

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

**DENEYSEL RAT SEPSİS MODELİNDE HİPERBARİK OKSİJEN  
İLE NORMOBARİK OKSİJEN  
TEDAVİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**AHMET ÖZTÜRK  
Tbp. Yzb.**

Gülhane Askeri Tıp Akademisi  
Askeri Tıp Fakültesi'nin  
İç Hastalıkları Tıp Uzmanlığı için öngördüğü  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**  
olarak hazırlanmıştır.

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

**ANKARA  
2009**

GATA Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığına;

“Deneysel Rat Sepsis Modelinde Hiperbarik Oksijen İle Normobarik Oksijen Tedavisinin Karşılaştırılması” konulu bu çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Bilim Dalı’nda Tıpta Uzmanlık Tezi Olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : ..... (imza)  
(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye : ..... (imza)  
(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye : ..... (imza)  
(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye : ..... (imza)  
(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye : ..... (imza)  
(Ünvanı, Adı Soyadı)

Üye : ..... (imza)  
(Ünvanı, Adı Soyadı)

ONAY:

Tbp.Yzb. Ahmet ÖZTÜRK’ün ... /... / 2009 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Dekan

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı İç Hastalıkları BD 31.10.2006 gün ve 0530-150-06/435 sayılı kararı gereği, İç Hastalıkları Bilim Dalı Başkanlığında yapılmıştır.

Bu çalışmada deneysel rat sepsis modelinde Hiperbarik Oksijen tedavisi ve Normobarik Oksijen tedavisi karşılaştırılmış, tedavilerdeki etkinlikleri, farklılıkları ve üstünlükleri 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 Başkan Vekili sayın Prof.Tbp.Kd.Alb. Kenan SAĞLAM olmak üzere, Prof.Tbp.Tuğg.M.Tahir ÜNAL'a, Prof.Tbp.Kd.Alb. Refik MAS'a, Doç.Tbp.Kd.Alb. Bayram KOÇ'a, Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb. Fatih BULUCU'ya, Prof.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.Kd.Bnb. İlker TAŞÇI'ya, Yrd.Doç.Dz.Tbp.Bnb. Gökhan ERDEM'e, (E).Hv.Tbp.Bnb. Volkan İNAL'a, sevgili dostum Dz.Tbp.Yzb.Halil ERTÜRK'e İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyeleri, asistanları, hemşireleri ve klinik çalışanlarına teşekkürlerimi arz ederim.

Çalışmamın gerçekleşmesinde büyük destek ve yardımlarından dolayı Yrd.Doç.J.Tbp.Bnb Serdar SADIR'a, Uzm.J.Tbp.Bnb.Bülent UYSAL'a, istatistiksel incelemeleri yapan Doç.Tbp.Bnb.Turgut TOPAL'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimi boyunca ve tez çalışmam süresince sabırla bana destek olan sevgili eşim Seda ÖZTÜRK ve biricik kızım Neva'ya sonsuz teşekkür ederim.

**Ahmet ÖZTÜRK**

Tbp. Kd. Yzb.

## ÖZET

**Tbp.Yzb. Ahmet ÖZTÜRK, “Deneysel Rat Sepsis Modelinde Hiperbarik Oksijen Tedavisi ile Normobarik Oksijen Tedavisinin Karşılaştırılması”, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Bilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2009.**

Sepsis, birçok sistemi tutan, özellikle hemodinamik değişikliklere yol açarak, şok, organ fonksiyon bozukluğu ve organ yetmezliğine kadar giden, tedavisi güç ve mortalitesi yüksek bir klinik tablodur. Son yirmi yılda sepsis üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda sepsis fizyopatolojisinin anlaşılmasının bir sonucu olarak pek çok terapötik ajan geliştirilmiştir. Bu ajanların hepsi insanda kullanılmadan önce hayvanlarda denenmiş, ancak yapılan yorucu ve pahalı çalışmaların çoğu olumlu bir gelişmenin sağlanması açısından başarısız olmuştur.

Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisini tanımlarsak, hastaların tamamen kapalı basınç odalarında, 1 ATA'dan daha büyük basınç altında %100 oksijenin solutulduğu tedavi yöntemi şeklinde yapılabilir. Vazokonstrüktör, mikroorganizma çoğalmasını önleyici, anjiogenezisi aktive edici, antioksidan ürünlerin oluşumunu artırıcı ve dokuların bozulmuş oksijen transport kapasitesini düzeltici etkileri bulunmaktadır.

Normobarik oksijen (NBO), benzer etkileri daha düşük basınçlı ve daha az invaziv şartlarda yapabilen, Yoğun Bakım Ünitelerinde(YBÜ) rutin uygulanan, çok çeşitli uygulama metodları olan bir tedavi metodudur.

Bu çalışma; deneysel sepsis modelinde NBO ve HBO tedavilerinin oksidatif stres parametreleri ve pro inflamatuvar sitokinler açısından iyileştirici etkilerini ve birbirlerine üstünlüklerini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Bu amaçla ratlar dört gruba randomize edilmiştir: (1) Kontrol grubu (n=10): Sepsis indüksiyonu sonrası tedavi almayacak grup (2) HBO grubu (n=10): Sepsis indüksiyonunu müteakiben HBO tedavisi verilen grup 3) NBO

grubu (n=10): Sepsis indüksiyonunu mütakiben NBO tedavisi verilen grup (4)  
Sham grubu (n=10): İntraperitoneal serum fizyolojik uygulanan grup

Tüm gruplarda serumda TNF- $\alpha$  konsantrasyonları ve akciğer dokusunda oksidatif stress parametresi olarak Glutasyon peroksidase (GSH-Px), Süperoksid Dismutaz (SOD) ve Malondialdehit (MDA) düzeyleri çalışılmıştır. İstatistiksel işlemler için SPSS v15 yazılımı kullanılmıştır.

Bu çalışmada HBO ve NBO tedavilerinin; E.Coli ile deneysel olarak oluşturulan sepsis indüksiyonunun neden olduğu oksidatif stres artışını ve doku membran hasarını belirgin olarak iyileştirdiği, NBO ve HBO tedavileri arasında anlamlı fark olmadığı, proinflamatuvar sitokin olan TNF- $\alpha$  düzeylerinde ise anlamlı düzeyde azalmaya yol açtıkları, HBO tedavisinin NBO tedavisine göre daha anlamlı düzeyde değişiklik oluşturduğu gösterilmiştir.

Ancak tedavi etkinliğindeki mekanizmaların anlaşılabilmesi ve kullanılabilirliğinin araştırılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Sepsis, Oksidatif Stres, Proinflamatuvar  
Sitokinler, Hiperbarik Oksijen, Normobarik  
Oksijen

Destekleyen Kurumlar :Yok

Yazar adı : Dr. Ahmet ÖZTÜRK

Danışman : Doç.Dr.H.Levent YAMANEL

## SUMMARY

**MD.Capt. Ahmet OZTURK, "Comparison of the Effects of Hyperbaric Oxygen and Normobaric Oxygen on sepsis in rats" Gulhane Military Medical Academy, Military Medical School Department of Internal Medicine, Dissertation-Specialization in Medicine, Ankara, 2009.**

Sepsis is a severe multisystemic disease ,that develope particularly by alterations on hemodynamia progressing shock, multiorgan dysfunction and failure, which treatment of this manifestation is difficult and mortality is high . In recent two decades there are lots of studies investigated sepsis . After the provement on sepsis physiopathology with these studies, various of therapeutic agents are developed. These agents were tested at animals before used at human being but most of these exhaustive and expensive studies were unsuccesseful at obtaining a positive progress.

As a defination for Hyperbaric oxygen treatment (HBO) , the patients are in completely closed pressure rooms, with more than 1 atm pressure breathing %100 oxygen. This treatment effects providing vasoconstruction, preventing microorganism proliferation, activating angiogenesis, enhancing anti-oxidan products and increasing the oxygen transport capacity of failure organs .

Normobaric oxygen(NBO) is a treatment that provides same effects with less pressure and at less invasive conditions which can be achieved at intensive care units with different administration methods.

The plan of this study is to investigate the comparision of experimental sepsis models treated with HBO and NBO for the therapeutic effects on oxydative stress parameters and pro-inflammatory cytokins and superiority to each other. For this purpose rats were randomized into four groups. (1) Control group (n=10): Non-treated after sepsis induction group, (2) HBO group (n=10): HBO treated after sepsis induction group, 3) NBO grubu (n=10): NBO treated after sepsis induction group, (4) Sham group (n=10): intraperitoneal NaCl administrated group.

In all groups, TNF- $\alpha$  concentrations at serum and as oxydative stress parameters; glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) ve malondialdehyde (MDA) levels at lung tissue were studied. The SPSSv15 for Windows was used for the statistical analysis.

In this study its revealed that treatment with HBO and NBO significantly cure the increased oxydative stress and tissue membran injury at E.coli induced experimental sepsis, and there is no superiority between NBO and HBO treatments, the TNF- $\alpha$  (as proinflammatory cytokin) levels were significantly reduced, and its demonstrated that HBO treatment made more differance compared to NBO treatment.

However to understand the mechanism of treatment efficiency and to investigate the usability, there should be more studies required.

**Key words:** Sepsis, oxidative stress, proinflamatory cytokines,  
Hyperbaric oxygen, Normobaric oxygen

**Affiliated foundations** : None

**Author** : Ahmet OZTURK, M.D.

**Counsellor** : H.Levent YAMANEL, M.D. Associate  
Professor in Internal Medicine

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ONAY SAYFASI .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
İNGİLİZCE ÖZET .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
ŞEKİLLER .....	xiii
TABLolar .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1 TANIMLAR .....	5
2.2. EPİDEMİYOLOJİ .....	6
2.3. PATOFİZYOLOJİ .....	6
2.3.1. Konağa Ait Faktörler ve İnfeksiyonun Giriş Kapısı .....	8
2.3.2. Mikrobiyal Faktörler.....	9
2.3.2.1 Mikrobiyal Yapının Konakçı Tarafından Fark Edilmesi ...	11
2.3.3. Medyatör Salınımı .....	12
2.3.4. Sinyallerin Güçlendirilmesi .....	13
2.3.5. Nötrofil Migrasyonu .....	13
2.3.6. Vazoaktif Mediatorler .....	14
2.3.7. Koagülasyon Kaskadı .....	15
2.3.8. Kompleman Sistemi .....	15
2.3.9. Organ Yetmezliğinin Mekanizmaları .....	16
2.3.9.1.Sepsisin Kardiovasküler Sistem Üzerine Etkileri.....	16
2.3.9.2.Sepsisin Pulmoner Sistem Üzerine Etkileri .....	17
2.3.9.3.Sepsisin Diğer Organlar Üzerine Etkileri.....	17
2.4. SİTOKİNLER.....	17
2.5. DENEYSEL SEPSİS MODELLERİ .....	19
2.5.1. İnfeksiyon Kaynağı Olmayan Modeller.....	19

2.5.1.1.Endotoksemi Modelleri.....	19
2.5.1.2.Bakteriyemi Modelleri .....	20
2.5.2. İnfeksiyon Odaklı Modeller .....	21
2.5.2.1.Kontrollü İnokülasyon .....	21
2.5.2.2 Fekal Sepsis .....	22
2.5.2.3 Perforasyon Modelleri .....	22
2.6. HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ.....	23
2.6.1. Tarihçe.....	23
2.6.2 Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Temel İlkeleri.....	23
2.6.3 Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Fizyolojik Etkileri .....	24
2.6.4 Oksijen Çözünürlüğünü Artırıcı Etkisi.....	25
2.6.5 Hiperbarik Oksijen Uygulamasında Biyokimyasal ve Hücreyel Etkiler.....	26
2.6.6 HBO tedavisi ve Sepsis .....	27
2.7. SERBEST RADİKALLER.....	28
2.7.1 Tanım .....	28
2.7.2 Fizyolojik Serbest Radikal Reaksiyonları .....	29
2.7.3 Patolojik Serbest Radikal Reaksiyonları .....	29
2.7.4 Reaktif Oksijen Türevlerinin Oluşumu .....	30
2.7.5 Lipid Peroksidasyonu.....	31
2.8. ANTİOKSİDAN SAVUNMA VE BAŞLICA ANTİOKSİDANLAR.....	31
2.8.1 İntraselüler Enzimatik Antioksidan Savunma .....	32
2.8.2 Sepsis ve SIRS'ta Oksidatif Stres.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	35
3.1. Çalışma ve Gruplar .....	35
3.2 Sepsis Modeli .....	36
3.3 HBO Uygulaması .....	38
3.4 NBO Uygulaması .....	39
3.5 Laboratuvar Teknikleri .....	39
3.5.1Sakrifikasyon ve Örnekleme .....	39
3.5.2.Serum ve Doku Örneklerinin Biyokimyasal Analizi.....	40
3.5.3 TNF- $\alpha$ Düzeyleri .....	41

3.5.4 Doku Homojenizasyonu .....	41
3.5.5 Protein Ölçümü .....	42
3.5.6 Malondialdehit (MDA) Düzeyi .....	43
3.5.7 Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi.....	44
3.5.8 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi .....	46
4. BULGULAR .....	48
4.1 Sepsis indüksiyonu .....	48
4.2. Biyokimyasal ve istatistiksel değerlendirme.....	49
5. TARTIŞMA .....	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	60
7. KAYNAKLAR .....	62

## SİMGELER VE KISALTMALAR

A.B.D	:	Amerika Birleşik Devletleri
aPC	:	Aktive protein C
AMP	:	Adenozin monofosfat
ATP	:	Adenozin trifosfat
ATA	:	Atmosfer absolute
ARDS	:	Akut Respiratuar Distress Sendromu
cGMP	:	Siklik Guanil Monofosfat
CAT	:	Katalaz
DİK	:	Dissemine İntravasküler Koagülasyon
GATA	:	Gülhane Askeri Tıp Akademisi
CEF	:	Cefepime
CLP	:	Cecal Ligation And Puncture
CO	:	Karbon Monoksit
CYP-450	:	Sitokrom P-450
GSH-Px	:	Glutatyon peroksidaz
HBO	:	Hiperbarik oksijen
IL-1	:	İnterlökin 1
İNOS	:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LBP	:	LPS-Bağlayıcı Protein
LPS	:	Lipopolisakkarit
MDA	:	Malondialdehit
MODS	:	Multiple organ disfonksiyon sendromu
MPO	:	Myeloperoksidaz
NAD	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NBO	:	Normobarik Oksijen
NF-κB	:	Nükleer Faktör Kappa- Beta
NO	:	Nitrik Oksit
PAF	:	Platelet Agrege Edici Faktör
PAI-1	:	Plazminojen-Aktivatör İnhibitörü Tip-1
PAS	:	Periyodik Asit-Schiff
PMNL	:	Polimorf Nüveli Lökositler

PCT	:	Prokalsitonin
OH	:	Hidroksil
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
SIRS	:	Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
SOR	:	Serbest Oksijen Radikalleri
TCA	:	Triklorasetik asit
TBA	:	Tiyobarbitürik asit
TCR	:	T-lenfosit reseptörü (TCR)
TLRs	:	Toll Benzeri Reseptörler
YBÜ	:	Yoğun Bakım Ünitesi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No:

<b>Şekil 2.1</b> Sepsis Patogenezi.....	7
<b>Şekil 2.2</b> Oluşan Reaktif Ürünlere Enzimatik Savunma.....	33
<b>Şekil 3.1</b> Ratlara intraperitoneal E.Coli uygulaması.....	37
<b>Şekil 3.2</b> Hiperbarik Oksijen Cihazı .....	37
<b>Şekil 4.1</b> Tüm Gruplardaki MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	51
<b>Şekil 4.2</b> Tüm Gruplardaki SOD Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	51
<b>Şekil 4.3</b> Tüm Gruplardaki GSH-Px Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	52
<b>Şekil 4.4</b> Tüm Gruplardaki TNF- $\alpha$ Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	52

## TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa No:</u>
<b>Tablo 2.1.</b> Sepsis Tanımlar .....	5
<b>Tablo 2.2.</b> Konak Savunma Mekanizmaları .....	9
<b>Tablo 2.3.</b> Septik şok patogeneğinde rol oynayan bakteriyel yapılar. ....	11
<b>Tablo2.4.</b> HBO Uygulaması ile Ulaşılan Doku Parsiyel Oksijen Basıncı Düzeyleri (mmHg) .....	26
<b>Tablo3.1.</b> Süperoksit Dismutaz Ölçümünde Kullanılan Reaktif ve Numuneler.....	46
<b>Tablo 3.2.</b> Glutatyon Peroksidaz Ölçümünde Kullanılan Reaktif ve Numuneler.....	47
<b>Tablo 4.1.</b> Rat Serumunda TNF- $\alpha$ ve Akciğer Dokusunda Oksidatif Stres Parametreleri Düzeyleri .....	50

# 1. GİRİŞ

Sepsis; infeksiyonla birlikte yaygın inflamasyonla karakterize, mortalitesi %30-90 arasında değişen bir sendromdur.

Sepsisteki fizyopatolojik olaylar oldukça karmaşıktır. Bakteri hücre duvarında yer alan birçok antijenik yapıların tetiklemesiyle, dolaşımdaki mononükleer fagositler, endotel hücreleri ve diğer hücrelerden birçok güçlü mediyatörler, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler salınmaya başlar. Bunların en önemlileri; tümör nekroz faktörü alfa ( $TNF-\alpha$ ), interlökin (IL) 1, 2, 6, 8 ve trombosit aktive eden faktör (PAF)'dür. Sepsis sürecinde gelişen sistemik inflamatuvar yanıt, endotelyal hasar, mikrovasküler disfonksiyon, doku oksijenizasyon bozukluğu gibi fizyopatolojik komponentler sonucunda çoklu organ hasarı meydana gelmektedir. Sepsiste, makrofajların bakteriyel antijenlerce uyarılması sonucu proinflamatuvar sitokinlerden öncelikli olarak IL-1 ve  $TNF-\alpha$  salınımı artar.

Araşidonik asit metabolitleri de sepsis kaskatında önemli rol oynarlar. Siklooksijenaz yolla prostoglandinler ve tromboksan A2, lipooksijenaz yolla ise lökotrienler meydana gelir.  $TNF-\alpha$ , IL-1 gibi mediyatörler araşidonik asit metabolitlerinin açığa çıkmasını ve sentezini aktive eder. Tromboksan A2 kuvvetli vazokonstrüktör ve prostoglandinler ise vazodilatör etkiye sahiptir. Araşidonik asit metabolitleri, ateş, taşikardi, takipne, ventilasyon-perfüzyon bozukluğu ve laktik asidoz oluşumunda rol alırlar. Bu iki sitokinin salınımıyla; IL-6 ve IL-8 salınımı, akut-faz protein cevabı, ateş, hipotansiyon, lökositoz, koagülasyon aktivasyonu ve fibrinolitik aktivasyon gibi biyolojik etkiler meydana gelir. Tüm bu olaylar eşliğinde vücutta yaygın bir oksidatif stres ve beraberinde mikrosirkülasyon bozukluğu meydana gelir. Yapılan çalışmalar sonucu sepsisli olgularda, serbest radikal toksisitesi sonucu oluşan antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyelerinin azaldığı, oksidatif stres parametresi olarak da

malondialdehit (MDA) seviyelerinin yükseldiği bildirilmiştir. Sepsisli olgularda; yaygın mikrosirkülasyon bozukluğunun 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.

