

### **3. GİRİŞ**

#### **3.1. SEPSİS**

Sepsis tanımlanması, tanı konulması ve tedavisi oldukça zor, buna karşın sık karşılaşılan ve tedavideki gelişmelere rağmen hala yaşamı tehdit eden önemli bir sağlık sorunudur (1).

Konağın enfeksiyona karşı gösterdiği kontrolsüz, sistemik inflamatuvar yanıt olan sepsis, septik şoka ve hasar bölgesinden uzaktaki organlarda işlev bozukluğu ve ardından organ yetmezliklerinin gelişmesine yol açarak hastanın kaybedilmesine neden olabilmektedir (2).

##### **3.1.1. TANIMLAMALAR**

Sepsis eski yunan dilinde kelime olarak ‘pislenme’ anlamına gelmektedir. Sepsis ve ilişkili durumlar 1991 yılına kadar bakteremi, sepsis sendromu, septisemi, ciddi sepsis gibi tanımlamalarla ifade edilmişlerdir. Fakat bu tanımlamaların birbirlerinin yerine kullanılması klinik çalışmaların değerlendirilmesinde karışıklıklara neden olmuştur. Bundan dolayı 1992 yılında uzlaşma toplantısı yapılarak (American College of Chest Physicians ve Society of Critical Care Medicine) sepsis ve sepsis ile ilgili tanımlamalar yapılmıştır (şekil-1) (3). Bunlar;

##### **3.1.1.a. Enfeksiyon:**

Mikroorganizmaya karşı inflamatuvar yanıt ile karakterli mikrobiyal fenomen veya normalde steril olan konak dokusunun bu organizmalarla invazyonu olarak tanımlanabilir (3).

##### **3.1.1.b. Bakteriyemi:**

Kanda canlı bakteri bulunmasıdır. Virüs (viremi), mantar (fungemi), parazitin (parazitemi) kanda bulunması, benzer şekilde ifade edilir (3).

##### **3.1.1.c. Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS):**

Enfeksiyöz veya nonenfeksiyöz bir tetikleme mekanizmasıyla ortaya çıkan sistemik inflamatuvar yanıttır. Vücut sıcaklığı, kalp hızı, solunum sayısı ve lökosit değerlerindeki değişikliklere bakılarak tanımlanır (3).

SIRS, lokal veya yaygın enfeksiyon tarafından tetiklenebileceği gibi akut pankreatit, iskemi, travma ve yanık gibi doku hasarı, hemorajik şok, major cerrahi veya masif kan transfüzyonu gibi steril inflamatuvar olaylara bağlı olarak da

tetiklenebilir. Bunların yanısıra subaraknoid kanama, myokardiyal ve pulmoner infarktüs, tümör lizis sendromu, tiroid krizi, akut adrenal yetmezlik, transplant rejeksiyonu, hematoma, venöz tromboz, eritroderma, granülosit- makrofaj koloni stimüle eden faktör uygulanması, anesteziye bağlı malign hipertermi, nöroleptik malign sendrom, hipernefroma ve lenfoma gibi enfeksiyöz olmayan bazı durumlarda SIRS gelişimine neden olabilir (3, 4, 5).

#### **3.1.1.d. 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’ın 2 veya daha fazla kriterinin olması ile tanı konulur. 1992 uzlaşma toplantısındaki yetersizlikleri tanımlamak için 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 Tanımları Toplantısı” yapılmıştır. Bu toplantıda SIRS tanı kriterlerinin nonspesifik olduğu ve ileride biyokimyasal ve/veya immunolojik kriterlerin tanıda kullanılabileceği belirtilmiş ve sepsis tanı kriterleri genişletilmiştir (3, 4, 5, 6).

#### **3.1.1.e. Ciddi Sepsis:**

Organ disfonksiyonu, hipoperfüzyon veya hipotansiyonun eşlik ettiği sepsis tablosudur. Hipoperfüzyon, laktik asidoz, oligüri veya mental durumda akut değişikliğe neden olabilir; ancak bunlarla sınırlı değildir (3, 4).

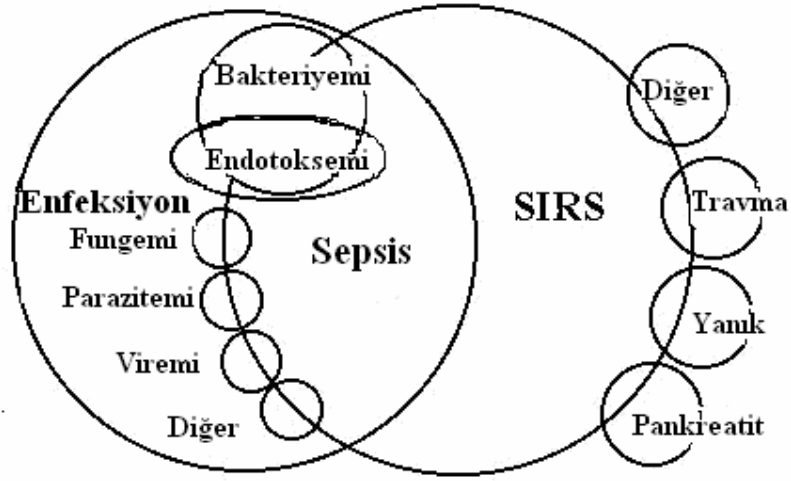
#### **3.1.1.f. Septik Şok:**

Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen hipotansiyon ve perfüzyon bozukluklarının görüldüğü sepsis tablosudur. Hipotansiyon sistolik kan basıncının 90 mmHg’nın altında olması veya hipotansiyona neden olan diğer nedenler olmaksızın sistolik kan basıncının başlangıç değerinden 40 mmHg’dan daha fazla düşük olması olarak tanımlanmıştır (3, 4).

#### **3.1.1.g. Çoğul Organ İşlev Bozukluğu Sendromu (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS):**

SIRS gelişen bir hastada birden fazla vital organ sisteminde işlevsel bozukluk 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'in 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 (3, 4, 5, 6, 7).



**Şekil 1: Sepsis ile ilişkili durumlar (3).**

### **3.1.2.EPİDEMİYOLOJİ VE İNSİDANS:**

Sepsis bildirimi zorunlu olan bir enfeksiyon hastalığı olmadığından sepsis ve sepsise bağlı mortalite konusunda gerçek rakamları vermek mümkün değildir. 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 (8, 9,10).

### **Sepsisi kolaylaştıran bazı faktörler şöyle özetlenebilir.**

- Yaş (yenidoğan, 65 yaş üstü)
- Savunma mekanizmalarının zayıflaması (nötropeni, malignite, disproteinemi, immunosupresyon, kortikosteroid kullanımı).
- Primer hastalık (siroz, diabetes mellitus (DM), kronik böbrek yetmezliği, konjestif kalp yetmezliği)
- İntravenöz kateter, idrar sondası, entübasyon, cerrahi girişim, enstrümantasyon
- Yanık, travma
- Septik abortus, lohusalık
- Alkolizm
- Yakın geçmişte uzun süreli gereksiz antibiyotik kullanımı (11).

### **3.1.3. ETİYOLOJİ VE PATOGENEZ:**

Sepsisin patofizyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber sepsis gelişimindeki olaylar zincirinin ilk basamağının bir mikroorganizma tarafından hastanın enfekte olması olduğu düşünölmektedir. 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 sepsislerde alt solunum yollarıdır (12, 13).

Etken mikroorganizmalar ve sıklıkları řu şekilde sıralanabilir.

1. Gram (-) bakteriler: Sepsiste gram (-) bakteriler (E. Coli, Klebsiella, Proteus, Enterobakter, Pseudomonas) % 50-60 sıklıkta karşımıza çıkmaktadır.
2. Gram (+) bakteriler: Sepsiste gram (+) bakterilerle (Stafilokokkus aureus, Streptokokkus pneumoni, Stafilokokkus epidermis) % 35-40 sıklıkla karşılaşölmaktadır.
3. Mantarlar: En sık kandida olmak üzere % 3-5 oranında görölmektedir.
4. Bunların yanı sıra virüsler, riketsialar da etken olabilir (12, 13).

Mikroorganizmalar ilk basamak olmalarına rağmen sepsisi tetikleme için yeterli değildir. Potansiyel endojen mediatörlerin aktivasyonu ile inflamatuvar yanıtın başlatılması gerekir. Sepsisteki endojen mediatörler karmaşık ve çok sayıdadır. Bunlar arasında koagölasyon sistemi, komplemanlar, kininler, sitokinler, araşidonik asit metabolizma ürünleri, 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 immüoglobulinler 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. İnflamatuar kaskatta ilk ortaya çıkan mediatörler, sitokinler ve komplemanlardır ve bunlar sekonder mediatörlerin salınımına, lökosit aktivasyonu ve kemotaksiye neden olurlar. Sekonder mediatörler de inflamatuvar kaskadı tekrar aktive ederler (14).

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 (15).

### **3.1.3.a. Sitokin Fırtınası:**

Sitokinler, organizmada immün sisteminin regülasyonunda ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan moleküllerdir. Yabancı antijenlere ve ajanlara karşı organizmanın reaksiyonlarının kontrol edilmesinde ve düzenlenmesinde önemli yer alırlar. Aynı zamanda hücreler arası ilişkileri de düzenleyerek lokal ve sistemik inflamatuvar cevapta önemli rol oynarlar. 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 sitokinlere lenfokin, aktive monosit ve makrofajlar tarafından sentezlenen sitokinlere monokin ve lökositler arasında iletişimi sağlayan sitokinlere de interlökin (IL) denilmektedir. Kemotaktik etkiye sahip olanlar ise ayrıca kemokin olarak adlandırılırlar (16, 17).

#### **Sitokin ailesi içerisinde,**

1. Sitokin süper ailesi
2. İnterlökinler
3. Koloni- stimüle edici faktörler (CSF)
4. İnterferonlar (IFN $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )
5. Dönüştürücü büyüme faktörleri (TGF)
6. Tümör nekroz faktör (TNF  $\alpha$ ,  $\beta$ ) yer alır (16, 17, 18).

#### **Sitokinlerin genel etkileri:**

1. Lenfoid ve diğer bazı hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını sağlamak,
2. İmmun 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 (16, 17, 18).

Sitokinler esas olarak 2 ana grup altında toplanabilir (16, 17).

1. İmmun yanıtın indüksiyonu ile ilgili olanlar
  - A) T helper-1 (Th-1) hücreleri ve hücre aracılı olaylar (IL-2, TNF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ )
  - B) T helper-2 (Th-2) hücreleri ve antikor aracılı olaylar (IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ )
2. İmmun/ inflamatuvar yanıtın efektör fazı ile ilgili olanlar
  - A) Proinflamatuvar sitokinler (TNF-  $\alpha$ , IL-1,  $\alpha$ -kemokinler,  $\beta$ -kemokinler)
  - B) Antiinflamatuvar sitokinler (TGF-  $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-13)

Sepsiste organizmada görülen hemodinamik, metabolik ve immün değişiklikler hücreler arası sinyal iletilde rol alan mediatörler ve sitokinler aracılığı ile olmaktadır.

Sepsiste doğal immun yanıtın kontrolsüz bir şekilde aktivasyonu ile makrofaj, endotel ve epitel hücrelerinin lipopolisakkarit veya bakteriyel ürünleri spesifik reseptörleri ile tanınmaları, sitokin kaskadının tetiklenmesi ile sonuçlanmaktadır. Aktive monosit ve makrofajlar büyük miktarda TNF- $\alpha$  salgırlar, bu sitokin yanıtını harekete geçiren en önemli mediatördür. Monosit, makrofaj ve endotel hücrelerinden salgılanan TNF- $\alpha$ 'ya IL-1, IL-6, IL-8, SOR, PAF ve NO salınımı eklenir. Bu proinflatuar sitokin salınımını endotel hasarı, kompleman ve koagülasyon kaskadının aktifleşmesi izler ve hastada vazodilatasyon, sistemik hipotansiyon, kapiller permeabilite artışı ve ödem gelişir. Bu inflamatuvar yanıtın aşırı olmasıyla sepsis, MODS ve hatta ölüm gelişebilir (19, 20).

Son zamanlarda sepsiste sitokin kaskadının sadece aşırı inflamatuvar yanıt olan SIRS'tan kaynaklanmadığı ve bu inflamatuvar yanıtı kontrol eden antiinflamatuvar 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- $\beta$  ve PGE<sub>2</sub> ile başlatılır, monositler deaktive olur, antijen tanıma aktiviteleri azalır, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 ve IFN- $\gamma$  gibi proinflatuar sitokinlerin salınımında azalma olur. SIRS ve CARS tablolarının aynı anda olması durumu ise miks antagonistik yanıt sendromu (MARS) olarak adlandırılmaktadır (21, 22).

Sepsiste proinflatuar sitokinlerin ön plana çıkması sitokin fırtınası ile antiinflamatuvar sitokinlerin ağır basması immünsüpresyon ile karşımıza çıkmaktadır. Aslında her iki durumda zaman içinde sepsiste gelişmektedir. Antiinflamatuvar yanıt sepsisin başlamasından bir süre sonra gerçekleşmektedir. Gerçekten de hastalarda immünsüpresyon kliniği, geç tip hipersensitivitenin kaybı, enfeksiyonları sınırlayamama ve nozokomiyal enfeksiyonlara yatkınlıkla kendini göstermektedir. Bu bağlamda, sepsiste immünsüpresyonun kompensatuar bir olay değil primer bir yanıt olarak karşımıza çıktığından sözedebiliriz (23, 24).

Gerçekten de, CD4 (+) T lenfositlerin, Th-1'e farklılaşarak inflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine, Th-2'lere farklılaşarak ise antiinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine yol açtıkları gözönüne alındığında, sepsiste gözlenen immünsüpresyonun mekanizmasında Th-1'lerden Th-2'e kayma önem kazanmaktadır (25). Klinik bir çalışmada sepsiste Th'daki kayma henüz yeni gösterilmekle birlikte; literatürde patojenin tipi, miktarı ve enfeksiyonun yeri gibi bileşenlerin, kaymanın gerçekleşmesindeki olası etkilerinde söz edilmekte olup

henüz CD4 (+) T hücrelerinin Th-1 veya Th-2 yanıtlara yönelmelerindeki mekanizma açıklanmamıştır. Th yanıtlarındaki artış sepsiste mortalite üzerine etki etmektedir; Th-2 yanıtlarının Th-1 lehine çevrilmesinin, yani kaymanın ters çevrilmesinin mortaliteyi önlediği ve antiinflamatuvar sitokinler içinde bilinen IL-10'nun prognostik faktör olarak şiddetli sepsiste kullanılabileceği öne sürülmüştür (25).

### **3.1.3.f. Apoptoz:**

Apoptoz, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin, zararsız bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür. Apoptoz terimi ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından kullanılmış olup ağaç yapraklarının gövdeden ayrılması anlamına gelmektedir. İnsan organizmasında apoptoz çok sayıda fizyolojik, adaptif ve patolojik olayda izlenebilmektedir (tablo-1) (26, 27).

**Tablo 1: Apoptoz gelişen durumlar.**

<p><b>1- Apoptozun homeostazis içindeki yeri</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>a) Metamorfoza uğramış veya yaşlanmış ve bu nedenle fonksiyonlarını kaybetmiş hücrelerin ortadan kaldırılması</li><li>b) Hormona bağlı involüsyon</li><li>c) Sürekli çoğalan hücre gruplarının azaltılması</li><li>d) İmmün hücrelerin seçimi</li></ul>
<p><b>2- Apoptozun patolojik olaylardaki rolü</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>a) Tümörlerde hem büyüme hem de regresyonda hücre ölümü</li><li>b) Hormona bağımlı dokularda patolojik atrofi</li><li>c) Parenkimatöz organlarda duktus tıkanmasına bağlı patolojik atrofi</li><li>d) Sitotoksik T lenfositleri ile oluşturulan hücre ölümü</li><li>e) Bazı viral hastalıklarda hücre ölümü</li><li>f) Çeşitli zedeleyici etkenlerle oluşan hücre ölümü</li></ul>

Nekroz ise hipoksi, fiziksel hasar, hipertermi, kompleman aktivasyonu, ultraviyole (UV) ışık gibi zararlı hücre dışı uyarılar sonucu oluşan istenmeyen bir süreçtir. Hücre plazma membran lipitlerinin peroksidasyonu sonucu, hücre içeriği

ortama dökülerek inflamatuvar yanıt oluşturmakta ve komşu hücrelerde bu durumdan etkilenmektedir. İki hücre ölüm şekli olan apopitoz ve nekroz karıştırılabilmektedir (tablo-2) (28).

**Tablo 2: Apopitoz ile nekrozun karşılaştırılması.**

Özellik	Nekroz	Apopitoz
Dağılım	Komşu hücre grupları	Dokuda tek tek hücreler
Nedenler	Her zaman patolojik	Patolojik- fizyolojik
Eksudatif yangı	Genellikle var	Yok
Işık mikroskobu	Bazofili, piknoz, karyoreksis, karyoliz	Kresentik görünüm, Eozinofilik partikül
Elektron mikroskobu	Hücrede şişme, membranda yırtılma, Kromatinde erime, kayıp	Volüm kaybı, apoptotik cisimcikler
Fagositoz	Mononükleer hücreler	Fagositik ve komşu hücreler
Mekanizma	Kimyasal veya yapısal parçalanma	Makromolekül sentezini gerektiren aktif hücresel yıkım

### **Apoptotik hücre ölüm aşamaları:**

Apoptoz hücre içinde ve dışından gelen sinyallerle başlatılan ve birbirini takip eden olaylar zinciri olarak seyretmekte ve hücrenin fagositozu ile sona ermektedir (27). Bu aşamalar;

#### **1- Apoptozun başlatılması:**

Hücrenin apoptoza gidebilmesi için hücre içi veya dışından gelen bir sinyal genetik mekanizmanın uyarılması gereklidir (27, 29).

##### **a) Hücre dışından kaynaklanan sinyaller:**

i.Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği: Hücreler komşu hücrelerden ve ekstraselüler matriksten gelen yaşam sinyallerine, büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Bu sinyaller düzenli bir şekilde ve yeterli miktarda olmazsa hücreler apoptoza gitmektedirler (27, 29).

ii. Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu: Bazı sitokinlerin hücre membranında bulunan reseptörlere bağlanarak oluşturdukları sinyaller apoptozu başlatabilir. Apoptozda rol alan membran reseptörleri içinde en önemli grup ‘tümör nekroz faktör reseptör (TNFR)’ ailesidir. Bu reseptör ailesinin birçok üyesi olup bir kısmı apoptoz oluştururken bir kısmı ise apoptozdan korumaktadır. TNFR içinde apoptoz oluşturan reseptörlerden en önemlileri Fas ve TNFR1’dir. Bu reseptörler uyarıldıklarında, hücre sitoplazmasındaki parçaları, adaptör proteinleri olan Fas Adapter protein with a Death Domain (FADD) ve TNFR Adapter protein with a Death Domain (TRADD)’a bağlanır. Adaptör proteinlerin ölüm efektör parçaları kaspazlara (caspase= cysteine-containing aspartate specific proteases) bağlanarak apoptozu başlatırlar (27, 30).

iii. Hücrenin maruz kaldığı dış etkenler: Hipoksi, ısı, antineoplastik ilaçlar, radyasyon DNA hasarı oluşturarak apoptozu başlatmaktadır (27).

b) Hücre içinden kaynaklanan sinyaller: DNA hasarı, hücre içi kalsiyum (Ca) seviyesinde artış, hücre içi pH’da düşme, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları (27, 29, 30, 31)

## **2- Hücre içi proteazların aktivasyonu:**

Hücre içinden ve dışından gelen sinyaller hücre içindeki kaspaz adı verilen proteazları aktive etmektedir. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığıyla; iç sinyaller ise mitokondri aracılığıyla kaspazları aktive etmektedir. Sinyaller mitokondri dış zarında geçirgenliği artırır. Mitokondri dış zarının geçirgenliği bazı proteinler ile sağlanmaktadır. Bunların en önemlisi bcl-2 grubu proteinlerdir. bcl-2 grubu proteinlerin bir kısmı proapoptotik etkili iken diğer kısmı ise antiapoptotik etkilidir (tablo-3). Proapoptotik olanlar, sitokrom c’nin mitokondriden sitoplazmaya salıverilmesini indüklerler. Antiapoptotikler ise sitokrom c salıverilmesini baskırlar. Bu iki zıt etkili grubun işleyişi yapılarında bulunan hidrofobik cep ve amfipatik  $\alpha$ -heliks olmak üzere iki bölgeye bağlıdır. Yapılarındaki BH<sub>1</sub>, BH<sub>2</sub>, ve BH<sub>3</sub> bölgeleri hidrofobik cebi oluşturur. Amfipatik  $\alpha$ -heliks, BH<sub>3</sub> bölgesinde yer alır. Anti-apoptotik üyelerde ayrıca BH<sub>4</sub> bölgesi bulunur. BH<sub>4</sub> bölgesinin, apoptozun diğer hücreyel yollarla ilişkisini kurduğu düşünülmektedir. Proapoptotik üyelerin anti-apoptotik üyelerle bağlanması halinde antiapoptotiklerin etkisi ortadan kalkar ve sitokrom c salıverilmesi gerçekleşir. Bu yüzden, pro ve antiapoptotik üyelerin dengesi yaşam ile ölüm arasındaki seçeneği belirler. Antiapoptotik üyelerin aşırı

ekspresyonlarının apoptozu baskıladığı oysa proapoptotik üyelerin aşırı ekspresyonunun ise hücreleri öldürdüğü görölmektedir (27).

**Tablo 3: bcl-2 grubu proteinler.**

<u>Antiapoptotik</u>	<u>Proapoptotik</u>
	Bax
Bcl-2	Bak
Bcl-Xl	Bad
Bcl-w	Bcl-xs
Mcl-1	Bim
	Bid

Bu proteinler mitokondri dış membranına ve apoptoz proteaz aktive edici faktör 1 (APAF1)'e tutunmuş haldedir. Apoptoza götüren hücre içi sinyaller APAF1'in mitokondri zarından ayrılmasına ve dış membran geçirgenliğinin artmasına neden olur. Mitokondri iç ve dış zarları arasında bulunan sitokrom c ise sitozole çıkarak apoptozom ve sonuçta apoptoz oluşturur (27, 29, 30,31, 32).

### **3- Hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması:**

Kaspazlar, DNA endonükleazı bağlayan proteini yıkararak serbestleşmelerine ve DNA kırıkları oluşumuna neden olur. Aktini yıkan proteini aktifleştirerek hücre şekil bozukluğu oluştururlar. Membran iç yüzündeki fosfotidilserini dış yüzeyine yer değiştirir, intrasellüler adezyon molekülleri (ICAM) ve trombospondin gibi adezyon moleküllerini açığa çıkarırlar (27, 29, 30, 31).

Morfolojik olarak ise hücreler yüzey yapılarını ve diğer hücrelerle temas yüzeylerini kaybeder. Hücreler sıvı kaybederek küçölür ve büzüşür. Sitoplazmanın yoğunlaştığı ve organellerin birbirlerine yakınlaştığı görölür. Membranlar bütünlüklerini korurlar ve organeller genel olarak sağlamdır. En önemli değişiklik çekirdekte gözlenir. Kromatin çekirdek membranına yakın kısımlarda yoğunlaşır (kromatin kondensasyonu), çekirdek büzüşür ve bazen membranla sarılı olan birkaç parçaya ayrılabilir. Hücre zarla çevrili küçük parçalara bölünerek apoptotik cisimcikler oluştururlar (şekil-2) (27, 29, 30, 31).



**Şekil 2: Apoptoz gelişimi** ([www-micro.msb.le.ac.uk](http://www-micro.msb.le.ac.uk) adresinden alınarak uyarlanmıştır).

#### 4- Fagositoz:

Apoptotik cisimler çevredeki parankim hücreleri ve fagositler tarafından fagositoz edilerek temizlenir (27, 29, 30, 31).

Hücre proliferasyonu ile hücre ölümü dokularda denge halindedir ve dokunun hacminin sürekliliği bu şekilde sağlanmaktadır. İlk kez 1992 yılında Buchman ve Abello ve ark'ı lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen deneysel sepsis modelinde apoptozun tetiklendiğini vurgulamışlardır (25).

Hotchkiss ve ark tarafından yapılan sepsis nedeniyle ölen vakaların otopsi çalışmasında, sadece lenfositler ve intestinal epitel hücreleri olmak üzere iki tip hücrede apoptoz ile ölüm geliştiğini göstermişlerdir. Sepsiste nötrofil apoptozunun ise gecikmekte olduğu vurgulanmaktaysa da, son dönemlerde klinik bir çalışmada sepsisin erken döneminde nötrofil apoptozisinin arttığı saptanmış ve bu olay inflamatuvar yanıtı dengelemek için kompensatuvar bir mekanizma olarak açıklanmıştır (33).

Antiinflamatuvar sitokinlerin yanında immünsüpresyona yol açan diğer mekanizmalar içinde anergi ve apoptoz gelmektedir. Sepsiste gözlenen immunosüpresyonun mekanizmaları arasında en önemli yeri ise lenfosit apoptozunun tuttuğu ve bunun kompensatuvar yanıt değil de primer yanıt olduğu üzerinde durulmaktadır (34).



