193,87	216,86	189,37	218,59
	Total	24	227,30	33,60	213,11	241,49	184,46	316,98
TNF- α (ng/l)	4.grup	6	117,47	14,80	101,93	133,01	94,75	133,62
	3.grup	6	120,05	15,73	103,54	136,57	101,60	137,13
	2.grup	6	146,19	19,16	126,08	166,30	123,93	173,42
	1.grup	6	106,09	26,82	77,942	134,23	80,01	139,84
	Total	24	122,45	23,71	112,43	132,47	80,01	173,42

Not: 4. Grup = HCQ (oral 33.33mg/kg hidroksiklorokin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 3. Grup = ART (oral 33.33mg/kg artemisinin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 2. Grup = Sepsis (oral %0.9 NaCl + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 1. Grup = Kontrol (oral %0.9 NaCl + İP %0.9 NaCl)

Çalışmamızda değerleri ölçülen dört sitokin (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α) hepsine bakıldığında, kontrol grubundaki ratların sitokin düzeylerinin ortalamasına kıyasla İP olarak bakteriyel LPS enjeksiyonu ile deneysel sepsis modellemesi yapılan ratların (Sepsis, HCQ, ART grupları) sitokin düzeylerinin ortalamalarının daha

yüksek olduğu görüldü (Tablo 6). Bu durum daha önce literatürde de birçok örneği olan ratlarda İP LPS enjeksiyonu ile sitokin üretiminin artabileceğini göstermekteydi.

Gavaj ile HCQ ve ART verilerek ön tedavi uygulanan ratların sitokin düzeylerinin ortalamalarının, sepsis grubundaki ratların sitokin düzeyi ortalamalarına kıyasla daha düşük olduğu görüldü. Bu durum HCQ ve/veya ART ön tedavisinin deneysel sepsis modellemesinde sitokin üretimini baskılayabileceğini göstermekteydi.

Grupların sitokin düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını değerlendirmek için yapılacak istatistiksel analizler öncesi verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk normallik testi, Q-Q grafikleri ve Box-Plot grafikleri yardımıyla değerlendirildi. Verilerin normalliği doğrulandıktan sonra grup varyanslarının homojenliği Levene varyans homojenlik testi ile kontrol edildi (Tablo 7).

Tablo 7: Varyansların Homojenliği Değerlendirmesi İçin Yapılan Levene Testi Sonuçları

	Levene İstatistik	df1	df2	p-değeri
IL-1	2,293	3	20	0,109
IL-6	6,419	3	20	0,003
IL-10	3,813	3	20	0,026
TNF- α	1,402	3	20	0,271

Tablo 7 'ye göre IL-1 ve TNF- α verilerinin grup varyanslarının homojenliği Levene testi ile doğrulanmıştır ($p>0,05$). Bu verilerin gruplar arası farklılık karşılaştırmalarında Tek Yönlü Varyans analizi (ANOVA) devamında ise Tukey HSD çoklu karşılaştırması kullanıldı. Levene testine göre IL-6 ve IL-10 değerlerinin varyanslarının homojen olmaması ($p<0,05$) nedeniyle bu verilerin gruplar arası karşılaştırmasında Welch F testi ve devamında Games-Howell çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

4.1.1 IL-1 Sonuçları

IL-1 düzeylerinin ortalaması pg/ml olarak; kontrol grubunda $3,37 \pm 1,08$, sepsis grubunda ise $8,70 \pm 2,08$ olarak ölçüldü (Tablo 8). Kontrol grubuna kıyasla sepsis grubu IL-1 düzeylerinin fazlalığı istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlıydı ($p < 0,001$). HCQ ve ART grubunda ise IL-1 düzeyleri ortalamaları pg/ml olarak sırasıyla $5,23 \pm 1,18$ ve $5,63 \pm 0,93$ olarak ölçüldü. HCQ ve ART gruplarının IL-1 düzeylerinin ortalamalarının sepsis grubunun ortalamasına kıyasla düşük olması istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlıydı (sırasıyla $p < 0,01$ $p < 0,01$).

HCQ ve ART gruplarının IL-1 düzeylerinin ortalamaları ile kontrol grubunun IL-1 düzeyleri ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla $p = 0,12$, $p = 0,05$). ART ve HCQ gruplarının IL-1 düzeyleri ortalamaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p = 0,96$).

Tablo 8: IL-1 Ölçümlerine Yönelik Gruplar Arası Farklılık Analizi İçin Uygulanan Testler ve P Değerleri

Veriler	Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA)		Çoklu Karşılaştırma Sonuçları (Tukey HSD testi)		
	Test İstatistiği	p değeri	Deney Grupları	Ortalama $\pm$ SS	p değerleri
IL-1 (pg/ml)	F=15,07	<0,001 [#]	4.grup	$5,23 \pm 1,18$	(ART) $p = 0,96$ (Sepsis) $p < 0,01^{\#}$ (Kontrol) $p = 0,12$
			3.grup	$5,63 \pm 0,93$	(HCQ) $p = 0,96$ (Sepsis) $p < 0,01^{\#}$ (Kontrol) $p = 0,05$
			2.grup	$8,70 \pm 2,08$	(HCQ) $p < 0,01^{\#}$ (ART) $p < 0,01^{\#}$ (Kontrol) $p < 0,001^{\#}$
			1.grup	$3,37 \pm 1,08$	(HCQ) $p = 0,12$ (ART) $p = 0,05$ (Sepsis) $p < 0,001^{##}$

SS: Standart Sapma

Not: 4. Grup = HCQ (oral 33.33mg/kg hidroksiklorokin + İ.P 5mg/kg Lipopolisakkarit), 3. Grup = ART (oral 33.33mg/kg artemisinin + İ.P 5mg/kg Lipopolisakkarit), 2. Grup = Sepsis (oral %0.9 NaCl + İ.P 5mg/kg Lipopolisakkarit), 1. Grup = Kontrol (oral %0.9 NaCl + İ.P %0.9 NaCl)

Çalışmamızdan IL-1 ile ilgili çıkan sonuca göre; HCQ ve ART ile yapılan ön tedavinin, İP LPS enjeksiyonu ile başlayan IL-1 üretimini ön tedavi yapılmayan gruba kıyasla anlamlı düzeyde baskıladığı görülmektedir. Ayrıca İP LPS uygulaması ile provake edilen inflamatuvar sürece rağmen HCQ ve ART gruplarında IL-1 düzeyleri ortalamaları kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark oluşturmamaktaydı.

4.1.2 TNF- α Sonuçları

TNF- α düzeylerinin ortalaması ng/l olarak; kontrol grubunda $106,09 \pm 26,82$, sepsis grubunda ise $146,19 \pm 19,16$ olarak ölçüldü (Tablo 9). Kontrol grubuna kıyasla sepsis grubu TNF- α düzeylerinin fazla olması istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). HCQ ve ART grubunda ise TNF- α düzeyleri ortalamaları ng/l olarak sırasıyla $117,47 \pm 14,80$ ve $120,05 \pm 15,73$ olarak ölçüldü. Sayısal olarak azalma olmasına rağmen, HCQ ve ART gruplarının TNF- α düzeyleri ortalamalarının sepsis grubunun ortalamasına kıyasla düşük olması istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p = 0,08$, $p = 0,13$).

HCQ ve ART gruplarının TNF- α düzeylerinin ortalamaları ile kontrol grubu TNF- α düzeyi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla $p = 0,75$, $p = 0,61$). ART ve HCQ gruplarının TNF- α düzeyleri ortalamaları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p = 0,99$).

Tablo 9: TNF- α Ölçümlerine yönelik gruplar arası farklılık analizi için uygulanan Testler ve P Değerleri

Veriler	Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA)		Çoklu Karşılaştırma Sonuçları (Tukey HSD testi)		
	Test İstatistiği	p değeri	Deney Grupları	Ortalama $\pm$ SS	p değerleri
			4.grup	$117,47 \pm 14,80$	(ART) $p = 0,99$ (Sepsis) $p = 0,08$ (Kontrol) $p = 0,75$

TNF- α (ng/l)	F=4,43	<0,05*	3.grup	120,05 $\pm$ 15,73	(HCQ) p=0,99 (Sepsis) p=0,13 (Kontrol) p=0,61
			2.grup	146,19 $\pm$ 19,16	(HCQ) p=0,08 (ART) p=0,13 (Kontrol) p<0,05*
			1.grup	106,09 $\pm$ 26,82	(HCQ) p=0,75 (ART) p=0,61 (Sepsis) p<0,05*

SS: Standart Sapma

Not: 4. Grup = HCQ (oral 33.33mg/kg hidroksiklorokin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 3. Grup = ART (oral 33.33mg/kg artemisinin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 2. Grup = Sepsis (oral %0.9 NaCl + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 1. Grup = Kontrol (oral %0.9 NaCl + İP %0.9 NaCl)

Çalışmamızdan TNF- α ile ilgili çıkan sonuca göre ratlarda HCQ ve ART ile yapılan ön tedavi, İP LPS enjeksiyonu ile başlayan TNF- α üretimini azalttı buna karşılık bu azalmanın sepsis grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı görüldü. Ancak aynı zamanda HCQ ve ART gruplarının her ikisinde de İP LPS enjeksiyonuna rağmen TNF- α düzeyleri ortalamaları kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark oluşturmamaktaydı.

4.1.3 IL-6 Sonuçları

IL-6 düzeylerinin ortalaması ng/l olarak; kontrol grubunda 6,14 $\pm$ 1,02, sepsis grubunda ise 11,33 $\pm$ 2,57 olarak ölçüldü (Tablo 10). Kontrol grubuna kıyasla sepsis grubu IL-6 düzeylerinin fazla olması istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05). HCQ ve ART grubunda ise IL-6 düzeyleri ortalamaları ng/l olarak sırasıyla 6,39 $\pm$ 1,57 ve 8,61 $\pm$ 3,62 olarak ölçüldü.

