

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

DENEYSEL SEPSİS MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
İNTRAVENÖZ İMMÜNGLOBULİN TEDAVİSİNİN T HELPER
POLARİZASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. İSMAİL DEMİREL

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MUSTAFA KEMAL BAYAR

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Koordinatörlüğü tarafından 1367 numaralı proje ile desteklenmiştir

ELAZIĞ–2007

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ömer Lütfi ERHAN

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi
olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa Kemal BAYAR -----

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Araştırma görevlisi olarak çalıştığım süre boyunca bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşan ve yetişmemizde yardımcı olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ömer Lütü ERHAN'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimin hazırlanması sırasında her türlü destek ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Mustafa Kemal BAYAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık görev sürem boyunca desteklerini gördüğüm, yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. S. Ateş ÖNAL'a, Prof. Dr. M. Akif YAŞAR'a, ve Yrd. Doç. Dr. Azize BEŞTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin planlama ve laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet GÖDEKMERDAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma, ameliyathane, Anestezi Yoğun Bakım ve Algoloji kliniği çalışanlarına teşekkür ederim.

Asistanlık görevim boyunca yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen eşim Ayşe'ye ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1.ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. SEPSİS	5
3.1.1 Tanımlamalar	5
3.1.1.1. Enfeksiyon	6
3.1.1.2. Bakteriyemi	7
3.1.1.3. Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS).....	7
3.1.1.4. Sepsis	8
3.1.1.5. Ağır sepsis	9
3.1.1.6. Septik şok	9
3.1.1.7. Çoğul Organ İşlev Bozukluğu Sendromu (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS).....	9
3.1.2. İnsidans	10
3.1.3. Etiyoloji.....	11
3.1.4. Patogenez	12
3.1.4.1. Sitokin Fırtınası:.....	14
3.1.5. Klinik Tanı	18
3.1.5.1.Sepsisten şüphe edilmesine yarayan semptom ve bulgular.....	19
3.1.5.2. Sepsis tanı kriterleri	20
3.1.6. Laboratuvar Tanı.....	21
3.1.7.Prognoz	22
3.1.8 Tedavi Yaklaşımları	23

3.2. SEPSİSTE İMMÜNOLOJİK FONKSİYONLAR.....	27
3.2.1.Sepsisteki İmmüsupresyon Mekanizmaları	28
3.2.1.1. Antiinflamatuvar Sitokinlere Olan Kayma	28
3.2.1.2. Enerji	29
3.2.1.3. İmmün Hücrelerin Ölümü	29
3.2.2.Lökosit Populasyonları	29
3.2.2.1. T Helper Alt Grupları.....	30
3.3. SİTOKİNLER	33
3.3.1. İnterlökin-4 (IL-4).....	33
3.3.2. İnterferon- γ (IFN- γ)	34
3.4. İNTRAVENÖZ İMMÜNGLOBULİNLER.....	36
3.4.1. İntravenöz İmmünglobulin Etki Mekanizması.....	36
3.4.2. İntravenöz İmmünglobulin Kullanım Alanları	38
3.4.3. Tedavinin Komplikasyonları.....	38
3.4.4. Pentaglobin (Pentaglobin®, Biotest Pharma Gmbh, Dreieich, Germany)	39
3.4.5. Flebogamma (Flebogamma® 5%, Grifols, USA).....	40
3.5.SEPSİSTE UYGULANAN İMMÜNOLOJİK TESTLER	40
3.6. ELISA (ENZYME-LINKED-IMMUNOSORBEND ASSAY).....	41
3.7. FLOW CYTOMETRY	42
3.7.1. Hücre Analizi	43
4. GEREÇ ve YÖNTEM.....	44
4.1. DENEY	44
4.2. FLOW CYTOMETRY ANALİZİ	46

4.3. SİTOKİN ANALİZİ.....	48
4.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	48
5. BULGULAR.....	49
5.1. CD3 ⁺ LENFOSİT (TOTAL T LENFOSİT) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI.....	50
5.2. CD4 ⁺ LENFOSİT (TH- T HELPER LENFOSİT) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI.....	51
5.3. CD8 ⁺ LENFOSİT (TC- T SİTOTOKSİK LENFOSİT) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI.....	52
5.4. CD4 ⁺ +26 ⁺ T LENFOSİT (TH1) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI.....	53
5.5. CD4 ⁺ +30 ⁺ T LENFOSİT (TH2) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI.....	54
5.6. IFN- γ	55
5.7. IL-4.....	56
6. TARTIŞMA	58
7. KAYNAKLAR	76

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 1: Th1 ve Th2 alt grupları arasındaki önemli farklar	32
Tablo 2: IL-4, IFN- γ 'nın önemli özellikleri	35
Tablo 3: Gruplara göre deneklerin ağırlık ortalamalarının dağılımı	49

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Şekil 1: Sepsis ile ilişkili durumlar	6
Şekil 2: Sepsis kaskadı ve evreleri.....	8
Şekil 3: Sepsiste inflamatuvar yanıt	13
Şekil 4: Sepsiste mortaliteye neden olan patojenlerin dağılımı.....	22
Şekil 5: IVIG etki mekanizması	37
Şekil 6: Deneklerin CD3 ⁺ lenfosit düzeyleri	50
Şekil 7: Deneklerin CD4 ⁺ lenfosit düzeyleri.....	51
Şekil 8: Deneklerin CD8 ⁺ lenfosit düzeyleri	52
Şekil 9: Deneklerin CD4 ⁺ +26 ⁺ lenfosit düzeyleri	53
Şekil 10: Deneklerin CD4 ⁺ +30 ⁺ düzeyleri	54
Şekil 11: Deneklerin serum IFN- γ düzeyleri	55
Şekil 12: Deneklerin serum IL-4 düzeyleri	56
Şekil 13: Deneklerin saatlere göre sağ kalım oranları	57

KISALTMALAR LİSTESİ

Ab	: Antikor
Ag	: Antijen
ARDS	: Akut Sıkıntılı Solunum Sendromu
AT III	: Antitrombin III
CARS	: Kompansatuar Antiinflamatuvar Yanıt Sendromu
CO₂	: Karbon dioksit
CRP	: C-reaktif protein
CSF	: Koloni-stimüle edici faktör
CVP	: Santral Venöz Basınç
DIC	: Damar içi pıhtılaşma sendromu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FACS	: Flourescence Activated Cell Scoring
FTIC	: Fluorescein İsothiocyanate
G-CSF	: Granülosit- Koloni-stimüle edici faktör
GM-CSF	: Granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör
HLA	: Human Lökosit Antijen
ICAM	: İntrasellüler Adezyon Molekülleri
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
IVIG	: İntravenöz immunglobulin
Kd	: Kilodalton
LPS	: Lipopolisakkarit
MACS	: Magnetic Activated Cell Scoring
MARS	: Miks Antagonistik Yanıt Sendromu
MEIA	: Mikropartikül enzim immün assay
MOF	: Multi Organ Yetmezlik
MODS	: Çokul Organ İşlev Bozukluğu Sendromu
NaCl	: Sodyum Klorür

NK	: Naturel Killer
NO	: Nitrik Oksit
PAF	: Platelet Aktive Edici Faktör
PAI	: Plazminojen-aktivatör inhibitör
PCT	: Prokalsitonin
PCWP	: Pulmoner Kapiller Wedge Basıncı
PE	: Phycoerythrin
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
RIA	: Radyoimmünoassay
RT-PCR	: Reverse Transcriptase- Polimerase Chain Reaction
SAP	: Sistolik arter basıncı
SIRS	: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
Th	: T Hepler
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
t-PA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

1.ÖZET

Enfeksiyona sistemik yanıt olarak tanımlanan sepsis, yoğun bakım ünitelerinde görülen en sık ölüm nedenleri arasında yer almaktadır.

Bu çalışma, sepsiste gelişen inflamatuvar yanıt tedavisinde kullanılan intravenöz immünglobulinlerin (IVIG) T helper (Th) polarizasyonu üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Çalışmaya alınan Wistar-Albino cinsi 30 adet rat rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup I, kontrol grubu olarak ayrıldıktan sonra, Grup II, III ve IV'e E. Coli LPS'i intraperitoneal olarak uygulanarak sepsis modeli oluşturuldu. Grup III'e IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş, Grup IV'e IgG içeren immünglobulin ilk gün LPS'den 6 saat sonra ve sonraki iki gün intraperitoneal olarak uygulandı. Tüm gruplardaki deneklerden bazal, 24. ve 72. saatte kuyruk veninden alınan kan örneklerinden Flow cytometry yöntemi ile periferik kan lenfosit subgrupları; ELISA yöntemi ile IL-4, IFN- γ düzeylerine bakıldı, gruplar arası 14 günlük sağ kalım oranı değerlendirildi.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CD4⁺+26⁺ ve IFN- γ düzeyinin II, III ve IV. gruplarda 24. saatte bazal değere göre azaldığı saptandı. IV. grupta; CD4⁺+26⁺ düzeyi 24. saatte bazal değere göre azalırken, 72. saatte arttığı saptandı(p<0.05). IFN- γ düzeyleri ise kontrol grubu hariç diğer gruplarda bazal değere göre azaldığı saptandı (p<0.05).

CD4⁺30⁺ ve IL-4 düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda arttığı saptandı (p<0.05). CD4⁺30⁺ ve IL-4 düzeyinin kontrol grubu hariç, diğer tüm gruplarda bazal değere göre artmış olduğunu gözlemlendi (p<0.05).

Deneklerin 14 günlük sağ kalım oranları; sepsis grubunda 3-5 günler arasında, sepsis + pentaglobin grubunda 5-14 günler arasında, sepsis + flebogamma grubunda 4-9 günler arasında öldüğü saptandı.

Th2 yanıtını ve mortaliteyi azalttığını saptadığımız IVIG'lerin, immünomodulator etkisinin olduğu ve sepsis tedavisinde adjuvan olarak kullanılabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Sepsis, IVIG, Th polarizasyonu

2. ABSTRACT

The Effects of IVIG Treatment Upon Th Polarization in the Experimental Rat Models with Sepsis

Sepsis defined as sistemic response to infection is the most common cause at death in health care units. In this study use investigate the effect of solution of intravenous immunoglobulins which are used in the treatment of inflammation response on T helper polarization in sepsis

Thirty Wistar-Albino rats which included to study were randomly separated to 4 groups. Group I is control group and, E. coli LPS were given intraperitoneally to Group II, III, IV and model of sepsis were formatted. Pure IgM and IgA were given intraperitoneally to group III and IgG to group IV at the first day, 6 hours and 2 days after LPS aplication. Peripheric blood lymphocys subgroups were analyzed by Flow cytometry and IL-4, IFN- γ levels were analyzed by Elisa methods in the blood samples that were taken veins of tail at the basale 24th and 72th hours and ratio of 14 days survay were searched.

Levels of CD4⁺+26⁺ and IFN- γ were determined lower at the 24th hours samples than basale levels when compared with control group. In group IV level of CD4⁺+26⁺ were decreased at the 24th hours and increased at the 72th hours according to basale levels. Level of IFN- γ were decreased in all times according to basale levels except control groups.

It was determined that levels of CD4⁺+30⁺ and IL-4 were increased in all groups when compared with control groups.

14 days survival ratios of subjects were determined as 3-5 days in sepsis, 5-14 days in sepsis + pentaglobin and 4-9 days in sepsis + flebogamma groups.

We determined that, IVIG's which decreased the Th2 response and mortality have immunomodulatory effects and we think that these agents can be useful in the treatment of sepsis.

Key words: Sepsis, IVIG, Th Polarization

3. GİRİŞ

3.1. SEPSİS

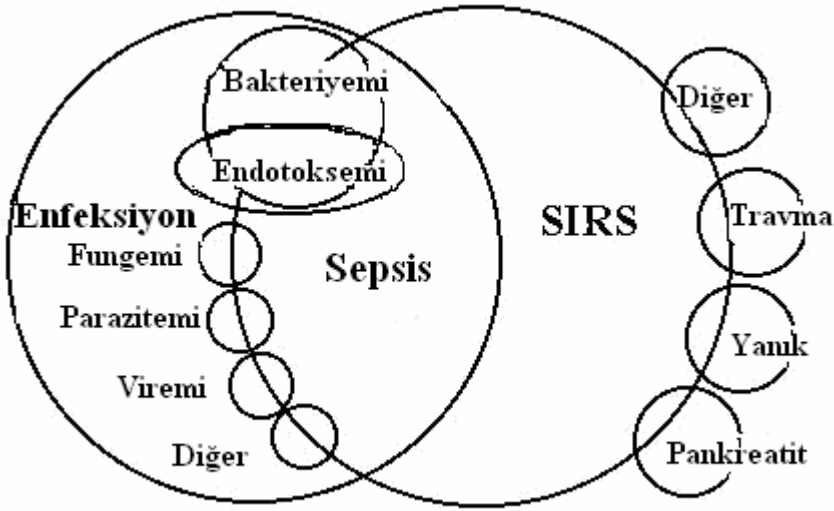
Enfeksiyona verilen sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanan sepsis, özellikle son yıllarda patofizyolojisi daha iyi tanımlanmış olmasına, antimikrobiyal tedavideki ilerlemelere, tanı yöntemlerinin ve teknolojideki gelişmelere rağmen özellikle şok ve multiorgan sistem yetersizliği ile komplike olduğunda yüksek mortaliteye sahip bir klinik tablodur (1). Son yıllarda tedavideki önemli gelişmeler ile masif hemoraji, majör travma, nekrotizan pankreatit gibi ciddi, tıbbi ve cerrahi durumlarda hastaların kardiyovasküler kollaps, akut sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) ya da böbrek yetmezliği nedeni ile erkenden kaybedilmelerini önlemiş, ancak hastanın geç dönemde kaybedilmesine yol açan yeni problemler; ağır sepsis, septik şok ve sonrasında çoklu organ disfonksiyon sendromu (MODS) ortaya çıkmıştır (2). Şiddetli sepsis yoğun bakım ünitelerindeki en sık ölüm nedenleri arasında yer alır. Sepsisin patofizyolojisinin anlaşılması, değişik tedaviler ve daha iyi yoğun bakım desteğinin ölüm oranını azaltmasına rağmen, halen dünya'da ölüm sebeplerinin başında sepsis gelmektedir (3).

3.1.1 Tanımlamalar

Mortalitesi oldukça yüksek olan sepsis ve ilişkili durumlar 1991 yılına kadar bakteriyemi, sepsisemi, sepsis, sepsis sendromu ve septik şok gibi çeşitli tanımlamalar ile ifade edilmiş, bu terimler genellikle birbirlerinin yerine

kullanılmış, sepsis ve ilişkili durumların yeterince anlaşılmasına ve özellikle de klinik çalışmaların yorumlanmasında ciddi kargaşaya yol açmıştır (4).

Bu karmaşaya son verilmesi için kavramsal ve pratik bir çatı oluşturulması amacı ile 1992 yılında gerçekleştirilen Konsensus Toplantısında (American College of Chest Physicians/ Society of Critical Care Medicine Consensus Conferenca Committee) sepsisin yeni tanımlamaları yapılmıştır (Şekil-1) (4).



Şekil-1: Sepsis ile ilişkili durumlar (4).

3.1.1.1. Enfeksiyon

Mikroorganizmalara ya da bu mikroorganizmaların normalde steril olan konak dokusundaki invazyonuna karşı vücudun geliştirdiği inflamatuvar cevapla karakterize mikrobiyal bir oluşumdur. Semptomatik, asemptomatik, subklinik olabilir (4).

3.1.1.2. Bakteriyemi

Kanda canlı bakterilerin bulunmasına denir (viremi, fungemi, parazitemi vb.). Kültürle doğrulanabilir. Ancak, bu olay endokardit ya da birkaç intravasküler enfeksiyon dışında geçici bir süreçtir (4).

3.1.1.3. Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)

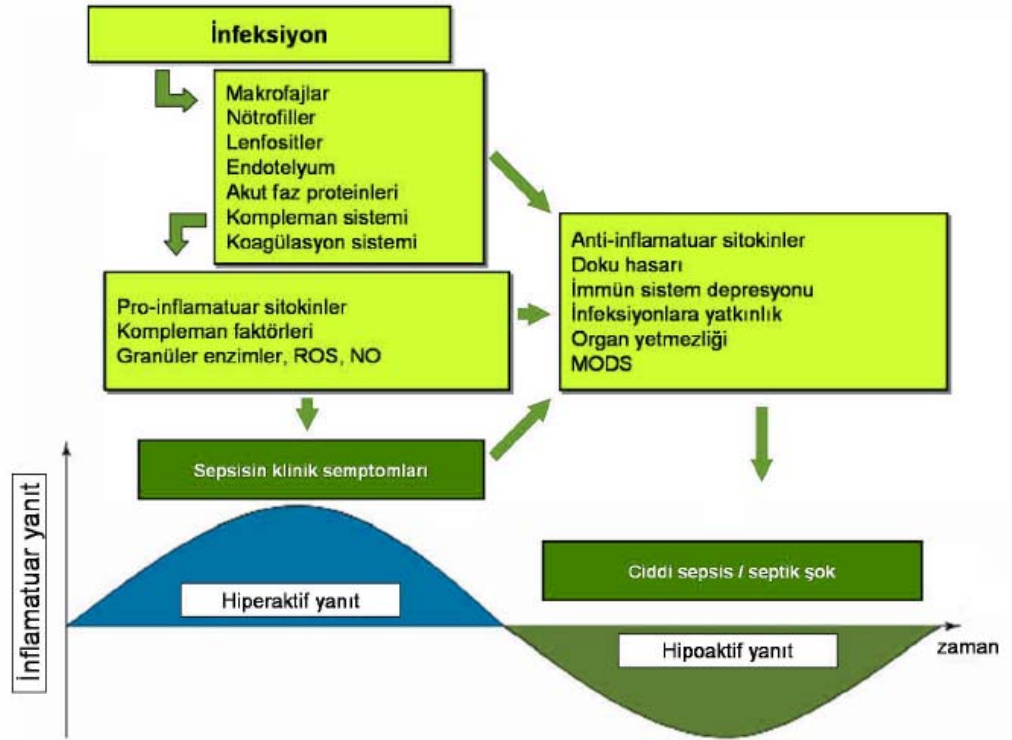
Konsensus toplantısında yeni terim olarak sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), enfeksiyöz veya nonenfeksiyöz bir tetikleme mekanizmasıyla ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıtı tanımlamak için kullanılmıştır. Her enfeksiyon SIRS'a neden olmaz. SIRS tablosunda enfeksiyon varlığı şart değildir. SIRS oluşumuna neden olan nonenfeksiyöz hastalıklar arasında, pankreatit, iskemi, travma, hemorajik şok, yanık, TNF'ün haricen kullanılması gibi etkenler yer almaktadır.

SIRS tanımında yer alan kriterler aşağıda sıralanmıştır. Bunlardan en az ikisinin bulunması ile tanı konulmaktadır;

- 1- Vücut ısısının 38°C den yüksek veya 36°C den düşük olması,
- 2- Kalp hızının 90/dk' dan daha fazla olması,
- 3-Solunum sayısının 20/dk' dan daha fazla veya arteriyel CO_2 basıncının 32 mmHg' dan daha düşük olması,
- 4-Lökosit sayısının $12000/\text{mm}^3$ ' den yüksek veya $4000/\text{mm}^3$ ' den daha düşük sayıda olması, veya genç hücre formunun %10' dan fazla bulunması (4).

3.1.1.4. Sepsis

Enfeksiyona karşı konağın kontrol altına alınamamış yaygın inflamatuvar yanıtı olup endojen mediatörlerin salınımına bağlı olarak gelişir. 1992’de yapılan uzlaşma toplantısına göre enfeksiyona bağlı gelişen SIRS’in 2 veya daha fazla kriterinin olması ile tanı konulur. 2001 yılında (American College of Chest Physicians, The European Society of Intensive Care Medicine, The American College of Chest Physicians, The American Thoracic Society ve The Surgical Infection Society) “Uluslararası Sepsis Tanımlamaları Toplantısı” yapılmıştır. Bu toplantıda SIRS tanı kriterlerinin nonspesifik olduğu ve ileride biyokimyasal ve/veya immünolojik kriterlerin tanıda kullanılabileceği belirtilmiş ve sepsis tanı kriterleri genişletilmiştir (Şekil-2) (4-7).



Şekil-2: Sepsis kaskadı ve evreleri (Hoesel LM, Ward PA. Mechanisms of inflammatory response syndrome in sepsis. Drug Discovery Today: Disease Mechanisms 2004;1:345-350).

3.1.1.5. Ağır sepsis

Sepsis tablosu ile birlikte organ disfonksiyonu, hipoperfüzyon bulguları (laktik asidoz, oligüri, mental durumda akut değişiklikler) ya da sepsisin indüklediği hipotansiyon (Sistolik arter basıncı (SAP) < 90 mmHg ya da SAP' ta 40 mmHg' lık bir azalma) bulunması durumudur.

- Hipoksemi: PaO₂' nin 75mmHg' nin altında olması,
- Oligüri: İdrar çıkışının 30 ml/saatin altında olması,
- Laktik asidoz: Serum laktatının 2 mmol/lit' nin üzerinde olması,
- Mental durumda bozulma: Glasgow Koma Skoru' nun 3' ün üzerinde olması (Hasta sedatize edilmiş olmamalı) (4,5).

3.1.1.6. Septik şok

Yeterli sıvı resüsitasyonu, inotropik ve vazopressör desteğe karşın hipotansiyon ve hipoperfüzyon bulgularının varlığı, mental durumda bozulma, laktik asidoz ve oligürinin yer aldığı klinik tablodur (4,5).