Hiperbarik Oksijen (HBO) tedavisi, son yıllarda sepsis tedavisinde, adjuvan tedavi seçeneği olarak ilgi uyandıran, izole bir basınç odasında hastaya deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan (1 ATA [atmosphere absolute] = 760 mmHg) daha fazla bir basınçta %100 oksijen solutulması ile uygulanan bir tedavi şeklidir. Maske, başlık veya endotrakeal tüp ile uygulanan HBO ile arteryel oksijen basıncı 2000 mmHg'ya, doku oksijen basıncı ise 400 mmHg'ya kadar çıkarılabilir. Bu basınçla yapılan oksijen uygulaması biyokimyasal, hücresel ve fizyolojik birçok yarar sağladığı gösterilmiştir. HBO, stres altındaki hücrelere oksijen sunan bir tekniktir. Hipoksik dolaşıma ve dokulara şu mekanizmalarla etki eder:

- Doku hipoksisi sonrası gelişen iskemi ve ödemi elimine eder, vazokonstrüktör etki ile ödemi azaltır.
- Lökositlere oksidatif fonksiyonlar için ihtiyaç duyduğu oksijeni sağlayarak infeksiyon karşıtı aktivite gösterir ve mikroorganizma çoğalmasını önleyici bir ortam oluşturur.
- Aktive fibroblastlardan vasküler endotel büyüme faktörü ve kollajen üretimini arttırarak anjiogenezisi aktive eder.
- Antioksidan ürünlerin oluşumunu arttırır
- Vasküler endotel lökosit adhezyonunu engelleyerek mikrosirkülasyonu artırır
- HBO, dokuların bozulmuş oksijen transport kapasitesini düzeltmektedir.

HBO uygulaması, dekompresyon hastalığı, hava ve gaz embolisi, karbonmonoksit zehirlenmesi ve duman inhalasyonuna maruz kalınan durumlarda ana tedavi olarak uygulanmakta ve bu durumlarda kritik roller

üstlenmektedir. Ayrıca, iyileşmeyen ülserler, problemlı yaralar, deri greft ve flebleri, ezilmeler, kompartman sendromu ve akut travmatik iskemiler, gazlı gangren/klostridial infeksiyonlar, nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonları, yanıklar gibi akut durumlar ile beraber, iyileşmeyen yaralar, radyasyon doku hasarı ve inatçı kronik osteomyelit gibi kronik endikasyonlarda da kullanılagelmiş bir tedavi yöntemi olmuştur.

Antibiyotik tedavisi sepsis tedavisinin temel taşıdır. Günümüzde kullanılan geniş spektrumlu ve etkili antibiyotikler infeksiyona neden olan mikroorganizmalara karşı iyi etkinlik gösterirler. Buna karşın antibiyotikler, immün sistemin aşırı aktivasyonuna yol açan immünmediatörlerin salınmasına engel olamazlar. Bundan ötürü, sepsis tedavisinde antibiyotik tedavisinin yanında yeni tedavi yaklaşımları söz konusudur. Yapılan çalışmalarda intraperitoneal E.coli suspansiyonu verilerek sepsis oluşturulan ratlarda, antibiyoterapi ile HBO tedavisinin kombine verilmesi, tek başına verilmesine göre daha başarılı olduğu görülmüştür.

Normobarik Oksijen Tedavisi(NBO), nazal kanül, maske, oksijen çadırı, invaziv ve non invaziv, çok çeşitli metodlarla uygulanan, kullanımı bir çok hastalığın klinik pratiğine yansımış, sepsisli hastalarında rutininde uygulanan adjuvan bir tedavi metodudur. Deneysel peritonit yapılarak sepsis tablosu oluşturulan ratlarda Normobarik Oksijen Tedavisi incelenmiş, özellikle antibiyoterapi eklenmiş ratlarda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

HBO tedavisinin uygulama sınırlılıkları, elde etme sorunları ve hasta uyumu düşünüldüğünde; pratikte kullanımı daha kolay olan NBO tedavisi ile etkinlikleri konusunda karşılaştırmaları gerektiği düşünülürse, literatür taraması sonrası bu tür araştırmanın şu ana dek yapılmadığı görülmektedir.

Bu çalışma, deneysel sepsis oluşturulan ratlarda uygulanan HBO ve NBO tedavilerinin, oksidatif stres parametreleri ve sitokinler üzerindeki etkilerini araştırmak, karşılaştırmak ve ileride yapılacak olan klinik çalışmalara ışık tutmak amacıyla yapılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Sepsis, bir çok sistemi tutan, özellikle hemodinamik değişikliklere yol açan, şok, organ fonksiyon bozukluğu ve organ yetmezliğine kadar giden ölümcül bir enfeksiyon hastalığıdır. Enfeksiyon sonrası gelişen sistemik inflamatuvar yanıt olarak da tanımlanabilir (1). Mikroorganizmaların hasta kanında saptanması nedeniyle bir süre “Kan zehirlenmesi” olarak da tanımlanmıştır(2).

Sepsis tanısı için; Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu [Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)] kriterlerinden en az ikisi mevcut bulunmalıdır ve buna şüpheli ya da varlığı kanıtlanmış enfeksiyon eşlik etmelidir(3,4). Şiddeti ve mortalite oranları, tablonun organ fonksiyon bozukluğu ile (ciddi sepsis) ve kardiyovasküler kollaps ile (septik şok) komplike olması sonrası artmaktadır (3,5).

Sepsis patofizyolojisi ve sepsis temelindeki olaylar zinciri hakkında artan bilgi ve tecrübelerle rağmen, sepsisli olgularda mortalite ve morbidite hala yüksek oranlardadır. Tıbbi teknolojiye gelişmeler, invaziv girişimlerin artması, enfeksiyon riskini, özellikle de öldürücü bir enfeksiyon olan sepsis görülme sıklığını artırmıştır.

Büyük umutlarla dizayn edilen çalışmalardaki sonuçlar şunu göstermiştir ki; septik şoklu hastaların tedavisi ve mortalitesinin geriletilmesindeki başarı oranlarımız, öncül çalışmaların umut verici sonuçlarına rağmen halen oldukça düşük seviyelerdedir (7,8).

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 alınmasıyla mümkün olabilir (4,6).

## 2.1. TANIMLAR

Sepsisin kolaylıkla tanınmlanabilmesi ve karışıklıkların engellenmesine yönelik tanımlamada standardizasyonlar getirilmiştir(9).

1991 yılında,'American College of Chest Physicians've'The Society of Critical Care Medicine'tarafından terminolojideki anlam kargaşasını önlemek amacıyla uzlaşma konferansı düzenlenmiştir; 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 önemlidir. Güncellenmiş tanımlar Tablo1 de şu şekildedir(6,10,11,12,151)

**Tablo 2.1.Sepsis Tanımları**

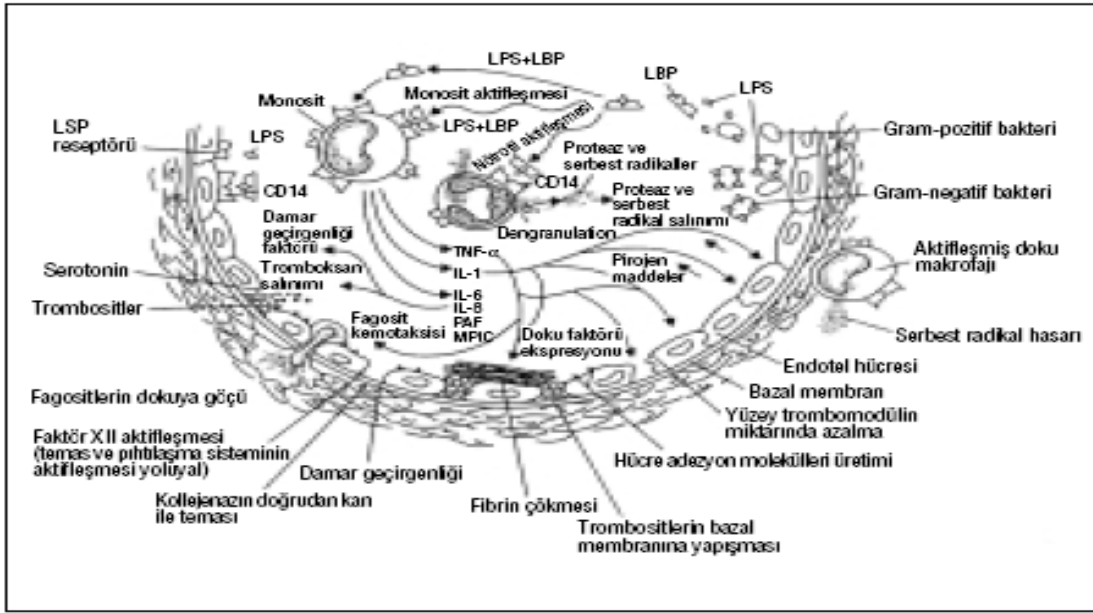
1. Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu (SIRS): (a) Ateş>38 °C ya da <36°C, (b)Nabız>90/dk, (C)Solunum sayısı>20/dk, PaCO<sub>2</sub> < 32 mm Hg, yada mekanik ventilasyon ihtiyacı (d)WBC>12000/mm<sup>3</sup> yada <4000/mm<sup>3</sup> yada>%10 immatür (bant) formları (Bunlardan en az ikisi)
2. Sepsis: SIRS + Ortaya konmuş ya da şüpheli infeksiyon (Pozitif kan kültürü sonucu gerekli değil) (13)
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 (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 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 (4,6,10,12)

## 2.2.EPİDEMİYOLOJİ

Hastanede tedavi gören her 1000 olgunun 10'unda sepsis tablosunun görülmesi, bu olguların %30'unda MODS (Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu) gelişmesi; sepsisli olguların %20'si, septik şoklu olguların ise %60-80'inde mortalite gözlenmesi nedeniyle oldukça önem arz etmekte olup, tüm dünyadaki yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) en önde gelen mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (4,14). Özellikle son çeyrek asırda sepsis ve septik şoklu hastaların insidansı giderek artış göstermiştir. Martin ve ark. ABD'deki sepsis insidansını 100000'de 240 olarak (7), Angus ve ark. ciddi sepsis oranını 100000'de 300 olarak belirtmişlerdir (15). Alınan tüm tedbirlere rağmen çalışmalar sonucunda sepsis insidansının yıllık %1.5 arttığı belirtilmektedir. Çalışmalarda belirtilen mortalite oranları birbirine benzer olmakla birlikte; bu oran sepsis için %17.9 (7), ağır sepsis içinse %26.8 (14) dolaylarındadır. 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 (16).

## 2.3. PATOFİZYOLOJİ

Sepsis patogenezinde yaygın olarak kabul gören görüş, olayın kontrol edilemeyen inflamatuvar cevaba bağlı geliştiğidir(17). Mikroorganizmalar ve onların ürünleri genelde karmaşık seyreden bir immün yanıt sürecini başlatırlar ve sonucta SIRS gelişir (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.**Sepsis Patogenezi

Gram(-) negatif bakterilerin hücre duvarındaki endotoksin, formil peptidler, ekzotoksinler, proteazlar sepsise yol açarken, Gram-pozitif bakterilerin ise ekzotoksinler, enterotoksinler, hemolizinler, peptidoglikanlar ve lipoteikoik asit yapıları immün sistemi uyarabilir. Mantarların hücre duvarındaki yapısal elemanları (mannan, galaktomannan gibi) ile SIRS surecini başlatan tetiği çektikleri tahmin edilmektedir. Tetik çekildikten sonra gelişen olaylar karmaşık bir sürecin başlamasına neden olur. Bu süreç tamamen aydınlatılmamış olup, anlaşılammış olan aracı etmenler ve sitokinler bulunmaktadır. İlk aşamada aşırı bir immün yanıt ortaya çıkar. Bu yanıtın oluşumunda mikroorganizmalara ait öğelerin mononükleer hücreleri (makrofajlar) uyararak pro-inflamatuar sitokinlerin salınımını uyarmaları önem arz etmektedir. Hatta bazı antibiyotiklerle (seftazidim gibi) yapılan tedavinin başlangıcında bu ürünlerin, aşırı yıkım sonucu çok artacağı ve klinik durumu biraz bozabileceği söylenmiştir.  $TNF-\alpha$ ,  $IL-1$ ,  $IL-12$ ,  $IL-6$  ve interferon-gamma bu aşamada en etkili mediyatörlerdir. Aynı zamanda mikroorganizma ürünleri nötrofilleri uyararak proteaz ve serbest radikallerin salınmasına neden olurlar. Mikroorganizma ürünleri için aynı zamanda endotel hücrelerinde de reseptörler bulunmaktadır. Organizma hücreleri ile mikroorganizma ürünlerinin etkileşiminde lipoprotein bağlayıcı proteinlerle (LBP) bağlanan

lipopolisakkarid (LPS) yapısındaki ürünler için çok sayıda reseptör rol oynamaktadır. Bu ilk uyarı sonucunda kompleman sistemi, prostoglandin/lökotrien metabolizması, koagulasyon kaskadı ve diğer bazı sekonder interlokinler aktive olurlar. TNF ve İL-1, endotoksin gibi endotel hücrelerini aktive ederek fibrin depolanmasına ve yaygın damar içi pıhtılaşmaya (DİK) yol acar. Organizma bu sırada anti-inflamatuar yanıt oluşturarak dengeyi kurmaya çalışır. Bu amaçla IL-4, IL-13 ve IL-10 salınır. Bu durum immunsupresif bir süreç oluşmasına neden olur. Sonuç olarak dengelerde inflamasyon antiinflamatuar yanıtta, koagulasyon fibrinolizise hakim konuma gelir ve yaygın damar içi pıhtılaşma (DİK) ile erişkinin sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) belirginleşir. Tablonun devamında mikrovasküler tromboz, hipoperfüzyon, iskemi ve doku hasarı gelişir. Bu durumun klinik yansımaları; ağır sepsis, septik şok, multiorgan yetmezliği ve ölümdür(18,19,20)

Bakterinin organizmaya yerleşmesi, konak defansı ile etkileşimi sonucu hastalık ortaya çıkmaktadır. Hastalığın ortaya çıkışını, konağın immün sistemi ve bakteriyel virulans faktörleri belirlemektedirler.

### **2.3.1.Konağa ait faktörler ve infeksiyonun giriş kapısı**

Sepsise neden olan bakteriler dolaşıma genellikle damar dışı bir infeksiyon odağından yayılım sonucu girer. Bazen de infeksiyon damar içi kateter, septik tromboflebit, bakteriyel endarterit, endokardit, mikotik anevrizmalar ve damar greftlerinden kaynaklanabilir (21, 22). En sık primer infeksiyon odağını; üriner sistem, genital sistem, solunum sistemi, deri ve yumuşak doku, karın içi ve damar içi kateterler oluşturur. (23, 24).

**Tablo 2.2.** Konak Savunma Mekanizmaları

Savunma mekanizması	Bozan durumlar
Deri ve mukoza	Damariçi kateter
	Yanıklar
	Travma
Fagositik hücreler	Granülositopeni
	Diabetes mellitus
Kompleman sistemi	Konjenital veya akkiz yetmezlik
İmmünglobulinler	B lenfosit maligniteleri
	Konjenital veya akkiz yetmezlik
T lenfositler	Lenfomalar
	AIDS

İnfeksiyona karşı konağı koruyan savunma mekanizmalarının bozulması, lokal veya sistemik infeksiyonlara zemin hazırlar. Konak savunma mekanizmalarını üç kategoride toplayabiliriz; anatomik bariyer, hücresel defans (fagositik hücreler, lenfositler), spesifik ve nonspesifik hümoral defans. Tablo 2’de konak savunma mekanizmaları ve bunları bozan durumlar özetlenmiştir.

### **2.3.2. Mikrobiyal faktörler**

Son zamanlarda, septik şok ve ağır sepsise neden olan infeksiyöz 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. (7,10,14,25).

Sepsis ve onun sonucu olarak gelişen klinik tabloların oluşmasında, bakteriyel invazyon ile beraber bakteriyel hücresel yapıların ve toksinlerin de önemli rolü vardır. Sepsiste en sık etken olarak izole edilen bakterilerin biyolojik sistemi aktive eden bilinen hücresel yapıları ve toksinleri Tablo 3'de gösterilmektedir. Bu hücresel yapılar ve toksinler organizmada değişik biyolojik sistemleri aktive eder. Sepsisteki fizyopatolojik değişikliklerden sorumlu endojen mediyatörlerin açığa çıkmasını sağlar (21,22 ,26). Kapsül polisakkaridleri, peptidoglikan yapı, lipoteikoik asit, protein A ve endotoksin, in vitro kompleman komponentlerini ve koagülasyon sistemlerini aktive eder (26,27,28 ,29)

Etkisi en iyi bilinen bakteriyel yapı, gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan lipopolisakkarid yapısındaki endotoksinlerdir. 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 sağlamakta olup, bütün gram negatif bakterilerde ortaktır, endotoksemiden sorumludur (22,27). LPS yapısındaki değişiklikler, onun konakçı hücre membranını aktive edebilme yeteneği ile ilişkili gibi görünmektedir.

Gram-pozitif bakterilerde endotoksin yoktur, fakat önemli bir özellikleri potent endotoksinlerin 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) V $\beta$  alanının kısıtlı bir bölümüyle bağlanabilirler (30).

**Tablo 2.3.** Septik şok patogenezinde rol oynayan bakteriyel yapılar

Bakteriyel yapı	Kaynak	Örnek
Endotoksin (LPS, lipid A)	Bütün gram negatif bakteri	E.coli sepsisi Meningokoksemi
Peptidoglikan	Bütün bakteriler	
Lipoteikoik asit	Gram pozitif bakteri	
	S. aureus	$\alpha$ - hemolizin
“Pore-forming”	S. pyogenes	Streptolizin – O
ekzotoksinler	E.coli	E. coli hemolizini
	Aeromonas spp.	Aerolizin
	S. aureus	Toksik şok sendromu toksini-1
Süperantijenler	S. pyogenes	Enterotoksin A-F Pirojenik ekzotoksin A+C, SPE
	S. pyogenes	1L-1 $\beta$ konvertaz
Enzimler	Clostridium	Fosfalipaz C
	Perfringens	

SPE. Streptokokal pirojenik ekzotoksin

### 2.3.2.1. 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.

### 2.3.3. Medyatör salınımı

Makrofajlar, LPS gibi bakteriyel toksinler ve proinflamatuvar sitokinler ve diğer medyatörlerin salınımı ile aktive olur. Portal vende LPS, LPB'yi bağlar(31). LPS-LBP kompleksi karaciğer sinuzoidlerine ulaşarak makrofaj yüzeyindeki LPS reseptörü olan CD14'e bağlanır(32). Hücre içinde CD14 yokluğunda, LPS'ye karşı hücre sel yanıt transmembranda bulunan "Tolllike receptor"e (TLR) bağlıdır. TLR, sitokin ve diğer medyatörlerin sentez ve salınımına öncülük eden sinyal yollarını indükler(33). TLR sitozol enzimlerini aktive eder, özellikle 1kappaB kinaz enzimi ki bu enzim, "nuclear factor-kappaB"yi(NF-κB) aktive eder, p50 ve p65 (NF-κB'nin 2 alt üniti) makrofajların nükleusuna geçer. Böylece sitokin sentezi için kopyalama başlamış olur.

NF-κB, İmmün yanıtın düzenlenmesinde bir çok duruma katılan bir B hücre immünoglobulinidir, doğal ve edinilmiş immüniteye katılır. NF-κB inflamasyonda, üstünlüğü olan bir maddedir ve hem proinflamatuvar sitokinlerin salgılanması olaylarına hem de endotel hücrelerinin masif aktivasyonuna katkıda bulunur. Uyarı sinyallerini alınca nükleusa göç eder ve promoter alandaki DNA dizilerine bağlanır, sitokin, kemokin, stres yanıtı protein ve antimikrobiyal ve antiapoptotik proteinlerin genlerinin aktivasyonuna katılır. Bu ailenin memelilerde en az 5 üyesi vardır (P50, P65, Re1B, CeRel, p52). Çeşitli ilaçlar sinyal yolları ile etkileşir.