HCQ grubunun IL-6 düzeyi ortalamasının sepsis grubunun IL-6 düzeyi ortalamasına kıyasla düşük olması istatistiksel olarak anlamlıydı(p<0,05). HCQ grubu ile kontrol grubu IL-6 düzeyleri arasında ise anlamlı farklılık yoktu(p=0,98).

ART grubunun IL-6 düzeyi ortalaması sepsis grubu IL-6 düzeyi ortalamasına kıyasla daha düşük, kontrol grubu IL-6 düzeyi ortalamasına kıyasla daha yüksekti ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. (sırasıyla $p=0,47$, $p=0,44$). HCQ ve ART gruplarının IL-6 düzeylerinin ortalamaları arasında ise anlamlı farklılık yoktu ($p=0,54$).

Tablo 10: IL-6 Ölçümlerine Yönelik Gruplar Arası Farklılık Analizi İçin Uygulanan Testler ve P Değerleri

Veriler	Welch F Testi		Çoklu Karşılaştırma Sonuçları (Games-Howell Testi)		
	Test İstatistiği	p değeri	Deney Grupları	Ortalama± SS	p değerleri
IL-6 (ng/l)	F=6,77	<0,01 [#]	4.grup	6,39±1,57	(ART) $p=0,54$ (Sepsis) $p<0,05^*$ (Kontrol) $p=0,98$
			3.grup	8,61±3,62	(HCQ) $p=0,54$ (Sepsis) $p=0,47$ (Kontrol) $p=0,44$
			2.grup	11,33±2,57	(HCQ) $p<0,05^*$ (ART) $p=0,47$ (Kontrol) $p<0,05^*$
			1.grup	6,14±1,02	(HCQ) $p=0,98$ (ART) $p=0,44$ (Sepsis) $p<0,05^*$

SS: Standart Sapma

Not: 4. Grup = HCQ (oral 33.33mg/kg hidroksiklorokin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 3. Grup = ART (oral 33.33mg/kg artemisinin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 2. Grup = Sepsis (oral %0.9 NaCl + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 1. Grup = Kontrol (oral %0.9 NaCl + İP %0.9 NaCl)

Çalışmamızdan IL-6 ile ilgili çıkan sonuca göre ratlarda HCQ ile yapılan ön tedavi, İP LPS enjeksiyonu ile başlayan IL-6 üretimini sepsis grubuna kıyasla anlamlı düzeyde baskılamıştır. Ayrıca İP LPS uygulaması ile provake edilen inflamatuvar sürece rağmen HCQ grubunda IL-6 düzeyi ortalaması kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark oluşturmamaktaydı.

Ayrıca ART ile yapılan ön tedavinin, İP LPS enjeksiyonu ile başlayan IL-6 üretimini azaltmasına karşılık, bu azalmanın sepsis grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadağı görülmektedir. Ancak aynı zamanda ART grubunda İP

LPS enjeksiyonu ile provake edilen inflamatuvar sürece rağmen IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna kıyaslandığında anlamlı düzeyde artmadığı görülmektedir.

4.1.4 IL-10 Sonuçları

IL-10 düzeylerinin ortalaması pg/ml olarak; kontrol grubunda $205,36 \pm 10,95$, sepsis grubunda $255,91 \pm 38,79$, HCQ grubunda $215,21 \pm 20,37$, ART grubunda ise $232,73 \pm 37,19$ olarak ölçüldü (Tablo 11). Gruplara uygulanan Welch F testi sonucunda IL-10 düzeylerinin ortalamaları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0,058$).

Çalışmamızdan IL-10 ile ilgili çıkan sonuca göre kontrol grubuna kıyasla sepsis grubu dahil herhangi bir grupta IL-10 düzeyi anlamlı olarak değişmemiştir.

Tablo 11: IL-10 Ölçümlerine Yönelik Gruplar Arası Farklılık Analizi İçin Uygulanan Welch F Testi ve P Değeri

Veriler	Test İstatistiği	p değeri	Deney Grupları	Ortalama $\pm$ SS
IL-10 (pg/ml)	3,495	0,058	4.grup	$215,21 \pm 20,37$
			3.grup	$232,73 \pm 37,19$
			2.grup	$255,91 \pm 38,79$
			1.grup	$205,36 \pm 10,95$

Not: 4. Grup = HCQ (oral 33.33mg/kg hidroksiklorokin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 3. Grup = ART (oral 33.33mg/kg artemisinin + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 2. Grup = Sepsis (oral %0.9 NaCl + İP 5mg/kg Lipopolisakkarit), 1. Grup = Kontrol (oral %0.9 NaCl + İP %0.9 NaCl)

5. TARTIŞMA

Sepsis, enfeksiyona karşı aşırı sistemik inflamatuvar yanıt sonucu ortaya çıkan yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu ile karakterize bir sendromdur. Oldukça güçlü antibiyotiklerle enfeksiyon tedavilerine rağmen, antibiyotiklerin sistemik inflamasyonu kontrol edememesi sonucu bu inflamasyonun orijinal uyarandan bile daha tehlikeli olabilen yıkıcı etkileri nedeniyle sepsis yönetimi klinisyenlerin önünde önemli bir sorun olmaya devam etmektedir (Ulloa and Tracey 2005).

Enfeksiyon, doku hasarı veya antijenik uyarı ile salgılanan TNF, interlökinler, HMGB1 gibi proinflamatuvar sitokinler normalde doku hasarını sınırlandırmak için lokal pıhtılaşmayı destekleyen faydalı bir inflamatuvar yanıtı tetiklerler. Ancak bu proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretiminin artmış kapiller geçirgenliğe, doku hasarı artışına ve ölümcül organ yetmezliğine neden olabildiği dikkat çekmektedir. Sepsis, patogenezindeki aşırı inflamatuvar yanıtı baskılayacak etkili bir ilaç tedavisi olmadığından halen önde gelen mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (Tracey, Beutler et al. 1986, Tracey, Fong et al. 1987, Dinarello 1996, Rs and Karl 2003, Lu, Chao et al. 2019). Bu nedenle sepsise bağlı klinik sonuçlara olumlu katkıda bulunacak yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Bu yönde yapılan çalışmalar yoğun talep görmektedir.

Sepsis tedavisine yönelik araştırmalar için deneysel hayvan modelleri sıklıkla kullanılmaktadır. Deneysel sepsis oluşturmak için çekal ligasyon ve ponksiyon, parenteral bakteriyel komponent (endotoksin, LPS v.d.) enjeksiyonu, parenteral viabl bakteri enjeksiyonu, pulmoner, gastrointestinal bakteri verilmesi gibi birçok hayvan modeli mevcuttur. Çekal ligasyon ve ponksiyon modeli, insan sepsisine en yakın deneysel hayvan sepsis modeli olarak kabul görmüştür. Ancak insan fizyolojisinin karmaşıklığı nedeniyle insan sepsisini tam olarak taklit eden bir deneysel hayvan modeli yoktur. Bu nedenle bu çalışmamızda öncelikli amacımız klinik olarak sepsis oluşturup tedavi etmek değildi. Deney hipotezimizi sepsis patogenezinin ilk basamaklarında yer alan ve önemli yer tutan proinflamatuvar sitokin üretimini (sitokin fırtınasını) ve buna bağlı inflamatuvar hasarı, antiinflamatuvar etkinlikleri bilinen iki ajanın regüle edebileceği ve azaltılabileceği üzerine kurduk.

Deney planlamamızda çekal ligasyon ve ponksiyon ile sepsis oluşturma modelinin sitokin düzeyleri üzerinde deney sonuçlarını etkileyecek anlamlı farklılıklara neden olabilecek bazı dezavantajları vardı. Bunlar; önemli düzeyde

inflamatuvar yanıt oluşturabilecek cerrahi işlem gerektirmesi ve bu işlemin standardize edilmesindeki olası problemler, deneklerin kolon mikrobiyatasındaki olası farklılıklar ve bakteriyel inokölasyon düzeyinin tahmin edilememesiydi. Tekrarlanabilirlik ve uygulanabilirlik oranının yüksek olması, gram negatif enfeksiyonların etkilerini iyi modelleyebilmesi ve daha iyi standardizasyon koşulları sağlaması nedeniyle deney planlamasında inflamatuvar süreci başlatmak için İP LPS enjeksiyonu seçildi.

Çalışmamızda değerleri ölçölen dört sitokin (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α) hepsine bakıldığında, deneysel sepsis modellemesi yapılan gruplardaki (Sepsis, HCQ, ART grupları) ratların sitokin düzeylerinin ortalamalarının kontrol grubundaki ratlardan daha yüksek olduğu göröldü. Bu durum deneysel modellememizin başarılı olduğunu göstermekteydi.

Kontrol grubu ile sepsis grubu kıyaslandığında çalışılan sitokinlerden IL-10 hariç diğerlerinin yüksek olması istatistiksel olarak anlamlıydı. Kontrol ve sepsis grupları arasında IL-10 düzeyinin anlamlı fark oluşturmaması IL-10'un sepsisin geç döneminde salgılanan bir sitokin olması nedeniyle kan örneklerinin erken alınmasına bağlı olduğu düşünöldü.