### 3.1.4. KLİNİK BULGULAR:

Sepsiste klinik belirti ve bulgular çok yönlü olup hastalığın evresine göre değişmektedir. Arada kesin bir sınır olmamakla beraber klinik tablo bir evreden diğerine geçebilmektedir (tablo-4). Sepsisli hastaların büyük çoğunluğunda ateş var olup beraberinde titreme de gözlenebilir. Bazı hastalarda vücut sıcaklığı normal sınırlarda olabileceği gibi hipotermi de görülebilir. Özellikle bebeklerde, ileri yaşlarda, üremi veya alkolizm gibi altta yatan kronik hastalığı olanlarda görülmekte ve kötü prognoz bir işareti olarak kabul edilmektedir (14, 35).

Hiperventilasyon, sepsisin en erken gözlenen belirtisi olabilir. Yoğun Bakım ünitelerinde (YBÜ) devamlı takip edilen hastalarda hiperventilasyon ve respiratuvar alkaloz gözlenmesi, sepsis olabileceğini düşündürmelidir, çünkü respiratuvar alkaloz sepsiste en erken ortaya çıkan metabolik değişikliktir (5, 11, 14).

Kardiyovasküler sistem üzerinde erken dönemde (hiperdinamik faz, sıcak şok) kardiyak output artmakta, periferik damar direnci azalmakta ve arteriyel kan basıncı düşmektedir. Periferik vazodilatasyona bağlı olarak doku perfüzyonu çok fazla bozulmamaktadır. Bu dönemi sistolik kan basıncının 90 mmHg'nın altına düşmesi olarak tariflediğimiz şok takip etmektedir. Hipotansiyon, taşikardi, takipne ve periferik vazodilatasyon gözlenen bu dönemde deri sıcaktır. Şokun uzaması ile geç dönemde (hipodinamik faz, soğuk şok) periferik vazokonstriksiyon gelişmekte; anüri gibi organ perfüzyon bozukluğuna bağlı belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu dönemde deri soluk ve soğuktur. Tedavi edilmeyen veya tedaviye yanıt vermeyen olgularda organ yetmezliği ve ölüm gelişebilmektedir (35).

Sepsiste akciğer tutulumu hiperventilasyon, akut sıkıntılı solunum sendromu (ARDS) ve solunum kaslarında yetersizlik ile kendini göstermekte olup; sepsis, pnömoniyi takiben gelişebileceği gibi, bakteriyemi sonucu da diffüz pnömoni gelişebilmektedir. Akciğer tutulumu klinik tabloyu ağırlaştırmaktadır. Klinik tablo hipoksi, sağ-sol şant ve diffüz akciğer infiltrasyonuna bağlı solunum sıkıntısı, hava açlığı ve siyanoz ile karakterizedir. Solunum kaslarında güçsüzlük, progresif hiperkapni, apne ve sonunda ölüme neden olabilmektedir (14, 35).

Primer hepatobilyer hastalık olmaksızın sarılık, direkt bilirubin artışı ile beraber hiperbilirubinemi, alkalen fosfataz ve transaminaz düzeylerinde artış görülebilir (5).

Trombositopeni, intravasküler trombin oluşumu, fibrin birikimi, pıhtılaşma faktörlerinde azalma ve fibrinoliz ile karakterize akut DIC gelişebilir. Sepsiste değişik özellikte deri lezyonları ve akrosiyanoz görülebilmektedir (5, 11).

Sepsiste santral sinir sistemi tutulumu olmaksızın mental değişikliklerin olması önemli bir bulgudur. Oryantasyon bozukluğu, konfüzyon, letarji, ajitasyon ve bilinçte küntlük şeklinde ortaya çıkan bir ensefalopati tablosudur (5).

**Tablo 4: Sepsisten şüphe edilmesine yarayan semptom ve bulgular.**

<p><b>Klinik bulgular</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Ateş/hipotermi</li><li>▪ Açıklanamayan taşikardi</li><li>▪ Açıklanamayan takipne</li><li>▪ Periferik vazodilatasyona ait bulgular</li><li>▪ Açıklanamayan şok</li><li>▪ Mental durumda değişiklik</li></ul>
<p><b>İnvaziv hemodinamik monitorizasyon bulguları veya laboratuvar parametreleri</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Düşük sistemik damar direnci/yüksek kalp debisi</li><li>▪ Artmış oksijen tüketimi</li><li>▪ Lökositoz/nötropeni</li><li>▪ Açıklanamayan laktik asidoz</li><li>▪ Böbrek ya da karaciğer testlerinde açıklanamayan değişiklikler</li><li>▪ Trombositopeni/ DIC</li><li>▪ Artmış prokalsitonin düzeyi</li><li>▪ Artmış sitokin, C- reaktif protein (CRP) düzeyi</li></ul>

**Tablo 5: SIRS tanı kriterleri (3).**

Vücut sıcaklığının 38 °C'den yüksek veya 36 °C'den düşük olması
Kalp hızının 90/dk'dan yüksek olması
Solunum hızının 20/dk'dan daha fazla veya PaCO <sub>2</sub> 'nin 32mmHg'nin altında olması
Lökosit sayısının 12.000/mm <sup>3</sup> ' den fazla veya 4.000/mm <sup>3</sup> ' den az olması veya immatür formun %10'dan fazla olması

### **3.1.5. TANI**

SIRS tanısı, tanı kriterlerinde yer alan parametrelerin en az ikisinin varlığı ile konulur (tablo-5) (4). Tabloda da görüldüğü gibi sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun sınırlamalarından dolayı, klinisyenin yatak başında enfekte bir hastanın sepsis olduğunu düşünerek araştırması için tanı kriterleri genişletilmiştir. Fizik ve laboratuvar bulgularının yanında hemodinamik instabilite, arteriyel hipoksemi, oligüri, koagülopati ve karaciğer fonksiyon testlerinde değişiklikler gibi organ işlev bozukluklarının göstergeleri de eklenmiştir (tablo-6) (3,6).

### **3.1.6. EVRELEME:**

Uzlaşma toplantısında sepsis, ciddi sepsis ve septik şokta tanımlamaların hastaların evrelendirilmesini sağlamadığı, oysa klinik olarak bir evreleme sistemi kullanılmasının faydalı olacağı düşünülerek PIRO evreleme sistemi getirilmiştir. Ciddi enfeksiyonu olan kritik hastaların predispozan faktörler, premorbid durumlar, altta yatan enfeksiyonun doğası, konak yanıtının özellikleri ve sonunda gelişen organ işlev bozukluklarının boyutuna dayanan bir evreleme sistemi olup henüz rutin olarak kullanılmamaktadır (36).

**Tablo 6: Sepsis tanı kriterleri (6).**

<p>Dökümente edilmiş veya şüphe edilen enfeksiyon ve aşağıdakilerden bazıları</p> <p><b>Genel değişkenler</b></p> <p>Ateş (vücut iç ısı &gt;38.3 °C)</p> <p>Hipotermi (vücut iç ısı &lt;36 °C)</p> <p>Kalp hızı (&gt;90/dk veya yaşa göre normal değer 2 standart deviasyon üstü)</p> <p>Taşipne</p> <p>Mental durum değişikliği</p> <p>Önemli ödem veya pozitif sıvı dengesi (24 saatte 20ml/kg üzerinde)</p> <p>Diabeti olmayan hastalarda hiperglisemi (plazma glukozu &gt;120mg/dl veya 7.7 mmol/L)</p>
<p><b>İnflamatuvar değişkenler</b></p> <p>Lökositoz (lökosit sayısı &gt;12.000/ml)</p> <p>Lökopeni (lökosit sayısı &lt;4.000/ml)</p> <p>Normal beyaz küre sayısı ile birlikte %10'dan fazla olgunlaşmamış nötrofiller</p> <p>Plazma CRP düzeyinin normal değer 2 standart deviasyon üstü</p> <p>Plazma prokalsitonin düzeyinin normal değer 2 standart deviasyon üstü</p>
<p><b>Hemodinamik değişkenler</b></p> <p>Arteriyel hipotansiyon (SKB &lt;90mmHg, OAB &lt;70mmHg veya erişkinde SKB &gt;40mmHg veya her yaş için normal değer 2 standart deviasyon altı)</p> <p>SvO<sub>2</sub> &gt; %70</p> <p>Kardiyak indeks &gt; 3.5L/dk/M<sup>2.3</sup></p>
<p><b>Organ işlev bozukluğu değişkenleri</b></p> <p>Arteriyel hipoksemi (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> &lt;300)</p> <p>Akut oligüri (idrar miktarı &lt; 0.5ml/kg/saat veya en az iki saat 45ml/saat)</p> <p>Kreatinin artışı (kreatinin &gt;0.5mg/dl)</p> <p>Koagülasyon bozuklukları (INR &gt;1.5 veya aPTT &gt;60sn)</p> <p>İleus (barsak seslerinin alınmaması)</p> <p>Trombositopeni (trombosit sayısının &lt;100.000/ml)</p> <p>Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin &gt;4mg/dl veya 70mmol/L)</p>
<p><b>Doku perfüzyon değişkenleri</b></p> <p>Hiperlaktatemi (laktat &gt;1mmol/L)</p> <p>Kapiller dolmanın azalması veya beneklenme</p>

### **3.1.7. TEDAVİ**

#### **3.1.7.a. Antimikrobiale Tedavi:**

Patojen ve duyarlı olduğu antibiyotik tespit edilmeye çalışılırken ampirik tedaviye başlanılmalıdır. Kültür ve antibiyogram sonucuna göre tedavi tekrar değerlendirilmelidir (37).

#### **3.1.7.b. Destekleyici Tedavi:**

Gerek deneysel gerekse klinik çalışmalarda septik şokun erken döneminde kalp debisi ile dolum basınçlarının düşüklüğünün birlikte olduğu gözlenmiştir. Şokun erken döneminde uygulanan volüm replasmanının kardiyak fonksiyonlarda ve oksijen sunumunda anlamlı düzelmelere neden olarak doku perfüzyonunu arttırdığı ve anaerobik metabolizmayı durdurduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Sıvı resüsitasyonunun başlangıcında sıvı ihtiyacı çok fazla olup bunun sağlanması hayati önem taşımaktadır. Sıvı resüsitasyonunda kristaloid ve kolloid ürünlerden hangisinin verileceği tartışma konusudur. Sıvı olarak ilk tercih edilenler kristaloidler olmasına rağmen kolloidler özellikle de nişasta türevi solüsyonların teorik olarak daha avantajlı olduğu düşünülmektedir. Sıvı resüsitasyonunun kalp hızı, kan basıncı, idrar miktarı pulmoner kapiller wedge basıncı (PCWP) ve santral venöz basınç (CVP) ile takip edilmesi gerekir (14, 37, 38).

Sıvı resüsitasyonunun yeterli olmadığı durumlarda vazopressör ajanlar kullanılmalıdır. İlk seçilecek ajan dopamin ve noradrenalin iken kardiyak debinin yetersiz olduğu durumlarda dobutamin olmalıdır.

Vazopressin ve yüksek doz katekolaminlere cevap vermeyen durumlarda kortikosteroidler katekolamin ihtiyacını gidermek için kullanılabilir (4, 37, 38).

#### **3.1.7.c. Yeni Tedavi Yaklaşımları:**

Akut akciğer hasarı (ALI) ve ARDS'de düşük tidal volüm ile mekanik ventilasyon

Amaca yönelik erken tedavi

Aktif drotrekogin alfa tedavisi

Kan glukozunun yakın takibi

Hemofiltrasyon

Antiendotoksin antikorları: HA-1A, Es (monoklonal)

Antimediatörler: TNF alfa antikorları, IL-1 reseptör antagonisti ve PAF antagonistleri gibi (4, 39).

### **3.1.8. DENEYSEL SEPSİS OLUŞTURMA MEKANİZMALARI**

#### **3.1.8.a. Endotoksin:**

Gram (-) mikroorganizmalardan elde edilen LPS'lerin intravenöz veya intraperitoneal olarak uygulanması ile oluşturulan sepsis modelidir. LPS enjeksiyonundan 4-6 saat sonra şok meydana gelmektedir. Düşük dozlarda hiperdinamik yanıt oluşurken yüksek dozlarda hipodinamik yanıt neden olur. Direkt organlar üzerine etki eder ve sitokinleri artırır. Buna karşın sepsis, LPS'den daha fazla komponent içerir ve bu modelde belirli bir enfeksiyon kaynağı yoktur (40).

#### **3.1.8.b. Canlı İntravenöz Bakteriler:**

Doz ve doz-zaman ilişkisini ayarlamak kolaydır. Sistemik enfeksiyona neden olur. Sadece tek bakteri içerir ve yüksek doz kullanmak gerekir (40).

#### **3.1.8.c Peritonit- Çekal Bağlama Delme (ÇBD):**

Bu yöntemde batın median insizyonla açıldıktan sonra çekum pasajı engellemeyecek şekilde bağlanır ve bir branül ile delinerek gaitanın peritona bulaşması sağlanır. Apandisit ve divertikülit gibi travmaya ve çekumda nekroza neden olur. Polimikrobial olup enfeksiyon kaynağı bellidir. Sitokin cevapları klinik sepsis ile benzerdir. Fakat standardize edilmesi zordur, cerrahi ve iyileşmeyi içerir (40, 41).

### 3.2. TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

İnflamatuar olayların başlaması ve tetiklenmesinde büyük rol oynayan proinflamatuvar etkili bir sitokindir. Bu nedenle üzerinde en fazla çalışılan protein ailesidir. Geni altıncı kromozomda yer alan bu sitokin ailesinin 19 adet üyesi bulunmaktadır. Doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre regülasyonu, farklılaşma ve apoptoz süreçlerinde önemli rolü vardır. Makrofajlar ve lenfositler başta olmak üzere birçok immün ve somatik hücreden sentezlenir. TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$  olmak üzere iki formu bulunur. TNF- $\alpha$  başlıca makrofajlardan salınan klasik formudur. TNF- $\alpha$  yanında kaşektin, diferansiyasyonu indükleyici faktör (Differentiation-inducing factor, DIF) ve TNFSF2 olarak da adlandırılmaktadır. TNF- $\beta$  ise lenfosit kaynaklı olup Lenfotoksin- $\alpha$  olarak da bilinir (17, 42, 43).

TNF membranöz, matur ve solubl olmak üzere değişik formlarda bulunur. Membrana bağlı bulunan 26 kD ağırlığındaki membranöz TNF prohormondur. Uyarı ile TNF dönüştürücü enzim tarafından yıkılır ve 17 kD ağırlığında matur ve solubl forma dönüşür. Dolaşıma salınan TNF- $\alpha$  iki farklı hücre yüzey reseptörüne bağlanmaktadır. Tip 1 (p55) reseptör, 55 kD ağırlığında olup sitotoksik aktivite ve fibroblast proliferasyonu gibi klasik etkilerinin yanında apoptozu da indükler. Tip 2 (p75) reseptör ise 75 kD ağırlığında olup yardımcı reseptör olarak görev yapar. TNF'nin tip 1 reseptörü uyarması ile aktifleşen TRADD, TNF reseptör ilişkili faktör (TRAF), FADD ise kaspaz-8 ve nükleer faktör kappa-B kinaz inhibitörü (IKK)'nü uyarır. TNF ve reseptör kompleksinin oluşturduğu sinyal kısmen G proteini tarafından kontrol edilir. Fosfolipaz ve protein kinaz aktivasyonu sonucu arşidonik asit, inositol fosfat, triaçil gliserol, fosfotidik asit ve türevleri oluşur ve hücre ölümüne neden olur. TNF'nin bundan başka etki mekanizmaları olduğu da düşünülmektedir. Bunlar arasında hücre zarına füzyon yaparak sodyum girişine neden olması ve hücrel ve periaksonal şişme gibi olaylara neden olması yer alır (17).

#### 3.2.1. ETKİLERİ:

1. Sitotoksik etki: Bu etkisini neoplastik hücre ve parazitler üzerinde gösterirler. Antiparaziter etkisini serbest radikaller üzerinden direkt ve T lenfositleri üzerinden dolaylı olarak oluştururlar. Tümör merkezindeki makrofajların TNF ürettiği ve TNF enjeksiyonu ile tümör boyutlarının küçüldüğü gösterilmiştir. Antiparazitik ve antitümör etkileri ile IFN- $\gamma$  ile sinerjik etki gösterir. Aynı zamanda pankreas  $\beta$  hücreleri üzerinde de toksik etkileri vardır (16, 44).

2. Endotel hücrelerindeki adezyon moleküllerinin çoğalmasını indükleyerek lökositlerin yapışmasını kolaylaştırır. Lökositlerin aktivasyonunu artırır, lenfositleri, monosit ve makrofajları olgunlaştırır (16, 44).

3. X ışınları tarafından uyarılır ve X ışınlarının zararlı etkilerine karşı koruyucudur.

4. Viral replikasyon: Viruslara karşı interferon benzeri koruyucu etki gösterir.

5. Ateş: Endojen pirojen olarak etki ederek ateşi yükseltir. Bu etkisini IL-1 ile birlikte hipotalamusta prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) sentezini artırarak yapar (16, 17, 44).

6. İnflamasyon-Septik şok: İnfeksiyöz ve nonenfeksiyöz inflamatuvar hastalıkların primer mediatörüdür. Sepsis patofizyolojisinde en potent mediatördür ve sitokin kaskadını aktive etmektedir. Monosit, makrofaj, T ve naturel killer (NK) hücreleri ve diğer proinflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu takiben dolaşımda en erken saptanan sitokinlerdir. Monosit ve nötrofiller üzerinde kemotaktik etkilidir. Kendisi ve uyardığı kemokinler ile monositleri inflamasyon alanına çekerek birikmelerini sağlar. TNF- $\alpha$  fagositozu uyarır ve bu hücrelerin endotel hücrelerine yapışmalarına neden olur. Hidrojen peroksit ve oksijen süper oksit gibi serbest oksijen radikallerinin üretimini uyarır. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 ve PGE<sub>2</sub> gibi diğer sitokinlerin salınımını uyarmaktadır. IL-1, TNF- $\alpha$ 'nın etkilerini potansiyalize etmektedir. TNF- $\alpha$ 'ı indükleyen ve süprese eden birçok faktör bulunmakta olup en güçlü olarak LPS veya gram (-) bakteriler tarafından indüklenmektedir (tablo-7).

Endotoksin uygulamasından yaklaşık olarak 60-90 dakika sonra TNF- $\alpha$ 'nın plazma ve doku düzeyleri artmakta ve dolaşımda solubl TNF reseptörleri ile bağlanarak inaktive edilmeye çalışılmaktadır. sTNFR her iki reseptöre bağlanarak etki göstermektedir. İnsanlara rekombinant TNF- $\alpha$  verilmesinin SIRS benzeri tablo oluşumu ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Endotoksin verilmesi ile TNF- $\alpha$  düzeylerinde belirgin artışla beraber sepsis kliniğinin geliştiği ve ekzojen TNF- $\alpha$  uygulanması ile gram (-) sepsis ve şokun klinik, laboratuvar ve histopatolojik bulgularını taklit eden bir tablonun oluştuğu gösterilmiştir. TNF- $\alpha$ 'ya karşı geliştirilen antikorların ise endotoksin uygulanmadan önce verilmesinin mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (17, 18, 44, 45).

7. Hepatositler üzerindeki etkisi ile serum amiloid A ve P, kompleman faktör 3, haptoglobulin, CRP,  $\alpha$ -1 asit glikoprotein gibi bazı akut faz proteinlerinin sentezini artırır (16, 44).



**Tablo 7: TNF'yi indükleyen ve süprese eden nedenler.**

<b>TNF'i indükleyenler</b>	
Bakteriyel ürünler	Endotoksin/LPS, lipid A, müramil peptidler, Toksik şok sendrom toksini 1, Listeria monositogenez, Corynebacterium parvum, stafilokokkal ekzotoksinler, Mycoplasma orale, Pseudomonas aeuroginosa, Kandida, Mycobacterium avium, Lipoteichoic asit
Virüsler	Human immunodeficiency virus, İnfluenza A, Sendai virüs, respiratory syncytial virüs, reovirus, New castle hastalığı virüs, Neutropic virüs
Paraziter ürünler	Malarya, Entamoeba histolytica
Sitokinler	TNF, IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-2, monosit-CSF (M-CSF)
İlaçlar	Protein kinaz C indükleyicileri (forbol esterleri) Fosfataz inhibitörleri (okadaik asit) Lityum klorid, Benzodiazepinler Siklooksijenaz inhibitörleri Komplamanlar
Diğer	Tümör hücreleri, Hipertermi, X-ışını, ultraviole ışın (UV) siklik GMP, Substance P
<b>TNF'i süprese edenler</b>	
Sitokinler	IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , TGF- $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, G-CSF
Virüsler	Epstein Barr virüsü, adenoviral proteinler
İlaçlar	Fosfodiesteraz inhibitörleri, siklik adenosin monofosfat (cAMP) indükleyicileri, metalloproteaz inhibitörleri, lipooksijenaz inhibitörleri, talidomid, siklosporin A, norepinefrin, dekzametazon, klorpromazin,

8. Damar endotelinin prokoagulan ve antikoagulan aktiviteleri arasındaki dengeyi değiştirerek pıhtılaşma sistemini aktive eder. Trombomodülin sentezini engelleyerek endotel hücreesindeki antikoagulan etkinliği inhibe eder. Pıhtılaşmanın ekstrinsik yolunu uyarır. Plazminojen aktivatörlerini azaltarak antifibrinolitik etki gösterir ve sonuç olarak yaygın damar içi pıhtılaşma oluşur (16, 44).

9. Kemik iliğini baskılayarak eritropoez ve myelopoezi inhibe eder, lenfopeniye neden olur (16, 44).
10. Kaşeksi: İştahı azaltıp lipoprotein lipaz aktivitesini arttırarak kaşeksiye neden olur (16, 44).
11. NO sentezi ile myokardın kasılabilirliğini azaltır, damar düz kaslarını gevşetir (16,44).
12. Asidoz ve metabolik değişiklikler oluşturur (16, 44).
13. Otoimmün hastalıkların patogenez ve tedavisinde yer almaktadır (crohn hastalığı, romatoid artrit, graft-versus-host hastalığı) (45, 46).

### **3.3. İNTERLÖKİN- 10 (IL-10):**

Sitokin sentezini inhibe eden en güçlü sitokindir. Bu özelliğinden dolayı sitokin sentezini inhibe edici faktör, mast hücre büyüme faktörü 3 ve B hücreden derive T hücre büyüme faktörü olarak da adlandırılmaktadır. Bu sitokinin geni birinci kromozomda lokalizedir, 18 kD molekül ağırlığında ve yaklaşık olarak 178 aa içermektedir. Monosit ve nötrofillerden proinflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe eder (45, 46).

İlk defa T helper 2 lenfositleri tarafından sentezlendiği, daha sonra ise timosit, monosit, Langerhans hücreleri, makrofajlar ve B hücreleri tarafından da sentezlendiği tespit edilmiştir. Reseptörleri IL-10R1 ve IL-10R2 olmak üzere iki tane olup interferon reseptörleri ile benzerlik göstermektedir (48, 49).

İnflamasyon sırasında gerek inflamasyonun kendisi ve gerekse salınan mediatörler konak organizmanın sağlam dokularına da zarar verebilmektedir. İnflamasyonda proinflamatuvar sitokinlerin yanında antiinflamatuvar sitokinlerinde salınması, inflamasyonun sınırlanmasına yöneliktir. IL-10, inflamasyon ve immun yanıtın potent inhibitörüdür. Monositlerdeki interselüler adezyon moleküllerinin belirginleşmesini inhibe ederek lökositlerin endotel yüzeye yapışmalarına engel olmaktadır. Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ile sinerjik etkilidir. Immunoglobulinlerin sentezinde ve IgA dönüşümünde rolleri vardır. En önemli antiinflamatuvar sitokin olarak kabul edilen IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ve IFN- $\gamma$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezini inhibe etmektedir. IFN- $\alpha$  ve lenfotoksin salınımını azaltarak antiviral aktivite gösterir. Aynı zamanda monositlerin prokoagulan aktivitesini ve intraselüler mikroorganizmaları öldürme yeteneklerini baskılamakta, Human Lökosit Antijen (HLA) DR4, Major Histo

Kompatibilite (MHC)-II ve Nükleer Faktör Kappa B (NF- $\kappa$ B) ekspresyonunu inhibe etmektedir (16, 17, 18, 47, 50).

Endotoksemi ve sepsiste, IL-10 uygulamasının TNF- $\alpha$  salınımını ve mortaliteyi azaltarak prognoz açısından pozitif etkilere sahip olduğu deneysel olarak gösterilmiştir. Anti-IL-10 uygulanan farelerde ise TNF- $\alpha$  salınımının ve mortalitenin arttığı gözlenmiştir. Hücrel immünitenin inhibisyonunu gerektiren durumlarda tedavi amaçlı kullanılabilir(44, 50).

Sistemik inflamasyon yanında inflamatuvar barsak hastalığı, romatoid artrit, graft versus host hastalığı, maligniteler, otoimmün ve enfeksiyöz hastalıklar ile de ilişkilidir (50).

