

GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI BİLİM DALI BAŞKANLIĞI

DENEYSEL RAT SEPSİS MODELİNDE TRİMETAZİDİN TEDAVİSİNİN
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Alpaslan TANOĞLU
Tbp.Yzb.

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA
2008

Tbp.Yzb. Alpaslan TANOĞLU

İÇ HASTALIKLARI B.D.

TIPTA UZMANLIK TEZİ

2008

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI BİLİM DALI**

**DENEYSEL RAT SEPSİS MODELİNDE TRİMETAZİDİN
TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Alpaslan TANOĞLU
Tbp.Yzb.**

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Askeri Tıp Fakültesi'nin
İç Hastalıkları Bilim Dalı İçin Öngördüğü

UZMANLIK TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Levent YAMANEL
Doç.Hv.Tbp.Yb.

**ANKARA
2008**

GATA Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığına:

“Deneysel rat sepsis modelinde trimetazidin tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi” konulu bu çalışma jürimiz tarafından **İç Hastalıkları Bilim Dalı**’nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Doç.Hv.Tbp.Yb. Levent YAMANEL

Üye (Başkan) : Prof.Tbp.Kd.Alb. Selahattin ERİKÇİ

Üye : Prof.Tbp.Tuğg. Mustafa KUTLU

Üye : Prof.Dz.Tbp.Kd.Alb. Abdulgaffar VURAL

Üye : Doç. Tbp.Kd.Alb. Bayram KOÇ

Üye : Doç.Tbp.Kd.Alb. Refik MAS

Üye : Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. Cengiz BEYAN (Yd.)

Üye : Doç.Tbp.Kd.Alb. Kenan SAĞLAM(Yd.)

ONAY:

Tbp.Yzb. Alpaslan TANOĞLU’ nun 21.10.2008 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

M. Zeki BAYRAKTAR
Prof.Tbp.Tümgeneral
GATA K. Bil. Yrd.,
Askeri Tıp Fakültesi Dekanı
ve Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Yerel Etik Kurulu'nun 14.12.2007 gün ve 07/95 sayılı kararı gereği İç Hastalıkları Bilim Dalı Başkanlığında yapılmıştır.

Bu çalışmada deneysel rat sepsis modelinde trimetazidin tedavisinin etkinliği araştırılmıştır.

Konunun belirlenmesi ve çalışmanın yürütülmesinde yardım ve katkılarını esirgemeyen, tez yöneticim Doç.Hv.Tbp.Yb. Levent YAMANEL' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca iyi bir hekim olarak yetişmem için değerli katkılarından dolayı başta İç Hastalıkları Bilim Dalı Başkanı sayın Prof.Tbp.Kd.Alb. Selahattin ERİKÇİ olmak üzere, Prof.Tbp.Tuğg.M. Tahir ÜNAL' a, Doç.Tbp.Alb. Bayram KOÇ' a, Doç.Dz.Tbp.Alb. Fatih BULUCU' ya, Doç.Tbp.Alb. Refik MAS' a, Doç.Tbp.Alb. Bilgin CÖMERT' e, Doç.Hv.Tbp.Yb. Levent YAMANEL' e, Doç.Tbp.Yb. Alper SÖNMEZ' e, Doç.Tbp.Yb. Teoman DOĞRU' ya, Doç.Tbp.Bnb. İlker TAŞÇI' ya, Yrd.Doç.Dz.Tbp.Bnb. Gökhan ERDEM' e, Hv.Tbp.Kd.Yzb. Volkan İNAL' a ve bütün İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkürlerimi arz ederim.

Çalışmamın gerçekleşmesinde büyük destek ve yardımlarından dolayı Vet.Tbp.Kd.Alb.Tayfun İDE'ye , Doç.Tbp.Yb.Erdinç ÇAKIR ' a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma, İç Hastalıkları Anabilim Dalı hemşireleri ve klinik personeline ve hiçbir zaman desteklerini benden esirgemeyen aileme gönülden teşekkür ediyorum.

Alpaslan TANOĞLU

Tbp.Yzb.

ÖZET

Tbp.Yzb. Alpaslan TANOĞLU, “Deneysel Rat Sepsis Modelinde Trimetazidin Tedavisinin Etkinliğinin Değerlendirilmesi”, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Bilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2008.

Sepsis; mikroorganizmalar ve onların toksinlerine karşı organizmanın geliştirdiği sistemik inflamatuvar yanıt durumudur. Tıp alanında kaydedilen teknolojik ve farmakolojik gelişmelere ve sepsis etyolojisi ve fizyopatolojisi konularındaki artan bilgilerimize rağmen sepsis halen hastane mortalitesinin en önde gelen nedenlerinden biridir. Bu potansiyel olarak oldukça ölümcül seyreden tablonun tedavisine yönelik birçok yeni ajan denenmektedir.

Trimetazidin (TMZ); piperazin türevi antianjinal bir ajan olup, antioksidan, antiiskemik ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir. Biz bu çalışmada lipopolisakkarit (LPS) uygulanarak deneysel sepsis oluşturulan ratlarda trimetazidin, sepsisin klinik ve laboratuvar belirteçleri üzerindeki iyileştirici etkisinin araştırılmasını amaçladık.

Üç grupta 20’şer rat olmak üzere toplam 60 rat ile çalışılmıştır (I.Grup (n=20); sepsis indüksiyonu, II.Grup (n=20); sepsis indüksiyonu + trimetazidin tedavisi, III.Grup (n=20); sham grubu). Tüm gruplarda IL-1 ve TNF- α konsantrasyonları ve oksidatif stress parametresi olarak GSH-Px, SOD ve MDA düzeyleri çalışılmıştır. İstatistiksel işlemler için SPSS v15 yazılımı kullanılmıştır.

Bu çalışmada trimetazidin tedavisinin; LPS ile deneysel olarak oluşturulan sepsis indüksiyonunun neden olduğu oksidatif stres artışını ve doku membran hasarını belirgin olarak iyileştirdiği, proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 ve TNF- α düzeylerinde anlamlı düzeyde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir.

Bu çalışma, sepsis patogeneğinde temel etkenlerin proinflamatuvar sitokinler olduğu düşünüldüğünde TMZ tedavisinin yeni ufuklar açabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Sepsis, trimetazidin, proinflamatuvar sitokinler

SUMMARY

MD.Capt. Alpaslan TANOĞLU, “Appreciation of trimetazidine treatment in experimental sepsis rat model ” Gulhane Military Medical Academy, Military Medical School Department of Internal Medicine, Dissertation-Specialization in Medicine, Ankara, 2008.

Sepsis is the systemic inflammatory state of the organism in response to the microorganism and their toxins. Despite increasing knowledge about the etiology and pathophysiology of the sepsis and advanced pharmacologic interventions, it is still an outstanding cause of inpatient mortality. Several new agents are being investigated to treat this highly mortal clinical state.

Trimetazidine is a piperazine derived antianginal drug and it has anti-oxidant, anti-ischemic and anti-inflammatory effects. In this study, we aimed to show the effect of trimetazidine on clinical and laboratory markers of sepsis in rats with intraperitoneal LPS injection induced sepsis.

60 rats were randomized into three groups (Group 1 (n=20) sepsis induced only, Group 2 (n=20) sepsis induced+trimetazidine treated, Group 3 (n=20) sham operated). In both of the group 1 and 2, experimental rat sepsis model which has been defined previously, is achieved. IL-1 ,TNF- α , GSH-Px, SOD and MDA levels were determined in all groups . The statistical analysis were performed with SPSS v15 package software.

In this study we showed that TMZ treatment significantly improves oxidative stres and membrane destruction in LPS induced sepsis. TMZ treatment also significantly decreases levels of IL-1 and TNF- α which are the proinflammatory cytokines.

As the proinflammatory cytokines are supposed to play a primary role in the pathogenesis of sepsis, we assumed that the trimetazidine treatment would give new insights in treatment of sepsis.

Key words: Sepsis, trimetazidine, proinflammatory cytokines

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
1.TANIMLAR	4
2.EPİDEMİYOLOJİ	7
3.PATOFİZYOLOJİ	8
3.1. Mikrobiyal yapının konakçı tarafından fark edilmesi	9
3.2. Sinyallerin güçlendirilmesi	9
3.3. Nötrofil migrasyonu	11
3.4. Koagülasyon kaskadı	11
3.5. İnflamasyon karşıtı yanıt	12
3.6. Organ yetmezliğinin mekanizmaları	13
4.SİTOKİNLER	14
4.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)- α	14
4.2. İnterlökin-1 (IL-1)	16
5. DENEYSEL SEPSİS MODELLERİ	17
5.1. İnfeksiyon Kaynağı Olmayan Modeller	17
5.1.1. Endotoksemi modelleri	18
5.1.2. Bakteriyemi modelleri	19
5.2. İnfeksiyon Odaklı Modeller	20
5.2.1. Kontrollü inokülasyon	20
5.2.2 Fekal sepsis	21

5.2.3 Perforasyon modelleri	22
6. TRİMETAZİDİN	23
6.1. Genel bilgiler	23
6.2. İnflamatuvar Profil ve Endotel Fonksiyonu Üzerindeki Etkileri	24
GEREÇ ve YÖNTEM	26
1. Çalışma ve Gruplar	26
2. Laboratuvar Teknikleri	28
2.1. Sakrifikasyon ve Örnekleme	28
2.2. Malondialdehit (MDA) Düzeyi	28
2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	28
2.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi	29
2.5. IL-1 Düzeyleri	29
2.6. TNF- α Düzeyleri	29
3. İstatistiksel Değerlendirme	30
BULGULAR	31
TARTIŞMA	35
SONUÇLAR	40
KAYNAKLAR	41
EKLER	
EK-A: Araştırmanın Etik Kurul Kararı	

KISALTMALAR

IL-1	: İnterlökin 1
TMZ	: Trimetazidin
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü – alfa
NO	: Nitrik oksit
CRP	: C reaktif protein
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
SIRS	: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
PCT	: Prokalsitonin
MDA	: Malondialdehit
SOD	: Süperoksit dismutaz
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
DİK	: Dissemine intravasküler koagülasyon
PAI-1	: Plazminojen-aktivatör inhibitörü tip-1
NF- κ B	: Nükleer faktör kappa- beta
AP-1	: Aktivatör protein 1
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi
LBP	: LPS-bağlayıcı protein
TCR	: T-lenfosit reseptörü (TCR)
TLRs	: Toll-benzeri reseptörler
LPS	: Lipopolisakkarit
HMGB1	: Yüksek mobilite grup B1
aPC	: Aktive protein C
EPRC	: Endotelyal protein C reseptörü
CLP	: Cecal ligation and puncture
CAPS	: Colon ascendens stent peritonitis

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
Şekil 1.	Tüm gruptaki IL-1 düzeylerinin karşılaştırılması	42
Şekil 2.	Tüm gruptaki TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması	43
Şekil 3.	Tüm gruptaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması	43
Şekil 4.	Tüm gruptaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması	44
Şekil 5.	Tüm gruptaki GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması	44

TABLULAR

Tablo		Sayfa
Tablo 1.	Sepsis tanımları.....	15
Tablo 2.	PIRO konsepti.....	16
Tablo 3.	Rat serumunda IL-1, TNF- α ve oksidatif stres parametreleri düzeyi.....	42

GİRİŞ

Sepsis; infeksiyonla birlikte yaygın inflamasyonla karakterize olan, yaygın doku hasarının bulunduğu mortalitesi yüksek bir sendromdur. Sepsiste; doku hasarının meydana gelmesiyle birlikte proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler salınmaya başlamaktadır. Sistemik proinflamatuvar reaksiyonla birlikte; endotelial hasar, mikrovasküler disfonksiyon, doku oksijenizasyon bozukluğu ve sonuçta organ hasarı meydana gelmektedir. Sepsiste, makrofajların indüklenmesiyle proinflamatuvar sitokinlerden öncelikli olarak interlökin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) salınımı artar. Bu iki sitokinin salınımıyla; IL-6 ve IL-8 indüksiyonu, akut-faz protein cevabı, ateş, hipotansiyon, lökositoz, koagülasyon aktivasyonu ve fibrinolitik aktivasyon gibi biyolojik etkiler vücutta meydana gelir. Tüm bu olaylar eşliğinde vücutta yaygın bir oksidatif stres oluşur ve mikrosirkülasyon bozukluğu meydana gelir. Yapılan çalışmalarda sepsisli olgularda, serbest radikal toksisitesi sonucu glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz seviyelerinin azaldığı, malondialdehit seviyelerinin yükseldiği bildirilmiştir. Sepsisli olgularda; yaygın mikrosirkülasyon bozukluğu belirteci olarak laktatin, multiorgan disfonksiyonu çerçevesinde nörolojik doku hasarının belirteci olarak nöron-spesifik enolazın ve protein s100'ün, sepsis belirteci olarak da prokalsitoninin arttığı bildirilmiştir.

Trimetazidin (TMZ); piperazin türevi antianjinal bir ilaçtır. Yapılan çalışmalarda antianjinal bir ajan olan TMZ'nin iskemik kardiyak olaylarda sitoprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir. İskemik durumlarda TMZ; hücre ATP seviyelerinin devamlılığını sağlar, intraselüler asidozu azaltır ve hücre içinde inorganik fosfat, sodyum ve kalsiyum birikimini kısıtlar. Bu etkileri dokuya oksijen sunumu ile dokunun oksijen ihtiyacı arasındaki değişimlerinden bağımsızdır. Yapılan çalışmalarla reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrik oksit (NO) ; inflamasyon ve iskemide makrofajlardan C-Reaktif Protein (CRP), TNF- α , IL-1 ve IL-8 salınımını artırdığı gösterilmiştir. TMZ; reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından indüklenen membran hasarını azaltır ve antioksidan etkileriyle dokuyu serbest radikallerden korur.

Bizim bu çalışmadaki birincil amacımız; deneysel rat sepsis modelinde TMZ uygulayarak, TMZ'nin antioksidan, antiiskemik ve antiinflamatuvar etkilerinin sepsisteki inflamasyon üzerine etkilerini incelemektir. Trimetazidin uygulanmasının; proinflamatuvar sitokinler ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

Sepsis kelimesi Yunanca'da; 'çürük, bozuk, kokuşmuş' anlamında kullanılan bir terimden türemiştir. Daha önceden steril olan dokulara yerleşen mikroorganizmalara karşı sistemik konakçı cevabı olarak nitelendirilen sepsis; ciddi infeksiyonlarla ilişkili bir sendromdur ve yaygın organ fonksiyon bozukluğuyla karakterizedir. Hastalara sepsis tanısı koyabilmek için; Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu [Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)] kriterlerinden en az ikisi mevcut bulunmalıdır ve buna şüpheli ya da varlığı kanıtlanmış infeksiyon eşlik etmelidir (1-6). Sepsisin ciddiyeti ve mortalite oranları, sepsis tablosunun organ fonksiyon bozukluğu ile (ciddi sepsis) ve kardiyovasküler kollaps ile (septik şok) komplike olması ile artar (6,7).

İnfeksiyona karşı konakçının verdiği cevap kompleks mekanizmalardan oluşmaktadır. Konakçıda gelişen bu koruyucu cevapla patojen invazyonu tanımlanmaya çalışılır, daha sonra kontrol altına alınmaya çalışılır ve süratle etkilenen dokular konakçı tarafından tamir edilmeye başlanır. Bu olaylar cereyan ederken hem hücresel hem de humoral immün sistem aktive olur, bu sayede anti-inflamatuvar ve proinflamatuvar cevaplarda artış olur. Bu mekanizmaların uyarılması sepsise yol açabilecek olaylar zincirine neden olarak inflamatuvar mediatörlerin bol miktarda dolaşıma salınmasını sağlar ve multiorgan yetmezliğine doğru gidişi hızlandırır (8).