Proinflamatuvar sitokinleri spesifik antagonize eden tedavi prosedörleri (anti-TNF monoklonal antikorlar, IL-1-reseptör antagonistleri v.b.) başta romatoid artrit ve Crohn hastalığı olmak üzere birçok inflamatuvar hastalığa karşı başarılı bir terapötik yaklaşımdır. Bununla birlikte, bu antagonizma temelli stratejiler sepsis tedavisinde ise sonuçlara olumlu katkı sağlamamıştır (Fisher, Dhainaut et al. 1994, Feldmann 2002). Biz çalışmamızda spesifik sitokin antagonizması yerine immünmodölätör etkileri ile agresif sitokin üretimini azaltıp regöle edebileceğini düşünödüğümüz iki ajan olan ART ve HCQ'ni araştırdık.

TNF- α doğal bağışıklığın primer mediyätörödür ve sepsis patogeneğinde ilk suçlanan sitokindir. Literatürdeki birçok çalışmaya göre TNF- α düzeyi ile sepsise bağlı olumsuz klinik sonuçlar arasında korelasyon vardır. Ayrıca sepsiste ilk yükselen ve kısa yarı ömrü nedeniyle hastalığın seyrinde saatler içerisinde tekrar basal düzeyine yaklaşan bir sitokindir (Ulloa and Tracey 2005). Bir çalışmada CQ'nin LPS ile stimöle edilen mürin makrofaj hücrelerinde TNF- α üretimini baskıladığı bildirilmiştir (Jeong and Jue 1997). Yasuda ve ark farelerde çekal

ligasyon ve ponksiyon yöntemiyle yaptıkları deneysel sepsis modellemesinde CQ ile hem ön tedavinin hem de art tedavinin serum TNF- α düzeylerini ve böbrek hasarını azalttığını, sağkalımı artırdığını bildirmişlerdir (Yasuda, Leelahavanichkul et al. 2008). Bizim çalışmamızda ise TNF- α düzeyleri açısından; İP LPS ile inflamatuvar uyarıya rağmen HCQ grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Sepsis grubunun TNF- α düzeyi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksekti. HCQ grubunun TNF- α düzeyi, sepsis grubuna kıyasla daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. HCQ grubu ile sepsis grubu arasındaki farkın anlamlı olmamasının TNF- α 'nın kısa sürede pik yaptıktan sonra hastalığın ilk saatlerinde düşmesine bağlı olabileceği düşünüldü.

Liang ve ark tarafından yapılan bir çalışmada, bir ART derivesi olan ATS'nin farelerde bakteriyel LPS enjeksiyonu ile indüklenen TNF- α üretimini hem in vitro hem de in vivo olarak inhibe edebildiği bildirilmiştir (LIANG, XUE et al. 2002). Wang ve ark tarafından yapılan bir diğer çalışmada farelere i.v. LPS ve inaktif E.coli verilerek yapılan modellemede peroral ART ön tedavisinin doz bağımlı olarak TNF- α düzeyini düşürdüğü ve farelerde sağ kalımı artırdığı bildirilmiştir (Wang, Zhou et al. 2006). Bizim çalışmamızda TNF- α düzeyleri açısından ART grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Sepsis grubu TNF- α düzeyi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksekti. ART grubu TNF- α düzeyi, sepsis grubuna kıyasla daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sepsis grubu ve ART grubu arasındaki farkın anlamlı olmamasının nedeninin HCQ grubunda olduğu gibi TNF- α 'nın kısa sürede pik yaptıktan sonra hastalığın ilk saatlerinde düşmesine bağlı olabileceği düşünüldü.

Sepsiste rol alan diğer bir sitokin IL-1'dir. Lenfosit aktive eden faktör ya da endojen pirojen olarak da adlandırılan IL-1, endotel hücrelerinde pıhtılaşmayı aktive eder, ayrıca mononükleer fagositlerde ve endotel hücrelerinde kemokin sentezini başlatarak lökositleri aktive eder. TNF- α ile birlikte enfeksiyonun erken döneminde salınarak birçok biyolojik aktiviteyi paylaşır. Deney hayvanlarına uygulandığında sistemik toksisite bulguları yapar (Okusawa, Gelfand et al. 1988). IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere benzer etkilere sahip iki ana grubu vardır. İkisi de doğal bağışıklığın proinflamatuvar aracıları olup, inflamatuvar sürecin başlangıç döneminde salınır ve lokalize inflamasyonun sistemik inflamasyona dönüşmesinde kilit rol oynarlar. Hem

IL-1 α hem de IL-1 β , ortak reseptörleri IL-1R1'in aktivasyonu ile ateş, lökositöz ve hipotansiyona sebep olurlar (Dinarello 1996).

Vücutta birçok doku tarafından üretilen bir sitokin olan IL-6, enfeksiyon sonrası 4-6 saatte pik yapmaktadır ve dolaşımında 10 güne kadar kalmaktadır (Van Snick 1990, Biffi, Moore et al. 1996). Lenfositleri aktive ederek immünglobülin salınımını uyarmasına ek olarak ateşin indüksiyonu ve akut faz proteinlerinin üretimi dahil olmak üzere IL-1 ile benzer aktiviteleri yapar. Bu proinflatuar etkilerinin yanında IL-6 birçok antiinflatuar etkiye aracılık eder. IL-1 ve TNF- α sentezi ile başlayan inflammatuar süreci sonlandırır ve bu sitokinlerin sentezini inhibe eder (Medzhitov, Preston-Hurlburt et al. 1997). Literatürde IL-6 düzeylerindeki artışın mortalite artışı ile korele olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Terregino, Lopez et al. 2000).

Literatürdeki in vitro çalışmalarda insan periferik mononükleer kan hücrelerinin LPS ile uyarılması ile yapılan deneylerde CQ uygulamasının TNF- α IL-1 β , ve IL-6 üretimini baskıladığı gösterilmiştir (Weber and Levitz 2000, Jang, Choi et al. 2006). Richard ve ark tarafından yayınlanan literatür derlemesinde; CQ ve HCQ tedavisinin romatolojik, immünolojik ve enfeksiyöz hastalıkların patogenezinde önemli yer tutan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 başta olmak üzere birçok sitokin üretimini baskıladığı, immünmodülatör etkinliği ile klinik sonuçlara olumlu katkıda bulunabileceği ve COVID-19 hastalığı da dahil sitokin fırtınasına karşı kullanılabileceği bildirilmiştir (Richard, Kampo et al. 2020). Zhang ve ark tarafından İP LPS enjeksiyonu ile yapılan deneysel sepsis modellemesinde CQ ile tedavinin TNF- α ve IL-6 üretimini azaltarak inflamasyona sekonder böbrek hasarını hafiflettiği bildirilmiştir (Zhang, Xia et al. 2017). Biz de çalışmamızda ratlarda HCQ ile ön tedavi yapıldığında, İP LPS uygulaması ile başlatılan inflammatuar süreçteki mediyatörlerden IL-1 ve IL-6 düzeylerinin istatistiksel olarak yüksek anlamlı şekilde azaldığını tespit ettik.

Gu ve ark yaptıkları çalışmada deneysel miyokard infarktüsü oluşturduktan sonra ART ile tedavi uygulanan ratlarda 28. günde periiskemik miyokardda IL-1 β düzeyinin ve buna bağlı olarak makrofaj infiltrasyonunun azaltılarak sempatik hiperinflamasyonun hafifletildiğini bildirmişleridir (Gu, Wang et al. 2012). Cen ve ark ratlarda deneysel akut pankreatit modelinde ATS ile tedavinin serum IL-1 β ve IL-6 düzeylerini düşürerek inflammatuar hasarı azalttığını aynı zamanda in vitro LPS

ile stimule edilen pankreas dokusunda ATS ile tedavinin yine bu sitokinlerin düzeyini azalttığını bildirmişlerdir (Cen, Liu et al. 2016). İn vitro yapılan bir diğer çalışmada ise ART türevi olan SM905 molekülü mürin makrofaj hücrelerinde LPS ile yapılan stimülasyon sonucu oluşan IL-1 β üretimini azaltmıştır (WAng, Hou et al. 2009). Biz de çalışmamızda ratlarda İ.P LPS enjeksiyonu ile yapılan deneysel sepsis modelinde ART ile ön tedavinin IL-1 düzeyini sepsis grubuna kıyasla düşürdüğünü tespit ettik.

Li ve ark ısı ile inaktive edilmiş E.Coli ile yaptıkları çalışmada ATS'ın etkisini test etmişler ve doza bağlı bir şekilde NF- κ B ve TLR4'ün ekspresyonunu azaltarak in vivo olarak farelerde ve in vitro olarak mürin peritoneal makrofajlarında TNF- α ve IL-6 salınımını azalttığını bildirmişlerdir (Li, Zhang et al. 2008). Yine Cao ve ark tarafından yapılan bir çalışmada ART'nin farelerde deneysel sepsis ile oluşması muhtemel akciğer hasarı üzerindeki terapötik etkisi gözlemlenmiş, ART'nin akciğer dokularında TNF- α ve IL-6 ekspresyonunu ve salınımını baskılayarak akciğer hasarını hafifletebileceği bildirilmiştir (CAO, GUO et al. 2007). Bizim çalışmamızda IL-6 düzeyi sepsis grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yüksekti. ART grubunda ise kontrol grubundan fazla, sepsis grubundan ise düşüktü ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu durumun, LPS enjeksiyonundan önce uygulanan ART'nin peroral kullanımından sonra yaklaşık 1 saatte plazma pik düzeyine ulaşırken, IL-6 düzeyinin ise LPS enjeksiyonundan 4-6 saat sonra görece daha geç pik yapmasına ve örneklem sayısının az olmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