3.1.1.7. Çoğul Organ İşlev Bozukluğu Sendromu (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS)

SIRS gelişen bir hastada birden fazla vital organ sisteminde işlevsel bozukluğu görülmesi olarak tanımlanmıştır. Desteklenmediği takdirde homeostazın sürdürülmesi olanaksızdır. Primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer MODS, iyi bilinen ve konağa doğrudan hasar veren spesifik bir olaya bağlı olarak gelişirken, sekonder MODS ise spesifik bir olaya direkt yanıt olmaktan çok konağın anormal sistemik yanıtına bağlı olarak gelişir. Sekonder MODS, SIRS'ın

çok şiddetli inflamatuvar yanıtı ve ölüme yol açan son basamağıdır. MODS'da işlev bozukluğu tüm organlarda gelişebilir ve akut akciğer hasarı, akut tubuler nekroz, prerenal azotemi, izole trombositopeni veya yaygın damar içi pıhtılaşma sendromu (DIC), metabolik ensefalopati, akut non-enfeksiyöz hepatit, ileus, adrenal yetmezlik ile rabdomyoliz gibi klinik sendrom ve bozukluklarla kendini gösterebilir (4-8).

3.1.2. İnsidans

Sepsis gelişen hastalarda, genellikle altta yatan başka bir hastalık eşlik etmekte ve klinik bulgulara en az sepsis kadar altta yatan hastalıkta sorumlu olabilmektedir. Bu durum, sepsisin tanı ve insidansının tam olarak saptanmasını güçleştirmektedir. Hastalığın ileri dönemlerinde, uygulanan tedavinin giderek agresif hale gelmesine rağmen, sepsis insidansı ve mortalitesi hastanelerde halen yüksek olarak bulunur (2, 9, 10).

Sepsis bildirimi zorunlu olan bir enfeksiyon hastalığı olmadığından sepsis ve sepsise bağlı mortalite konusunda gerçek verileri sunmak güçtür. Amerika Birleşik Devletleri istatistik verilerine göre sepsis 10. sıradaki ölüm nedenidir ve yılda her 1.000 hastadan 3'ü sepsis tablosuna girmektedir. Dünya'da yaklaşık olarak her gün 1.400, yılda 18.000.000 bireyden fazlası sepsisten ölmektedir. Halen koroner yoğun bakım dışındaki yoğun bakım ünitelerinde, ölümlerin en sık nedeni olmaya devam etmektedir. Ülkemizde sepsisin insidansı ve mortalitesi hakkındaki bilgiler yetersizdir. Mortalite oranları, SIRS'tan ağır seyreden MODS'a kadar giderek artmaktadır (11-13).

3.1.3. Etiyoloji

Sepsis tablosu bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitlerden kaynaklanabileceği gibi, travma ve pankreatit gibi nonenfeksiyöz olaylarla da gelişebilmektedir. Olguların yarısında, etken gösterilememesine karşın grubun çoğunluğunun antibiyotik tedavisine yanıt vermesi, bu hastalarda da etkenin sıklıkla bakteriyel olduğunu düşündürmektedir. Son yıllarda gelişen tanı ve tedavi amaçlı girişimsel teknikler, dış ortama duyarlı olan dokular için zedeleyici ortam oluşturmakta ve sepsise zemin hazırlamaktadır.

Etken olarak antibiyotik çağından önce Gram (+) bakteriler ön planda iken, antibiyotiklerin yaygın kullanımı ile Gram (-) bakteriler ön plana geçmiştir. Son yıllarda özellikle immunosupresif hastalarda kandida enfeksiyonlarına sık rastlanmaktadır. Hastane dışı kaynaklı vakalarda en sık neden üriner enfeksiyon iken hastane kaynaklı vakalarda alt solunum yollarıdır (14, 15).

Etken mikroorganizmalar ve sıklıkları şu şekildedir

1-Gram (-) bakteriler: E.coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter, Pseudomonas (%50-60)

2-Gram (+) bakteriler: Stafilococcus aureus, Streptococcus pneumonia, Stafilococcus epidermis (%35-40)

3-Mantarlar: En sık kandida olmak üzere (%3-5)

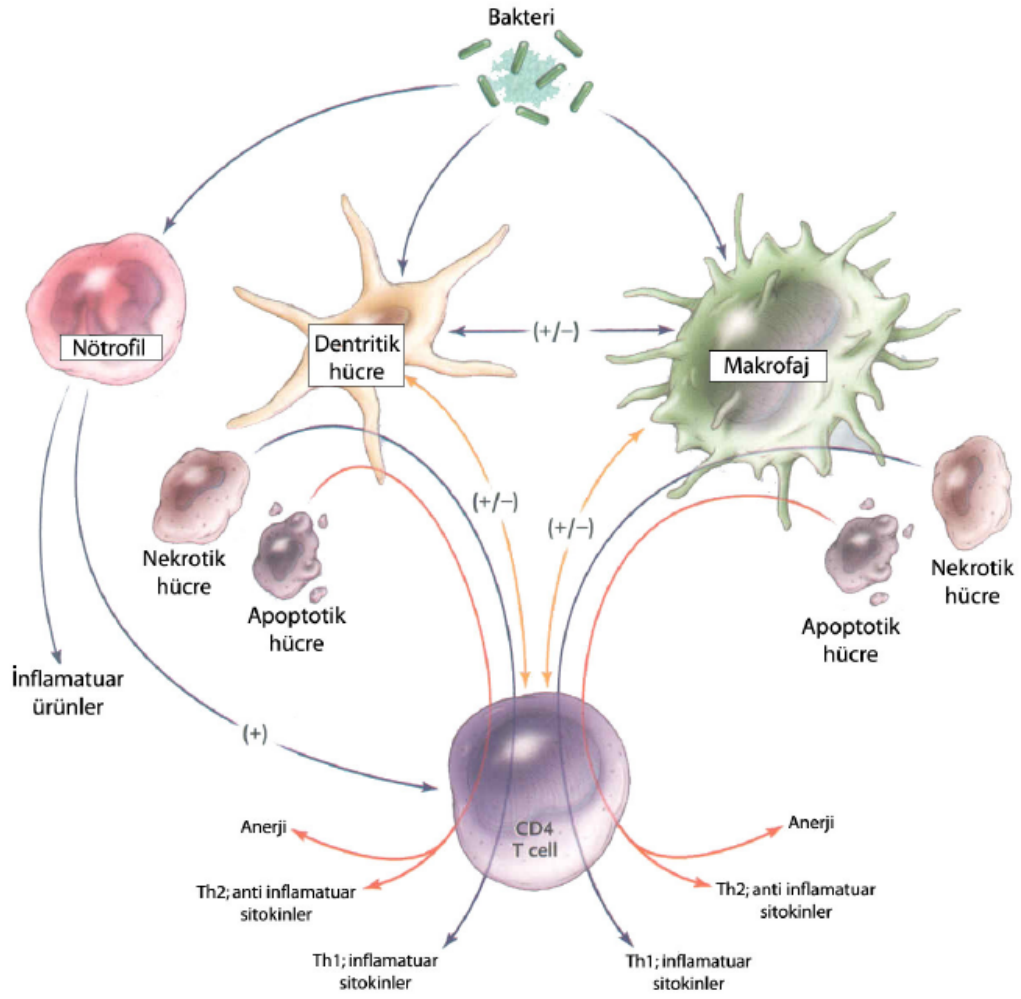
4-Bunların yanı sıra virüsler, riketsialar da etken olabilir (14, 15).

3.1.4. Patogenez

Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, sepsis oluşan patolojik olayların birçoğunun anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Araştırmacılar, konağın enfeksiyona karşı pasif kalmadığını, geniş spektrumlu, sonuçta hasar oluşturan endojen inflamatuvar mediatörler salındığını fark etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuç, enfeksiyon eradike edildikten sonra da klinik yanıtın devam ettiği ve bunun artmış mortalite ile ilişkili olduğudur (16, 17).

Mikroorganizmalar ilk basamak olmalarına rağmen sepsisi tetiklemek için yeterli değildir. Potansiyel endojen mediatörlerin aktivasyonu ile inflamatuvar yanıtın başlatılması gerekir. Sepsisteki endojen mediatörler karmaşık ve çok sayıdadır. Bunlar arasında koagülasyon sistemi, komplemanlar, kininler, sitokinler, arasıdonik asit metabolitleri, myokard depresan faktör, endorfinler, histamin, lizozomal enzimler, platelet aktive edici faktör (PAF) ve serbest oksijen radikalleri (SOR) bulunmaktadır.

Enfeksiyon ve bakteriyemi varlığında organizmanın ilk savunması fagositik hücreler ve kompleman yoluyla sağlanır. Bu nonspesifik bir yanıt olup ardından immünglobulinler ve immünkompetan hücreler tarafından spesifik bir yanıt başlatılır. Bu yanıtın en önemli aktivatörleri bakteri hücre duvarı bileşenleri olup Gram (-) bakteriler için endotoksin ve Gram (+) bakteriler için ise teikoik asittir. İnflamatuvar kaskatta ilk ortaya çıkan mediatörler sitokinler ve komplemanlardır, bunlar sekonder mediatörlerin salınımına, lökosit aktivasyonu ve kemotaksiye neden olurlar. Sekonder mediatörler de inflamatuvar kaskadı tekrar aktive ederler (18).



Sekil-3: Sepsiste inflamatuvar yanıt; makrofajlar ve dendritik hücreler, bakteri invazyonu ve CD-4 T tip 1 hücrelerinden salınan IFN- γ gibi sitokinler yolu ile aktive olurlar. Alternatif olarak, CD-4 T hücrelerinden anti-inflamatuvar profile sahip olanlar (tip 2 T helper hücreleri (Th2)) IL-10 salgırlar ve makrofaj aktivasyonunu baskırlar. CD-4 T hücreleri makrofaj ve dendritik hücrelerin stimülasyonu yolu ile aktive hale gelir. Örneğin, makrofajlar ve dendritik hücreler IL-12 salgırlar. Bu sitokin de inflamatuvar sitokinleri salgılatmak üzere, CD-4 T hücreleri aktive eder (tip 1 helper T hücreleri (Th1)). Birden fazla faktöre bağılı olarak (organizmanın tipi, enfeksiyon yeri) makrofajlar ve dendritik hücreler, anti-inflamatuvar ya da inflamatuvar sitokinlerin indüksiyonuna ya da sitokin üretiminin global azalmasına (anergi) neden olabilirler (1) (Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. The New England Journal of Medicine 2003;348:138-51).

Sepsiste endotelin hasarlanmasıyla doku faktörü ve sitokinler salınır, antikoagülan özellikteki endotel prokoagülan hale gelir. Salınan nitrik oksit (NO) ile vazodilatasyon oluşur. Endotelin direkt hasarı, sitokinler ile hücre iskeletinin değişmesi, kontraksiyonu ve mediatörlerin etkisi ile damar geçirgenliği bozulur. Koagülasyon sisteminin ekstrinsik yolu baskın olarak çalışmaya başlar ve koagülasyon kaskadı sonucu oluşan trombin de inflamasyona katkıda bulunur. Aynı zamanda hasarlanmış endotelden trombin ile aktive olan plazminojen inhibitörü salınarak fibrinolizisi inhibe eder ve böylece damar içi pıhtılaşma oluşur (19).

3.1.4.1. Sitokin Fırtınası:

Sitokinler, organizmada immün sisteminin regülasyonunda ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan moleküllerdir. Aynı zamanda hücreler arası ilişkileri de düzenleyerek lokal ve sistemik inflamatuvar cevapta yer alırlar. Sitokinler hormona benzemekle beraber özelleşmiş bir dokudan değil de çeşitli hücreler tarafından yapıldıkları için hormon olarak kabul edilmezler ve etkilerini ise otokrin veya parakrin şekilde gösterirler. Bazı hücreler kültür ortamında spontan olarak sitokin salgılayabilirse de sitokinlerin çoğu hücrelerin aktivasyonundan sonra salgılanmaktadır. Sitokinler peptid veya glikoprotein yapısında olup molekül ağırlıkları 20-40 kilodalton (kD) arasında değişmektedir. Çok aktif maddeler olup çok küçük miktarları dahi etkili olabilmektedir. Çeşitli sitokinlerin genleri bulunup klonlanmış ve bu sayede sitokinlerin daha fazla miktarda yapımı mümkün olmuştur. Bu sitokinlerden biri diğer sitokinlerin salgılanmasına neden olabildiği için sitokinlerin etkisi birbirine benzeyebilir. İmmün sistemden

salgılanan sitokinlerin önemli bir bölümü interlökinler olup başlıca görevleri immün sistem hücrelerini uyarmaktır. Rekombinant deoksiribonükleik asit (DNA) teknolojisi ile 100'den fazla sitokin tanımlanmıştır ve çoğu hakkında henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır. Aktive olmuş T lenfositler tarafından sentezlenen sitokine lenfokin, aktive monosit ve makrofajlar tarafından sentezlenen sitokine monokin ve lökositler arasında iletişimi sağlayan sitokine de interlökin (IL) denilmektedir. Kemotaktik etkiye sahip olanlar ise ayrıca kemokin olarak adlandırılırlar (20, 21).

Sitokin ailesi içerisinde,

1. Sitokin süper ailesi
2. İnterlökinler
3. Koloni- stimüle edici faktörler (CSF)
4. İnterferonlar (IFN α , β , γ)
5. Dönüştürücü büyüme faktörleri (TGF)
6. Tümör nekroz faktör (TNF α , β) yer alır (20, 21, 22).

Sitokinlerin genel etkileri:

1. Lenfoid ve diğer bazı hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını sağlamak,
2. İmmün cevabı şiddetlendirmek veya azaltmak suretiyle regüle etmek,
3. İnflamasyon olaylarına katılan hücreleri aktive etmek, reaksiyon yerine toplayıp orada tutmak ve çeşitli biyolojik etkinlik göstermek,
4. Kemik iliğine etki ile hematopoetik regülasyona katılmak,
5. Ateş ve akut faz cevabı oluşturmak,
6. Antiviral etkinlik oluşturmak,

7. Bazı hipofiz hormon ve diğer biyolojik maddelerin sentez ve salınımına neden olmaktadır (20-22).

Sitokinler esas olarak iki ana grup altında toplanabilir (20, 21).

1. İmmün yanıtın indüksiyonu ile ilgili olanlar;

- a) T helper-1 (Th1) hücreleri ve hücre aracılı olaylar (IL-2, TNF- β , IFN- γ)
- b) T helper-2 (Th2) hücreleri ve antikor aracılı olaylar (IL-4, IL-10, TGF- β)

2. İmmün/ inflammatuar yanıtın efektör fazı ile ilgili olanlar;

- a) Proinflammatuar sitokinler (TNF- α , IL-1, α -kemokinler, β -kemokinler)
- b) Antiinflammatuar sitokinler (TGF- β , IL-4, IL-10, IL-13)

Sepsiste organizmada görülen hemodinamik, metabolik ve immün değişiklikler hücreler arası sinyal iletide rol alan mediatörler ve sitokinler aracılığı ile oluşur. Sepsiste doğal immün yanıtın kontrolsüz bir şekilde aktivasyonu ile makrofaj, endotel ve epitel hücrelerinin lipopolisakkarit veya bakteriyel ürünleri spesifik reseptörleri ile tanınmaları, sitokin kaskadının tetiklenmesi ile sonuçlanır. Aktive monosit ve makrofajlar, sitokin yanıtını harekete geçiren en önemli mediatör olan TNF- α salgırlarlar. Monosit, makrofaj ve endotel hücrelerinden salgılanan TNF- α 'ya IL-1, IL-6, IL-8, SOR, PAF ve NO salınımı eklenir. Proinflammatuar sitokin salınımını endotel hasarı, kompleman ve koagülasyon kaskadının aktifleşmesi izler ve hastada vazodilatasyon, sistemik hipotansiyon, kapiller permeabilite artışı ve ödem gelişir. İnflamatuar yanıtın aşırı olmasıyla sepsis, MODS ve hatta ölüm gelişebilir (22, 23).

Son zamanlarda sepsiste sitokin kaskadının sadece aşırı inflammatuar yanıt olan SIRS'tan kaynaklanmadığı ve inflammatuar yanıtı kontrol eden antiinflammatuar

bir yanıtın olduğu düşünülmektedir. Bu yanıtın amacı kontrolsüz inflamasyon nedeniyle oluşacak doku hasarının önlenmesi olup kompensatuar antiinflamatuvar yanıt sendromu (CARS) olarak adlandırılmıştır. CARS asıl olarak IL-10, TGF- β ve PGE₂ ile başlatılır, monositler deaktive olur, antijen tanıma aktiviteleri azalır, TNF- α , IL-6, IL-8 ve IFN- γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımında azalma olur. SIRS ve CARS tablolarının aynı anda olması durumu ise miks antagonistik yanıt sendromu (MARS) olarak adlandırılmaktadır (24, 25).

Sepsiste proinflamatuvar sitokinlerin ön plana çıkması sitokin fırtınası ile antiinflamatuvar sitokinlerin ağır basması immünsupresyon ile karşımıza çıkmaktadır. Aslında her iki durumda zaman içerisinde sepsiste gelişebilmektedir. Antiinflamatuvar yanıt sepsisin başlamasından bir süre sonra gerçekleşmekte ve hastalarda immünsupresyon kliniği, geç tip hipersensitivitenin kaybı, enfeksiyonları sınırlayamama ve nozokomiyal enfeksiyonlara yatkınlıkla kendini göstermektedir. Bu nedenle, sepsiste immünsupresyonun kompensatuar bir olay değil primer bir yanıt olarak karşımıza çıktığından sözedilebilir (9, 26).

CD4 (+) T lenfositlerin, Th1'e farklılaşarak inflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine, Th2'lere farklılaşarak ise antiinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine yol açtıkları gözönüne alındığında, sepsiste gözlenen immünsupresyonun mekanizmasında Th1'lerden Th2'e kayma önem kazanmaktadır (27, 28). Yapılan klinik çalışmalarda sepsiste Th'daki kayma henüz yeni gösterilmekle birlikte; literatürde patojenin tipi, miktarı ve enfeksiyonun yeri gibi bileşenlerin, Th'daki kaymanın gerçekleşmesindeki olası etkilerinde söz edilmekte olup henüz CD4 (+) T hücrelerinin Th1 veya Th2

yanıtlara yönelmelerindeki mekanizmanın ise tam olarak açıklanamadığı ortaya konmuştur. Th2 yanıtlarındaki artış sepsiste mortalite üzerine etki etmektedir; Th2 yanıtlarının Th1 yönüne, yani kaymanın ters çevrilmesinin mortaliteyi önlediği ve antiinflamatuvar sitokinler içinde bilinen IL- 10'nun prognostik faktör olarak şiddetli sepsiste kullanılabileceği gösterilmiştir (27, 28).

3.1.5. Klinik Tanı

Sepsis ve ilişkili tablolar, aynı hastalığın ilerlemekte olan evrelerini, enfeksiyondan çok konakçının enfeksiyona karşı artan yanıtını tanımlamaktadır (29, 30). Endojen mediatörler ile enfeksiyona sistemik yanıt sonrası organlarda generalize inflamatuvar reaksiyon oluşmakta, giriş yerinden end-organa varan disfonksiyon ve/veya yetmezliğe kadar ilerlemektedir (9). İnflamatuvar yanıtın oluşmasında rol alan çeşitli endojen moleküllerin etkileri ve birbiriyle etkileşimi sonucu ortaya çıkan tablo her hastada farklı olabilir ve oldukça karmaşıktır.

Sepsis riskinin yüksek olduğu durumlar şöyle sıralanabilir:

- 1-Enfeksiyona neden olabilecek girişim yapılanlar,
- 2-Travma veya cerrahi operasyon geçiren veya yanıklı hastalar,
- 3-İmmün sistemi baskılayacak tedavi alanlar,
- 4-İmmün sistemi baskılayan kronik durumlar,
- 5-Damar içi veya üriner kateter varlığı.

Klinik ve laboratuvar parametrelerinin sepsis için spesifitesi ve sensitivitesi olmaması nedeni ile, enfeksiyöz etiyolojinin erken bir parametresinin kullanılması gerekebilir. Erken tanı spesifik tedavi yöntemlerinin uygulanmasını sağlar.

3.1.5.1. Sepsisten şüphe edilmesine yarayan semptom ve bulgular.

1) Klinik bulgular

- Ateş/hipotermi
- Açıklanamayan taşikardi
- Açıklanamayan takipne
- Periferik vazodilatasyona ait bulgular
- Açıklanamayan şok
- Mental durumda değişiklik

2) İnvaziv hemodinamik monitorizasyon bulguları veya laboratuvar parametreleri

- Düşük sistemik damar direnci/yüksek kalp debisi
- Artmış oksijen tüketimi
- Lökositoz/nötropeni
- Açıklanamayan laktik asidoz
- Böbrek ya da karaciğer testlerinde açıklanamayan değişiklikler
- Trombositopeni/ DIC
- Artmış prokalsitonin düzeyi
- Artmış sitokin, C-reaktif protein (CRP) düzeyi

Ayrıca fizik ve laboratuvar bulgularının yanında hemodinamik instabilite, arteriyel hipoksemi, oligüri, koagülopati ve karaciğer fonksiyon testlerinde değişiklikler gibi organ işlev bozukluklarının göstergeleri de eklenmiştir (4, 7).

3.1.5.2. Sepsis tanı kriterleri:

Dökümente edilmiş veya şüphe edilen enfeksiyon ve aşağıdakilerden bazıları şunlardır;

1) Genel değişkenler

- Hipo veya hipertermi varlığı (Ateş $> 38^{\circ}$ veya $< 36^{\circ}$).
- Kalp hızı (>90 /dk veya yaşa göre normal değerin 2 standart deviasyon üstü)
- Taşipne
- Mental durum değişikliği
- Önemli ödem veya pozitif sıvı dengesi (24 saatte 20ml/kg üzerinde)
- Diyabeti olmayan hastalarda hiperglisemi (plazma glukozu >120 mg/dl veya 7.7 mmol/L)

2) İnflamatuvar değişkenler

- Lökosit sayısının >12.000 /ml veya <4.000 /ml olması
- Normal beyaz küre sayısı ile birlikte %10'dan fazla olgunlaşmamış nötrofiller
- Plazma CRP düzeyinin normal değerin 2 standart deviasyon üstü
- Plazma prokalsitonin düzeyinin normal değerin 2 standart deviasyon üstü

3) Hemodinamik değişkenler

- Arteriyel hipotansiyon (SKB <90 mmHg, OAB <70 mmHg veya erişkinde SKB >40 mmHg veya her yaş için normal değerin 2 standart deviasyon altı)
- SvO₂ >70
- Kardiyak indeks >3.5 L/dk/M

4) Organ işlev bozukluğu değişkenleri

- Arteriyel hipoksemi ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)
- Akut oligüri (idrar miktarı $< 0.5\text{ml/kg/saat}$ veya en az iki saat 45ml/saat)
- Kreatinin artışı (kreatinin $> 0.5\text{mg/dl}$)
- Koagülasyon bozuklukları ($\text{INR} > 1.5$ veya $\text{aPTT} > 60\text{sn}$)
- İleus
- Trombositopeni (trombosit sayısının $< 100.000/\text{ml}$)
- Hiperbilirubinemi (plazma total bilirübinin $> 4\text{mg/dl}$)

5) Doku perfüzyon değişkenleri

- Hiperlaktatemi (laktat $> 1\text{mmol/L}$)
- Kapiller dolmanın azalması (7).