Sepsis patofizyolojisi ve sepsis temelindeki olaylar zinciri hakkında artan bilgi ve tecrübelerle rağmen, sepsisli olgularda mortalite ve morbidite kabul edilemeyecek düzeyde yüksek oranda varlığını sürdürmektedir. Bu yüksek oranlar nedeniyle sepsis, tüm dünyadaki yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) en önde gelen mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (1,9). Her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde 750000'den fazla sepsis olgusu bildirilmektedir ve bu olguların yaklaşık olarak 220000'i sepsis nedeniyle ölmektedir (10,11). Tüm dünyada yapılan çalışmalarda bu rakamları destekleyen sonuçlar ortaya konmuştur. Yakın zamanda Brezilya'da yapılan bir çalışmada YBÜ'lerindeki hastaların yaklaşık %25'inin sepsise girdiği

belirtilmiştir (12). Gelişen tıbbi teknoloji ve tedavi modalitelerine rağmen sepsiste mortalite oranları %50 ile %70 arasında değişmektedir (1,6,7,9,10).

Mortaliteyi azaltabilecek faydalı etkileri olan anti-inflamatuvar ilaçları bulmak için, deneysel ortamda ve klinik pratikte birçok immunomodülatuar ajan denenmiştir. Bununla birlikte büyük umutlarla dizayn edilen bu çalışmalardaki sonuçlar şunu gösterdi ki; septik şoklu hastaların tedavisi ve mortalitesinin azaltılmasındaki başarı oranlarımız, öncül çalışmaların umut verici sonuçlarına rağmen oldukça düşük seviyelerdedir (13-15). Sepsisin başarılı bir şekilde yönetimi; sepsisin erken farkına varılması, muhtemel enfeksiyon bölgesinin tespit edilmesi, erken antibiyotik tedavisinin uygulanması ve tedavi hedeflerinin belirlenerek onlara yönelik tedbirlerin seri bir şekilde alınmasını gerektirir (1,11).

1.TANIMLAR:

Yıllar içinde sepsis sendromu için birçok tanımlar kullanılmıştır (2). 1991 yılında, 'American College of Chest Physicians' ve 'The Society of Critical Care Medicine' tarafından terminolojideki anlam kargaşasını önlemek amacıyla uzlaşma konferansı düzenlenmiştir ve bu toplantıyla; SIRS, sepsis, ağır sepsis ve septik şok terimleri tariflenmiştir (Tablo 1) (1-4). Bu tanımlar yüksek sensitiviteye ve düşük spesifiteye sahip olmalarına rağmen; yakından hastanın takibini sağlaması, hasta bakım kalitesini artırması, klinik çalışmalara yol göstermesi ve YBÜ'leri arasında iletişim sağlamaları nedeniyle değerlidirler. Bu tanımların tekrar gözden geçirildiği ikinci bir konferans 2001 yılında düzenlenmiştir. Sepsisin erken farkına varılmasının vurgulanması ve sepsisin sık rastlanılan semptom ve bulgularına ait bir listenin eklenmesiyle tanımların spesifitesi artırılmıştır (2,3,5,11). Güncellenmiş tanımlar şu şekildedir:

- **İnfeksiyon:** Patojenik olan yada potansiyel olarak patojen olan mikroorganizmaların; normalde steril olan doku, sıvı yada vücut boşluklarını invaze etmesiyle gelişen patolojik süreç

- **Sepsis:** Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu bulgularından herhangi biriyle birlikte ortaya konmuş ya da şüpheli olan infeksiyon
- **Ağır sepsis:** Organ disfonksiyonuyla komplike olmuş sepsis
- **Septik Şok:** Yeterli sıvı replasmanına rağmen inatçı bir arteryel hipotansiyonla karakterize olan, sepsis dışındaki bir nedenle açıklanamayan ve sepsisin indüklediği akut dolaşım yetmezliği tablosu

Tablo 1.Sepsis Tanımları

1.Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS): (a) Ateş>38 °C ya da <36°C, (b)Nabız>90/dk, (C)Solunum sayısı>20/dk, PaCO₂ < 32 mm Hg, yada mekanik ventilasyon ihtiyacı (d)WBC>12000/mm³ yada <4000/mm³ yada>%10 immatür (bant) formları (Bunlardan en az ikisi)

2.Sepsis: SIRS + Ortaya konmuş ya da şüpheli infeksiyon (Pozitif kan kültürü sonucu gerekli değil) (16)

3.Ağır Sepsis: Organ disfonksiyonuyla komplike olmuş sepsis

4.Septik Şok: Yeterli sıvı replasmanına rağmen, ağır sepsise bağlı kardiyovasküler kollaps. Sistolik kan basıncı (SKB)<90 mmHg, ortalama arteryel basınç (OAB)<65 mmHg ya da bazal SKB'ında >40 mmHg azalma hipotansiyon olarak tanımlanır

5.Organ Disfonksiyonu Kriterleri: (a)Hipoksemi (PaO₂/FiO₂ oranı < 300), (b)Akut oligüri (idrar çıkışı <0.5 ml/kg/saat iki saat boyunca) ya da kreatinin>2.0 mg/dl, (3)Koagülopati (platelet sayısı <100000, INR>1.5 yada aPTT>60 sn, (d)İleus (e)Plazma bilirubini>4 mg/dl (1,2,5,11)

Belirtilen tanımlar hakkındaki belirginleşme yanında 2001 yılındaki toplantı, hastalığın ciddiyetini daha iyi karakterize etmesiyle sepsisin evrelemesine dair yeni bir bakış açısı sağlamıştır. Bu toplantıyla PIRO konsepti (Tablo 2) ortaya atıldı. Bu konseptteki faktörlerin sepsis gelişimi ve

sonuçları üzerinde etkisi olduğu görüşü konseptin ortaya çıkmasını sağlamıştır (2,5,11).

Tablo 2. PIRO konsepti

P (predispozisyon)

Klinik Yaş, alkol, steroid ya da immünsüpresif kullanımı

Diğer testler İmmunolojik tarama, genetik faktörler

I (enfeksiyon)

Klinik Bölgeye spesifik (ör.pnömoni, peritonit)

Diğer testler Direk grafiler, BT inceleme, bakteriyoloji

R (yanıt)

Klinik Ateş, halsizlik, nabız, solunum sayısı

Diğer testler WBC, CRP, PCT, modifiye edilmiş aPTT

O (organ disfonksiyonu)

Klinik Kan basıncı, idrar çıkışı, Glaskow koma skoru

Diğer testler PaO₂/FiO₂, kreatinin, bilirubin, plateletler

CRP: C reaktif protein, **PCT:** Prokalsitonin, **BT:** Bilgisayarlı tomografi

FiO₂: İnspire edilen oksijen fraksiyonu **PaO₂:**Parsiyel oksijen basıncı

Uyarılama: Vincent JL, Abraham E. The last 100 years of sepsis. Am J Resp Crit Care Med. 2006. 173:256-263

2.EPIDEMİYOLOJİ

Populasyon ve YBÜ'leri bazlı epidemiyolojik çalışmalarda sepsis; önde gelen bir halk sağlığı problemi olarak tanımlanmıştır (9,10,12). Sepsis ve septik şoklu hastaların insidansı son çeyrek asırda giderek artış göstermiştir. Martin ve ark. ABD'deki sepsis insidansını 100000'de 240 olarak (13), Angus ve ark. ciddi sepsis oranını 100000'de 300 olarak belirtmişlerdir (10). Çalışmalarda sepsis insidansının alınan tüm tedbirlere rağmen yıllık %1.5 arttığı belirtilmektedir. Bu çalışmalarda belirtilen mortalite oranları birbirine benzerdir; bu oran sepsis için %17.9 (13), ağır sepsis içinse %26.8 (9) dolaylarındadır. Bu yüksek mortalite oranlarıyla sepsis; ABD'deki tüm ölüm nedenleri arasında onuncu sıradadır. Diğer bir deyişle sepsis; AIDS, meme kanseri, kolon kanseri ve ilk kez geçirilen akut MI nedenli ölüm oranlarından daha yüksek bir ölüm oranına sahiptir (10,13). Fransa'da yapılan bir çalışmada septik şoklu hastaların, YBÜ'lerine kabul edilen hastaların %8.4'ünü oluşturduğunu ve mortalite oranının %60 olduğu belirtildi (14). Yakın zamanda sonuçları açıklanan SOAP (Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients) çalışmasında, YBÜ'lerinde takip edilen hastaların %35'inden fazlasının YBÜ'ndeki yattığı sürede sepsis kriterleriyle karşılaştığı ve %27'lik bir mortalite oranına sahip oldukları belirtildi (17).

Son zamanlarda, septik şok ve ağır sepsise neden olan enfeksiyöz ajanlar belirgin şekilde değişmiştir. Eskiden bu sendromların patogenezinde en sık rol alan etmenler Gram-negatif bakterilerken; günümüzde Gram-pozitif bakteriler, Gram-negatifler kadar sık sepsise neden olmaktadır, artık mantar enfeksiyonları da önemli bir enfeksiyon nedenidir. Tüm mikrobiyolojik gelişmelere rağmen sepsisli olguların yaklaşık olarak üçte birinde patojen izole edilememektedir, bazı hastalarda kültür materyali elde etmek bile zordur. (2,9,13,14).

Tüm bu epidemiyolojik çalışmaların ve bildirimlerin sonucunda artan sepsis trendi ve tüm çabalara rağmen artan mortalite oranları göze çarpmaktadır. Yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastalar için sepsis ve septik şok büyük tehdit unsuru oluşturmaktadır.

3.PATOFİZYOLOJİ

İnfeksiyona karşı başlangıçtaki konakçı cevabının zamanla artış göstermesi ve normalin dışına çıkan olaylar ve reaksiyonlar zinciriyle komplike olmasıyla sepsis tablosu klinik bir tablo olarak karşımıza çıkmaktadır. Sepsis sürecinin başlamasından sorumlu olduğu öne sürülen bakterilerin yapısal komponentlerinin belirlenmesi konusu büyük önem taşımaktadır. Bu konunun aydınlatılması sepsisin altında yatan mekanizmaların açıklığa kavuşturulmasını sağlayacağı gibi, potansiyel tedavi edici ajanların da belirlenmesini sağlayacaktır (6). Doğal immün sistemimiz tarafından farkına varılan bu bakteriyel yapıları mikroorganizmayla ilişkili moleküler yapılar olarak adlandırmak daha doğru gibi görünmesine rağmen, patojenlerle ilişkili moleküler yapılar olarak adlandırılırlar (18,19). Gram-negatif bakterilerde lipopolisakkarit (LPS, aynı zamanda endotoksin olarak da bilinir) sepsis sürecinin gelişmesinde baskın bir rol oynar. LPS dış membran içinde gömülü bulunmaktadır, bakteri duvarında molekülün lipid A kısmı tutunmayı sağlamaktadır. LPS yapısındaki değişiklikler, onun konakçı hücre membranını aktive edebilme yeteneği ile ilişki gibi görünmektedir. Gram-pozitif bakterilerde endotoksin yoktur, fakat önemli bir özellikleri potent ekzotoksinlerin üretimidir. Bu Gram-pozitif ekzotoksinler oldukça ilginçtirler, çünkü süperantijen özelliği gösterirler ve böylece ayırım yapmadan MHC (major histokompatibilite kompleksi) Class II ile ve T-lenfosit reseptörü (TCR) Vb alanının kısıtlı bir bölümüyle bağlanabilirler. Bundan sonra ciddi bir şekilde T-hücre aktivasyonuna ve pro-inflamatuar lenfokinlerin salınımına neden olurlar. Buna bilinen en iyi örnek; Staphylococcus aureus'un toksik şok sendromu toksin-1'i ve S.pyogenes kaynaklı piyojenik ekzotoksini ile oluşan 'Toksik Şok Sendromu'dur. Gram-pozitif hücre duvarı kaynaklı peptidoglikan ve lipoteikhoik asit; hücre yüzey reseptörlerine bağlanabilme özelliği taşırlar. Öte yandan bu iki yapı, LPS'den daha fazla proinflamatuar özellik taşırlar. Ancak bu iki yapının klinik sepsis patogenezindeki rolleri halen tam olarak anlaşılabilmiş değildir (20-22).

Mikrobiyal yapının konakçı tarafından fark edilmesi

'LPS' reseptörünün tanımlanamamış olması; uzun yıllar boyunca Gram-negatif bakterilerin hangi şekilde septik cevabı başlattığı sorusunun yanıtlanmasına engel olmuştur. Konakçı hücrenin aktivasyonu, LPS-bağlayıcı protein (LBP) ve opsonik reseptör CD14 varlığına bağlıdır. CD14; monositlerin LPS aktivasyonuna aracılık yapan zorunlu bir ko-reseptör olarak bilinmesi yanında yakın zamanda yapılan çalışmalar bu yapının peptidoglikan gibi Gram-pozitif hücre duvarı komponentleri ile oluşan aktivasyonda rol aldığını göstermiştir. Bu aktivasyonla birlikte makrofaj apoptozisi gelişmektedir, bu sayede LBP ve serum lipoproteinleri gibi LPS'ye bağlanma kapasitesi olan serum proteinleri ile LPS arasındaki bağlantı sağlanmaktadır (23).

CD14'ün keşfedilmesi, LPS'ye karşı konakçı cevabını anlamamızda önemli bir basamak olmasına rağmen, LPS-LBP kompleksinin nasıl birbirine bağlanıp da hücresel aktivasyona neden olduğu halen kesin olarak belirlenebilmiş değildir. Bu belirsizlik biraz da olsa Toll-benzeri reseptörler (TLRs) ailesinin keşfedilmesiyle açıklığa kavuşmuştur. TLRs, IL-1 ve IL-18'le homolog olan intraselüler bir bölge içerir. Uyarlayıcı proteinler IL-1 reseptörü ilişkili kinaza bağlanmayı kolaylaştırır, böylece TNF reseptörü ilişkili faktör-6'yı hareketlendirir ve nükleer faktör- κ B (NF- κ B)'nin nükleer translokasyonuna neden olur ve en sonunda nükleer gen taşıyıcılarının aktivasyonunu sağlar (24,25). Yakın zamanda bakteriyel, fungal ve maya proteinlerini içeren, geniş bir bağlanma spesifitesine sahip on adet yeni TLRs ailesi tanımlandı. Böylece TLRs'lerin görevleri gözden geçirildiğinde; TLR4 LPS reseptörüdür, TLR2 Gram-pozitif hücre duvar yapısının algılanmasından sorumludur, TLR5 flagellin için reseptördür ve TLR9 bakteriyel DNA'da CpG elementlerinin tanınmasından sorumludur (25,26,27).