### **3.4. İNTERLÖKİN- 18 (IL-18):**

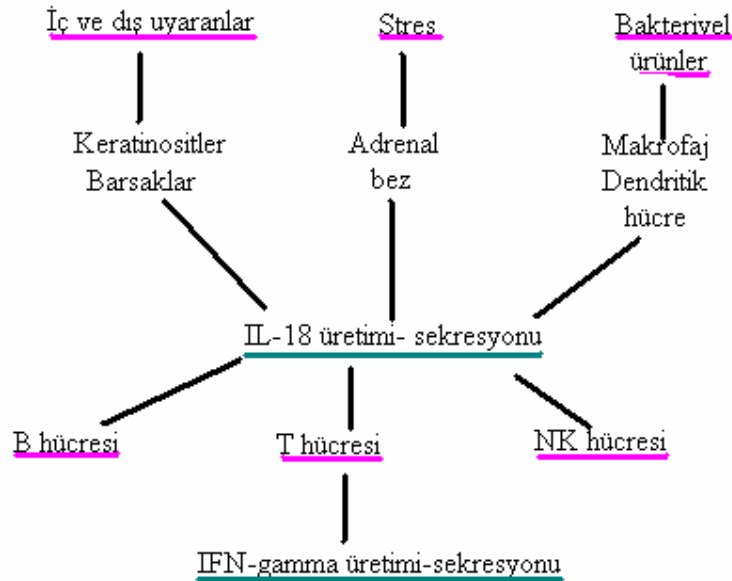
IL-1 ailesinin yeni bir üyesi olan bu sitokin 1995'te Okamura ve ark tarafından tanımlanmıştır. Prekürsör bir protein olarak sentezlenen IL-18, daha sonra kaspaz-1 tarafından matür forma dönüştürülür. Yapı olarak 193 aa'ten oluşmuştur. Dolaşımdaki düzeyleri total, serbest ve solubl reseptörlere bağlı IL-18 olmak üzere üç farklı fraksiyonda bulunur. Solubl reseptörleri IL-18R- $\alpha$  ve IL-18 bağlayıcı protein (IL-18BP) olmak üzere iki tanedir. s IL-18R- $\alpha$  insanlarda dolaşımda ölçülemezken invitro olarak IL-18R- $\beta$  varlığında ve IL-18'ten seksen kat fazla verildiğinde IL-18'i nötralize edebildiği gösterilmiştir. IL-18BP ise invitro olarak eşit konsantrasyonlarda IL-18'i nötralize etmektedir. IL-18 ile ilişkili klinik hastalıklarda total ve serbest kısmının her ikisinin yükselmektedir. Fakat serbest kısmın yüzdesi daha fazladır (51, 52).

Dendritik hücreler, Langerhans hücreleri, Kupffer hücreleri, keratinositler, intestinal epitelyum ve makrofajlar tarafından üretilmektedir. İmmün organlardan çok barsak, deri ve sekretuar bezler gibi dokularda üretilmesinin nedeni bilinmemektedir. İmmün sistem ile endokrin sistem, sinir sistemi ve diğer sistemler arasında ilişkiyi sağlamaktadır (52).

Enfeksiyon ve tümöre karşı vücudun defansında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. IL-18, P. acnes ile farelerde endotoksemi oluşturulan bir çalışma sırasında keşfedilmiş ve IFN- $\gamma$ 'ı indüklediği için 'IFN- $\gamma$ 'ı indükleyici faktör' olarak adlandırılmıştır (şekil-3). Bu etkisi ile IL-12 ile sinerjik etkili bir sitokindir. TNF- $\alpha$ , IL-1 ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin salınımını arttırdığı için Th-1'in indüklediği sitokin ailesinin bir üyesi olarak kabul edilmiştir. NK hücrelerin sitotoksitesine

neden olmaktadır. IL-10 sentezini azaltmasının yanında zıt olarak allerjik reaksiyonlar gibi Th-2 tarafından indüklenen olaylarda da rol aldığı bilinmektedir. ICAM-1 ve vasküler adezyon molekülü (VCAM)-1 gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırarak nötrofil ve lenfositlerin vasküler yüzeye yapışarak damar dışına geçmelerini sağlar. Viral, bakteriyel, fungal ve intraselüler parazitlere karşı konakçıyı korumaktadır. IL-18, Salmonella, Kriptokok, Toksoplazma, Kandida ve Mikobakter gibi intrasellüler öldürme için NO'nun gerekli olduğu enfeksiyonların kontrolünde rol oynamaktadır (17, 51, 52, 53, 54, 55).

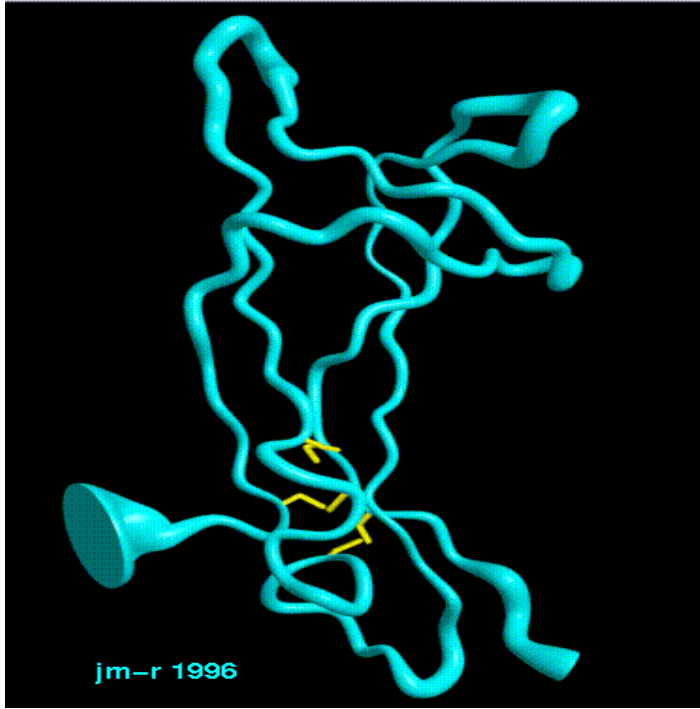
Meme ve mesane tümörü başta olmak üzere maligniteler üzerinde anti-tümör etkisi vardır. Ayrıca insülin bağımlı DM, otoimmün ensefalomyelit, kronik aktif hepatit gibi immün hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır (52, 54).



**Şekil 3: IL-18'in IFN-gamma üretimi üzerindeki etkisi (www.sigmaldrich.com adresinden alınarak uyarlanmıştır).**

### 3.5. NERVE GROWTH FAKTÖR (NGF)

Nörotropinler omurgalı sinir sisteminin gelişimi ve idamesi için gerekli olan polipeptid yapılı büyüme faktör ailesidir. Bu ailenin ilk keşfedilen üyesi olan Nerve Growth Faktör (NGF), İtalyan bilim adamı Rita Levi-Montalcini ve ark. tarafından 1952 yılında keşfedilmiş olup, bu keşif kendisine 1987 yılında Oscar ödülü kazandırmıştır. NGF'nin keşfinden birkaç dekad sonra benzer yapı ve fonksiyonlara sahip olan Beyinden Derive Nörotropik Faktör (Brain Derived Neurotrophin Factor, BDNF) keşfedilmiştir. NGF ve BDNF'i ise Nörotropik faktör-3 (Neurotrophin factor-3, NT-3), Nörotropik faktör-4 (Neurotrophin factor-4, NT-4), Nörotropik faktör-5 (Neurotrophin factor-5, NT-5) ve ardından Nörotropik faktör-6 (Neurotrophin factor-6, NT-6) ve Nörotropik faktör-7 (Neurotrophin factor-7, NT-7)'nin keşfi izlemiştir (56).



Şekil 4: NGF X-ray kromotografik görünümü ([www.cryst.bbk.ac.uk](http://www.cryst.bbk.ac.uk). adresinden alınmıştır).

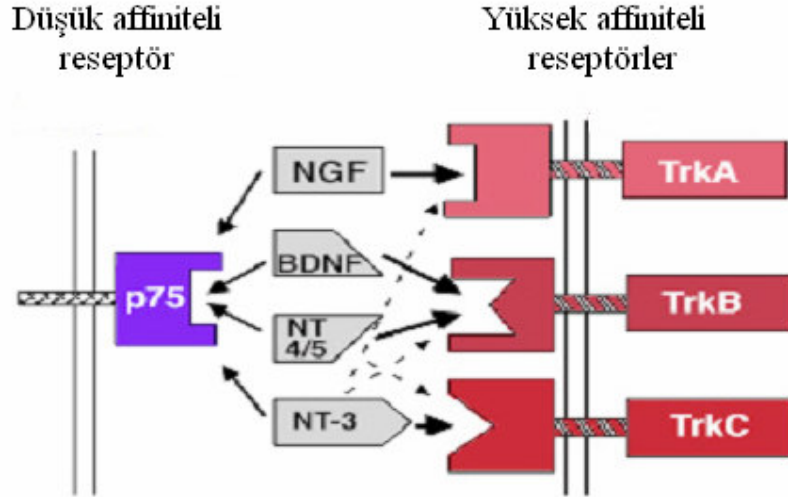
#### 3.5.1. YAPISI:

İnsanda NGF birinci kromozomun kısa kolunda yer almaktadır. NGF proteininin 7S NGF olarak adlandırılan yüksek moleküler ağırlığına (ma) sahip ve

2,5S NGF olarak adlandırılan düşük ma'na sahip iki formu izole edilmiştir. Özellikle 7S formu, 130-140 kD ma'da bir kompleks olup alfa, beta ve gamma olmak üzere 3 subünitten meydana gelmiştir (şekil-4). 118 aminoasitlik iki tane beta subüniti birbirine disülfid bağı ile bağlı olup NGF'nin biyolojik aktivitesinden sorumludur. Alfa ve gamma subüniti, kallikrein protein ailesinin üyesi olup alfa subünününün rolü bilinmezken; gamma subünününün epidermal growth faktörü (EGF) bağlayıcı protein ve beta subünününün işleyişi ile ilgili rolü bilinmektedir. 2,5S formu ise 26 kD molekül ağırlığında 2 farklı subününün nonkovalent bağlanmasından oluşmuştur. En çok sentezlendiği ve depolandığı yer erkek fare submandibuler bezi olup nedeni araştırmalara rağmen bilinmemektedir (57).

### 3.5.2. RESEPTÖRLERİ:

Son yıllarda yapılan çalışmalarda nörotropinlerin adlarından daha geniş rollerinin olduğu gösterilmiştir. NGF etkisini  $p75^{NTR}$  ve Tirozin kinaz (Trk) A olmak üzere iki reseptörü aracılığıyla göstermekte olup, bu iki reseptörün sinyalizasyonunun sinerjik, antagonist veya birbirinden bağımsız olabildiği bilinmektedir. Nörotropinler ve reseptörleri arasındaki ilişki şekil-5'de görülmektedir (58).



Şekil 5: Nörotropin reseptörleri (Gilbert SF, Developmental Biology, seventh edition ve [www.devbio.com](http://www.devbio.com)'dan alınarak uyarlanmıştır).

### 3.5.2.a.P75 reseptörü

p75<sup>NTR</sup> düşük affiniteli NGF reseptörü olup TNF reseptör ailesine aittir. Glikoprotein yapısında olup transmembran ve ekstraselüler alanda yer almaktadır. Pan-nörotropin reseptörü olarak etkimekte, yani NGF dışında BDNF, NT-3 ve NT-4/5 gibi diğer nörotropinleri de bağlamaktadır. p75<sup>NTR</sup> reseptörü 75 kDa ağırlığında olup  $1.7 \times 10^{-9}$  M konsantrasyondadır. p75<sup>NTR</sup> reseptörü ilk izole edilen nörotropin reseptörü olmasına rağmen rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. p75 mutasyonu oluşturulan çalışmalarda, NGF ve Trk A mutasyonu oluşturulanlara göre daha az ciddi durumlara neden olduğu gösterilmiştir. NFκB ve c-Jun kinaz transdüksiyon yollarını indükleyerek etkisini göstermekte olup uyardığı yolağa göre etkisi değişmektedir. P75 reseptörünün yüksek affiniteli reseptörlerin varlığında onların koreseptörü gibi etki ettiği ve Trk A'nın olmadığı durumlarda ise onun antagonisti gibi davrandığı gösterilmiştir. NGF'nin indüklediği proapoptotik süreçte mediatör olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Sonuç olarak seramid yapımını arttırdığı, hücreyi gen transkripsiyonuna veya programlanmış hücre ölümüne yönlendirdiği söylenilebilir (58, 59).

### 3.5.2.b.Trk A

Tirozin kinaz proteini reseptörleri olan tirozin kinaz A, B, C (Trk A, B, C) spesifik etkili yüksek affiniteli nörotropin reseptörleridir. Trk reseptörleri transmembran, ekstrasellüler ve intraselüler alanda yer almaktadır. Trk reseptörlerinin sinyal transdüksiyonu için gerekli olan tirozin kinaz aktivitesi sitozolik alanda yer almaktadır. p75 reseptörü tüm nörotropinleri bağlarken tirozin kinaz reseptör ailesi farklı nörotropinleri farklı affinite ile bağlamaktadır. Trk A, tercihen NGF'i bağlamakla beraber düşük affinite ile NT-3, NT-4 ve NT-5'i de bağlamaktadır. Trk B, BDNF ve NT-4'ü yüksek affinite ile bağlarken NT-3'ü daha düşük affinite ile bağlamaktadır. Trk C ise sadece NT-3'ü bağlamaktadır (58, 60).

Trk A, NGF için spesifik olup; NGF'nin biyolojik aktivitesinin çoğu Trk A reseptörü aracılığıyla gerçekleşir. Trk A reseptörü birinci kromozomdaki protoonkogenler tarafından kodlanan 140 kD ağırlığındaki transmembran proteinidir. NGF'nin Trk A reseptörüne bağlanması, tirozin otofosforilasyonu ile sinyal transdüksiyon kaskadlarından bir kısmını aktifleştirir. Bu kaskadlar içerisinde başlıca Mitojen Active Protein Kinaz-Ras-Erk yolağı, fosfolipaz Cy1, inozitol trifosfat ve SNT yer almaktadır. Trk A mutasyon çalışmalarında, nöronal popülasyon kaybı ile sonuçlanan sinir sistemi gelişiminde dramatik etkilere neden olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak Trk A reseptörünün hücre gen transdüksiyonunu indüklediği söylenilebilir (58, 60).

### 3.5.3. NGF ve SİNİR SİSTEMİ

Nörotropinler gelişen sinir sisteminde, iletimin kurulmasına yardım eden hedef hücreler tarafından üretilen yapısal ve fonksiyonel olarak benzer proteinlerin bir grubudur. Beyinde en yüksek düzeylerde majör kolinerjik yolların bulunduğu hipokampus ve serebral korteks gibi bölgelerde bulunur. Neonatal ratlarda NGF'nin intraserebroventriküler olarak uygulanması halinde korteks ve hipokampusta kolinasetiltransferaz aktivitesini arttırdığı ve anti- NGF'nin intraserebroventriküler olarak uygulanmasının ise kolinasetiltransferaz aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. NGF sinir hücrelerinde büyüme, farklılaşma, canlılığını sürdürme, rejenerasyonda, nörotransmitter fonksiyonunda, nöronların nörotoksin ve lezyonlara direncinde rol alır (60, 61). Normal koşullarda nöronlar NGF sentezinde majör rol oynarken hasara uğramış beyinde glial hücrelerde NGF üretebilir. Glutamat ve asetilkolinle ekspresyonları artarken, gamma amino bütirik asit ile ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir. Kan, sinir sistemi ve beyin omurilik sıvısındaki NGF düzeyinin yaş ile ilgili olarak azaldığı gösterilmiştir (62). Fetal hayat ve erken postnatal dönemlerde nöronlar NGF bağımlı iken daha sonraki dönemlerde NGF duyarlı hale gelmektedir. NGF düzeyleri, hipoksi, iskemi, hasar, yaşlılığa bağlı serebral atrofi ve yükselmiş intrakranial basınç gibi patolojik durumlarda, kan, doku ve beyin omurilik sıvısında yüksek oranda saptanmıştır (60). Serebral hasar sonrası NGF düzeyinde yükselme, nöronal iyileşme için esastır. Yapılan birçok çalışma ile nörotropik faktörlerin sellüler kalsiyum homeostazisini kontrol ettiğini, serebral kan akımını düzenlediğini ve iskeminin etkilerini iyileştirdiğini, antioksidan enzimleri artırarak; serbest radikallerin oluşumunun baskıladığı gösterilmiş olmasına rağmen nöroprotektif rolün altında yatan mekanizma halen belirsizdir. Nörotrofik faktörler nörodejeneratif hastalıkların *in vivo* ve *in vitro* modellerinde kullanılmıştır. Birçok nörotropik faktör, primat modellerde araştırma aşamasında kalmışken, bazıları da insanlarda nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde denenmiştir. Ancak bu zamana kadar elde edilen sonuçlar teknik problemler, yan etkiler ve yetersiz etkinlikten dolayı tatminkar olmamıştır. NGF yukarıda bahsedilen yararlı etkilerinden dolayı nörodejeneratif hastalıkların özellikle de Alzheimer hastalığının tedavisinde yeni potansiyel tedavi aracı olup olmayacağı tartışılmaktadır (63). Yine NGF'nin özellikle öğrenme olmak üzere kognitif fonksiyonlar üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (64).



Periferik sinir sisteminde NGF'nin ana rolü hasarlanmış nöronlarda akson jenerasyonunu sağlamak ve substance P ve Calsitonin Gene Related Peptid (CGRP) gibi nöropeptidlerin sentez ve salınımını arttırmaktır. NGF veya Trk A reseptör geninde mutasyon oluşturulan çalışmalarda doğumda primer duysal nöronların yaklaşık %70'i kaybolduğu ve yine sempatik ganalionların nöronlarını kaybettiği gösterilmiştir. Dorsal kök ganglionlarının termosensitif ve ağrı sensitif duysal nöronlarının yaygın kaybı ile; mekanik ve termal hiperaljezi, duysal defisitli periferik nöropati, periferik ağrı ve inflamatuvar cevabı regüle etmede rolü olduğu ileri sürülmektedir (65, 66).

#### **3.5.4. NGF ve İMMÜN SİSTEM:**

Nörotropinlerin sellüler lokalizasyonu ve doku dağılımı hakkında son dekada detaylı çalışmalar yapılmıştır. Başta timus ve bursa fabrikus olmak üzere tüm lenfoid organlarda nörotropin ve reseptörlerinin varlığı tespit edilmiştir (56, 67, 68, 69, 70).

NGF ile ilişkili olduğu gösterilen ilk immün hücre mast hücresi olup sinir hücresine yakın lokalizasyonu sinir sistemi ile immün sistem arasındaki fonksiyonel ilişkiyi ileri sürmektedir. Neonatal ratlarda NGF'nin *in vivo* verilmesi bazı periferik dokularda mast hücresinin sayı ve boyutunun yaygın olarak artmasına neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (71). Rat ayağına intradermal olarak enjekte edilen NGF'nin mast hücrelerini aktive ettiği ve mast hücre degranülasyonunu arttırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (72). Mast hücrelerinden sonra T ve B lenfositlerinin, monosit, makrofaj ve granüositlerinde NGF reseptörlerini eksprese ettiği gösterilmiştir. NGF, immün hücreler tarafından üretilmekle kalmayıp karşılıklı etkileşim içerisindedir. NGF'nin etkilediği immün hücreler ve bu hücreler üzerindeki etkileri tablo-8 ile özetlenebilir (67, 69, 71).

Astım ve diğer allerjik hastalıklarda NGF düzeylerinin artmış olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. NGF'nin sistemik olarak verilmesi ile histaminle indüklenen bronşial hiperaktivitenin arttığı ve bu etkinin anti-NGF uygulaması ile önlendiği görülmüştür. NGF'nin bu etkisini taşıkininler aracılığıyla gösterdiği düşünülmür (73). İnsan akciğer epiteli A549 hücresinden pro ve anti inflamatuvar durumlarda IL-1 $\beta$ 'nın, NGF sentez ve sekresyonuna etkisi değerlendirilmiştir. Proinflamatuvar ve astım ile ilişkili sitokin olan IL-1 $\beta$  ile stimülasyon sonrası, NGF protein sekresyonu belirgin olarak artmıştır (74). Vernal keratokonjonktivitli hastalarda serum NGF seviyelerinin arttığı ve bu artışa substance P ve total IgE düzeylerindeki artışı eşlik ettiği saptanmıştır. Yine konjonktiva eş zamanlı

incelendiğinde mast hücresi, eozinofil ve makrofajlardaki artış eşlik etmiştir (75). Atopik dermatitli hastalarda plazma NGF düzeyinin arttığı ve NGF'nin de invitro olarak mast hücre triptaz ve histamin içeriğini arttırdığı saptanmıştır (76).

İnflamatuar olaylara eşlik ettiği saptanan NGF'nin inflamatuvar özelliği yeni araştırmalara konu olmuştur. Bir çalışmada, mikroglia hücre kültürü hazırlandıktan sonra LPS ekilerek NGF ekspresyonu, NGF transkripsiyonu ve NGF protein sentezi sırasıyla Ribonükleik asit (RNA) preperasyonu, reverse transkriptaz- polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), EMSA ve Enzim immunoassay ile yöntemi ile değerlendirilmiştir. LPS'in doz ve zaman bağımlı olarak NGF mRNA ekspresyonunu ve NGF protein salınımını aktive ettiği tespit edilmiştir. NF-κB inhibitörü olan pirolidin ditiyokarbamat (PDTC) kullanıldığında, LPS'nin indüklediği NGF sentezi inhibe olmasından yola çıkılarak NFκB'nin LPS ile indüklenen NGF ekspresyonunu modüle ettiği sonucuna varılmıştır (77).

NGF'nin inflamasyonla ilişkili duyuşal bozukluğun bir mediatörü olabileceğini araştırmak için sistitli rat modelinde çalışılmış. İntravezikal olarak uygulanan NGF'nin inflamasyonla oluşan sistometrik bulguların benzerini gösterdiği ve inflamasyon oluşmadan önce uygulanan anti- NGF antikorunun hiperrefleksinin bir kısmını geri çevirebildiği saptanmıştır (78).

İnsan fibroblast ve havayolu düz kas hücrelerinde invitro olarak yapılan bir çalışmada, NGF sentezleyebilme yeteneğinin IL-1β ve TNF-α ile indüklenirken, glukokortikoidlerle inhibe edildiği ortaya konulmuştur (79, 80).

Artritlerde NGF seviyesinin hem serum hem de sinovyal sıvıda arttığı ve bu artışın spondiloartritte romatoid artritten daha fazla olduğu saptanmıştır. Carregean ile oluşturulan eklem inflamasyonlu rat modeli oluşturulan bir çalışmada eklem NGF ve NGF mRNA ekspresyonu değerlendirilmiştir. Artritik eklemden NGF ve NGF mRNA ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir. Artritik eklemden artmış NGF düzeylerinin varlığı hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar olarak tanımlanmıştır. Başka bir çalışmada ise fare artritik diz ekleminde IL-1β'nin NGF'i arttırdığı ve NGF'inde TNF-α'yı arttırdığı söylenmektedir (81).

Kesin olmamakla beraber elde edilen verilere göre; NGF, inflamatuvar olaylarda nedensel role sahiptir ve bu etkinin TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuvar sitokinlerle olan ilişkisine dayanarak proinflamatuvar yönde olduğu söylenebilir. Aynı zamanda romatoid artrit ve sistemik sklerozise bağılı gelişen kronik vaskülitik ülserlerde kullanılması ile lezyonun küçülmesi veya ortadan kalkması yine NGF'nin

antiinflamatuvar etkili olduğuna işaret etmektedir (82). Beyin ventriküllerine enjekte edildiğinde glial hücrede anti inflamatuvar sitokin olan IL-10'u up-regüle ettiği ve beyaz cevherde deneysel allerjik ensefalomyelitin enflamatuvar lezyonlarında T hücrelerini infiltre ettiği ve interferon gamma ekspresyonunu süprese ettiği gösterilmiştir. NGF uygulamasının lezyonların boyut ve sayısını dramatik olarak azaltmış olduğu tespit edilmiştir (83). NGF'nin yara iyileşmesi üzerine yapılan bir çalışmada, NGF'nin epitelizasyon periyodunu kısalttığı, yara kontraksiyonunu arttırdığı ve heksozamin, üronik asit ve kollajen miktarını arttırdığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada yara iyileşmesinin histolojik incelemesinde, keratinositlerin ve kollajen liflerinin NGF ile daha düzenli iyileştiği gösterilmiştir (84). Korneal ülserasyon, nöropatik ve vasküler ülserlerde NGF'nin tedavi edici olması, inflamasyonun geç fazında artmış olması, fibrojenik etkileri ve doku tamirinde rol alması NGF'nin proinflamatuvar etkisinin yanında antiinflamatuvar etkisinin de olduğunu düşündürmektedir.