Süreç sistemik inflamasyon olsun veya olmasın enfeksiyon ile başlar, sistemik yanıt ağır sepsis veya septik şok ile devam eder. Organ disfonksiyonu, kardiyovasküler, pulmoner, renal, hemotolojik belirtiler ile ortaya çıkabilir. Şok tablosu vazodilatasyon, intravasküler sıvının ekstrasvazyonu sonucu oluşan hipovolemi ve çeşitli derecelerde miyokardiyal disfonksiyon sonucu oluşur. Akciğerlerde alveol boşluklarını proteinöz bir sıvının doldurması ile ARDS tablosu oluşabilir.

3.1.6.Laboratuvar Tanı

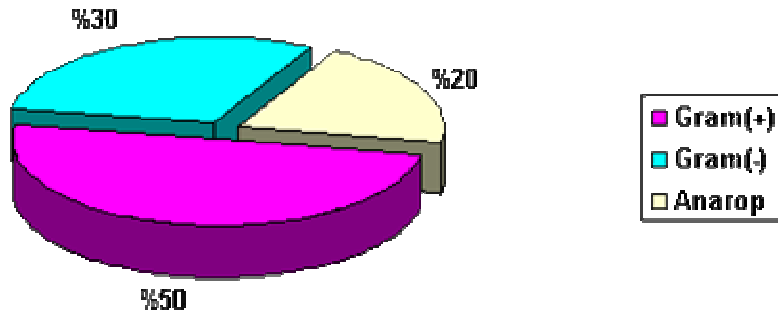
Konsensus kriterlerinin, epidemiyolojik çalışmalarda faydalı olmasına rağmen, bu kriter ile klasik bulguları olmayan hastalarda tanı konulması güçtür. Negatif bakteriyolojik sonuç alınması, sepsisi ve/veya enfeksiyonun olmadığını göstermez. Erken sepsis tanısında özellikle klinik semptom ve bulguların

değerlendirilmesi zor olduğunda, laboratuvar testleri daha kesin ve daha hızlı sonuca götürmektedir. Son yıllarda, CRP ve prokalsitonin (PCT) sepsisi taklit eden durumları ayırt etmede yardımcı olduğu düşünülmüştür. Hastalarda izlenen inflamatuvar yanıtın enfeksiyöz kaynaklı olup olmadığını belirlemek için erken parametrelerin bulunması önemlidir.

3.1.7.Prognoz

Sepsis tedavisinde yeni gelişmelere karşın, ölüm oranı hala yüksektir. Değişik çalışmalarda ölüm oranı %20-80 arasında değişmektedir. Bu çalışmalarda farklı ölüm oranlarının bildirilmesi çalışma gruplarının heterojen olmasına bağlıdır (Şekil-4).

Gram negatif bakteriyel sepsislerde %45-50, Gram pozitif bakteriyel sepsislerde %20-30, Anaerop sepsislerde ise %15-30 ölüm oranı bildirilmektedir (31).



Şekil-4 : Sepsiste mortaliteye neden olan patojenlerin dağılımı (31)

Şok, DIC, ARDS ve diğer organ yetmezliği komplikasyonları geliştiğinde ölüm oranı %70-90 arasında değişmektedir. Etkenlere göre de

ölüm oranı farklılık gösterir. En yüksek ölüm oranı P.aeruginosa, veba ve şarbon sepsislerinde bildirilmiştir.

Sepsiste prognozu etkileyen faktörler şöyle özetlenebilir (31);

1. Altta yatan hastalıklar (nötropeni, hipogammaglobulinemi, diyabet, alkolizm, böbrek yetersizliği, solunum yetersizliği)
2. Yaş
3. Tedavi başladığında enfeksiyona bağlı komplikasyonların gelişmiş olması
4. Bakteriyeminin şiddeti (polimikrobiyal bakteriyemi)
5. Enfeksiyon kaynağı
6. Enfeksiyonun geliştiği yer (nozokomiyal)
7. Hastanın yattığı servis (YBÜ)
8. Antibiyotik tedavisinin uygunluğu
9. Tedavinin başlamasına kadar geçen zaman

3.1.8 Tedavi Yaklaşımları

Standart sepsis tedavisi; antibiyotik kullanımı, enfeksiyon odağının uzaklaştırılması, destek tedavisi (vazoaktif ilaç kullanımı, mekanik ventilasyon, hemodiyaliz veya hemofiltrasyon, transfüzyon, beslenme) gibi çok yönlü yaklaşımları içermektedir.

Antibiyotik seçimi etken mikroorganizmaya bağlıdır. Ampirik tedavide genellikle dar spektrumlu antibiyotikler tercih edilmekte ve spesifik antibiyotik seçimi şüphe edilen odağa göre yapılmaktadır. Antibiyotikler kültür sonucu ve antibiyograma göre değiştirilmelidir.

Hemodinamik destek tedavisi olarak intravasküler volümün yeniden sağlanması ve organ perfüzyonunun yeterli hale getirilmesi amaçlanmalıdır. Septik hastadaki volüm replasmanı, artmış kardiyak atım hacmi ve sistemik oksijen sunumunda iyileşme ile sonuç vermektedir. Sıvı resüsitasyonunun uygun arteriyel basınçları ve organ perfüzyonunu sağlayamadığı durumlarda vazopressör ajanlar tedaviye eklenmelidir (32).

Mekanik ventilasyon, sepsis atağı ve ARDS süresince uygulanan destek tedavisidir. Hemodiyaliz veya hemofiltrasyon ciddi asidemi, hiperkalemi, üremi veya hipervolemi oluşmuş akut böbrek yetmezliği durumlarında uygulanmaktadır.

Hematolojik olarak, ağır DIC tablosu koagülasyon profili ve trombosit sayısı kontrol edilerek trombosit veya taze donmuş plazma transfüzyonu ile tedavi desteklenmelidir.

Enfeksiyon odağının uzaklaştırılmasında perkütanöz kateterler kontrol edilmeli ve apse veya peritoneal kontaminasyon odağı mevcut ise cerrahi yaklaşım ile tedavi edilmelidir.

Yeni tedavi yaklaşımlarında, sendromun ilerleyişini durdurmak veya yavaşlatmak amacıyla kullanılan, mikrobiyal toksinleri hedef alan (antiendotoksin antikorlar, IL-1 reseptör antagonisti vb.), inflamatuvar ağrı etkileyen (kortikosteroidler, ibuprofen), koagülasyonu düzenleyen (platelet aktive edici faktör-PAF antagonistleri, AT III, protein C vb), konak savunmasını güçlendiren ajanlar (immünglobulinler vb) yer almaktadır.

Antiendotoksin antikorlar, endotoksine yüksek özgülükte bağlanıp, etkilerini ortadan kaldıracak düzeyde amaca uygun değildir. Protein veya lipoprotein yapısındaki yeni bazı ajanların, endotoksinin nötralizasyon kapasitesinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Bazı araştırmacılar lipid A türevlerinin endotoksini doğrudan nötralize ederek başarılı olabileceğinden hareketle araştırmalarını sürdürmektedir (33).

Septik şokta kortikosteroidlerin mortaliteyi azalttığı gösterilmiş ve tedavide uygulanmışlardır (34). 1980'lerin başına kadar septik şok tedavisindeki yerini koruyan kortikosteroidler ile ilgili yapılmış iki büyük çalışmada mortalite ve morbidite üzerine negatif etkileri olduğu öne sürülerek kortikosteroid kullanımı terkedilmiştir (35-37). Günümüzde ağır sepsis ve septik şoktaki hastalarda adrenokortikal yetmezliğin olduğunu gösteren klinik çalışmalar mevcuttur. Adrenerjik reseptörlerdeki duyarlılığın azalmasının kortikosteroidlerle engellendiği ve reseptör sayısının arttığı ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar ile kortikosteroidler yeniden gündeme gelmiştir. Geç dönem septik şoklu hastalarda kortikosteroid kullanımı ile hemodinamik iyileşme olduğu ve vazopressör ihtiyacının ortadan kalktığı gösterilmiştir (38,39).

Koagülasyon ile inflamasyon sistemi arasında kompleks bir etkileşim mevcuttur. Proinflamatuvar sitokinlerin koagülasyon kaskadını aktive etmesi sonucu antikoagulan ajanlardan antitrombin III (AT III) ve protein C düzeyleri azalır. Bunun sonucunda koagülasyon sisteminde dengenin prokoagulan tarafa kaymasına neden olur. AT III ekstrensek yoldaki faktörlerden IXa, XIa, XIIa ya ek olarak faktör Xa, IIa ve plazmini inhibe eder. Koagülasyon ürünlerinden

trombin doku faktörü aktivasyonu yaparak bradikininin üretimine, hipotansiyon ve doku hipoperfüzyonuna neden olur. Yapılan çalışmalarda AT III uygulanan hastalarda DIC süresi ve organ yetmezliği sayısı azalmış, mortalitede istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmamıştır (40). Protein C, Va ve VIIIa gibi faktörleri inhibe ederek trombin oluşumu sınırlanır. Trombin seviyesi azaldığında inflamatuvar, prokoagülan ve antifibrinolitik cevaplar azalır. Endojen aktive protein C nin direkt antiinflamatuvar etkilerinin yanı sıra; TNF- α ve IL-1 üretimini azaltarak, endotelde E-selektini bloke ederek lökosit adezyonunu inhibe ederler. Yapılan çalışmalarda ağır sepsis hastalarında koagülasyonu ve inflamasyonu inhibe etmiş fibrinoliz sağlamıştır. Aktive protein C indirekt olarak plazminojen-aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) i inhibe ederek fibrinolitik cevabı azaltır. Fibrinolitik cevabı düzenleyen bir diğer ajan doku plazminojen aktivatörü (t-PA) dır. Bu ajan oluşmuş mikrotrombüsü damardan ayırır ve kan akımını tekrar sağlar. Aktive protein C t-PA in oluşturduğu pıhtı lizisini kolaylaştırıcı etkiye de sahiptir (40).

Konak savunmasını güçlendiren ajanlardan, interferon-gama ve intravenöz immünglobulinler mevcuttur. IFN- γ , hayvan gram negatif sepsis modellerinde kullanılmaktadır. İntravenöz immünglobulinler (IVIG), çocuk ve erişkinlerde olmak üzere ağır sepsisin tedavisinde kullanılmaktadır. Amaç sepsiste deprese olmuş immünglobulin düzeylerini yükseltmektir. Sepsisle ilgili son çalışmalarda (41) , antibiyotik tedavisi halen değerini korumaktadır. Ne var ki; immün destek tedavisinin de gerekliliğine inanılmakta ve IgM ile zenginleştirilmiş immunoglobulinlerin bu tedavi ihtiyacını karşıladığı düşünülmektedir.

Gelecekte tedavi yaklaşımları düzenlenirken, immün statünün değerlendirilmesi, enfekte hastanın immün ve biyokimyasal sınıflaması ve erken müdahale, mekanistik bir tanımlama ve daha homojen gruplar, bir cevabı yok etmekten ziyade modüle etmek ön plana çıkacaktır. Kullanılacak monitorizasyon yöntemleri ise; HLA-DR + monosit, Exvivo IL-12 sekresyonu ve TNF, Th1/Th2, CD64⁺ nötrofilleri içerecektir.

3.2. SEPSİSTE İMMÜNOLOJİK FONKSİYONLAR

Sepsis immünopatogenezindeki ana rolü endotel hücre aktivasyonu oynamaktadır (19). Endotel hücreleri; aktive yardımcı T (T-helper, Th) hücrelerinden salgılanan interferon- γ (IFN- γ) ve interlekin-2 (IL-2) etkisiyle mononükleer fagositlerden sekrete edilen IL-1, IL-6, IL-8 ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) sitokinleri sonucu aktive olmaktadır. Aktive monosit ve endotel hücrelerinden potent inflamatuvar mediyatörlerin salgılanmasındaki amaç öncelikle savunma mekanizmasına yönelik biyolojik olayların başlamasını indüklemektir.

T helper hücreleri antijenik uyarıyla beraber IL-12 ve IL-4 sitokinlerinin etkisiyle Th1 ve Th2 olmak üzere iki ayrı alt gruba farklılaşır (42). Th1 lenfositleri; IL-2, IFN- γ ve TNF- β salgılayarak hücrel immün cevabın başlatırken, Th2 lenfositleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13'ün sentezlenmesinde rol alırlar. Son yıllarda yapılan araştırmalarda Th1 hücrel tip immün cevabın gelişmesinde major rol oynadığı ortaya koyan dominant proinflamatuvar bir sitokin olan IL-18' in, IL-12' den bağımsız olarak Th1 proliferasyonu ile IFN- γ sekresyonunu artırdığı ve NK ve Th' lardan TNF- α sentezlemesini indükleyerek monositlerden de IL-1 β ve IL-8 salgılanmasını uyardığı bildirilmiştir (43, 44). Her

iki grup Th lenfosit de salgıladıkları sitokinlerin etki mekanizmaları itibariyle antagonistik olarak immün cevabı regüle ederler.

TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 proinflamatuvar; IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , koloni stimulan faktörler, çözünür TNF- α reseptörleri ve IL-1 reseptör antagonisleri ise antiinflamatuvar mediyatörlerdir. Bu sitokinlerin etki mekanizmaları tam olarak bilinmemekle beraber, özellikle IL-10' nun monosit fonksiyonlarını, T ve B lenfosit proliferasyonlarını inhibe ettiği gösterilmiştir (45, 46). Proinflamatuvar sitokinlerin daha fazla olması durumunda SIRS ve buna bağlı hedef organlardaki hücrelerde gelişen apoptozis sonucu MOF; antiinflamatuvar sitokinlerin daha baskın olması halinde ise klinik olarak immünolojik anergi ve enfeksiyona eğilim görülmektedir (47).

3.2.1.Sepsisteki İmmüsupresyon Mekanizmaları

3.2.1.1. Antiinflamatuvar Sitokinlere Olan Kayma

Aktive edilmiş CD4⁺T hücreleri, ya TNF- α , IFN- γ ve IL-2 gibi inflamatuvar (tip 1 helper T- cell [Th1]) özelliklere sahip sitokinler ya da IL-4 ve IL-10 gibi antiinflamatuvar (tip 2 helper T- cell [Th2]) özelliklere sahip sitokinler sekrete ederler. CD4⁺T hücrelerinin Th1 veya Th2 cevaplarından hangisini vereceğini etkileyen faktörler bilinmemektedir, fakat patojenin tipi, bakteriyel inokülümün büyüklüğü veya enfeksiyonun yeri bu faktörleri etkileyebilir (48). Yanıklı veya travmalı hastalardan elde edilen mononükleer hücreler Th1 sitokin düzeylerini azaltırken IL-4 ve IL-10 Th2 sitokin düzeylerini artırır, sepsisli hastalarda Th2 cevabının tersine döndürülmesi survayvı iyi yönde etkilemektedir (49).

3.2.1.2. Anerji

Anerji antijene karşı bir cevapsızlık halidir. T hücreleri spesifik antijenlere karşı proliferasyon olamıyor veya sitokin sekrete edemiyorlarsa anejiktirler. Heidecke ve ark. peritonitli hastalarda T hücre fonksiyonunu araştırmışlar ve Th2 sitokin üretiminde bir artma olmaksızın Th1 fonksiyonunda azalma tespit ettiklerinde bu durumun anejji ile ilişkili olduğunu savunmuşlardır. Dedektif T hücre proliferasyonu ve sitokin sekresyonu, mortalite ile korrelesyon gösterir (50).

3.2.1.3. İmmün Hücrelerin Ölümü

Sepsisten ölen insanlardaki otopsi çalışmaları apoptozise bağlı adaptif immün sistem hücre kayıplarının derin ve progressif olduğunu ortaya koymuştur (51). $CD8^+$ T hücrelerinde herhangi bir kayıp olmamasına, NK hücreleri veya makrofajların oluşmasına rağmen sepsis, B hücre düzeylerini, $CD4^+$ T hücre düzeylerini ve folliküler dendritik hücreleri belirgin ölçüde azaltmaktadır. Lenfosit ve dendritik hücre kayıpları özellikle önemlidir, çünkü bu durum hayatı tehdit edici enfeksiyonlarda görülür. Sepsis sırasında apoptozise bağlı lenfosit kaybının büyüklüğü, hastalarda dolaşımdaki lenfosit sayımının yapılmasıyla net bir şekilde görülür (51). B, $CD4^+$ T hücreleri ve dendritik hücre kayıpları sırasıyla antikor üretimini, makrofaj aktivasyonunu ve antijen sunumunu azaltmaktadır (52, 53).

3.2.2. Lökosit Populasyonları

Sepsise yol açan tüm mekanizmalar sonucunda, kanda aktive olan monositlerden ve doku makrofajlarından proinflatuar sitokinlerin

salgılanmasına ve kemik iliği depresyonuna neden olmaktadır (54, 55). Ağır travma hastalarındaki stresle beraber artan proinflamatuvar sitokin düzeylerinin etkisiyle oluşan T ve B lenfositlerinin fonksiyonlarındaki depresyonun monosit/makrofaj aktivasyonundaki azalmalar sonucu T hücreleri ile arasındaki etkileşimdeki bozuluktan kaynaklandığı düşünülmektedir (56).

Travma sonrası aşırı aktivasyon sonucu monosit/makrofajların yaşam sürelerinin kısalıp eliminasyonu ile oluşan immünoparalizin henüz tam olgunlaşmamış monosit/makrofaj popülasyonunun eskilerinin yerini almasına dek 3-5 gün sürdüğü gösterilmiştir (57). Sepsisle komplike travma hastalarda proinflamatuvar sitokin salgılayan, HLA-DR ekspresyonu az, antijen sunumunu baskılayan, FcR+ “kızgın makrofaj” (angry macrophage) popülasyonunun baskın hale geçip, immunolojik anerjide ve fırsatçı enfeksiyonların gelişmesinde başrolü oynadıkları düşünülmektedir (58). Travma sonrası erken dönemde gelişen ve enfeksiyonlara eğilimde önemli rol oynadığı düşünülen lökosit HLA-DR ekspresyonundaki bu azalmanın IL-10 etkisiyle oluştuğu ve in vitro olarak anti-IL-10 antikorlarıyla bunun kısmen düzeldiği ortaya konmuştur (59).

3.2.2.1 T Helper Alt Grupları

Kandaki lenfositlerin %35-60 kadarını, heterojen bir popülasyona sahip Th alt grup hücreleri oluşturur (60, 61). CD4⁺ yüzey reseptörü taşıyan subpopülasyon, geç duyarlıktan sorumlu efektör hücreler ve sitotoksik T hücrelerinin olgunlaşmasına yardımcı T hücrelerini kapsar. Bu popülasyonun hücreleri, B hücrelerinin antikor yapan plazma hücrelerine dönmelerini de

indükler. Bu nedenle, $CD4^+$ reseptörü taşıyan bu lenfositlere Th/ indüktör hücreleri de denmektedir.

İstirahat halindeki Th hücresi antijenle stimüle edildiğinde hücre, ya IL-12, IFN- γ ya da IL-4 etkisi altında Th1 veya Th2 fenotipi oluşturacak biçimde çoğalır ve farklılaşır. Th1 ve Th2 oranı değişir. Böylece bu baskınlığın sonuçları periferde gözlenebilir (61). Th1 hücrelerinin asıl fonksiyonu, Th1 tipi sitokinler, makrofajların fagositoz ve mikroorganizma öldürme yeteneklerini güçlendirerek, enfeksiyonlara karşı savunmayı tesis etmektir. Th2 alt grup hücreleri akut ve kronik inflamasyonu ve geç tipte hücreyel hipersensitiviteyi inhibe ederler. Bunlar Th1 hücrelerinin aksine çoğunlukla $CD30^+$ yüzey reseptörü taşırlar (60).

Th1 hücrelerinin %77' si sitolitik aktiviteye sahiptir. Buna karşılık, Th2 hücrelerinin sadece %18 kadarı sitolitik aktivite gösterir (60). Bu nitelikleri dikkate alındığında, Th2 alt gruplarının esas itibariyle humoral immün cevapların, Th1 alt gruplarının ise, hücreyel immün cevapların oluşmasında etkin rol oynadıkları anlaşılmaktadır. Bir Th alt grubunun sentezlediği sitokinler, diğer Th alt grubunun sentezlediği sitokinlerin yapımını baskılayabilir (60, 61).