Sinyallerin güçlendirilmesi

Başlangıçtaki konakçı-mikrobiyal ajan etkileşiminden sonra doğal immün cevap aktivasyonu meydana gelir, bu cevap hem hücresel hem de

humoral cevabı içerir (28). Mononükleer hücreler, klasik pro-inflamatuar sitokinler olan IL-1, IL-6 ve TNF- α 'nın salınımına neden olurlar. IL-1 ve TNF- α ; LPS'nin indüklediği şokun birçok immünopatolojik özelliklerine aracılık eden prototipik inflamatuvar sitokinlerdir. LPS'ye maruziyetten 30-90 dakika sonra bu stokinler salınmaya başlarlar; sırasıyla sitokinleri, lipid mediatörleri ve reaktif oksijen türlerini içeren inflamatuvar kaskadın ikinci seviyesini aktive ederler, dokulara inflamatuvar hücre hareketini başlatan hücre adezyon molekülünün miktarını artırır (28,29). Mikroplarla karşılaştıktan sonra konakçı tarafından mikrobiyal ajanların algılanması ve sinyallerin güçlendirilmesine dair en ilgi çekici kavram 'tölerans'dır. Makrofajların LPS ya da TNF- α sitokini gibi diğer proinflamatuvar stimuluslara maruz kalması tölerans durumunu indükleyebilir. Ortaya atılan mekanizmalar arasında azalmış TLR ekspresyonu da bulunmaktadır. Brunialti ve arkadaşları; septik hastaların monositlerinden TLRs 2 ve 4'ün ekspresyonunun, inflamatuvar stimulus sonrası düşük seviyede sitokin salınımı olsa bile korunduğunu göstermişlerdir (30). Bu bulgular şunu gösteriyor ki ciddi sepsis ve septik şoklu hastalarda gözlenen down-regülasyon intraselüler yollarla ilişkilidir, TLR ekspresyonuna bağlı değildir. Yine yapılan çalışmalarda septik hastaların nötrofillerinin fagositoz etme yeteneklerini ve reaktif oksijen türlerini üretebilme yeteneklerini korudukları gösterilmiştir (31). Tüm bu sonuçlar bir arada göz önüne alındığında şunu vurgulamak gerekir ki; 'tölerans' makrofaj cevabına bağlı olan ancak TLR ekspresyonundan bağımsız bir fenomendir.

Son zamanlarda yeni bir sitokin yaygın bir şekilde çalışmalarda değerlendirilmektedir. Yüksek mobilite grup B1 (HMGB1), LPS stimülasyonundan oldukça sonra beliren makrofajlara ait sitokin benzeri bir ürün olarak tanımlanmıştır. Bu yapı nükleozomları stabilize eder, gen transkripsiyonunu kolaylaştırır ve steroid hormon reseptörlerinin aktivitesinin ayarlanmasında rol alır (32). Sepsisli hastalarda HMGB1 düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir, bazı çalışmalarda bu sitokinin artmış serum seviyeleri artmış mortalite oranlarıyla ilişkilendirilmiştir (33,34). Bu konuyla bu sitokin yeni bir tedavi hedefi olarak görülebilir.

Nötrofil migrasyonu

Sepsiste nötrofiller ikili rol oynarlar. Birincisi; bu hücreler bakteriyel büyümenin bölgesel kontrolü ve bakteriyel yayılımın önlenmesi için hayati öneme sahiptirler. Öte yandan nötrofiller, endotelial aktivasyon ve organ yetmezliği gelişimi için önemli bir rol oynarlar. Cunha ve arkadaşları ratlarla yaptıkları çalışmaları sonucunda şunu savunmaktadırlar ki; enfeksiyon olan alana nötrofil migrasyonunun bozulması bakterilerin kanda ve peritoneal eksüdatada bol miktarda birikmesine ve artmış oranlarda mortaliteye neden olur. Bunun aksine olarak ölümcül olmayan sepsiste nötrofil migrasyonun suprese olduğu gösterilmemiştir ve bakteriyel enfeksiyon peritoneal kaviteye sınırlı kalmıştır, belirgin derecede mortalite oranları tespit edilmemiştir (35,36).

Koagülasyon kaskadı

Sepsiste prokoagülan etki göstermeleri nedeniyle sitokinler önemli moleküllerdir. Sepsiste koagülasyon bozukluklarına sık rastlanır, sepsisli hastaların yaklaşık olarak %30-50'sinde ağır bir tablo olan dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) meydana gelmektedir. Koagülasyon yolları LPS ya da diğer mikrobiyal componentlerle başlar, mononükleer ve endotelial hücrelerden doku faktörlerinin salınımını artırır. Doku faktörü proteolitik kaskad serilerini aktive eder, bu aktiflenme protrombin ve trombin değişimiyle sonuçlanır böylece fibrinojenden fibrin oluşur. Bu olaylar zinciri sonunda normal fibrinolitik mekanizmalar (plazmin tarafından fibrin yıkımı); plazminojen-aktivatör inhibitörü tip-1 (PAI-1)'in yüksek plazma seviyeleri nedeniyle bozulur, plazminojenden plazmine dönüşüm engellenir. Artan fibrin üretimi ve azalan fibrin yıkımı ile klinik tablo iyice belirginleşir, bu durumla birlikte küçük kan damarlarında fibrin birikimi gerçekleşir, doku perfüzyonu bozulur ve organ disfonksiyonu meydana gelir. Proinflamatuvar sitokinler ve bunlardan özellikle IL-1 ve IL-6, koagülasyonun güçlü indükleyicileridirler. Antitrombin, protein C ve doku faktör yolağı inhibitörü proteinlerinin down regülasyona uğraması, sepsisteki prokoagülan duruma katkıda bulunan önemli bir etkidir (37,38,39). Bu azalan doğal antikoagülanlar ilgi

çekicidirler, çünkü bu ajanlar trombin jenerasyonu üzerindeki etkileri dışında antinflamatuar etkilere de sahiptirler. Bu etkiler, NF- κ B ve aktivatör protein (AP)-1'i aktivasyonunun engellenmesiyle meydana gelen monosit kaynaklı TNF- α 'nın salınımını içerir. Bu olaylar zinciri içerisinde protein C, aktive protein C (aPC) haline gelir. aPC meydana geldikten sonra protein S'le birleşmeden önce endotelial protein C reseptöründen ayrılır (EPRC) ve bu olay faktör Va ve VIIIa'nın inaktivasyonu ile sonuçlanır, böylece koagülasyon kaskadı bloke edilmiş olur. Septik hastalarda PC seviyeleri azalır ve endotelial trombomodulin ve EPRC ekspresyonu bozulur, tüm bu bulgular aPC'nin de terapötik bir değeri olabileceğini göstermektedir (40,41).

İnflamasyon karşıtı yanıt

Sepsiste meydana gelen yaygın proinflamatuar yanıt, yine vücutta meydana gelen inflamasyon karşıtı yanıtla dengelenmeye çalışılır. İnflamasyon karşıtı sitokinler; TNF reseptörü ve IL-1 reseptörü inaktivatörlerini, kompleman kaskadı inaktivatörlerini içerir. Bununla uyumlu olarak mikrobiyal hasara karşı konakçı cevabı metabolik aktivitede etkili değişikliklere neden olur; kortizol üretimi ve katekolamin salınımı artar, akut-faz proteinlerin indüksiyonu gerçekleşir. Yine bu olaylar zinciri örgüsü içinde adezyon moleküllerinin artışı, prostanoitler ve platelet aktive edici faktörün artışıyla endotelial aktivasyon meydana gelir (42). İmmünitinin down regülasyonuna neden olan olaylardan biri de lenfosit apoptozisidir, bu belirtilen lenfosit apoptozisiyle otopsi sonrası alınan dokuların patolojik incelemelerinde B ve CD4 lenfositlerin azaldığı gösterilmiştir. Bu durum daha genel bir tabirle immünsüpresyonun bir parçasıdır. Tüm bu süreç göz önüne alındığında; inflamasyon karşıtı gelişen bu mekanizmaların güçlü bir şekilde cereyan etmesiyle enfeksiyona karşı konakçı cevabı yetersiz hale gelmekte ve bunun sonucunda sepsis ve organ yetmezliğine doğru hızlı bir seyir meydana gelmektedir. Bazı araştırmacılar bahsedilen bu immünsüpresif durumun engellenmesinin tedavi açısından bir değer taşıyabileceğini öne sürmektedirler (6,42).

Organ yetmezliğinin mekanizmaları

Sepsisli olgularda mortaliteye neden olan en önemli neden çoklu organ hasarıdır. Organ hasarının ciddiyetiyle YBÜ'ne hastanın alınması ve YBÜ'de takip edilen hastanın sűrvisi, mortalitesi arasında sıkı bir ilişki mevcuttur. Organ hasarının mekanizmaları içinde űunlar bulunmaktadır:

- Mikrovaskűler tıkanmaya neden olan yűklű miktardaki fibrin birikimi
- Yeterli oksijenizasyonun sađlanmasını engelleyen doku eksűdatlarının geliűimi
- PAF, histamin ve prostanooidlerin salınımıyla mikrovaskűler homeostazisin bozulması

Hűresel infiltratlar ve özellikle de nűtrofiller lizozomal enzimlerin ve sűperoksit kűkenli serbest radikallerin salınımıyla direk olarak doku hasarına yol açarlar. TNF- α ve diđer sitokinler nitrik oksit sentazın ekspresyonu artırır ve artan nitrik oksit dűzeyleri ileri derecede vaskűler instabiliteye ve myokardiyal fonksiyon bozukluđuna neden olurlar (43,44,45). Sepsiste meydana gelen hipoksiyle, oksijen ihtiyacı ve oksijen sunumu arasındaki fark çok fazla derecede artar. Oksijen sunumunu pozitif yűnde etkileyecek her tűrlű durum sűrviye olumlu yűnde katkıda bulunur (46). Oksijen sunumunu bozan en önemli etkense; fazla miktardaki nitrik oksit űretimidir, nitrik oksitin miktarının artması sonucu geliűen mitokondriyal respirasyon bozukluđu durumu septik hastaların kas biyopsilerinde gűsterilmiűtir (47,48). Sitokinlerle nűrohormonlar arasındaki iletiűim stres sırasındaki homeostazisin tekrar sađlanmasında temel noktadır. Vazopresin ve kortikotropin releasing hormonun yapımı ve dolaűıma salınımı TNF, IL-1, IL-6 ve IL-2 tarafından artırılır. Buna ilave olarak kortizol űretimi IL-6 ve TNF- α tarafından artırılır. Hormon seviyelerindeki deđiűikliklerle kardiyovaskűler homeostazis ve hűresel metabolik olaylar korunmaya alıűılır. Sepsisteki bozulmuű endokrin cevaptan; hipotalomohipofizer aks ve adrenal bezlerde etki gűsteren sitokinler, nűronal apoptozis, metabolik bozukluklar ve iskemik hasar sorumludur (49,50).

4.SİTOKİNLER

Sepsisle ilişkili inflamatuvar mediatörlerin salınımının ana amacı; kan damarlarından infeksiyon alanına doğru lökosit infiltrasyonunu artırmaktır. Bakteriyel ligandlarla TLR'lerin aktive olmasıyla sinyalizasyon kaskadı başlatılmış olur, bu kaskadın başlamasıyla da NF- κ B aktive olur. NF- κ B'nin aktive olmasıyla birlikte TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-12 ile IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler salınır (51, 52). Bu sitokinler arasında en önemlileri TNF- α , IL-1, IL-6'dır; sistemik inflamatuvar yanıtta ve doku hasarına neden olurlar, benzer biyolojik etkilere sahiptirler ve akut faz yanıtın başlangıcının koordine edilmesinden sorumludurlar (51).

Tümör Nekrozis Faktör (TNF)- α

TNF; mikroorganizmalara karşı konakçı cevabın önde gelen mediyatörüdür, sepsis patogenezinde ilk suçlanan sitokin olma özelliğini taşır (53). TNF- α ve TNF- β birbiri ile yakın ilişkili olan ve benzer biyolojik aktiviteleri paylaşan protein yapıda sitokinlerdir. TNF- α monosit ve makrofajlar tarafından, TNF- β aktive edilmiş T lenfositler tarafından dolaşıma salınır. TNF- α 'nın yapısı incelendiğinde 17 kilodalton (kDa) ağırlığında bir polipeptid olduğu görülmektedir. Genellikle iki ya da üç subunitten oluşmaktadır. Birçok potansiyel glikozillenmiş bölüm içermektedir (54).

TNF- α ; TNF-RI ve TNF-RII isimli iki adet reseptörü üzerinden biyolojik aktivite gösterir. Yapılan çalışmalarda TNF- α 'nın biyolojik olarak etkin bir sinyal oluşturabilmesi için TNF-RI üzerinde etki göstermesi gerektiği gösterilmiştir (55,56).

TNF- α , lökositlerden ve immün regülatuar hücrelerden salınır. Salındıktan sonra lökositlerden ve damar endotelinden hem kendisinin hem de diğer sitokinlerin salınımını artırır, yüzey reseptörlerini aktive eder, araziidonik asit metabolizmasını uyarır. Ağır sepsis ve septik şoklu hastalarda yapılan ölçümlerde TNF- α 'nın kan düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır. Yine deney hayvanlarına damar içine TNF- α 'nın verilmesiyle sepsise ait birçok

belirtinin gözleendiği (ateş, taşikardi, lökositoz, letarji vb) belirtilmiştir. Yine deney hayvanlarında yüksek doz uygulanmasıyla ateş, anoreksi, sempatik deşarj, kortikotropin salınımında artış, tirotropin salınımında azalma, albumin sentezinde azalma, akut faz proteinlerinde artış, lipojenezin stimülasyonu, kas glikojeninde azalma yapısal protein sentezinde azalma, protein katabolizmasında artış gibi etkiler göstermiştir. Yine deney hayvanlarında yapılan incelemelerde akciğer, böbrek ve GİS'de hemorajik nekrozlara, pulmoner kapiller damarlarda nötrofil tıkaçlarına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle sadece TNF- α bile organ disfonksiyonuna neden olabilir (51,57,58).

TNF- α 'nın ölümcül etkilerinden özetle şu şekilde bahsedilebilir:

- Myokardiyal kontraksiyonu engelleyerek doku kanlanması bozar. Bu etkisi; arjininden nitrik oksit ve sitrölin dönüşümünü sağlayan kardiyak miyozitlerdeki nitrik oksit sentetaz enziminin aktivitesini artırmasıyla oluşur.
- Vasküler düz kas hücrelerinin tonusunu azaltarak, kan basıncı ve doku oksijenizasyonunu azaltır. Bu etki TNF- α 'nın direk etkisiyle ya da prostosiklin ve nitrik oksit üzerinden olur.
- Damar içinde trombüs oluşumuna neden olarak doku kanlanmasını azaltır. Bu etkiyi pıhtılaşma sistemi, nötrofiller, mononökleer fagositik hücreler ve endotel hücrelerini aktive ederek yapar.
- Başta kan glukoz düzeyini yaşamla bağdaşmayacak seviyede düşürmesi gibi şiddetli metabolik bozukluğa yol açar. Bunu kas hücrelerinde aşırı glukoz tüketimine neden olarak yapar (59).

Sepsis ciddiyeti ile TNF- α seviyeleri arasında pozitif yönde bir ilişki mevcuttur. Başka bir deyişle ciddi sepsisli olgularda TNF- α seviyeleri daha yüksek olarak tespit edilmiştir (60-62). Yapılan çalışmalarda böyle bir ilişki olmasına rağmen hayatta kalma süresi açısından bir ilişki olmadığı

belirtilmiştir (63,64). Bazı çalışmalarda TNF- α düzeylerinin hayatta kalış süresi ve mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (60,65).

İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1; TNF- α ile birlikte sepsisteki olaylar zincirinden sorumlu olan prototipik inflamatuvar sitokinlerdir. IL-1; protein yapıdaki bir sitokindir ve sistemik inflamasyonun göstergesi olan bir belirteçdir. TNF- α 'dan farklı olarak serum IL-1 seviyeleri daha uzun süre aynı seviyelerde kalır, bu nedenle sepsisle ilgili yapılan çalışmalarda ilaç etkisini test etmede bir belirteç olarak kullanılır (66-68).

IL-1; 17 kilodalton molekül ağırlığında olup başlıca makrofaj ve endotel hücresinden salgılanır. Alfa ve beta olmak üzere iki formu vardır. Bu iki form arasında %30'dan daha az benzerlik olmasına karşın aynı reseptörlere bağlanarak benzer etkiler oluştururlar. Plazmada bulunan temel form IL-1 β 'dir. Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki çeşit reseptörü vardır. Tip 1 reseptör hemen hemen tüm hücrelerde bulunur ve TLR gibi sitoplazmik bölümü TIR bölgesi içerir. Tip 1 reseptör uyarılmasıyla NF κ B aktive olur. Tip 2 reseptör ise tamamen inhibitör özelliğe sahiptir (69,70).