CD14'ün keşfedilmesi, LPS'ye karşı konakçı cevabını anlamamızda önemli bir basamak olmasına rağmen, LPS-LBP kompleksinin nasıl birbirine bağlanıp da hücre sel 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 NF- $\kappa$ B'nin nükleer translokasyonuna neden olur ve en sonunda nükleer gen taşıyıcılarının aktivasyonunu sağlar. TLR sitozol enzimlerini aktive eder, özellikle 1 kappab kinaz enzimi ki bu enzim "nuclear factor NF- $\kappa$ B"yi aktive eder, p50 ve p65 makrofajların nükleusuna geçer. Böylece sitokin sentezi için kopyalama başlamış olur. (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 (34,35,36).

#### **2.3.4. Sinyallerin güçlendirilmesi**

Başlangıçtaki konakçı-mikrobiyal ajan etkileşiminden sonra doğal immün cevap aktivasyonu meydana gelir, bu cevap hem hücresel hem de humoral cevabı içerir (37). Mononükleer hücreler, klasik pro-inflamatuar sitokinler olan IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın salınımına neden olurlar. LPS'ye maruziyetten 30-90 dakika sonra bu sitokinler salınmaya başlarlar; sırasıyla sitokinleri, lipid mediatörleri ve reaktif oksijen türlerini içeren inflammatuar kaskadın ikinci seviyesini aktive ederler, dokulara inflammatuar hücre hareketini başlatan hücre adezyon moleküllerinin miktarını artırır (37,38).

#### **2.3.5. Nötrofil migrasyonu**

Sepsiste nötrofiller bakteriyel büyümenin bölgesel kontrolü ve bakteriyel yayılımın önlenmesi için hayati öneme sahiptirler. Endotelial aktivasyon ve organ yetmezliği gelişimi için önemli bir rol oynarlar. İnflamatuar medyatör ve

kapiler yatağı geçen bakteriyel toksinler endotel yüzeyindeki polimorfo nüveli lökosit (PMN)'leri aktive edebilir(169). Her iki hücre arasındaki etkileşim sonucunda kapiler kaçak gelişimi ile sonuçlanacak medyatör salınımına neden olur. Serbest oksijen radikalleri ve elastaz, endotel bütünlüğünü bozarken lökotrienler endotelin konsantrasyonunu indükler(39). Endotel hücre hasarına bağlı gelişen kapiler kaçak, lenfositler tarafından da indüklenebilir(40). Cunha ve arkadaşları ratlarla yaptıkları çalışmaları sonucunda şunu savunmaktadırlar ki; infeksiyon olan alana nötrofil migrasyonunun bozulması bakterilerin kanda ve peritoneal eksüdata 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 (41,42).

### **2.3.6.Vazoaktif Mediatörler**

Sepsise bağlı inflamasyon durumlarında endotelden nitrik oksit, endotelin, adozin ve mast hücrelerinden histamin gibi vazoaktif maddelerin salınması artmıştır. NO damar düz kası üzerine gevşetici etki gösterirken, endotelin-1 ise güçlü vazokonstriktör etki göstermektedir. Bu vazoaktif mediyatörlerin etkisi ile sistemik damar direnci azalır ki; bu durum dokulara giden kan akımının azalmasına neden olur.

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile sentezlenmektedir. Bilinen üç NOS geninde sekiz DNA sekansı olduğu saptanmıştır: nöral NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS), indüklenebilir NOS (iNOS). nNOS ve eNOS'a birlikte yapısal NOS (cNOS) denirken, iNOS uyaranlarla indüklenebilme özelliğine sahiptir. En fazla kabul gören görüşe göre NO molekülü pikomolar düzeylerde cNOS ile fizyolojik ve koruyucu etki gösterirken, mikromolar düzeylerde iNOS üzerinden proinflamatuvar ve hasar oluşturucu etkiler göstermektedir(43,44). Yapılan çalışmalar sepsisli hastalarda hem iNOS

aktivitesinin hem de NO üretiminin klinik ve hastalığın endoskopik indeksleri ile ilişkili olarak arttığını göstermektedir.

### **2.3.7.Koagülasyon Kaskadı**

Sepsiste prokoagulan etki göstermeleri nedeniyle sitokinler önemli moleküllerdir. Proinflamatuvar sitokinler ve bunlardan özellikle IL-1 ve IL-6, koagülasyonun güçlü indükleyicileridirler. Sepsiste koagülasyon bozukluklarına sık rastlanır, sepsisli hastaların yaklaşık olarak %30-50'sinde ağır bir tablo olan dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) meydana gelmektedir. Koagülasyon yolakları 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. (32,45,46 ,47).

### **2.3.8.Kompleman sistemi**

Bakterinin plazma ile teması, patojen yüzeyindeki kompleman sistemlerinin hemen aktive olmasına neden olabilir(48). Kompleman kaskadının son basamağı membran hücum komplekslerinin (C5-9) şekillenmesidir. C5a, kemoatraktandır, C3b ise C3'ün opsonik parçası olup polimorfonükleer(PMN) ve makrofajlar tarafından bakterilerin fagositozunu kolaylaştırır(49).

### **2.3.9.Organ yetmezliğinin mekanizmaları**

Sepsisli olgularda mortaliteye neden olan en önemli neden çoklu organ hasarıdır. Organ hasarının mekanizmaları içinde şunlar bulunmaktadır:

- Mikrovasküler tıkanmaya neden olan yüklü miktardaki fibrin birikimi
- Yeterli oksijenizasyonun sağlanmasını engelleyen doku eksüdatlarının gelişimi
- PAF, histamin ve prostanooidlerin salınımıyla mikrovasküler homeostazisin bozulması

Hücrel infiltratlar ve özellikle de nötrofiller lizozomal enzimlerin ve süperoksit kökenli serbest radikallerin salınımıyla direk olarak doku hasarına yol açarlar. TNF- $\alpha$  ve diğer sitokinler nitrik oksit sentazın ekspresyonu artırır ve artan nitrik oksit düzeyleri ileri derecede vasküler instabiliteye ve myokardiyal fonksiyon bozukluğuna neden olurlar (50,51,52). Sepsiste meydana gelen hipoksiyle, oksijen ihtiyacı ve oksijen sunumu arasındaki fark çok fazla derecede artar. Oksijen sunumunu pozitif yönde etkileyecek her türlü durum sürviye olumlu yönde katkıda bulunur (53). Oksijen sunumunu bozan en önemli etkense; fazla miktardaki nitrik oksit üretimidir(54,55).

#### **2.3.9.1.Sepsisin kardiovasküler sistem üzerine etkileri**

Hayvan çalışmalarıında splanknik venöz göllenmede artışa bağlı venöz dönüşte azalma olduğu gösterilmiştir. Artmış kapiller permeabilite sonucunda sıvının damar dışına çıktığı, katekolaminlerin de etkisiyle dolaşan sıvı hacminin azaldığı, doku perfüzyonunun bozulduğu, anaerobiosis ve laktat birikimine neden olduğu gösterilmiştir. Laktik asidozun kardiyak performansı bozulduğu, katekolaminlere myokardiyal cevabın azalmasına

neden olduğu, kemik ve pankreatik dokudan salınan myokardial depresan faktöründe kardiak outputta azalmadan sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. (56).

### **2.3.9.2.Sepsisin pulmoner sistem üzerine etkileri**

Endotoksinlere akciğerler bronkokonstrüksiyon ile yanıt verir. Septik şokun erken döneminde akciğer grafisi normal olmasına rağmen, histolojik çalışmalarda interstisyumda nötrofil ve sıvı birikimi olduğu görülür. Daha sonra alveolar dolum paterni ve diffüz radyolojik anormallikler ortaya çıkar. Dispne, takipne, respiratuar distress ve refrakter hipoksemi eşlik eder. Olguların büyük bir bölümünde ARDS gelişimi görülür (57). ARDS ilk olarak Ashbough ve arkadaşları tarafından tarif edilmiştir. Hipoksemi, diffüz alveolar infiltratlar, düşük akciğer kompliansı ile karakterize, çocuklardaki hyalen membran hastalığına benzeyen bir tablodur (58).

### **2.3.9.3.Sepsisin diğer organlar üzerine etkileri:**

Otopsi çalışmalarında akciğerlerden sonra en sık gastrointestinal sistemde lezyon varlığı gösterilmiştir. Karaciğer biopsilerinde intrahepatik kolestaz ve minimal hepatosellüler nekroz gösterilmiştir. Böbrekteki hasara bağlı azotemi, akut tubuler nekroz, böbrek yetmezliği gelişebilir (57)

## **2.4.SİTOKİNLER**

Sepsisle ilişkili inflamatuvar mediatörlerin salınımının ana amacı; kan damarlarından infeksiyon alanına doğru lökosit infiltrasyonunu artırmaktır. Hem sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) hem de sepsiste immünoinflamatuvar süreçte proinflamatuvar sitokinlerin, adezyon

moleküllerinin, vazoaktif mediatörlerin ve serbest oksijen radikallerinin (SOR) önemli rol oynadığı bir çok çalışmada gösterilmiştir.

Bakteriyel ligandlarla TLR'lerin aktive olmasıyla sinyalizasyon kaskadı başlatılmış olur, bu kaskadın başlamasıyla da NF-κB aktive olur. NF-κB'nin aktive olmasıyla birlikte TNF-α, IL-1, IL-6 ve IL-12 ile IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinler salınır (59, 60). Yapılan araştırmalar, TNF-α, IL-1, IL-12, IL-6, IL-8 ve IFNγ'yı genellikle proinflamatuvar sitokinler olarak tanımlarken, IL-4, IL-13 ve IL-10'unu da antiinflamatuvar etkili sitokinler olarak tanımlamaktadır.

Bu sitokinler arasında en önemlileri TNF-α, IL-1, IL-6'dır; sistemik inflamatuvar yanıtın ve doku hasarına neden olurlar, benzer biyolojik etkilere sahiptirler ve akut faz yanıtın başlangıcının koordine edilmesinden sorumludurlar (59).

TNF-α; mikroorganizmalara karşı konakçı cevabın önde gelen mediyatörüdür, sepsis patogenezinde ilk suçlanan sitokindir(61). Lipopolisakkaridler TNF-α salınması için en güçlü uyarandır. 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 17 kilodalton (kDa) ağırlığında bir polipeptiddir, iki ya da üç subunitten oluşmaktadır. Birçok potansiyel glikozillenmiş bölüm içermektedir (62).

TNF-α, inflamasyon sırasında lökosit ve immün regülatuar hücreler tarafından salınır. Salındıktan sonra lökositlerden ve damar endotelinden hem kendisinin hem de diğer sitokinlerin salınımını artırır, yüzey reseptörlerini aktive eder, araşidonik 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 gözlemlendiği, 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.

## **2.5. DENEYSEL SEPSİS MODELLERİ**

Sepsis araştırmalarında genellikle küçük hayvanlar kullanılmaktadır. Bu hayvanlar ucuz olup genetik yapıdan benzerdirler, sağlıklı olarak elde edilmeleri kolaydır. Büyük hayvanlarsa, maliyetleri yüksek olması nedeniyle invazif monitörizasyon düşünöldüğünde kullanılmaktadır.

### **2.5.1 İnfeksiyon Odağı Olmayan Modeller**

Sepsis hayvan modellerinin en basit prensiplerinin uygulandığı modellerdir. Endotoksemi ya da bakteriyemi yaparak sepsisin patofizyolojik özellikleri oluşturulur(63,64,151). İnsanlarda görölen sepsisin karakteristik bulguları bu modellerde başarılı bir şekilde oluşturulabilir.

#### **2.5.1.1 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 (65). 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 (66). Düşük doz ise hiperdinamik cevap ve kardiak debi

artışı yapar(67,68). Erken dönemde kardiyak debide azalma, geç dönemde ise artma izlenir.

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, cinsiyet, maturite, diyet, menstürel siklus, eşlik eden infeksiyonlar etkileyebilir(69).

İnsanlarda etkileri sergileyebilmek için genellikle birkaç kat fazla doz endotoksin gerekir(70). Doz veya uygulama süresi değiştirilirse hemodinamik cevaplarda da değişiklikler meydana gelir.

#### **2.5.1.2. 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 (71).

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

Endotoksemi ve bakteriyemi modellerinin önemli dezavantajları da daha çok "intoksikasyon" durumunu yansıtmalarıdır. İntoksikasyon ise sepsisten farklı bir durum olup proinflamatuvar sistemik reaksiyonları beklenenden fazla uyabilirler. 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. Bakteriyemi modellerinde de lokal infeksiyona göre daha

yoğun ve akut şekilde proinflatuar bir reaksiyon indüklenir (72). 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. Bunun yanında, endotoksemi ve bakteriyemi modellerinde proinflatuar kaskad aşırı tetiklenir ve gram (-) sepsis benzeri tablo daha şiddetli oluşur.

Bu modellerin bir avantajı da daha standart ve kontrollü sepsis çalışmalarının yapılabilmesidir. 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 immünopatofizyolojik yönleri başarılı şekilde çalışılmaz (63).

## **2.5.2.İnfeksiyon odaklı modeller**

### **2.5.2.1.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 (72,73).

İnokülasyonda kullanılan bakterinin türü de önemlidir. Birçok modelde tek cins ve iyi bilinen bir doz kullanılır. E.coli en sık kullanılan bakteridir (74). 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 enfeksiyon ve inflamasyonun devamlılık gösterdiği bir odak oluşturduğunda intraabdominal mikroçevrenin gerçekçi şekilde taklit edilmesini sağlar.

### **2.5.2.2.Fekal sepsis**

Bu modelde feçes normal bakteri içeriği ile beraber inoküle edilir. En kolay yol fekal emülsiyonun batin içine tamamen yayılacak şekilde infüze edilmesidir (75). 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.

### **2.5.2.3.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 (76).

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 (77).

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.

## **2.6. HİPERBARİK OKSİJEN (HBO) TEDAVİSİ**

HBO tedavisi, izole bir basınç odasında hastaya deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan (1 ATA = atmosfer absolute= 760 mm Hg) 2-3 kat daha fazla bir basınçta %100 oksijen solutulması ile uygulanan bir tedavi şeklidir (78). Maske, başlık veya endotrakeal tüp ile uygulanan HBO ile arteryel oksijen basıncı 2000 mm Hg'ya, doku oksijen basıncı da 400 mm Hg'ya kadar çıkabilir(79).

### **2.6.1.Tarihçe**

İlk hiperbarik sistem, 1662'de Henshaw tarafından körük düzeneği ve kapaklar kullanılarak kapalı bir oda içinde, hem yüksek hem alçak basınç sağlayacak şekilde kurulmuştur. Oksijen uygulaması 1868 yılında CO zehirlenmesinin tedavisinde faydalı olarak bulunmuş, 1930'lardan sonra Amerikan ve İngiliz Donanmaları tarafından, dekompresyon hastalığının tedavisinde rutin olarak kullanılmaya başlanmıştır. Klinik zehirlenmelerde ilk kez 1942 yılında kullanılmıştır. 1950'lerin sonlarında ise kan gazı analizi ve gaz değişimi fiziolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla, HBO tedavisi modern klinik kullanıma girmiştir. 1961 yılında Boereme ve Brummelkamp'ın HBO'yu gazlı gangrenli bir hastada kullanmaları ile klinik uygulamaya geçmiş ve 1963 yılında Amsterdam'da ilk uluslararası HBO toplantısı yapılmıştır. Son 20-30 yıldır, çok çeşitli akut ya da kronik bozuklukların tedavisinde primer tedavi yöntemi veya diğer tedavilere yardımcı olarak kullanılmaktadır (80, 81).

### **2.6.2. Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Temel İlkeleri:**

Oksijen diğer gazlar gibi gaz kanunlarına göre hareket etmektedir. Değişik basınçlar altında gazların hareketini tanımlayan iki önemli yasa vardır:

- Boyle-Mariotte yasası: Sabit bir ısıda, bir gazın volüm ve basıncı birbiriyle ters orantılıdır. Başka bir deyişle, belirli bir miktardaki gazın basıncı ile volümünün çarpımı daima sabittir.
- Henry yasası: Sabit bir ısıda, bir sıvı içinde çözünen gaz miktarı, sıvı üzerinde kalan gazın parsiyel basıncıyla doğru orantılıdır (80,82).

### 2.6.3. Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Fizyolojik Etkileri

Deniz seviyesinde, plazmada çözünmüş halde bulunan oksijen konsantrasyonu 0,3 ml/dL'dir. İstirahat halinde normal perfüze olan dokular, 100 ml kandan 5-6 ml oksijen çekerler. Normal atmosferik basınç altında %100 oksijen solunması, kanda çözülmüş oksijen miktarını beş katı artırır (1,5 ml/dL). 3 ATA basınç altında HBO ise plazmada çözülmüş oksijen miktarını yaklaşık 6 ml/dL'ye kadar çıkar. Bu miktar, istirahat halinde hemoglobinden bağımsız olarak, hücrelerin gereksinimi olan oksijenin sağlanması için yeterlidir. HBO uygulaması sırasında PaO<sub>2</sub>'nin artmasının başlıca kan oksijen içeriğinin artması, vazokonstriksiyon, yara iyileşmesine etki, antibakteriyel etki (özellikle anareoblara etki), antitoksik etki başlıkları altında toplanan 5 farmakolojik etkisi söz konusudur (82).

Kanda ve dokularda ani gelişen inert gaz kabarcıkları, dekompresyon hastalığı ve hava embolisine neden olur. Boyle Kanunu'na göre, kapalı bir ortamda bulunan gazın basıncı ile hacmi arasında ters orantı vardır. %100 HBO uygulamasının gaz kabarcıkları oluşumu üzerine etkisi bu kanuna dayanılarak açıklanabilir. 2.8 ATA basınç altında kabarcıkların hacminde 2/3 oranında küçülme sağlanır. Ek olarak, % 100 HBO tedavisi inert gaz kabarcıklarının oksijen ile yer değiştirmesini sağlayarak çözünmesini hızlandırır ve doku tarafından hızla metabolize edilmesini sağlar. HBO kullanımı yeni kabarcıkların oluşmasını da engeller (82).

Hiperbarik oksijenizasyonun insan vücudu üzerinde iki temel etkisi vardır. Bunların birincisi, vücut içindeki gazlar üzerine mekanik etkisi; diğeri ise, kanda parsiyel oksijen basıncını artırıcı etkisidir. Meydana getirdiği etkinlikler, bu iki temel etki mekanizması üzerinden gerçekleşmektedir.

#### **2.6.4. Oksijen Çözünürlüğünü Artırıcı Etkisi**

Normal fizyolojik şartların geçerli olduğu koşullarda oksijenin büyük bölümü hemoglobine bağlı olarak taşınırken, sadece çok az bir kısmı kanda çözünür. HBO uygulaması altında ise vücudun gereksinimlerini tek başına karşılayabilecek miktardaki oksijenin plazmada çözünmesini sağlamak mümkündür.

Örneğin, 3 ATA'da – yani  $3 \times 760 = 2280$  mmHg'lık bir basınçta - kandaki çözülmüş oksijen içeriği %6.8'lik bir hacme yükselir.