**Tablo 8: NGF'nin immün hücreler üzerindeki etkileri**

B lenfosit	Proliferasyon, antikor sentez stimülasyonu, IL-2 reseptör ekspresyonu, CGRP artışı, Trk A aktivasyonu
T lenfosit	Proliferasyon, T hücre bağımlı antikor sentezi, IL-2 sentezi, Trk B fosforilasyonu, c-fos aktivasyonu
Monosit/ Makrofaj	Diferansiyasyon, fagositoz, parazit öldürücü, IL-1 $\beta$ üretimi, TNF- $\alpha$ üretimi, kemotaksi, nitrik oksit sentezinde artma, oksidatif travmada artma, katepsin S ekspresyonunda artma
Nötrofil	Diferansiyasyon, kemotaksi, fagositoz, süper oksit üretimi
Eozinofil	Diferansiyasyon, kemotaksi, inflamatuvar mediatörlerin salınımı, sitotoksik aktivite artışı, LTC4 üretimi supresyonu
Bazofil	Diferansiyasyon, aktivasyon, histamin salınımı, lipit mediatörlerin artmış üretimi, IL-13 sekresyon stimülasyonu, IgE aracılı cevap modülasyonu
Mast hücre	Degradasyon, mediatör salınımı, kemotaksi
Diğer	Hematopoietik hücre proliferasyonu/ diferansiyasyonu, trombosit şekil değişikliği, vasküler permeabilite artışı

### 3.5.5.NGF ve APOPTOZ:

Rita Levi Montalcini tarafından 1952 yılında; sempatik ve duysal nöronların gelişme esnasında normalin yarısına inmesinin NGF'nin apoptoz ile olan ilişkisinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Bu hipotezi ekzojen NGF uygulaması ile NGF duyarlı nöron sayısında artış olması ve anti-NGF uygulaması ile nöronlarda ölüm gelişmesi desteklemektedir. İlerleyen yıllarda bu invivo, invitro, yapısal, farmakolojik ve moleküler metodolojik yöntemler ile desteklenmiştir. NGF'nin tavuklarda bursa fabrikusdaki hücreler ve insanlarda hafıza B lenfositleri üzerinde hücre ölümünü regüle edici etkisi gösterilmiştir (85). Vasküler düz kas hücrelerinde NGF'nin hücre siklusunu otokrin olarak regüle ettiği düşünülmektedir. Aort endotel hücresinde NGF'nin olduğu ve proinflamatuvar sitokin olan IL-1 $\beta$  ile NGF miktarının arttığı ve anti- NGF ile S ve G2/M fazındaki hücre sayısını arttırdığı ve hipodiploid hücre oranını arttırdığı gözlenmiştir (86). Anti NGF antikoru eklenmesi ile LPS ile aktive edilmiş monosit/makrofaj kültüründe apoptoz değerlendirilmiştir. Anti-NGF uygulanan grupta hipodiploid DNA kontrol grubuna göre 5 kat artmış olduğu ve apoptotik hücrede morfolojik değişiklikler (yuvarlak şekilli yoğun kromatin, DNA fregmentasyon artışı) olduğu gözlenmiştir (87). PC12 feokromastoma ve nöroblastoma hücrelerinde TrkA aktivitesi hücre gelişimini inhibe eder. Trk A'nın yüksek ekspresyonun nöroblastoma prognozu ile korele olduğu saptanmıştır (70).

Bu çalışma, TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18'in yanında NGF'nin inflamatuvar durumlardaki olası rolünü belirlemek ve aynı zamanda NGF'nin sepsisin patogenez ve tedavisinde yer alıp alamayacağını araştırmak amacıyla planlanmıştır.

## 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 33 adet rat alındı.

Çalışmada, “Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Vertebralı Hayvanların Korunması İçin 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 (Romphun® Bayer, İstanbul) 10 mg/kg intramüsküler uygulanarak sağlandı.

**Grup I (Kontrol Grubu, n=6):** Bu gruptaki deneklerden bazal değer için alınan kan örneğinden hemen sonra 1 ml % 0.9 NaCl intraperitoneal olarak enjekte edildi.

**Grup II (Sepsis Grubu, n=9):** Deneklere 1 ml % 0.9 sodyum klorür (NaCl) içerisinde E. Coli lipopolisakkariti 0111:B4 (LPS25, Chemicon, USA) 1 mg intraperitoneal olarak enjekte edilerek sepsis modeli oluşturuldu. Ghiselli ve Giacometti'nin çalışmalarında sepsis oluşturan E. coli LPS suş ve dozları baz alınarak uygulandı (88, 89).

**Grup III (Sepsis Modeli Oluşturulmadan Anti-NGF Verilen Grup, n=9):** Deneklerden bazal kan örneği alındıktan hemen sonra anti-NGF (ab10515, Novus, USA) 500 µg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Anti-NGF antikorunun uygulanmasından 1 saat sonra 1 ml izotonik içerisinde 1 mg LPS intraperitoneal olarak uygulandı.

**Grup IV (Sepsis Modeli Oluşturularak Anti-NGF Verilen Grup, n=9):** Deneklerde E. coli lipopolisakkariti ile sepsis modeli oluşturulduktan sonra 500

$\mu\text{g/kg}$  anti-NGF antikorunu intraperitoneal olarak uygulandı. Deneklerde sepsis tablosu yaklaşık olarak LPS enjeksiyonunu izleyen 8-10 saat içerisinde geliştiğinden anti-NGF enjeksiyonu LPS enjeksiyonunun 10. saatinde uygulandı.

Deneklere E. coli LPS'nin intraperitoneal olarak verilmesinden yaklaşık 8-10 saat sonra hastalık belirtileri gözlemlendi. Bostanoğlu ve ark'nın çalışmalarında bahsedildiği gibi denekler vücut ısılarını korumak için bir arada toplandılar, hareketleri azaldı ve yavaşladı, piloereksiyon gözlerde çapaklanma ve kanama gelişti (41). Bu belirtileri 12 saat içerisinde göstermeyen denekler çalışma dışı bırakıldı. Sepsis gelişmeyen ve çalışmayı tamamlayamayan deneklerin yerine yeni denekler alınarak denek sayısı 33'e tamamlandı.

Deneklerden girişim öncesi ve girişim sonrası 2., 12., 24. ve 72. saatlerde kuyruk veninden kan örnekleri alındı. Tüm deneklere her kan örneği alınmadan önce ve alındıktan sonra 1 ml % 0.9 NaCl subkutan olarak uygulandı. Alınan kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dakika sanrifüj edilerek serumlara ayrıldı ve biyokimyasal analiz yapılana kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Deneyin 3. gününde sakrifiye edilen ratların ince barsak, karaciğer ve akciğer dokuları ayrılarak formol içerisinde fikse edilerek saklandı.

## **4.2. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER:**

Serum TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18 düzeyleri immunoassay kitleri ile, kit prosedürüne uygun olarak yapıldı (KRC3012, KRC0102, KRC2342, Biosource, USA). Sandwich Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA prensibine dayalı bu sistemde, kuyucuklar IL-10, IL-18 ve TNF- $\alpha$  için spesifik antikor ile kaplıdır. Numune, standard ve kontroller bu kuyucuklara pipetlendikten sonra biyotinlenmiş ikinci bir antikor eklenir. İlk inkübasyon sırasında IL-10, IL-18 ve TNF- $\alpha$  antijenleri bağlanır. Sonuçta oluşan renk değişikliği ile orantılı olarak bu sistem ile IL-10, IL-18 ve TNF- $\alpha$  miktarı saptanabilir.

NGF ise  $E_{\text{max}}$  Immunoassay yöntemi ile çalışıldı (G7630, Promega, Madison, USA). NGF immunoassay sistemi antikor sandwich formatında NGF'nin sensitif ve spesifik saptanması için tasarlanmıştır. Doksan altı kuyucuklu plate'ler anti-NGF poliklonal antikorlar ile kaplanmış olup solubl NGF'yi bağlar. Bağlanmış NGF'ler ikinci bir spesifik monoklonal antikor ile bağlanır. Yıkama işleminin ardından spesifik olarak bağlı monoklonal antikor miktarı horseradish peroxidase'a konjuge spesifik antikor ile saptanır. Kromojenik substrat ile inkübasyonu takiben renk

değişikliği ölçülür. NGF'nin miktarı oluşan renk değişikliği ile orantılı olarak değişmektedir.

#### **4.6. APOPTOZUN DEĞERLENDİRİLMESİ:**

Deneklerin karaciğer, akciğer ve incebarsak dokuları formol (%100) içerisinde tespit edilerek rutin takip işlemine alındı. Parafine gömülme işleminden sonra 4 µm kalınlığında kesitler alınarak boyama işlemine geçildi.

##### **4.6.1. Hematoksilen Eozin İle Boyama:**

Hematoksilen Eozin (H/E) ile boyamada hematoksilen boyası kromatini boyadığından apoptotik hücreler nükleus morfolojisine göre ışık mikroskobu (Olympus BX50, Japan) ile değerlendirildi. Hücre veya sitoplazmanın küçülmesi, kromatinin kondanse olması ve nükleus zarının periferinde toplanması, nükleusun küçülmesi ve parçalara bölünmesi gibi morfolojik görünümeler apoptoz olarak yorumlandı. H/E ile boyamada apoptoz, Hotchkiss ve ark'nın (33) kullanmış oldukları skorlama sistemine göre değerlendirildi (tablo-9).

**Tablo 9: H/E ile boyamada apoptozun skorlama sistemi.**

Skor	Apoptotik hücre sayısı / 100 hücre
0	< % 1
1	% 1-5
2	% 6-25
3	% 26-50
4	> % 50

##### **4.6.2. İmmunohistokimyasal Boyama:**

İmmunohistokimyasal boyama için 4 µm kalınlığında hazırlanan kesitlere strept avidin peroksidaz yöntemi ile monoklonal bcl-2 (3195-100, Biovision, USA) ve monoklonal bax (SC-7480, Santa Cruz Biotechnology, USA) antikoları uygulandı. Kesitler deparafinize ve rehidrate edildikten sonra sitrat buffer içerisinde mikrodalga fırında 5 dakika bekletildi. Daha sonra %10'luk pepsin enzimi ile 20 dakika inkübe edilip bcl-2 ve bax antikoları uygulandı. Ardından fosfat buffer solüsyon ile yıkanarak avidin-biotin peroksidaz ile inkübe edildi ve amino-etil

karbazol kromojen ile boyandı. Bütün kesitler Mayer hematoksilen ile zıt boyanıp dehidrate edilerek Ultra Mould medyum ile kapatıldı. Bcl-2 ve bax boyaması için değerlendirme ise Cinel ve ark'nın (90) çalışmalarında kullanmış oldukları skorlama sistemine göre 100 hücre içeren fokal bir alanda pozitif boyanan hücre sayısı ile değerlendirildi (tablo-10).

**Tablo 10: Bcl-2 ve bax boyanma skorlama sistemi.**

Skor	Boyanan hücre sayısı /100
0	Boyama yok
1	% 1-5
2	% 6-15
2	% 16-100

İstatistiki değerlendirme için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 12.0 programı kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart deviasyon olarak alındı. Gruplar arası karşılaştırmada One-Way ANOVA, Tukey HSD, Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testi kullanıldı. Grup içi karşılaştırmada Paired-Samples T testi ve Wilcoxon analizleri uygulandı.  $p<0.05$  anlamlı olarak değerlendirildi.



## 5. BULGULAR

Çalışmaya alınan deneklerin ağırlıkları arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

### 5.1. TNF- $\alpha$ :

Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri kontrol grubunda ölçüm yapılan tüm dönemlerde grup içi karşılaştırmalarda anlamlı farklılık göstermedi.

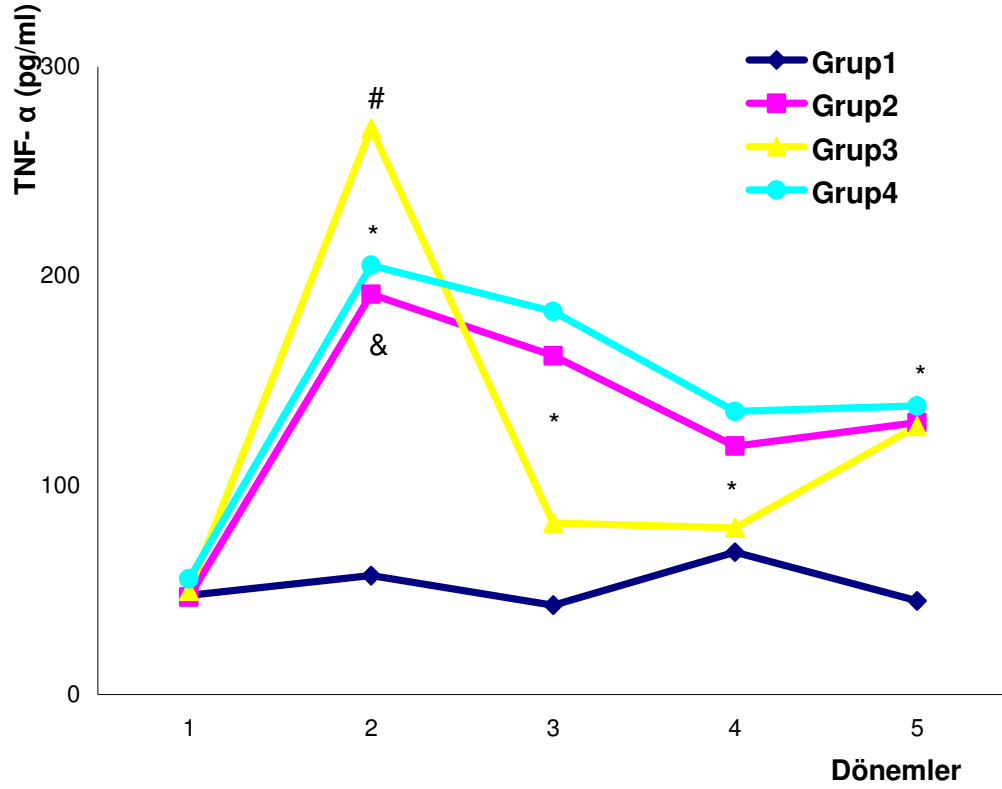
Sepsis modeli oluşturulan Grup II, III ve IV'de serum TNF- $\alpha$  düzeylerinin 2. saatten başlamak üzere tüm dönemlerde bazal değerlerine göre artmış olduğu gözlemlendi. Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri sepsis oluşturulan gruplarda bazal değere göre artmasının yanında 2. saatte pik yaptığı, 24. saatte belirgin olarak azaldığı ve 72. saatte tekrar arttığı gözlemlendi. Grup III'te 2. saatteki artış ve 24. saatteki düşme diğer gruplara göre belirgindi. Grup II'de bazal değer ile karşılaştırıldığında 2. ve 72. saatte daha belirgin olmak üzere tüm dönemlerde artış gözlemlendi (p değerleri 2., 12., 24. ve 72. saate göre sırasıyla  $p < 0.001$ ,  $p = 0.006$ ,  $p = 0.002$  ve  $p < 0.001$ ). Aynı zamanda Grup II'de serum TNF- $\alpha$  düzeylerinde 24. saat gözlenen artış ile 2. saatte gözlenen artış karşılaştırıldığında 24. saatte anlamlı olarak daha düşük olduğu saptandı ( $p = 0.04$ ) (şekil-6).

Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri grup III'de bazal değer ile karşılaştırıldığında 2. saatte daha belirgin olmak üzere 2., 12. ve 24. saatte artış gösterdi (p değerleri sırasıyla 2., 12. ve 24. saatte  $p < 0.001$ ,  $p = 0.048$ ,  $p = 0.05$ ). Serum TNF- $\alpha$  düzeylerinde 12. ve 24. saat gözlenen artış, 2. saatte gözlenen artış ile karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük bulundu ( $p < 0.001$ ). Serum TNF- $\alpha$ 'nın 2. ile 72. saatteki düzeyleri karşılaştırıldığında 72. saatte anlamlı azalma olduğu tespit edildi ( $p = 0.004$ ).

Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri grup IV'de bazal değer ile karşılaştırıldığında 2. ve 12. saatte daha belirgin olmak üzere tüm dönemlerde artış gösterdi (p değerleri 2., 12., 24. ve 72. saate göre sırasıyla  $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p = 0.021$ ,  $p = 0.021$ ). Aynı zamanda 24. saat gözlenen artış, 2. saatte gözlenen artış ile karşılaştırıldığında 24. saatte anlamlı olarak azalma olduğu saptandı ( $p = 0.01$ ).

Serum TNF- $\alpha$  düzeylerinin sepsis oluşturulan Grup II, III ve IV'de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2. saatte belirgin olarak arttığı görüldü (grup II'de  $p = 0.004$ , grup III'de  $p < 0.001$ , grup IV'de  $p = 0.003$ ). Serum TNF- $\alpha$  düzeylerinin 12. saatte, Grup II ve IV'de kontrol grubuna göre artış gösterdiği ve Grup III'te anlamlı bir artış olmadığı tespit edildi (p değerleri sırasıyla Grup II'de  $p = 0.014$ , Grup III'te

p= 0.096 ve Grup IV'te p= 0.006). 12. saatte ölçülen serum TNF- $\alpha$  düzeylerinin Grup III'te Grup IV ile karşılaştırıldığında anlamlı azalma olduğu görüldü (p=0.041) (şekil-7).

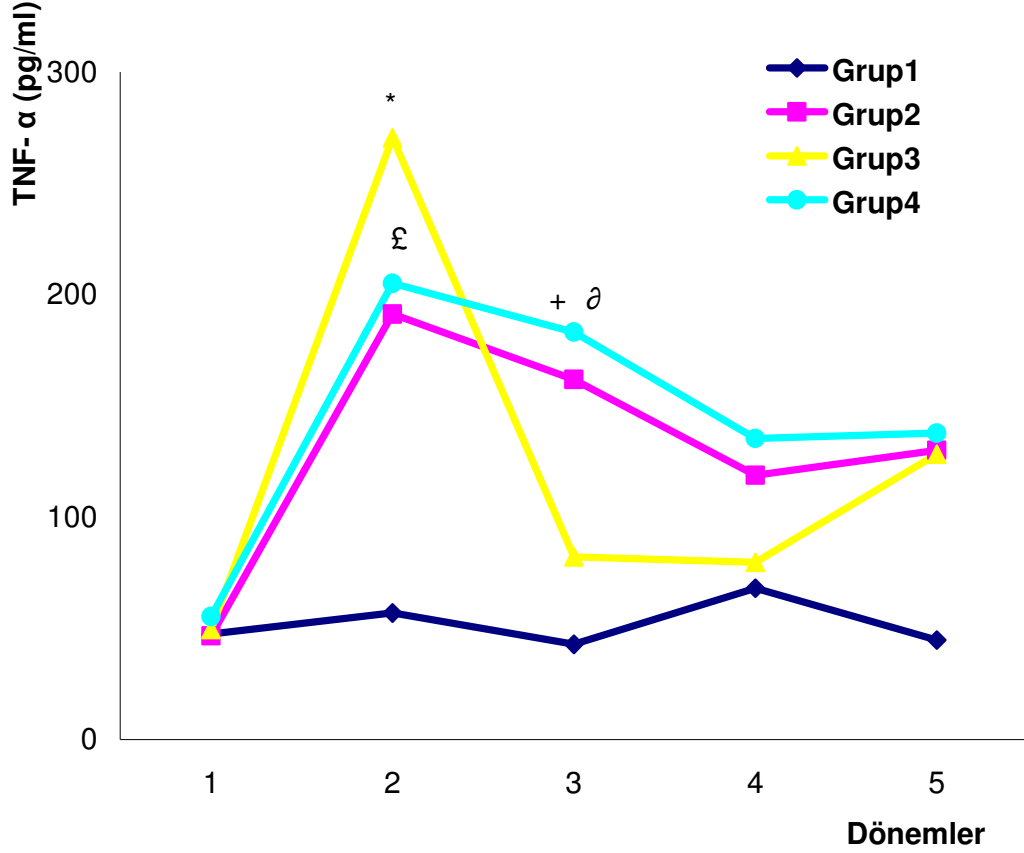


**Şekil 6: Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri (grup içi karşılaştırmada)**

\*: p<0.05 Grup II, III, IV'de 2, 3, 4 ve 5. dönem 1. dönemle karşılaştırıldığında

&: p<0.05 Grup II ve IV'de 2 ile 4. dönem karşılaştırıldığında

#: p<0.05 Grup III'de 2.dönem ile 3, 4 ve 5. dönem karşılaştırıldığında



**Şekil 7: Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri (gruplar arası karşılaştırmada)**

£:  $p < 0.05$  Grup II ve IV, grup I ile 2. dönemde karşılaştırıldığında  
 \*:  $p < 0.001$  Grup III, Grup I ile 2. dönemde karşılaştırıldığında  
 +:  $p < 0.05$  Grup II ve IV, Grup I ile 3. dönemde karşılaştırıldığında  
 ∂:  $p < 0.05$  Grup III, Grup IV ile 3. dönemde karşılaştırıldığında

### 5.2. IL-10:

Serum IL-10 düzeyleri kontrol grubunda ölçüm yapılan tüm dönemlerde grup içi karşılaştırmalarda anlamlı farklılık göstermedi.

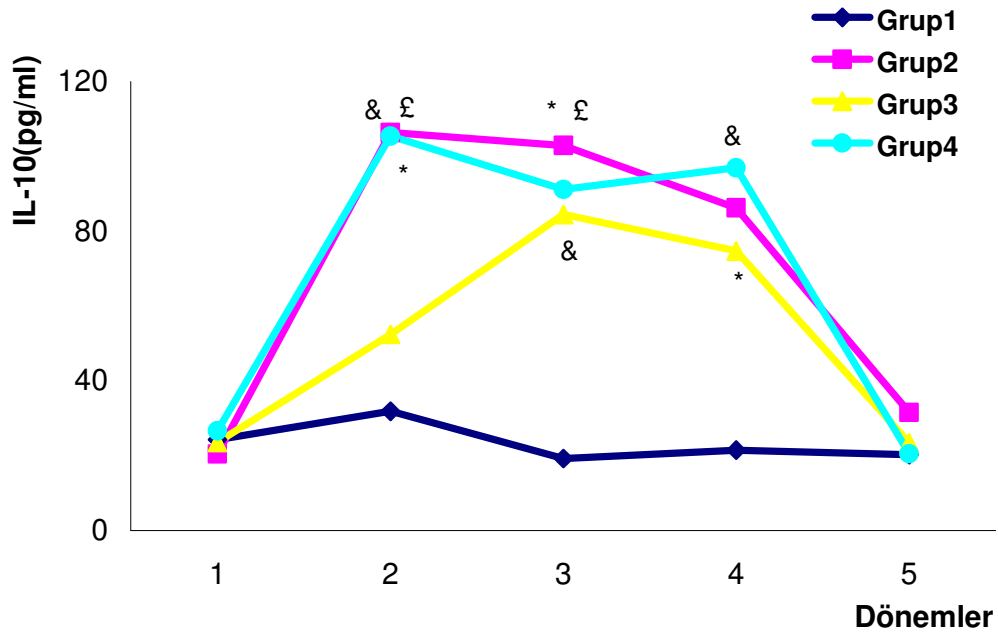
Serum IL-10 düzeyleri sepsis modeli oluşturulan gruplardan Grup II ile IV'de 2. saatten başlamak üzere 2., 12. ve 24. saatlerde ve Grup III'te ise gecikmiş olarak 12. ve 24. saatlerde bazal değerlere göre artış gösterdi. Sepsis oluşturulan 3 grupta da serum IL-10 düzeylerindeki artışın 72. saatte azalarak bazal değerlere yaklaştığı gözlemlendi. Grup II'de 2. ve 12. saatte daha fazla olmak üzere 2., 12. ve 24. saatte bazal değere göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi (p değerleri sırasıyla  $p = 0.001$ ,  $p = 0.001$  ve  $p = 0.002$ ). Serum IL-10'un 72. saatte ölçülen düzeyleri, 2., 12. ve 24. saatte

ölçülen düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (p değerleri sırasıyla p= 0.005, p= 0.001 ve p= 0.015) (şekil-8).

Grup III'de 12. saatte bazal değer ve 2. saate göre ve 24. saatte bazal değere göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi (p değerleri sırasıyla p= 0.001, p= 0.048 ve p= 0.025). Serum IL-10 düzeyleri 72. saatte, 12. ve 24. saate göre anlamlı olarak azalma gösterdi (p değerleri sırasıyla p= 0.001 ve p= 0.027).

Grup IV'de 2., 12. ve 24. saatte bazal değere göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi (p değerleri sırasıyla p= 0.01, p=0.013 ve p=0.044). Serum IL-10'un 72. saatte ölçülen düzeyleri, 2., 12. ve 24. saatte ölçülen düzeyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (p değerleri sırasıyla p= 0.004, p= 0.006 ve p= 0.036).

Serum IL-10 düzeyleri açısından Grup II ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Grup II'de 12. saatte daha belirgin olmak üzere 2. ve 12. saatte anlamlı bir artış olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla p= 0.033 ve p= 0.005). Serum IL-10 düzeyleri açısından Grup IV ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Grup IV'de 2. ve 12. saatte anlamlı bir artış olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla p= 0.047 ve p= 0.03).