IL-1, TNF- α ile sinerjistik etki gösterir, etkileri hemen hemen tamamen aynıdır. Yapıları ve reseptörlerinin farklı olmasına karşın etkilerinin bu kadar benzer olmasının temelinde her ikinin de aynı transkripsiyon faktörlerini aktive etmesi yatmaktadır. Ancak TNF- α 'den farklı olarak IL-1 apoptoza neden olmaz. Tam aksine apoptozu önleyici etkiye sahiptir (69,71).

Sepsis ciddiyeti ile IL-1 seviyeleri arasında da pozitif yönde bir ilişki mevcuttur. Başka bir deyişle ciddi sepsisli olgularda IL-1 seviyeleri daha yüksek olarak tespit edilmiştir (60). Yapılan çalışmalarda böyle bir ilişki olmasına rağmen hayatta kalma süresi açısından bir ilişki olmadığı belirtilmiştir.

5.DENEYSEL SEPSİS MODELLERİ

Klinik çalışmalarda kullanılması tasarlanan en uygun metodun uygulanması ve bu metotta standartizasyon zorlukları sepsis çalışmaları için deneysel modeller oluşturulması gerekliliğini ortaya koymuştur. Böylece tüm hastalıklarda olduğu gibi sepsis için de birçok deneysel modeller oluşturulmuş ve bunlardan elde edilen veriler ışığında sepsisin tanı ve tedavisinde azımsanmayacak ilerlemeler kaydedilmiştir.

Sepsis araştırmalarında genellikle küçük hayvanlar kullanılmaktadır. Çünkü bu hayvanlar ucuz olup genetik yapıdan benzerdirler, sağlıklı olarak elde edilmeleri kolaydır. Büyük hayvanlarsa, maliyetleri yüksek olması nedeniyle invazif monitörizasyon düşünöldüğünde kullanılmaktadır (72,73).

Sepsis araştırmaları için çok çeşitli modeller uygulanmaktadır, ancak hiçbir model mükemmel değildir. Yapılan çalışmalarda uygulanan teknik; klinik durumu yansıtan, basit ve uygulanabilir bir teknik olmalıdır. Teknik personel, donanım, insan gücü ve finansal kaynaklar da deneysel modellerin oluşturulması ve başarısı açısından büyük önem taşımaktadır (72).

Günümüze kadar oluşturulmuş olan deneysel sepsis modellerini; infeksiyon odaklı modeller ve infeksiyon odağı olmayan modeller olmak üzere iki ana grupta incelemek mümkündür. İnfeksiyon odağı olmayan modeller endotoksemi ve bakteriyemi modelleridir. İnfeksiyon odaklı olanlar ise kontrollü bakteriyel inokülasyon, fekal sepsis ve perforasyon modelleridir. Ayrıca sıvı replasmanı, antibiyoterapi, cerrahi müdahale gibi klinikte kullanılan tedavi yöntemlerinin uygulanabilir hale getirilmesi ve altta yatabilecek patolojilerin simülasyonu da sepsis modellerinin klinik geçerliliğini artırmaya yardımcıdır (73).

A. İnfeksiyon Odağı Olmayan Modeller

Sepsis hayvan modellerinin en basit prensiplerinin uygulandığı modellerdir. Endotoksemi ya da bakteriyemi yaparak sepsisin patofizyolojik özellikleri oluşturulur. Bilindiğı gibi bakteriyemi ve endotoksemi klinik sepsiste

önemli fenomenlerdir (72,74). İnsanlarda görülen sepsisin karakteristik bulguları bu modellerde başarılı bir şekilde oluşturulabilir.

1. Endotoksemi modelleri

Endotoksin, gram (-) bakterilerin hücre duvarının bir parçasıdır. Lipopolisakkarid (LPS) yapısındadır. Saf ve homojen şekilde saklanabilen ve ticari olarak kolayca bulunabilen bir maddedir. Küçük memeli hayvanlar endotoksinlere rölatif olarak duyarsız olmakla beraber tavşan, koyun ve şempazelerde endotoksinlerle iyi cevap alınır (75). Duyarsız olan hayvanlarda ise ölü organizmalar veya D-galaktozamin ile duyarlılık artırılabilir ve doz ihtiyacı azaltılabilir. Ratlarda tek doz bolus yüksek endotoksin uygulaması vazodilatasyon, kardiyovasküler kollaps ve erken ölüme neden olur (76). Düşük doz ise hiperdinamik cevap ve kardiyak debi artışı yapar. Büyük hayvanlarda tek doz LPS polifazik bir cevap oluşturur (77,78). Erken dönemde kardiyak debide azalma, geç dönemde ise artma izlenir. Uzun süre düşük doz uygulaması ise uzamış hiperdinami, kardiyak debi artışı ve vazodilatasyona neden olur. Maymunlarda bile yüksek doz ani ölüme neden olduğundan düşük ve devamlı uygulama kullanımı tavsiye edilmektedir. LPS'ler yoğun bakım hastalarının kanında %75 oranında tespit edilebilir. En yüksek değerler menigokoksemide tespit edilir.

Endotoksinin uygulanması basit ve güvenilirdir. Hem gönüllü insanlarda ve hem de hayvanlara uygulanan endotoksin, septik hastalarda gözlenen hemodinamik ve metabolik değişiklikleri kolayca başlatabilir.

Endotoksinlere duyarlılığı etkileyen faktörler (73);

1. Cinsiyet
2. Maturite
3. Diyet
4. Menstürel siklus
5. Eşlik eden infeksiyonlar

Neonatal ratlar sepsise duyarlı iken 1. haftadan sonra direnç kazanmaya başlarlar. Etle beslenenler ve anne sütüyle beslenen hayvanlar daha dirençli, progesteron fazında olanlar ise daha duyarlıdır.

İnsanlarda etkileri sergileyebilmek için genellikle birkaç kat fazla doz endotoksin gerekir (79). Ayrıca galaktozamin, kurşun aselat veya mikobakteriyum tüberkülozis BCG ile birlikte verildiğinde endotoksine duyarlılık arttırılabilir (73). Oluşturulan pozitif özellikler deney detaylarıyla da yakından ilişkilidir. Doz veya uygulama süresi değiştirilirse hemodinamik cevaplarda da değişiklikler meydana gelir.

2. Bakteriyemi modelleri

İnfeksiyon odağı olmadan oluşturulan diğer bir hayvan modeli canlı bakteri infüzyonu ile oluşturulur. Rodent, köpek, koyun, domuz veya primatlara iv olarak canlı bakteri verilir. Sıklıkla E.coli, daha az sıklıkla P.aeroginoza ve S.aureus kullanılır (80). Stafilokoksik sepsis incelemeleri için ise en uygun hayvan faredir (81). Çünkü, stafilokoklar bu hayvanların cildinde canlı kalıp spontan infeksiyon yapabilir, ilaç veya gen tedavisi kolaylıkla uygulanabilir. Ayrıca birçok saf cins, knockout veya transjenik fare mevcuttur. Bu hayvanların immün sistemleri, insana uygun özellikleri veya immün ayrıntılarının insanlardaki karşılıkları hakkında yeterli bilgi mevcuttur.

Bakteri verilen hayvanlarda hipermetabolik ve hiperdinamik septik bir durum oluşur. Ancak, hipodinamik septik şok durumları da rapor edilmiştir. Bakteri infüzyonu insanlara da uygulanmıştır. Ancak, muhtemelen bakterinin kana karışımının yavaş olmaması nedeniyle replikasyon gözlenememiştir.

Endotoksemi ve bakteriyemi modellerinin önemli dezavantajları da vardır. Endotoksemi primer bir sistemik olayı temsil ettiğinden lokal bir infeksiyon, immün reaksiyon indüksiyonu veya lokal/sistemik proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sistemler etkileşime girmemektedir. Ayrıca, canlı patojenler yerine bakteri hücre duvarı parçaları kullanılır. Oysa insanlarda gözlenen sepsis bundan farklıdır. Sitokin üretiminin şiddeti ve tedaviye yanıtı “saf” endotoksikozisde aşağıda açıklanan lokal infeksiyon kaynaklı modellerden

çok farklıdır (82). Bu nedenle endotoksemi modelleri daha çok "intoksikasyon" durumunu yansıtır. İntoksikasyon ise sepsisten farklı bir durum olup proinflatuar sistemik reaksiyonları beklenenden fazla uyabilirler. Benzer dezavantajlar bakteriyemi modellerinde de vardır. Endotoksemide olduğu gibi hayvanlar yoğun ve primer bir sistemik uyarıya maruz bırakılırlar. Özellikle virulansı zayıf bakterilerin kullanılması durumunda çok yüksek miktarda bakteri kullanılması gerekir. Verilen bakteriler sağlıklı bir bünyede hızlı ve kolay şekilde etkisiz hale getirilebilirler. Bu durumda bakteri, infektif mikroorganizma yerine proendotoksin gibi davranır. Bakteriyemi modellerinde de lokal infeksiyona göre daha yoğun ve akut şekilde proinflatuar bir reaksiyon indüklenir (83). Ancak bu problemler daha virulan bakterilerin kullanılması ve maddenin uzun süre uygulanması ile kısmen giderilebilir. Bakteriyemi modeli canlı etkenler kullanıldığından dolayı sepsisin klinik bulgularını iyi şekilde taklit eder. Ayrıca, infeksiyon odağı olmayan sepsis modelleri ile pnömokok ve özellikle meningokok infeksiyonlarına çok benzer bir klinik tablo başarılı şekilde oluşturulabilir. Bunun yanında, endotoksemi ve bakteriyemi modellerinde proinflatuar kaskad aşırı tetiklenir ve gram (-) sepsis benzeri tablo daha şiddetli oluşur.

Bu modellerin bir avantajı daha standart ve kontrollü sepsis çalışmalarının yapılabilmesidir. Klinik sepsisin tek ve istenen bir özelliği kolayca taklit edilebilir. Ayrıca, ileri tedavi çalışmaları geliştirilirken ön test yapmak açısından faydalıdır. Sepsis sürecinde gelişen patofizyolojik olayların mekanik temeli de bu modellerle izole şekilde çalışılabilir. Her iki modelde de klinik sepsisin immüno patofizyolojik yönleri başarılı şekilde çalışılmaz (72).

B.İnfeksiyon odaklı modeller

1.Kontrollü inokülasyon:

Lokal bir infeksiyon ve buradan sepsis oluşturulması temeline dayanır. Sıklıkla periton boşluğu tercih edilir, cilt altı yol da tercih edilebilir. Bu

konudaki en kolay teknik, mikroorganizma içeren bir emülsiyonun periton boşluğuna tek doz bolus infüze edilmesidir.

Bu modelde hayvanlar için erken dönemde önemli derecede ölüm riski vardır ve bu risk intoksikasyona bağlıdır. Antibiyoterapi bu ölüm riskini azaltamaz. İnfüze edilen bakterinin kana karışma kinetiğinin yanı sıra gerçekçi bir mikroçevre oluşturulması da gereklidir (83-85).

İnokülasyonda kullanılan bakterinin türü de önemlidir. Birçok modelde tek cins ve iyi bilinen bir doz kullanılır. E.coli en sık kullanılan bakteridir (86). Her model için 48 saat içinde %50-90 mortalite sağlayacak titrasyonlar geliştirilmiştir. Gram (+) sepsis çalışmaları için genellikle S.aureus kullanılmaktadır.

İnokülasyon modelleri, bakteriyemi modellerine göre infeksiyon ve inflamasyonun devamlılık gösterdiği bir odak oluşturduğunda intraabdominal mikroçevrenin gerçekçi şekilde taklit edilmesini sağlar.

2.Fekal sepsis:

Bu modelde feçes normal bakteri içeriği ile beraber inoküle edilir. En kolay yol fekal emülsiyonun batin içine tamamen yayılacak şekilde infüze edilmesidir (87). Daha lokalize enfeksiyon oluşturmak için ise feçes ile dolu jelatin kapsüller pepton-maya-glukoz karışımı ve baryum intraperitoneal olarak implante edilmektedir.

Fekal sepsiste feçesin kaynağı önemli bir konudur. Otolog fekal materyal hayvanı sadece kendi florasıyla karşı karşıya bırakır. Bu durum klinik sepsise benzer (87).

Fekal sepsisteki diğer bir önemli nokta da, feçesi alınan hastanın yemidir. Etle beslenen ratlardan alınan feçesin florası tahılla beslenenlere göre insandakilere daha çok benzer.

Fekal sepsis ile 400'den fazla mikroorganizmaya bağlı hastalık oluşturulabilir. Enfeksiyon seyri ve immün cevaplar klinik sepsis olgularına

benzerdir. Ayrıca peritoneal mikroçevre de klinik duruma çok yakındır. Bu deneysel modelin dezavantajı, bakterinin tür ve miktarının kontrol edilememesidir. Ayrıca, önceden belirlenmiş dozlarda ve istenen türde mikroorganizma ile sepsis oluşturma imkanı da yoktur.

3.Perforasyon modelleri:

Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde gözlenen en sık sepsis nedeni, gastrointestinal sistem duvar bütünlüğünün bozulmasıdır. Bu durumu taklit etmek için en popüler prosedür çekumun ligasyonu ve delinmesi (Cecal Ligation and Puncture [CLP]) ile oluşturulan modeldir. Altın standart olarak kabul edilir (88).

CLP modelinde sepsisin olmazsa olmaz kriterleri olan 'toksik' klinik durum ve pozitif kan kültürünü iyi şekilde taklit edilebilir. Peritonda en sık E.coli, P.mirabilis kolonizasyonu gözlenir (89).

Klinik ve deneysel çalışmalardaki en önemli sonuç letalitedir. Ancak CLP yapılan hayvanlarda bu parametre tutarsız seyretmektedir (89).

Perforasyon modelleri orijinal florayla gelişen enfeksiyon modelleri olduğundan doğal seyirde immün reaksiyonlar meydana gelmektedir. Tipik hemodinamik ve immünolojik değişiklikler de rahatlıkla elde edilebilir. Endotoksine duyarlılık bu modellerde sonuca daha az etki eder.

Eski bir yöntem olan CLP modelinin dışında asendan kolona yerleştirilen bir stent ile peritona devamlı barsak içeriğinin sızması ile oluşturulan 'colon ascendens stent peritonitis' (CAPS) modeli de tanımlanmıştır. Bu modelde stent çapı önemlidir, stent çapının genişlemesiyle mortalite artmaktadır (90,91).