Hiperbarik oksijen uygulamasını takiben plazmadaki çözülmüş oksijen oranı %6'yı geçtiğinde, oksihemoglobin arteriyel sistemden venöz sisteme değişime uğramadan geçebilir; çünkü plazma içerisindeki erimiş oksijen hemoglobine bağlı oksijene göre çok daha kolay kullanılma özelliğine sahiptir(83). Bu sayede plazma, normal kanlanan dokuların ihtiyaçlarını fazlasıyla karşıladığı gibi, kanlanması azalmış dokular için de yeterli oksijen taşıma kapasitesine ulaşmış olur. Ayrıca arteriyel pO<sub>2</sub> çok arttığında, yeterli hücrel oksijenlenme çok düşük bir kan akımıyla bile sağlanabilir (83). 3 ATA'da %100 O<sub>2</sub> kullanarak doku oksijenlenmesini 10–15 kat artırmak mümkün olabilmektedir (Tablo 2.4) Dolayısıyla doku oksijenizasyonunun yetersizliği ile seyreden birçok hastalıkta HBO ideal bir tedavi yöntemi olarak göze çarpar.

**Tablo 2.4.** HBO Uygulamasý ile Ulařılan Doku Parsiyel Oksijen Basıncı Düzeyleri (mmHg) (84).

	1 ATA (hava)	1 ATA (O <sub>2</sub> )	2 ATA (O <sub>2</sub> )	2.5 ATA (O <sub>2</sub> )
Arteriyel pO <sub>2</sub>	100	600	1400	1800
Transkutanöz pO <sub>2</sub>	70-75	450-550	1200-1300	1400-1500
Kas pO <sub>2</sub> 'si	30-35	60-75	220-300	-
Subkutanöz pO <sub>2</sub>	30-50	90-150	200-300	300-500
Yara pO <sub>2</sub> 'si	5-20	200-400	600-800	800-1100

#### **2.6.5. HBO Uygulamasında Biyokimyasal Ve Hücresel Etkiler:**

HBO'nun kan elemanları üzerinde, hematokritte azalma, viskozitede düşme ve eritrosit membran elastisitesinin artması gibi etkileri vardır. İlave olarak, trombosit agregasyonunu azaltır. HBO sayesinde plazmanın oksijen taşıma kabiliyetinde artış meydana geldiğinden dolayı, hipoksik dokular, eritrositler bu dokulara ulaşamasa bile, oksijenlenme imkânı bulurlar. Yine, doku oksijen basıncının yükseltilmesi, lökositlerin patolojik bakterileri öldürme kapasitesini de artırır. Lokal hipoksi, nötrofil-ilişkili bakteri ölümünü serbest radikaller ile azaltarak yarayı enfeksiyona yatkın hale getirir (85). %100 HBO, savunma mekanizmasını güçlendirir ve fagositoz ile bazı bakterilerin öldürülmesini sağlar (86,87). Bunlara ek olarak %100 HBO, Clostridium perfringens gibi bazı anaeroblar üzerine bakterisidal, bazı Escherichiae ve Pseudomonas türleri üzerine de bakteriyostatik etkiye sahiptir. Aynı zamanda clostridyal alfa toksin yapımını da baskılar.

Nötrofiller reperfüzyon hasarında suçlanan önemli bir endojen faktördür. Nötrofiller iskemik damar duvarına yapışarak proteaz ve serbest oksijen radikalleri salınımına neden olur, buna bağılı olarak vazokonstriksiyon

ve aşırı doku yıkımı ortaya çıkar (88). %100 HBO, nötrofillerin yapışmasını ve iskemik vazokonstriksiyonu engeller (89).

Genel olarak 1,5–2 ATA'lık uygulama basıncı güvenli bir aralık olarak kabul edilmektedir. Bu basınçtaki HBO gerek deney hayvanları, gerekse insanlar tarafından iyi tolere edilmektedir. Yapılan çalışmalarda 1,5 ATA'da ve 40–60 dakikalık uygulamalarda hiç bir zararlı etki görülmemiştir (90). Bununla birlikte birçok endikasyonda, 2 ATA'dan yüksek basınçta ve bir saatten uzun süreli HBO uygulaması gerekli olabilmektedir (90). Bu şartlarda uygulanan HBO sonucu serbest radikal üretiminde artış ve buna bağlı değişiklikler de sözkonusu olabilmektedir (91,92). 3 ATA'nın üzerindeki basınçlarda uygulanan HBO'ya maruz kalındığında, oksijen toksisitesi sonucu oksijen konvülziyonları gözlenmiştir (93).

#### **2.6.6. HBO tedavisi ve Sepsis**

Sepsis tedavisinde henüz rutine girmeyen HBO tedavisi, mevcut çalışmalarda ilgi odağı olmaya devam etmektedir. Sepsis tedavisinde yeni yaklaşımların devam ettiği günümüzde halen normobarik oksijen tedavisi klinik kullanımdadır. HBO tedavisinin bir çok hastalıkta kullanımı mevcut olup sepsis çalışmalarında anlamlı sonuçlar alınmış, gerek sitokin düzeylerinde, gerekse antioksidan ve serbest radikaller üzerinde iyileştirici etkileri gözlemlenmiştir.

Aksenov ve arkadaşları tarafından 150 yayın araştırılmış, 11 deneysel çalışma ve 5 klinik deneme incelenmiş, sepsiste HBO tedavisinin iyileştirici etkilerinin mekanizmaları 8 maddede toplanmıştır (94)

- IL-10 mekanizması ile koruma
- HBO ön tedavisi ile Heme Oxygenase-1'in süper indüksiyonu
- LPS ile indüklenen akciğer hasarını azaltmak için pulmoner iNOS'un ekspresyonunun inhibisyonu

- Tekrarlanan HBO uygulaması ile inflamatuvar mediatörler ve serbest radikallerin azaltılması
- Ardışık NO aşırı üretimi ve myeloproksidaz aktivasyonun azaltılması ile intestinal mukozada NF-κB aktivasyonun düzenlenmesi
- İnce barsakta bakteriyel çoğalma ve translokasyonun azaltılması
- Eritrositlerin şekil değiştirip bozulmalarının önlenmesi
- Reaktif oksijen radikallerinin etkilerini kontrol etmek için süpürücülerin üretimi olarak sıralanabilir.

## **2.7. SERBEST RADİKALLER**

Serbest radikaller, çeşitli patolojik süreçleri başlatan veya bu süreçlerin ara basamaklarında işe dahil olabilen ya da bu süreçlerin sonucunda ortaya çıkabilen oldukça reaktif olan maddelerdir. Serbest radikaller, organizmada normal aerobik solunum gibi fizyolojik durumlarda oluşabildikleri gibi, hava kirliliği (azot oksitler, ozon, kükürt dioksit, sigara dumanı), çeşitli entoksikasyonlar (karbon monoksit, alkol, insektisidler, çeşitli ilaçlar), hemorajik ve iskemik durumlar, allerji, enfeksiyonlar, radyoaktiviteye maruz kalım, yaşlanma ve stres gibi değişik birçok nedenle de ortaya çıkabilmektedirler (95,96).

### **2.7.1.Tanım**

Yapılarında bulundurdukları uyarılmış elektronlar nedeniyle, kolayca elektron alışverişi yaparak etkileşime girdikleri moleküllerin yapısını bozan moleküllere'serbest radikaller'denmektedir. Moleküler oksijen üzerindeki değişiklikler ile meydana gelen'serbest oksijen radikalleri'veya diğer

adıylareaktif oksijen türevleri'(ROT) serbest radikaller içerisinde karşımıza oldukça sık çıkan bir sınıfı oluşturmaktadır (97)

### **2.7.2. Fizyolojik Serbest Radikal Reaksiyonları**

Normal şartlar altında, canlı organizmada serbest radikaller kontrol altında kaldıkları birtakım fizyolojik olaylar sırasında meydana gelmekte ve çeşitli işlevlerde önemli görevler almaktadır. Bu şekilde, serbest radikallerin

- Fagositozda,
- Trombosit aktivitesinde,
- Mikrozomal elektron transport zincirinde,
- Önemli biyomoleküllerin sentez veya yıkımında (araşidonik asit metabolizmasında, adrenokortikal hormonların sentezinde, melaninle ilgili fonksiyonları, biyomoleküllerin otooksidasyonu ve bazı enzim fonksiyonları)
- Üreme ve embriyo gelişiminde fizyolojik rolü bilinmektedir (97,98,99,100).

### **2.7.3. Patolojik Serbest Radikal Reaksiyonları**

Patolojik serbest radikal reaksiyonları hücre içindeki kontrol dışına çıkmış veya anormal serbest radikal reaksiyonlarını kapsar. Fizyolojik serbest radikal reaksiyonlarının organizmanın antioksidan kapasitesini aşması yoluyla meydana gelebileceği gibi, bazı eksojen ajanlar ya da fiziki etkiler (iyonize radyasyon, ultraviyole, bazı plastik implantlar) sonucunda da gelişebilir (Şekil 2.2)

#### 2.7.4. Reaktif Oksijen Türevlerinin Oluşumu:

Fizyolojik koşullar altında, normal hücreler aerobik metabolizmanın sonucunda ortaya çıkan ve potansiyel olarak zarar verici etkiye sahip oksidatif süreçlere maruz kalırlar. Sağlıklı bir hücrede oksidan ve antioksidan sistemler arasında hassas bir denge vardır. Dengenin oksidan sistem lehine bozulması, oksidatif stres gelişimine neden olur. Dengenin bozulmasından fazla miktarda sentez edilen ROT sorumludur. Oksidatif hasar, reaktif oksijen (ROT), nitrojen (RNS) ve Demir (RIS) türlerinin etkilerinin sonucu olarak ortaya çıkar.

Normal fizyolojik koşullar altında, reaktif oksijen türlerinin çoğunluğu hücresel solunum sırasında ve inflamatuvar cevaba katılan nötrofilleri de içeren aktive fagositer hücreler tarafından oluşturulur. Reaktif oksijen türlerinin mitokondrial solunum, prostaglandin üretimi ve konakçı savunması için esansiyel rolleri vardır. Oksijen reaksiyonlarını kontrol etmek için bu transisyon metalleri (demir ve bakır) çiftleşmemiş elektronları kullanarak mitokondri, oksijen türevi serbest radikallerin istenmeyen salınımını önler. Oksijen molekülü tetravalan indirgenme (yani her iki oksijen atomundan gelen dört eşleşmemiş elektronun da indirgenmesi) sırasında çeşitli reaktif türevlere yönlenebilmektedir. Oluşan bu türevler de daha sonra biyolojik sistemlerde hasara yol açabilmektedir (97,98). Canlılar oksijenin toksik etkilerinden, geliştirdikleri antioksidan mekanizmalar sayesinde korunur.

Başlıca ROT, süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikalidir ( $OH^-$ ) (Şekil 2.1). Bu reaksiyonlar ile oluşabilecek radikallerin önüne geçebilmek için çeşitli oksidatif enzimler gelişmiştir; bu enzimler reaktif oksijen türevlerinin yaşayan organizmaya zarar oluşturabilecek miktarlarda oluşmasını engellerler. Hücresel metabolizma sırasında dar sınırlarda oluşan reaktif oksijen türevleri bu savunma sistemleri yoluyla etkisiz hale getirilmektedir (98, 101).

### **2.7.5. Lipid Peroksidasyonu**

Lipid peroksidasyonu reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan lipid hidroperoksitler yüksek derecede toksik ürünler verebilir. Oluşturdukları ürünler arasında en toksik olanları aldehidlerdir, bunların en önemlisi ise'malonildialdehid'dir (MDA). MDA, amino asit ve protein oksidasyonu ile çeşitli çapraz bağlanmalar yoluyla zararlı etkilere yol açarak, doğrudan peroksidatif etkiye maruz kalmayan nonlipid yapıdaki dokuların da hasar görmesine neden olabilmektedir (97)

## **2.8. ANTİOKSİDAN SAVUNMA VE BAŞLICA ANTİOKSİDANLAR**

Organizma, oksidatif harabiyeti önleyen, sınırlayan ya da kısmen tamir eden koruyucu mekanizmalara sahiptir. Memeli hücrelerinde oksidan ürünlere karşı korunma başlıca üç prensip içinde gerçekleşmektedir:

1. Oluşan radikallerin detoksifikasyonu
2. Radikal reaksiyonların sona erdirilmesi
3. Radikal oluşumunun sınırlandırılması

Antioksidan, düşük konsantrasyonlarda, okside olabilecek bir substratın oksidasyonunu geciktiren veya inhibe eden madde olarak tanımlanmaktadır.

Bunlar, ROT'ları çeşitli biyomoleküller üzerinde tahribat yapmadan önce ortadan kaldıracı veya oksidatif hasarın yayılmasını engelleyen maddelerdir. İnsan vücudunun farklı organ, hücre ve hücre organellerinde farklı ROT'lara karşı etkili, farklı antioksidanlar bulunur (98).

### **2.8.1. İntraselüler Enzimatik Antioksidan Savunma:**

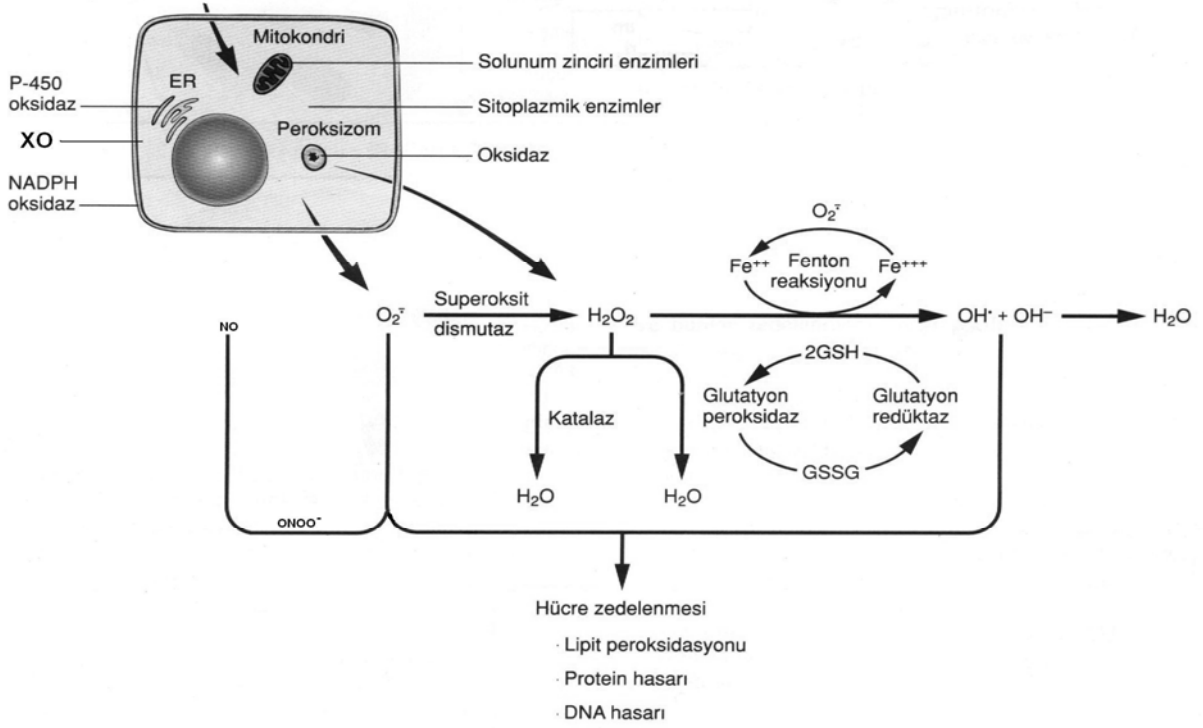
Hücrede oluşan radikallerin detoksifikasyonu başlıca enzimatik olarak gerçekleşir. Antioksidan savunmanın önemli bir kesimini süperoksit ve hidrojen peroksiti temizleyen spesifik enzimler oluşturur. Bunların başlıcaları olarak SOD, katalaz (CAT) ve GSH-Px sayılabilir (98).

Organizmada hidroksil radikali miktarını kontrol eden enzim sistemleri ise yoktur. Kuvvetli okside edici potansiyeli nedeniyle hiç bir enzim kendisi oksidatif harabiyete uğramadan bu ürünü detoksifiye edemez. Bunun için hücrelerde temel strateji SOD, CAT ve GSH-Px aracılığıyla süperoksit anyonu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi detoksifiye ederek daha toksik ürünlerin oluşumunu önceden önlemektir. Ekstraselüler alanda ise gerek süperoksit anyonu gerekse H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çok sıkı kontrol altında değildir. Plazma ekstraselüler SOD aktivitesi çok düşüktür ve buradaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin dolaşımdaki eritrositler tarafından metabolize edildiği kabul edilmektedir (97,98). Organizmadaki antioksidan enzimler ve rol aldıkları mekanizmalar şekil 2 de özetlenmiştir.

### **2.8.2. Sepsis ve SIRS'ta Oksidatif Stres**

Sepsiste, reaktif oksijen türlerinin, mitokondrial elektron transport zinciri, iskemi ve reperfüzyonun bir sonucu olarak ksantin oksidaz aktivasyonu, nötrofil aktivasyonu ile ilişkili respiratuar patlama ve araşidonik asit metabolizması gibi birçok potansiyel kaynağı vardır. Aktive nötrofiller, moleküler oksijen üzerindeki membrana bağlı NADPH oksidaz etkisi yoluyla respiratuar patlamanın parçası olarak sitotoksik ajan gibi süperoksit üretebilirler. Nötrofiller ayrıca, peroksinitrit üretmek için süperoksitle reaksiyona girebilen serbest radikal nitrik oksit (NO-) de üretir, hidroksil radikali oluşturmak için ayrışabilen, tek başına güçlü bir oksidandır. Reperfüzyon tarafından takip edilen iskemik durumlarda, ksantin oksidaz enzimi ürik asit oluşturmayı katalizler ve birlikte süperoksit de üretilir. Süperoksit salınımı; nötrofillerin toplanması, aktivasyonu ve daha fazla

süperoksit üretimi ile birlikte ksantin oksidaz oluşumunu stimüle eden endotel hücrelerine yapışması ile sonuçlanır.(102,103,104)



**Şekil 2.2.** Oluşan Çeşitli Reaktif Ürünlere Karşı Enzimatik Savunma (105)

Cowley, sepsis veya sekonder organ disfonksiyonlu hastalardaki azalmış total antioksidan potansiyelinin mortalite ile ilişkili olduğunu tanımlamıştır. Batra, sepsisli yenidoğanlarda ksantin oksidaz, SOD ve glutasyon peroksidaz aktivitesinde artış bildirmiştir(106,107). ROS'lar, endojen antioksidan sistemin kapasitesi aşıldığında ortaya çıkan oksidatif stresle birlikte sellüler hasara neden olurlar.

GSH metabolizması sepsiste değişmiştir. Bir rat lipopolisakkarit endotoksik şok modelinde, karaciğer GSH'ındaki düşme ile oluşan, azalmış plazma antioksidan kapasite ile birlikte oksidatif stres belirgin artış saptanmıştır.