Tablo-1: Th1 ve Th2 alt grupları arasındaki önemli farklar (62)

Sitokin profili	Th1	Th2
IFN- γ	++	-
TFN- α	++	-
IL-2	++	-
IL-3	++	-
IL-4	-	++
IL-5	-	++
IL-6	-	++
IL-10	-	++
IL-13	-	++
GM-CSF	++	+
Başlıca İşlevi	Geç tipte aşırı duyarlılık, Makrofaj aktivasyonu Sitotoksiste Sınırlı B hücre yardımı ve inhibisyonu	B hücre yardımı
İzotip Ab indüksiyonu	IgG1	IgG4
Cevabın yararlı olduğu başlıca haller	Viral enfeksiyonlar Allerji Tüberküloz, Leyişmaniyoz	Artrit, otoimmünite Helmint enfeksiyonu Gebelik Allograft rejeksiyonu önleme
Cevabın Zararlı Olduğu Başlıca Haller	Artrit, otoimmünite Helmint enfestasyonu, Allograft rejeksiyonu, Gebelik	Tüberküloz, leyişmaniyoz Virus enfs. (kızamık,HIV) Allerji

3.3. SİTOKİNLER

İmmün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin arttırılması, uyarılmış lenfositler, monositler, makrofajlar ile diğer bazı hücrelerde sentezlenen ve salınan, parakrin veya otokrin etkili sitokin deneni ve çoğu 20-30 kD bir grup potent peptid veya glikoprotein yapısındaki solübl maddenin aracılığı ile olur. Sitokinler antijen için spesifik olmamakla beraber antijenin, ortaya çıkan sitokin profilinin oluşmasında yönlendirici etkisi olabilir; sentezlenmeleri ve hedef hücreleri etkilemeleri için çoğunlukla bir stimülasyonu gerektirirler, kendi aralarında agonist ve antagonist etkileşimler gösterebilirler. Sitokinler 10^{-10} - 10^{-15} molar konsantrasyonlarda biyolojik olarak aktiftirler ve genellikle sekrete edildikleri bölgede etkili olurlar. Bazıları uzak mesafelerde de etkili olabilirler. Etkileri çeşitli faktörlerle modüle edilebilir (63).

Sitokinler, içinde 100'den fazla sayıda farklı molekül bulunan büyük bir grup oluşturmaktadır. Bunların bir kısmı henüz tam olarak incelenmemiştir ve bilgilerde karışıklıklar vardır. Fizyolojik açıdan sitokinlere, hücreler arasında mesaj (sinyal) ileten biyolojik mediyatörler gibi bakılabilir (63).

3.3.1. İnterlökin-4 (IL-4)

Th2 alt gruplarının üretilmesi ve indüklenmesi ile etki gösteren sitokindir. 4 adet α - helikal yapı içeren sitokin ailesindendir. B hücre uyarıcı faktör 1 (BSF-1) olarak ta bilinir. 20 kd ağırlığında olup kodlayan genler 5. kromozom üzerindedir. Bu bölge IL-3, IL-5, GM-CSF, M-CSF ve M-CSF reseptör genlerini de bulundurduğundan hemopoezde önemlidir. IL-4' ün esas hücresel kaynağı,

aktive mast hücreleri ve bazofiller kadar Th2 alt gruplarının $CD4^+$ T lenfositleridir (22, 64).

IL-4, IFN- γ 'nın makrofaj aktive edici etkisini antagonize eder ve böylece hücrel immünite reaksiyonlarının inhibisyonuna yol açar. Bu durum Th2 hücre fonksiyonlarının, immün inflamasyon inhibitörleri gibi işlev yaptığını göstermektedir. Bununla birlikte, IL-4, IgE reaksiyonlarını, mast hücre/eozinofil reaksiyonlarını başlatırken makrofaj bağımlı reaksiyonları baskılar (22, 64).

3.3.2. İnterferon- γ (IFN- γ)

Tip II interferon (IFN) diye de adlandırılan Th hücrelerinden Th1 alt gruplarının oluşmasına neden olan bir sitokindir. Homodimerik bir proteindir. IFN- γ 'nın reseptörü, tip II reseptör ailesi özelliğinde iki yapısal açıdan homolog iki polipeptidten oluşur. Hücre içi mikroorganizmalara karşı hücrel immünitede önemli fonksiyonları vardır. IFN- γ makrofaj aktive eden sitokin olarak, T lenfositleri ile NK hücrelerini aktive eder ve fagosite edilmiş mikroorganizmaların makrofajlarca öldürülmesini sağlar (22, 64, 65). IFN- γ vasküler endotelial hücrelerin bir aktivatörüdür. Bununla birlikte nötrofilleri aktive ederek NK hücrelerinin sitolitik aktivitesini uyarır.

Tablo-2: IL-4, IFN- γ 'nın başlıca biyolojik özellikleri (63)

Sitokin	Temel kaynağı	Başlıca biyolojik etkinliği
IL-4	Th2 hücreleri, timositler, mast hücreleri, bazofiller, NK hücreleri	- Th2 alt grup indüksiyonu - Th1 alt grup inhibisyonu - Aktive B hücre çoğalma faktörü - Sitotoksik T hücre aktivasyonunun artması - Mast hücrelerinin çoğalma faktörü - MHC klas II ekspresyonunun artması - IL-1Ra ekspresyonunun indüksiyonu - IL-1,6,8, TNF-α ve NO sentezine inhibitör etki
IFN-γ	CD8 ⁺ T hücreleri, Th1 hücreleri, NK hücreleri	- CD4⁺ T hücrelerinin Th1'e diferansiasyonu - Th1 ve NK hücre aktivitesinin şiddetlenmesi - Th2 alt grup hücrelerinin inhibisyonu - Makrofaj ve endotel hücrelerinin aktivasyonu - CD8⁺ T efektörlerin oluşması - B hücre proliferasyonu ve farklılaşması - Sitokin etkilerinin şiddetlendirilmesi/zayıflatılması - NADPH oksidaz, NO sentaz sentezinin artması - Lenfosit ve monosit kemotaksisi - Kaşeksi - Antiviral etkinlik

3.4. İNTRAVENÖZ İMMÜNGLOBULİNLER

İmmünglobulin preparatları 35 yıldan beri immün yetmezliklerin tedavisi ve pasif immünizasyonda kullanılmaktadır. Bu preparatların % 95'ini IgG oluşturmakta ve çok az IgA ve IgM içermektedir. İmmünglobulinler önce intramüsküler (IM) olarak hazırlanmış ardından intravenöz (IV) kullanılacak preparatlar şeklinde hazırlanmış ve nihayet bunlar subkutan (SC) olarak da kullanılmaya başlanmıştır. Eskiden beri kullandığımız IM preparatlarının tedavide uzun süreli kullanımında, enjeksiyon yerinde ağrı ve apse gelişebilme, emiliminin yavaş olması, anafilaktik reaksiyona yol açması nedeni ile kullanımlarında güçlük yaşanmaktadır. Bugün daha ziyade intravenöz immünglobulin (IVIG) şeklinde hazırlanan preparatlar tercih edilmekte IM olanlar ise pasif immünizasyonda kullanılmaktadır.

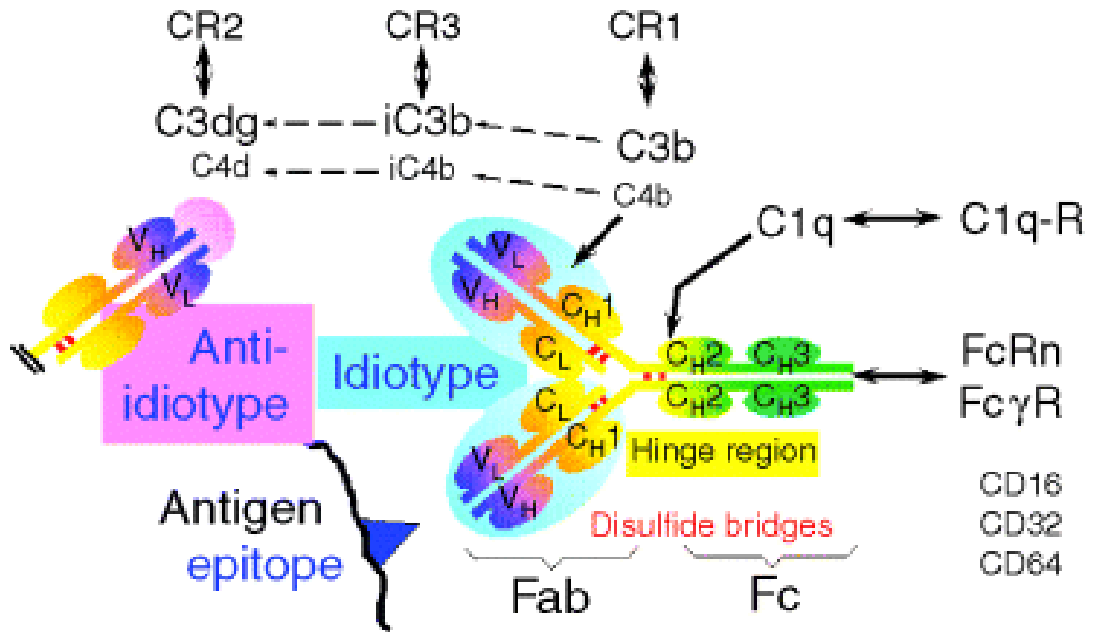
3.4.1. İntravenöz İmmünglobulinlerin Etki Mekanizması

IVIG konsantrelerinin %95 oranında immünglobulin (Ig) G içeren preparatları, ilk olarak humoral immün yetmezlikli hastalarda kullanılmıştır. Ek olarak 1981' den bu yana vücudun kompleks immünolojik olayları açıklığa kavuşturulmuş kullanımı artmıştır. İmmünglobulinler, günümüzde inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (66, 67). IVIG'in potansiyel etki mekanizması çeşitlidir (41); öncelikle immünglobulinin sabit Fc parçası ile Fc reseptörlerinin etkileşimi sonucu oluşan kompleman aktivasyonu immün komplekslerin temizlenmesini sağlamaktadır. IgG'nin değişken bölgesi otoantikorların aktivitesini module etmekte ve idiyotipik ağ interaksiyonu yoluyla immün regülasyon sağlamaktadır. IVIG'deki IgG havuzunun antijenik özelliği

çeşitli mikrobiyal antijenlere karşı etkilidir veya sitokin ve hücre yüzey reseptörleri gibi diğer ağ elemanları ile etkileşir. Ticari preparatların çoğu iyi tolere edilir ve hastalara multi infüzyonlar verilebilir.

IVIG' in belirgin antiinflamatuvar etkisi gözlenmiştir. Bu fenomen, en çok Kawasaki sendromunda belirgindir. ITP tedavisinde Fc reseptör blokajı ile otoantikorlarının duyarlılaştırdığı trombositlerin tutulumunda azalma sağlamaktadır. Deney hayvanlarında gösterilen muhtemel bir mekanizma IVIG' in aktif C3 fragmanlarına bağlanması ile komplemana karşı doku hasarını inhibe etmesidir (68).

Küçük miktarlarda sitokinlere ve reseptörlerine yönelik antikorlar, anti-idiotip antikorlar ve süper antijenlere karşı antikorlar da içermektedir. IVIG'in yarılanma ömrü 3 haftadır. İntravenöz immünglobulinlerin günümüzde immünomodülatuar etkisi tam olarak ortaya konmamıştır (Şekil-5) (69).



Şekil-5: IVIG etki mekanizması (69).

IVIG'nin imm nomod lat ar erken dönem etkileri; sirküle otoantikörlerin nötralizasyonu, makrofajlardaki Fc reseptörlerinin fonksiyonel blokajı, kompleman'ın oluşturduğu hasarın inhibe edilmesi, immün kompleks üzerine etkileri, proinflamatuvar sitokinlerin sentezinin düzenlenmesi, sirküle lökosit fenotiplerinin değiştirilmesini içerir (70). Geç dönem etkileri ise; B hücre klonlarının azaltılması ve antikör sentezinin baskılanması, serum antikör titrelerinde gözlenen spontan fluktuasyonlar üzerine etkisi, sentezlenen sitokin paternini değiştirerek, fonksiyonel T ve B hücre repertuarını değiştirmesi şeklindedir (70).

3.4.2. IVIG Kullanım Alanları

 mm n yetmezlikler, herediter ve metabolik hastalıklar, immünosupresif ilaç ve ajanlar kullanan hastalar, enfeksiyon hastalıkları, hemolitik hastalıklar, otoimmün hastalıklar, travma ve cerrahi girişim, transplantasyon sonrası dönem, diğerleri (intrauterin embriyo atılımını  nleme, steroide bağımlı astma v.b.)

3.4.3. Tedavinin Komplikasyonları

Hipotansiyon, pulmoner ve renal disfonksiyon, enfeksiyon, anafilaktik reaksiyon, bulantı, baş dönmesi, baş ağrısı, ateş, kusma, tromboembolik olaylar ve son zamanlarda yayınlanan ve tedavinin kesilmesine yol açan aseptik menenjit.

3.4.4. Pentaglobin (Pentaglobin®, Biotest Pharma GmbH, Dreieich, Germany)

IVIG benzeri yolla elde edilen antikorlar 1980'lerin ortalarında Pentaglobin adıyla üretilmiştir. Pentaglobin %5' lik immünglobulin preparatı olup, binlerce donörden elde edilen havuzdan üretilir ve %12 oranında IgM içerir.

IgM humoral immünolojik aktivite için önemli antikor sınıfıdır. Dalakta veya lokal olarak lenf nodlarında antijen sunumunun olduğu bölgede, ilk savunma noktasında sentezlenir. IgM molekülleri, bakteriyel patojenlerin eliminasyonu ve bakteri toksinlerinin nötralizasyonu için önemlidir. Tek bir IgM molekülü 10 adet antijen bağlama bölgesine sahiptir ve beş Fc fragmanı içerir, böylece aglütinasyon reaksiyonu ve kompleman aktivasyon yolları açısından diğer immünglobulin sınıflarından üstündür. IgM molekülü kompleman varlığında bakteriyel hücre duvarında lizisini başlatabilir (41). Yenidoğanlar, bu primer antikor sentezini do novo sentezleyebilir, böylece mikrobiyal patojenlere karşı gelişen ilk konakçı yanıtı IgM' lerden gelir (71).

Pentaglobin, kullanıma hazır bir insan immünglobulin preparatı olup, 50 mg protein/ml içerir. İmmünglobulin oranı %95' den az değildir. Pentaglobin esas olarak IgG(%76), yüksek konsantrasyonlarda IgA(%12) ve IgM(%12) içerir. İmmünglobulin subgrupları IgG1 %62, IgG2 %25.8, IgG3 %4, IgG4%7.6 oranında bulunur. %5' lik protein solüsyonu, pH 6.8' de iso-onkotik olarak bulunur, %2.5 glukoz ve 78 mmol/l sodyum klorid içerir. Pentaglobin, hiçbir katkı maddesi, stabilizan veya prezervatif içermez. Pentaglobin üretiminde, protein bölümü beta-propiolakton ile modifiye edilir, böylece iyi intravenöz tolerans

sağlanır (non-spesifik kompleman aktivasyonunu tetiklemez) ve immünglobulinlerin biyolojik fonksiyonu (Fc-bölüm fonksiyonu) sağlam kalır.

1 ml solüsyonda; 6 mg IgM, 6 mg IgA, 38 mg IgG, içeren, 10 ml'lik ampül ve 50-100 ml'lik infüzyon şişelerinde kullanıma sunulmuştur.

3.4.5. Flebogamma (Flebogamma® 5%, Grifols, Usa.)

İnsan plazmasından hazırlanan %5'lik IgG içeren ve koruyucu madde içermeyen, sorbitol ile stabilize edilmiş intravenöz kullanım için hazırlanmış immünglobulin preparatıdır. Yüksek pürifiye IgG (≥ 99) içeren flebogamma içinde IgG'nin subgrupları IgG₁ %70.3, IgG₂ %24.7, IgG₃ %3.1, IgG₄ %1.9 oranında bulunmaktadır. IgM ve IgA oranı < 0.05 mg/ml'dir. %5'lik flebogamma içinde her ml'sinde 50 mg IgG, 50mg D-sorbitol ve ≤ 6 mg/ml propilen glikol içeren preparatları mevcuttur. pH' sı 5 ile 6 arasında, osmolaritesi 240-350 mOsm/L arasında değişmektedir. 10-50-100-200 ml'lik infüzyon şişelerinde kullanıma sunulmuştur.

3.5.SEPSİSTE UYGULANAN İMMÜNOLOJİK TESTLER

Travmatik olaylar sonucu gelişen immünolojik değişiklikleri ortaya koyarak özellikle politravmatize septik hastalarda yeni immünomodülatör terapötik girişimleri uygulamak amacıyla immünolojik fonksiyonların değerlendirilmesine yönelik testler gittikçe önem kazanmakta, her geçen gün teknolojik gelişmelerle beraber yeni yöntemler ve ticari kitler uygulama alanına girmektedir. Bu yöntemlerden en güncel ve en çok kullanılanları şunlardır:

a) Lökositlerin kantitatif analizi: Flow Cytometry yöntemi (FACS= Flourescence Activated Cell Scorting), MACS (Magnetic Activated Cell Scorting)

b) Lökositlerin fonksiyonlarına yönelik testler:

Salgılanmış Sitokin tayini: ELISA, RIA, Bioassay

Salgılanmamış İntrasitoplazmik Sitokin Tayini: FACS, RT-PCR (Reverse Transcriptase- Polimerase Chain Reaction)

Lenfosit proliferasyon testleri: T- lenfositleri için Concanavalin (Con-A) veya Phytohemagglutinin (PHA); B-Lenfositleri için Pokeweed Antijeni gibi mitojenlerle uyarıya yanıtın H₃- timidin ile ölçümü

Makrofaj fonksiyon testleri: Neopterin (RIA ile) veya nitrik oksit tayini, Candida fagositoz testi, reaktif oksijen radikallerinin ölçümü

Deri testi (Geçikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu)

c) Akut faz reaktanlarının tayini: CRP (Nefelometri), Prokalsitonin (RIA, immünoluminometric-assay)

d) Kompleman ve immünoglobulinlerin tayini: Nefelometri

e) Hematolojik fonksiyonların tayini: Antitrombin-3 tayini, PT, PTT

3.6. ELISA (ENZYME-LINKED-IMMUNOSORBEND ASSAY)

Antijen- antikor birleşmesini görünür hale getirmek için, enzimle işaretli antikorlar (işaretli konjugat) kullanılmaktadır. Enzim işaretli konjugat, antijen-antikor kompleksine bağlandıktan sonra, ortama konulan substrat yıkıma uğramakta ve pH değişimine bağlı renk değişikliği oluşmaktadır. Bu renk değişikliği kolorimetrik olarak ölçülerek kontrollere göre sonuçlar

değerlendirilmektedir. Oldukça duyarlı bir yöntem olup, örnekte az miktarda olan antijen veya antikorun ölçülebilmektedir.

ELISA'nın üç değişik yöntemi bulunmaktadır. Bunlardan ilki, ELISA'nın en yaygın versiyonu olan sandwich ELISA yöntemidir. İkincisi, özgül antijene karşı oluşan antikorları araştırmada kullanılan, antikor yakalama (anti-body capture) yöntemidir. Üçüncüsü ise Mikropartikül enzim immün assay (MEIA) yöntemidir.

ELISA deneylerinde yaygın olarak kullanılan enzimler alkalen fosfataz ve yaban turpundan elde edilen peroksidazdır. Bu enzimler, monoklonal antikorların antijenleri ile kompleks oluşturma kapasitelerinde olumsuz etki yapmadan onlara kovalent olarak bağlanabilmektedir. Enzimlerle kullanılabilecek değişik substratlar bulunmaktadır. Substratların enzimle karşılaşması sonucunda, renkli ürün ya da kemilüminesans oluşumunu sağlayan substratların (luminol + Hidrojen peroksit) kullanılmasıyla testin duyarlılığı artırılmıştır (72).

3.7. FLOW CYTOMETRY

Hücrelerin biyokimyasal ve fiziksel özellikleri yıllardır primer mikroskop özellikleri kullanılarak saptanmasına karşılık günümüzde, Flow cytometry temel olarak hücrelerin büyüklüğüne ve granülaritesine bağlı olarak tek hücre seviyesinde araştırma imkânı sağlamaktadır. Flow cytometry sistemi, süspansiyon halindeki hücrelerde yüzey antijenlerinin belirlenmesi, B hücreleri ile T hücre alt gruplarının tayini, lösemi ve lenfoma tipleni, DNA analizi, fagositoz, otoantikor tayini ve kromozom analizi gibi bir çok konuda kullanılmaktadır. Flow cytometry'nin; çok sayıda hücreyi hızla sayabilme, çok az sayıdaki neoplastik hücreyi geniş bir hücre popülasyonu içinden saptama, hücre alt gruplarının

ayrımını ve heterojen hücre popülasyonlarının saflaştırılmaşı (sorting) gibi klinik kullanımda önemli özellikleri vardır (73).

3.7.1. Hücre Analizi

Flow cytometry ile analizlerde hücrelerin süspansiyon haline getirilmesi ve monoklonal antikor ile işaretlenmesi gerekmektedir. Lenfosit analizinde ficoll (histopaque) kullanılarak periferik kandaki şekilli elementler yoğunluk farklarına göre ayrılır. Hücrelerin izolasyonundan ve saf eldesinden sonra prob adı verilen bir veya daha fazla floresan bağlı monoklonal antikor veya diğer kromoforlar hücre ile konjuge edilir. Problar genellikle yüzey antijenine veya hücre içi elamanlarına spesifiktirler. Probu seçerken hastalığın prognozu önemlidir. Hastalığın hangi hücre popülasyonu ile çalışılacağını gösterir ve o hastalığa özgün problar kullanılır.

İmmünofloresan işaretleme tekniğinde direkt ve indirekt metodlar kullanılır. Direkt metoda antikorla konjuge olmuş florokrom (fluorescein isothiocyanate (FTIC), Rhodamin, phycoerythrin (PE) vb.) maddeleri kullanılır. Bu sistemin avantajı, kullanılan antikorun monospesifik olması nedeni ile, nonspesifik bağlanmanın ihmal edilecek kadar az olmasıdır. Çok düşük dansiteye sahip yüzey antijenlerinin gösterilememesi ise dezavantajıdır. İndirekt metoda ise; süspansiyon halindeki hücrelere ilk olarak işaretsiz monoklonal antikor bağlanır. Daha sonra analiz için ikinci bir işaretli monoklonal antikora ihtiyaç vardır. Bu ikinci antikor, hücre ile bağlı durumda olan birinci antikora bağlanır. Bu metodun avantajı, çok düşük dansiteye sahip yüzey antijenlerinin gösterilebilmesi, dezavantajı ise, nonspesifik bağlanmaların direkt metoda oranla daha sık görülmesidir (73).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜTDAM) laboratuvarında gerçekleştirildi. Araştırmamıza FÜTDAM'dan temin edilen ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen Wistar-Albino cinsi 30 adet rat alındı. Çalışmada, “Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Vertebralı Hayvanların Korunması için Avrupa Antlaşması” etik hükümlerine uyularak ve en az sayıda ratın kullanılmasına özen gösterildi. Denekler 12 saat gün ışığı alan ve havalandırma düzeneği bulunan odada (22-24 °C, % 70-75 nem) tutuldu. Standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi.