6.TRİMETAZİDİN

Genel Bilgiler

Trimetazidin, (1-[2,3,4-trimethoxybenzyl]-piperazine HCl; TMZ); piperazin türevi yapıya sahip, iskemik kardiyak dokuda sitoprotektif etkileri olan ve bu nedenle antianjinal bir ilaç olarak kullanılan bir ajandır. TMZ'nin antianjinal özelliği, bu ilacın miyokardiyal yağ asit oksidasyonunu inhibe ederek etki ettiğinin ortaya konmasından önce de biliniyordu (92,93). Yapılan prelinik çalışmalarda TMZ'nin sitoprotektif etkileri, myokardiyal iskemi ve reperfüzyon örneklerinde ortaya konmuştur. Ratlarda yapılan çalışmalarda; rat kalbinde TMZ ile akut tedavinin; iskemik süreçte ve iskemi sonrası reperfüzyon durumunda kontraktıl fonksiyonu geliştirdiği gösterilmiştir (94-99). Koroner akım, kontraktılite ve kalp hızında TMZ değişiklik yapmamasına rağmen etkisini miyokardiyal enerji metabolizmasını iyileştirmesiyle gösterdiği öne sürülmüştür (96-99). TMZ; kardiyak enerji metabolizmasını optimize ederek etki gösteren bir mekanizmaya sahip ilk yaygın olarak kullanılan ajandır. TMZ; glukoz oksidasyonunu stimüle eder ve yağ asit oksidasyonunu azaltır (100), (şekil 2). TMZ, yağ asidi oksidasyonunu 3-ketoacyl-coenzyme A thiolase (3-KAT) enzimini inhibe ederek yapar. TMZ; direk hemodinamik etki göstermeden anti-iskemik, anti-anjinal etki gösterir. Çift kör plasebo kontrollü çalışmalarda TMZ'ni egzersizle indüklenen anjinası olan hastalarda egzersiz kapasitesini ve egzersiz süresini artırdığı gösterilmiştir (101-105). TMZ'nin kendisi stabil anjina pektoris için kullanımı kabul edilmiş, geçerliliği olan bir ajan olduğu gibi, diğer geleneksel antianjinal ajanlarla kullanıldığında da ilave aditif faydalı etkilere sahip bir ilaçtır (106).

Yapılan çalışmalarda TMZ'nin kalp yetmezlikli olgularda da faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir. Randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada kalp yetmezlikli olgularda 6 aylık TMZ tedavisiyle, plasebo ile tedavi edilen gruba göre daha az anjina atağı gözlenmiş ve dispne yakınmaları daha az olduğu tespit edilmiştir (107).

İnflamatuvar Profil ve Endotel Fonksiyonu Üzerindeki Etkileri

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, trimetazidinin inflamasyon belirteçleri üzerindeki etkileri konusuna odaklanmıştır. TMZ; reaktif oksijen türleriyle (ROS) meydana gelen membran hasarını kısıtlar ve antioksidan özelliği sayesinde dokuyu serbest radikallerin etkisinden korur (108,109). ROS ve nitrik oksid (NO) aracılı hücre hasarı hem inflamasyon hem de iskemi durumlarında makrofajlardan C-reaktif protein (CRP), TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını artırır (110).

Sepsis durumunda reaktif oksijen türleri, DNA'ya zarar vererek çapraz bağlantılı hücrel proteinlerin peroksidasyonuna ve en önemlisi lipit membranının peroksidasyonuna neden olarak doku hasarına neden olur. Lipit peroksidasyonu membran akışkanlığını azaltır ve membran geçirgenliğini artırır, bunun sonucunda hücre bütünlüğü ve hayati hücre fonksiyonları bozulur. Tüm bu belirtilen mekanizmalar doğrultusunda sepsisli olgularda multiorgan yetmezliği, ARDS gibi tabloların ortaya çıkmasına neden olur (111).

Sepsiste patojenik faktörler; endotel hücreleri, düz kas hücreleri, lökositler, eritrositler ve parankim hücreleri gibi mikrodolaşımın neredeyse tüm hücrel komponentleri üzerine etki ederler (112). Sepsis sürecinde mikrodolaşım fonksiyonları ileri derecede bozulur ve kan akımında heterojen özellikte anormallikler görülür (113,114). NO sistemi, mikrodolaşım bütünlüğünün korunmasında otoregülatuar olarak merkezi bir role sahiptir ve sepsiste ileri derece bozulur (115,116). Bu bozulma, akımın patolojik olarak şantlara yönelmesine neden olur. Bunun temel nedeni 'inducible nitric oxide synthase' (iNOS) ekspresyonunun organ yataklarının farklı alanlarında heterojen seyretmesidir, iNOS bulunmayan alanlarda NO kaynaklı vazodilatasyon oluşmaz ve perfüzyon bozulur (117).

Tüm bu bahsedilen septik patogenetik mekanizmalar, sepsis tedavisinde tedavi hedefi olarak alınmaya başlanmış ve yeni tedavi seçeneklerinde bu mekanizmalara etki edecek tedaviler üzerinde

odaklanmaya başlanılmıştır. Yukarıda da bahsedildiği gibi TMZ; reaktif oksijen türleriyle (ROS) meydana gelen membran hasarını kısıtlar ve antioksidan özelliği sayesinde dokuyu serbest radikallerin etkisinden korur. Bu etkileri yanında proinflamatuvar mediyatörler üzerindeki baskılayıcı etkisi, bizim deneysel rat sepsis modelimizde TMZ uygulamamızda etkin olmuştur.

İlk kez Di Napoli ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında trimetazidin alan hasta grubunda C-reaktif protein seviyelerinin değişmediğini, aksine olarak kontrol grubunda 18 aylık dönemde progresif artış olduğunu gösterdiler (118). CRP; inflamasyon durumunu gösteren bir belirteç olarak yaygın kullanılan bir ajandır (119-122). Benzer şekilde, TMZ ile kısa dönem (2 hafta) ve uzun dönem (6 ay) tedavi edilen diyabetik hastalarda serum endotelin-1 seviyelerinde azalma tespit edilmiş, plasebo grubundaysa azalma gözlenmemiştir (123). TMZ'nin inflamatuvar profil ve endotelial fonksiyon üzerindeki faydalı etkilerinden sorumlu mekanizmalarsa halen tam olarak bilinmemektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Haziran 2008-Ağustos 2008 tarihleri arasında GATA Araştırma ve Geliştirme Merkezi Başkanlığı bünyesinde bulunan araştırma laboratuvarlarında yürütülmüştür. Biyokimyasal belirteçler ve oksidatif stres belirteçleri GATA Biyokimya AD laboratuvarında çalışılmıştır.

Çalışmamızın amacı; yapılan tüm araştırmalara ve tıp alanındaki hızlı gelişmelere rağmen ölümcül sonuçları oldukça yüksek oranda olan sepsis tedavisine yeni açılımlar getirebilmektir. İnsan deneyi yapmanın sınırlı, zorlu şartları göz önüne alınarak deneysel bir hayvan çalışması planlanmıştır. Çalışmamızda deneysel sepsis oluşturulması için, literatürdeki mevcut modeller içinden en iyi standartları sağladığı düşünülen LPS (E.coli, 0111;B4) indüksiyonu model olarak seçilmiştir. Tedavi ajanı olarak da; antioksidan, antiiskemik ve antiinflamatuvar etkileri olan 'trimetazidin' etken maddesi seçilmiştir. Çalışmamızda; trimetazidinin sepsisin klinik ve laboratuvar belirteçleri üzerindeki iyileştirici etkisinin denenmesi amaçlanmıştır.

A. ÇALIŞMA ve GRUPLAR

Çalışmamızda; 60 adet erkek, 250-350 gr ağırlığındaki, Sprague Dawley ratlar kullanılmıştır. Her bir grupta 20 adet rat olmak üzere 3 grup oluşturulmuştur. Her bir rat tek tek tartılarak uygulanacak dozlar hesaplanmıştır. Trimetazidin tedavisi grubuna; sepsis indüksiyonu öncesinde yedi gün boyunca günde tek doz 20 mg/kg dozunda, GATA Eczacılık Bilimleri Merkezi'nde solüsyon haline getirilen trimetazidin etken maddesi, gaz anestezisi uygulanmış ratlara sonda yardımıyla verilmiştir (Resim 1). Lipopolisakkarid'in (LPS) (E.coli, 0111;B4) 5 mg/kg dozunda intraperitoneal enjeksiyonu ile ratlarda sepsis indüksiyonu sağlanmıştır (Resim 2). Sepsis tanısı; lökosit artışı, rektal ısı artışı, EKG ile tespit edilen taşikardi ile konulmuştur. Sham grubuna ise intraperitoneal serum fizyolojik uygulaması yapılmıştır.

Çalışma grupları şu şekilde düzenlenmiştir:

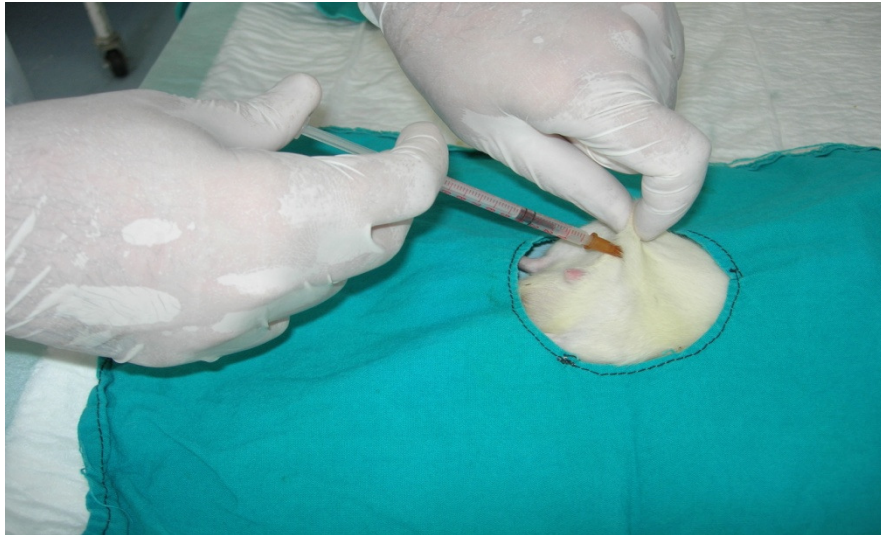
1.grup (n=20); sepsis indüksiyonu,

2.grup (n=20); sepsis indüksiyonu + Trimetazidin tedavisi

3.grup (n=20); sham grubu (intraperitoneal serum fizyolojik uygulaması)



Resim 1. Ratlara trimetazidin uygulaması



Resim 2. Ratlara intraperitoneal LPS uygulaması

B.LABORATUVAR TEKNİKLERİ

Sakrifikasyon ve Örnekleme

Sepsis indüksiyonu sonrası ratlar beşer beşer kafese konarak izlenmeye alınmıştır, oral sıvı ve gıda alımlarına izin verilmiştir. Altıncı saatte tüm gruplardaki ratlar yüksek doz anestezi ile sakrifiye edilmişlerdir. Her bir rattan, sakrifikasyon sırasında intrakardiyak girişim ile kan örnekleri alınmıştır.

Tüm kan örnekleri bir kerede çalışılması için, çalışma zamanına kadar -80° C'de saklanmıştır. Alınan kan örneklerinde sepsis sürecinde belirleyici olduğu düşünülen IL-1 ve TNF- α düzeyleri, oksidatif stres belirteçleri olarak Malondialdehit (MDA) düzeyi, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri çalışılmıştır.

Malondialdehit (MDA) Düzeyi

Rat serum MDA düzeyleri, daha önceden tanımlanmış bir yöntem kullanılarak belirlenmiştir (124). Tiobarbitürik asitin MDA ile reaksiyonundan sonra, reaksiyon ürünü 532 nm'de spektrofotomerik olarak ölçülmüştür. Standart olarak tetrametoksiopropan solüsyonu kullanılmış ve sonuçlar nmol/ml olarak ifade edilmiştir.

Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Rat serum SOD aktivitesi, daha önceden tanımlanmış bir yöntem kullanılarak ölçülmüştür (125). Rat serumu, 10 mmol/L fosfat tamponu ile 400 kat dilüe edilmiş, sonrasında 25 μ L seyreltilmiş lizat, 50 mmol/L CAPS ve 0.94 mmol/L EDTA (pH 10.2) içeren tampon solüsyonu içersindeki, 0.05 mmol/L ksantin ve 0.025 mmol/L 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium klorid içeren 850 μ L substrat solüsyonu ile karıştırılmıştır. Daha sonra karışıma 125 μ L ksantin oksidaz (80 U/L) eklenerek takiben 3 dakika boyunca 505 nm'de absorbans artışları takip edilmiştir. Boşluk veya standart olarak örnek yerine fosfat tamponunun çeşitli konsantrasyonları kullanılmıştır. SOD aktivitesi U/L olarak ifade edilmiştir.

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi

Rat serum GSH-Px aktivitesi daha önceden tanımlanmış bir yöntem ile ölçülmüştür (126). Rat serumları; 1 mmol/L Na₂ EDTA, 2mmol/L indirgenmiş glutasyon (GSH), 0.2 mmol/L NADPH, 4 mmol/L sodyum azid, 50 mmol/L'lik tris tamponu ve 1000 U GSH redüktaz, 50 µL plazma ve 950 µL reaksiyon karışımı ile karıştırılmış ve 37⁰ C'de 5 dakika süresince inkübe edilmiştir. Daha sonra 8.8 mmol/L H₂O₂ ile reaksiyon başlatılarak NADPH absorbansındaki azalma 3 dakika boyunca 340 nm'de takip edilmiştir. Enzim aktivitesi U/L olarak ifade edilmiştir.

IL-1 Düzeyleri

IL-1 düzeylerinin değerlendirilmesinde 'BioSource rat IL-1 solit faz sandviç Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) kiti' kullanılmıştır. Rat IL-1'sına spesifik antikolar mikrotiter striplerin içerisindeki boşluklara yerleştirilip, bu boşluklar içerisine standart rat IL-1, kontrol ve bilinmeyen örnekler pipetle yerleştirilmiştir.

İlk inkübasyondan sonra rat IL-1 antijeni immobilize antikora yapışmakta, yıkama sonrasında rat IL-1'sı içine spesifik biyotinlenmiş antikor eklenmektedir. İkinci inkübasyon esnasında bu antikor ilk inkübasyonda immobilize olan rat IL-1'sına tutunmaktadır. İkinci antikorun fazla kısmı uzaklaştırıldıktan sonra Streptavidin-peroksidaz eklenmekte, bu biyotinlenmiş antikora bağlanarak 4 bileşenli sandviç tamamlanmaktadır. Üçüncü bir inkübasyon ve bağlanmamış tüm enzimlerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, renklendirmeyi sağlayan solüsyon eklenmektedir. Elde edilen renkli ürünün yoğunluğu orijinal üründe mevcut olan IL-1 konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak okunmaktadır.

TNF-α Düzeyleri

TNF-α düzeylerinin değerlendirilmesinde 'BioSource rat TNF-α solit faz sandviç Enzyme-linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) kiti' kullanılmıştır. Rat TNF-α'sına spesifik antikolar mikrotiter striplerin içerisindeki boşluklara

yerleştirilmiş, ardından bu kuyucukların içerisine biyotinlenmiş ikinci antikor eklenmesini takiben standart rat TNF- α , kontrol ve bilinmeyen örnekler pipetle yerleştirilmiştir. İlk inkübasyon esnasında rat TNF- α antijeni bir taraftaki immobilize antikora bağlanırken diğer taraftan solüsyon fazındaki biyotinlenmiş antikora bağlanmaktadır. Fazla antikorlar uzaklaştırıldıktan sonra Streptavidin-peroksidaz eklenmekte, bu biyotinlenmiş antikora bağlanarak 4 bileşenli sandviç tamamlanmaktadır. İkinci bir inkübasyon ve bağlanmamış tüm enzimlerin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, renklendirmeyi sağlayan solüsyon eklenmekte, elde edilen renkli ürünün yoğunluğu orijinal üründe mevcut olan TNF- α konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak okunmaktadır.

C.İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Tüm veriler ortak bir veri tabanında toplanmıştır. İstatistiksel işlemler için SPSS for Windows v11 (SPSS Co., USA) yazılımı kullanılmıştır. Her bir veri grubunun kendi içindeki dağılım düzeni ki-kare testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar ortalama ve ortalamanın standart hatası (mean \pm SEM) olarak ifade edilmiştir. Verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon analizi kullanılmış olup, güven aralığı %95 olarak alınmıştır (CI:%95). İstatistiksel olarak anlamlı farklılık $p<0.05$ olarak tanımlanmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda 3 grupta olmak üzere toplam 60 rat ile çalışıldı.