Bugüne kadar hiçbir antioksidan tedavi insan sepsisinde surviyi iyileştirmemiştir. İdeal terapötik antioksidan ajanı bulmak için, sepsisteki sellüler ve moleküler etkileşimleri tam olarak aydınlatıcı çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle, bugüne kadar farkına varılmayan bir gerçek de, sepsisteki birçok anahtar mediatörün şartlara bağlı olarak değişken etkileri ve etkileşimleri mevcut olduğu aşikar hale gelmektedir. NF- $\kappa$ B başta olmak üzere, redoks imbalansın düzenlenmesinin dikkatli hedeflenmesinin, sepsisin gelecekteki tedavisinde rolü olabilir.(108,109)

### 3. GEREÇ YÖNTEM

Bu tez Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 06 Şubat 2009 gün, 1 sayılı toplantısı ve 09/4K nolu kararı ile ve Helsinki bildirisindeki hayvan çalışması etik kurallarına uyularak GATA Araştırma ve Geliştirme Başkanlığı ve Fizyoloji BD bünyesindeki laboratuvarlarda 16 Haziran-13 Temmuz 2009 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

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, ratlara, literatürdeki mevcut modeller içinden kontrollü inokülasyon modeli seçilmiş ve intraperitoneal(i.p) E.coli (standart suş) olarak (97) yapılmıştır. Ayrıca, HBO ve NBO tedavisi ile birlikte tüm ratlara antibiyoterapi uygulanmıştır. Çalışmamızda; HBO ve NBO tedavilerinin antibiyotik ve diğer tedavi ile birlikte kullanılan adjuvan tedavi yöntemleri oldukları düşünülerek, sepsisin klinik ve laboratuvar belirteçleri üzerindeki iyileştirici etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

#### 3.1. Çalışma ve Gruplar

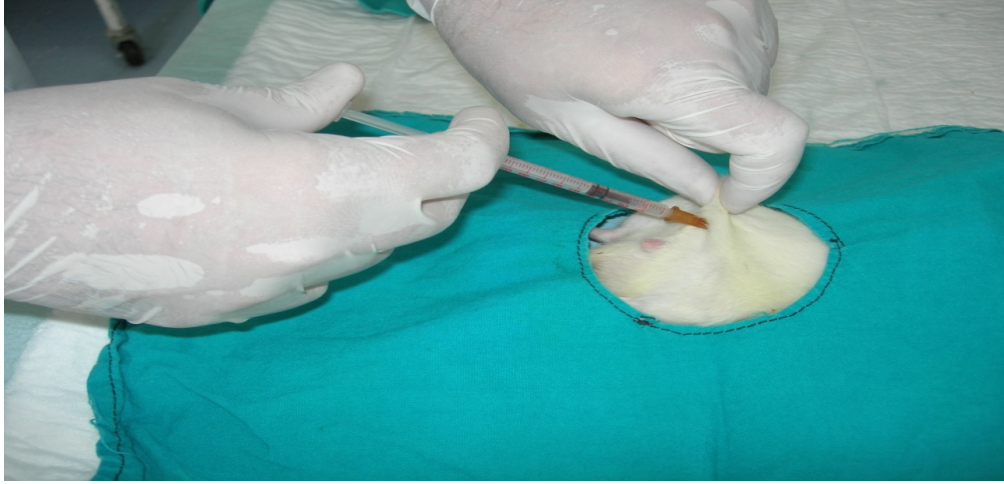
1. Grup (Sham Grubu) (N:10): İntraperitoneal serum fizyolojik uygulanan grub
2. Grup (Kontrol Grubu) (N:10): Sepsis indüksiyonu sonrası CEF tedavisi verilen grup

3. Grup (NBO Grubu) (N:10): Sepsis indüksiyonunu mütakiben CEF+NBO tedavisi verilen grup
4. Grup (HBO Grubu) (N:10): Sepsis indüksiyonunu mütakiben CEF+HBO tedavisi verilen grup

### **3.2.Sepsis Modeli**

Bu deneysel çalışmada GATA Araştırma ve Geliştirme Başkanlığı hayvan laboratuvarından temin edilen, ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen sağlıklı, genç erişkin 40 adet erkek Wistar-Albino cinsi ratlar kullanılmıştır. Her bir grupta 10 adet rat olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Ratlar tek tek tartılmış olup, her grup benzer özellikte ve ağırlıkta olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır. Çalışma süresince tüm ratlar aynı laboratuvar koşullarına tabi tutulmuş, ticari sıçan yemi ve normal musluk suyuyla beslenmiştir. Ratların ağırlıklarına göre uygulanacak dozlar hesaplanmıştır. E.Coli (standart suş), 2,1.10<sup>9</sup>cfu/ml dozunda, tek doz, bolus tarzında, i.p. injeksiyon ile uygulanmış, sepsis indüksiyonu sağlanmıştır.(97) (Şekil3). Sepsis tanısı; lökosit artışı (beyaz küre ölçümleri kuyruk veninden alınan 1 ml kan ile Araştırma Merkezi'ndeki tam kan sayacı ile çalışıldı), rektal ısı artışı, solunum sayısı ve taşikardi ile konulmuştur. Sham grubuna ise intraperitoneal serum fizyolojik uygulaması yapılmıştır.

HBO ve NBO tedavilerinin adjuvan tedaviler olduğu göz önünde bulundurulduğu düşünülerek, sham grubu hariç tüm gruplara, sepsis indüksiyonu sonrası Öter ve arkadaşlarının çalışmalarında kullandıkları Cefepime HCl (CEF) tedavisi 50 mg/kg dozunda i.p. uygulanmıştır(97).



**Şekil 3.3.**Ratlara intraperitoneal E.Coli uygulaması



**Şekil 3.4.** Hiperbarik Oksijen Cihazı

### 3.3.Hiperbarik Oksijen Uygulaması:

Hiperbarik oksijen uygulaması için, T.S.K. 800 Ana Depo ve Fabrika Komutanlığında (Etimesgut/Ankara) özel olarak tasarlanıp imal edilen, çapı 40 cm, uzunluğu 60 cm olan, krom, nikel ve çelik karışımı bir gövdeye sahip ve 10 ATA basınca dayanıklılığı test edilmiş silindirik biçimdeki yüksek basınç odası ('hyperbaric chamber') kullanıldı (Şekil 4). Bu chamber'in içerisindeki basınç, üzerindeki manometre ile devamlı kontrol edilerek gerektiğinde gazın fazlası otomatik olarak tahliye edilebilmektedir. Chamber'a GATA Biyomedikal Klinik Mühendislik Merkezi -Tıbbi Gazlar Bölümünden temin edilen ve yüksek basınç altında saf oksijen içeren tüpler yoluyla 1,5–2 lt/dk akım hızında (99,105) oksijen girişi sağlandı. Hayvanlar chamber'e yerleştirildikten sonra ortam öncelikle hızla verilen oksijen ile yıkandı ('flushing'). Bu arada, hayvanların ventilasyonu sonucunda ortamda birikebilecek CO<sub>2</sub>'yi tutması için, chamber içine değişebilir oranlarda sodyum hidroksit, kalsiyum–2–oksit ve kalsiyum hidroksitin karışımından oluşan'soda lime'olarak adlandırılan absorbe edici granüller konuldu (110). Daha sonra chamber kapatılarak iç basıncın uygulanacak değere kadar dakikada 1 atm basıncı geçmeyecek hızda yükselmesi sağlandı. 3 ATA'lık uygulama basıncına ulaşıldığı anda chamber'e giren ve çıkan oksijen miktarı sabitlenerek süre tutulmaya başlandı. Toplam seans süresi 2 saat olarak belirlendi ve seans bitiminde, hayvanları ağırlı barotravmalardan korumak ve hesaplanamayan ilave stres faktörlerinden kaçınmak amacıyla, yine yavaş bir hızla ortam basıncına geri dönüldü.

Çalışmamızda uygulanan HBO tedavi metodu; Pedoto ve arkadaşlarının önerdikleri gibi 2.8 ATA'da günde 2 kez, 0 ve 12. saatlerde, ÖTER ve arkadaşlarının önerdikleri gibi de 90 dk uygulandı(97,111).

### **3.4. Normobarik Oksijen Uygulaması**

NBO tedavisi; HBO cihazının (Şekil 4) chamber'in giriş ve çıkışı 5Lt./dk., chamber basıncı ise otomatik olarak 1 ATA olarak ayarlanarak 90 dk verildi (98) (HBO ve NBO verilme şekli ayrıca , Deniz ve Su Altı Hekimliği AD koordinesi ile uygulanmıştır).

Ratlara sepsis indüksiyondan 1 saat sonra günde 2 seans (90 dk - 2,8 ATA) CEF, HBO ve NBO hiperbarik oksijen tedavileri beş gün süre ile uygulandı. Birinci grup (Sham) ratlara i.p. SF injeksiyonu, ikinci grub ratlara sepsis indüksiyonu sonrası sadece CEF tedavisi, üçüncü grup ratlara CEF+NBO, dördüncü grup ratlara CEF+HBO tedavileri uygulandı..

### **3.5. Laboratuvar Teknikleri**

#### **3.5.1. Sakrifikasyon ve Örnekleme**

Sepsis indüksiyonu sonrası ratlar altışar altışar kafese konarak izlenmeye alındı, oral sıvı ve gıda alımlarına izin verildi.

Tüm ratlar beşinci gün sonunda genel anestezi ile uyutulduktan sonra küçük deney hayvanları için özel olarak yapılmış bir disseksiyon masasına sırtüstü yatırılarak dört ayağından sabitlendi. Bundan sonra göğüs boşlukları açılarak akciğerlerin ortaya çıkması sağlandı.

Enzimatik çalışmalarda doku içerisinde kalabilecek fazla miktardaki kan nedeniyle homojenatta oluşabilen hemolizi önlemek için, akciğerin mümkün olduğu nisbette kansız olarak çıkarılması gerekiyordu. Bundan dolayı bir yandan vena cava inferiordan bir enjektör yardımıyla kan alınırken, bir yandan da sağ ventriküle ince uçlu bir iğne ile +4°C'de izotonik NaCl (serum fizyolojik; SF) verildi (112). Bu şekilde hem akciğer içerisinde dolaşımda olan kanın SF ile yer değiştirmesi sağlandı, hem de soğutma yoluyla akciğer metabolizması yavaşlatılmış oldu. Akciğerlerin renginde gözle

görülebilir solma ile beraber kan-SF değişiminin yeterli düzeyde olduğu kanısına varılarak akciğerler çıkarıldı. Çıkarılan akciğer, yine soğuk SF içerisinde yıkanarak dışındaki kan artıklarından arındırıldı ve önceden etiketlenmiş kapaklı plastik ependorf tüpleri içerisine konularak, işlem sonunda -80°C'de saklanmak üzere, sıvı nitrojen (azot) tankına konuldu. Tüm bu işlemlerin akciğer dokusunda ayrı bir stres nedeni olabilmesi, özellikle anesteziden sonraki bölümde, son derece hızlı hareket etmeyi zorunlu hale getirmişti.

Nitekim disseksiyondan itibaren her bir hayvan için harcanan sürenin görece standart olmasına özen gösterildi ve toplam süre hiçbir zaman 3–4 dk'yı geçmedi. Ayrıca, HBO uygulanmadan disseksiyona girecek olan hayvanların doku alımı da yine kendi eşdeğerleri olan HBO'lu gruplarla aynı saate denk getirildi.

Alınan kan örneklerinde sepsis sürecinde belirleyici olduğu düşünülen TNF- $\alpha$  düzeyleri, akciğer dokusundan, oksidatif stres belirteçleri olarak MDA, SOD ve GSH-Px düzeyleri çalışılmıştır.

İstatistiksel hesaplamaların tamamı mikro işlemci yardımı ile ticari istatistik paket programı (SPSS PC, Ver.12.0; SPSS Inc, USA) kullanılarak yapılmıştır. Sayısal değerler ortalama  $\pm$  standart ortalama hatası (mean  $\pm$  SEM) olarak ifade edilmiştir. Önce tüm gruplar arasında "Kruskal Wallis" testi ile analiz yapıldıktan sonra, anlamlı sonuç veren grupların ikişerli olarak karşılaştırılmalarında denek sayısına uygun olarak nonparametrik bir yöntem olan "Mann Whitney U Test" kullanıldı. Sonuçta  $p < 0,05$  bulunduğu anda sonuç anlamlı olarak kabul edildi(113).

### **3.5.2.Serum Ve Doku Örneklerinin Biokimyasal Analizi**

Oksidatif strese bağlı oluşan lipid peroksidasyonu düzeyinin tayini için MDA, antioksidan cevabın derecesinin belirlenmesi için süperoksit radikali

karşı oluşan SOD ve hidrojenperoksit ile savaşan GSH-Px'in akciğer dokusu düzeylerinin ölçümü yapıldı. Akciğer dokusunda oksidan ve antioksidan parametrelerin analizi ile elde edilecek sonuçların standart olarak ifade edilebilmesi için ek olarak doku protein düzeyleri de ölçüldü.

### **3.5.3.TNF- $\alpha$ Düzeyleri**

TNF- $\alpha$  düzeylerinin değerlendirilmesinde BioSource rat TNF- $\alpha$  solit faz sandviğ Enzyme-linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) kiti kullanılmıştır. Rat TNF- $\alpha$ 'sına spesifik antikolar mikrotiter striplerin içerisindeki boşluklara yerleştirilmiş, ardından bu kuyucukların içerisine biyotinlenmiş ikinci antikor eklenmesini takiben standart rat TNF- $\alpha$ , kontrol ve bilinmeyen örnekler pipetle yerleştirilmiştir. İlk inkübasyon esnasında rat TNF- $\alpha$  antijeni bir taraftaki immobilize antikora bağlanırken diğer taraftan solüsyon fazındaki biyotinlenmiş antikora bağlanmaktadır. Fazla antikolar uzaklaştırıldıktan sonra Streptavidin-peroksidaz eklenmekte, bu biyotinlenmiş antikora bağlanarak 4 bileşenli sandviğ 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- $\alpha$  konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak okunmaktadır(114).

### **3.5.4.Doku Homojenizasyonu**

Dokuların analizler için hazır hale getirilmesi gerektiğinden, dokular derin dondurucudan çıkarılarak çözünmesi sağlandıktan sonra fosfat tampon ile 1/9 hacim oranında karıştırılarak Retsch marka "Mixer Mill MM 400" model homojenizatör ile homojenize edildi. Elde edilen homojenatın bir kısmı MDA ve protein ölçümleri için ayrıldı. Bir kısmı SOD, GPx ölçümünde

kullanılmak üzere, 700 devirde 10 dk santrifüj edilerek süpernatantları alındı ve ependorf tüpler kondu.

Fosfat tampon (50 mM); distile sudaki 6,8 g/l oranındaki KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisi üzerine pH 7,4 olana kadar yine distile suda 7,1 g/l oranında çözünmüş Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ilave edilerek hazırlandı.

### **3.5.5. Protein Ölçümü:**

Lowry'nin tarif ettiği yöntem kullanılmıştır (115) MDA için homojenatta, SOD için ekstraktta, GPx için süpernatantta protein miktarları ölçülmüştür.

#### **Kullanılan Reaktifler:**

- Stok NaHCO<sub>3</sub>; 0,1 mol/l NaOH içerisinde 2 g/dl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözüldü.
- Stok NaK tartarat solüsyonu; distile su içerisinde 2 g/dl NaK tartarat çözüldü.
- Stok CuSO<sub>4</sub> solüsyonu; distile su içerisinde 1 g/dl CuSO<sub>4</sub> çözüldü.
- A reaktifi; 98 birim stok NaCO<sub>3</sub>, 1 birim stok NaK tartarat solüsyonu, 1 birim stok CuSO<sub>4</sub> solüsyonu karıştırıldı.
- B reaktifi; 1 birim folin-ciocalteu fenol reaktifi eş miktarda distile su ile karıştırıldı.

1 g/dl ile 16 mg/dl arasında seri standartlar bovin serum albumin (BSA) ve distile su kullanılarak hazırlandı. 10µl örnek konmuş tüplere 90µl distile su eklendi. Kör çalışması için 2 adet tüpe 100'er µl distile su kondu. Standartların her birinden ise 100 µl kullanıldı.

### **Yapılan İşlem:**

100 µl örnek bulunan her tüpe 1 ml. A reaktifinden eklenerek 30 dk oda ısısında beklendi. Sonra her tüpe 100µl B reaktifinden eklendi. Tekrar 30 dk oda ısısında bekletildi ve spektrofotometrede 595 nm dalga boyundaki absorbanans değeri okundu. Bulunan değer standart miktarlarda protein içeren karışımlara göre hazırlanan xy dağılım grafiği ile karşılaştırılarak (kalibrasyon grafiği) her bir örneğin içerdiği protein değerine ulaşıldı.

### **3.5.6.Malondialdehid (MDA) Ölçümü**

MDA ölçümü Okhawa ve arkadaşlarının tarif ettiği yöntemle yapıldı (116)

#### **Kullanılan reaktifler:**

% 10'luk triklorasetik asit (TCA)

% 0.675'lik tiyobarbitürik asit (TBA)

### **Yapılan işlem:**

Ağız kapaklı tüplere 2,5 ml %10'luk TCA ve 0,5 ml akciğer dokusu homojenatı konularak vorteksle karıştırıldı. Kör için ayrılan tüpe yara homojenizatı yerine 0,5 ml distile su konuldu. 90 °C'lik sıcak su banyosunda 15 dakika inkübe edildikten sonra tüpler çeşme suyuyla yıkanarak soğutuldu. Daha sonra 3000 x g'de 20 dakika santrifüj edildi.

Santrifüj işlemi bittikten sonra oluşan süpernatantlardan 2 ml alınarak üzerine % 0.675'lik TBA eklenip vorteks yardımı ile karıştırıldı. Tüplerin ağız kapatılarak 90°C'lik sıcak su banyosunda 15 dakika tekrar inkübe edildi. Sıcak su banyosundan çıkarılan tüpler çeşme suyuyla yıkanarak soğutulan tüpler 532 nm'de spektrofotometre cihazında köre karşı okundu. TBA-MDA

kompleksinin ekstinksiyon katsayısından ( $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ) yararlanılarak nmol/g-prot cinsinden MDA değerleri hesaplandı

### 3.5.7. Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşları tarafından tarif edilen yöntemle ölçüldü (117). SOD ölçümü için gereken ekstraktlar şu şekilde elde edildi; Homojenatlar 3220 rpm'de 30 dakika  $+6^\circ\text{C}$  soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Süpernatant 1:1 oranında kloroform/etanol (3:5 oranında) ilavesi yapılarak vorteks cihazı yardımı ile karıştırıldı. Bu tüpler, 3220 rpm'de 40 dakika  $+4^\circ\text{C}$ 'de santrifüj edildi.

Santrifüj sonrası ekstrakt dediğimiz üste kalan sıvı SOD ölçümü için kullanıldı.

Kullanılan Reaktifler:

0.3 mmol/l Xantine

0.6 mmol/l EDTA (2 sodyum tuzu)

150  $\mu\text{mol/l}$  nitro blue tetrazolium (NBT)

1g/l BSA ve 400 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

Yukarıda hazırlanan kimyasal çözeltilerin hepsi karıştırılarak ASSAY reaktifi elde edildi.

0.8 mmol/l  $\text{CuCl}_2$

2 M  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

167 U/l Xantine Oxidase (XO)

Tüm bu reaktifler hazırlandıktan sonra aşağıdaki çizelgede belirtilen oranlarda karıştırıldı.

Bu işlemde sonra 25°C'de 20 dakika inkübasyondan hemen sonra 0.08 mmol/L olarak hazırladığımız CuCl<sub>2</sub> çözeltisinden tüm tüplere 1 ml eklendi. Daha sonra spektrofotometre cihazında 560 nm dalga boyunda distile suya karşı absorban sınırlanarak körün ve numunelerin absorban değerleri okundu.