IL-10 enfeksiyona karşı oluşan inflamatuvar yanıtı proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltarak sınırlandıran bir sitokindir. Antiinflamatuvar sitokinler içerisinde en bilineni olan IL-10 enfeksiyonun geç dönemlerinde salınır. İyileşme ya da sepsise bağlı immünsüpresyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Çalışmamızdan IL-10 ile ilgili çıkan sonuca göre kontrol grubuna kıyasla sepsis grubu dahil herhangi bir grupta düzeyi anlamlı olarak değişmemiştir. Bu durumun İP LPS enjeksiyonu sonrası kan örneklerinin henüz IL-10 salınımı başlamadan alınmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

6. SONUÇ

Wistar Albino türü ratlarda İP LPS verilerek oluşturulan deneysel sepsisin erken döneminde artan proinflatuar sitokinlerden IL-1 ve IL-6 düzeyleri HCQ ön tedavisi ile anlamlı derecede azalma göstermektedir. Benzer şekilde ART ön tedavisi aynı modellemede artan IL-1 düzeyini anlamlı derecede azaltırken, IL-6 düzeyini ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde azaltmaktadır. Artış gösteren TNF- α düzeyini ART ve HCQ, kontrol grubu değerlerine benzer olacak şekilde azaltmaktadır. Antiinflatuar sitokinlerden IL-10 düzeylerinde ise çalışma süresi içinde gruplar arasında anlamlı artış veya azalma olmamıştır. Bu sonuçlar ART ve HCQ'in konağın sepsise yanıtını regüle edebilecek potansiyele sahip ajanlar olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. İnsanlarda farklı endikasyonlarda kullanım onayı bulunan bu iki ajanın insanlarda sepsisin oluşturduğu inflamatuvar yanıtlara etkinliğini, optimal uygulama yöntemini ve zamanını belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- Abbas, A. K., A. H. Lichtman and S. Pillai (2014). Cellular and molecular immunology E-book, Elsevier Health Sciences.
- Akira, S., T. Taga and T. Kishimoto (1993). "Interleukin-6 in biology and medicine." Adv Immunol **54**: 1-78.
- Al-Bari, M. A. A. (2015). "Chloroquine analogues in drug discovery: new directions of uses, mechanisms of actions and toxic manifestations from malaria to multifarious diseases." Journal of Antimicrobial Chemotherapy **70**(6): 1608-1621.
- Angus, D. C., W. T. Linde-Zwirble, J. Lidicker, G. Clermont, J. Carcillo and M. R. Pinsky (2001). "Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care." Read Online: Critical Care Medicine| Society of Critical Care Medicine **29**(7): 1303-1310.
- Anname, D., E. Bellissant and J. M. Cavaillon (2005). "Septic shock." Lancet **365**(9453): 63-78.
- Auron, P. E., A. C. Webb, L. J. Rosenwasser, S. F. Mucci, A. Rich, S. M. Wolff and C. A. Dinarello (1984). "Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA." Proc Natl Acad Sci U S A **81**(24): 7907-7911.
- Bai, L., H. Li, J. Li, J. Song, Y. Zhou, B. Liu, R. Lu, P. Zhang, J. Chen and D. Chen (2019). "Immunosuppressive effect of artemisinin and hydroxychloroquine combination therapy on IgA nephropathy via regulating the differentiation of CD4+ T cell subsets in rats." International Immunopharmacology **70**: 313-323.
- Baykara, N., H. Akalın, M. K. Arslantaş, V. Hancı, Ç. Çağlayan, F. Kahveci, K. Demirağ, C. Baydemir, N. Ünal, P. Özdemir, H. Ulusoy, D. Memiş, C. Arar, E. Yılmaz, M. Çelik, İ. Cinel, S. Temur, M. A. Yaşar, H. T. Çulha, C. Balcı, S. San, A. Salbes, E. Özkan, O. Palabıyık, J. Çelik, A. Yosunkaya, F. Çiçekçi, İ. Özkoçak, İ. Katı, H. Başar, S. Turan, S. Ünver, Ü. Büyükoçak, A. Akin, S. Gürsoy, D. Tok, S. Serin, S. D. Kiter, H. Doğan, A. Oruç, O. Balaban, D. Tüfek, İ. Kurt, M. Bilgi, V. Tuna, A. Özkök, A. Şen, N. Taş, H. Ayoğlu, B. K. Uğur, S. Kaya, M. Kahraman, Z. Doğanay, G. Soykam, İ. Köse, B. Yelken, O. Ekinci, G. Ö. Kavak, U. Göktaş, T. Tugal, N. Doğan, M. Gündüz, S. Turhanoglu, A. Ramazanoğlu, F. Eroğlu, Ş. Yalçın, H. Yağmurdur, A. Tutak, A. A. Altuncan, U. Kuyrukluıldız, G. O. Hergünsel, K. Erkalp, N. Gökmen, M. Aksun, E. Sayan, O. Özlü, Y. Demiraran, E. Şentürk, İ. Gençay, H. Öksüz, N. Yapıcı, A. Pirat, T. Utku, E. Gedik, O. Behret, K. İdin, H. Daşkaya, F. B. Ethemoğlu, A. Alagöz, S. İzdeş, M. K. Bayar, N. K. Girgin, L. Karabıyık, U. Koca, N. Çubukçu, F. Ülger, Ş. E. Özgünay, P. E. Özcan, B. Erdivanlı, Ş. G. Tomruk, A. Köse, R. Doğan, G. Turan, O. Arpaz, A. Esmaoğlu, M. Salmanoğlu, Ö. Canoler, N. Çekmen, C. Kandaz, G. B. Kaya, M. Türker, İ. Şeker, A. H. Tezcan, H. İ. Uzunlar, M. A. Yazar, R. Arslantaş, N. Adıgüzel, M. Aksun, O. Öztürk, Z. Arslan, Ö. Özmen, G. Orhun, E. Büyükfırat, O. Ç. Budur, M. E. Akçay, A. Özgültekin, E. Kılıç, M. E. Yılmaz, Ö. İlban, F. Kargın, M. Sayın, F. Kargın, R. Altuntaş, H. Doğan, O. Ekinci, B. Çalışkan, A. Erdoğan, V. Alparslan, M. Tekin and G. Sepsis Study (2018). "Epidemiology of sepsis in intensive care units in Turkey: a multicenter, point-prevalence study." Critical Care **22**(1): 93.
- Beutler, B. and A. Cerami (1989). "The biology of cachectin/TNF--a primary mediator of the host response." Annu Rev Immunol **7**: 625-655.
- Biffi, W. L., E. E. Moore, F. A. Moore and V. M. Peterson (1996). "Interleukin-6 in the injured patient. Marker of injury or mediator of inflammation?" Annals of surgery **224**(5): 647.
- Bilgehan, H. (1987). Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi.
- Blanco, J., A. Muriel-Bombín, V. Sagredo, F. Taboada, F. Gandía, L. Tamayo, J. Collado, A. García-Labattut, D. Carriedo, M. Valledor, M. De Frutos, M. J. López, A. Caballero, J. Guerra, B. Alvarez, A. Mayo and J. Villar (2008). "Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study." Crit Care **12**(6): R158.
- Bone, R. C. (1991). "The pathogenesis of sepsis." Annals of internal medicine **115**(6): 457-469.
- Bone, R. C. (1996). Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS), American College of Physicians.

Bone, R. C., R. A. Balk, F. B. Cerra, R. P. Dellinger, A. M. Fein, W. A. Knaus, R. M. Schein and W. J. Sibbald (1992). "Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis." Chest **101**(6): 1644-1655.

Bone, R. C., C. J. Grodzin and R. A. Balk (1997). "Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process." Chest **112**(1): 235-243.

Borish, L., A. Aarons, J. Rumblyrt, P. Cvietusa, J. Negri and S. Wenzel (1996). "Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma." Journal of Allergy and Clinical Immunology **97**(6): 1288-1296.

Borish, L. C. and J. W. Steinke (2003). "2. Cytokines and chemokines." Journal of Allergy and Clinical Immunology **111**(2): S460-S475.

Bouchon, A., F. Facchetti, M. A. Weigand and M. Colonna (2001). "TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock." Nature **410**(6832): 1103-1107.

Can, C., B. Demirci, A. Uysal, Y. D. Akçay and S. Koşay (2003). "Contradictory effects of chlorpromazine on endothelial cells in a rat model of endotoxemic shock in association with its actions on serum TNF- α levels and antioxidant enzyme activities." Pharmacological research **48**(3): 223-230.

CAO, H.-w., Y.-b. GUO, L.-z. WEI, N. WANG, H. QU, H. ZHOU and J. ZHENG (2007). "Effect of artemisinin on lung injury in septic rats [J]." Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae **10**.

Cecconi, M., L. Evans, M. Levy and A. Rhodes (2018). "Sepsis and septic shock." The Lancet **392**(10141): 75-87.

Cen, Y., C. Liu, X. Li, Z. Yan, M. Kuang, Y. Su, X. Pan, R. Qin, X. Liu and J. Zheng (2016). "Artesunate ameliorates severe acute pancreatitis (SAP) in rats by inhibiting expression of pro-inflammatory cytokines and Toll-like receptor 4." International Immunopharmacology **38**: 252-260.

Chaudhry, H., J. Zhou, Y. Zhong, M. M. Ali, F. McGuire, P. S. Nagarkatti and M. Nagarkatti (2013). "Role of cytokines as a double-edged sword in sepsis." In Vivo **27**(6): 669-684.

Chen, G. Y. and G. Nuñez (2010). "Sterile inflammation: sensing and reacting to damage." Nat Rev Immunol **10**(12): 826-837.

Chousterman, B. G., F. K. Swirski and G. F. Weber (2017). Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. Seminars in immunopathology, Springer.

Churpek, M. M., A. Snyder, X. Han, S. Sokol, N. Pettit, M. D. Howell and D. P. Edelson (2017). "Quick Sepsis-related Organ Failure Assessment, Systemic Inflammatory Response Syndrome, and Early Warning Scores for Detecting Clinical Deterioration in Infected Patients outside the Intensive Care Unit." Am J Respir Crit Care Med **195**(7): 906-911.