4.1. DENEY

Çalışmaya alınan denekler işaretlenerek, randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Tüm deneklere anestezi Ketamin HCl (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul) 90 mg/kg ve Xylazine (Rompun® Bayer, İstanbul) 10 mg/kg intramüsküler uygulanarak sağlandı.

Grup I (Kontrol Grubu, n=6): Bu gruptaki deneklere 1 ml % 0.9 NaCl intraperitoneal olarak enjekte edildi.

Grup II (Sepsis Grubu, n=6): Deneklere 1 ml % 0.9 sodyum klorür (NaCl) içerisinde E. Coli lipopolisakkariti (LPS) (0111:B4; Sigma Chemical, St. Louis, MO) 2,5 mg/kg intraperitoneal olarak enjekte edilerek deneysel sepsis modeli oluşturuldu (74).

Grup III (Sepsis Modeli Olusturularak IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immunglobulin verilen grup, n=9): Bu gruptaki deneklere 1 ml % 0.9 NaCl içerisinde 2,5 mg/kg E. coli lipopolisakkariti, intraperitoneal olarak verilerek deneysel sepsis modeli olusturuldu ve deneklere, LPS uygulandıktan 6 saat sonra ve sonraki iki gün 4 ml/kg (1 ml'sinde; 6 mg IgM, 6 mg IgA, 38 mg IgG içerir) IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immunglobulin (Pentaglobin, Biotest Pharma GmbH, Dreieich, Germany) intraperitoneal olarak uygulandı. (75).

Grup IV (Sepsis Modeli Olusturularak IgG içeren immunglobulin verilen grup, n=9): Bu gruptaki deneklere 1 ml % 0.9 NaCl içerisinde 2,5 mg/kg E. coli lipopolisakkariti, intraperitoneal olarak verilerek deneysel sepsis modeli olusturuldu ve deneklere LPS uygulandıktan 6 saat sonra ve sonraki iki gün 500 mg/kg, IgG içeren immunglobulin (Flebogamma® 5%, GRIFOLS, USA.) intraperitoneal verildi (76).

Deneklere E. coli LPS'nin intraperitoneal olarak verilmesinden yaklaşık 6-8 saat sonra hastalık belirtileri gözlemlendi. Sepsis tanı kriterleri olarak, deneklerin vücut ısılarını korumak için bir arada toplandıkları, hareketleri azaldığı ve yavaşladığı, piloereksiyon, gözlerde çapaklanma ve kanama geliştiği gözlemlendi (77). Bu belirtileri 12 saat içerisinde göstermeyen denekler çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca deneklerden bazal, 24. ve 72. saatte kuyruk veninden alınan kan örneklerinden lökosit ölçümleri ve rektal yolla (MICROLIFE marka digital termometre kullanılarak) vücut ısıları ölçüldü. Sepsis gelişmeyen ve çalışmayı tamamlayamayan deneklerin yerine yeni denekler alınarak denek sayısı 30'a

tamamlandı. Deneklerden girişim öncesinde ve girişimden sonra 24. ve 72. saatlerde sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinden Flow cytometry ile periferik kan lenfosit subgrupları ($CD45^+$, $CD14^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^++26^+$, $CD4^++30^+$,) ölçüldü, ELISA ile de rat IL-4, IFN- γ düzeyleri ölçülerek, Th polarizasyonu yorumlandı. Gruplar arası 14 günlük sağ kalım oranı değerlendirildi.

4.2. FLOW CYTOMETRY ANALİZİ

Periferik kan lenfosit subgruplarının İmmünoloji Anabilim Dalı Laboratuar'ında, lenfositlerin iki renk (double-colour direkt immünofluoresan yöntemi) immünofenotiplendirilmesi fluoresan izotiyosiyanat (fluorescein isothiocyanate, FITC) veya pikoeritrin (phycoerythrin, PE) ile direkt bağlı monoklonal antikorların işaretli kombinasyonlarının kullanıldığı tam kan lizis yöntemi uygulanarak, Becton Dickinson (BD) FACScan (USA) marka akım sitometri aletinde aşağıdaki rat monoklonal antikorları değerlendirildi;

$CD45^+$ (CL001F), $CD3^+$ (CL020FITC), $CD4^+$ (CL003PE), $CD8^+$ (CL004PE), $CD4^++26^+$ (CL061FITC) [Cedarlane Laboratories, CANADA]

$CD14^+$ PE (553740) $CD4^++30^+$, PE (559232) [BD Biosciences, CANADA]

Yukarıda belirtilen lenfosit alt grup yüzey belirleyicileri ($CD45^+$, $CD14^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^++26^+$, $CD4^++30^+$) için spesifik rat monoklonal antikorları ve izotipik kontroller için (IgG1_a, IgG2_a) tipi rat monoklonal antikorları kullanılarak direkt immünofluoresan yöntemi ile akım sitometrisinde ölçüldü.

Venöz kan örnekleri 0,2 ml EDTA' lı tüp içine 0,8 ml alınarak toplam 1 ml' ye tamamlandı iki saat içinde çalışıldı.

Örneklerin Hazırlanması:

- 1) 75 mm' lik polipropilen tüplerin içine 20 µL CD45⁺, CD14⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺+26⁺, CD4⁺+30⁺ ' ları içeren monoklonal antikorlar konuldu.
- 2) Üzerine tam kan sayımı için alınan örneklerdeki ile aynı dilüsyonda 100 µL tam kan konuldu.
- 3) Hazırlanan örnekler karıştırılarak 20 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildi.
- 4) Eritrositleri parçalamak ve lökosit stabilizasyonunu sağlamak için hazırlanan karışımı TQP rep cihazında yıkama işleminden geçirildi.
- 5) Tüp içerisine 500 µL PBS eklenerek analizörde okundu. Her okumada spesifik monoklonal antikorlardan 10' ar µL IgG1_a-FITC , IgG2_a-PE izotipik kontrol olarak kullanıldı.

Analizler 488 nm lazer; yana saçılım (SS) 90° ile saçılım (FS) ve flüoresan FL1 (530 nm dalga boyunda yeşil), flüoresan FL2 (585 nm dalga boyunda oran) dedektörleri kullanılarak System II Software 3.0 programında yapıldı. SS' e karşı FS dedektörlerinin kullanımı ile hücreler büyüklük ve granül içeriklerine göre bilgisayar ekranında yansıtılıp, lenfositler diğer periferik kan hücreleri ve yerleşim yerleri esas alınarak ayrıldı. Her bir hücre grubu için 10.000 lenfosit sayıldı. Çalışmada CD45⁺ - IgG1_a- FITC / CD14⁺ - IgG2_a - PE monoklonal antikor çifti kullanılarak lenfosit fraksiyonları üzerindeki kapılar denetlendi. Her çalışmada analiz edilen hücre gruplarının en az %95 oranında CD45⁺ taşıdığı ve monosit karışımının < %2 olduğu belirlendi. Sonuçlar yüzde değer şeklinde ölçülüp, bu değerler ile çarpılarak her bir lenfosit alt grubunun absölü sayısı hesaplandı.

4.3. SİTOKİN ANALİZİ

Sitokin tayinleri için deneklerden girişim öncesinde ve girişimden sonra 24. ve 72. saatlerde, yaklaşık 0,5 ml. kan alındıktan sonra örnekler, 3000 rpm.de 5 dakika santrifüj (Lobofuge 200-Heraeus sepatech Instruments; Germany) edildi. Ayırıştırılan serumlar, sitokin analizleri yapılana kadar -80°C ısıda derin dondurucuda (New Brunswick Scientific, -80°C Ultra Low Freezer, U-57085; USA) bekletildi. IFN- γ (KRC4021 BIOSOURCE, USA) ve IL-4 (KRC0041 BIOSOURCE, USA) rat sitokin kitleri kullanılarak ELISA yöntemiyle gerçekleştirildi. Kullanılan kitlerin sensivite değerleri IFN- γ için <13 pg/ml, IL-4 için <2.0 pg/ml olarak kaydedildi. Tüm ölçümler Fırat Tıp Merkezi İmmünoloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

4.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiki değerlendirme için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 12.0 programı kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart deviasyon olarak alındı.

Gruplar arasındaki tüm verilerin karşılaştırmasında One-Way ANOVA, Tukey HSD. Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testi kullanıldı. Grup içi karşılaştırmada Paired-Samples T testi ve Wilcoxon analizleri uygulandı. Grupların sağ kalım oranları Kaplan-Meier analizleri ile değerlendirildi. $p<0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi.

5. BULGULAR

Çalışmaya alınan deneklerin ağırlıkları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). (Tablo-3)

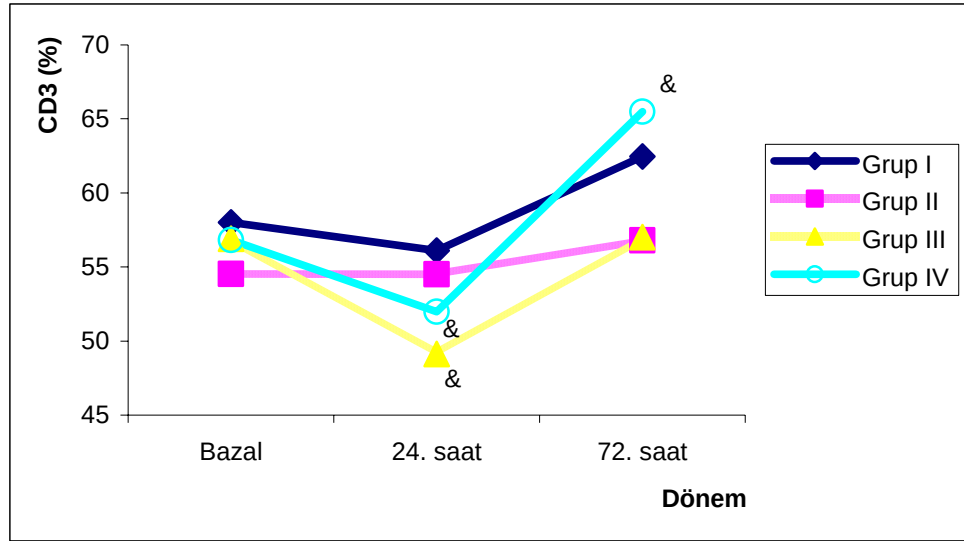
Kontrol grubundaki denekler hariç, diğer üç gruptaki deneklerin lökosit düzeyleri bazal değer ile karşılaştırıldığında 24. saatte yükseldiğini ancak 72. saat ile karşılaştırıldığında anlamlılık saptamadık. Deneklerin ortalama vücut ısılarının, kontrol grubu hariç diğer üç çalışma grubunda da bazal değere göre yükseldiğini saptadık.

Tablo-3 . Gruplara göre deneklerin ağırlık ortalamalarının dağılımı (Ort $\pm$ SD)

GRUPLAR	n	Ağırlık (gr)
Grup I	6	224.62 $\pm$ 6.90
Grup II	6	225.23 $\pm$ 9.14
Grup III	9	223.37 $\pm$ 11.48
Grup IV	9	221.12 $\pm$ 13.85

5.1. CD3⁺ LENFOSİT (TOTAL T LENFOSİT) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI

Kontrol grubunda bazal değere göre, ölçüm yapılan diğer dönemler arasında belirgin bir değişiklik gözlenmezken, sepsis oluşturulan grupta bazal değere göre 24. saatte anlamlı olmayan azalma, ardından ve 72. saatte anlamlı olmayan artış saptandı. III. ve IV. gruplarda bazal değere göre 24. saatte anlamlı azalmalar (sırasıyla $p=0.03$ ve $p=0.008$), ardından 72. saatte ise IV. grupta bazal değere göre anlamlı artış saptandı ($p=0.008$). Aynı dönem içerisinde gruplar arası karşılaştırmada anlamlı bir fark saptanmadı.

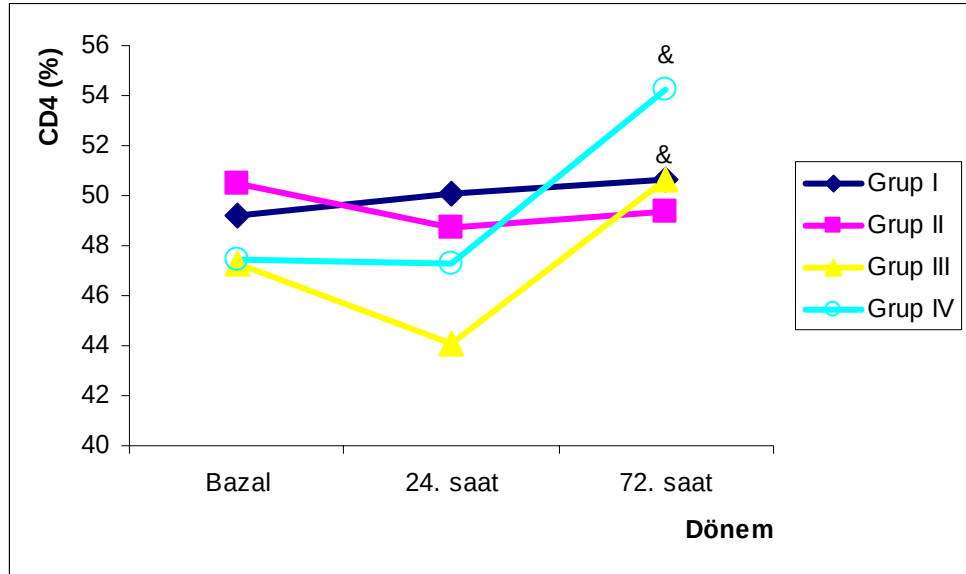


Şekil-6: Deneklerin CD3⁺ lenfosit düzeyleri

&: $p<0.05$ Bazal değer ile karşılaştırıldığında

5.2. CD4⁺ LENFOSİT (TH- T HELPER LENFOSİT) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI

Kontrol grubunda dönemler arasında belirgin bir fark saptanmaz iken, sepsis grubunda 24. ve 72. saatte bazal değere göre anlamlı olmayan azalmalar saptandı. III. ve IV. gruplarda bazal değere göre, 24. saatte anlamlı olmayan azalmalar saptanırken, 72. saatte ise III. grupta 24. saate göre, IV. grupta ise hem bazal hemde 24. saate göre anlamlı bir artışlar saptandı ($p<0.05$). Aynı dönem içerisinde gruplar arası karşılaştırmada anlamlı bir fark saptanmadı.



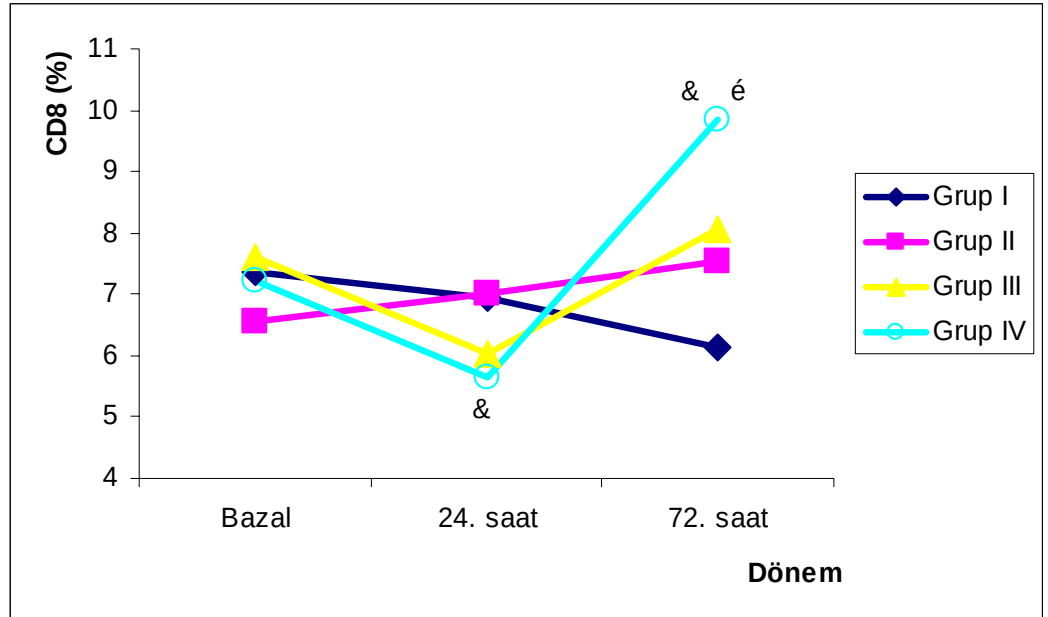
Şekil-7: Deneklerin CD4⁺ lenfosit düzeyleri

&: $p<0.05$ Grup III'de 24. saat değeri ile karşılaştırıldığında

$p<0.05$ Grup IV' te bazal ve 24. saat değerleri ile karşılaştırıldığında

5.3. CD8⁺ LENFOSİT (TC- T SİTOTOKSİK LENFOSİT) FLOW CYTOMETRY ANALİZ BULGULARI

Kontrol grubunda bazal değere göre, diğer ölçüm yapılan dönemlerde belirgin bir fark gözlenmez iken, sepsis grubunda 24. ve 72. saatte bazal değere göre anlamsız bir artışlar saptandı. III. grupta bazal değere göre 24. saatte anlamlı olmayan azalma ardından 72. saatte anlamlı olmayan bir artış saptandı. IV. grupta ise bazal değer ile karşılaştırıldığında 24. saate anlamlı bir azalma saptanırken ($p=0.05$), 72. saatte hem bazal değere göre hemde 24. saate göre anlamlı bir artışlar saptandı ($p<0.05$). Aynı dönem içerisinde gruplar arası karşılaştırmada anlamlı bir fark saptanmadı.



Şekil-8: Deneklerin CD8⁺ lenfosit düzeyleri

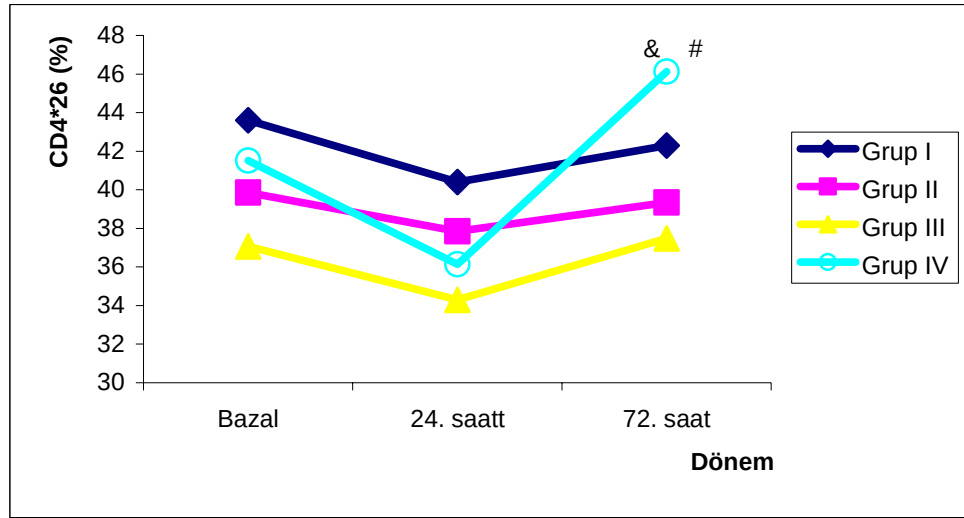
&: $p<0.05$ Bazal değer ile karşılaştırıldığında

é: $p<0.05$ 24. saat değeri ile karşılaştırıldığında

5.4. CD4⁺+26⁺ T LENFOSİT (TH1) FLOW CYTOMETRY ANALİZ

BULGULARI

Kontrol, II. ve III. gruplarda bazal değer ile diğer dönemler karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik saptanmadı. IV. grupta bazal değere göre 24. saatte anlamlı olmayan bir azalma, 72. saatte hem bazal, hem de 24. saate göre anlamlı bir artışlar saptandı (sırasıyla $p=0.01$, $p=0.01$). IV. grupta 72. saatte II. ve III. gruba göre anlamlı artış saptandı (sırasıyla $p=0.018$, $p=0.015$).



Şekil-9: Deneklerin CD4⁺+26⁺ lenfosit düzeyleri

&: $p<0.05$ Bazal değer ve 24. saat karşılaştırıldığında,

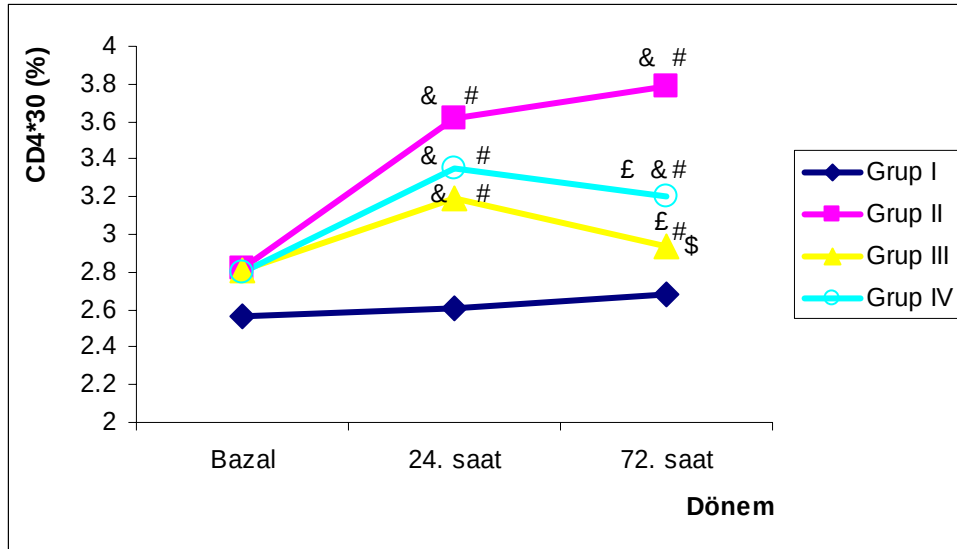
: $p<0.05$ II. ve III. grup ile karşılaştırıldığında

5.5. CD4⁺+30⁺ T LENFOSİT (TH2) FLOW CYTOMETRY ANALİZ

BULGULARI

Kontrol grubunda bazal değere göre, ölçüm yapılan diğer dönemler arasında belirgin bir değişiklik saptanmazken, sepsis oluşturulan grupta bazal değere göre 24. ve 72. saatte anlamlı artışlar saptandı (sırasıyla $p=0.02$, $p=0.02$). Bazal değer ile karşılaştırıldığında, III. grupta 24. saatte, IV. grupta 24. ve 72. saatte anlamlı artışlar saptandı ($p<0.05$).