1.grup (n=20); sepsis indüksiyonu,

2.grup (n=20); sepsis indüksiyonu + Trimetazidin tedavisi

3.grup (n=20); sham grubu

Sepsis indüksiyonu

LPS kullanılarak sepsis oluşturulan iki grupta da (Grup 1 ve Grup 2) önceden tanımlanan rat sepsis modeli oluşturulmuştur. Sepsis oluşturulan gruplarda ortalama beyaz küre sayısı 17600 ± 3400 , ortalama rektal ısı ölçümü 39.1 ± 1.5 C, ortalama kalp hızı 148 ± 15 /dakika olarak tespit edilmiştir.

Biyokimyasal ve farmakolojik değerlendirme

Verilerin ortalama değerleri ve standart ortalama hataları (mean \pm SEM), istatistiksel anlamlı farklılıkları gösteren değerlerle birlikte aşağıda sunulmuştur (Tablo 3). Tüm gruplarda oksidatif stress parametresi olarak GSH-Px, SOD ve MDA düzeyleri çalışılmıştır. Ayrıca yine tüm gruplarda IL-1 ve TNF- α konsantrasyonları çalışılmıştır.

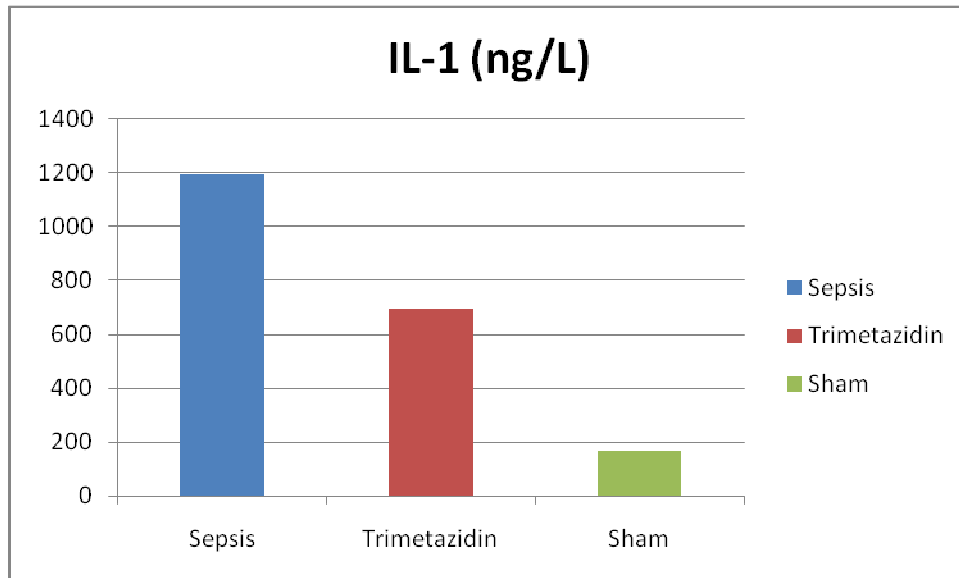
LPS ile sepsis oluşturulan grupta (Grup 1) ratların kan örneklerinde doku antioksidan kapasitesinin indirekt göstergeleri olan GSH-Px ve SOD düzeyleri; trimetazidin tedavisi uygulanan (Grup 2) gruba göre istatistiksel olarak anlamlı oranda ($p < 0.05$) daha düşük bulunmuştur. Ayrıca doku hücre membran hasarının indirekt göstergesi olarak kabul edilen MDA düzeyleri de tedavi almayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.05$) yüksek olarak tespit edilmiştir. Başka bir deyişle trimetazidin tedavisi, deneysel LPS sepsis indüksiyonunun neden olduğu doku oksidatif stres artışını ve doku membran hasarını belirgin olarak iyileştirmiştir.

Bu sonuçlara benzer şekilde; trimetazidin uygulanan grupta IL-1 ve TNF- α konsantrasyonları, tedavi almayan sepsis grubuna göre belirgin

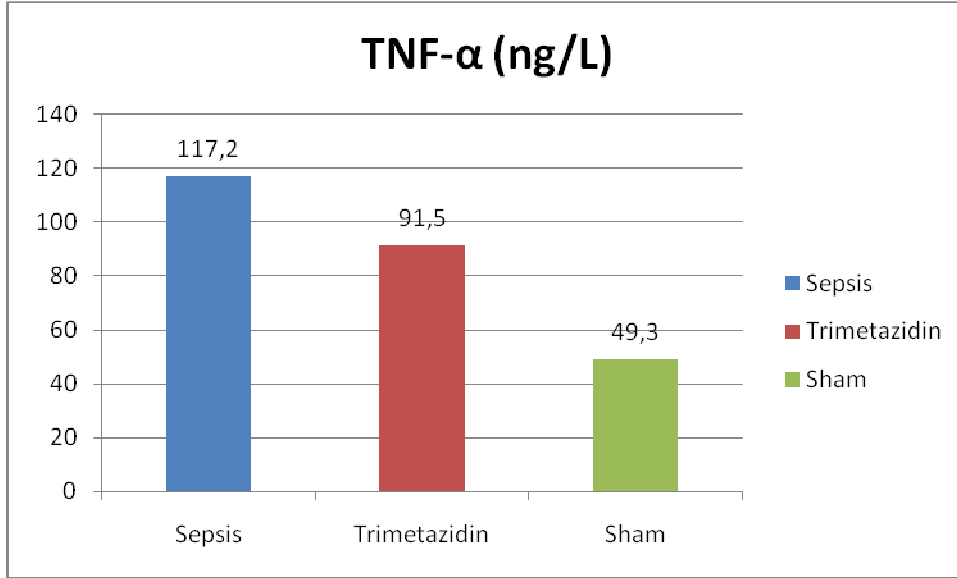
derecede daha düşüktür ($p < 0.05$). Bu sonuçlar deneysel LPS ile indüklenen sepsis modelinde trimetazidin tedavisinin sistemik olarak faydalı etkilerinin olabileceğine işaret etmektedir. Tüm bu sonuçlara rağmen çalışmamız tasarlanış itibariyle bir sürvi çalışması olmadığından, trimetazidin tedavisinin sepsis seyri üzerindeki sistemik etkilerinin belirlenmesi mümkün olmamıştır.

Tablo 3. Rat serumunda IL-1, TNF- α ve oksidatif stres parametreleri düzeyi

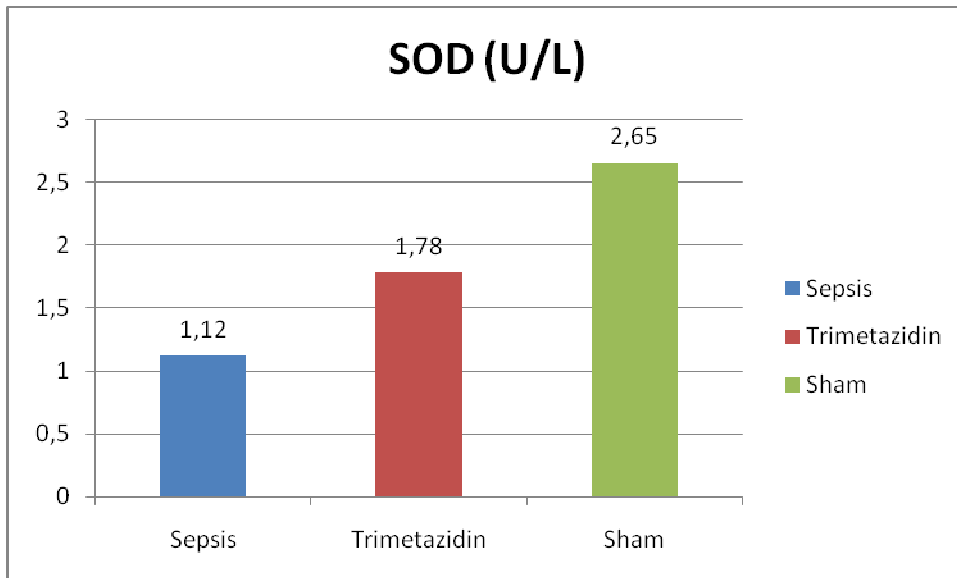
	Sepsis	Trim	Sham	p değeri
IL-1	1195.2 \pm 25.6	693.5 \pm 41.1	167.9 \pm 9.9	<0.05
TNF-α	117.2 \pm 3.7	91.5 \pm 4.2	49.3 \pm 4.1	<0.05
MDA	4.66 \pm 0.04	2.21 \pm 0.01	0.98 \pm 0.01	<0.05
SOD	1.12 \pm 0.01	1.78 \pm 0.01	2.65 \pm 0.01	<0.05
GSH-Px	1.42 \pm 0.02	2.09 \pm 0.01	2.77 \pm 0.02	<0.05



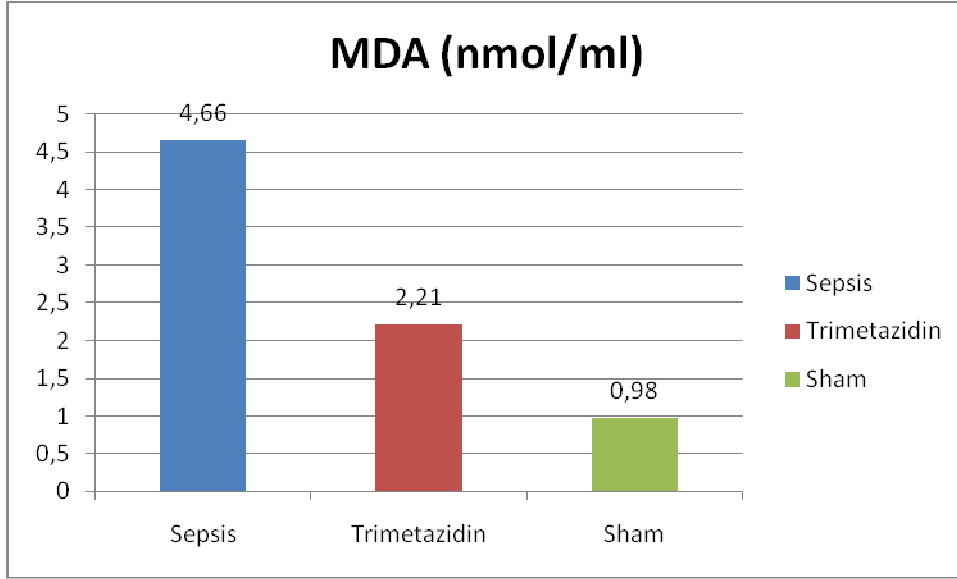
Şekil 1. Tüm gruplardaki IL-1 düzeylerinin karşılaştırılması



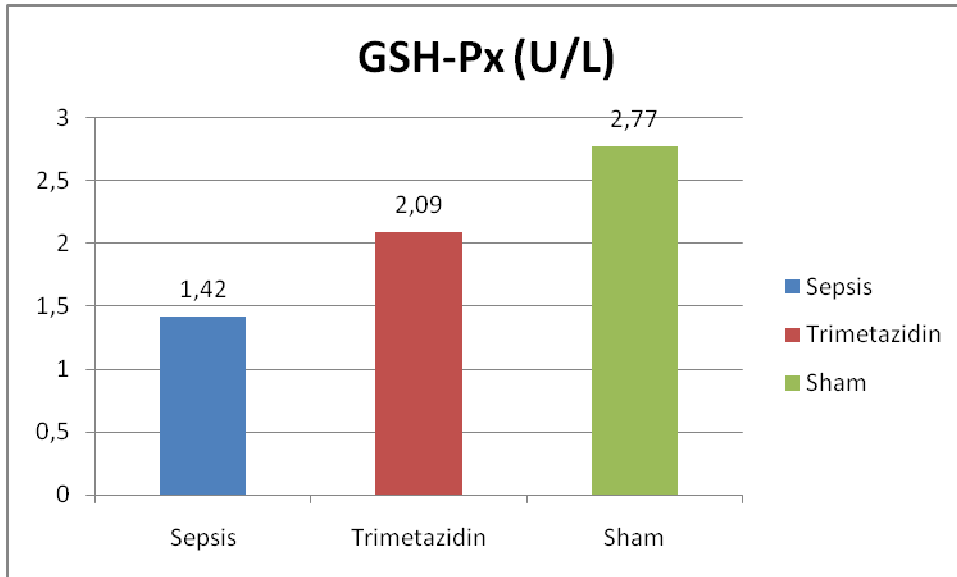
Şekil 2. Tüm gruplardaki TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 3. Tüm gruplardaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 4. Tüm gruplarda MDA düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 5. Tüm gruplarda GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması

TARTIŞMA

Sepsis; tıp alanındaki tüm farmakolojik ve teknolojik gelişmelere rağmen yoğun bakım ünitelerinin en önemli mortalite nedenlerinin başında gelmektedir. Bu potansiyel olarak oldukça ölümcül seyreden klinik sorunun tedavisine yönelik birçok yeni ajan denenmektedir.

Trimetazidin, (1-[2,3,4-trimethoxybenzyl]-piperazine HCl; TMZ) ; piperazin türevi yapıya sahip, iskemik kardiyak dokuda sitoprotektif etkileri olan ve bu nedenle antianjinal bir ilaç olarak kullanılan bir ajandır (92,93). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, trimetazidinin inflamasyon belirteçleri üzerindeki etkileri konusuna odaklanmıştır. TMZ; reaktif oksijen türleriyle (ROS) meydana gelen membran hasarını kısıtlar ve antioksidan özelliği sayesinde dokuyu serbest radikallerin etkisinden korur (108,109). ROS ve nitrik oksid (NO) aracılı hücre hasarı hem inflamasyon hem de iskemi durumlarında makrofajlardan C-reaktif protein (CRP), TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını artırır (110).

Sepsis durumunda reaktif oksijen türleri, DNA'ya zarar vererek çapraz bağlantılı hücresel proteinlerin peroksidasyonuna ve en önemlisi lipit membranının peroksidasyonuna neden olarak doku hasarına neden olur. Lipit peroksidasyonu membran akışkanlığını azaltır ve membran geçirgenliğini artırır, bunun sonucunda hücre bütünlüğü ve hayati hücre fonksiyonları bozular. Tüm bu belirtilen mekanizmalar doğrultusunda sepsisli olgularda multiorgan yetmezliği, ARDS gibi tabloların ortaya çıkmasına neden olur (111).

Sepsiste patojenik faktörler; endotel hücreleri, düz kas hücreleri, lökositler, eritrositler ve parankim hücreleri gibi mikrodolaşımın neredeyse tüm hücresel komponentleri üzerine etki ederler (112). Sepsis sürecinde mikrodolaşım fonksiyonları iler derecede bozular ve kan akımında heterojen özellikte anormallikler görülür (113,114). NO sistemi, mikrodolaşım bütünlüğünün korunmasında otoregülatuar olarak merkezi bir role sahiptir ve sepsiste ileri derece bozular (115,116). Bu bozulma, akımın patolojik olarak

şantlara yönelmesine neden olur. Bunun temel nedeni 'inducible nitric oxide synthase' (iNOS) ekspresyonunun organ yataklarının farklı alanlarında heterojen seyretmesidir, iNOS bulunmayan alanlarda NO kaynaklı vazodilatasyon oluşmaz ve perfüzyon bozulur (117).