**Şekil 8: Serum IL-10 düzeyleri**

\*: p<0.05 Grup II, III, IV'de 2, 3, 4. dönem 1. dönemle karşılaştırıldığında

&: p<0.05 Grup II, IV'de 2, 3, 4. dönem 5. dönemle karşılaştırıldığında

p<0.05 Grup III'de 3 ve 4. dönem 5. dönem ile karşılaştırıldığında

£: p<0.05 Grup II ve III'ün Grup I ile 2 ve 3. dönemde karşılaştırıldığında

### 5.3. IL-18:

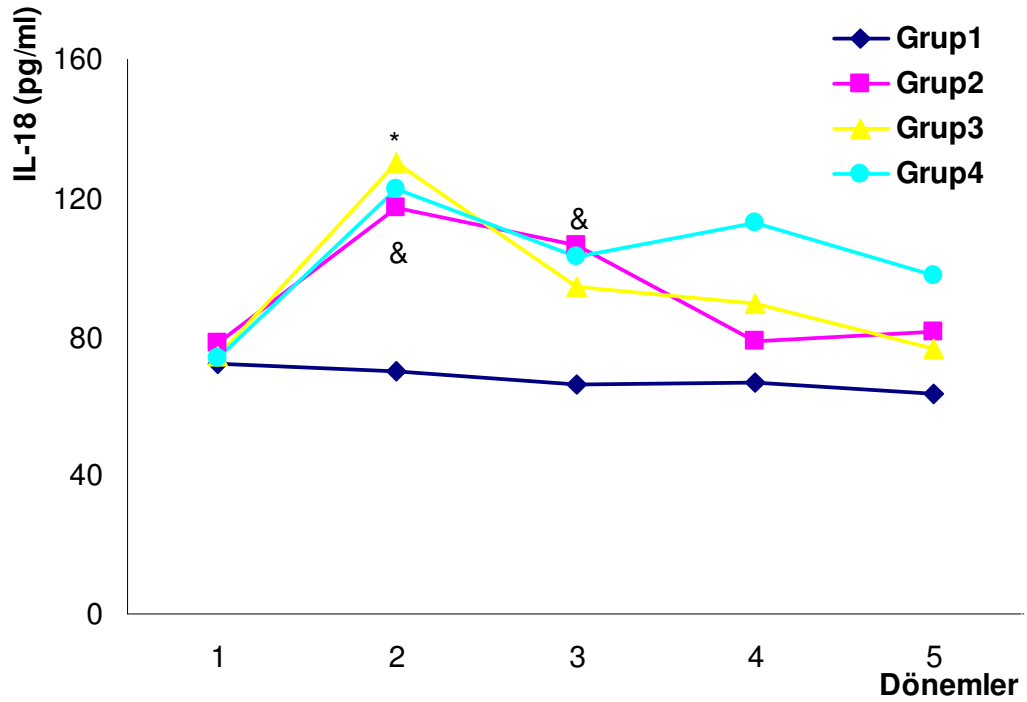
Serum IL-18 düzeyleri kontrol grubunda ölçüm yapılan tüm dönemlerde grup içi karşılaştırmalarda anlamlı farklılık göstermedi.

Sepsis modeli oluşturulan gruplardan Grup III'de daha fazla olmak üzere Grup II, III ve IV'de 2. saatte bazal değerlere göre benzer olarak artış gözlemlendi ( p değerleri sırasıyla p=0.015, p= 0.006 ve p= 0.024). Farklı olarak serum IL-18 düzeyleri Grup II'de 2. saate göre 72. saatte anlamlı olarak azalma gösterdi (p= 0.029) (şekil-9).

Grup III'de 2. saatte artış gösterdikten sonra 12., 24. ve 72. saatte anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (p değerleri sırasıyla p= 0.044, p= 0.05 ve p= 0.005).

Grup IV'de 2. ve 12. saatte, bazal değere göre anlamlı artış gösterdiği saptandı (p değerleri sırasıyla p= 0.024 ve p=0.036).

Gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi.



**Şekil 9: Serum IL-18 düzeyleri**

\*: p<0.05 Grup III'de 2. dönem ile 1, 3 ve 5. dönem karşılaştırıldığında

&: p<0.05 Grup IV'de 2 ve 3. dönem 1. dönem ile karşılaştırıldığında

#### 5.4. NGF:

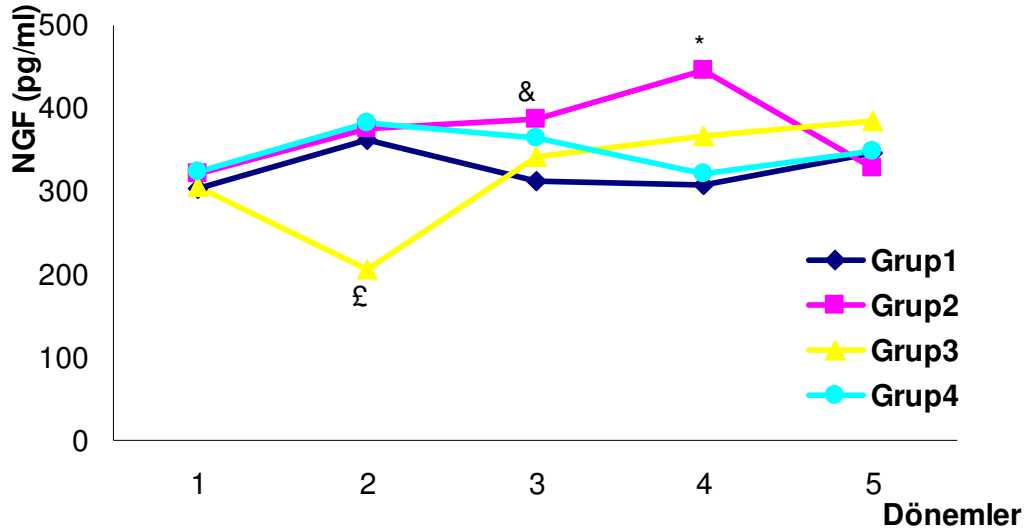
Serum NGF düzeyleri kontrol grubunda ölçüm yapılan tüm dönemlerde grup içi karşılaştırmalarda anlamlı farklılık göstermedi.

Grup II'de 24. saatte bazal değere göre artış gösterdikten sonra 72. saatte azalarak bazal değere yaklaştığı gözlemlendi (p değerleri sırasıyla p= 0.006 ve p= 0.042). Aynı zamanda 12. saatte anlamlı bir artış saptanmamasına rağmen 72. saatte 12. saate göre anlamlı bir azalma saptandı (p= 0.031).

Grup III'de 2. saatte bazal değere göre anlamlı olarak azaldıktan sonra 12., 24. ve 72. saatte tekrar artış gösterdi (p değerleri sırasıyla p= 0.006, p= 0.029, p= 0.01 ve p= 0.003).

Grup IV'de ölçüm yapılan tüm dönemlerin karşılaştırılmasında anlamlı farklılık gözlemlenmedi.

Serum NGF düzeyleri açısından grup II, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 24. saatte anlamlı artış olduğu saptandı (p= 0.049). Grup III, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında 2. saatte anlamlı azalma olduğu saptandı (p değerleri sırasıyla Grup I'de p= 0.017, Grup II'de p= 0.002, Grup IV'de p= 0.003).



**Şekil 10: Serum NGF düzeyleri**

\*: p<0.05 Grup II'de 4. dönem ile 1 ve 5. dönem karşılaştırıldığında

p<0.05 Grup II'nin 4. dönemi Grup I ile karşılaştırıldığında

&: p<0.05 Grup II'de 3 ile 5. dönem karşılaştırıldığında

£: p<0.05 Grup III'de 2. dönem ile 1, 3, 4 ve 5. dönem karşılaştırıldığında

p<0.05 Grup III'ün 2. dönemi Grup I, II ve IV ile karşılaştırıldığında

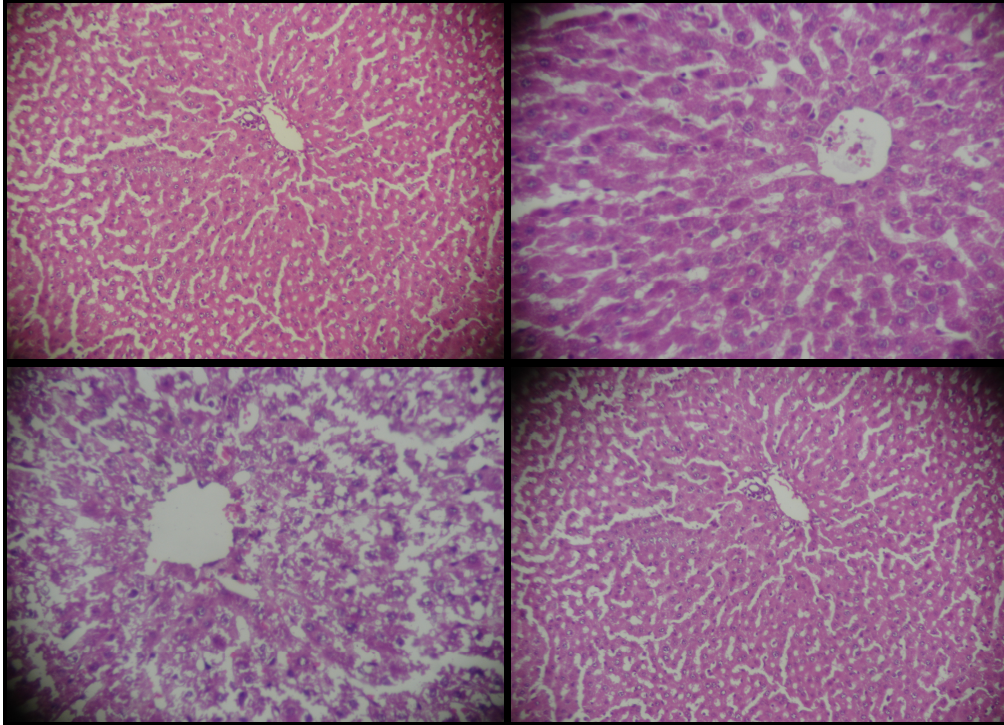
**Tablo 11: TNF, IL-10, IL-18 ve NGF'nin ortalama değerleri ve standart deviasyonları.**

	<b>Dönem</b>	<b>Grup I</b>	<b>Grup II</b>	<b>Grup III</b>	<b>Grup IV</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> <b>pg/ml</b>	<b>1</b>	47.46 $\pm$ 18.25	46.58 $\pm$ 13.97	49.44 $\pm$ 12.30	55.23 $\pm$ 11.59
	<b>2</b>	56.84 $\pm$ 27.75	191.23 $\pm$ 94.49	270.46 $\pm$ 66.38	204.99 $\pm$ 53.36
	<b>3</b>	42.80 $\pm$ 12.42	161.82 $\pm$ 104.92	82.04 $\pm$ 39.49	183.06 $\pm$ 63.46
	<b>4</b>	68.01 $\pm$ 28.69	118.74 $\pm$ 58.41	79.67 $\pm$ 41.63	135.32 $\pm$ 76.92
	<b>5</b>	44.71 $\pm$ 13.20	129.99 $\pm$ 44.04	128.25 $\pm$ 90.03	137.78 $\pm$ 76.96
<b>IL-10</b> <b>pg/ml</b>	<b>1</b>	24.32 $\pm$ 8.96	20.44 $\pm$ 7.14	23.61 $\pm$ 13.84	26.66 $\pm$ 7.02
	<b>2</b>	31.93 $\pm$ 18.08	106.38 $\pm$ 61.86	52.42 $\pm$ 33.22	106.71 $\pm$ 60.90
	<b>3</b>	19.27 $\pm$ 11.94	102.93 $\pm$ 54.96	84.51 $\pm$ 32.00	91.16 $\pm$ 54.38
	<b>4</b>	21.54 $\pm$ 7.85	86.24 $\pm$ 57.39	74.76 $\pm$ 49.73	96.98 $\pm$ 84.50
	<b>5</b>	20.30 $\pm$ 8.85	31.60 $\pm$ 18.02	23.46 $\pm$ 9.65	20.55 $\pm$ 8.27
<b>IL-18</b> <b>pg/ml</b>	<b>1</b>	72.17 $\pm$ 40.79	77.84 $\pm$ 19.64	74.43 $\pm$ 24.89	73.59 $\pm$ 23.35
	<b>2</b>	70.05 $\pm$ 17.42	117.29 $\pm$ 43.23	129.99 $\pm$ 42.75	122.67 $\pm$ 57.07
	<b>3</b>	65.99 $\pm$ 21.73	106.06 $\pm$ 45.66	94.19 $\pm$ 30.20	102.78 $\pm$ 27.23
	<b>4</b>	66.76 $\pm$ 19.68	78.67 $\pm$ 36.60	89.74 $\pm$ 45.12	112.61 $\pm$ 47.06
	<b>5</b>	63.67 $\pm$ 15.30	81.25 $\pm$ 35.87	76.54 $\pm$ 27.24	97.73 $\pm$ 43.94
<b>NGF</b> <b>pg/ml</b>	<b>1</b>	302.14 $\pm$ 103.49	322.15 $\pm$ 109.97	306.50 $\pm$ 81.61	323.64 $\pm$ 56.31
	<b>2</b>	363.01 $\pm$ 91.55	375.75 $\pm$ 101.62	205.01 $\pm$ 33.40	383.10 $\pm$ 114.22
	<b>3</b>	312.54 $\pm$ 93.81	386.74 $\pm$ 71.09	340.50 $\pm$ 138.66	364.60 $\pm$ 106.45
	<b>4</b>	306.84 $\pm$ 69.74	446.73 $\pm$ 88.63	366.30 $\pm$ 126.88	320.57 $\pm$ 107.03
	<b>5</b>	345.24 $\pm$ 138.80	327.31 $\pm$ 115.01	384.70 $\pm$ 114.99	348.06 $\pm$ 114.21

## 5.5. APOPİTOZİS

### 5.5.1. Hematoksilen Eozin İle Boyama

**5.5.1.a. Karaciğer:** H/E boyası ile boyanan karaciğer dokusunun apoptotik hücre oranına göre yapılan skorlama sistemine göre sepsis oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre apoptozisin arttığı gözlemlendi (Grup II'de  $p < 0.001$ , Grup III'de  $p < 0.001$ , Grup IV'de  $p = 0.005$ ). Aynı zamanda Grup III, Grup II ve IV ile karşılaştırıldığında apoptotik hücre oranının Grup III'de anlamlı olarak arttığı saptandı (p değerleri sırasıyla  $p = 0.009$  ve  $p = 0.003$ ) (şekil-10).

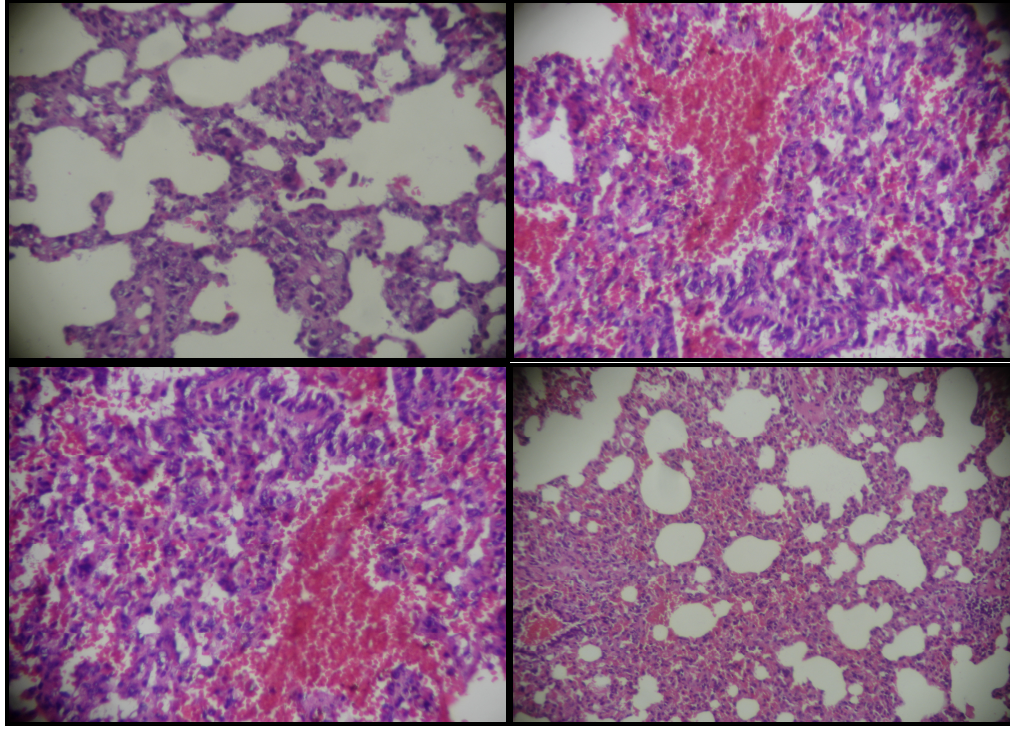


**Şekil 11: Grupların karaciğer dokusunun H/E boyası ile boyanması (x100)**

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında apoptozisin arttığı görülmektedir.  
Grup III, Grup II ve IV ile karşılaştırıldığında apoptozisin arttığı görülmektedir.

**5.5.1.b. Akciğer:** H/E boyası ile boyanan akciğer dokusunun apoptotik hücre oranına göre yapılan skorlama sistemine göre sepsis oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre apoptozisin arttığı gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). Apoptozis açısından Grup III, grup IV ile karşılaştırıldığında apoptotik hücre oranının Grup III'de anlamlı olarak arttığı saptandı ( $p = 0.004$ ) (şekil-11).

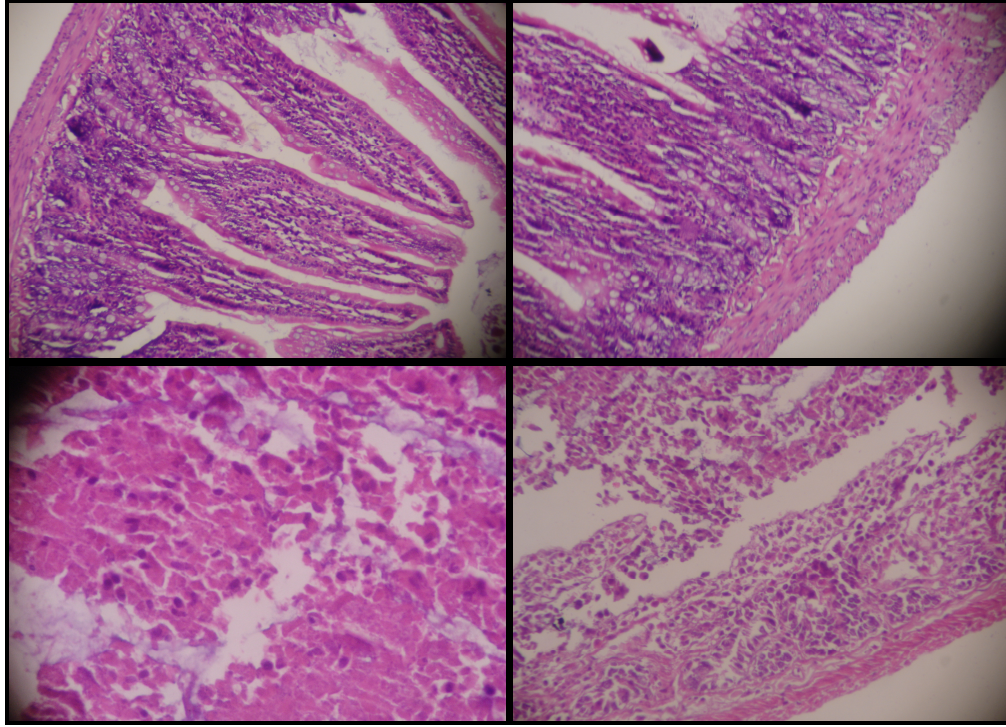




**Şekil 12: Grupların akciğer dokusunun H/E boyası ile boyanması** (Grup I, IV'de x 100, Grup II, II'de x200)

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında apoptozisin arttığı görülmektedir. Grup III, Grup II ve IV ile karşılaştırıldığında apoptozisin arttığı görülmektedir.

**5.5.1.c. Barsak:** H/E boyası ile boyanan barsak dokusunun apoptotik hücre oranına göre yapılan skorlama sistemine göre sepsis oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre apoptozisin arttığı gözlemlendi (Grup II'de  $p < 0.001$ , Grup III'de  $p < 0.001$ , Grup IV'de  $p = 0.009$ ). Apoptozis açısından Grup III, Grup II ve IV ile karşılaştırıldığında apoptotik hücre oranının Grup III'de anlamlı olarak arttığı saptandı ( $p$  değeri sırasıyla  $p = 0.004$  ve  $p < 0.001$ ) (şekil-12).



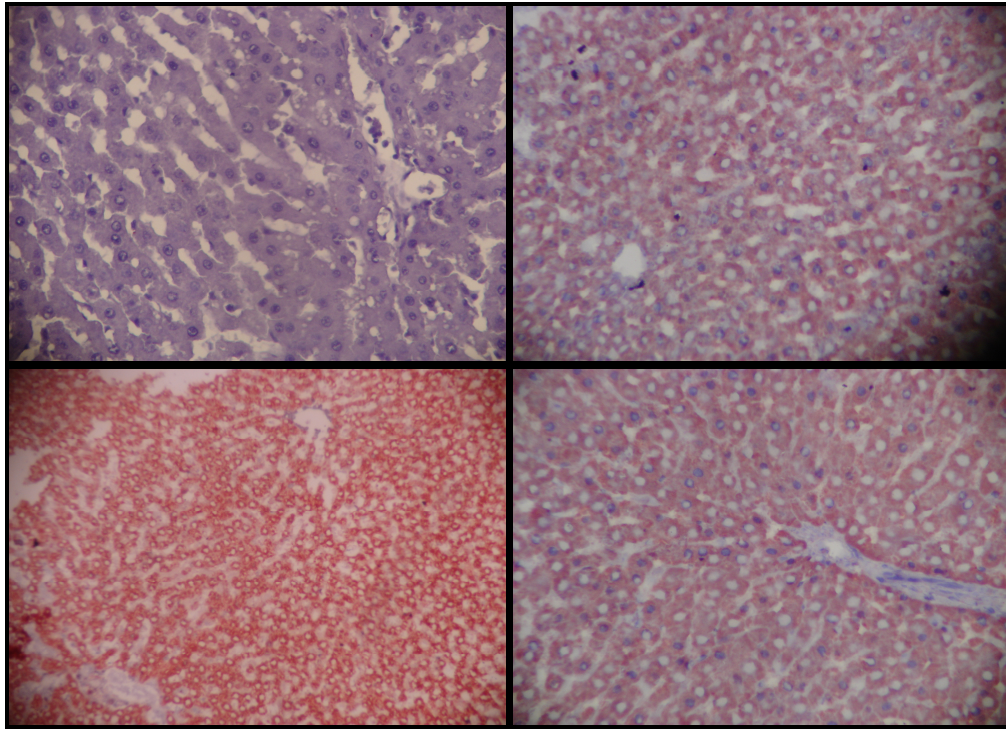
**Şekil 13: Grupların barsak dokusunun H/E boyası ile boyanması** (Grup I, II'de x100, Grup III, IV'de x200)  
Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında apoptozisin arttığı görülmektedir.  
Grup III, Grup II ve IV ile karşılaştırıldığında apoptozisin arttığı görülmektedir.

**Tablo 12: H/E boyama ile skorlama ortalamaları**

	Karaciğer	Akciğer	Barsak
Grup I	0.33 ± 0.51	0.16 ± 0.40	0.33 ± 0.51
Grup II	1.54 ± 0.52	2.18 ± 0.60	1.90 ± 0.70
Grup III	2.37 ± 0.51	2.62 ± 0.51	2.87 ± 0.35
Grup IV	1.37 ± 0.51	1.62 ± 0.51	1.37 ± 0.33

### 5.5.2. İmmunohistokimyasal Boyama

**5.5.2.a. Karaciğer:** İmmunohistokimyasal olarak Bcl-2 ve bax boyası ile boyanan hücrelerin oranına dayanan skorlama sistemine göre sepsis oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre bcl-2 ile boyanma oranının anlamlı olarak azaldığı saptandı ( $p<0.001$ ). Aynı zamanda bax boyanma oranının sepsis oluşturulan Grup II, III ve IV'te kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi (p değeri sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ,  $p= 0.006$ ). Grup III, bax boyanma oranı açısından grup IV ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p= 0.011$ ) (şekil-13, 14).

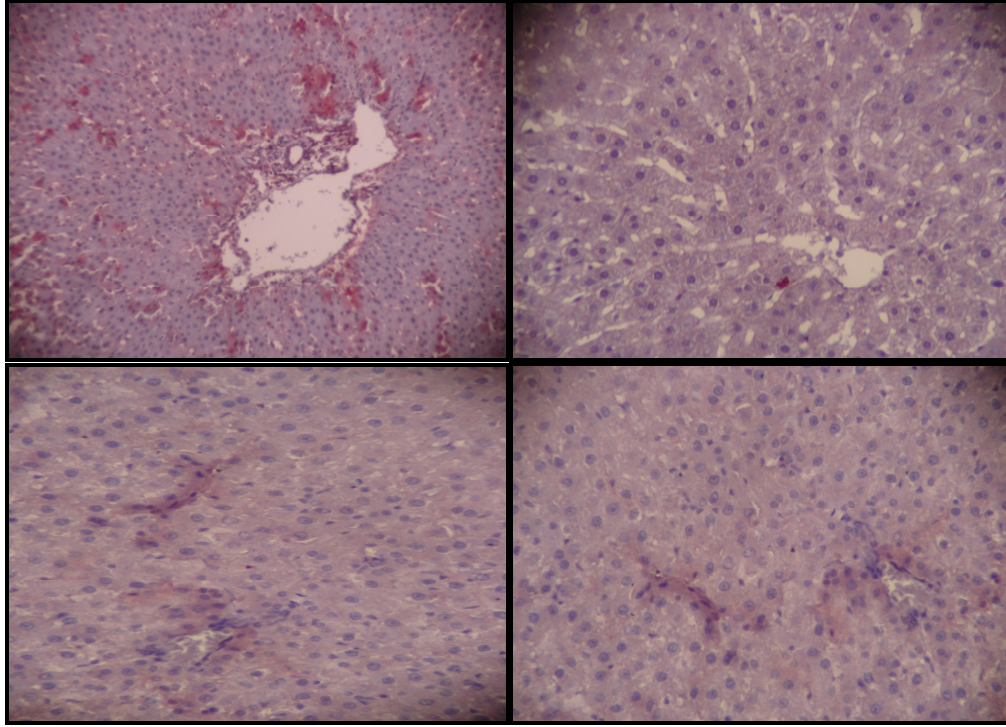


**Şekil 14: Grupların karaciğer dokusunun bax boyası ile boyanması (x200)**

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında bax boyası ile boyanma oranının arttığı görülmektedir.