Bulunan absorban değerleri aşağıdaki formülde yerine konarak SOD miktarı hesaplandı.

$$((K - N)/N) \times D \times 20 / E = \text{SOD miktarı U/mg}$$

K=körün absorbanı, N=numune absorbanı, D=dilüsyon miktarı

E=ekstrakt protein miktarı mg/ml

**Tablo 3.1.** Süperoksit Dismutaz (SOD) Ölçümü İçin Kullanılan Reaktif ve Numuneler

	Kör (mL)	Numune (mL)
ASSAY reaktifi	2.85	2.85
Ekstrakt numune	-	0.10
Bidistile su	0.10	-
167 U/L XO	0.05	0.05

### 3.5.8. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü (GSH-Px):

GSH-Px aktivitesi düzeylerinin ölçümü Paglia'nın tarif ettiği yöntemle yapıldı (118).

#### **Kullanılan Reaktifler:**

GPx tamponu: pH=7'de 50mM'lık fosfat tamponu içinde 5 mM EDTA konsantrasyonu olacak şekilde hazırlandı.

### 3.2 M Amonyum Sülfat: Distile suda çözüldü.

150mM redükte Glutasyon (GSH): GPx tamponunda çözüldü.

8 mM redükte NADPH: GPx tamponunda çözüldü.

1 M Sodyum Azid: GPx tamponunda çözüldü.

GSH-Redüktaz enzimi: 1,5 ml 3.2 M amonyum sülfat solüsyonu içine 50 il glutasyon redüktaz katılarak hazırlandı. Reaktifler hazırlandıktan sonra aşağıdaki çizelgede belirtilen oranlarda karıştırıldı. Bu işlemden sonra 30 dakika oda ısısında bekletildi. 2mM hidrojen peroksit 100 il katılarak karıştırılan solüsyon 340 nm ayarlanmış spektrofotometre cihazında

absorbanslar 5 dakika süreyle 15'er saniye arayla kaydedildi. Lineer aktivite azalışının olduğu absorbans aralığının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesap yapıldı. Bulunan değerler aşağıda belirtilen formüle koyularak GPx miktarı hesaplandı.

$$((A1-A2/T) \times D \times 24100) / P \times 1000 = \text{GPx miktarı U/mg protein}$$

A1= ilk okunan absorbans, A2=1 dakika sonra okunan absorbans

T=zaman, D=dilüsyon miktarı, P=süpernatant protein mg/ml

**Tablo 3.2.** Glutasyon Peroksidaz Ölçümünde Kullanılan Reaktif ve Numuneler

Kullanılan Reaktif	Konulan Miktar (mL)
Fosfat tamponu (pH 7, 50 mM) 5 mM EDTA'lı	2.650
150 mM Redükte GSH	0.100
8 mM NADPH	0.100
GSH-Redüktaz	0.010
1 M NaN <sub>3</sub> (sodyum azid)	0.010
Numune (süpernatant)	0.020

## 4. BULGULAR

Araştırmamızın amacı HBO ve normobarik oksijen tedavisinin sepsis oluşturulan ratlarda, oksidatif stres parametreleri ve sitokinler üzerindeki etkisini araştırmak, karşılaştırmak olup, bu amaçla her biri 10 rattan oluşan dört grup oluşturulmuştur.

### **Gruplar;**

1. Sham grubu; İntraperitoneal serum fizyolojik uygulanan grup,
2. Kontrol grubu; Sepsis indüksiyonu sonrası CEF uygulanan grup
3. HBO grubu; Sepsis indüksiyonunu müteakiben HBO+CEF tedavisi verilen grup,
4. NBO grubu; Sepsis indüksiyonunu müteakiben NBO+CEF tedavisi verilen grup.

### **4.1. Sepsis indüksiyonu**

E.Coli kullanılarak sepsis oluşturulan üç grupta da (Grup 2, Grup 3 ve Grup 4) önceden tanımlanan rat sepsis modeli oluşturulmuştur. Sepsis oluşturulan gruplarda ortalama beyaz küre sayısı  $20600 \pm 3400$ , ortalama rektal ısı ölçümü  $38.9 \pm 1.5$  C, ortalama kalp hızı  $154 \pm 15$  /dakika, ortalama solunum sayısı  $100 \pm 16$  olarak tespit edilmiştir

## 4.2. Biyokimyasal ve istatistiksel değerlendirme

Verilerin ortalama değerleri ve standart ortalama hataları (mean±SEM), istatistiksel anlamlı farklılıkları gösteren değerlerle birlikte aşağıda sunulmuştur (Tablo 5). Tüm gruplarda, sakrifikasyon esnasında alınan kan ve doku örneklerinde sepsis sürecinde belirleyici olduğu düşünülen TNF- $\alpha$  düzeyleri oksidatif stres parametreleri (SOD, MDA, GSH-Px) düzeyleri çalışılmıştır.

E.Coli ile sepsis oluşturulan grublarda (Grup 2,3,4) ratların kan örneklerinde doku antioksidan kapasitesinin indirekt göstergesi olan SOD düzeyleri, kontrol grubu sham grubuna göre anlamlı şekilde azalmış, HBO ve NBO tedavisi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artırmıştır ( $p<0.05$ ). HBO ve NBO tedavisi alan grublarda ise, birbirleri arasında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil6)

Ayrıca doku hücre membran hasarının indirekt göstergesi olarak kabul edilen MDA düzeyleri de kontrol grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ( $p<0.05$ ) yüksek olarak tespit edilmiş, HBO ve NBO tedavileri sonrasında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş elde edilmiştir ( $p<0,05$ ). HBO ve NBO tedavisi MDA düzeyi üzerinde birbirleri arasında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil5).

Doku antioksidan kapasitesinin indirekt göstergesi olan GSH-Px düzeyleri kontrol grubun sham grubuna göre anlamlı şekilde azalmış ( $p<0.05$ ), HBO ve NBO tedavisi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artış gözlenmemiştir ( $p<0.05$ ), Yine HBO ve NBO tedavileri GSH-Px düzeyi üzerinde birbirleri arasında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil7).

Başka bir deyişle HBO ve NBO tedavileri, deneysel E.Coli sepsis indüksiyonunun neden olduğu doku oksidatif stres artışını ve doku membran hasarını belirgin olarak iyileştirmiştir, birbirlerine üstünlükleri gösterilmemiştir.

TNF- $\alpha$  konsantrasyonları, kontrol grubunda sham grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde artmış ( $p<0.05$ ), HBO ve NBO tedavisi istatistiksel anlamlı şekilde seviyesi düşürmüştür. HBO tedavisi NBO tedavisine göre TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarını anlamlı şekilde düşürmüştür( $p<0.05$ )(Şekil 8). Bu sonuçlar deneysel E.Coli ile indüklenen sepsis modelinde HBO ve NBO tedavilerinin sistemik olarak faydalı etkilerinin olabileceğine işaret etmektedir. Tüm bu sonuçlara rağmen çalışmamız tasarlanış itibariyle bir sürvi çalışması olmadığından, HBO ve NBO tedavilerinin sepsis seyri üzerindeki sistemik etkilerinin belirlenmesi mümkün olmamıştır

**Tablo. 4.1.** Akciğer dokusu oksidan-antioksidan ve serum TNF- $\alpha$  sonuçları  
(Ortanca $\pm$ Standart sapma)

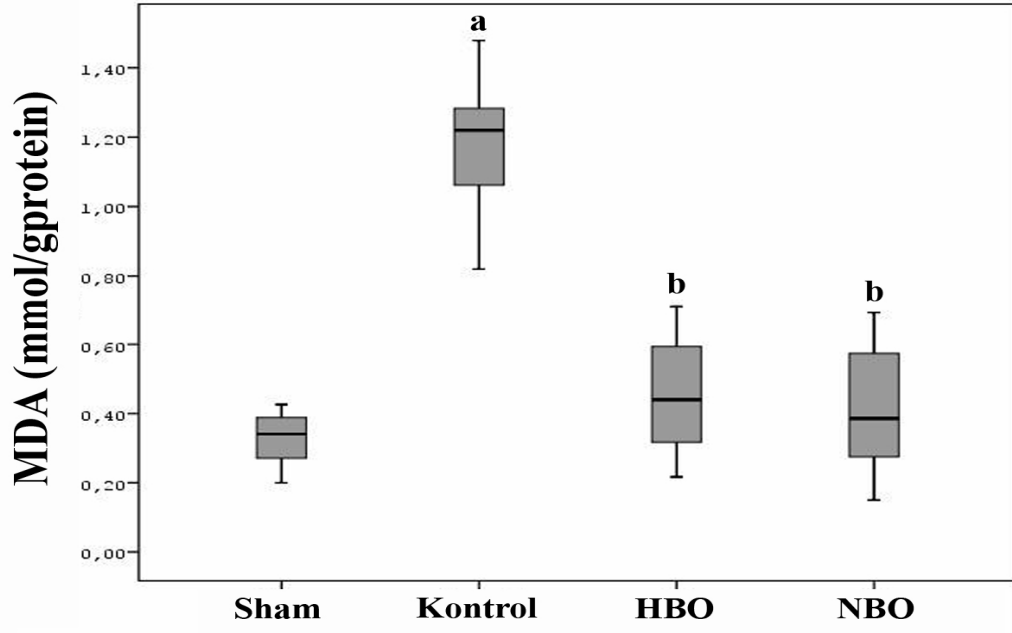
Gruplar	MDA (mmol/gprotein)	SOD (U/gprotein)	GSH-Px (U/gprotein)	Serum TNF- $\alpha$ (pg/ml)
Sham	0,34 $\pm$ 0,09	136,38 $\pm$ 25,80	17,64 $\pm$ 4,48	67,36 $\pm$ 34,49
Kontrol	1,22 $\pm$ 0,20 a	49,41 $\pm$ 12,23 a	7,36 $\pm$ 2,60 a	281,06 $\pm$ 165,10 a
HBO	0,44 $\pm$ 0,17 b	94,76 $\pm$ 14,55 b c	9,28 $\pm$ 2,78 c	242,07 $\pm$ 73,24 b c
NBO	0,39 $\pm$ 0,18 b	83,92 $\pm$ 14,66 b c	7,53 $\pm$ 4,20 c	206,83 $\pm$ 48,99 c

a: Sham grubuna göre Kontrol grubunda anlamlı artma veya azalma ( $p<0.05$ )

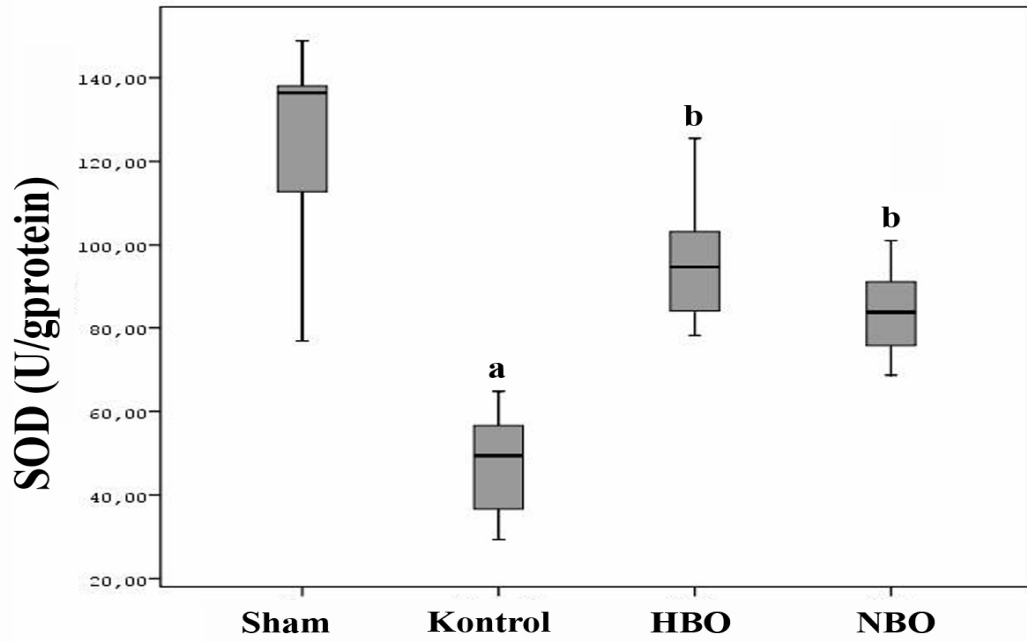
b: Kontrol grubuna göre HBO ve NBO gruplarında anlamlı artma veya azalma ( $p<0.05$ )

c: Sham grubuna göre HBO ve NBO gruplarında anlamlı artma veya azalma ( $p<0.05$ )

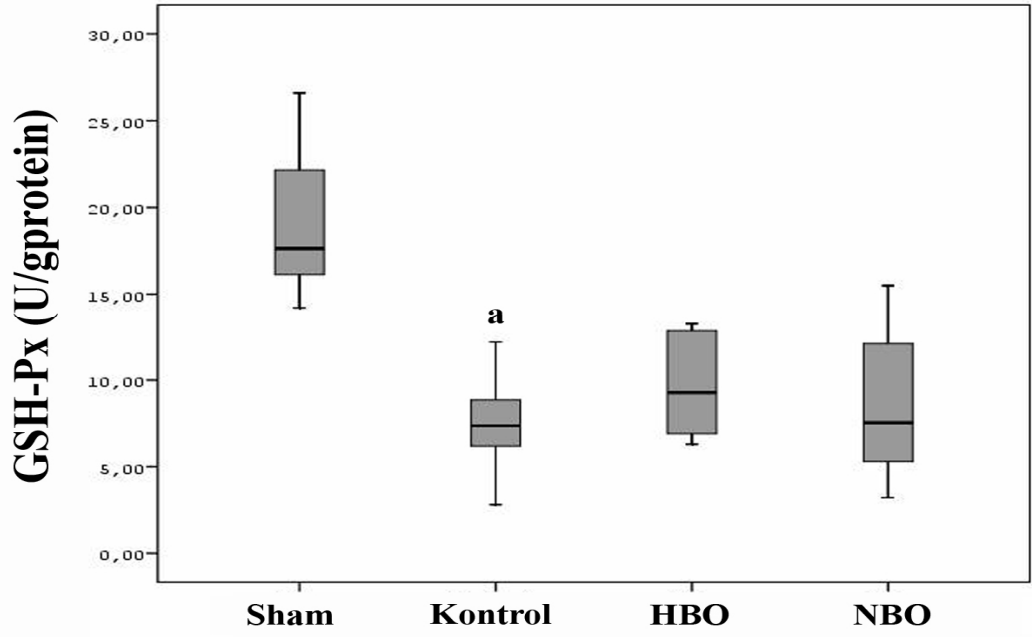
d: NBO grubuna göre HBO grubunda anlamlı artma veya azalma ( $p<0.05$ )



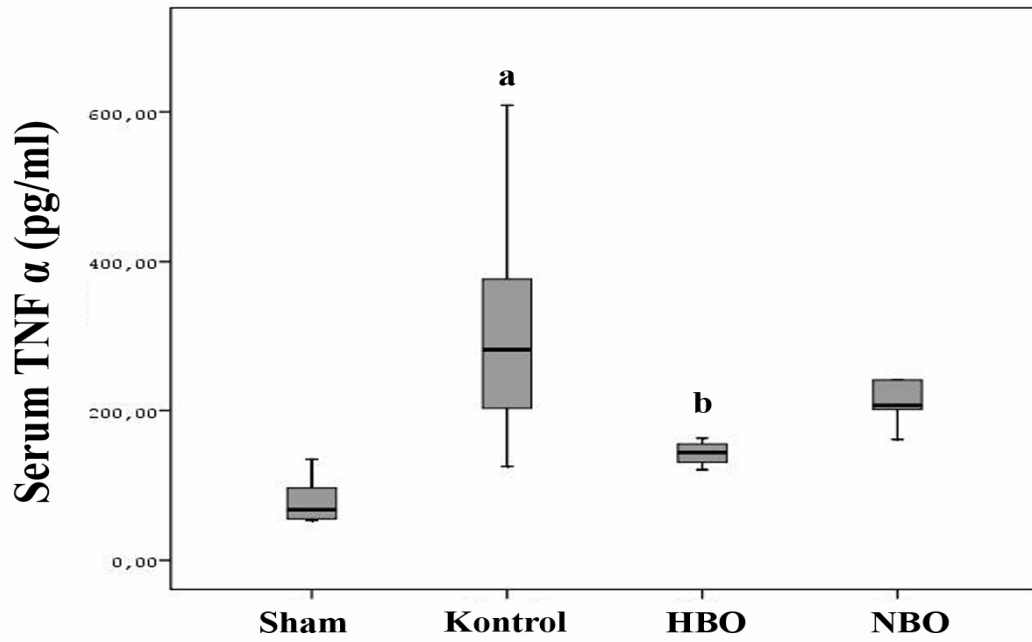
Şekil 4.1. Tüm gruplarda MDA düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 4.2. Tüm gruplardaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 4.3. Tüm gruplarda GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 4.4. Tüm gruplardaki TNF- $\alpha$  düzeylerinin karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA

Ciddi sepsis ve septik şok mortalitesi son yıllarda geliştirilen yeni tedavi modalitelerine rağmen yüksek seyrini korumaktadır. Sepsis, hipotansiyon, hipoperfüzyon ve organ disfonksiyonundan oluşan üç başlı bir canavar olarak tanımlanabilir. Sepsis tedavisinde en uygun yolu bulmak için her gün yeni çalışmalar yapılmakta ve bunların sonuçları ile tüm dünyada ortak bir yol, konsensus sağlanmaya çalışılmaktadır. Şüphesiz ki sepsis sendromları tedavi etmeye çalışan sağlık çalışanları, bunun ne kadar zor, karmaşık ve uzun bir yol olduğunu bilmektedirler.

Bizim çalışmamızda deneysel sepsis modelinin sağlanması amacıyla kontrollü inokülasyon modeli seçilmiş olup, en sık kullanılan gr(-) bakteri olan E.Coli seçilmiş, kültür ortamında hazırlanıp emülsiyon haline getirilen materyalin tek doz halinde bolus tarzında verilmesi ile oluşturulmuştur. İnokülasyon modelleri, bakteriyemi modellerine göre infeksiyon ve inflamasyonun devamlılık gösterdiği bir odak oluşturduğunda intraabdominal mikroçevrenin gerçekçi şekilde taklit edilmesini sağlamaktadır. Bu modelde hayvanlar için erken dönemde önemli derecede ölüm riski vardır ve bu risk intoksikasyona bağlıdır. Antibiyoterapi bu ölüm riskini azaltamaz(119,120). Keza bizim ön çalışmamızda periton boşluğuna kontrollü inokülasyon metodu ile bakteri verilmiş, muhtemel intoksikasyon sonrası bütün ratlar (12 adet rat) ölmüştür.

Bir çok çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da, deneysel sepsis modelinde en sık kullanılan rat modeli olan Wistar-Albino (97) seçilmiş olup, hormonal olayların mevcut bulguları etkilememesi, yalancı pozitif ve negatif sonuçların önlenmesi amacı ile erkek cinsiyet seçilmiştir.

HBO tedavisi, izole bir basınç odasında hastaya deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan (1 ATA [atmosphere absolute] = 760 mmHg) daha fazla bir basınçta %100 oksijen solutulması ile uygulanan bir tedavi şeklidir.

HBO stres altındaki hücelere oksijen sunan bir tekniktir, dokuların bozulmuş oksijen transport kapasitesini düzeltmektedir(121). Ayrıca, antioksidan ürünlerin oluşumunu arttırmakta, aktive fibroblastlardan vasküler endotel büyüme faktörü ve kollajen üretimini arttırarak anjiogenezisi aktive etmekte, lökositlere oksidatif fonksiyonlar için ihtiyaç duyduğu oksijeni sağlayarak infeksiyon karşıtı aktivite gösterip mikroorganizma çoğalmasını önleyici bir ortam oluşturmakta, doku hipoksisi sonrası gelişen iskemi ve ödemi elimine etmekte, vazokonstrüktör etki ile de ödemi azaltmaktadır (122,123,124).