24. saatte II. III. ve IV gruplarda I. gruba göre, II. grupta ise III. gruba göre anlamlı bir artma saptandı ($p<0.05$). 72. saatte II. III. ve IV gruplarda I. gruba göre, II. grupta III. ve IV. gruplara göre, IV. grupta ise III. gruba göre anlamlı bir artış saptandı ($p<0.05$).



Şekil-10: Deneklerin CD4⁺+30⁺ düzeyleri

& : $p<0.05$ Bazal değer ile karşılaştırıldığında

: $p<0.05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

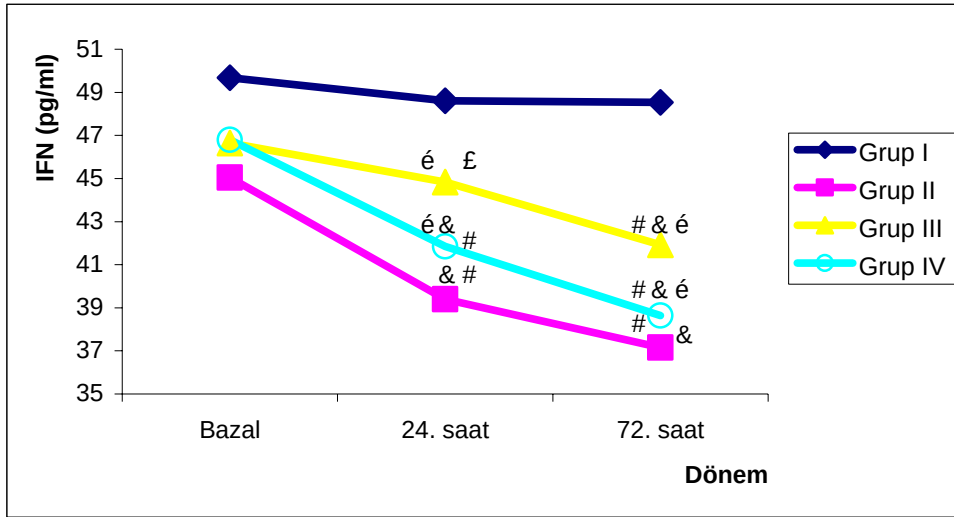
£ : $p<0.05$ II. grup ile karşılaştırıldığında

\$: $p<0.05$ IV. grup ile karşılaştırıldığında

5.6. IFN- γ

Kontrol grubunda bazal değere göre, ölçüm yapılan diğer dönemler arasında belirgin bir değişiklik gözlenmedi. II grupta bazal değer ile karşılaştırıldığında 24. ve 72. saatte anlamlı bir azalma saptandı ($p<0.05$). III. grupta bazal değer karşılaştırıldığında 72. saatte anlamlı bir azalma saptandı ($p=0.01$). IV. grupta bazal değer karşılaştırıldığında 24. ve 72. saatte anlamlı azalma saptandı (sırasıyla, $p=0.01$, $p=0.008$).

24. saatte II. ve IV. gruplarda I. gruba göre anlamlı bir düşüş (sırasıyla $p=0.004$, $p=0.002$), III. ve IV. gruplarda II. gruba göre anlamlı bir artış (sırasıyla $p=0.001$, $p=0.021$), III. grupta ise IV. gruba göre anlamlı bir artış saptandı ($p=0.013$). 72. saatte II, III, IV gruplarda I. gruba göre anlamlı azalma (sırasıyla $p=0.004$, $p=0.008$, $p=0.001$), II. gruba göre III. ve IV. gruplarda anlamlı bir artışlar saptandı (sırasıyla $p=0.002$, $p=0.013$)



Şekil-11: Deneklerin serum IFN- γ düzeyleri

& : $p<0.05$ Bazal değerler ile karşılaştırıldıklarında

: $p<0.05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

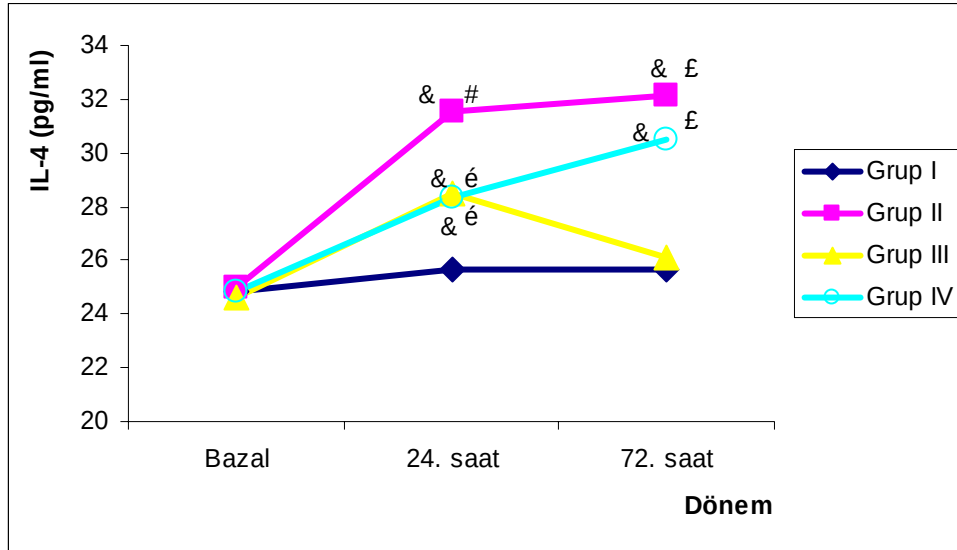
é : $p<0.05$ II. grup ile karşılaştırıldığında

£ : $p<0.05$ IV. grup ile karşılaştırıldığında

5.7. IL-4

Kontrol grubunda bazal değere göre, ölçüm yapılan diğer dönemler arasında belirgin bir değişiklik gözlenmez iken, bazal değere göre II, III ve IV. gruplarda 24. saate göre anlamlı artışlar saptandı ($p<0.05$). 72. saatte II ve IV. grupta bazal değere göre anlamlı yükselme saptandı ($p<0.05$).

24. saatte II. grupta I. gruba göre anlamlı artış saptandı ($p=0.016$). III. ve IV. grupta ise II. gruba göre anlamlı azalmalar saptandı ($p=0.013$). 72. saatte II ve IV. gruplarda hem I. hemde III gruba göre anlamlı artış saptandı ($p<0.05$).



Şekil-12: Deneklerin serum IL-4 düzeyleri

& : $p<0.05$ Bazal değer ile karşılaştırıldığında

: $p<0.05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

é : $p<0.05$ II. grup ile karşılaştırıldığında

£ : $p<0.05$ Kontrol ve III. grup ile karşılaştırıldığında

Deneklerin sağkalım sürelerine bakıldığında;

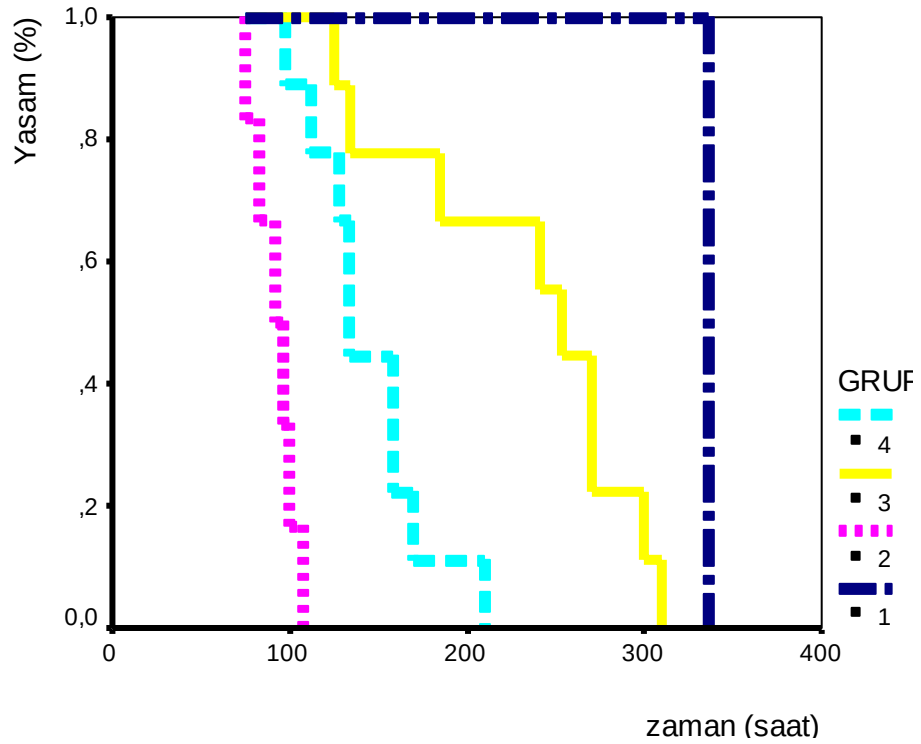
I. gruptaki deneklerde 14 günlük gözlem sürecinde ölüm görülmedi.

II. gruptaki deneklerin; 83-108 saatler arasında öldüğü gözlemlendi.

III. gruptaki deneklerin kontrol grubu hariç, diğer gruplara göre daha iyi prognoz ortaya konan bir tablo sergilediği belirlendi. Bu gruptaki deneklerin; 125-310. saatler arasında öldüğü saptandı.

IV. gruptaki deneklerin ise; 98-210. saatler arasında öldüğü saptandı.

Sağkalım oranlarına bakıldığında, kontrol grubu ile III. grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı.



Şekil-13 : Deneklerin saatlere göre sağ kalım oranları

6. TARTIŞMA

İlk deneysel peritonit çalışması farelerin peritonuna letal doz pnömokok enjeksiyonu ile 1905 yılında Kindborg tarafından gerçekleştirilmesinden bu yana bakteri kullanarak yapılan deneysel peritonit ve sepsis modelleri günümüzün halen önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır. Deneysel peritonit ve sepsis modellerinin yaklaşık yüzyıllık gelişimi esnasında, özellikle anti-mikrobiyal ve anti-inflamatuar ilaçların özel patojenlere veya inflamatuvar ajanlara karşı etkilerini incelemek bir çok araştırmacı için ilgi odağı olmuştur. Bu çalışmalarda özellikle pro-inflamatuar sitokinlerin salgılanması sonucu immün sistemin baskılanmasına veya aktive edilmesine yol açan bir dizi immüno-inflamatuar reaksiyon indüklendiği belirtilmiştir (78).

Pro-inflamatuar sitokinlerin aktive veya baskılama özelliklerinin açıklanmasında, sadece serum değerlerini belirlemek yanıltıcı sonuçlara neden olabilmektedir. Pro-inflamatuar sitokinlerin periferik dolaşımda yarılanma ömürleri kısadır. Ayrıca kanda çözünür doğal inhibitörleri de bulunmaktadır (79). Günümüzde yapılan sepsis ile ilgili klinik ve deneysel çalışmalarda, periferik kan lenfosit subgrupları veya lenfositlerdeki hücre içi sitokin düzeylerinin incelenmesi ile T lenfositlerindeki Th1 ve Th2 hücre tipi sitokinlerinin taranması, T lenfositlerin Th1 veya Th2 yönü reaksiyonlarından hangisine yöneldiği en geçerli yöntemlerle saptanmaktadır (80).

Çalışmamızda, farklı iki IVIG preparatı kullanarak deneklerde Th polarizasyonu (Flow cytometry ve Elisa yöntemi ile) ve sağkalım oranları değerlendirildi.

CD4⁺ T lenfositlerinin Th1'lere farklılaşarak inflamatuvar ve Th2'lere farklılaşarak ise antiinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine yol açmalarının yanı sıra, sepsiste gözlenen Th1'lerin Th2'lere kayması immünsupresyon mekanizmalarında önemli rol oynar. Th2'ye kayma günümüzde henüz yeni gösterilmekle birlikte; patojenin tipi, miktarı ve enfeksiyonun yeri gibi bileşenlerin, bu kaymanın gerçekleştirilmesindeki etkenlerden olup henüz CD4⁺ T hücrelerinin Th1 veya Th2 yanıtlara yönelmelerindeki mekanizmalar açıklanamamıştır. Th2 yanıtlarındaki artış sepsiste mortalite üzerine etki etmektedir. Th2 yanıtlarının Th1'e çevrilmesinin mortaliteyi önlediği ve antiinflamatuvar ajanların şiddetli sepsiste kullanılabileceği yapılan çalışmalarda öne sürülmüştür (48).

Yapılan çalışmalarda sepsisin özellikle geç döneminde sepsise bağlı mortaliteyle ilişkili olarak ya T hücre anerjisinin gelişerek invitro T hücre kültürlerinde IL-2, IL-4, IL-10 ve IFN- γ olmak üzere gerek Th1 gerekse Th2 tip sitokin sekresyonlarının düşük bulunduğu (42), ya da T hücre kültürlerinde IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 gibi Th2 sitokinlerin baskın duruma geçtiği; buna karşın Th1 tip IFN- γ ve IL-12 gibi sitokin sekresyonunun azaldığı bildirilmiştir (81).

İntravenöz immünglobulinler serum bakterisidal aktiviteyi stimüle ederek ve antiinflamatuvar mediatörleri artırarak bakteriyel endo ve ekzotoksinleri nötralize etmek suretiyle immün cevabı modüle edebilir. IVIG verilen sepsisli cerrahi hastalardaki sonuçların umut verici olmasına karşılık sepsis ve septik şok tedavisindeki kullanımı hala tartışma konusudur (82). IgM ve IgA'dan zenginleştirilmiş immünglobulinlerin bakteriyel lipopolisakkaridlere karşı daha

üstün bir antikor içeriğine sahip olduğu gösterilmiştir (83). Ayrıca IgM ve IgA'dan zenginleştirilmiş immünglobulinler pahalı olmasına karşın genellikle daha iyi tolere edilmekte ve yaklaşık 20 yıllık kullanımı neticesinde herhangi bir viral transmisyonu (bulaş) yol açmadığından daha güvenlidir. Yine buna benzer şekilde gram-negatif septik şoklu hastalar üzerinde yapılan prospektif kontrollü bir çalışmada IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin ile tedavi sonrasında sağkalımın daha iyi olduğu ortaya konmuştur. Nötropenik hastalarda poliklonal IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin ile tedavi sonrasında faydalı sonuçlar alındığına dair çalışmalar mevcuttur (84).

Yanık sonrası travma oluşan hastalarda yapılan prospektif bir çalışmada; 1, 3, 5 ve 7. günlerde alınan kan örneklerinden Flow cytometry yöntemi ile intrasitoplazmik sitokin düzeyleri değerlendirilmiş ve sepsise bağlı mortalitede, Th2 tipi sitokinlerin (IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 gibi) baskın, buna karşın Th1 tip IFN- γ ve IL-12 sekresyonunun azlığı şeklinde bir sitokin profili ile ilişkili olabileceği görüşü ileri sürülmüştür. İmmün fonksiyonun sitokin kaskadına bağlı değişimde farklı çalışmalar ile benzer immünopatolojik sonuçların elde edildiği vurgulanmıştır. (85).

Puyana ve ark'ları; 37 travma hastasında yaptıkları çalışmada, travmadan 48 saat sonra kan örneklerini alarak analiz etmişlerdir. Aneji hastalarda mortalitenin daha fazla; T hücre proliferasyon değerlerinin ise multiorgan yetmezlik (MOF) ve Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE III) skorlarıyla ters orantılı olduğu bildirilmiştir. Bu hastaları invitro T hücre kültürlerinde IL-2, IL-4, IL-10 ve IFN- γ olmak üzere gerek Th1 gerekse Th2 tip

sitokin sekresyonları düşük bulunmuş; baskın olarak Th2 tip T lenfosit klonlarına sahip hastalarda daha sonradan anerji gelişme oranının çok daha düşük olduğu belirtilmiştir (42).

Weighardt ve ark., major cerrahi uygulandıktan sonra sepsis sendromu gelişen 35 hastada yaptıkları çalışmada; inflamatuvar olaylarda özellikle IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 gibi Th2 tip sitokinlerin baskın duruma geçtiğini, buna karşın Th1 tip IFN- γ ve IL-12 gibi sitokin sekresyonunun azaldığını ve bu sitokin profilinin sepsise bağlı mortaliteyle ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (81).

Çalışmamızda, E. coli lipopolisakkariti uygulayarak deneysel sepsis modeli oluşturduğumuz ratlardan bazal değer için işlem başlangıcında, 24. ve 72.. saatlerde alınan kan örneklerinde sitokin profilini değerlendirdik. Sepsis oluşturduğumuz grupta Th1 tip sitokin olan IFN- γ sekresyonunun, 24. saatte ve daha geç dönemde 72. saatte hem bazal hemde kontrol grubundaki değerine göre azaldığını, Th2 tip sitokin olan IL-4 sekresyonunun ise 24. saat ve 72. saatte hem bazal değerine hemde kontrol grubuna göre arttığını saptadık.

Steinhauser ve ark. nın yaptıkları çalışmada; CBD yöntemi ve LPS uygulayarak sepsis modeli oluşturdukları farelerde, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinleri Elisa yöntemi ile değerlendirmiş, IL-12'nin akut septik peritonitteki ve sistemik sepsisteki rolü incelenmiştir. IL-12 uygulanmasının septik peritonitte IFN- γ düzeyini yükselterek sağ kalım süresini arttırdığı belirtmişlerdir (86).

Napolitano ve ark'nın farelerde yaptıkları çalışmada, deneklerde femur fraktürü oluşturup 4 gün süre ile E.coli LPS'ni (400 µg) intraperitoneal olarak uygulamışlardır. Bir grup deneğe IL-10 (100 µL salin içinde 0,5 µg), diğer bir gruptaki deneklere ise anti-IL-10 (100 µL salin içinde 100 µg) ilk LPS dozundan 30 dk. önce intraperitoneal olarak uygulamışlardır. Femur fraktürü oluşturulup LPS verilen farelerde, IL-10 tedavisinin sağ kalım süresini artırdığını ve tedavinin erken döneminde Th2 sitokini olan IL-4 düzeyini yükselttiğini belirtmişlerdir (87).

Çalışmamızda; deneklere E. coli lipopolisakkaritini intraperitoneal olarak uygulayarak sepsis modelini ortaya konduktan sonra iki farklı IVIG uyguladık. IVIG uyguladığımız gruplarda, özellikle de IgM ve IgA'dan zenginleştirilmiş immünglobulin uygulanan grupta daha belirgin olmak üzere 24 ve 72. saatte IFN-γ düzeyini sepsis grubuna göre daha yüksek olarak olarak saptadık. IL-4 düzeyinde ise 24. saatte bazal değere ve kontrol grubuna göre yükseldiğini, 72. saatte ise IgG uyguladığımız grupta yükselmeye devam ettiğini, IgM ve IgA'dan zenginleştirilmiş immünglobulin uyguladığımız grupta ise azalarak kontrol grubundaki değerine yaklaştığını saptadık. IgM ve IgA'dan zenginleştirilmiş immünglobulin uyguladığımız grupta erken dönemde IL-4 düzeyi artmış, ancak daha sonra düşmeye başlamıştır ve bu grupta sağ kalım süresi, kontrol grubu hariç diğer gruplara oranla daha uzun olarak tespit edilmiştir. IVIG uyguladığımız gruplardaki bu sitokin profili ve sağ kalımdaki süresinin daha uzun olması, IVIG preparatlarının antiinflamatuvar etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Sewnath ve ark.'ları, IL-10 defisiti olan ve olmayan farelerde yaptıkları çalışmada; deneklere intraperitoneal olarak E. coli (200 µL salin içinde 10^2 , 10^3 , 10^4 koloni içeren) uygulayarak peritonit modeli oluşturup ve anti-TNF antikorlarının serum TNF düzeylerine ve mortalite üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Peritonit indüksiyonundan 2 saat önce Anti-TNF (0,5 mg) uygulaması ile IL-10 defekti olan ve olmayan deneklerin serum TNF düzeylerinde anlamlı bir farklılığın olmadığını ve 24. ve 36. saatlerde en belirgin mortalite oranını saptamışlardır (88).

Sistemik olarak LPS uygulanarak deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlar, LPS uygulanmasından 4-14 saat sonra sakrifiye edilerek kan sitokin düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışılmış ve serum TNF- α , IL-1 β ve IL-10 düzeylerinin her iki kan örneğinde de artmış olduğu saptanmıştır (89).

Ono ve ark., ÇBD yöntemi ile peritonit oluşturdukları farelerden 12. saat, 1., 3., 5., ve 7. günlerde alınan kan örneklerinde TNF- α , IL-12, IL-18 ve IL-10 düzeylerini ELISA yöntemi ile değerlendirmişlerdir. IL-12, IL-18 ve IL-10 düzeylerinde ÇBD işleminden sonraki 12. saatte pik yaparken 1. ve 3. günlerde de yükselme olduğunu saptamışlardır. Sitokinlerin ÇBD' nin 7. gününde ise bazal değerlere döndükleri görülmüştür. TNF- α 'da ise anlamlı değişiklik saptamamışlardır. ÇBD işleminden 7 gün sonra subletal dozlarda LPS uygulanan farelerin serum IL-12, IL18, AST ve ALT düzeyleri ve karaciğer mononükleer hücrelerinde IL-12 ve IL-18 üretiminin arttığı görülmüştür. LPS uygulanmasından önce anti-IL-12, anti-IL-18 veya her ikisinin birlikte uygulanmasının sağ kalım oranlarını arttırdığı saptanmıştır (90).