Tüm bu bahsedilen septik patogenetik mekanizmalar, sepsis tedavisinde tedavi hedefi olarak alınmaya başlanmış ve yeni tedavi seçeneklerinde bu mekanizmalara etki edecek tedaviler üzerinde odaklanmaya başlanılmıştır. Yukarıda da bahsedildiği gibi TMZ; reaktif oksijen türleriyle (ROS) meydana gelen membran hasarını kısıtlar ve antioksidan özelliği sayesinde dokuyu serbest radikallerin etkisinden korur. Bu etkileri yanında proinflamatuvar mediyatörler üzerindeki baskılayıcı etkisi, bizim deneysel rat sepsis modelimizde TMZ uygulamamızda etkin olmuştur.

Deneysel sepsis modelinin oluşturulması için; literatürde mevcut modeller içinden en iyi standartları sağladığı düşünülen 'Lipopolisakkarit' (LPS, E.coli, 0111; B4) indüksiyonu model olarak seçilmiştir. İnsanlarda görülen sepsisin karakteristik bulguları bu modelde başarılı bir şekilde oluşturulabilir. LPS uygulanması basit ve güvenilirdir. Hem gönüllü insanlarda ve hem de hayvanlara uygulanan LPS, septik hastalarda gözlenen hemodinamik ve metabolik değişiklikleri kolayca başlatabilir (73,75).

Seçilen sepsis modeli ve uygulanan tedavi ajanı ile yaptığımız bu deneysel rat sepsis modeli çalışmasında; trimetazidinin sepsisin klinik ve laboratuvar belirteçleri üzerindeki iyileştirici etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız; deneysel rat sepsis modelinde trimetazidin etkinliğini değerlendiren ilk çalışmadır. Literatürde; sepsis modellerinde ya da sepsisli olgularda TMZ etkinliğini değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda bizim çalışmamız, tıp alanındaki tüm gelişmelere rağmen optimal düzeyde etkin olarak kullanılan bir tedavisi olmayan sepsis alanında, yeni bir tedavi edici ajan olarak kullanılabilen TMZ'nin etkinliğini araştırılan ilk çalışma olduğu için önem taşımaktadır.

Sepsis durumunda, yoğun bir şekilde inflamatuvar mediatörlerin salınımı gerçekleşir. Sepsisle ilişkili inflamatuvar mediatörlerin salınımının ana amacı; kan damarlarından infeksiyon alanına doğru lökosit infiltrasyonunu artırmaktır. Bakteriyel ligandlarla Toll-like reseptörlerin (TLR) aktive olmasıyla sinyalizasyon kaskadı başlatılmış olur, bu kaskadın başlamasıyla da nükleer faktör- κ B (NF- κ B) aktive olur. NF- κ B'nin aktive olmasıyla birlikte TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-12 ile IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler salınır (51, 52). Bu sitokinler arasında en önemlileri TNF- α ve IL-1'dir; sistemik inflamatuvar yanıtın gelişmesine neden olurlar, doku hasarına yol açarlar, benzer biyolojik etkilere sahiptirler ve akut faz yanıtın başlangıcının koordine edilmesinden sorumludurlar (51).

Kuralay ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışmayla (110); PTCA öncesi trimetazidin uygulanan olgularda, anjioplastiye bağlı inflamasyonun baskılandığını gösterdiler. PTCA; iskemi-reperfüzyon döngüsü üzerinde sistemik inflamatuvar cevabı tetikleyen bir işlemdir (127). CRP, IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar belirteçlerin düzeyleri PTCA sonrası artış göstermektedir (127). Kuralay ve arkadaşları PTCA öncesi trimetazidin uyguladıkları grupta; CRP, TNF- α ve nitrat seviyelerinin TMZ uygulanmayan gruba göre anlamlı derecede daha düşük olduğunu gösterdiler. Sepsisli olgularda olmasa da, PTCA işlemi öncesi trimetazidin uygulanan grupta inflamatuvar belirteçlerin seviyelerinin baskılandığını göstermesi açısından bu çalışmanın sonuçları oldukça büyük önem taşımaktadır. Bizim çalışmamızda ise, inflamatuvar belirteçlerin seviyelerinin daha düşük çıkması yani inflamasyonun baskılanması temelinde benzer olarak, trimetazidin uygulanan grupta IL-1 ve TNF- α seviyeleri, TMZ uygulanmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bize; inflamasyon sürecinin temel teşkil ettiği birçok hastalık gibi sepsiste de işleyen proinflamatuvar yollarda trimetazidin ile baskılanma sağlanabileceği, dolayısıyla da sepsis patogenezinde trimetazidin'in faydalı etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir.

Deneysel çalışmalardan elde edilen veriler; infeksiyon sonrası immün sisteme ait yoğun proinflatuar cevabın, organ hasarına yol açacağı ya da mevcut hasarı artıracığı teorisini destekliyor. Bu nedenle inflamatuar cevabı azaltmaya yönelik tedavi girişimleri sepsis tedavisinde yeni ufuklar açması açısından fayda sağlayabilir (128). Glauser ve arkadaşları; fizyolojik reaksiyonların spesifik olmayan blokajının (örneğin; CD14, TNF- α , IL-1 vb) sepsis ve lipopolsakkaritle (LPS) indüklenen septik şokta semptomların ciddiyetini ve mortaliteyi azalttığını göstermişlerdir (128). Bizim çalışmamızda da trimetazidin tedavisi uygulanan grupta; tedavi uygulanmayan sepsis grubuna göre TNF- α ve IL-1 seviyeleri istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük çıkmıştır. Böylece bizim çalışmamızın sonuçları, sepsis tedavisinde adjuvan bir ajan olarak trimetazidin kullanılması açısından umut vericidir. Ancak bu umut verici sonuçlara rağmen; bu deneysel çalışma kurulumu itibariyle bir sürvi çalışması olmadığı için, trimetazidin tedavisinin sepsis süreci üzerindeki sistemik etkilerinin saptanması mümkün olmamıştır.

Kara ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada (129); anestezi uygulanmış ratlarda karbakol uygulanımı öncesinde trimetazidin tedavi edici ve koruyucu ajan olarak kullanıldığında, rat kardiyak dokusundaki infarkt alanını etkin bir şekilde azalttığını ve buna ek olarak malondialdehit (MDA) ve laktat seviyelerini azalttığını tespit ettiler. Kara ve arkadaşları yaptıkları çalışmada trimetazidin uygulaması sonucu malondialdehit seviyelerinin düşük çıkmasını; trimetazidin metal şelasyonu yapabilme özelliği olabileceğine ve buna bağlı olarak selüler membrandaki lipid içerikli yapılarla ilişkili redoks aktif metallerin inaktive edebileceğine, trimetazidin nütrofil birikimini ve myeloperoksidaz aktivitesini inhibe edebileceğine bağlamışlardır (129). Bizim çalışmamız sepsis çalışması olmasına rağmen çalışmamızın sonuçları; trimetazidin nütrofil birikimini ve myeloperoksidaz aktivitesini inhibe edebileceği yönündeki teorileri desteklemesi açısından önem taşımaktadır. Çünkü bizim çalışmamızda bu sonuçlara benzer şekilde trimetazidin uygulanan tedavi grubunda, tedavi uygulanmayan sepsis grubuna göre doku hücre membran hasarının indirek bir göstergesi olarak

kabul edilen malondialdehit düzeyleri istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük olarak tespit edilmiştir.

Tikhaze ve arkadaşları ise (130) trimetazidin kullanarak yaptıkları çalışmada; koroner kalp hastalığı olan hastalarda kronik trimetazidin tedavisinin lipid peroksidleri ve malondialdehit seviyelerini azalttığını, glutatyon peroksidaz aktivitesini artırdığını gösterdiler. Bu sonuçlara benzer şekilde bizim çalışmamız sonunda da, doku antioksidan kapasitesinin indirek göstergeleri olarak kullanılan glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz seviyeleri trimetazidin tedavi uygulanan grupta, tedavi uygulanmayan sepsis grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır. Diğer bir deyişle trimetazidin tedavisi, deneysel olarak lipopolisakkaritle (LPS) indüklenen rat sepsis modelinde oksidatif stres artışını ve doku membran hasarını belirgin olarak iyileştirmiştir. Başka bir deyişle, sepsis tablosunun ortaya çıkmasıyla meydana gelen çoklu organ hasarında en önemli rolü oynayan oksidatif doku stresi artışının trimetazidin tedavisiyle baskılanması, halen etkin bir tedavi yöntemi olmayan sepsis olgularının tedavisinde yeni ufuklar açabileceği söylenebilir.

Bizim çalışmamızın sonuçlarını özgün kılan trimetazidininin; antioksidan, antiiskemik ve antiinflamatuvar etkilerini lipopolisakkaritle indüklenen deneysel rat sepsis modelindeki inceleyen ilk çalışma olmasıdır. Trimetazidine uygulanmasının sepsisteki proinflamatuvar sitokinler ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkilerini araştırılmış ve umut vaat eden sonuçlar elde edilmiştir. Ancak trimetazidininin sepsis alanındaki bu yüz güldürücü sonuçlarına rağmen daha ayrıntılı, geniş kapsamlı ve farklı metodolojili çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

1. Lipopolisakkarit ile ratlarda sepsis indüksiyonu, ideal deneysel sepsis yöntemlerinden birisidir.
2. Trimetazidin tedavisi, sepsisteki olaylar zincirinde anahtar rol oynayan IL-1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya yol açmıştır.
3. Trimetazidin tedavisi, sepsisteki olaylar zincirinde anahtar rol oynayan TNF- α seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya yol açmıştır
4. Trimetazidin tedavisi, hücre membran hasarının indirek bir göstergesi olarak kabul edilen malondialdehit düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden olmuştur.
5. Trimetazidin tedavisi, doku antioksidan kapasitesinin indirek göstergesi olarak kullanılan glutatyon peroksidaz seviyelerinde istatistiki olarak anlamlı düzeyde artışa neden olmuştur.
6. Trimetazidin tedavisi, doku antioksidan kapasitesinin indirek göstergesi olarak kullanılan süperoksit dismutaz seviyelerinde istatistiki olarak anlamlı düzeyde artışa neden olmuştur.
7. Çalışmamız; sepsis tedavisinde TMZ'nin kullanıldığı ilk çalışmadır.
8. Sepsis tedavisinde TMZ'nin kullanımına yönelik kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Balk RA. Severe sepsis and septic shock: definitions, epidemiology and clinical manifestations. *Crit Care Clin.* 2000; 16: 179-92.
2. Vincent JL, Abraham E. The last 100 years of sepsis *Am J Resp Crit Care Med.* 2006; 173: 256-263
3. Rivers EP, McIntyre L, Morro DC, Rivers K. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of a window of opportunity. *CMAJ.* 2005; 173: 1054-65
4. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Med. Concensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992; 20: 864.
5. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference *Crit Care Med.* 2003; 31: 1250.
6. Silva E, Passos R, Ferri M, et al. Sepsis: from bench to bedside *Clinics.* 2008; 63(1): 109-20.
7. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA.* 1995; 273: 117.
8. Chandra A, Enkhbaatar P, Nakano Y, Traber LD, Traber DL. Sepsis emerging role of nitric oxide and selections. *Clinics.* 2006; 61: 71-76.
9. Angus D, Pereira CAP, Silva E. Epidemiology of severe sepsis around the world. *Curr Drug Targets Immune Endoc. Metabol.* 2006;6:7-16.
10. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States analysis of incidence, outcome, and associated cost of care. *Crit Care Med.* 2001; 29: 1303-10.

11. Balk RA. Optimum treatment of severe sepsis and septic shock:evidence in support of the recommendations. *Dis Mon.* 2004; 50: 163-213.
12. Silva E, Pedro M de A, Sogayar AC, Mohovic T, Silva CL, Janiszewski M, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care.* 2004; 8: R251-260.
13. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1546.
14. Annane D, Aegerter P, Jars-Guinestre MC, Guidet B. Current Epidemiology of Septic Shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168: 165.
15. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time? *Crit Care Med* 1998; 26: 2078-86
16. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J. Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154: 617-24.
17. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in european intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* (in press).
18. Janeway CA Jr., Medzhitov R. Introduction: the role of innate immunity in the adaptive immune response. *Semin Immuno.* 1998; 10: 349-50.
19. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med.* 2001; 344: 699-709.
20. Seydel U, Oikawa M, Fukase K, Kusumoto S, Brandenburg K. Intrinsic conformation of lipid A is responsible for agonistic and antagonistic activity. *Eur J Biochem.* 2000; 267: 3032-9.
21. Majcherczyk PA, Langen H, Heumann D, Fountoulakis M, Glauser MP, Moreillon P. Digestion of *Streptococcus pneumoniae* cell walls with its major peptidoglycan hydrolase releases branched stem

- peptides carrying proinflammatory activity. *Biol Chem.* 1999; 274: 12537-43.
22. Morath S, Geyer A, Hartung T. Structure–function relationship of cytokine induction by lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus*. *J Exp Med.* 2001; 193: 393-7.
 23. Lavoie PM, Thibodeau J, Erard F, Sekaly RP. Understanding the mechanism of action of bacterial superantigens from a decade of research. *Immunol Rev.* 1999; 168: 257-69.
 24. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* 1990; 249: 1431-3.
 25. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature.* 2000; 406: 782-7.
 26. Vasselon T, Detmers P. A. Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun.* 2002; 70: 1033.
 27. Opal SM, Huber CH. Bench-to-bedside review: toll-like receptors and their role in septic shock. *Crit Care.* 2002; 6: 125-36
 28. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest.* 1997; 112: 321-9.
 29. Cohen J. Adjunctive therapy in sepsis: a critical analysis of the clinical trial program. *Br Med Bull.* 1999; 55: 212-26.
 30. Brunialti MK, Martins PS, Barbosa de Carvalho H, Machado FR, Barbosa LM, Salomao R. TLR2, TLR4, CD14, CD11B, and CD11C expressions on monocytes surface and cytokine production in patients with sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Shock.* 2006; 25: 351-7.
 31. Martins PS, Kallas EG, Neto MC, Dalboni MA, Blecher S, Salomão R. Upregulation of reactive oxygen species generation and phagocytosis, and increased apoptosis in human neutrophils during severe sepsis and septic shock. *Shock.* 2003; 20: 208-12.

32. Ulloa M, Messmer D. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: friend and foe. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2006; 17: 189-201
33. Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*. 1999; 285: 248-51.
34. Silva E, Arcaroli J, He Q, Svetkauskaite D, Coldren C, Nick JA, et al. HMGB1 and LPS induce distinct patterns of gene expression and activation in neutrophils from patients with sepsis induced acute lung injury. *Intensive Care Med*. 2007; 115-6
35. Benjamin CF, Ferreira SH, Cunha FQ. Role of Nitric Oxide in the Failure of Neutrophil Migration in Sepsis. *J Infect Dis*. 2000; 182: 214-23.
36. Alves-Filho JC, Freitas A, Russo M, Cunha FQ. Toll-like receptor 4 signaling leads to neutrophil migration impairment in polymicrobial sepsis. *Crit Care Med*. 2006; 34: 461-70.
37. Levi M, ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med*. 1999; 341: 586-92.
38. Van der Poll T, de Jonge E, Levi M, van Deventer SJ. Pathogenesis of DIC in sepsis. *Sepsis*. 1999; 3: 103-10.
39. Okajima K. Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. *Immunol Rev*. 2002; 184: 258-74.
40. Riewald M, Petrovan RJ, Donner A, Mueller BM, Ruf W. Activation of endothelial cell protease activated receptor 1 by the protein C pathway. *Science*. 2002; 296: 1880-2.
41. Faust SN, Levin M, Harrison OB, Goldin RD, Lockhart MS, Kondaveeti S et al. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N Engl J Med*. 2001; 345: 408-16.
42. Silva E, Arcaroli J, He Q, Svetkauskaite D, Coldren C, Nick JA, et al. HMGB1 and LPS induce distinct patterns of gene expression and activation in neutrophils from patients with sepsis induced acute lung injury. *Intensive Care Med*. 2007; 2089-7.