Reaktif oksijen türevleri, sepsiste, DNA'ya zarar vererek çapraz bağlantılı hücrel proteinlerin ve lipit membranının peroksidasyonu sonucu doku hasarı meydana getirir. Lipit peroksidasyonu sonucunda membran akışkanlığını azalır, geçirgenliği artar, hücre bütünlüğü ve hayati hücre fonksiyonları bozulur. Sonuç olarak, sepsisli olgularda multiorgan yetmezliği, ARDS gibi tabloların ortaya çıkması bu mekanizmalar sonucunda olur (125).

Sepsis sırasında akvite edilen kan hücreleri, farklı parankim hücreleri ve vasküler hücreler tarafından çeşitli inflamatuvar mediyatörler salınmaktadır. Bu mediyatörlerin ekspresyonunun kontrolü normal homeostaz ve konak savunması için oldukça önemli olarak görülmektedir, mikrodolaşımın neredeyse tüm hücrel komponentleri üzerine etki ederler (126). Bu süreçte mikrodolaşım fonksiyonları ileri derecede bozulur ve kan akımında çeşitli özelliklerde anormallikler görülür (127,128). NO sistemi, farklı organlarda vasküler tonusun fizyolojik olarak düzenlenmesinde merkezi bir role sahip olub, sepsiste ileri derece bozulur (129,130). Bu bozulma, akımın patolojik olarak şantlara yönelmesine neden olmaktadır, bunun temel nedeni'inducible nitric oxide synthase'(İNOS) ekspresyonunun organ yataklarının farklı alanlarında heterojen seyretmesidir, iNOS bulunmayan alanlarda NO kaynaklı vazodilatasyon oluşmaz ve perfüzyon bozulur (131).

Bahsi geçen tüm mekanizmalar eşliğinde patogeneizde rol oynayan faktörler, sepsis tedavisinde tedavi hedefi olarak alınmaya başlanmış ve yeni

tedavi seçeneklerinde bu mekanizmalara etki edecek tedaviler üzerinde odaklanmaya başlanılmıştır.

Sepsis tedavisi için özellikle NBO ve HBO tedavilerini karşılaştıran çalışma literatürde mevcut değildir. Bu çalışma ve planlanacak diğer çalışmalarla maliyeti yüksek HBO tedavisinin NBO tedavisine belirgin üstünlüğü gösterilemezse antibiyoterapiye kombine olarak adjuvan tedavide kullanılması gerekliliği veya olmazsa olmazlığı düşüncesinden uzaklaşabileğinden dolayı önem taşımaktadır.

HBO tedavisinin tek başına ya da bir başka tedavi ile birlikte kullanımının faydalı olduğu bir çok endikasyon vardır(122). Radermacher ve arkadaşları intraperitoneal injeksiyon ile deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda HBO tedavisi ile kombine CEF tedavisi verilmesi sonucunda supra atmosferik düzeyde oksijen verilmesinin, anti-oksitadif enzimlerin ekspresyonunu arttırdığı ve bunun yanında büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin yapımını düzenlediğini bildirmişlerdir(132). Supra atmosferik basınçlarda saf oksijen solumanın bu etkileri araştırmacılara HBO'nun karbonmonoksit (CO) zehirlenmesi ve iskemi/reperfüzyon hasarındaki yararlı etkilerini açıklamalarına öncülük ederken sistemik inflamasyon üzerindeki etkilerini araştırmak için yeni bir kapı açmıştır. Bu çalışmada HBO tedavisi bir adjuvan tedavi olabileceği sepsisli ratlarda antibiyotik tedavisi ile kombine edilmesinin yararlı olabileceği vurgulanmıştır. Bizde çalışmamızda sham grubu hariç tüm grublarda HBO ve NBO tedavileri ile kombine CEF uygulamış olup, gerek sitokin düzeyinde gerekse antioksidan/oksidan parametreler üzerinde iyileştirici olduğu lehine yorumlanabilecek anlamlı değişiklikler elde ettik.

HBO halen birçok inflamatuvar durumda ve iskemik doku hasarında yardımcı tedavi olarak kullanılmaktadır. Luongo ve arkadaşlarının yaptıkları hayvanlar üzerinde yaptıkları çalışmada zymosan (*Saccharomyces cerevisiae* mayasının duvar bileşeni) ile oluşturulan non-endotoksik ve non-bakteriyel şokta HBO'nun semptomları azalttığı, TNF-alfa ve NO seviyelerini

düşürdüğü ve sağ kalımı uzattığı görülmüştür. (Luongo ve arkadaşları, 1998). Son çalışmalarda HBO'nun monosit makrofajlardaki pro-inflamatuar sitokinleri azalttığı tespit edilmiş olup, bunun da ötesinde deneysel nekrotizan pankreatit oluşturulmuş ratlarda yapılan bir çalışmada da HBO'nun SOD ve GSH-Px düzeyleri üzerinde etkili oldukları gösterilmiştir (Yaşar ve arkadaşları, 2003). Bizim çalışmamızda deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda HBO tedavisi sonrası SOD düzeylerini NBO tedavisi ile birlikte anlamlı şekilde artırmış olup, antibiyotik tedavisi verilen kontrol grubuna göre GSH-Px düzeyinde anlamlı değişiklik oluşturmamıştır.

YÜCEL ve arkadaşları tarafından, ise, deneysel peritonit yapılarak sepsis tablosu oluşturulan ratlarda normobarik oksijen tedavisi incelenmiş; özellikle antibiyoterapi eklenmiş ratlarda olumlu sonuçlar alınmıştır (98). Yapılan çalışmalar sonucu NBO tedavisi Surviving Sepsis Campaign 2008 kılavuzunda klasik tedavinin bir parçası olarak ele alınmıştır. Çalışmamızda deneysel sepsis oluşturulan ratlarda verilen NBO tedavisinin gerek sitokin seviyesinde gerekse serbest radikal toksisitesi sonucu antioksidan enzim olan SOD ve oksidatif stres parametresi olarak da MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak düzelme saptanmış, hatta HBO tedavisi ile karşılaştırıldığında oksidatif stres ve serbest radikallere etki bakımından fark bulunamamıştır.

Figen ve arkadaşları, yaptıkları çalışmalar sonrasında sepsis ciddiyeti ile TNF- $\alpha$  seviyeleri arasında pozitif yönde bir ilişki mevcut olduğunu başka bir deyişle ciddi sepsisli olgularda TNF- $\alpha$  seviyeleri daha yüksek olarak tespit etmişlerdir. Budak ve arkadaşları ise, yaptıkları çalışmada da deneysel sepsis modelinde HBO tedavisinin sitokin düzeylerine etkisini araştırmışlar, çalışmalarında da elde ettikleri bulgulara göre, sepsiste HBO tedavisi proinflamatuar yanıtta azalma, antiinflamatuar yanıtta ise artışa yol açmaktadır. HBO tedavisinin sepsiste etkili bir adjuvan tedavi olarak kullanılabileceği kanaatine varmışlardır(152). Bizim çalışmamızda ise HBO ve NBO tedavileri proinflamatuar yanıtın bir göstergesi olan TNF- $\alpha$  düzeyi üzerinde, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalma sağlamış olup, HBO

tedavisi NBO tedavisine göre daha anlamlı biçimde düşme sağladığı tespit edilmiştir. Bu durum oksijen basıncının artmasına paralel sepsis şiddetinin azalması lehine de yorumlanabilir. Böylece bizim çalışmamızın sonuçları, sepsis tedavisinde adjuvan bir ajan olarak HBO ve NBO kullanılması açısından umut verici olup, şartlar sağlanması durumunda sepsis tablosundaki hastalara HBO tedavisi adjuvan olarak uygulamak daha yararlı olabileceği çıkarılabilir. Ancak rutine girebilmesi için bir çok ileri araştırmaya ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalar neticesinde HBO uygulamasının reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumunu artırdığını vurgulamıştık. HBO uygulaması 2 ATA basınç altında dahi serbest oksijen radikali üretimi sonucu oksidatif strese yol açmaktadır (133,134). Ancak, HBO uygulamaları genellikle 2 ATA basınç üzerinde yapılmaktadır (135). Gülhane Askeri Tıp Akademisi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda daha önce yapılmış bir tez çalışmasında (136,150) ise HBO kaynaklı oksidatif stres konusu incelenmiş ve sonuçta HBO tedavisinin maksimal koşulları olan 3 ATA'da 2 saatlik uygulamanın önemli ölçüde oksidatif stres ile sonuçlandığı (137), bu şekildeki akut uygulama yerine daha düşük süre/basınç altındaki seanslarla kronik dönem uygulamalarda oksidatif etkinin derecesinde önemli ölçüde azalma görüldüğü (138) ve HBO'nun bu oksidatif etkisinden ise maruz kalınan yüksek basınçtan çok saf oksijen solunumununun sorumlu olduğu ortaya konmuştur (139). Bu bulgular üzerine gerçekleştirilmiş devam çalışmalarında ise akut HBO uygulamasına bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stresin ciddi ölçüde uygulama basıncına (140) ve süresine (141,142) bağlı ve doğru orantılı olduğu görülmüştür. Bunun yanında, yer yer aksi yönde görüş bildirmiş araştırmacılar da yok değildir; örneğin, Jamieson (133), HBO uygulanan (%100 O<sub>2</sub>; 4,5–6 ATA; 30 dk) farelerde akciğer ve beyin dokularında lipid peroksidasyonu görülmediğini rapor etmiştir. Noda ve McGeer (143) ise HBO uygulamasından hemen sonra lipid peroksidasyonunun önemli derecede (%22) arttığını, ancak bu artışın geçici bir durum olduğunu ve HBO'dan 3 saat sonra yapılan ölçümlerde, MDA düzeylerinin eski seviyesine döndüğünü ifade etmişlerdir. Benzer şekilde, Fizyoloji BD'da daha önce yapılmış çalışmalarda HBO

kaynaklı oksidatif stresin sıçanların gerek beyin dokusunda (145) gerekse akciğerinde (144) en geç uygulama sonrasındaki 1,5 saat içinde ortadan kalktığı gösterilmiştir.

Öte yandan, oksidatif stres artışı ile seyreden birçok farklı patolojik durumda, örnekler verecek olursak pankreatit (146), sistit (147), sepsis (97), nefrit (148), kolit (149) gibi inflamatuvar durumlarda, HBO'nun bu artmış stresi baskılayabildiği de görülmüştür. Şu halde ortaya bir paradoks çıkmaktadır; yani HBO uygulaması bir yandan oksijenin birincil oranda etkilediği organlar olan akciğer ve beyinde oksidatif stres oluşturmakta iken, diğer yandan patolojik durumlarda ortaya çıkan oksidatif stresi, sağladığı oksijen desteği ile ilgili patolojiyi ters yönde etkileyebilmesi sonucunda, azaltabilmektedir. Dolayısıyla HBO ve oksidatif stres konulu bilimsel araştırmalar incelenirken hem fizyolojik hem de patolojik yönden bakılarak ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Çalışmamızda Pedoto ve arkadaşlarının uyguladıkları çalışmada bahsedilen metod gibi, (ayrıca Deniz ve Su Altı Hekimliği'nin koordinesinde) 2,8 ATA basıncında 90 dk HBO verilmiştir. NBO tedavisi ise chamber girişi ayarlandıktan sonra 1ATA basıncında 90 dk uygulanmıştır. Deneysel sepsis tablosu sonrası oluşan, oksidatif stres belirteci olarak MDA düzeyleri üzerinde kontrol düzeyine göre belirgin olarak azaltmış olup, iyileştirici olarak tanımlanabilen etkisi gözlemlenmiştir. HBO ve NBO tedavileri açısından fark bulunmaması ise maruz kalınan yüksek basınçtan çok saf oksijen solunumunun sorumlu olduğu görüşünü burada doğrulayabilir.

Bizim çalışmamızın sonuçlarını özgün kılan NBO ve HBO tedavilerinin antioksidan, antiiskemik ve antiinflamatuvar etkilerini E.Coli indüklenen deneysel rat sepsis modelindeki inceleyen ilk çalışma olmasıdır. Mevcut iki tedavi sonucunda sepsiste rol alan proinflamatuvar sitokinler ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri araştırılmış, birbirleriyle karşılaştırılmış sonuçta aralarındaki farklılıkların çok anlamlı olmadığı, elde edilmesi daha zor, toleransı ve uygulanımı daha meşakkatli olan HBO tedavisinin NBO tedavisine bariz bir üstünlüğü gösterilememiştir. Ancak, bu her iki tedavileri

ve etkilerini karşılatırarak daha ayrıntılı, geniş kapsamlı ve farklı metodolojili çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda şu bulgular elde edilmiştir;

1. YBÜ'lerinde sepsis tıbbi gelişmelere rağmen halen en sık ölüm nedenidir, erken tanı ve hızlı tedavi önemlidir
2. NBO tedavisi kolay uygulanabilir, çok geniş uygulama alanları olan ve sepsis tedavisinde rutin uygulanan adjuvan bir tedavi yöntemidir
3. HBO tedavisi bir çok hastalıkta kullanım alanı olan, sepsis tedavisinde deneysel modellerde kullanımı olumlu sonuçlar veren, lökositlerin savunma kapasitesinin artırılması, lökositlerin damar duvarına yapışma özelliğinin azaltılması, fibroblast büyümesi ve kollajen üretiminin artırılması, antioksidan SOD enzimi yapımının uyarılması, hücrede ATP'nin korunması, osteoklast aktivitesinin artırılması, kapiller proliferasyonun artırılması gibi mekanik ve oksijen çözünürlüğünü artırıcı etkisine ek birçok etki mekanizması bulunan, elde edimi zor, uygulanması meşekattli bir yöntemdir
4. E.Coli kullanarak uygulanan kontrollü inokülasyon modeli ile ratlarda sepsis indüksiyonu, ideal bir deneysel sepsis yöntemidir.
5. HBO ve NBO tedavileri, sepsisteki olaylar zincirinde anahtar rol oynayan TNF- $\alpha$  seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya yol açmıştır.
6. HBO ve NBO tedavileri, hücre membran hasarının indirek bir göstergesi olarak kabul edilen MDA düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden olmuştur.
7. HBO ve NBO tedavileri, doku antioksidan kapasitesinin indirek göstergeleri olarak kullanılan SOD seviyelerinde istatistiki olarak anlamlı düzeyde artışa neden olmuştur.

8. HBO ve NBO tedavileri, doku antioksidan kapasitesinin indirek göstergeleri olarak kullanılan GsH-Px seviyelerinde istatistiki olarak anlamlı düzeyde değişiklik yapamamıştır.
9. HBO ve NBO tedavileri sonucunda doku MDA, SOD ve GsH-Px düzeyleri üzerinde birbirleine üstünlük oluşturacak anlamlı düzeyde değişiklik saptanmamış, TNF- $\alpha$  seviyelerinde HBO tedavisi anlamlı bulunmuş olup, maruz kalınan yüksek basınçtan çok saf oksijen solunumunun sorumlu olduğu görüşü ortaya konulabilir.
10. YBÜ'lerinde HBO ve NBO tedavileri arasında etkinlik bakımından çok fazla bir farkın olmadığı, daha az invaziv ve elde edimi kolay NBO tedavisinin sepsis tedavisinde adjuvan olarak HBO kadar etkin olabileceğini bu çalışma sonrasında söyleyenebilir.
11. Çalışmamız; sepsis tedavisinde HBO ve NBO tedavilerini karşılaştıran ilk çalışmadır.
12. Sepsis tedavisinde HBO ve NBO tedavilerini karşılaştırılmasına yönelik kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

### Kitap:

21. Doğanay M. Gram negatif bakteri sepsislerinde patogenezi ve tedavi. In: Tümbay E, Ang Ö, Karakartal G, yazarlar. 1. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı. İzmir: Bilgehan basımevi; 1987:48
63. Erikçi S, Mas R, Cömert B, Yamanel L, Ünal T. 21.Yüzyılda Sepsis Gerçeği. Çetin Ofset A.Ş. 2006; s: 63-75
81. Jain KK. Textbook of Hyperbaric Medicine. 2nd Revised Ed. 1996. Pg:2
83. Jain, K.K.: Physical, Physiological, and Biochemical Aspects of Hyperbaric Oxygenation. In: Textbook of Hyperbaric Medicine, Part 1, Hogrefe & Huber Publishers, 9–20, 2004.
84. Kindwall, E.P., Whelan, H.T.: Hyperbaric Medicine Practise. Second Edition Revised. Best Publishing Company. 2002
135. The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report by John J. Feldmeier, Chairman and Editor. Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc., Kensington, MD, 2003

### Dergi makalesi

1. Sepsis ve Septik Şok, Uz. Dr. Gökhan AYGÜN, Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No: 31 • Kasım 2002; s. 131-140
2. Sepsis Gelişimini Kolaylaştıran Faktörler Ve Sepsis Patogenezi A.Atahan ÇAĞATAY, Ankem Derg 2006;20(Ek 2):43-46.
3. Silva E, Passos R, Ferri M, et al. Sepsis: from bench to bedside Clinics. 2008; 63(1): 109-20.
4. Balk RA. Severe sepsis and septic shock: definitions, epidemiology and clinical manifestations. Crit Care Clin. 2000; 16: 179-92.
5. The immunology of sepsis, Journal of Pathology, J Pathol 2008:211-223 S Sriskandan and DM Altmann

6. Balk RA. Optimum treatment of severe sepsis and septic shock: evidence in support of the recommendations. *Dis Mon.* 2004; 50: 163-213.
7. 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
8. Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time? *Crit Care Med* 1998; 26: 2078-86
9. Matot I, Sprung CL: Definition of sepsis, *Intensive Care Med* 2001;27 (Suppl 1):S3-9
10. Vincent JL, Abraham E. The last 100 years of sepsis *Am J Resp Crit Care Med.* 2006; 173: 256-263
11. 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
12. 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.
13. 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.
14. Angus D, Pereira CAP, Silva E. Epidemiology of severe sepsis around the world. *Curr Drug Targets Immune Endoc. Metabol.* 2006;6:7-16.
15. 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.
16. 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).
17. Pinsky MR: Pathophysiology of sepsis and multiple organ failure: pro versus anti-inflammatory aspects, *Contrib Nephrol* 2004;144:31-43.

18. Aygün G, Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar İÜ. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No: 31 • Kasım 2002; s. 131-140
19. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Permigiani G, Reller LB. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997; 24:584-602.
20. Sriskandan S, Cohen J. Gram positive sepsis. Mechanisms and differences from Gram-negative sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1999;13: 397-412.
22. Hamill RJ, Maki DG. Endotoxin shock in man caused by gram-negative bacilli. In: Proctor RA, ed. *Handbook of Endotoxin*. Vol.4, Amsterdam: Elsevier; 1986:55
23. Pittet DL, Woolson N, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: A 6-year validated, population-based model. *Clin Infect Dis* 1997; 24:1068.
24. Weinstein MB, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: A comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adult. I. Laboratory and epidemiologic observation. *Rev Infect Dis* 1983;5:35
25. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B. Current Epidemiology of Septic Shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 168: 165.
26. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J (eds). *Infectious Diseases*. London: Mosby; 1999: volume one, section 2, 47.1-14.
27. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1999;115:457.
28. Bone RC. Gram-positive organisms and sepsis. *Arch Intern Med* 1994;154:26.
29. Doganay M. Sepsis Yeni Tanımlar Ve Patogenez. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi* 1996; 1:3.