Yapılan bir çalışmada, farelerde ÇBD yöntemi ile peritonit modeli oluşturulup, IL-12 (0,2 ml) intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Uygulamadan 48 saat sonra Elisa yöntemi ile yapılan ölçümlerde IFN- γ düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğu, IL-12 uygulamasının IFN- γ düzeyini anlamlı olarak yükselttiğini ve sağ kalım sürelerini arttırdığı tespit edilmiştir (91).

Lally ve ark.'ları yeni doğan farelere ml'sinde 10^5 E. coli bulunan süspansiyondan intraperitoneal olarak uygulayarak deneysel sepsis modeli oluşturdukları çalışmada; peritonit indüksiyonundan 4 saat önce, bir gruptaki deneklere farelerden rekombinant teknikle elde edilmiş IL-10'u iki farklı dozda (25 ng ve 50 ng) uygulamışlar ve diğer bir gruba ise anti-TNF- α (20 μ L) uygulamışlardır. Anti-TNF- α ile tedavi verilen grupta kontrol grubuna göre sağ kalım oranında belirgin bir iyileşme saptamışlardır. Kontrol grubuna göre 25 ng IL-10 ile tedavi verilen grupta sağ kalım açısından anlamlı bir fark bulunamazken 50ng IL-10 verilen grupla kontrol grubu arasında sağ kalımda anlamlı fark saptanmıştır (92).

Çalışmamızda; deneklerden 3 farklı dönemde kan örneği aldık. Sepsis oluşturduğumuz grupta, kontrol grubu ve bazal değere göre IFN- γ düzeyinin 24. ve 72. saatte düştüğünü, CD4⁺+26⁺ düzeyinin 24. saatte azaldığını ancak 72. saatte artmaya başladığını saptadık. IL-4 düzeylerinin ise 24. ve 72. saatte kontrol ve bazal değerlerine göre attığını tespit ettik. IVIG uyguladığımız gruplarda, sepsis oluşturduğumuz gruba göre, IFN- γ düzeyindeki düşüşün daha az olduğu, IL-4 düzeylerindeki artışı ise daha az olarak saptadık. Deneklerin, sepsis oluşturduğumuz grupta 3-5. günler arasında, IVIG uyguladığımız gruplarda ise 5-

14. günler arasında öldüğünü saptadık. IgM ve IgA'dan zenginleştirilmiş immünglobulin uyguladığımız grupta daha belirgin olmak üzere sağ kalımdaki artışın, bu preparatların erken dönemde, organ disfonksiyonları gelişmeden önce, belki de endotokseminin başlangıcında uyguladığımız için olabileceğini düşünmekteyiz.

Trautmann ve ark., IVIG preparatlarının içindeki LPS spesifik IgG antikorlarını değerlendirmişlerdir. Antijen olarak, septisemik enfeksiyonlarda en sık rastlanan E.coli, Klebsiella ve P.aeruginosa O antijen serotiplerinden elde edilen LPS'yi seçmişlerdir. LPS antikorlarını standardize ELISA metodu ile kantitatif olarak ölçmüşlerdir. IVIG solüsyonlarında E.coli, Klebsiella pneumoniae ve Pseudomonas aeruginosa suşlarının O antijen serotiplerine karşı antikorların ölçülebilir düzeyde bulunduğunu göstermişlerdir. Yine bu çalışmada, IgM ile zenginleştirilmiş tek preparat olan Pentaglobin'in özellikle yüksek antikor konsantrasyonuna sahip olduğu vurgulanmış ve buna bağlı olarak IgM ile zenginleştirilmiş preparatların Gr(-) nozokomiyal enfeksiyonların tedavi ve profilaksisinde daha faydalı olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda IgM ile zenginleştirilmiş preparatların endotoksinin temizlenmesi ve nötralizasyonunda en etkili IVIG preparatları olduğu kanısına varılmıştır (83).

Streptokokkal toksik şok sendromlu, çok merkezli, çift kör, randomize kontrollü çalışmada, hastalara poliklonal IVIG (1.gün 1 gr/kg, 2. ve 3. gün 0,5 gr/kg olarak) uygulanmıştır. Ayrıca hastalara intravenöz benzil penisilin (12 gr/gün) ile birlikte Clindamisin (600 mg/gün) uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunu etkilememesi için hastalara plazmaferez uygulanmamıştır. Plasebo

grubundaki mortalite oranı, poliklonal IVIG verilen gruba göre 3.6 kat daha yüksek olarak bulunmuştur. Aradaki farkın istatistiksel açıdan pek bir anlamı olmasa da streptokokkal toksik şok sendromu tedavisinde IVIG kullanılabilir sonucuna varılmıştır (93).

Kress ve ark.'larının, elektif kardiyo-pulmoner baypass uygulanacak 515 hastada yaptıkları çalışmada; cerrahiden 4 saat sonra IgM ile zenginleştirilmiş IVIG (ilk 3 saat 33 ml/saat sonraki 50 saatte ise 6 ml/saat olarak) uygulamışlardır. Bu hastalardan; 40 anejik hastada postoperatif enfeksiyon gelişmiştir. Enfeksiyon oranları plasebo grubunda %43, IVIG grubunda ise %5 olarak bulunmuş. Profilaktik olarak IgM ile zenginleştirilmiş IVIG kullanılmasının enfeksiyon riskini belirgin olarak azalttığı saptanmıştır. Ancak bu çalışmada mortalite bir ölçüt olarak değerlendirilmemiştir (94).

Çalışmamızda, deneysel sepsis modeli oluşturduğumuz ratlara, LPS enjeksiyonundan 6 saat sonra ve sonraki iki gün de dahil olmak üzere, 3 gün boyunca IVIG uyguladık, IgM ve IgA'dan zengin immünglobulin uyguladığımız grup ile kontrol grubu arasında sağ kalım oranlarında bir anlamlılık saptamadık. Bu sağkalım süresinin daha iyi olmasının sebebinin; literatürdeki çalışmalarda (83) belirtildiği gibi IgM ve IgA'dan zengin immünglobulin preparatının, sadece IgG içeren immünglobulin preparatına göre daha fazla antijen bağlaması, endotoksinin temizlenmesi ve nötrolizasyonunda en etkili IVIG preparatları olduğu ve kompleman inhibisyon özelliğinin daha fazla olmasından kaynaklandığı sonucu olabileceği kanaatindeyiz.

Hentrich ve ark.nın, çok merkezli, prospektif, randomize kontrollü çalışmalarında; sepsis sendromlu veya septik şoklu nütropenik hastalara kemoterapi uygulanmış ve sonrasında da 1300 ml %5 IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin (Her 100 ml' sinde 3,8 gr IgG, 0,6 gr IgM, 0,6 gr IgA) ve %5 Human Albumin 72 saat içinde verilmiştir. Çalışmada 28 günlük peryottaki tüm mortalite nedenleri incelenmiştir. IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin verilen gruptaki mortalite %26,2 iken bu oran plasebo grubunda %28,2 olarak bulunmuştur. Sepsis sendromlu hastaların %72'sindeki 28 günlük mortalite IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin verilen grupta %17,1 iken plasebo grubunda %16,7 ve septik şoklu hastaların %28' inde bu oran %52,9' a %54,8 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar, hematolojik malignansileri olan , septik şoklu ve sepsis sendromlu nütropenik hastalarda IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulinin hiçbir olumlu etkisinin olmadığı kanaatine varmışlardır (95).

Rodriguez ve ark.'larının, cerrahi uygulanıp abdominal sepsis gelişen 56 hastalık prospektif, randomize, çift kör yaptıkları çalışmalarında; hastalara 7 ml/kg/gün Pentaglobinve diğer bir gruptaki hastalara ise aynı dozda %5'lik Human Albumin vermişlerdir. Hastaların 30 günlük sağ kalım oranını değerlendirmişler, kültür-antibiyoqram sonucu ile uyumlu antibiyoterapi alan ve IVIG verilen hasta grubunda mortalite oranının (%27,5 n=8), kültür-antibiyoqram sonucu ile uygun antibiyoterapi alan kontrol grubundakine göre (%48,1 n=13) daha düşük olduğunu saptamışlardır. Ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlılık tespit etmemişlerdir (96).

Tuğrul ve ark.'nın yaptıkları klinik çalışmada, ağır sepsisli hastalara, 3 gün süreyle 5ml/kg IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş IVIG kullanmış, tedavi günlerinde ve takiben 5 gün boyunca hastaların klinik ağırlık derecelerindeki değişimi değerlendirmek amacı ile SOFA skorları hesaplanmış, ancak mortalitedeki düşüş net olarak açıklanamamıştır (97).

Erdem ve ark'ları, 44 prematüre doğan çocukta neonatal dönemde sepsis tedavisinde, standart sepsis tedavisine ek olarak IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulini 3 gün süresince kullanmışlardır. Çalışmada sepsise bağlı mortalite oranının tedavi grubunda %30, kontrol grubunda %37.5 olarak bulunmuş ve aradaki farkın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (98).

Werdan ve ark'.nın sepsisli 653 cerrahi ve medikal hasta üzerinde yaptıkları randomize ve kontrollü bir çalışmada; poliklonal İVİG uygulanması ile sepsisin şiddetinde hafif bir azalma olduğu, bununla birlikte mortalitede bir azalma olmadığı sonucuna varılmıştır (82).

Yapılan bir çalışmada; E. coli LPS'i ile sepsis modeli oluşturulan ratlarda, farklı konsantrasyonlarda IgG, IgM ve IgA içeren IVIG preparatlarının kompleman sistem inaktivasyon özelliklerini karşılaştırılmış ve çalışmanın sonucunda, hem invitro hem de invivo şartlarda, IgM içeren IVIG'lerin, sadece IgG içeren standart IVIG preparatlarına oranla kompleman inhibisyon özelliğinin daha fazla olduğunu gözlemlenmiştir (99).

Jacobs ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, ÇBD ile peritonit modeli oluşturdukları ratlara, peritonit indüksiyonundan 4 saat sonra; Piperasilin

(1000mg/kg) , Pentaglobin (4ml/kg), diğ er bir gruba ise Pentaglobin (4ml/kg) + Piperasilin(1000mg/kg) uygulamışlardır. Pentaglobin +Piperasilin kombinasyonu ile tedavi edilen gruptaki denekler, kontrol grubu hariç, diğ er gruplara göre sağkalım oranının anlamlı olarak daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (75).

Çalışmamızda, 14 günlük gözlem süresince IVIG uyguladığımız gruplarda yaşam süresi daha uzun olarak saptadık. IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin uyguladığımız grupla, kontrol grubu arasında sağkalım oranlarında anlamlılık tespit etmedik. Literatürde IVIG ile ilgili klinik çalışmalarda genellikle 28 günlük mortalite oranı, deneysel çalışmalarda ise 14 günlük mortalite oranları değerlendirilmiştir. Bundan dolayı IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin ile ilgili yapılmış çalışma sonuçları dikkatle yorumlanmalı ve standart sepsis tedavisindeki yerinin belirlenebilmesi için daha uzun süreli ve daha geniş çalışma gruplarında değerlendirilmesinin gerektiğini düşünmekteyiz.

IVIG, vücudun savunma mekanizmasını güçlendiren, IFN-  ve G-CSF gibi tedavi edici bir metoddur. Sepsis tedavisinde çok öncelerden beri kullanılmaktadır. Sepsisli hastalarda immünglobulin konsantrasyonu azalmıştır ve tedavinin bir parçası olarak IVIG kullanılmaktadır (98).

Pentaglobin ile yapılan klinik çalışmalarda, standart antibiyotik tedavisi ile karşılaştırıldığında daha fazla fayda elde edilmiştir. Endotoksemi varlığında dahi Pentaglobin infüzyonu fizyolojik fonksiyonlarda iyileşme sağlamıştır (100, 101).

Asakura ve ark.'ları, ratlara LPS uygulayıp DIC modeli oluşturdıkları deneysel çalışmada, deneklere LPS (30 mg/kg) uygulamışlar ve LPS uygulamasından 30 dk önce ve 4 saat sonra iki doz IVIG uygulamışlardır. Diğer gruptaki deneklere LPS (5 mg/kg) uygulayarak oluşturdıkları DIC modelinde, LPS' den 1 saat sonra tek doz IVIG uygulamışlardır. Her iki grupta IVIG'in plazma kreatinin ve Alanin aminotransferaz düzeylerinin, IVIG uygulanmayan gruptaki deneklere göre daha düşük olduğunu saptamışlardır. Aynı zamanda bu deneklerde IVIG'in glomerüler fibrin depozitlerini azalttığını ve serum TNF ve IL-6' yı suprese ettiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada; IVIG'in LPS tarafından indüklenen DIC modelinde, TNF ve IL-6' yı suprese ettiği aynı zamanda hemostatik bozukluğu düzelttiği, organ disfonksiyonunu azalttığı ve glomerular fibrin depozitlerini önlediği bulunmuştur (102).

Yapılan bir deneysel çalışmada, 40 ratta ÇDB yöntemi ile peritonit modeli oluşturulmuştur. Peritonit indüksiyonundan 2 ve 20 saat sonra deneklere sonra IgG (0,4 gr/kg) içeren IVIG uygulanmıştır. Peritonit indüksiyonundan 24 saat sonra deneklerin lökosit sayısının arttığı ve hafif bir metabolik asidoz olduğunu saptamışlardır. IVIG tedavisi verilen deneklerin, takip eden günlerde lökosit sayılarının daha düşük ve pH' larının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda sağkalım oranı IVIG verilen grupta % 70 iken, kontrol grubunda %40 olduğu bulunmuş. IVIG' in deneysel sepsis tedavisinde yararlı etkilerinin olduğuna dikkat çekmişlerdir (103).

Çalışmamızda, IgG içeren IVIG verdiğimiz grupta, sepsis oluşturulan gruba göre lökosit sayılarındaki yükselişin daha az olduğunu ve sağkalım oranlarının daha uzun olduğunu tespit ettik.

İmmünglobulin preparatları şiddetli bakteriyel enfeksiyonlarda, antibiyotik tedavisi ile beraber uzun süreden beridir kullanılmaktadır (104). İVİG içerdiği antilaktamaz antikorlara bağlı olarak ve gram negatif bakterilerinin dış duvarında düzensizliğe neden olmaları dolayısı ile acylureidopenisilinlerle sinerjistik etki gösterebilir(82). İmmünglobulin preparatlarının bazı hastalıklarda, antiinflamatuvar etkisi olduğu ve sitokin üretimini azalttığı bilinmektedir. Guillan-Barre sendromunun tedavisinde İmmünglobulin preparatlarının dolaşımdaki pro-inflamatuvar sitokin üretimini azalttığı bilinmektedir (105).

Sepsis sendromlu ve septik şoklu hastalara poliklonal IVIG verilmesindeki amaç sadece immunglobulin düzeylerini düzenlemek ve mikroorganizmalara karşı spesifik antikorlar sağlamak değildir. Bunlarda başka, proinflamatuvar hücrelerdeki Fc reseptör blokajı, kompleman aktivasyonunun önlenmesi, lökosit ve serum bakterisidal aktivitenin stimülasyonu ve sitokin etkilerinin engellenmesi (lenfositler tarafından gerçekleştirilen sitokin üretiminin modülasyonu) gibi mekanizmalarla ciddi inflamatuvar hastalıkları olan hastalar için potansiyel faydalar temin edildiği öne sürülmektedir (99, 106).

Çalışmamızda; LPS uyguladığımız 3 grupta da, CD3⁺ (Total T Lenfosit) düzeylerinin bazal değere göre 24. saatte azaldığını, 72. saatte ise arttığını saptadık. 72. saatteki artış IVIG verdiğimiz gruplarda sepsis grubuna göre anlamlı idi. CD3⁺ düzeyleri, enfeksiyon hastalıklarının iyileşme döneminde

mutlak sayıları ve lökositler içindeki dağılım oranları artmaktadır. Bizde IVIG verdiğimiz gruplarda enfeksiyonun 72. saatteki artışları bazal değere göre anlamlı olarak saptadık. CD4⁺ (T Helper Lenfosit) hücrelerinin sepsis oluşturduğumuz gruplardaki değişimlerini anlamsız olarak bulduk. Ancak IVIG uyguladığımız gruplarda 72. saatte bazal değerlerine göre anlamlı olarak yükseldiğini saptadık. T helper'lar; makrofajların, fagositoz ve mikroorganizmaları öldürme yeteneklerini güçlendirerek, enfeksiyonlara karşı savunmayı güçlendirmektedirler. Bizde IVIG uyguladığımız gruplarda CD4⁺ düzeylerinde 24. saatten sonra başlayan ve 72. saate doğru giderek artan bir artış saptadık.

Leon ve ark.'larının E. coli lipopolisakkaritini intraperitoneal uygulayarak deneysel sepsis modeli oluşturdukları farelerde, IL-10 (30 µg/kg) intraperitoneal olarak uygulamışlar. IL-10 uyguladıkları deneklerde, IL-10 uygulamadıkları deneklere göre vücut ısılarını daha düşük olarak saptamış ve bu deneklerden 1. , 4. ve 24. saatlerde alınan kan örneklerinde IL-6 ve TNF-α düzeylerini anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır. Bu sonuçlarla IL-10 tedavisinin sepsiste antipiretik etkisini açıklamışlardır (74).

Çalışmamızda, LPS uygulayarak sepsis modeli oluşturduğumuz deneklerde, vücut ısını bazal değer ve kontrol grubuna göre daha yüksek olarak tespit ettik. IVIG uyguladığımız gruplar da ise, IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin uyguladığımız grupta daha belirgin olmak üzere, vücut ısısındaki yükselişin daha az olduğunu saptadık.

Aslında gerek insanlarda yapılan çalışmalarda, gerekse hayvan modellerinde septik uyarı sonucu hem proinflamatuvar ajanların Th1, hem de

bunların zararlı etkilerini modüle etmek için buna paralel olarak antiproinflatuar ajanların Th2 tip sitokinlerin salgılanmasının indüklendiği; enerji gibi her iki tip sitokin salgılanmaması veya bu dengenin biri lehine bozulması durumunda ise multiorgan yetmezlikleriyle mortalitenin arttığı düşünülmektedir. Proinflatuar sitokinlerin periferik sirkülasyonda yarılanma ömürlerinin son derece kısa olması ve kanda çözünür TNF reseptörleri, IL-1 antagonisti gibi doğal inhibitörlerin bulunması nedeniyle sadece kan düzeylerinin araştırılmasının yanıltıcı sonuçlara yol açtığı bilinmektedir. Bu yüzden, son yıllarda sepsisli hastalarda yapılan çalışmalarda özellikle, periferik kan lenfosit subgrupları veya intrasitoplazmik sitokin düzeylerinin araştırılmasının daha doğru sonuçlar vereceği düşünülmektedir. İmmün sistemde Th1 mi yoksa Th2 mi reaksiyonların geçerli olduğu periferik kan lenfosit subgrupları veya T lenfositlerindeki intrasitoplazmik IL-4 ve IFN- γ tayiniyle saptanmaktadır.

Uluslararası Sepsis Komitesi Klavuzları; kanıta dayalı ciddi sepsis ve septik şok tedavisinde hangi tedavinin etkili olduğunu ve verilmesi gerektiğini ve yine hangi tedavinin etkisiz olduğunu ve verilmemesi gerektiğini açıklayan önemli bir klavuzdur. IVIG tedavisi konusunda ise bu klavuz sessiz kalmaktadır. Pediatrik kısımda “poliklonal IVIG” in mortaliteyi azalttığı, sepsis ve septik şokta ümit verici bir adjuvan olduğu belirtilmektedir, fakat erişkin hastalar için olan kısmında pozitif veya negatif olduğuna dair bir açıklama bulunmamaktadır (107).

Şüphesiz IVIG tedavisi konusunda tartışmalar sürüp gidecektir. İmmünomodulatuar tedavi olarak düşündüğümüz IVIG tedavisinin pahalı ve bu nedenle kanıt düzeyi II için uygun olmadığını savunulabilir. Fakat yüksek maliyet

ile mortalitedeki düşüş arasındaki denge iyi hesaplanmalıdır. Ayrıca bu kar-zarar muhasebesi tüm uygulanmakta olan tedavilerde de gözetilmelidir, bu tartışma sadece IVIG için olmamalıdır.

Normal ve patolojik durumlarda IVIG yarı ömrü değişebilmektedir. IgG normal bireylerde yaklaşık 3-5 haftalık yarı ömre sahiptir (IgG1, IgG2, IgG4). IgG' nin minör içeriği olan IgG3' ün yarı ömrü 1 hafta kadardır. İntravenöz infüze edilen dozun %100' ü intravasküler alanda bulunmakta, 3-4 günde %50-70 damar içinde kalırken ekstrasvasküler havuzda da dengeye ulaşmaktadır. Katabolizması Fc reseptörlerine bağımlı, kısmen de serum konsantrasyonuna bağımlıdır. Hipermetabolik durumlarda yarı ömrü azalmıştır. IVIG' in nosokomiyal enfeksiyonlardan korumadaki çelişkili faydaları, standart preparatlardaki antikor seviyelerinin değişikliği ile açıklanabilir. Yine IVIG uygulamasının dozu, veriliş süresi, doz sayısı konusundaki farklılıklar da durumu açıklayabilir. Bütün bu özellikler göz önüne alınarak doz miktarı ve doz sayısı, doz aralıkları planlandığında daha etkili sonuçların alınması mümkün olabilecektir.