Churpek, M. M., F. J. Zdravetz, C. Winslow, M. D. Howell and D. P. Edelson (2015). "Incidence and Prognostic Value of the Systemic Inflammatory Response Syndrome and Organ Dysfunctions in Ward Patients." Am J Respir Crit Care Med **192**(8): 958-964.

Cinel, İ. (2011). Yoğun Bakım Sorunları ve Tedavileri. Sepsis, Şiddetli Sepsis ve Septik Şok. A. H. Şahinoğlu. İstanbul, Nobel Kitabevi: 363-388.

Cinel, İ. and R. P. Dellinger (2007). "Advances in pathogenesis and management of sepsis." Curr Opin Infect Dis **20**(4): 345-352.

Cohen, J. (2002). "The immunopathogenesis of sepsis." Nature **420**(6917): 885-891.

Cohen, S. (2004). "Cytokine: more than a new word, a new concept proposed by Stanley Cohen thirty years ago." Cytokine **28**(6): 242-247.

Cohen, S., P. E. Bigazzi and T. Yoshida (1974). "Similarities of T cell function in cell-mediated immunity and antibody production." Cellular immunology **12**(1): 150-159.

Collighan, N., P. Giannoudis, O. Kourgeraki, S. Perry, P. Guillou and M. Bellamy (2004). "Interleukin 13 and inflammatory markers in human sepsis." British journal of surgery **91**(6): 762-768.

Collins, K. P., K. M. Jackson and D. L. Gustafson (2018). "Hydroxychloroquine: a physiologically-based pharmacokinetic model in the context of cancer-related autophagy modulation." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics **365**(3): 447-459.

Coopersmith, C. M., P. E. Stromberg, W. M. Dunne, C. G. Davis, D. M. Amiot, 2nd, T. G. Buchman, I. E. Karl and R. S. Hotchkiss (2002). "Inhibition of intestinal epithelial apoptosis and survival in a murine model of pneumonia-induced sepsis." Jama **287**(13): 1716-1721.

Dai, Y.-F., W.-W. Zhou, J. Meng, X.-L. Du, Y.-P. Sui, L. Dai, P.-Q. Wang, H.-R. Huo and F. Sui (2017). "The pharmacological activities and mechanisms of artemisinin and its derivatives: a systematic review." Medicinal Chemistry Research **26**(5): 867-880.

Danai, P. and G. S. Martin (2005). "Epidemiology of sepsis: recent advances." Curr Infect Dis Rep **7**(5): 329-334.

Danai, P. A., S. Sinha, M. Moss, M. J. Haber and G. S. Martin (2007). "Seasonal variation in the epidemiology of sepsis." Crit Care Med **35**(2): 410-415.

Danielski, L. G., A. D. Giustina, S. Bonfante, T. Barichello and F. Petronilho (2020). "The NLRP3 Inflammasome and Its Role in Sepsis Development." Inflammation **43**(1): 24-31.

De Backer, D., J. Creteur, J. C. Preiser, M. J. Dubois and J. L. Vincent (2002). "Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis." Am J Respir Crit Care Med **166**(1): 98-104.

Del Prete, G., M. De Carli, F. Almerigogna, M. G. Giudizi, R. Biagiotti and S. Romagnani (1993). "Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production." The Journal of Immunology **150**(2): 353-360.

Dellinger, R. P., M. M. Levy, A. Rhodes, D. Annane, H. Gerlach, S. M. Opal, J. E. Sevransky, C. L. Sprung, I. S. Douglas and R. Jaeschke (2013). "Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012." Intensive care medicine **39**(2): 165-228.

Deutschman, C. S. and P. J. Neligan (2015). Evidence-based practice of critical care e-book, Elsevier Health Sciences.

Dinarello, C. (2002). "The IL-1 family and inflammatory diseases." Clinical and experimental rheumatology **20**(5; SUPP/27): S1-S13.

Dinarello, C., W. Arend, J. Sims, D. Smith, H. Blumberg, L. O'Neill, R. Goldbach-Mansky, T. Pizarro, H. Hoffman and P. Bufler (2010). "IL-1 family nomenclature." Nature immunology **11**(11): 973-973.

Dinarello, C. A. (1996). "Biologic basis for interleukin-1 in disease." Blood **87**(6): 2095-2147.

Ding, L., P. Linsley, L. Huang, R. Germain and E. Shevach (1993). "IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression." The Journal of Immunology **151**(3): 1224-1234.

Dremsizov, T., G. Clermont, J. A. Kellum, K. G. Kalassian, M. J. Fine and D. C. Angus (2006). "Severe sepsis in community-acquired pneumonia: when does it happen, and do systemic inflammatory response syndrome criteria help predict course?" Chest **129**(4): 968-978.

Ducharme, J. and R. Farinotti (1996). "Clinical pharmacokinetics and metabolism of chloroquine." Clinical pharmacokinetics **31**(4): 257-274.

Ellepola, A. N. and C. J. Morrison (2005). "Laboratory diagnosis of invasive candidiasis." The Journal of Microbiology **43**(1): 65-84.

Esper, A. M. and G. S. Martin (2009). "Extending international sepsis epidemiology: the impact of organ dysfunction." Crit Care **13**(1): 120.

Falagas, M. E. and M. Kompoti (2006). "Obesity and infection." Lancet Infect Dis **6**(7): 438-446.

Feldmann, M. (2002). "Development of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis." Nature Reviews Immunology **2**(5): 364-371.

Feldmeyer, L., M. Keller, G. Niklaus, D. Hohl, S. Werner and H. D. Beer (2007). "The inflammasome mediates UVB-induced activation and secretion of interleukin-1beta by keratinocytes." Curr Biol **17**(13): 1140-1145.

Fink, M. (1989). "Systemic and splanchnic hemodynamic derangements in the sepsis syndrome." Martson A et al: 101.

Fisher, C. J., Jr., J. F. Dhainaut, S. M. Opal, J. P. Pribble, R. A. Balk, G. J. Slotman, T. J. Iberti, E. C. Rackow, M. J. Shapiro, R. L. Greenman and et al. (1994). "Recombinant human interleukin 1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Phase III rhIL-1ra Sepsis Syndrome Study Group." Jama **271**(23): 1836-1843.

Frantz, S., G. Ertl and J. Bauersachs (2007). "Mechanisms of disease: Toll-like receptors in cardiovascular disease." Nat Clin Pract Cardiovasc Med **4**(8): 444-454.

Freund, Y., N. Lemachatti, E. Krastinova, M. Van Laer, Y. E. Claessens, A. Avondo, C. Occelli, A. L. Feral-Pierssens, J. Truchot, M. Ortega, B. Carneiro, J. Pernet, P. G. Claret, F. Dami, B. Bloom, B. Riou and S. Beaune (2017). "Prognostic Accuracy of Sepsis-3 Criteria for In-Hospital Mortality Among Patients With Suspected Infection Presenting to the Emergency Department." Jama **317**(3): 301-308.

Funk, D. J., J. E. Parrillo and A. Kumar (2009). "Sepsis and septic shock: a history." Critical care clinics **25**(1): 83-101.

Gaieski, D. F., J. M. Edwards, M. J. Kallan and B. G. Carr (2013). "Benchmarking the incidence and mortality of severe sepsis in the United States." Critical care medicine **41**(5): 1167-1174.

Gardam, M. A., E. C. Keystone, R. Menzies, S. Manners, E. Skamene, R. Long and D. C. Vinh (2003). "Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management." Lancet Infect Dis **3**(3): 148-155.

Geroulanos, S. and E. T. Douka (2006). "Historical perspective of the word "sepsis"." Intensive care medicine **32**(12): 2077-2077.

Ghoreschi, K., A. Laurence, X. P. Yang, C. M. Tato, M. J. McGeachy, J. E. Konkel, H. L. Ramos, L. Wei, T. S. Davidson, N. Bouladoux, J. R. Grainger, Q. Chen, Y. Kanno, W. T. Watford, H. W. Sun, G. Eberl, E. M. Shevach, Y. Belkaid, D. J. Cua, W. Chen and J. J. O'Shea (2010). "Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- β signalling." Nature **467**(7318): 967-971.

Ghosh, S., R. D. Latimer, B. M. Gray, R. J. Harwood and A. Oduro (1993). "Endotoxin-induced organ injury." Crit Care Med **21**(2 Suppl): S19-24.

Goulden, R., M. C. Hoyle, J. Monis, D. Railton, V. Riley, P. Martin, R. Martina and E. Nsutebu (2018). "qSOFA, SIRS and NEWS for predicting inhospital mortality and ICU admission in emergency admissions treated as sepsis." Emerg Med J **35**(6): 345-349.

Gu, Y., X. Wang, G. Wu, X. Wang, H. Cao, Y. Tang and C. Huang (2012). "Artemisinin suppresses sympathetic hyperinnervation following myocardial infarction via anti-inflammatory effects." Journal of molecular histology **43**(6): 737-743.

Gupta, S., A. Sakhuja, G. Kumar, E. McGrath, R. S. Nanchal and K. B. Kashani (2016). "Culture-Negative Severe Sepsis: Nationwide Trends and Outcomes." Chest **150**(6): 1251-1259.

Gupta, S., U. S. Svensson and M. Ashton (2001). "In vitro evidence for auto-induction of artemisinin metabolism in the rat." European journal of drug metabolism and pharmacokinetics **26**(3): 173-178.

Haydar, S., M. Spanier, P. Weems, S. Wood and T. Strout (2017). "Comparison of QSOFA score and SIRS criteria as screening mechanisms for emergency department sepsis." Am J Emerg Med **35**(11): 1730-1733.