Grup III, Grup IV ile karşılaştırıldığında bax boyası ile boyanma oranının arttığı görülmektedir.



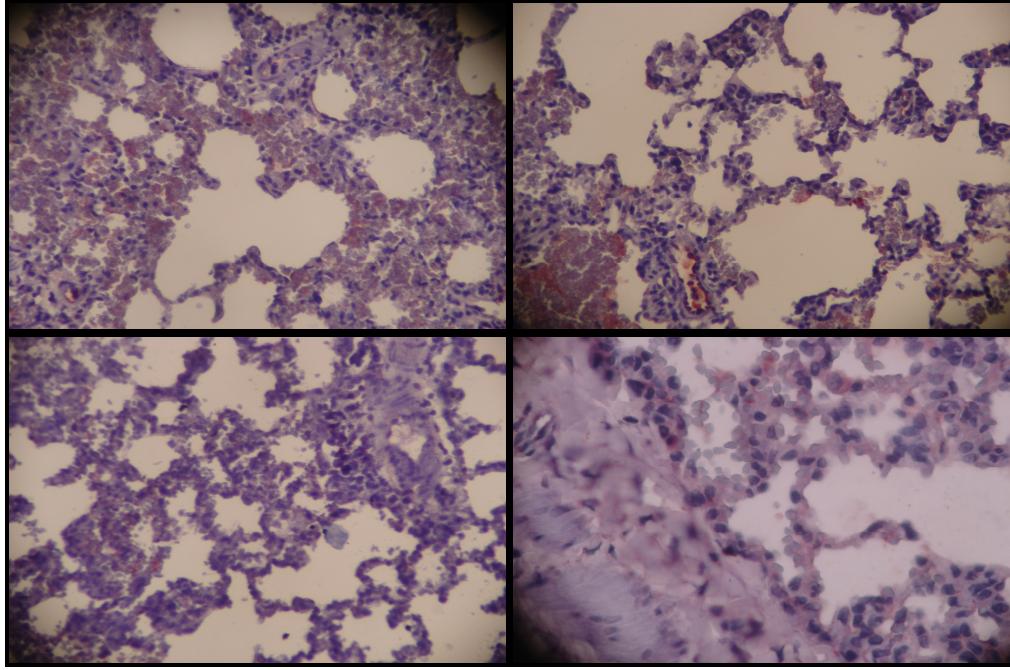


**Şekil 15: Grupların karaciğer dokusunun bcl-2 boyası ile boyanması (x200)**

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında bcl-2 boyası ile boyanma oranının azaldığı görülmektedir.

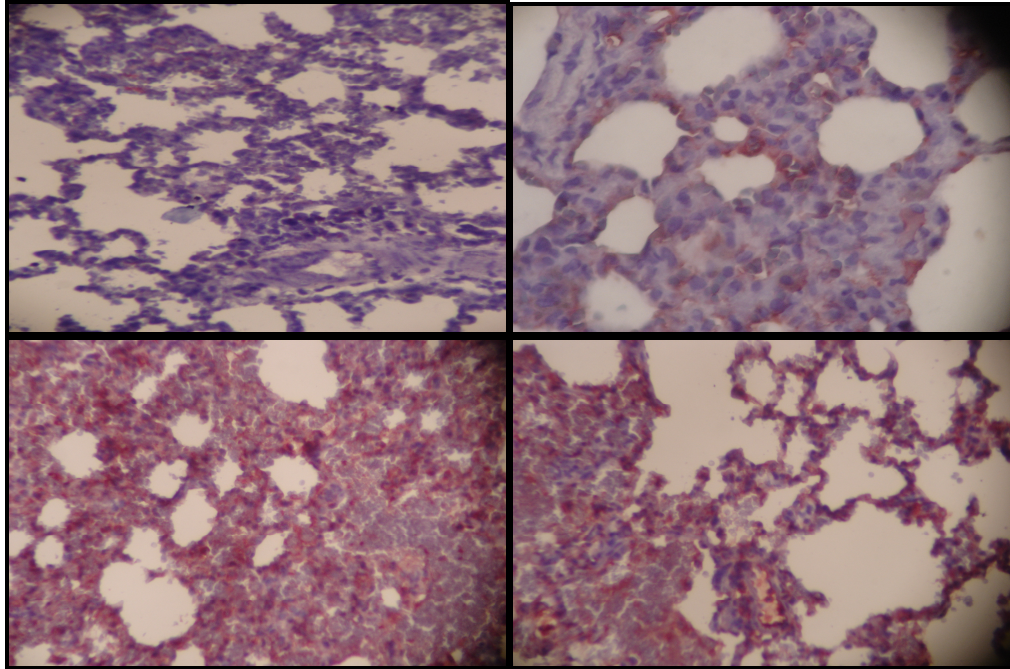
**5.5.2.b. Akciğer:** İmmunohistokimyasal olarak Bcl-2 ve bax boyası ile boyanan hücrelerin oranına dayanan skorlama sistemine göre sepsis oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre bcl-2 ile boyanma oranının anlamlı olarak azaldığı saptandı (p değeri sırasıyla  $p= 0.001$ ,  $p= 0.002$  ve  $p= 0.004$ ). Aynı zamanda bax boyanma oranının sepsis oluşturulan Grup II, III ve IV'te kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi ( $p<0.001$ ). Grup III, bax boyanma oranı açısından grup IV ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p= 0.034$ ) (şekil-15, 16).

**5.5.2.c. Barsak:** Bcl-2 boyanma oranının grup II, III ve IV'de kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı (p değeri sırasıyla  $p= 0.001$ ,  $p<0.001$  ve  $p= 0.002$ ). Bax boyanma oranı grup II, III ve IV'te kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi ( $p<0.001$ ). Grup III, grup IV ile karşılaştırıldığında bax boyanma oranının anlamlı olarak arttığı görüldü ( $p= 0.006$ ) (şekil-17, 18).



**Şekil 16: Grupların akciğer dokusunun bcl-2 boyası ile boyanması** (Grup I, II, III' de x100, Grup IV' de x200)

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında bcl-2 boyası ile boyanma oranının azaldığı görülmektedir.

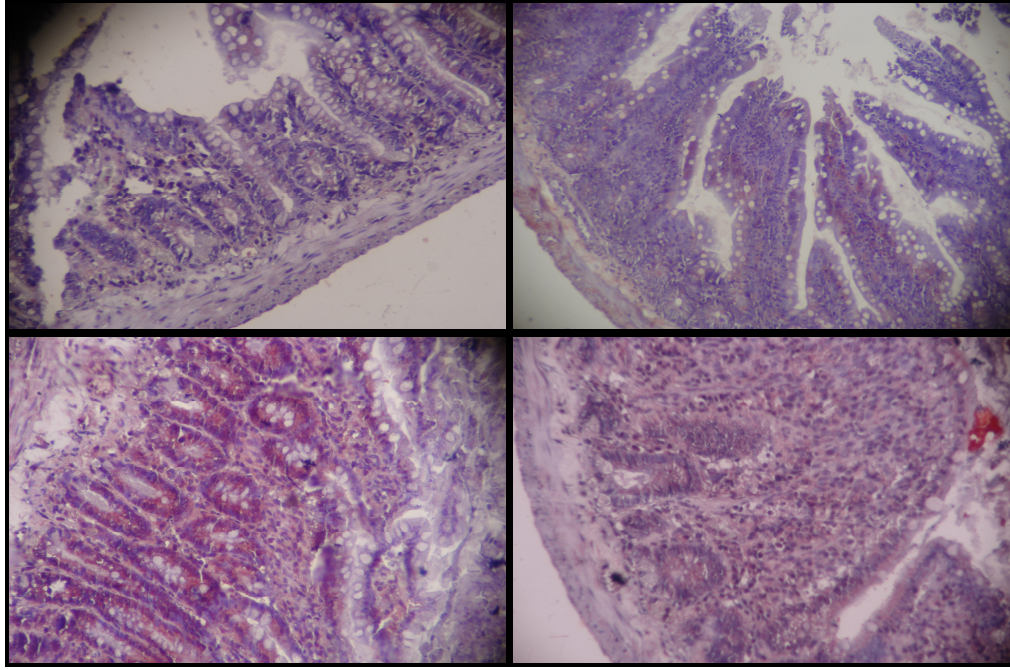


**Şekil 17: Grupların akciğer dokusunun bax boyası ile boyanması** (Grup I, III, IV' de x100 ve Grup II' de x200)

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında bax boyası ile boyanma oranının arttığı görülmektedir.

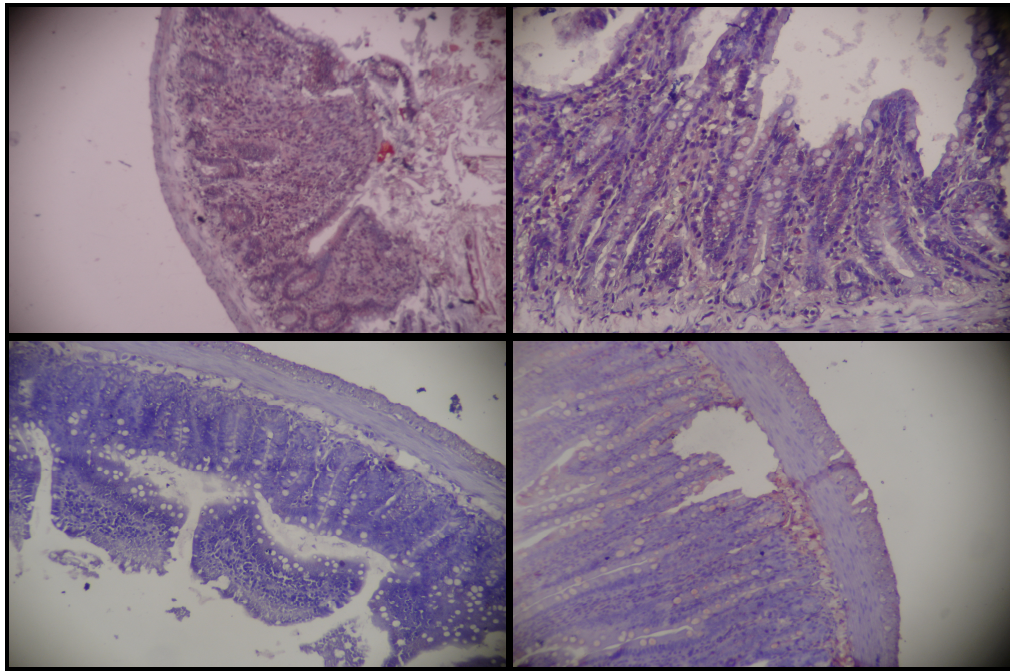
Grup III, Grup IV ile karşılaştırıldığında bax boyası ile boyanma oranının arttığı görülmektedir.





**Şekil 18: Grupların barsak dokusunun bax boyası ile boyanması (x100)**

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında bax boyası ile boyanma oranının arttığı görülmektedir. Grup III, Grup IV ile karşılaştırıldığında bax boyası ile boyanma oranının arttığı görülmektedir.



**Şekil 19: Grupların barsak dokusunun bcl-2 boyası ile boyanması (x100)**

Grup II, III, ve IV, Grup I ile karşılaştırıldığında bcl-2 boyası ile boyanma oranının azaldığı görülmektedir.

**Tablo 13: İmmunohistokimyasal boyama ile skortama ortalamaları**

		Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Karaciğer	Bcl-2	2.16 ± 0.75	0.27 ± 0.46	0.25 ± 0.46	0.25 ± 0.46
	Bax	0.33 ± 0.51	1.90 ± 0.70	2.50 ± 0.53	1.50 ± 0.53
Akciğer	Bcl-2	1.66 ± 0.81	0.36 ± 0.50	0.37 ± 0.51	0.50 ± 0.53
	Bax	0.33 ± 0.51	2.09 ± 0.70	2.75 ± 0.46	1.87 ± 0.64
Barsak	Bcl-2	1.83 ± 0.75	0.54 ± 0.52	0.37 ± 0.51	0.62 ± 0.51
	Bax	0.33 ± 0.51	2.54 ± 0.52	3.0 ± 0.00	2.12 ± 0.64

## 6. TARTIŞMA

Sepsis, septik şok ve hasar bölgesinden uzaktaki organlarda işlev bozukluğu ile organ yetmezliklerinin gelişmesine neden olabilen ağır ve önemli bir tablodur. Tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere rağmen sepsis ve ilişkili klinik tablolar, yoğun bakım ünitelerinde izlenen en sık ölüm sebebidir (1). Patogenezinde sitokinlerden apoptoza kadar birçok faktörün rol aldığı öne sürülmüştür. Prognoz açısından ise en önemli nokta sepsis tablosunun erken tanınıp, etkin tedavinin hemen başlatılmasıdır (25).

Nöronal hücrelerin yaşaması için gerekli olan NGF, allerji, astım, immun hastalıklar dışında akut koroner sendrom, aterosklerozis, shistosoma mansoni, kardiyopulmoner bypass gibi inflamasyonun patogenezde yer aldığı veya eşlik ettiği durumlarda arttığı tespit edilen bir polipeptiddir (91, 92).

Sepsis patogenezinin sitokinlerden apoptoza kadar birçok faktörü içermesi ve NGF'nin sitokinler ve inflamasyon ile ilişkili olmasından yola çıkarak; çalışmamızda sepsis oluşturulan deneklerde serum NGF düzeylerindeki değişiklikleri saptamak ve bu değişikliklerin TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18 ile birlikteliğini saptamaya çalıştık. Aynı zamanda hem sepsis hemde NGF'nin apoptoz üzerindeki etkilerinden yola çıkılarak sepsis oluşturulan deneklerde anti-NGF uygulanarak ilişkileri saptanmaya çalışıldı.

Zervos ve ark'ı sistemik endotoksin uyguladıkları deneklerin IL-1 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin serum ve dokuda ELISA ve RT-PCR yöntemine göre artmış olduğunu saptamışlardır (93).

Ratlar üzerinde çekal bağlama delme (ÇBD) yöntemi ile sepsis oluşturulan bir çalışmada, kan ve karaciğer dokusunda TNF- $\alpha$  düzeyinin 0.5 ve 1.5. saatlerde arttığı ve tetrasiklin uygulanması ile TNF- $\alpha$  düzeyindeki artmanın inhibe olduğu gösterilmiştir (94).

E.coli enjeksiyonu ile ratlar üzerinde oluşturulan sepsis modelinde ketaminin sitokin düzeyleri üzerindeki etkileri ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. E. coli verildikten 6 saat sonra alınan kan örneklerinde IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin arttığı ve ketamin uygulanması ile sitokin düzeylerindeki artışın azaldığı gösterilmiştir. Çalışmada sitokin düzeylerinin yanında 7 günlük mortalitede değerlendirilmiş ve ketamin uygulanan deneklerde yaşam oranının %57 ile belirgin olarak arttığı görülmüştür (95).



ÇBD yöntemi ile deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda farklı dozlarda uygulanan kapsaisin, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-10 gibi sitokinler üzerine olan etkisi araştırılmıştır. ÇBD işleminden 9 veya 18 saat sonra sakrifiye edilen deneklerin ELISA yöntemi ile ölçülen TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-10 serum düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Sepsis grubunda TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin arttığı ve bu artışın düşük doz kapsaisin uygulanması ile anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Aynı zamanda düşük doz kapsaisinin IL-10 düzeyini belirgin olarak arttırdığı saptanmıştır (96).

Sistemik olarak LPS'nin verilmesi ile oluşturulan deneysel (rat) endotoksik şok tablosunda kolesistokin-8'in etkilerini araştıran çalışmada, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 $\beta$  düzeylerinin serum ve dokuda 2. saatte arttığı, kolesistokin-8 uygulanması ile bu artışın önlenildiği ELISA yöntemi ile gösterilmiştir (97).

Çalışmamızda serum TNF- $\alpha$  düzeylerinin sepsis oluşturulan gruplarda bazal değer ile karşılaştırıldığında tüm dönemlerde ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise 2. dönemde (2. saatte) arttığı saptandı. Serum TNF- $\alpha$  düzeylerinde 2. saatte saptanan artış erken dönemde anti-NGF uygulanan grupta 2, 12 ve 24. saatlere göre, sepsis ve geç dönemde anti-NGF uygulanan grupta ise 24. saate göre anlamlı bulundu. Serum TNF- $\alpha$  düzeyinde 2. saatte gelişen artma ve 2. saatten sonra gelişen azalma erken dönemde anti-NGF uygulanan grupta anlamlı olarak daha belirgindi. Bunun anti-NGF'nin etkisinin proinflamatuvar yönde olması ve etki süresinin kısa olmasından kaynaklandığı kanısındayız. Geç dönemde anti-NGF uygulanan deneklerde ise 2. saatteki serum TNF- $\alpha$  düzeyleri henüz anti-NGF uygulanmamış olduğundan sepsis grubunda ölçülen düzeylerde idi. Erken ve geç dönemde anti-NGF uygulanan deneklerin serum TNF- $\alpha$  düzeyleri 12. saatte karşılaştırıldığında ise geç dönem anti-NGF uygulanan grupta yakın zamanda uygulanan antikör nedeniyle yüksek olarak ölçüldüğü kanısındayız. Anti-NGF'nin geç dönemde uygulanması yaklaşık olarak 10. saate karşılık gelmekteydi ve normal sepsis seyrine göre serum TNF- $\alpha$  düzeyleri 2. saatte pik yaptı ve geç verildiği için 12. saatte ölçülen düzeyleri erken uygulanan gruptan daha yüksek bulundu.

Septik şok tanısı alan 38 hasta üzerinde yapılan klinik bir çalışmada, hastalar 28 gün boyunca takip edilerek yaşayan ve yaşamayanlardan alınan kan örneklerinde sitokin düzeyleri ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Hastalardan 1-2, 3-4, 5-7, 8-15. günlerde alınan kan örneklerinde TNF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$  değerlerinin prognostik bilgi sağlamadığı, tüm hastalarda serum IL-10 konsantrasyonunun arttığı, çok yüksek IL-

10 düzeylerinin yaşamayanlar grubunda görüldüğü sonucuna varılmıştır. Yine serum IL-10 düzeyinin artışı ile monosit HLA-DR ekspresyonunun azalmasının ilişkili olduğu ve IL-10'nun monosit HLA-DR'si ile korele olan tek sitokin olduğunu bildirmişlerdir (98).

ÇBD yöntemi ile deneysel sepsis modeli oluşturulan bir çalışmada, bcl-2 overekspresyonu sağlanmış transgenik, endotoksine dirençli, endotoksine duyarlı ve bax defisitli fareler, ÇBD işleminden 18-22 saat sonra sakrifiye edilerek sitokin düzeyleri değerlendirilmiştir. TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10'nun timus ve dalak doku konsantrasyonları ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sepsis gelişen farelerde timik TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-10 düzeylerinde artış tespit edilirken endotoksine duyarlı grupta, bcl-2 grubu ile kıyaslandığında TNF- $\alpha$  ve IL-10 konsantrasyonunda daha fazla artış olduğu görülmüştür (99).

Sistemik olarak LPS'in uygulanması ile oluşturulan sepsis modelinde, denekler (rat) LPS uygulanmasından 4-14 saat sonra sakrifiye edilerek kan sitokin düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Serum TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-10 düzeylerinin her iki dönemde de artmış olduğu saptanmıştır (100).

ÇBD yöntemi ile deneysel olarak sepsis oluşturulan fareler, ÇBD işleminden 4 ve 24 saat sonra dekapite edilerek lamina propria mononükleer hücrelerinin sitokin içerikleri incelenmiştir. IL-2, IL-10, IL-15'in mRNA ekspresyonlarındaki artış Multiprobe RNAase protection assay yöntemi ile sadece 24. saatte gösterilebilmiştir (101).

Künt travmalı 48 erişkin hasta üzerinde yapılan bir çalışmada; 16. ve 24. saat, 3., 5. ve 7. günlerde kan örnekleri alınarak serum IL-10 düzeyleri ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Travma ile birlikte sepsis gelişen hastalarda IL-10 düzeylerinin daha yüksek olduğu ve komplikasyon gelişmeyen hastalarla karşılaştırıldığında ise çalışma boyunca artışın devam ettiği görülmüştür. IL-10 düzeyinin yükselmesi ile HLA-DR'nin azalması arasında negatif bir ilişki de bulunmuştur (102).

Yoğun bakımda yatmakta olan sepsisli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, periferik kan mononükleer hücreler ile oluşturulan hücre kültürüne LPS uygulanmıştır. Kültür süpernatantında IL-10 düzeylerinin yaşamayanlarda arttığı tespit edilmiştir. Sepsisin başlangıcında IL-10 düzeyinin azalması ile birlikte mononükleer hücre yaşamının ve IL-12 düzeyinin artmasının prognostik faktör olabileceği sonucuna varılmıştır (103).

ÇBD yöntemi ile deneysel olarak sepsis oluşturulan bir çalışmada ratlarda kalp

hızının artışı ile sitokin düzeylerindeki değişiklikler değerlendirilmiştir. Üç gün boyunca gözlemlenen ratlardan yaşamayanlar ile yaşayanların sitokin düzeyleri kıyaslanmıştır. Yaşamayan grupta IL-6 ve IL-10 düzeyleri kalp hızı artışı ile paralel olarak artış göstermiştir. Fakat yaşayan grupta sitokin artışı kalp hızı arttırılmasına rağmen durmuştur. Serum IL-10 düzeyi ile kalp hızı arasındaki ilişkinin ileride sepsisin gidişatını belirlemede kullanılabileceği şeklinde yorumlanmıştır (104).

Çalışmamızda serum IL-10 düzeyleri sepsis modeli oluşturulan gruplardan Grup II ile IV'de 2. saatten başlamak üzere 2., 12. ve 24. saatlerde ve Grup III'te ise gecikmiş olarak 12. ve 24. saatlerde bazal değerlere göre artış gösterdi. Sepsis oluşturulan 3 grupta da serum IL-10 düzeylerindeki artışın 72. saatte azalarak bazal değerlere yaklaştığı gözlemlendi. Erken dönemde anti-NGF uygulanan grupta serum IL-10 düzeylerinin sepsis oluşturulan diğer gruplara göre daha geç ve daha az miktarda artması anti-NGF'nin proinflamatuvar etkisinin baskın olmasından kaynaklanmaktadır. Gruplar, kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde Grup II ve IV'te anlamlı artış bulunurken Grup III'te anti-NGF'nin etkisi ile anlamlı artış bulunamadı. Grup IV'te IL-10 düzeylerinde artma olmasının anti-NGF uygulama zamanının en güçlü antiinflamatuvar olan IL-10'un serumda pik yaptığı dönemlere rastlaması ve NGF'nin etkisinin inflamasyonun evresine göre değişiklik göstermesi yani antiinflamatuvar etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Ciddi sepsisli hasta üzerinde yapılan çok merkezli bir araştırmada alınan kan örneklerinde pro ve anti inflamatuvar etkili sitokin konsantrasyonları ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. TNF- $\alpha$  ile IL-10'un plazma düzeyleri ile APACHE ve MOD fizyolojik skorlarının ileri derecede korelasyon gösterdiği ve plazma IL-6 ve sTNFR1 konsantrasyonunun yaşamı gösteren prediktif değerler olduğu sonucuna varılmıştır. Proinflamatuvar sitokinlerin bazal değerleri ile APACHE II skorunda korele olduğu gösterilmiştir (105).

Sistemik olarak LPS uygulanması ile oluşturulan deneysel endotoksik şok tablosunda, LPS enjeksiyonundan 60 dakika sonra serum IL-10 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri ve 120 dakika sonra serum IL-1 $\beta$  ve IL-12P40 düzeylerinin arttığı saptanmıştır. TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin mRNA seviyelerinin ise kan mononükleer hücrelerinde 60. dakikada ve karaciğerde ise 120. dakikada arttığı tespit edilmiştir. IL-18'in mRNA'sı ise karaciğer ve kan mononükleer hücrelerinin her ikisinde de 120. dakikada arttığı saptanmıştır. Dalakta ise sitokinlerden sadece TNF- $\alpha$ 'nın mRNA seviyelerinde anlamlı artış saptanmıştır (106).