43. Rigato O, Silva E, Salomao R. Pathogenesis-Oriented targets for adjunctive therapy. *Curr Drug Targets Immune, Endocr Metabol.* 2006; 6: 7-16
44. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med.* 1999; 27: 1230-51.
45. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmieg RE Jr, Hui JJ, Chang KC, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol.* 2001;166:6952-63. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Chang KC, Cobb JP, Buchman TG, et al. Prevention of lymphocyte cell death in sepsis improves survival in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96: 14541-6.
46. Nakagawa NK, Nogueira RA, Correia CJ, Shiwa SR, Costa Cruz JW, Poli de Figueiredo LF. Leukocyte-endothelium interactions after hemorrhagic shock/reperfusion and cecal ligation/puncture: an intravital microscopic study in rat mesentery. *Shock.* 2006; 26: 180-6.
47. Döcke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN- γ treatment. *Nature Med.* 1997; 3: 678-81.
48. Levy MM, Macias WL, Vincent JL, Russell JA, Silva E, Trzaskoma B, et al. Early changes in organ function predict eventual survival in severe sepsis. *Crit Care Med.* 2005; 33: 2194-201.
49. Cavillon JM, Adib-Conquy M, Fitting C, Adrie C, Payen D. Cytokine cascade in sepsis. *Scand J Infect Dis.* 2003; 35: 535-44.
50. Singer M, De Santis V, Vitale D, Jeffcoate W. Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation. *Lancet.* 2004; 364: 545-8.
51. Jimenez R, Belcher E, Srisikandan S, Lucas R, McMaster S, Vojnovic I, et al. Role of Toll-like receptors 2 and 4 in the induction of

- cyclooxygenase-2 in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 4637–4642.
52. Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nat Immunol* 2004; 5: 975–979.
 53. Beutler, B., Cerami A.: More than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987; 316: 379-385
 54. Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/ TNF- α primary mediator of the host response. *Ann Rev Immunol*, 1989; 7: 625-655
 55. Shalaby MR, Buchler M, Gaspar M. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut* 1990; 31: 1138-114
 56. Shalaby, MR, Sunday A, Loetscher, MB, Brochhaus M, Lesslauer W, Espevik T. Binding and regulation of cellular function by monoclonal antibodies against human tumor necrosis factor receptors. *J Exp Med* 1990; 172: 1517
 57. Hehlhans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players rules and the games. *Immunology* 2005; 115: 1–20.
 58. Faulkner L, Altmann DM, Ellmerich S, Huhtaniemi I, Stamp G, Sriskandan S. Sexual dimorphism in superantigen shock involves elevated TNF α and TNF α -induced hepatic apoptosis. *Am J Resp Crit Care Med* 2007; 176: 473–482.
 59. Abbas, AK, Lichtman HA, Pober, SJ. Cytokines cellular and molecular immunology. Saunders, New York, 2000.
 60. Figen, J.W., Muller Kobald, A.C.: Leukocyte activation and cytokine production during experimental human endotoxemia. *Euro J Inter Med* 2000; 11: 89-95
 61. Haupt W, Zimigibl H, Stehr A, Reise J, Holzheimer RG, Hohenberger W. Tumor necrosis factor- α and interleukin-10 production in septic patients and regulator effect of plasma. *Eur J Surg* 1999; 165: 95-100.
 62. Khalid, M.A., John, A.K., Gary, R.M.: Unintended Immuno Modulation: Part 1. Effects of common clinical conditions on cytokine biosynthesis. *Shock* 2000; 13: 333-345.

63. Ebong S, Call D, Nemzek J, Bolgos G, Newcomb D, Remick D. Immunopathologic alterations in murine models of sepsis of increasing severity. *Infect Immun* 1999; 67: 6603-6610.
64. Larry C, Casey: Immunologic Response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16: 193-213.
65. Gogas CA, Drasou E, Bassaris HP, Skoutelis A. Pro versus antiinflammatory cytokines profile in patients with severe sepsis: A marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infec Dis* 2000; 181: 176-180
66. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med.* 1993; 119: 771-778.
67. Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJ, et al. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood.* 1989; 74: 1704-1710.
68. Preiser JC, Schmartz D, Van der LP, et al. Interleukin-6 administration has no acute hemodynamic or hematologic effect in the dog. *Cytokine.* 1991; 3: 1-4.
69. Erikçi S, Mas R, Cömert B, Yamanel L. Sepsis'te Yeni Ufuklar Çetin Ofset AŞ. 2007; s: 10-13,
70. Carr C, Bild GS, Chang: Recombinant E.coli derived tissue factor pathway inhibitor reduces coagulopathic and lethal effects in the baboon Gram negative model of septic shock. *Cric Shock* 1995; 44: 126.
71. Creasey AA, Chang ACK, Fengen L, Wun TC, Taylor FB, Hinshaw LB. Tissue factor pathway inhibitor reduces mortality from Escherichia Coli septic shock. *J Clin Invest* 1993; 91: 2850.
72. Erikçi S, Mas R, Cömert B, Yamanel L, Ünal T. 21.Yüzyılda Sepsis Gerçeği. Çetin Ofset A.Ş. 2006; s: 63-75,
73. Freise H, Brückner UB, Spiegel HU. Animal models of sepsis. *Journal of Investigate Surgery,* 2001; 14: 195-212

74. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, et al. The natural history of the systemic inflammatory response syndrom (SIRS). A prospective study. *JAMA*; 1995; 273: 117- 123
75. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J surg Res*. 1990; 49: 186-196
76. Suffredini AF, Parker MM, Brenner M, et al. Endotoksin (E) administration produces abnormal cardiovascular (CV) responses in normal humans. *Clin Res*. 1987; 35: 68
77. Redl H, Bahrami S, Schlag G, Traber DL. Clinical detection of LPS and animal models of endotoxemia. *Immunobiol*. 1993; 187: 330-345
78. Kuppermann N, Nelson DS, Saladino RA, et al. Comparison of a recombinant endotoxin-neutralizing protein with a human monoclonal antibody to endotoxin for the treatment of *Escherichia coli* sepsis in rats. *J Infect Dis*. 1994; 170: 630-635
79. Redl H, Schlag G, Bahrami s, et al. animal models as the basis of pharmacologic intervention in trauma and sepsis patients world. *J Surg*. 1996; 20, 487-492
80. Lee PA, Weger GW, Pryor RW, et al. effects of filter pore size on efficacy of continuous arteriovenous hemofiltration therapy for staphylococcus aureus induced septicemia in immature swine. *Crit Care Med*. 1998; 26: 730-737.
81. Tarkowski a, Collins LV, Gjertsson I, et al. Model systems:Modeling human staphylococcal arthritis and sepsis in the mouse. *Trends in microbiology*. 2001; 9(7): 219-222,
82. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern med*. 1993; 119: 771-778,
83. Cross AS, Opal SM, Sadoff JC, et al. Choice of bacteria in animal models of sepsis. *Infect Immun*. 1993; 61: 2741-2747
84. Steinwald PM, Whang KT, Becker KL, et al. Elevated calcitonin precursor levels are related to mortality in an animal model of sepsis. *Crit Care* 1999; 3: 11-16

85. DeMarsh PI, Wells GI, Lewandowski TF, et al. Treatment of experimental gram-negative and gram-positive bacterial sepsis with the hemoregulatory peptide. *J Infect Dis.* 1996; 173: 203-211
86. Gurtner GC, Robertson CS, Chung SCS, et al. Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum on bacteraemia and endotoxaemia in an animal model of peritonitis. *Brit J surg.* 1995; 82: 844-848
87. Kazarian KK, Perdue PW, Lynch W, et al. Porcine peritoneal sepsis: Modeling for clinical relevance. *Shock* 1994; 1: 201-212,
88. Buras JA, Holzmann B, Sitkovsky M. Animal models of sepsis: Setting for the stage. *Nat Rev Drug Discov.* 2005; 4: 854-65
89. Okamoto I, Abe M, Shibata K, et al. Evaluating the role of inducible nitric oxide synthase using a novel and selective inducible nitric oxide synthase inhibitor in septic lung injury produced by cecal ligation and puncture. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162: 716-722
90. Deitch EA. Rodent models of intra-abdominal infection. *Shock* 24 Suppl 1.19-23, 2005.
91. Maier S, Traeger T, Entleutner M, et al. Cecal ligation and punctura versus colon ascendens stent peritonitis: two distinct animal models for polymicrobial sepsis. *Shock* 2004; 21: 505-11
92. Stanley W.C. Partial inhibition of cardiac fatty acid oxidation for the treatment of chronic stable angina. *Expert Opin. Invest. Drugs* 2002; 11: 1–15.
93. McClella KJ, Plosker GL. Trimetazidine. A review of its use in stable angina pectoris and other coronary conditions. *Drugs* 1999; 58: 143–157.
94. Boucher FR, Hearse DJ, Opie LH. Effects of trimetazidine on ischaemic contracture in isolated perfused rat hearts. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1994; 24: 45–49.
95. El Banani H, Bernard M, Baetz D. et al. Changes in intracellular sodium and pH during ischaemia-reperfusion are attenuated by trimetazidine. Comparison between low and zero-flow ischaemia. *Cardiovasc. Res.* 2000; 47: 688–696.

96. Fantini E, Demaison L, Sentex E, Grynberg A, Athias P. Some biochemical aspects of the protective effect of trimetazidine on rat cardiomyocytes during hypoxia and reoxygenation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1994; 26: 949–958.
97. Harpey C, Clauser P, Labrid C, Freyria JL, Poirier JP. Trimetazidine, a cellular anti-ischaemic agent. *Cardiovasc. Drug Rev.* 1989; 6: 292–312.
98. Kay L, Finelli C, Aussedat J, Guarnieri C, Rossi A. Improvement of long term preservation of the isolated arrested rat heart by trimetazidine: effects of the energy state and mitochondrial function. *Am. J. Cardiol.* 1995; 76: 45–49.
99. Lavanchy N, Martin J, Rossi A. Anti-ischaemia effects of trimetazidine: ³¹P-NMR spectroscopy in the isolated rat heart. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 1987; 286: 97–110
100. Kantor PF, Lucien A, Korak R, Lopaschuk GD. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ Res* 2000; 86: 580–588
101. Sellier P. Chronic effects of trimetazidine on ergometric parameters in effort angina. *Cariovasc Drugs Ther* 1990; 4: 822–823.
102. Sellier P, Harpy C, Corona P, Audouin P, Ourbak P. Acute effects of trimetazidine on ergometric parameters in effort angina. *Cardiovasc Drugs Ther* 1990; 4: 820–821.
103. Dalla-Volta S, Maraglino G, Della-Valentina P, Viena P, Desideri A. Comparison of trimetazidine with nifedipine in effort angina: a double-blind, crossover study. *Cardiovasc Drugs Ther* 1990; 4: 853–860.
104. Detry JM, Sellier P, Pennaforte S, Cokkinos D, Dargie H, Mathes P. Trimetazidine: a new concept in the treatment of angina. Comparison with propranolol in patients with stable angina. *Br J Clin Pharmacol* 1994; 37: 279–288.

105. Manchanda SC, Krischnaswami S. Combination treatment with trimetazidine and diltiazem in stable angina pectoris. *Heart* 1997; 78: 353–357.
106. Stanley WC, Marzilli M. Metabolic therapy in the treatment of ischaemic heart disease: the pharmacology of trimetazidine. *Fundamental and Clin Pharmacol* 2003; 17: 133–145
107. Brottier L, Barat JL, Combe C, et al. Therapeutic value on a cardioprotective agent in patients with severe ischemic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1990; 11: 207–212.
108. Tikhaze AK, Lankin VZ, Zharova EA, et al. Trimetazidine as indirect antioxidant. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2000; 130: 951-953
109. Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, et al. Oxidative stress and neutrophil activation: The two key stones of ischemia/reperfusion injury. *Int J Cardiol* 2002, 86:41-59.
110. Kuralay F, Altekin E, Yazlar AS, et al. Suppression of angioplasty-related inflammation by pre-procedure treatment with trimetazidine. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2006, 208:203-212.
111. Closa D, Folch PH. Oxygen free radicals and systemic inflammatory response. *IUBMB Life*. 2004, 56(4); 185-91.
112. Ince C, the microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care*. 2005; 9 Suppl 4, s: 13-19
113. De backer D, Creuter J, Preiser JC, et al. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 98-104.
114. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, et al. Nitroglycerin promotes microvascular recruitment in septic shock after intravascular volume resuscitation. *Lancet* 2002; 360:1395-1396.
115. Morin MC, Unno N, Hodin RA, et al. Differential expression of inducible nitric oxide synthase messenger RNA along the longitudinal and crypt-villus axes of the intestine in endotoxemic rats. *Crit Care Med*. 1998; 26: 1258-64.

116. Revelly JP, Ayuse t, Brienza N, et al. Endotoxic shock alters distribution of blood flow within theintestinal wall. *Crit Care Med*. 1996; 24:1345-51.
117. Price SA, Spain DA, Wilson MA, et al. Subacute sepsis impairs vascular smooth muscle contractile machinery and alters vasoconstrictor and dilator mechanism. *J Surg Res* 1999; 83: 75-80.
118. Di Napoli P, Taccardi AA, Barsotti A. Long term cardioprotective action of trimetazidine and potential effect on the inflammatory process in patients with ischaemic dilated cardiomyopathy. *Heart* 2005; 91: 161–165.
119. Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Cosin-Sales J, Quiles J, Zouridakis E, Kaski JC. Multiple complex stenoses, high neutrophil count and C-reactive protein levels in patients with chronic stable angina. *Atherosclerosis*. 2004; 175: 151–157.
120. Arroyo-Espliguero R, Avanzas P, Cosin-Sales J, Aldama G, Pizzi C, Kaski JC. C-reactive protein elevation and disease activity in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2004; 25: 401– 408.
121. Zouridakis E, Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, Fredericks S, Kaski JC. Markers of inflammation and rapid coronary artery disease progression in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004; 110: 1747–1753.
122. Kaski JC, Garcia-Moll X. C-reactive protein as a clinical marker of risk. *Circulation* 2000; 102: 63–64.
123. Fragasso G, Piatti PM, Monti L, Palloshi A, Setola E, Puccetti P, Calori G, Lopaschuk GD, Margonato A. Short- and long-term beneficial effects of trimetazidine in patients with diabetes and ischemic cardiomyopathy. *Am Heart J* 2003; 146: 18–25.
124. Jain, S.K.: Hyperglyseemia can cause membran lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. *J Biol Chem* 1989; 264: 21340-5

125. Chiou JF, Hu ML. Elevated lipid peroxidation and disturbed antioxidant enzyme activities in plasma and erythrocytes of patients with uterine cervicitis and myoma. *Clin Biochem.* 1999; 32: 189-192
126. Schoenerg MH, Buchler M, Gaspar M. Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat. *Gut.* 1990; 31: 113-114
127. Azar RR, McKay RG, Kiernan FJ et al. Coronary angioplasty induces a systemic inflammatory response. *Am. J. Cardiol.* 1998; 80: 1476-80.
128. Glauser MP. Pathophysiologic basis of sepsis: considerations for future strategies of intervention. *Crit. Care Med.* 2000; 28: 4–8.
129. Kara AF, Demiryürek Ş, Çelik A, Tarakçioğlu M. et al. Effects of trimetazidine treatment on myokardiyal preconditioning in anesthetized rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology.* 2006; 1-11.
130. Tikhaze AK, Lankin VZ, Zharova EA, Kolycheva SV. Trimetazidine as indirect antioxidant. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2000; 10: 951–953.