Hoffmann, J. N., K. Werdan, W. H. Hartl, M. Jochum, E. Faist and D. Inthorn (1999). "Hemofiltrate from patients with severe sepsis and depressed left ventricular contractility contains cardiotoxic compounds." Shock **12**(3): 174-180.

Hwang, S. Y., I. J. Jo, S. U. Lee, T. R. Lee, H. Yoon, W. C. Cha, M. S. Sim and T. G. Shin (2018). "Low Accuracy of Positive qSOFA Criteria for Predicting 28-Day Mortality in Critically Ill Septic Patients During the Early Period After Emergency Department Presentation." Ann Emerg Med **71**(1): 1-9.e2.

Iacobone, E., J. Bailly-Salin, A. Polito, D. Friedman, R. D. Stevens and T. Sharshar (2009). "Sepsis-associated encephalopathy and its differential diagnosis." Crit Care Med **37**(10 Suppl): S331-336.

Jang, C.-H., J.-H. Choi, M.-S. Byun and D.-M. Jue (2006). "Chloroquine inhibits production of TNF- α , IL-1 β and IL-6 from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes/macrophages by different modes." Rheumatology **45**(6): 703-710.

Jeong, J.-Y. and D.-M. Jue (1997). "Chloroquine inhibits processing of tumor necrosis factor in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages." The Journal of Immunology **158**(10): 4901-4907.

Jianfang, Z. (2013). A detailed chronological record of Project 523 and the discovery and development of qinghaosu (artemisinin), Strategic Book Publishing.

Jones, G. R. and J. A. Lowes (1996). "The systemic inflammatory response syndrome as a predictor of bacteraemia and outcome from sepsis." Qjm **89**(7): 515-522.

Kara, S. C. (2019). "Endotelin Reseptör Antagonisti Tezosentan'ın Sıçanda Lipopolisakkarit İle Oluşturulan Deneysel Sepsis Modelinde Kardiyak Disfonksiyon Üzerine Etkisi."

Karaali, R. and F. Tabak (2009). "Sepsis Patogenezi." Klinik Gelişim Dergisi **22**: 71-76.

Karlsson, S., M. Varpula, E. Ruokonen, V. Pettilä, I. Parviainen, T. I. Ala-Kokko, E. Kolho and E. M. Rintala (2007). "Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study." Intensive care medicine **33**(3): 435-443.

Kaufmann, A. M. and J. P. Krise (2007). "Lysosomal sequestration of amine-containing drugs: analysis and therapeutic implications." Journal of pharmaceutical sciences **96**(4): 729-746.

Kaukonen, K.-M., M. Bailey, D. Pilcher, D. J. Cooper and R. Bellomo (2015). "Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis." New England Journal of Medicine **372**(17): 1629-1638.

Kaukonen, K. M., M. Bailey, D. Pilcher, D. J. Cooper and R. Bellomo (2015). "Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis." N Engl J Med **372**(17): 1629-1638.

Kaukonen, K. M., M. Bailey, S. Suzuki, D. Pilcher and R. Bellomo (2014). "Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012." Jama **311**(13): 1308-1316.

Kirschenbaum, L. A., M. Aziz, M. E. Astiz, D. C. Saha and E. C. Rackow (2000). "Influence of rheologic changes and platelet-neutrophil interactions on cell filtration in sepsis." Am J Respir Crit Care Med **161**(5): 1602-1607.

Koo, S., F. M. Marty and L. R. Baden (2010). "Infectious complications associated with immunomodulating biologic agents." Infect Dis Clin North Am **24**(2): 285-306.

Latronico, N. and C. F. Bolton (2011). "Critical illness polyneuropathy and myopathy: a major cause of muscle weakness and paralysis." Lancet Neurol **10**(10): 931-941.

Lee, I. S. and C. D. Hufford (1990). "Metabolism of antimalarial sesquiterpene lactones." Pharmacol Ther **48**(3): 345-355.

Levy, M. M., A. Artigas, G. S. Phillips, A. Rhodes, R. Beale, T. Osborn, J.-L. Vincent, S. Townsend, S. Lemeshow and R. P. Dellinger (2012). "Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study." The Lancet infectious diseases **12**(12): 919-924.

Levy, M. M., L. E. Evans and A. Rhodes (2018). "The surviving sepsis campaign bundle: 2018 update." Intensive care medicine **44**(6): 925-928.

Levy, M. M., M. P. Fink, J. C. Marshall, E. Abraham, D. Angus, D. Cook, J. Cohen, S. M. Opal, J. L. Vincent and G. Ramsay (2003). "2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference." Crit Care Med **31**(4): 1250-1256.

Li, B., R. Zhang, J. Li, L. Zhang, G. Ding, P. Luo, S. He, Y. Dong, W. Jiang and Y. Lu (2008). "Antimalarial artesunate protects sepsis model mice against heat-killed Escherichia coli challenge by decreasing TLR4, TLR9 mRNA expressions and transcription factor NF-κB activation." International immunopharmacology **8**(3): 379-389.

LI, J., B. YANG and Y.-s. CHEN (2008). "Experimental Study on the Effect of artesunate (Art) on HEPG-2 Cells in Vitro [J]." Lishizhen Medicine and Materia Medica Research **4**.

LIANG, A.-h., B.-y. XUE, J.-h. WANG and C.-y. LI (2002). "Study on inhibitory effect of artesunate on endotoxin-induced production of inflammatory mediators." Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae: S1.

Linde-Zwirble, W. T. and D. C. Angus (2004). "Severe sepsis epidemiology: sampling, selection, and society." Critical Care **8**(4): 1-5.

Liu, D., F. Lu, G. Qin, S. M. Fernandes, J. Li and A. E. Davis, 3rd (2007). "C1 inhibitor-mediated protection from sepsis." J Immunol **179**(6): 3966-3972.

Liu, V., G. J. Escobar, J. D. Greene, J. Soule, A. Whippy, D. C. Angus and T. J. Iwashyna (2014). "Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts." Jama **312**(1): 90-92.

Lu, L.-H., C.-H. Chao and T.-M. Yeh (2019). "Inhibition of autophagy protects against sepsis by concurrently attenuating the cytokine storm and vascular leakage." Journal of Infection **78**(3): 178-186.

Luce, J. M. (1987). "Pathogenesis and management of septic shock." Chest **91**(6): 883-888.

March, C. J., B. Mosley, A. Larsen, D. P. Cerretti, G. Braedt, V. Price, S. Gillis, C. S. Henney, S. R. Kronheim and K. Grabstein (1985). "Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs." Nature **315**(6021): 641-647.

Martin, G. S., D. M. Mannino, S. Eaton and M. Moss (2003). "The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000." N Engl J Med **348**(16): 1546-1554.

Martin, G. S., D. M. Mannino and M. Moss (2006). "The effect of age on the development and outcome of adult sepsis." Crit Care Med **34**(1): 15-21.

Mates, M., G. Nesher and S. Zevin (2007). "[Quinines--past and present]." Harefuah **146**(7): 560-562, 572.

McChesney, E. W. (1983). "Animal toxicity and pharmacokinetics of hydroxychloroquine sulfate." The American journal of medicine **75**(1): 11-18.

Medzhitov, R., P. Preston-Hurlburt and C. A. Janeway (1997). "A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity." Nature **388**(6640): 394-397.

Menkin, V. (1944). "CHEMICAL BASIS OF FEVER." Science **100**(2598): 337-338.

Meshnick, S. R., A. Thomas, A. Ranz, C.-M. Xu and H.-Z. Pan (1991). "Artemisinin (qinghaosu): the role of intracellular hemozoin in its mechanism of antimalarial action." Molecular and biochemical parasitology **49**(2): 181-189.

Moore, B. R., M. Page-Sharp, J. R. Stoney, K. F. Ilett, J. D. Jago and K. T. Batty (2011). "Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and allometric scaling of chloroquine in a murine malaria model." Antimicrobial agents and chemotherapy **55**(8): 3899-3907.

Mushtaque, M. (2015). "Reemergence of chloroquine (CQ) analogs as multi-targeting antimalarial agents: a review." European journal of medicinal chemistry **90**: 280-295.

Noronha, I., Z. Niemir, H. Stein and R. Waldherr (1995). "Cytokines and growth factors in renal disease." Nephrology Dialysis Transplantation **10**(6): 775-786.

O'Keefe, G. E., D. L. Hybki and R. S. Munford (2002). "The G→ A single nucleotide polymorphism at the -308 position in the tumor necrosis factor- α promoter increases the risk for severe sepsis after trauma." Journal of Trauma and Acute Care Surgery **52**(5): 817-826.

Okusawa, S., J. A. Gelfand, T. Ikejima, R. J. Connolly and C. A. Dinarello (1988). "Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition." J Clin Invest **81**(4): 1162-1172.

Olliaro, P. L., R. K. Haynes, B. Meunier and Y. Yuthavong (2001). "Possible modes of action of the artemisinin-type compounds." Trends in parasitology **17**(3): 122-126.

Opal, S. and T. Van Der Poll (2015). "Endothelial barrier dysfunction in septic shock." Journal of internal medicine **277**(3): 277-293.

Oppenheim, J. J. (2003). Foreword to the Fourth Edition. The cytokine handbook, Elsevier: xxiii-xxvii.

Pinsky, M. R., J. L. Vincent, J. Deviere, M. Alegre, R. J. Kahn and E. Dupont (1993). "Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality." Chest **103**(2): 565-575.

Prescott, H. C., R. P. Dickson, M. A. Rogers, K. M. Langa and T. J. Iwashyna (2015). "Hospitalization Type and Subsequent Severe Sepsis." Am J Respir Crit Care Med **192**(5): 581-588.