Çalışmamızda, deneysel olarak oluşturduğumuz sepsis modelinde, LPS uyguladıktan 6 saat sonra ve sonraki iki gün de dahil olmak üzere ratlara üç gün boyunca intraperitoneal olarak IVIG preparatları uyguladık. Sadece sepsis oluşturduğumuz grupta 24. ve 72. saatte, Th2'nin göstergesi olan CD4⁺+30⁺ ve IL-4'ün hem bazal değerine göre, hem de kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı olarak yükseldiğini saptadık. Bunun aksine IVIG uyguladığımız gruplarda, IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin uyguladığımız grupta daha belirgin olmak üzere , 24. ve 72. saatte, Th2'nin göstergesi olan CD4⁺+30⁺ ve IL-4'ün

hem bazal değerine göre, hem de kontrol ve diğer gruplara göre artışın ise daha düşük düzeyde kaldığını saptadık. Bu sonuçlar ışığında IVIG preparatlarının, özellikle de IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş tek immünglobulin preparatı olan Pentaglobinin inflamasyonu sınırlayan yani; antiinflamatuvar, immün regülasyon ve antitoksik etkili olduğunu düşündürmektedir. Sepsis tedavisinde antibiyoterapi halen altın standarttır. Ancak mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç geliştirdikleri göz önüne alındığında, sepsis fizyopatolojisi ve biyopatolojisinin de evrim geçirmekte olduğu ve immün destek tedavisinde gerekli olduğu düşünülmektedir. Deneysel sepsis modeli oluşturduğumuz ratlarda IVIG preparatlarının, özellikle de IgM ve IgA ile zenginleştirilmiş immünglobulin preparatının daha belirgin olmak üzere, Th2 yanıtını ve mortaliteyi azalttığını, bu açıdan standart sepsis tedavisinde adjuvan olarak kullanılmasının yarar sağlayacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med 2003; 348: 138-150.
2. Muckart DJ, Bhagwanjee S. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients. Crit Care Med. 1997 ;25:1789-1795.
3. Fenton KE, Parker MM. Severe Sepsis: Recent Advances in Management and the Need to do More. Advances in Sepsis 2003; 3: 75-82.
4. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. American College of Critical Care Medicine Consensus Conference: definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992; 20:864-874.
5. Matot I, Sprung CL. Definition of sepsis. Intensive Care Med 2001;27:3-9.
6. Goris RJ. MODS/SIRS: result of an overwhelming inflammatory response? World J Surg 1996; 20:418-421.
7. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. Crit Care Med 2003; 31:1250-1256.
8. Marino PL. Infection, inflammation and multiorgan failure. The ICU Book 1998, second edi, Williams and Wilkins, Bealtimore 502-515.
9. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1997;112: 235-243.
10. Knaus WA, Sun X, Nystrom O, Wagner DP. Evaluation of definitions for sepsis. Chest 1992; 101:1656-1662.

11. Balk RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology and clinical manifestations. Crit Care Clin 2000; 16:179-192.
12. Bone RC. Gram-negative sepsis. Background, clinical features, and intervention. Chest 1991; 10: 802-808.
13. 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 costs of care. Crit Care Med 2001; 29:1303-1310.
14. Aygün G. Sepsis ve septik şok. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumda Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum dizisi 2002; 31:131-140.
15. Beşirbellioğlu AB. Nozokomiyal bakteriyemi ve sepsis. Haznedaroğlu T, Özgüven V, Pekcan M. Hastane infeksiyonları, 1. Baskı, Ankara. GATA, 2003:130-144.
16. Jonsson B, Berglund J, Skau T, Nystrom PO. Outcome of intra-abdominal infection in pigs depends more on host responses than on microbiology. Eur J Surg. 1993; 59:571-578.
17. Marshall J, Sweeney D. Microbial infection and the septic response in critical surgical illness. Sepsis, not infection, determines outcome. Arch Surg 1990; 125:17-23.
18. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ, Larson JP. Klinik Anesteziyoloji. Tulunay M, Cuhruk H. 3. Baskı, Ankara, Günes, 2004:979-994.
19. Dellinger RP. Inflammation and coagulation: implications for the septic patient. CID 2003;36:1259-1265.
20. Güner İ, Özmen D, Bayındır O. Sitokinler. T Klin Tıp Bilimleri 1997;17:65-74.
21. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. Medical Immunology. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. USA, McGraw-Hill, 2001:148-166.

22. Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth.* 1996;77:110-117.
23. Özcan C, Hasanoglu A, Gülcüler M. Sepsis ve inflamasyon mediatörleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1996;3:374-381.
24. Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J. Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. *Med Sci Monit* 2005;11:RA76-85.
25. Ramazanoglu A. İnflamatuvar mekanizma-SIRS. *Türk Anest Rean Der Dergisi* 2003;31:39-43.
26. Tuğrul S, Çakar N. Sepsiste hemofiltrasyon. *Yogun Bakım Dernegi Dergisi* 2005;1:153- 158.
27. Cavaillon JM, Adib-Conguy M, Fitting C, Adrie C, Payen D. Cytokine cascade in sepsis. *Scand J Infect Dis* 2003;35:535-544.
28. Cinel İ. Sepsiste patojenik mekanizmalar. *Yogun Bakım Dernegi Dergisi* 2005;1:127- 139.
29. Niederman MS, Fein AM. Sepsis syndrome, the adult respiratory distress syndrome and nosocomial pneumonia: a common clinical sequence. *Clin Chest Med* 1990;11:633-656.
30. Bone RC. Sepsis syndrome: new insights into it pathogenesis and tratment. *Infect Dis Clin North Am* 1991; 793-805.
31. Doğanay M. Sepsis. Willke A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları Kitabı'nda. İstanbul : Nobel Tıp Kitabevi, 1996; 473-485.*
32. Vincent JL; International Sepsis Forum. Hemodynamic support in septic shock. *Intensive Care Med* 2001; 27:S80, S89.
33. Demirkıran O. Sepsiste klinik sonucu olumlu etkileyen tedaviler. *Yoğun Bakım Deneği Dergisi* 2005;1 : 144-152.

34. Schumer W. Steroids in the treatment of clinical septic shock. *Ann Surg* 1976; 184:333-349.
35. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. *N Engl J Med* 1987; 137:659-665.
36. Sprung CL, Caralis PV, Marcial EH, Pierce M, Gelbard MA, Long WM, et al. The effects of high dose corticosteroids in patients with septic shock. *N Engl J Med* 1984; 31:1137-1143.
37. Cronin I, Cook DJ, Carlet J, Heyland DK, King D, Lansang MA, Fisher CJ Jr. Corticosteroid for sepsis: A critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit Care Med* 1995; 23:1430-1439.
38. Bollaert PE, Charpentier C, Levy B, Debouverie M, Audibert G, Larcan A. Reversal of late septic shock with supraphysiological doses of hydrocortisone. *Crit Care Med* 1998; 26:645-650.
39. Briegel J, Forst H, Kellerman W, Haller M, Peter K. Haemodynamic improvement in refractory septic shock with cortisol replacement therapy. *Intensive Care Med* 1992; 18:318.
40. Vervloet MG, Thijs LG, Hack CE. Derangements of coagulation and fibrinolysis in critically ill patients with sepsis and septic shock. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24:33-34.
41. Lissner R, Struff WG, Autenrieth IB, Woodcock BG, Karch H. Efficacy and potential clinical applications of Pentaglobin an IgM-enriched immunoglobulin concentrate suitable for intravenous infusion. *Eur J Surg Suppl* 1999; 584:17-25.
42. Puyana JC, Pellegrini JD, De AK, Kodys K, Silva WE, Miller CL. Both T-helper-1- and T-helper-2-type lymphokines are depressed in posttrauma anergy. *J Trauma* 1998; 44:1037-1046.
43. Munder M, Mallo M, Eichmann K, Modolell M. Murine macrophages secrete interferon- gamma upon combined stimulation with interleukin-12 and

- interleukin-18: A novel pathway of autocrine macrophage activation. *J Exp Med* 1998; 187: 2103-2108.
44. Seder RA, Germain RN, Linsley PS, Paul WE. CD28-mediated costimulation of interleukin 2 (IL-2) production plays a critical role in T cell priming for IL-4 and interferon gamma production. *J Exp Med*. 1994 ;179:299-304.
 45. Kaplan MH, Sun YL, Hoey T, Grusby MJ. Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4-deficient mice. *Nature* 1996; 382:174-177.
 46. Bacon CM, Petricoin EF, Ortaldo JR, Rees RC, Lerner AC, Johnston JA, O Shea JJ. Interleukin 12 induces tyrosine phosphorylation and activation of STAT4 in human lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92:7307-7311.
 47. Thierfelder WE, van Deursen JM, Yamamoto K, Tripp RA, Sarawar SR, Carson RT, et al. Requirement for Stat4 in interleukin-12-mediated responses of natural killer and T cells. *Nature* 1996 ;382:171-174.
 48. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000; 117: 1162-1172.
 49. O'Sullivan ST, Lederer JA, Horgan AF, Chin DH, Mannick JA, Rodrick ML. Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection. *Ann Surg*. 1995 ;222:482-492.
 50. Heidecke CD, Hensler T, Weighardt H, Zantl N, Wagner H, Siewert JR, Holzmann B. Selective defects of T lymphocyte function in patients with lethal intraabdominal infection. *Am J Surg*. 1999 ;178:288-292.
 51. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med*. 1999 ;27:1230-1251.

52. Oberholzer C, Oberholzer A, Bahjat FR, Minter RM, Tannahill CL, Abouhamze A, et al. Targeted adenovirus-induced expression of IL-10 decreases thymic apoptosis and improves survival in murine sepsis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 25;98:11503-11508.
53. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Chang KC, Cobb JP, Buchman TG et al. Prevention of lymphocyte cell death in sepsis improves survival in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 ;96:14541-14546.
54. Napolitano LM, Campbell CC, Bass BL. Kinetics of splenocyte interleukin-4 production after injury and lethal endotoxin challenge. *J Surg Res*. 1997; 67:33-39.
55. Mack VE, McCarter MD, Naama HA, Calvano SE, Daly JM. Candida infection following severe trauma exacerbates Th2 cytokines and increases mortality. *J Surg Res*. 1997; 69:399 -407.
56. Lyons A, Kelly JL, Rodrick ML, Mannick JA, Lederer JA. Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection. *Ann Surg*. 1997;226:450-460.
57. Angle N, Hoyt DB, Cabello-Passini R, Herdon-Remelius C, Loomis W, Junger WG. Hypertonic saline resuscitation reduces neutrophil margination by suppressing neutrophil L selectin expression. *J Trauma*. 1998 ;45:7-13.
58. Knoferl MW, Angele MK, Ayala A, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH. Do different rates of fluid resuscitation adversely or beneficially influence immune responses after trauma-hemorrhage? *J Trauma*. 1999 ;1:23-33.
59. Wichmann MW, Ayala A, Chaudry IH. Male sex steroids are responsible for depressing macrophage immune function after trauma-hemorrhage. *Am J Physiol*. 1997;273:1335-1340.
60. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2000 ;85:9-18.

61. Xu D, Chan WL, Leung BP, Huang F, Wheeler R, Piedrafita D, Robinson JH, Liew FY. Selective expression of a stable cell surface molecule on type 2 but not type 1 helper T cells. J Exp Med. 1998 ;187:787-794.
62. Kılıçturgay K. Kan Hücrelerinin gelişimi. Kılıçturgay K (editör). İMMÜNOLOJİ 2003. İstanbul, Nobel-Güneş Kitapevi. 2003, 15-51.
63. Kılıçturgay K. Sitokinler. Kılıçturgay K (editör). İMMÜNOLOJİ 2003. İstanbul, Nobel-Güneş Kitapevi. 2003, 113-151.
64. Gessani S, Belardelli F. IFN-gamma expression in macrophages and its possible biological significance. Cytokine and Growth Factor Reviews 1998; 9:117-123.
65. Kaempfer R. Cytokine and interferon research in Israel. Cytokine Growth Factor Reviews 1998 ;9:99-108.
66. Schedel I, Dreikhausen U, Nentwig B, Hockenschnieder M, Rauthmann D, Balıkcıoğlu S, et al. Treatment of gram-negative septic shock with an immunoglobulin preparation: A prospective randomized clinical trial. Crit Care Med 1991; 19:1104-1113.
67. Zeni F, Freeman B, Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. Crit Care Med 1997; 25:1095-1100.
68. NIH consensus conference. Intravenous immunoglobulin. Prevention and treatment of disease. JAMA. 1990 ;264:3189-3193.
69. Simon HU, Spath PJ. IVIG--mechanisms of action. Allergy. 2003 ;58:543-552.
70. Altıntaş A. Nörolojik Hastalıklarda İmmün Globülin Kullanımı. . İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Çocuk ve Erişkinde Bağışıklama (Aşılama ve İmmünglobulin Kullanımı) Sempozyumu1998:121-127.
71. Fanaroff AA, Korones SB, Wright LL, Wright EC, Poland RL, Baver CB, et al. A controlled trial of intravenous immune globulin to reduce nosocomial infections in very-low-birth-weight infants. N Engl J Med 1994; 330:1107-1113.

72. Durmaz R. Antijen-Antikor Reaksiyonları. Cengiz AT, Mısırlıgil A, Aydın M (editörler). Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, Ankara, Güneş Kitabevi, 2004:770-771.
73. Bilgiç S: Flow Cyotometry' nin çalışma mekanizması ve prensipleri: Yılmaz MT, Deniz G (editörler). FLOW CYTOMETRY ve TIPTA KULLANIMI, İstanbul, Bilmedya Grup, 1999:1-8.
74. Leon LR, Kozak W, Rudolph K, Kluger MJ. An antipyretic role for interleukin-10 in LPS fever in mice. Am J Physiol. 1999 ;276:81-89.
75. Jacobs S, Sobki C, Morais C, Tariq M. Effect of pentaglobin and piperacillin on survival in a rat model of faecal peritonitis: importance of intervention timings. Acta Anaesthesiol Scand. 2000 ;44:88-95.
76. Cevit R, Cevit Ö, Göze ÖF, Yıdız E, Şencan M. Deneysel Sepsis ve Nötropenik Sepsisli Şıçanlarda rGg-CSF, İVİG, rG-CSF+İVİG Sağaltımının Kemik İliği ve Dalakta Oluşturduğu Histopatolojik Değişiklikler ve Mortalite Oranlarına Etkisi. Türkiye Ekopatoloji Dergisi 1998; 4: 21-28.
77. Bostanoglu A, Bostanoglu S, Erverdi N, Hamamcı O, Özgen G, Dursun A. The role of oxygen free radicals in an experimental sepsis model. Turk J Gastroenterol 1999;10:427-431.
78. Cain BS, Meldrum DR, Harken AH, McIntyre RC Jr. The physiologic basis for anticytokine clinical trials in the treatment of sepsis. J Am Coll Surg. 1998; 186:337-350.
79. Damas P, Canivet JL, de Groote D, Vrindts Y, Albert A, Franchimont P, Lamy M. Sepsis and serum cytokine concentrations. Crit Care Med. 1997;25:405-412.
80. Masihi KN. Immunomodulatory agents for prophylaxis and therapy of infections. Int J Antimicrob Agents. 2000;14:181-191.
81. Weighardt H, Heidecke CD, Emmanuilidis K, Maier S, Bartels H, Siewert JR, Holzmann B. Sepsis after major visceral surgery is associated with sustained and

- interferon-gamma-resistant defects of monocyte cytokine production. *Surgery*. 2000 Mar;127(3):309-315.
82. Werdan K. Pathophysiology of septic shock and multiple organ dysfunction syndrome and various therapeutic approaches with special emphasis on immunoglobulins. *Ther Apher*. 2001; 5:115-122.
 83. Trautmann M, Held TK, Susa M, Karajan MA, Wulf A, Cross AS, Marre R. Bacterial lipopolysaccharide (LPS)-specific antibodies in commercial human immunoglobulin preparations: superior antibody content of an IgM-enriched product. *Clin Exp Immunol*. 1998 ;111:81-90.
 84. Behre G, Schedel I, Nentwig B, Wormann B, Essink M, Hiddemann W. Endotoxin concentration in neutropenic patients with suspected gram-negative sepsis: correlation with clinical outcome and determination of anti-endotoxin core antibodies during therapy with polyclonal immunoglobulin M-enriched immunoglobulins. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36:2139-2146.
 85. Zedler S, Faist E, Ostermeier B, von Donnersmarck GH, Schildberg FW. Postburn constitutional changes in T-cell reactivity occur in CD8+ rather than in CD4+ cells. *J Trauma*. 1997; 42:872-881.
 86. Steinhäuser ML, Hogaboam CM, Kunkel SL, Lukacs NW, Strieter RM, Standiford TJ. IL-10 is a major mediator of sepsis-induced impairment in lung antibacterial host defense. *J Immunol*. 1999;162:392-399.
 87. Napolitano LM, Campbell C, Bass BL. Kinetics of splenocyte interleukin-4 production after injury and lethal endotoxin challenge. *J Surg Res*. 1997 ;67:33-39.
 88. Sewnath ME, Olszyna DP, Birjmohun R, ten Kate FJ, Gouma DJ, van Der Poll T. IL-10-deficient mice demonstrate multiple organ failure and increased mortality during *Escherichia coli* peritonitis despite an accelerated bacterial clearance. *J Immunol*. 2001;166:6323-6331.

89. Nevieri R, Fauvel H, Chopin C, Formstecher P, Marchetti P. Caspase inhibition prevents cardiac dysfunction and heart apoptosis in a rat model of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 63:218-225.
90. Ono S, Ueno C, Seki S, Matsumoto A, Mochizuki H. Interleukin-12 and -18 induce severe liver injury in mice recovered from peritonitis after sublethal endotoxin challenge. *Surgery.* 2003;134:92-100.
91. Ono S, Ueno C, Aoshima S, Tsujimoto H, Seki S, Mochizuki H. Severe sepsis induces deficient interferon-gamma and interleukin-12 production, but interleukin-12 therapy improves survival in peritonitis. *Am J Surg.* 2001;182:491-497.
92. Lally KP, Cruz E, Xue H. The Role of Anti-Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin-10 in Protecting Murine Neonates From *Escherichia coli* Sepsis. *Journal of Ped. Surg.* 1999; 25: 852-855.
93. Darenberg J, Ihendyane N, Sjölin J, Aufwerber E, Haidl S, Follin P, et al. Intravenous immunoglobulin G therapy in streptococcal toxic shock syndrome: a European randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2003 ;37:333-340.
94. Kress HG, Scheidewig C, Schmidt H, Silber R. Reduced incidence of postoperative infection after intravenous administration of an immunoglobulin A- and immunoglobulin M-enriched preparation in anergic patients undergoing cardiac surgery. *Crit Care Med.* 1999; 27:1281-1287.
95. Hentrich M, Fehnle K, Ostermann H, Kienast J, Cornely O, Salat C, et al. IgMA-enriched immunoglobulin in neutropenic patients with sepsis syndrome and septic shock: a randomized, controlled, multiple-center trial. *Crit Care Med.* 2006; 34:1319-1325.

96. Rodriguez A, Rello J, Neira J, Maskin B, Ceraso D, Vatsa L, Palizas F. Effects of high-dose of intravenous immunoglobulin and antibiotics on survival for severe sepsis undergoing surgery. *Shock*. 2005 ;23:298-304.
97. Tuğrul S, Ozcan PE, Akinci O, Seyhun Y, Cagatay A, Cakar N, Esen F. The effects of IgM-enriched immunoglobulin preparations in patients with severe sepsis *Crit Care*. 2002 ;6:357-362.
98. Erdem G, Yurdakok M, Tekinalp G, Ersoy F. The use of IgM-enriched intravenous immunoglobulin for the treatment of neonatal sepsis in preterm infants. *Turk J Pediatr*. 1993 ;35:277-281.
99. Rieben R, Roos A, Muizert Y, Tinguely C, Gerritsen AF, Daha MR. Immunoglobulin M-enriched human intravenous immunoglobulin prevents complement activation in vitro and in vivo in a rat model of acute inflammation. *Blood*. 1999 ;93:942-951.
100. Hockel M, Queisser-Luft A, Beck T, Zielberg R, Stopfkuchen H, Lissner R. The effect of antenatal intravenous immunoglobulin on ascending intrauterine infection after premature rupture of the membranes: a pilot study. *J Perinat Med* 1992;20: 101-110.
101. Klingemann HG, Barnett MJ, Reece DE, Shepherd JD, Phillips GL. Use of an immunoglobulin preparation enriched for IgM (Pentaglobin) for the treatment of acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 1990; 6:199-202.
102. Asakura H, Takahashi Y, Kubo A, Ontachi Y, Hayashi T, Omote M, et al. Immunoglobulin preparations attenuate organ dysfunction and hemostatic abnormality by suppressing the production of cytokines in lipopolysaccharide-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Crit Care Med*. 2006; 34:2421-2425.

103. Greenberg R, Haddad R, Kashtan H, Skornick Y, Kaplan O. Effects of intravenous gamma immunoglobulins treatment on severe peritonitis in rats. *Int J Surg Investig.* 2001;2:433-442.
104. Albertson TE, Panacek EA, MacArthur RD, Johnson SB, Benjamin E, Matuschak GM, et al. Multicenter evaluation of a human monoclonal antibody to Enterobacteriaceae common antigen in patients with Gram-negative sepsis. *Crit Care Med.* 2003 ;31:419-427.
105. Sharief MK, Ingram DA, Swash M, Thompson EJ. I.V. immunoglobulin reduces circulating proinflammatory cytokines in Guillain-Barre syndrome. *Neurology.* 1999 ;52:1833-1838.
106. Miletic VD, Hester CG, Frank MM. Regulation of complement activity by immunoglobulin. I. Effect of immunoglobulin isotype on C4 uptake on antibody-sensitized sheep erythrocytes and solid phase immune complexes. *J Immunol.* 1996 ;156:749-757.
107. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 2004 ;32:858-873.

8. ÖZGEÇMİŞ

12.02.1968 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlkokul öğrenimimi Elazığ Bahçelievler İlkokulu'nda, ortaokul öğrenimimi Elazığ Atatürk Ortaokulu'nda tamamladım. Lise öğrenimimi Elazığ Merkez Endüstri Meslek Lisesi'nde tamamladım. 1987 yılında girdiğim Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 1994 yılında mezun oldum. Elazığ ili Kovancılar ilçesi Merkez Sağlık Ocağı ve Elazığ Merkez Abdullahpaşa Sağlık Ocağında pratisyen hekim olarak çalıştım. 2002 yılı Aralık ayından beri Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.'da araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.