Oberholzer ve ark'ı multipl travmalı ve septik insanlardan aldıkları kan örneklerinde bazal IL-18 düzeyini saptadıktan sonra LPS veya *S. aureus* Cowen stain (SAC) ile işleme tabi tutmuşlar. SAC inkübasyonundan sonra, özellikle travmalı hastalarda IL-18 düzeylerindeki artışın daha belirgin olduğu görülmüştür. SAC'ın aksine LPS uygulanmasının IL-18 salınımlarında etkisiz olduğu görülmüştür. Kaspaz inhibitörleri olan Z-VAD ve Z-DEVD, SAC ile indüklenen IL-18 sekresyonunu sağlıklı ve travmalı hastalarda azaltırken sepsisli hastalarda etkisiz bulunmuştur. Çalışmada IL-18'in sepsiste kaspaz dışında bir yolak kullandığı sonucuna varılmıştır (107).

Ono ve ark'ı, ÇBD yöntemi ile peritonit oluşturdukları farelerden 12. saat, 1., 3., 5. ve 7. günlerde alınan kan örneklerinde TNF- $\alpha$ , 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. günde de yükselme olduğu saptanmıştır. Sitokinlerin ÇBD'nin 7. gününde ise bazal değerlere döndükleri görülmüştür. TNF- $\alpha$ 'da ise anlamlı değişiklik saptanmamıştır. ÇBD işleminden 7 gün sonra subletal dozlarda LPS uygulanan farelerin serum IL-12, IL-18, 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 ikisinin birlikte uygulanmasının sağ kalım oranlarını arttırdığı saptanmıştır (108).

Çalışmamızda serum IL-18 düzeylerinin sepsis grubunda 2. saatte bazal ve 72. saatteki değerlere göre ve erken dönemde anti-NGF uygulanan grupta 2. saatte, bazal, 24. ve 72. saatteki değerlere göre anlamlı olarak arttığı saptandı. Geç dönemde anti-NGF uygulanan grupta ise 2 ve 12. saatte bazal değere göre anlamlı olarak arttığı saptandı. Serum IL-18 düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi. Bu çalışmalarla uyumlu olarak serum TNF- $\alpha$  ve IL-10 düzeylerinde artış saptarken serum IL-18 düzeyleri sepsis oluşturulan gruplarda bazal değere göre artmış olsa da kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik saptanmadı. Bunun nedeni farklı denek gruplarında farklı yöntemlerle sepsis oluşturulması ve farklı yöntemlerle değerlendirilmesinden kaynaklanabilir.

Postoperatif dönemde sepsis gelişen 66 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada sepsisin erken ve geç dönemlerinde serum IL-12 ve IL-18 düzeylerinin ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada sepsisli hastaların IL-12 düzeylerinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu ve yaşayan ile yaşamayan hastalar arasında anlamlı bir farklılık

olmadığı saptanmıştır. IL-12'nin aksine IL-18 düzeyleri septik hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. IL-18 düzeyleri açısından, letal sepsisli hastalar yaşayan sepsisli hastalarla karşılaştırıldığında sepsis tanısından bir gün sonra dahil olmak üzere çalışma süresi boyunca artış göstermiştir. Yaşayan ve yaşamayan sepsisli hastalarda kıyaslanabilecek kadar IL-18 seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır. Yüksek IL-18 düzeyleri postoperatif sepsisin erken ve geç fazları boyunca mortalite ile ileri derecede korele olduğu ve erken prediktif gösterge olabileceği sonucuna varılmıştır (109).

Kabir ve ark'ı sepsis tanısı alan 10 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında ilk 3 gün 12 saat arayla, 3-10. günlerde ise 24 saat arayla alınan kan ve idrar örneklerinde TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18 düzeylerini değerlendirmişlerdir. Diğer sitokinlerin düzeyinde değişiklik saptanmazken IL-18 düzeyinin septik hastalarda arttığı ve sepsis kriterlerine aday kriter olabileceği belirtilmiştir. Bu çalışma ile uyumsuz olarak TNF- $\alpha$  ve IL-10 düzeylerinde anlamlı artış ve IL-18 düzeyinde ise anlamlı olmayan değişiklikler saptadık. Farklı sonuç elde edilmesinin nedeni farklı denekler üzerinde çalışılması ve parametrelere bakılma zamanlamasının farklı olmasından kaynaklanabilir (110).

Sepsis tanısı alan 9 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada serum IL-18 düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olduğu ve bu artışın diğer sitokinlerin serum düzeyleri ile ilişkisiz olduğu gösterilmiştir. Beş sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada E. coli LPS'i intravenöz uygulandıktan 3, 12 ve 24 saat sonra alınan kan örneklerinde serum IL-18 düzeylerindeki artışın yetersiz olduğu görülmüştür (55). Bizim çalışmamızda da serum IL-18 düzeylerinde bazal değere göre artış olmasına rağmen kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik saptanmadı.

Peritonit nedeniyle laparotomi uygulanan 28 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada alınan peritoneal sıvıda IL-18 ve IL-10 çalışılmıştır. Peritoneal sıvıdaki IL-18 konsantrasyonunun SIRS gelişenlerde, kültür sonucu pozitif olanlarda ve organ yetmezliği gelişenlerde diğerlerine göre belirgin olarak arttığı görülmüştür. Peritoneal sıvıdaki IL-10 konsantrasyonunun kültür sonucu pozitif olanlarda arttığı ve IL-18 ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. IFN- $\gamma$ /IL-18 oranının APACHE II skoru 10 ve üzeri olan ve kültürü sonucu pozitif gelen hastalarda diğer hastalarla kıyaslandığında belirgin olarak düşük olduğu bulunmuştur (111).

Hattori ve ark'ı ilk çalışmalarında Swiss albino farelerden elde edilen fibroblast

kültüründe TNF'ün NGF üretimini TNFR1 üzerinden stimüle ettiğini kanıtlamışlardır. Ardından TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IFN- $\gamma$ 'nın Swiss albino fare fibroblast kültüründe NGF üretimi üzerindeki etkilerini two-site enzim immunoassay yöntemi ile araştırdıkları çalışmalarında TNF- $\alpha$ 'nın NGF üretimini arttırdığını ve bu etkisinin IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IFN- $\gamma$  ile sinerjik iken TGF- $\beta$  ile antagonize olduğunu tespit etmişlerdir (112, 113).

Blasing ve ark'ı fareler üzerinde yaptıkları çalışmalarında intradermal olarak TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IFN- $\gamma$ 'nın tek başına ve kombine kullandıktan sonra derideki nörotropin ve reseptörlerinin aktivitesini immunohistokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Nörotropinlerden NGF, NT-3 ve NT-4'ün, reseptörlerden ise p75NTR'nin ekspresyonlarının arttığını saptamışlardır (114).

Miller ve ark'ı kronik prostatit veya kronik pelvik ağrı sendromu olan hastalar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında seminal sıvıda IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-10 ve NGF düzeylerini ELISA yöntemi ile çalışmışlardır. NGF düzeyindeki artışın IL-10 düzeyi ile korele olduğunu göstermişlerdir (115).

Brodie, fare astrosit kültürü üzerinde yapmış olduğu invitro çalışmasında Th-1'den derive olan sitokin IL-2 ve IFN- $\gamma$  ve Th-2'den derive olan sitokin IL-10'nun NGF sekresyonu üzerine olan etkilerini incelemiştir. IL-10'nun NGF sekresyonunu doz bağımlı olarak arttırdığı ve anti-IL-10 uygulandığında ise NGF sekresyonunun bloke olduğu görülmüştür. IL-10'nun aksine IL-2 ve IFN- $\gamma$ 'nın NGF sekresyonunu uyarmadığı saptanmıştır. Aynı zamanda IFN- $\gamma$ 'nın IL-10 tarafından indüklenen NGF sekresyonunu tamamen inhibe ettiği saptanmıştır. Fakat IFN- $\gamma$ 'nın TNF- $\alpha$  tarafından indüklenen NGF sekresyonu üzerinde etkisiz olduğu bulunmuştur (116).

İntestinal epitel hücreleri üzerinde in vitro olarak yapılan bir çalışmada, NGF'nin IL-10 üretimini, IL-10'un ise NGF üretimini arttırdığı ve diğer sitokinlerin etkisiz olduğu görülmüştür (117).

Sağlıklı erkek donörlerden hazırlanan monosit kültürlerine LPS ekilerek inflamasyon oluşturulan bir çalışmada, NGF ve reseptörü olan TrkA'nın ekspresyonunun arttığı immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada LPS uygulaması ile NGF ve reseptör ekspresyonunun doz bağımlı olarak arttığı ve NGF'e karşı antikör kullanılması ile TrkA reseptör ekspresyonunda azalma olduğu saptanmıştır (87).

Turpentin ile sistit oluşturulan bir çalışmada ise NGF, BDNF ve NT-3 mRNA ekspresyonlarının ilk 2 saatte arttığı ve en fazla ve en belirgin artışın BDNF

mRNA'sında olduğu gözlenmiştir. Turpentinle oluşturulan bu inflamasyonun Trk A IgG antikoru ile antagonize edilebildiği gösterilmiştir (118).

Deneysel olarak kornea epitelinde defekt oluşturulan köpeklerde kornea epiteli ve lakrimal bezde NGF içeriğinin arttığı immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir (119).

Deneysel astım modeli oluşturulan bir çalışmada ise NGF'nin rolü, anti-NGF uygulanarak araştırılmıştır. Ova-albuminin intratrakeal verilmesi ile oluşturulan astım modelinde anti-NGF uygulamasının erken allerjik yanıtı azaltırken geç allerjik yanıt üzerinde etkisiz olduğu gösterilmiştir (120).

Yavru ve yetişkin ratlarda Respiratuar Sinsityal virus (RSV) enfeksiyonu ile NGF'nin ilişkisinin çalışıldığı in vivo bir çalışmada; NGF'nin etkisinin yaşla azaldığı ve NGF ve reseptörleri Trk A ve p75 düzeylerinin RSV ile infekte ratlarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada NGF'nin ekzojen olarak uygulanmasıyla nörojenik inflamasyonun göstergesi olan nörokinin-1 (NK-1) reseptör ekspresyonunun akciğerlerde arttığı saptanmıştır. Anti-NGF antikoru ile pretedavinin ise NK-1 reseptör ekspresyonunu azalttığı ve böylece nörojenik inflamasyonu hafifletebileceği düşünülmüştür (121).

Çalışmamızda oluşturduğumuz deneysel sepsis modelinde, inflamasyon oluşturulan diğer çalışmalarla uyumlu olarak serum NGF düzeyinde artış saptadık. Bu NGF'nin inflamatuvar olaylarda rol aldığı hipotezimizi desteklemektedir. Fakat tartıştığımız bu makalelerde NGF'nin inflamasyonda arttığı, aynı zamanda anti-NGF uygulanması ile inflamasyonun azaldığından bahsedilmektedir. Çalışmamızda erken dönemde uygulanan anti-NGF'nin inflamasyonu arttığını ve proinflamatuvar etkili olduğunu saptadık. Deneysel olarak ratlar üzerinde sepsis oluşturulan bir çalışma olmaması, inflamasyon oluşturulan diğer çalışmalarda da uygulanan anti-NGF'nin formu, dozu ve uygulama şeklinin farklı olması, çalışmamızın diğer çalışmalarla uyumsuz olmasını açıklayabilir.

*Trichinella spiralis* inoküle edilerek oluşturulan inflamasyon modelinde NGF'e karşı antikor uygulanmasının ratlarda oluşan kontraksiyonları önlediği, fakat inflamasyonu engellemediği gösterilmiştir (122).

Trinitrobenzen sülfonik asit ile kolit oluşturulup 4 hafta sonra hasarın değerlendirildiği bir çalışmada ise anti-NGF ve anti-NT-3 ile pretedavinin deneysel inflamasyon ciddiyetini 2-3 kat arttırması NGF'nin inflamatuvar rolden çok antiinflamatuvar etkili olduğunu düşündürmektedir. Akut ve kronik deneysel kolit

modellerinde Substance P ve CGRP gibi nöropeptidlerin koruyucu olup NGF tarafından regüle edildiği ve nörotropinlerin deneysel olarak ve selektif bloke edildiğinde inflamasyonun belirgin olarak arttığı farklı bir çalışmada da gösterilmiştir (123).

Latent Herpes simpleks virüsü (HSV-1) enfeksiyonu olan tavşanlarda anti-NGF antikoru uygulamasının, oküler HSV-1'i reaktive ettiği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise neonatal farelere reovirus tip 3 klon 9'un peroral uygulanarak oluşturulan inflamasyonda anti IL-3 ve anti-NGF uygulamasının neonatal fare yaşamını arttırdığı gösterilmiştir (124).

Çalışmamızda anti-NGF uygulanmasının proinflamatuvar sitokin düzeyinde sepsis grubundan daha fazla artış yapması ve yine sepsis grubuna göre antiinflamatuvar sitokinleri daha az arttırmamasından yola çıkarak inflamasyonu arttırdığı sonucuna varabiliriz. Serum NGF düzeyinin artışı sitokinlerin artış dönemleri ile kıyaslandığında pro ve antiinflamatuvar etkili sitokinlerden sonra artması ve iyileşme dönemine karşılık gelmekte olması yine antiinflamatuvar etkili olduğunu düşündürmektedir.

NGF ve ilişkili moleküllerle ilgili olarak 2002 yılında yapılan toplantıda, NGF'nin immun cevabı zayıflattığı yani immunosupresan olarak etki etme kapasitesine sahip olduğu belirtilmiştir. NGF ve Trk A'nın primer olarak baskılama yoluyla immun sistem üzerinde derin etkilerinin olabileceği sonucuna varılmış ve nörotropinlerin immunotropin rolleri üzerine olan ilgiyi arttırmıştır. Araştırmacılar NGF'nin inflamatuvar mediatörleri salan ve onlar tarafından salınan potent ve derleyici nöroimmunomodülatör olduğunu ve NGF'nin proinflamatuvar veya antiinflamatuvar rolünün inflamasyonun tipi ve evresine göre değiştiği görüşünü savunmaktadır (125).

Hotchkiss ve ark'ı sepsis veya MODS tanısı alan 20 hasta üzerinde yapmış oldukları postmortem çalışmada, organları apoptoz açısından değerlendirmişlerdir. H/E ile boyama, TUNEL, DNA agaroz jel elektroforez ve Bcl ile immunohistokimyasal boyama ile apoptoz değerlendirilmiştir. Septik hastalarda lenfosit ve intestinal epitel hücresinde en belirgin olmak üzere tüm organlarda apoptoz tespit edilmiştir. H/E ile boyanmada septik hastalarda en fazla dalakta olmak üzere kolon ve ileumda da fokal apoptoz saptanmıştır. Dalak beyaz pulpasındaki lenfosit azalması ve belirgin lenfositopenide lenfosit apoptozu olarak yorumlanmıştır. TUNEL yönteminde ise doku fiksasyonunun uzamasıyla birlikte



pozitif hücrelerin arttığı fakat septik ve nonseptik hastaların her ikisinde de apopitozun arttığı görülmüştür. Aktive kaspaz-3 ile immunohistokimyasal boyamada ise sadece septik hastalarda apopitozda belirgin artış gözlenmiştir. Bcl-2 ile immunohistokimyasal boyamada ise iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonucunda sepsisteki aşırı lenfosit apopitozundan kaspaz-3 aracılı apopitozun sorumlu olduğu kanaatine varılmıştır (33).

Ayala ve ark'ı ÇBD yöntemi ile deneysel olarak bakteremi, sepsis ve şok oluşturdukları çalışmalarında apopitozun timusta 4. saatte tespit edilmeye başlanıp 24. saatte ise belirgin arttığını gözlemlemişlerdir. Polimikrobial sepsiste Payer plakları gibi barsak ilişkili lenfoid dokularda da apopitozda artış olduğu saptanmıştır. Non-immun hücrelerde ise apopitozun intestinal epitel hücreleri dışında kontrol grubu ile farklılık göstermediği saptanmıştır (126).

Efron ve ark'ı maymunlar üzerinde E. coli enjekte ederek bakteremik şok oluşturdukları çalışmalarında lenfoid dokuları apopitoz açısından incelemişlerdir. Dalak, bilateral popliteal, inguinal, mezenterik, torasik lenf nodları disseke edilerek H/E ve immunohistokimyasal olarak kaspaz 3, 9, Fas L ve AİF ile boyanarak apopitoz değerlendirilmiştir. H/E ile boyamada septik deneklerde dalak ve lenf nodlarında lenfosit apoptozisi tespit edilirken kontrol grubunda değişiklik saptanmamıştır. Apopitoz dalağın hem beyaz hem de kırmızı pulpasında mevcut olup genel durumunun kötüleşmesi üzerine ötenazi uygulanan denekte daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak ise aktive kaspaz-3 ile septik deneklerin lenfosit immunoreaktivitesinin arttığı saptanmıştır. Apopitozla ilişkili olarak aktive kaspaz-3 ile boyanma septik hastalarda özellikle de ötenazi uygulanan denekte artmıştır. Dalak beyaz pulpasında apopitoz kırmızı pulpadan daha fazla gözlenmiştir. Kontrol grubunda da azda olsa görülen apopitoz bazal hücre ölümü olarak değerlendirilmiştir. Kaspaz 9, AİF, Fas L ile boyamada ise septik deneklerde lenfositten zengin bölgelerde apopitozun arttığı gözlenmiştir (127).

Coopersmith ve ark'nın fareler üzerinde *Pseudomonas aeruginosa* pnömonisine bağlı sepsis modeli oluşturdukları çalışmalarında intestinal proliferasyon ve barsak epitel hücrelerinin siklus fazları değerlendirilmiştir. Sepsis grubunda S fazı kontrol grubuna göre düşük olarak bulunurken M fazı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. S/M oranının ise 24. saatte belirgin olmak üzere 12 ve 24. saatte azaldığı tespit edilmiştir. Aktive kaspaz-3 aktivitesi ise 4. saatte artmaya başlayıp 12.

saatte pik yaptığı ve 24. saatte ise azaldığı tespit edilmiştir. H/E ile boyamada ise apopitozun 24. saatte arttığı tespit edilmiştir. Bcl-2 transgenik farelerde ise S fazı sepsise göre daha fazla, M fazı daha düşük ve S/M oranı ise düşük bulunmuştur. Bcl-2 transgenik farelerde intestinal apopitozun sepsise göre azaldığı tespit edilmiştir. Farelerde P53 geninin apopitoz açısından anlamlı farklılığa neden olmadığı görülmüştür (128).

Normal ve bcl-2 overekspresyonu sağlanan transgenik fareler üzerinde E. coli LPS'i uygulanarak akut akciğer hasarı oluşturulan bir çalışmada, farelerin incebarsakları H/E ve aktive kaspaz-3 ile değerlendirilmiştir. Akut akciğer hasarı oluşturulan normal fare grubunda apopitozun kontrol grubuna göre arttığı ve Bcl-2 overekspresyonu sağlanan transgenik farelerde ise normal fare grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile bcl-2'nin apopitozu inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (129).

ÇBD yöntemi ile sepsis oluşturulan normal ve bcl-2 overekspresyonu sağlanan transgenik fareler üzerinde yapılan bir çalışmada barsak dokularında apopitoz H/E, TUNEL ve aktive kaspaz-3 yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Bu 3 yöntemde de sepsis oluşturulan normal farelerde apopitoz artarken sepsis oluşturulan bcl-2 transgenik farelerde ise apopitoz oluşumunun önlendiği gösterilmiştir (130).

ÇBD yöntemi ile sepsis oluşturulan bcl-2 overekspresyonu sağlanmış transgenik, endotoksine dirençli, endotoksine duyarlı ve bax defisitli fareler üzerinde yapılan çalışmada apopitoz TUNEL, H/E, DNA agaroz jel elektroforez ve flow sitometri ile değerlendirilmiştir. TUNEL yöntemine göre timik apopitozun sepsis oluşturulan diğer gruplarda bcl-2 grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Dalakta ise boyanma timustan daha az olmak üzere yine septik bcl-2 grubunda diğer septik gruplara göre daha az olduğu saptanmıştır. H/E ile boyamada sepsis oluşturulan ve oluşturulmayan bcl-2 grubunda timus ve dalakta apopitotik hücre sayısı %1'in altında bulunurken, sepsis oluşturulan diğer gruplardaki deneklerin timusunda %25 ile aşırı apopitoz meydana geldiği bulunmuştur. Sadece apopitozun görüldüğü alanlarda farklılık olduğu görülmüştür. DNA agaroz jel elektroforezde bcl-2 grubu dışındaki gruplarda ladder formasyonunun arttığı ve flow sitometrik incelemede bcl-2 grubu dışındaki gruplarda apopitozun arttığı saptanmıştır (97).

ÇBD yöntemi ile ratlar üzerinde sepsis oluşturulan bir çalışmada, heat shock protein (HSP) uygulanmasının apopitoz üzerindeki etkileri lenfositler, dalak, payer plakları, akciğer, böbrek ve karaciğer dokusunda çalışılmıştır. Ladder

formasyonunun geç sepsiste ve timusta en belirgin olmakla birlikte böbrek, akciğer, dalak ve payer plaklarında arttığı tespit edilmiştir. HSP ile tedavi edilen grupta ladder formasyonu daha az saptanmıştır. Bcl-2 ekspresyonu ise gruplar arasında farklılık göstermezken bax ekspresyonunun HSP uygulanan grupta azaldığı tespit edilmiştir. Bcl-2/bax oranı HSP uygulanan grupta anlamlı olarak artmıştır. TUNEL yönteminde apopitozun sepsis grubunda kortekste daha belirgin olmak üzere arttığı ve HSP uygulanması ile apopitozun önlediği gösterilmiştir (131).

Başka bir çalışmada ise ÇBD yöntemi ile sepsis oluşturulan farelere bcl-2 ve kaspaz inhibitörleri Z-VAD ve Z-FA-FMK uygulanarak timus ve dalak dokularında apopitoz, flow sitometrik olarak değerlendirilmiştir. Sepsis grubunda timik T ve splenik T ve B hücrelerinde apopitozun arttığı gözlenmiştir. Bcl-2 grubunda ise timositlerde kontrol grubuna göre apopitozun arttığı fakat splenositlerde ise fark olmadığı saptanmıştır. Bcl-2'nin lenfosit apopitozuna karşı koruyucu olduğu görülmüştür. Z-VAD'ın ise timus ve dalakta, sepsisin indüklediği apopitozu doz bağımlı olarak önlediği gösterilmiştir (132).

LPS ile deneysel olarak sepsis oluşturulan ratlarda, intestinal apopitoz üzerinde poly ADP ribose sentetaz inhibitörü 3 AB'nin rolünü araştıran bir çalışmada, H/E ve M-30 ile immunohistokimyasal boyamada sepsis grubunda apopitozun arttığı ve 3-AB'nin uygulanması ile de azaldığı tespit edilmiştir. Tüm endotoksemik ratlarda bcl-2 boyanmasının kontrol grubuna göre daha az olduğu saptanmıştır (89).

LPS ile deneysel olarak sepsis modeli oluşturulan ratların kalp dokularında TUNEL, DNA fragmentasyon assay ve sitokrom c salınımı yöntemleri ile apopitozun değerlendirildiği bir çalışmada, sepsiste apopitozun arttığı ve bu artışın Z-VAD ile önlenildiği gösterilmiştir (100).

ÇBD yöntemi ile deneysel olarak sepsis modeli oluşturulan farelerin lamina propria mononükleer hücrelerinin apopitoz açısından TUNEL ve flow sitometri yöntemleri ile incelendiği araştırmada, apopitozun arttığı saptanmıştır (101).

Çalışmamızda sepsis oluşturduğumuz gruplarda H/E boyaması ile yaptığımız değerlendirmede en belirgin barsak dokusunda olmak üzere karaciğer ve akciğer dokusunda apopitozun arttığı ve bu artışın en belirgin olarak erken dönemde anti-NGF uygulanan grupta olduğunu saptadık. Sepsis gelişen deneklerde anti-apopitotik bcl-2 boyanmasının kontrole göre daha az olduğunu ve apopitotik bax boyanmasının ise daha fazla olduğu saptandı. Sepsis oluşturulan gruplardan ise erken anti-NGF uygulanan grupta bax boyanmasının yani apopitozun daha fazla olduğu saptandı.

Orta serebral arter oklüzyonu yapılan normal ve NGF transgenik farelerde oklüzyonun neden olduğu infarkt hacmi ve dokunun antioksidan enzim aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, transgenik farelerde daha fazla olmak üzere iskemik hasar sonrası kortikal alanlarda NGF proteinin arttığı gözlenmiştir. Transgenik farelerde infarkt volümü ve apoptotik hücre yoğunluğu daha az bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda NGF'nin antioksidan ve antiapoptotik özelliğe sahip olduğu kanısına varılmıştır (133).

Dokuz gönüllü üzerinde UV radyasyon ile deride eritem oluşturulduktan sonra alınan biyopsileri anti-NGF ve anti-bcl-2 boyası ile immunohistokimyasal olarak boyanan çalışmada, anti-bcl-2 boyanmasının UV radyasyon uygulanan ve uygulanmayan deneklerde farklılık göstermediği saptanmıştır. Anti-NGF boyanmasında ise NGF pozitif melanosit ve keratinositlerin UV radyasyon uygulanan deneklerde azaldığı saptanmıştır (134).