Pugin, J. (1996). Recognition of bacteria and bacterial products by host immune cells in sepsis. Yearbook of intensive care and emergency medicine, Springer: 11-23.

Rand, J. H., X.-X. Wu, A. S. Quinn, P. P. Chen, J. J. Hathcock and D. J. Taatjes (2008). "Hydroxychloroquine directly reduces the binding of antiphospholipid antibody- β 2-glycoprotein I complexes to phospholipid bilayers." Blood, The Journal of the American Society of Hematology **112**(5): 1687-1695.

Ray, A., S. B. Tatter, U. Santhanam, D. C. Helfgott, L. T. May and P. B. Sehgal (1989). "Regulation of Expression of Interleukin-6: Molecular and Clinical Studies a." Annals of the New York Academy of Sciences **557**(1): 353-362.

Re, F., M. Muzio, M. De Rossi, N. Polentarutti, J. G. Giri, A. Mantovani and F. Colotta (1994). "The type II "receptor" as a decoy target for interleukin 1 in polymorphonuclear leukocytes: characterization of induction by dexamethasone and ligand binding properties of the released decoy receptor." J Exp Med **179**(2): 739-743.

Rhodes, A., L. E. Evans, W. Alhazzani, M. M. Levy, M. Antonelli, R. Ferrer, A. Kumar, J. E. Sevransky, C. L. Sprung and M. E. Nunnally (2017). "Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016." Intensive care medicine **43**(3): 304-377.

Richard, S. A., S. Kampo, M. E. Hechavarria, M. Sackey, A. D. Buunaaim, E. D. Kuugbee and T. W. Anabah (2020). "Elucidating the pivotal immunomodulatory and anti-inflammatory potentials of chloroquine and hydroxychloroquine." Journal of Immunology Research **2020**.

Roach, D. R., A. G. Bean, C. Demangel, M. P. France, H. Briscoe and W. J. Britton (2002). "TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection." J Immunol **168**(9): 4620-4627.

Rodriguez-Caruncho, C. and I. B. Marsol (2014). "Antimalarials in dermatology: mechanism of action, indications, and side effects." Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition) **105**(3): 243-252.

Rs, H. and I. Karl (2003). "The pathophysiology and treatment of sepsis." N Engl J Med **348**(2): 138-150.

Sands, K. E., D. W. Bates, P. N. Lanken, P. S. Graman, P. L. Hibberd, K. L. Kahn, J. Parsonnet, R. Panzer, E. J. Orav and D. R. Snyderman (1997). "Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers." Jama **278**(3): 234-240.

Schlesinger, P. H., D. J. Krogstad and B. L. Herwaldt (1988). "Antimalarial agents: mechanisms of action." Antimicrobial agents and chemotherapy **32**(6): 793.

Schulte, W., J. Bernhagen and R. Bucala (2013). "Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets—an updated view." Mediators of inflammation **2013**.

Seymour, C. W., V. X. Liu, T. J. Iwashyna, F. M. Brunkhorst, T. D. Rea, A. Scherag, G. Rubenfeld, J. M. Kahn, M. Shankar-Hari, M. Singer, C. S. Deutschman, G. J. Escobar and D. C. Angus (2016). "Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)." Jama **315**(8): 762-774.

Shankar-Hari, M., G. S. Phillips, M. L. Levy, C. W. Seymour, V. X. Liu, C. S. Deutschman, D. C. Angus, G. D. Rubenfeld and M. Singer (2016). "Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)." Jama **315**(8): 775-787.

Sharshar, T., F. Gray, G. Lorin de la Grandmaison, N. S. Hopkinson, E. Ross, A. Dorandeu, D. Orlikowski, J. C. Raphael, P. Gajdos and D. Annane (2003). "Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock." Lancet **362**(9398): 1799-1805.

Shum, H. P., W. W. Yan and T. M. Chan (2016). "Recent knowledge on the pathophysiology of septic acute kidney injury: A narrative review." J Crit Care **31**(1): 82-89.

Sims, J. E., M. A. Gayle, J. L. Slack, M. R. Alderson, T. A. Bird, J. G. Giri, F. Colotta, F. Re, A. Mantovani, K. Shanebeck and et al. (1993). "Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor." Proc Natl Acad Sci U S A **90**(13): 6155-6159.

Singer, M. (2014). "The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure." Virulence **5**(1): 66-72.

Singer, M., C. S. Deutschman, C. W. Seymour, M. Shankar-Hari, D. Annane, M. Bauer, R. Bellomo, G. R. Bernard, J.-D. Chiche and C. M. Coopersmith (2016). "The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)." Jama **315**(8): 801-810.

Singer, M., C. S. Deutschman, C. W. Seymour, M. Shankar-Hari, D. Annane, M. Bauer, R. Bellomo, G. R. Bernard, J. D. Chiche, C. M. Coopersmith, R. S. Hotchkiss, M. M. Levy, J. C. Marshall, G. S. Martin, S. M. Opal, G. D. Rubenfeld, T. van der Poll, J. L. Vincent and D. C. Angus (2016). "The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)." Jama **315**(8): 801-810.

Singh, S. and T. W. Evans (2006). "Organ dysfunction during sepsis." Intensive Care Medicine **32**(3): 349-360.

Taherian, E., A. Rao, C. J. Malemud and A. D. Askari (2013). "The biological and clinical activity of anti-malarial drugs in autoimmune disorders." Current rheumatology reviews **9**(1): 45-62.

Takasu, O., J. P. Gaut, E. Watanabe, K. To, R. E. Fagley, B. Sato, S. Jarman, I. R. Efimov, D. L. Janks, A. Srivastava, S. B. Bhayani, A. Drewry, P. E. Swanson and R. S. Hotchkiss (2013). "Mechanisms of cardiac and renal dysfunction in patients dying of sepsis." Am J Respir Crit Care Med **187**(5): 509-517.

Terregino, C. A., B. L. Lopez, D. J. Karras, A. J. Killian and G. K. Arnold (2000). "Endogenous mediators in emergency department patients with presumed sepsis: are levels associated with progression to severe sepsis and death?" Annals of emergency medicine **35**(1): 26-34.

Tett, S., D. Cutler, R. Day and K. Brown (1989). "Bioavailability of hydroxychloroquine tablets in healthy volunteers." British journal of clinical pharmacology **27**(6): 771-779.

Thompson, C. M., T. D. Holden, R. R. Gail, B. Laxmanan, R. A. Black, G. E. O'Keefe and M. M. Wurfel (2014). "Toll-like Receptor 1 Polymorphisms and Associated Outcomes in Sepsis Following Traumatic Injury, A Candidate Gene Association Study." Annals of surgery **259**(1).

Tracey, K. J., B. Beutler, S. F. Lowry, J. Merryweather, S. Wolpe, I. W. Milsark, R. J. Hariri, T. J. Fahey, A. Zentella and J. D. Albert (1986). "Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin." Science **234**(4775): 470-474.

Tracey, K. J., Y. Fong, D. G. Hesse, K. R. Manogue, A. T. Lee, G. C. Kuo, S. F. Lowry and A. Cerami (1987). "Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia." *Nature* **330**(6149): 662-664.

Ulloa, L. and K. J. Tracey (2005). "The 'cytokine profile': a code for sepsis." *Trends in molecular medicine* **11**(2): 56-63.

Upperman, J. S., E. A. Deitch, W. Guo, Q. Lu and D. Xu (1998). "Post-hemorrhagic shock mesenteric lymph is cytotoxic to endothelial cells and activates neutrophils." *Shock* **10**(6): 407-414.

Van Snick, J. (1990). "Interleukin-6: an overview." *Annual review of immunology* **8**(1): 253-278.

Vincent, J.-L., D. J. Bihari, P. M. Suter, H. A. Bruining, J. White, M.-H. Nicolas-Chanoine, M. Wolff, R. C. Spencer and M. Hemmer (1995). "The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe: results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study." *Jama* **274**(8): 639-644.

Vincent, J.-L., J. C. Marshall, S. A. Namendys-Silva, B. François, I. Martin-Loeches, J. Lipman, K. Reinhart, M. Antonelli, P. Pickkers and H. Njimi (2014). "Assessment of the worldwide burden of critical illness: the intensive care over nations (ICON) audit." *The lancet Respiratory medicine* **2**(5): 380-386.

Vincent, J.-L., R. Moreno, J. Takala, S. Willatts, A. De Mendonça, H. Bruining, C. Reinhart, P. Suter and L. G. Thijs (1996). The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure, Springer-Verlag.

Vincent, J.-L., J. Rello, J. Marshall, E. Silva, A. Anzueto, C. D. Martin, R. Moreno, J. Lipman, C. Gomersall and Y. Sakr (2009). "International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units." *Jama* **302**(21): 2323-2329.

Vincent, J.-L., Y. Sakr, C. L. Sprung, V. M. Ranieri, K. Reinhart, H. Gerlach, R. Moreno, J. Carlet, J.-R. Le Gall and D. Payen (2006). "Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study." *Critical care medicine* **34**(2): 344-353.

Vincent, J., A. De Mendonça, F. Cantraine, R. Moreno, J. Takala, P. Suter, C. Sprung, F. Colardyn and S. Blecher (1998). "Working Group on "Sepsis-Related Problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study." *Crit Care Med* **26**(11): 1793-1800.

Vincent, J. L., D. J. Bihari, P. M. Suter, H. A. Bruining, J. White, M. H. Nicolas-Chanoine, M. Wolff, R. C. Spencer and M. Hemmer (1995). "The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee." *Jama* **274**(8): 639-644.