30. Li H, Llera A, Malchiodi EL, Mariuzza RA: The structural basis of T cell activation by superantigens, *Annu Rev Immunol* 1999;17:435-66
31. Bannerman DD, Goldblum SE: Direct effects of endotoxin on the endothelium: barrier function and injury, *Lab Invest* 1999;79(10):1181-99.
32. White B, Schmidt M, Murphy C et al: Activated protein C inhibits lipopolysaccharide-induced nuclear translocation of nuclear factor kappaB (NF-kappaB) and tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) production in the THP-1 monocytic cell line, *Br J Haematol* 2000;110(1):13
33. Modlin RL, Brightbill HD, Godowski PJ: The toll of innate immunity on microbial pathogens, *N Engl J Med*. 1999;340(23):1834-5.
34. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*. 2000; 406: 782-7.
35. Vasselon T, Detmers P. A. Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun*. 2002; 70: 1033.
36. Opal SM, Huber CH. Bench-to-bedside review: toll-like receptors and their role in septic shock. *Crit Care*. 2002; 6: 125-36
37. Dinarello CA. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest*. 1997; 112: 321-9.
38. Cohen J. Adjunctive therapy in sepsis: a critical analysis of the clinical trial program. *Br Med Bull*. 1999; 55: 212-26.
39. Topham MK, Carveth HJ, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA: Human endothelial cells regulate polymorphonuclear leukocyte degranulation, *FASEB J* 1998;12(9):733-46
40. Rafi AQ, Zeytun A, Bradley MJ, Sponenberg DP, Grayson RL, Nagarkatti M, Nagarkatti PS: Evidence for the involvement of Fas ligand and perforin in the induction of vascular leak syndrome, *J Immunol* 1998;161(6): 3077-86.
41. 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.

42. 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.
43. Marsh CB, Wewers MD. The pathogenesis of sepsis. Factors Nitric oxide and sepsis that modulate the response to gram-negative bacterial infections. *Clin Chest Med* 1996; 17: 183–197.
44. Wright CE, Reeves DD, Moncada S. The protective and pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 48–57.
45. Levi M, Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med*. 1999; 341: 586-92.
46. Van der Poll T, de Jonge E, Levi M, van Deventer SJ. Pathogenesis of DIC in sepsis. *Sepsis*. 1999; 3: 103-10
47. Okajima K. Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. *Immunol Rev*. 2002; 184: 258-74.
48. Casey LC: Immunologic response to infection and its role in septic shock, *Crit Care Clin* 2000;16(2):193-213
49. Alberti S, Alvarez D, Merino S, Casado MT, Vivanco F, Tomas JM, Benedi VJ: Analysis of complement C3 deposition and degradation on *Klebsiella pneumoniae*, *Infect Immun* 1996;64(11):4726-32.
50. Rigato O, Silva E, Salomao R. Pathogenesis-Oriented targets for adjunctive therapy. *Curr Drug Targets Immune, Endocr Metabol*. 2006; 6: 7-16
51. 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.
52. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmiege 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.

53. 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
54. Döcke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN- $\gamma$  treatment. *Nature Med*. 1997; 3: 678-81.
55. 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.
56. Luce JM. Pathogenesis and Management of Septic Shock. *Chest* 1987; 91(6):883-88.
57. Rackov EC, Astiz ME. Pathophysiology and Treatment of Septic Shock. *JAMA* 1991; 266:548-554.
58. McFeely J, Hudson DL Sepsis, Multiple-Organ Dysfunction Syndrome, and Adult Respiratory Distress Syndrome in Humans. In: Kenneth L Brickham. *Lung Biology in Health and Disease*. Marcel Dekker Inc, New York, Volume 77; 1994: 321-349
59. Jimenez R, Belcher E, Sriskandan 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.
60. Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease. *Nat Immunol* 2004; 5: 975–979
61. Beutler B., Cerami A.: More than tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987; 316: 379-385
62. Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/ TNF- $\alpha$  primary mediator of the host response. *Ann Rev Immunol*, 1989; 7: 625-655
64. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, et al. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA*; 1995; 273: 117- 123

65. Fink MP, Heard SO. Laboratory models of sepsis and septic shock. *J surg Res.* 1990; 49: 186-196
66. Suffredini AF, Parker MM, Brenner M, et al. Endotoxin (E) administration produces abnormal cardiovascular (CV) responses in normal humans. *Clin Res.* 1987; 35: 68
67. Redl H, Bahrami S, Schlag G, Traber DL. Clinical detection of LPS and animal models of endotoxemia. *Immunobiol.* 1993; 187: 330-345
68. 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
69. Freise H, Brückner UB, Spiegel HU. Animal models of sepsis. *Journal of Investigate Surgery,* 2001; 14: 195-212
70. 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
71. 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
72. Cross AS, Opal SM, Sadoff JC, et al. Choice of bacteria in animal models of sepsis. *Infect Immun.* 1993; 61: 2741-2747
73. 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
74. 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
75. Kazarian KK, Perdue PW, Lynch W, et al. Porcine peritoneal sepsis: Modeling for clinical relevance. *Shock* 1994; 1: 201-212
76. Buras JA, Holzmann B, Sitkovsky M. Animal models of sepsis: Setting for the stage. *Nat Rev Drug Discov.* 2005; 4: 854-65

77. 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
78. Gill and Bell. Hyperbaric oxygen:Its uses, mechanisms of action and outcomes. *Association of Physicians QJM.* 2004; 97: 385-95
79. Scheinkestel C, Jones K, Myles PS, Cooper DJ, Millar IL, Tuxen DV. Where to now with carbon monoxide poisoning? *Emergency Medicine Australia (2004) 16,* 151-154
80. Gill and Bell. Hyperbaric oxygen:Its uses, mechanisms of action and outcomes. *Association of Physicians QJM.* 2004; 97: 385-95
82. Gökben M. Hiperbarik oksijen tedavisi. *Anestezi Dergisi* 2001; 9(4): 237-244
85. Hunt TK. The physiology of wound healing. *Ann Emerg Med.* 1988 Dec;17(12):1265-73
86. 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
87. Park MK, Muhvich KH, Myers RA, Marzella L. Hyperoxia prolongs the aminoglycosides-induced postantibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991 Apr; 35(4): 691-5
88. Saunders PJ. Hyperbaric oxygen therapy in the management of CO poisoning, osteoradionecrosis, burns, skin grafts and crush injury. *Int. J. Technol. Assess Health Care.* 2003; 19(3): 521-5
89. Thom SR. Dehydrogenase conversion to oxidase and lipid peroxidation in brain after CO poisoning. *J. Appl. Physiol.* 1992; 73(4): 1584-1589
90. The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report by John J. Feldmeier, Chairman and Editor. Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc., Kensington, MD, 2003
91. Jamieson, D., Chance, B., Cadenas, E., Boveris, A, The relation of free radical production to hyperoxia, *Ann. Rev. Physiol.*, 48:703-19, 1986

92. Dirks, R.C., Faimen, M.D, Free radical formation and lipid peroxidation in rat and mouse cerebral cortex slices exposed to high oxygen pressure, *Brain Res.*, 248:355-60, 1982.
93. Gutsaeva, D.R., Moskvina, A.N., Zhilyaev, S.Y., Kostkin, V.B., Demchenko, I.T., The roles of nitric oxide and carbon dioxide gas in the neurotoxic actions of oxygen under pressure, *Neurosci Behav Physiol*, 35(7):751-6, 2005
94. New Roles Of Hyperbaric Oxygen In Sepsis Igor Aksenov MD, PhD Michael Strauss MD Stuart Miller MD Chi Truong DO George Hart MD University of Florida, Gainesville
95. Richter, C. Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria, *Mutat.Res.*, 275:249-55, 1992
96. Yagi, K.: Lipid Peroxides and Related Radicals in Clinical Medicine. In:Free Radicals in Diagnostic Medicine, (Ed) Armstrong, D., New York, Plenum Press, 1994
97. Effects of Hyperbaric Oxygen Treatment on Liver Functions, Oxidative Status and Histology in septic rats, Sukru OTER, Mustafa EDREMITLİOĞLU, Ahmet KORKMAZ, Omer COSKUN, Dilek KILIC, Ucler KISA, Hakan YAREN, Hayati BİLGİÇ
98. Normobarik oksijenin deneysel peritonitin tedavisindeki yeri ve tedavisinin izlenmesinde rektal ateş, lökosit, CRP ve prokalsitonin etlinliği, *Ulus. Travma Acil Cerrahi Dergisi* 2008;14(1):14-20 Tayfun YÜCEL, Doğan GÖNÜLLÜ, Salih GÜÇLÜ
99. Weber, C.A., Duncan, C.A., Lyons, M.J., Jenkinson, S.G., Depletion of tissue glutathione with diethyl maleate enhances hyperbaric toxicity, *Am. J.Physiol.*, 258(6/1):L308-12, 1990
100. Feher J, Csomos G, Vereckei A (eds). The chemistry of free radical reactions. In: Free Radical Reactions in Medicine, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1987, 2-10
101. Başağa, H.S., Biochemical aspects of free radicals, *Biochem. Cell Biol.*,68:989-98, 1990

102. Macdonald J, Galley HF, Webster NR: Oxidative stress and gene expression in sepsis. *Br J Anaesthesia* 2003;90:221-32.
103. Salvemini D, Cuzzocrea S: Oxidative stress in septic shock and DIC. *Free Rad Biol Med*, 2002;33:1173-85
104. Vincent JL: 2004 Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine.: Bettison HV, Quinlan GJ, Ewans TW: Redox Imbalance in Sepsis and The Systemic Inflammatory Response syndrome, 27-37, Springer-Verlag, Berlin 2004.
105. Jenkinson, S.G., Jordan, J.M., Lawrence, R.A., BCNU-induced protection from hyperbaric hyperoxia: role of glutathione metabolism, *J. Appl. Physiol.*,65(6):2531-6, 1988
106. Victor VM, Rocha M, De la Fuente M: Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *Int Immunopharmacol.* 2004;4:327-47.
107. Zhang H, Slutsky AS, Vincent JL: Oxygen free radicals in ARDS, septic shock and organ dysfunction. *Intensive Care Med.* 2000;26:474-6.
108. Szabo C: Potential Role of Peroxynitrite-Poly (ADP-ribose) Synthetase Path way in a Rat Model of Severe Hemorrhagic Shock. *Shock*, 1995;9:341
109. Deitch E.A.: Specian RD, Berg Rd.: Endotoxin Induced Bacterial Translocation and Mucosal Permeability: Role of Xanthine Oxidase, Complement Activation, and Macrophage Products. *Crit. Care Med.* 1991;9:785-791.
110. Lutz, J Stark, M., Administration of perfluorochemicals under hyperbaric oxygen pressure and treatment with free oxygen radical scavengers, *Biomat. Art. Cells. Art. Org.*, 16:395-402, 1988
111. Pedoto A, Nandi J, Yang ZJ, Wang J, Bosco G, Oler A, Hakim TS, Camporesi EM (2003) Beneficial effect of hyperbaric oxygen pretreatment on lipopolysaccharide-induced shock in rats. *Clin Exp Pharm Physiol* 30:482-488
112. Zamboni, W., Wong, H.P., Stephenson, L.L., Effects of hyperbaric oxygen on neutrophil concentration and pulmonary sequestration in reperfusion injury, *Archives of Surgery*, 131(7):756-60, 1996.

113. Hyperbaric oxygen improves survival in heat stroke rats by reducing multiorgan dysfunction and brain oxidative stress, *European Journal of Pharmacology* 569 (2007) 94–102, Kou-Chi Niu, Mao-Tsun Lin, Ching-Ping Chang
114. Hyperbaric oxygen protects against lipopolysaccharide-stimulated oxidative stress and mortality in rats. *European Journal of Pharmacology* 508 (2005) 249–254
115. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1):265-75.)
116. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2):351-8.
117. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34(3):497-500
118. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1):158-69
119. 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
120. Cross AS, Opal SM, Sadoff JC, et al. Choice of bacteria in animal models of sepsis. *Infect Immun.* 1993; 61: 2741-2747
121. Hyperbaric oxygen therapy effects on tissue lesions in acute pancreatitis, experimental study in rats, *JOP. J Pancreas Online* 2008;9(3):275-282,
122. Nöroşirürjikal Enfeksiyonlar ve Hiperbarik Oksijen Tedavisi, *Türk Nöroşirürji Dergisi* 2008, Cilt 18, Sayı:1, 34-41 Murat KUTLAY, Ahmet Çolak, Yıldız Şenol, Hakan Şimşek, Alparslan Asır, Ahmet Çetinkal, Serdar Kaya, Mehmet Nusret Demircan
123. Wound microbiology and associated approaches to wound management, *Clinical Microbiology reviews*, Apr. 2001,p.244-269 (262)

124. Hyperbaric oxygen-induced changes in bacterial translocation and acinar ultrastructure in rat acute necrotizing pancreatitis, *J Gastroentero* 2005; 40:980-986, Nukket MAS, ISIK Ahmet Turan, MAS M.Refik, COMERT Bilgin, TASCI Ilker, DEVECI Salih, OZYURT Mustafa, ATES Yuksel, YAMANEL Levent, DORUK Huseyin and YENER Nuran
125. Closa D, Folch PH. Oxygene free radicals and systemic inflammatory reponse. *IUBMB Life*. 2004, 56(4); 185-91.
126. Ince C, the microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care*. 2005; 9 Suppl 4, s: 13-19
127. 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
128. Spronk PE, Ince C, Gardien MJ, et al. Nitroglycerin promotes microvascular recruitment in septic shock after intravascular volume resuscitation. *Lancet* 2002; 360:1395-1396
129. 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.
130. Revelly JP, Ayuse t, Brienza N, et al. Endotoxic shock alters distribution of blood flow within the intestinal wall. *Crit Care Med*. 1996; 24:1345-51
131. 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
132. Hyperbaric oxygen and sepsis: time to recognize. *Intensive Care Med* (2005) 31:1150–1152 Claus-Martin Muth, Peter Radermacher, Salvatore Cuzzocrea Department of Clinical and Experimental Medicine and Pharmacology, Torre Biologica, Policlinico Universitario, Messina, Italy
133. Jamieson, D., Lipid peroxidation in brain and lungs from mice exposed to hyperoxia, *Biochem. Pharmacol.*, 41(5):749-56, 1991

134. Monstrey, S.T., Mullick, P., Narayanan, K., Ramasastry, S.S, Hyperbaric oxygen therapy and free radical production: an experimental study in doxorubicin (Adriamycin) extravasation injuries, *Ann. Plast. Surg.*, 38:163-8, 1997
137. Oter, S., Korkmaz, A., Serdar, M.A., Goksoy, C., Ozcelik, F., Bilgic, H., Hyperbaric oxygen and oxidative stress: a comparative study in rat lung, *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 21(6):449-454, 2001.
138. Oter, S., Korkmaz, A., Serdar, M.A., Goksoy, C., Bilgic, H., Kutluay, T., Oksidative stress in rat lung caused by hyperbaric oxygen exposed in different doses, *Turkiye Tıp Dergisi Dahili Tıp Bilimleri*, 9(1):30-35, 2002
139. Oter, S., Korkmaz, A., Goksoy, C., Serdar, M.A., Ozcelik, F., Bilgic, H., The contribution of high pressure as an environmental component on hyperbaric oxygen induced oxidative stres, *Medical Network Klinik Bilimler ve Doktor*, 7(3):288-292, 2001
140. Oter, S., Korkmaz, A., Topal, T., Ozcan, O., Sadir, S., Ozler, M., Ogur, R., Bilgic, H., Correlation between hyperbaric oxygen exposure pressures and oxidative parameters in rat lung, brain, and erythrocytes, *Clin Biochem*, 38(8):706-711, 2005
141. Korkmaz, A., Oter, S., Sadir, S., Topal, T., Uysal, B., Ozler, M., Ay, H., Akin, A., Exposure time related oxidative action of hyperbaric oxygen in rat brain. *Neurochem Res*, 33(1):160-6.2008.
142. Oter, S., Topal, T., Sadir, S., Ozler, M., Uysal, B., Ay, H., Yaren, H., Korkmaz, A., Akin, A., Oxidative stres levels in rats following exposure to oxygen at 3 atm for 0-120 min, *Aviat Space Environ Med*, 78(12):1108-13, 2007.
143. Noda, Y. McGeer, P.L. McGeer, E.G. Lipid peroxide distribution in brain and the effect of hyperbaric oxygen, *J. Neurochem.*, 40:1329-32, 1983
144. Ay, H., Topal, T., Uysal, B., Ozler, M., Oter, S., Korkmaz, A., DüNDAR, K., Time-dependent course of hyperbaric oxygen-induced oxidative effects in rat lung and erythrocytes, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 34(8):787-91, 2007.

145. Ay, H., Topal, T., Ozler, M., Uysal, B., Korkmaz, A., Oter, S., Ogur, R., Dündar, K., Persistence of hyperbaric oxygen-induced oxidative effects after exposure in rat brain cortex tissue, *Life Sci*, 80(22):2025-9, 2007.
146. Isik, A.T., Mas, M.R., Comert, B., Yasar, M., Korkmaz, A., Akay, C., Deveci, S., Tasci, I., Mas, N., Ates, Y., Kocar, I.H., The effect of combination therapy of hyperbaric oxygen, meropenem, and selective nitric oxide synthase inhibitor in experimental acute pancreatitis, *Pancreas*, 28(1):53-7, 2004.
147. Korkmaz, A., Oter, S., Deveci, S., Ozgurtas, T., Topal, T., Sadir, S., Bilgic, H., Involvement of nitric oxide and hyperbaric oxygen in the pathogenesis of cyclophosphamide induced hemorrhagic cystitis in rats, *J Urol*, 170(6 Pt 1):2498-502, 2003
148. Yilmaz, M.I., Korkmaz, A., Kaya, A., Sonmez, A., Caglar, K., Topal, T., Eyileten, T., Yenicesu, M., Acikel, C., Oter, S., Yaman, H., Aktug, H., Oguz, Y., Vural, A., Ikizler, T.A., Hyperbaric oxygen treatment augments the efficacy of a losartan regime in an experimental nephrotic syndrome model, *Nephron Exp Nephrol*, 104(1):e15-22, 2006.
149. Gulec, B., Yasar, M., Yildiz, S., Oter, S., Akay, C., Deveci, S., Sen, D., Effect of hyperbaric oxygen on experimental acute distal colitis, *Physiol Res*, 53(5):493-9, 2004
152. Deneysel Sepsis Modelinde Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Sitokin Düzeylerine Etkisi Budak E.T.,YEYEN S.,TEKSÖZ E.,DERE K.,ŞEN H.,ÖZKAN S.,DAĞLI G. GATA Haydarpaşa Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Servisi

## **Tez**

136. Hiperbarik Oksijen Uygulamalarının Sıçan Akciğerinde Oluşturduğu Oksidatif Stresin Belirlenmesi. GATA Fizyoloji AD Uzmanlık Tezi. Şükrü ÖTER.1998
150. Hiperbarik oksijen uygulamasının Pinealektomili sıçanların akciğer dokusu Oksidatif parametreleri üzerine etkilerinin araştırılması GATA Fizyoloji AD Uzmanlık Tezi. Bülent UYSAL, 2008
151. Deneysel rat sepsis modelinde trimetazidin tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi, GATA İç Hastalıkları BD Uzmanlık Tezi. Alpaslan TANOĞLU, 2008