NGF'nin rat peritoneal mast hücre kültüründe yaşlanma ile oluşan apoptoz üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, NGF'nin oluşan apoptozu doz bağımlı olarak önlediği ve NGF'e karşı antikor uygulanması ile de apoptoz önleyici etkisinin tamamen bloke olduğu saptanmıştır (135).

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturduğumuz sepsis modelinde erken dönemde anti-NGF uygulamasının serum TNF- $\alpha$  ve IL-18 düzeyinde daha fazla artma ve serum IL-10 düzeyinde daha az artma olması nedeniyle anti-NGF'nin inflamasyonu artırıcı etkili olduğu kanaatine varıldı. Sonuç olarak, NGF'nin inflamasyonu sınırlayan yani antiinflamatuvar etkili bir polipeptid olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda erken dönemde anti-NGF uygulanmasının apoptozu daha belirgin olarak arttırdığı saptanmıştır. Çalışmamızda NGF vererek inflamatuvar yanıt ve apoptozu değerlendiremediğimizden; bu sonuçların ışığında NGF'nin inflamasyonu sınırlamasının yanında apoptozu da azaltabileceği kanaatine varılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Tulunay M. Sepsis ve ilişkili durumların tanımlamaları. Yoğun Bakım Derneği Dergisi 2005;1:117-126
- 2- Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. N ENGL J MED 2003;348:138-150
- 3- Bone RC, Balk RA, Cerra FB. American College of Chest Physicians Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992;20:864-874
- 4- Matot I, Sprung CL. Definition of sepsis. Intensive Care Med 2001;27:3-9
- 5- Goris RJA. MODS/SIRS: result of an overwhelming inflammatory response? World J Surg 1996;20:418-421
- 6- 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
- 7- Marino PL. Infection, inflammation and multiorgan failure. The ICU Book 1998, second edi, Williams and Wilkins, Bealtimore 502-515
- 8- Balk RA. Sepsis and septic shock: definitions, epidemiology and clinical manifestations. Crit Care Clin 2000;16:179-192
- 9- Bone RC. Gram negative sepsis: Background, clinical features and intervention. Chest 1991;10:802-808
- 10- Angus DC, Linde-Zwirb WT, Lidicker J, Clemont 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
- 11- Balk RA, Ely EW, Goyette RE. Sepsis handbook. NISE 2001. Nationale initiative in sepsis education.
- 12- Aygün G. Sepsis ve septik şok. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum dizisi 2002;31:131-140
- 13- Beşirbellioğlu AB. Nozokomiyal bakteriyemi ve sepsis. Haznederoğlu T, Özgüven V, Pekcan M. Hastane infeksiyonları, 1. Baskı, Ankara, GATA, 2003:130-144
- 14- Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ, Larson JP. Klinik Anesteziyoloji. Tulunay M, Cuhruk H. 3. Baskı, Ankara, Güneş, 2004:979-994
- 15- Dellinger RP. Inflammation and coagulation: implications for the septic patient. CID 2003;36:1259-1265
- 16- Güner İ, Özmen D, Bayındır O. Sitokinler. T Klin Tıp Bilimleri 1997;17:65-74

- 17- Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. Medical Immunology. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. USA, McGraw-Hill, 2001:148-166
- 18- Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines: current status. Br J Anaesth. 1996;77:110-117
- 19- Özcan C, Hasanoğlu A, Gülcüler M. Sepsis ve inflamasyon mediatörleri. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1996;3:374-381
- 20- Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J. Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. Med Sci Monit 2005;11:RA76-85
- 21- Ramazanoğlu A. İnflamatuvar mekanizma-SIRS. Türk Anest Rean Der Dergisi 2003;31:39-43
- 22- Tuğrul S, Çakar N. Sepsiste hemofiltrasyon. Yoğun Bakım Derneği Dergisi 2005;1:153-158
- 23- Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1997;112:235-243
- 24- Cavaillon JM, Adib-Conguy M, Fitting C, Adrie C, Payeu D. Cytokine cascade in sepsis. Scand J Infect Dis 2003;35:535-544
- 25- Cinel İ. Sepsiste patojenik mekanizmalar. Yoğun Bakım Derneği Dergisi 2005;1:127-139
- 26- Tomatır AG. Apoptoz: programlı hücre ölümü. T Klin Tıp Bilimleri 2003;23:499-508
- 27- Öztürk F. Apopitoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002;9:143-148
- 28- Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin önemi. Toraks Dergisi 2001;2:91-95
- 29- Hekim N. Apoptosis. Kalıtsal Hastalıklara Moleküler Tıp Açısından Bakış Sempozyumu 2003:115-140
- 30- Ayashioğlu E. Apopitoz. T Klin Tıp Bilimleri 2001;21:57-62
- 31- Baykal Y, Özet G, Kocabalkan F. Apoptozis ve immün sistem. T Klin Tıp Bilimleri 1998;18:11-14
- 32- Sunguroğlu A, Atabenli-Erdemli E, Tekelioğlu M. Programlanmış Hücre Ölümü: Apopitozis. T Klin Tıp Bilimleri 1996;16:333-337
- 33- Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock and multiple organ dysfunction. Crit Care Med 1999;27:1230-1251
- 34- Roth G, Moser B, Krenn C, Brunner M, Haisjackl M, Almer G, et al. Susceptibility to programmed cell death in T-lymphocytes from septic patients:a mechanism for lymphopenia and Th2 predominance. Biochem Biophys Res Commun 2003;308:840-846
- 35- Irwin RS, Rippe JM. Yoğun Bakım El Kitabı 2002, 3. baskı Nobel, İstanbul
- 36- Angus DC, Burgner D, Wunderink R, Mira JP, Gerlach H, Wiedermann CJ, Vincent JL. The PIRO concept: p is predisposition. Crit Care 2003;7:248-251

- 37- Deby-Dupont G, Pierre Paul D, Maurice L. New evaluation therapies for sepsis. *Curr Opin Anaesthesiol* 1999;12:121-127
- 38- Esen F. Septik şokta hemodinamik tedavi. *Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2005;1:140-143
- 39- Demirkıran O. Sepsiste klinik sonucu olumlu etkileyen tedaviler. *Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2005;1:144-152
- 40- Garrido AG, Figueiredo LF, Silva MR. Experimental models of sepsis and septic shock: an overview. *Acta Cir Bras* 2004;19:82-88
- 41- Bostanoğlu A, Bostanoğlu 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
- 42- Dinarello CA. Proinflammatory Cytokines. *Chest* 2000;118:503-508
- 43- Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:185-91.
- 44- Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M. İnterlökinler. *T Klin Tıp Bilimleri* 1998;18:77-84
- 45- Bayley JP, Ottenhoff THM, Verweij CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms. *Genes Immun* 2004;5:315-329
- 46- Raza A. Anti-TNF therapies in rheumatoid arthritis, Crohn's disease, sepsis, and myelodysplastic syndromes. *Microsc Res Tech* 2000;50:229-235
- 47- Dahmer MK, Randolph A, Vitali S, Quasney MW. Genetic polymorphisms in sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 2005;6:S61-73.
- 48- Scumpia PO, Moldawer LL. Biology of interleukin-10 and its regulatory roles in sepsis syndromes. *Crit Care Med* 2005;33:S468-S471
- 49- Steinke JW, Borish L. 3. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:S441-S445.
- 50- Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Interleukin-10: A complex role in the pathogenesis of sepsis syndromes and its potential as an anti-inflammatory drug. *Crit Care Med* 2002;30:S58-S63
- 51- Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine and Growth Factor Rev* 2001;12:53-72
- 52- Reddy P. Interleukin-18: recent advances. *Curr Opin Hematol.* 2004;11:405-410
- 53- Tschöcke SK, Oberholzer A, Moldawer LL. Interleukin-18: A novel prognostic cytokine in bacteria-induced sepsis. *Crit Care Med* 2006;34:1225-1233
- 54- Dinarello CA, Fantuzzi G. Interleukin-18 and host defense against infection. *JID* 2003;187:S370-S384
- 55- Grobmyer SR, Lin E, Lowry SF, Rivadeneira DE, Potter S, Barie PS, Nathan CF, Elevation of IL-18 in human sepsis. *J Clin Immunol* 2000;20:212-215

- 56- Vega JA, Garcia-Suarez O, Hannestad J, Perez- Perez M, Germana A. Neurotrophins and the immune system. *J Anat* 2003;203:1-19
- 57- Shooter EM. Early days of the nerve growth factor proteins. *Annu. Rev. Neurosci.* 2001; 24:601-629.
- 58- Frossard N, Freund V, Advenier C. Nerve growth factor and its receptors in asthma and inflammation. *Eur J Pharmacol* 2004;500:453-465
- 59- Rankin SL, Guy CS, Mearow KM. TrkA NGF receptor plays a role in the in the modulation of p75NTR expression. *Neurosci Lett.* 2005;383:305-10.
- 60- Sofroniew MV, Howe CL, Mobley WC. Nerve growth factors signalling, neuroprotection and neural repair. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:1217-1281
- 61- Castellanos MR, Aguiar J, Fernandez CI, Almaguer W, Mejias C, Varela A. Evaluation of the neurorestorative effects of the murine beta-nerve growth factor infusions in old rat with cognitive deficit. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;312:867-72
- 62- Brancucci A, Kuczewski N, Covaceuszach S, Cattaneo A, Domenici L. Nerve growth factor favours long-term depression over long-term potentiation in layer II-III neurones of rat visual cortex. *J Physiol* 2004;559:497-506
- 63- Salehi A, Delcroix JD, Swaab DF. Alzheimer's disease and NGF signaling. *J Neural Transm* 2004;111:323-45.
- 64- Jakubowska-Doğru E, Gümüşbaş U. Chronic intracerebroventricular NGF administration improves working memory in young adult memory deficient rats. *Neurosci Lett.* 2005;382:45-50.
- 65- Ueda M, Hirose M, Takei N, Ibuki T, Naruse Y, Amaya F, et al. Nerve growth factor induces systemic hyperalgesia after thoracic burn injury in the rat. *Neurosci Lett.* 2002;328:97-100
- 66- Ro LS, Chen ST, Tang LM, Jacobs JM. Effect of NGF and anti-NGF on neuropathic pain in rats following chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Pain* 1999;79:265-274
- 67- Ehrhard PB, Erb P, Graumann U, Otten U. Expression of nerve growth factor and nerve growth factor receptor tyrosine kinase Trk in activated CD4-positive T-cell clones. *Immunology* 1993;90:10984-10988
- 68- Laurenzi MA, Barbany G, Timmusk T, Lindgren JA, Persson H. Expression of mRNA encoding neurotrophins and neurotrophin receptors in rat thymus, spleen tissue and immunocompetent cells. *Eur J Biochem* 1994; 223:733-741
- 69- Aloe L, Simone MD, Properzi F. Nerve growth factor: a neurotrophin with activity on cells of the immune system. *Microsc. Res. Tech.* 1999;45:285-291
- 70- Simone MD, Santis SD, Vigneti E, Papa G, Amadori S, Aloe L. Nerve growth factor: a survey of activity on immune and hematopoietic cells. *Hematol. Oncol.* 1999;17:1-10
- 71- Rost B, Hanf G, Ohnemus U, Otto-Knapp R, Groneberg DA, Kunkel G, Noga O.



- Monocytes of allergics and non- allergics produce, store and release the neurotrophins NGF, BDNF and NT-3. *Regulatory Peptides* 2005;124:19-25
- 72- Tal M, Liberman R. Local injection of Nerve Growth Factor triggers degranulation of mast cells in rat paw. *Neurosci Lett.* 1997;221:129-132
- 73- Piedimonte G. Contribution of neuroimmune mechanisms to airway inflammation and remodeling during and after respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S66-75
- 74- Pons F, Freund V, Kuissu H, Mathieu E, Olgart C, Frossard N. Nerve growth factor secretion by human lung epithelial A549 cells in pro-and anti-inflammatory conditions. *Eur J Pharmacol* 2001;428:365-369
- 75- Bonini S, Lambiase A, Bonini S, Levi-Schaffer F, Aloe L. Nerve growth factor: an important molecule in allergic inflammation and tissue remodelling. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;118:159-162
- 76- Groneberg DA, Serowka F, Peckenschneider N, Artuc M, Grützkau A, Fischer A, et al. Gene expression and regulation of nerve growth factor in atopic dermatitis mast cells and the human mast cell line-1. *J Neuroimmunol* 2005;161:87-92
- 77- Heese K, Fiebich BL, Bauer J, Otten U. NF- $\kappa$ B modulates lipopolysaccharide-induced microglial nerve growth factor expression. *GLIA* 1998;22:401-407
- 78- Dmitrieva N, Shelton D, Rice ASC, McMahon SB. The role of nerve growth factor in a model of visceral inflammation. *Neuroscience* 1997;78:449-459.
- 79- Freund V, Pons F, Joly V, Mathieu E, Martinet N, Frossard N. Upregulation of nerve growth factor expression by human airway smooth muscle cells in inflammatory conditions. *Eur Respir J* 2002;20:458-463
- 80- Olgart C, Frossard N. Human lung fibroblasts secrete nerve growth factor: effect of inflammatory cytokines and glucocorticoids. *Eur Respir J* 2001;18:115-121
- 81- Mani L, Lundeberg T, Tirassa P, Aloe L. Role of cholecystokinin-8 in nerve growth factor and nerve growth factor mRNA expression in carrageenan-induced joint inflammation in adult rats. *Rheumatology* 2002;41:787-792.
- 82- Tuveri M, Generini S, Matucci-Cerinic M, Aloe L. NGF, a useful tool in the treatment of chronic vasculitic ulcers in rheumatoid arthritis. *The Lancet* 2000;356: 1739-1740
- 83- Micera A, Properzi F, Triaca V, Aloe L. Nerve growth factor antibody exacerbates neuropathological signs of experimental allergic encephalomyelitis in adult Lewis rats. *J Neuroimmunol* 2000;104:116-123
- 84- Nithya M, Suguna L, Rose C. The effect of nerve growth factor on the early responses during the process of wound healing. *Biochimica et Biophysica Acta* 2003;1620:25-31
- 85- Goldstein RS, Avivi C, Geffen R. In vivo NGF treatment increases proliferation in the primary sympathetic ganglia of chick embryos. *Dev Biol.* 1997;181:116-120.

- 86- Tanaka A, Wakita U, Kambe N, Iwasaki T, Matsuda H. An autocrine function of nerve growth factor for cell cycle regulation of vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;313:1009-1014
- 87- Caroleo MC, Costa N, Bracci- Laudiero L, Aloe L. Human monocyte/macrophages activate by exposure to LPS overexpress NGF and NGF receptors. *J Neuroimmunol* 2001;113:193-201
- 88- Ghiselli R, Giacometti A, Cirioni O, Mocchegiani F, Orlando F, D'Amato G, et al. Cecropin B enhances betalactams activities in experimental rat models gram-negative septic shock. *Ann Surg* 2004;239:251-256
- 89- Giacometti A, Cirioni O, Ghiselli R, Orlando F, Kamysz W, Rocchi M, et al. Effects of pexiganan alone and combined with betalactams in experimental endotoxic shock. *Peptides* 2005;26:207-216
- 90- Cinel I, Buyukafsar K, Cinel L, Polat A, Atıcı Ş, Tamer L, Oral U. The role of poly (ADP RIBOSE) synthetase inhibition in preventing endotoksemia-induced intestinal epithelial apoptosis. *Pharmacol Res* 2002;46:119-127
- 91- Manni L, Nikolova V, Vyagova D, Chaldakov GN, Aloe L. Reduced plasma levels of NGF and BDNF in patient with acute coronary syndromes. *Int J Cardiol* 2005;102:169-71
- 92- Aloe L, Fiore M. Neuroinflammatory implications of *Schistosoma mansoni* infection: new information from the mouse model. *Parasitology Today* 1998;14:314-318
- 93- Zervos E, Kramer AA, Salhab KF, Norman G, Carey LC, Rosemurgy AS. Sublethal hemorrhage blunts the inflammatory cytokine response to endotoxin in a rat model. *J. Trauma* 1999;46:145-149.
- 94- Maitra SR, Bhaduri S, Chen E, Shapiro MJ. Role of chemically modified tetracycline on TNF- $\alpha$  and mitogen-activated protein kinases in sepsis. *Shock* 2004;22:478-481
- 95- Shaked G, Czeiger D, Dukhno O, Levy I, Artru AA. Ketamine improves survival and suppresses IL-6 and TNF alpha production in a model of gram-negative bacterial sepsis in rats. *Resuscitation* 2004;62:237-242
- 96- Demirbilek S, Ersoy MO, Demirbilek S, Karaman A. Gürbüz N, Bayraktar N, Bayraktar M. Small-dose capsaicin reduces systemic inflammatory responses in septic rats. *Anesth Analg* 2004;99:1501-1507
- 97- Ling YL, Meng AH, Zhao XY, Shan BE, Zhang JL, Zhang XP. Effect of cholecystokinin on cytokines during endotoxic shock in rats. *World J Gastroenterol* 2001;7:667-671
- 98- Oberholzer A, Souza SM, Tschoeke SK, Oberholzer C, Abouhamze A, Pribble JP, Moldawer LL. Plasma cytokine measurement augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. *Shock* 2005;23:488-493
- 99- Hotchkiss RS, Swanson PE, Knudson CM, Chang KC, Cobb JP, Osborne DF, et al. Overexpression of Bcl-2 in transgenic mice decreases apoptosis and improves survival in

- sepsis. *J Immunol* 1999;162:4148-4156
- 100- Neviere 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;163:218-225
- 101- Chung CS, Xu YX, Chaudry IH, Ayala A. Sepsis induces increased apoptosis in lamina propria mononuclear cells which is associated with altered cytokine gene expression. *J Surg Res* 1998;77:63-70
- 102- Giannousdis PV, Smith RM, Perry SL, Windsor AJ, Dickson RA, Bellamy MC. Immediate IL-10 expression following major orthopaedic trauma: relationship to anti-inflammatory response and subsequent development of sepsis. *Intensive Care Med* 2000;26:1076-1081
- 103- Stanilova SA, Karakolev ZT, Dimov GS, Dobрева ZG, Miteva LD, Slavov ES, et al. High interleukin 12 and low interleukin 10 production after in vitro stimulation detected in sepsis survivors. *Intensive Care Med* 2005;31:401-407
- 104- Wang CH, Gee MJ, Yang C, Su YC. A new model for outcome prediction in intra-abdominal sepsis by the linear discriminant function analysis of IL-6 and IL-10 at different heart rates. *J Surg Res* 2006;132:46-51
- 105- Oberholzer A, Souza SM, Tschoeke SK, Oberholzer C, Abouhamze A, Pribble JP, Moldawer LL. Plasma cytokine measurement augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis. *Shock* 2005;23:488-493
- 106- Ji XH, Sun KY, Feng YH, Yin GQ. Changes of inflammation-associated cytokine expressions during early phase of experimental endotoxic shock in macaques. *World J Gastroenterol.* 2004;10:3026-3033
- 107- Oberholzer A, Feilner A, Hentze H, Steckholzer U, Kurimoto M, Trentz O, Ertel W. Sepsis after severe injury interrupts caspase dependent processing of interleukin-18. *J Trauma* 2000;49:11-17
- 108- 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.
- 109- Emmanuilidis K, Weighardt H, Matevossian E, Heidecke CD, Ulm K, Bartels H, et al. Differential regulation of systemic IL-18 and IL-12 release during postoperative sepsis: high serum IL-18 an early predictive indicator of lethal outcome. *Shock* 2002;18:301-305.
- 110- Kabir K, Keller H, Grass G, Minor T, Stueber F, Schroeder S, et al. Cytokines and chemokines in serum and urine as early predictors to identify septic patients on intensive care unit. *Int J Mol Med.* 2003;12:565-570
- 111- Ikuta S, Ono S, Kinoshita M, Tsujimoto H, Yamauchi A, Mochizuki H. Interleukin-18 concentration in the peritoneal fluid correlates with the severity of peritonitis. *Am J Surg*

2003;185:550-555.

112- Hattori A, Hayashi K, Kohno M. Tumor necrosis factor (TNF) stimulates the production of nerve growth factor in fibroblasts via the 55-kDa type 1 TNF receptor. *FEBS Letters* 1996;379:157-160

113- Hattori A, Iwasaki S, Murase K, Tsujimoto M, Sato M, Hayashi K, Kohno M. Tumor necrosis factor is markedly synergistic with interleukin 1 and interferon- $\gamma$  in stimulating the production of nerve growth factor in fibroblasts. *FEBS Letters* 1994;340:177-180

114- Blasing H, Hendrix S, Paus R. Pro-inflammatory cytokines upregulate the skin immunoreactivity for NGF, NT-3, NT-4 and their receptor, p75NTR in vivo: a preliminary report. *Arch Dermatol Res* 2005;296:580-584.

115- Miller LJ, Fischer KA, Goralnick SJ, Litt M, Burlison JA, Albertsen P, Kreutzer DL. Nerve growth factor and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Urology* 2002;59:603-608.

116- Brodie C. Differential effects of Th1 and Th2 derived cytokines on NGF synthesis by mouse astrocytes. *FEBS Letters* 1996;394:117-120

117- Ma D, Wolvers D, Stanis AM, Bienenstock J. Interleukin-10 and nerve growth factor have reciprocal upregulatory effects on intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 2003;284:R1323-1329

118- Oddiah D, Anand P, McMahon SB, Rattray M. Rapid increase of NGF, BDNF and NT-3 mRNAs in inflamed bladder. *NeuroReport* 1998;9:1455-1458

119- Woo HM, Bentley E, Campbell SF, Marfurt CF, Murphy CJ. Nerve growth factor and wound healing in dogs. *Exp Eye Res* 2005;80:633-642

120- Effect of anti-nerve growth factor on early and late airway responses in allergic rats. *Allergy* 2003;58:900-904

121- Piedimonte G. Contribution of neuroimmune mechanisms to airway inflammation and remodeling during and after respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S66-75

122- Torrents D, Torres R, De Mora F, Vergara P. Antinerve growth factor treatment prevents intestinal dysmotility in Trichinella spiralis- infected rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;302:659-665

123- Delafoy L, Raymond F, Doherty AM, Eschaliere A, Diop L. Role of nerve growth factor in the trinitrobenzene sulfonic acid- induced colonic hypersensitivity. *Pain* 2003;105:489-497

124- Hill JM, Garza HH, Helmy MF, Cook SD, Osborne PA, Johnson EM, et al. Nerve growth factor antibody stimulates reactivation of ocular herpes simplex virus type 1 in latently infected rabbits. *J Neurovirol* 1997;3:206-211

125- Fainzilber M, Carter BD. From neurotrophins to immunotrophins. *EMBO reports*

2002;3:1029-1034

126- Ayala A, Evans TA, Chaudry IH. Pathological aspect of apoptosis in severe sepsis and shock? *J Surg Res* 1998;76:165-173

127- Efron PA, Tinsley K, Minich DJ, Monterroso V, Wagner J, Laine P, et al. Increased lymphoid tissue apoptosis in baboons with bacteremic shock. *Shock* 2004;21:566-571

128- Coopersmith CM, Stromberg PE, Davis CG, Dunne M, Amiot II DM, Karl IE, et al. Sepsis from *pseudomonas aeruginosa* pneumonia decreases intestinal proliferation and induces gut epithelial cell cycle arrest. *Crit Care Med* 2003;31:1630-1637

129- Husain KD, Stromberg PE, Javadi P, Buchman TG, Karl IE, Hotchkiss RS, Coopersmith CM. Bcl-2 inhibits gut epithelial apoptosis induced by acute lung injury in mice but has no effect on survival. *Shock* 2003;20:437-443

130- Coopersmith CM, Chang KC, Swanson PE, Tinsley KW, Stromberg PE, Buchman TG, et al. Overexpression of Bcl-2 in the intestinal epithelium improves survival in septic mice. *Crit Care Med* 2002;30:195-201

131- Chen HW, Hsu C, Lue SI, Yang RC. Attenuation of sepsis-induced apoptosis by heat shock pretreatment in rats. *Cell Stress & Chaperones* 2000;5:188-195

132- 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. *PNAS* 1999;96:14541-14546

133- Kent TA, Quast M, Tagliatela G, Rea C, Wei J, Tao Z, Perez-Polo JR. Effect of NGF treatment on outcome measures in a rat model of middle cerebral artery occlusion. *J Neurosci Res* 1999;55:357-369

134- Stefanato CM, Yaar M, Bhawan J, Phillips TJ, Kosmadaki MG, Botchkarev V, Gilchrist BA. Modulations of nerve growth factor and bcl-2 in ultraviolet-irradiated human epidermis. *J Cutan Pathol* 2003;30:351-357

135- Kawamoto K, Okada T, Kanan Y, Ushio H, Matsumoto M, Matsuda H. Nerve growth factor prevents apoptosis of rat peritoneal mast cells through the trk proto-oncogene receptor. *Blood* 1995;86:4638-4644

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1977, Elazığ doğumluyum. İlk öğrenimimi Elazığ Dumlupınar ve Evren Paşa İlkokullarında, orta öğrenimimi Mezre Orta Okulu ve lise öğrenimimi Mehmet Akif Ersoy Lisesinde tamamladım. 1994 yılında girdiğim Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesinden 2000 yılında mezun oldum. Keban Sağlık ocağında 2001 yılında pratisyen hekimlik yaptıktan sonra 20 Aralık 2001 tarihinden itibaren Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.