Wang, J.-x., L.-f. Hou, Y. Yang, W. Tang, Y. Li and J.-p. Zuo (2009). "SM905, an artemisinin derivative, inhibited NO and pro-inflammatory cytokine production by suppressing MAPK and NF- κ B pathways in RAW 264.7 macrophages." *Acta Pharmacologica Sinica* **30**(10): 1428-1435.

Wang, J., H. Zhou, J. Zheng, J. Cheng, W. Liu, G. Ding, L. Wang, P. Luo, Y. Lu and H. Cao (2006). "The antimalarial artemisinin synergizes with antibiotics to protect against lethal live *Escherichia coli* challenge by decreasing proinflammatory cytokine release." *Antimicrobial agents and chemotherapy* **50**(7): 2420-2427.

Wang, J. X., W. Tang, L. P. Shi, J. Wan, R. Zhou, J. Ni, Y. F. Fu, Y. F. Yang, Y. Li and J. P. Zuo (2007). "Investigation of the immunosuppressive activity of artemether on T-cell activation and proliferation." *British journal of pharmacology* **150**(5): 652-661.

Weber, S. M. and S. M. Levitz (2000). "Chloroquine interferes with lipopolysaccharide-induced TNF- α gene expression by a nonlysosomotropic mechanism." *The Journal of Immunology* **165**(3): 1534-1540.

Wheeler, A. P. and G. R. Bernard (1999). "Treating patients with severe sepsis." *New England Journal of Medicine* **340**(3): 207-214.

White, N. J. (1994). "Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of artemisinin and derivatives." *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **88**: 41-43.

Williams, M. D., L. A. Braun, L. M. Cooper, J. Johnston, R. V. Weiss, R. L. Qualy and W. Linde-Zwirble (2004). "Hospitalized cancer patients with severe sepsis: analysis of incidence, mortality, and associated costs of care." *Crit Care* **8**(5): R291-298.

Yanxia, Y., Y. Zeng, X. Hunag, L. Xiaoyu, X. Zeng and X. Wang (2010). "Immunosuppressive effect of dihydroartemisinin on murine T lymphocytes." *Chinese Journal of Pathophysiology* **26**(3): 417-423.

Yasuda, H., A. Leelahavanichkul, S. Tsunoda, J. W. Dear, Y. Takahashi, S. Ito, X. Hu, H. Zhou, K. Doi and R. Childs (2008). "Chloroquine and inhibition of Toll-like receptor 9 protect from sepsis-induced acute kidney injury." American Journal of Physiology-Renal Physiology **294**(5): F1050-F1058.

Zhang, S.-Y., H.-Q. Xia and S.-L. Cui (2017). "Chloroquine prevents acute kidney injury induced by lipopolysaccharide in rats via inhibition of inflammatory factors." Tropical Journal of Pharmaceutical Research **16**(9): 2149-2154.

Zheng, Y., M. Humphry, J. J. Maguire, M. R. Bennett and M. C. Clarke (2013). "Intracellular interleukin-1 receptor 2 binding prevents cleavage and activity of interleukin-1 α , controlling necrosis-induced sterile inflammation." Immunity **38**(2): 285-295.



8. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE ARTEMİSİNİN VE HİDROKSİKLOROKİN'İN PROİNFLAMATUAR SİTOKİN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mustafa Büyükcavlak

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ/ Konya 2021

Amaç: Sepsis, enfeksiyona karşı konağın anormal sistemik inflamatuvar yanıtı sonucu ortaya çıkar. Enfeksiyonu tedavi eden antibiyotiklerin sistemik inflamasyonu kontrol edememesi sonucu enfeksiyondan bile daha tehlikeli olabilen bu inflamasyonun yıkıcı etkileri nedeniyle sepsis önemli bir klinik sorundur. Bu çalışmada ratlarda bakteriyel lipopolisakkarit (LPS) ile deneysel sepsis modellemesi oluşturularak, antiinflamatuvar etkinliği bilinen artemisinin (ART) ve hidroksiklorokin (HCQ) ilaçlarının, sepsis patofizyolojisinde önemli yer tutan proinflamatuvar sitokin üretimi ve salgılanması üzerine kısa süredeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Wistar Albino türü 24 rat rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup 1: Kontrol grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü steril %0.9 NaCl oral gavaj ile verildi. Deney günü gavaj uygulamasından 2 saat sonra steril %0.9 NaCl intraperitoneal olarak uygulandı. Grup 2: Sepsis grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü steril %0.9 NaCl oral gavaj ile verildi. Deney günü gavaj uygulamasından 2 saat sonra 5mg/kg dozda LPS intraperitoneal olarak uygulandı. Grup 3: ART grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü 33.33 mg/kg dozda ART oral gavaj ile verildi. Deney günü uygulanan ART' den yarım saat sonra 5 mg/kg dozda LPS intraperitoneal olarak uygulandı. Grup 4: HCQ grubu; bu gruptaki ratlara deneyden bir gün önce ve deney günü 33.33 mg/kg dozda HCQ oral gavaj ile verildi. Deney günü uygulanan HCQ' den 2 saat sonra 5 mg/kg dozda LPS intraperitoneal olarak uygulandı. LPS uygulamalarını takiben üçer saat sonra (grup 3'teki ratlardan deneyin üçüncü saat otuzuncu dakikasında diğer gruplardaki ratlardan deneyin beşinci saatinde) genel anestezi altında intrakardiyak yolla kan alındı ve sonrasında ratlar sakrifiye edildi. Tüm ratlardan IL-1, IL-6, IL-10 ve TNF- α bakıldı.

Bulgular: Wistar Albino türü ratlarda intraperitoneal LPS verilerek oluşturulan deneysel sepsisin erken döneminde artan proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 ve IL-6 düzeyleri HCQ ön tedavisi ile anlamlı derecede azalma göstermektedir. Benzer şekilde ART ön tedavisi aynı modellemede artan IL-1 düzeyini anlamlı derecede azaltırken, IL-6 düzeyini ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde azaltmaktadır. Artış gösteren TNF- α düzeyini ART ve HCQ, kontrol grubu değerlerine benzer olacak şekilde azaltmaktadır. Antiinflamatuvar sitokinlerden IL-10 düzeylerinde ise çalışma süresi içinde gruplar arasında anlamlı artış veya azalma olmamıştır.

Sonuç: Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar ART ve HCQ'in konağın sepsise yanıtını regüle edebilecek potansiyele sahip ajanlar olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. İnsanlarda farklı endikasyonlarda kullanım onayı bulunan bu iki ajanın insanlarda sepsisin oluşturduğu inflamatuvar yanıtlara etkinliğini, optimal uygulama yöntemini ve zamanını belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Hidroksiklorokin, Artemisinin, Sepsis, Sitokin, İnflamasyon

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ARTEMISININ AND HYDROXYCHLOROQUINE ON PROINFLAMMATORY CYTOKINE PRODUCTION IN EXPERIMENTAL SEPSIS MODEL

Aim: Sepsis occurs as a result of the host's abnormal systemic inflammatory response to infection. Sepsis is a major clinical problem due to the devastating effects of this inflammation which can be even more dangerous than infection as a result of the inability of antibiotics treating the infection to control systemic inflammation. In this study, we aimed to investigate the short-term effects of artemisinin (ART) and hydroxychloroquine (HCQ) drugs whose antiinflammatory effectiveness is known on the production and secretion of proinflammatory cytokines which play an important role in the pathophysiology of sepsis by creating experimental modeling of sepsis with bacterial lipopolysaccharide (LPS) in rats.

Methods: The Wistar Albino species 24 rats were randomly divided into 4 groups. Group 1: control group; rats in this group were given a sterile 0.9% NaCl by oral gavage the day before the experiment and on the day of the experiment. Sterile 0.9% NaCl was administered intraperitoneally 2 hours after gavaj administration on the day of the experiment. Group 2: sepsis group; rats in this group were given a sterile 0.9% NaCl by oral gavage the day before the experiment and on the day of the experiment. On the day of the experiment, 2 hours after gavaj administration, LPS was administered intraperitoneally at a dose of 5mg/kg. Group 3: ART group; rats in this group were given ART by oral gavage the day before the experiment and on the day of the experiment at a dose of 33.33 mg/kg. Half an hour after ART administration on the day of the experiment, LPS was administered intraperitoneally at a dose of 5 mg/kg. Group 4: HCQ group; rats in this group were given HCQ by oral gavage the day before the experiment and on the day of the experiment at a dose of 33.33 mg/kg. 2 hours after HCQ administraiton on the day of the experiment, LPS was administered intraperitoneally at a dose of 5 mg/kg. In all groups, three hours after of LPS administration (from rats in Group 3 at the thirtieth minute of the third hour of the experiment, from rats in other groups at the fifth hour of the experiment) blood samples were taken intracardiac under general anesthesia and then the rats were sacrificed. IL-1, IL-6, IL-10 and TNF- α were examined from blood samples taken from all rats.

Results: IL-1 and IL-6 levels, which were increased proinflammatory cytokines in the early period of experimental sepsis created by giving intraperitoneal LPS in Wistar Albino type rats, decreased significantly with HCQ pre-treatment. Similarly, ART pre-treatment significantly decreased the increased IL-1 level in the same model, while it decreased the IL-6 level at a statistically insignificant level. ART and HCQ decreased the increased TNF- α level, similar to the control group values. IL-10 levels, one of the anti-inflammatory cytokines, did not increase or decrease significantly among the groups during the study period.

Conclusion: The results of our study show that ART and HCQ can be evaluated as agents with the potential to regulate the host's response to sepsis. Further studies are needed to determine the effectiveness, optimal administration method and timing of these two agents which have approval for use in humans for different indications to inflammatory responses caused by sepsis in humans.

Key Words: Hydroxychloroquine, Artemisinin, Sepsis, Cytokine, Inflammation