T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

SEPSİS ve AĞIR SEPSİS TANILI HASTALARDA TREM-1, HLA-G5 ve HLA-DR DÜZEYLERİNİN ve ARALARINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gülistan Gül IŞIKBER
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR

MALATYA-2014

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

SEPSİS ve AĞIR SEPSİS TANILI HASTALARDA TREM-1, HLA-G5 ve HLA-DR DÜZEYLERİNİN ve ARALARINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gülistan Gül IŞIKBER
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR

Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2011/162 proje numarası ile desteklenmiştir. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine desteğinden dolayı teşekkür ederiz.

TEŞEKKÜR

Tez aşamasında ve uzmanlık eğitimim süresince bana yol gösteren tez danışmanım Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR'a, yine eğitimim boyunca yardımlarını benden esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Yasemin ERSOY'a, Doç. Dr. Üner KAYABAŞ'a, Doç. Dr. Funda YETKİN'e, Yrd. Doç. Dr. Adem KÖSE'ye, tez çalışması ve yazım aşamasında yardımlarını gördüğüm Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Başak KAYHAN ve Uzm. Bio. Latife Elçin KURTOĞLU'na, çalışma grubunu bulma konusundaki yardımlarından dolayı Acil Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Neslihan YÜCEL'e, istatiksel analiz konusunda yardımlarından dolayı Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na, asistanlık döneminin sıkıntılarını beraberce atlattığımız tüm asistan arkadaşlarıma, bugünlere gelebilmemde büyük emeği olan aileme, bana her konuda destek olan sevgili eşim Dr. Cem IŞIKBER'e ve canım oğlum Ethem Arda IŞIKBER'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR…… i
İÇİNDEKİLER…… ii
TABLOLAR DİZİNİ…… iv
GRAFİKLER DİZİNİ…….. v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ…… vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ……1
2. GENEL BİLGİLER……4
2.1. Sepsis…… 4
2.2. Tanımlar…… 4
2.3. Epidemiyoloji…… 9
2.4. Etiyoloji…… 10
2.5. Sepsiste İmmünopatoloji…….. 10
2.5.1. İmmün Sistem ve İmmün Yanıt…….. 10
2.5.2. Sepsiste İmmün Yanıt…….. 18
2.6. Klinik Bulgular……..... 20
2.7. Tanı……23
2.7.1.Sepsis İmmünopatogenezinde Yer Alan Çeşitli Belirteçler…. 24
2.7.1.1. C-Reaktif protein (CRP)…. …….. 24
2.7.1.2. Prokalsitonin (PCT)……. …….. 25
2.7.1.3. Myeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör [“The triggering receptor expressed on myeloid cells” (TREM-1)] ……26
2.7.1.4. İnsan Lökosit Antijenleri [“Human Leukocyte Antigens” (HLA)]…… 27
2.7.1.5. HLA-G5…… 28
2.7.1.6. HLA-DR…… 29
3. MATERYAL ve METOD……..30
3.1. Hasta Grubu…….. 30
3.2. Kontrol Grubu…… 31
3.3. Materyallerin Toplanması ve Saklanması…… 31

3.4. Periferik kanda immünofenotipleme ve sHLA-G5 ve sTREM-1 düzeyinin saptanması…….. 31
3.4.1. Heparinize periferik kan örneklerinde akım sitometri yöntemi ile lenfosit-monosit-granülosit oranları…….. 31
3.4.2. Serum örneklerinde sTREM-1 düzeyi ölçümü…….. 32
3.4.3. Serum örneklerinde sHLA-G5 düzeyi ölçümü……. 33
3.5. İstatistiksel Hesaplama…… 33
4. BULGULAR…… 34
5. TARTIŞMA…… 47
6. SONUÇLAR…….. 55
7. ÖZET…….. 56
8. SUMMARY…… 58
9. KAYNAKLAR……60
10. EKLER…….. 76
10.1. Ek-1 Hasta Formu…… 77

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Sepsis ve ilişkili klinik durumların tanımları…… 5
Tablo 2: Sepsis tanı kriterleri……..8
Tablo 3: Yardımcı T-lenfosit alt grupları…….. 13
Tablo 4. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamasına göre dağılımı…….. 34
Tablo 5. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeyleri…… 36
Tablo 6. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun kan lökosit gruplarının dağılımı…… 40
Tablo 7. Hastaların istatiksel olarak anlamlı olan immünolojik parametrelerinin korelasyonu……..…… 46

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 düzeyleri…… 35
Grafik 2. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun sHLA-G5 düzeyleri…… 35
Grafik 3. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama lenfosit, monosit ve granülosit düzeyleri…… 36
Grafik 4. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama CD14 monosit ve CD19 B-lenfosit düzeyleri…… 37
Grafik 5. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{+}$ ve $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ monosit düzeyleri37
Grafik 6. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama CD3, CD4 ve CD8 T-lenfosit düzeyleri……38
Grafik 7. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama NK ve NK-T hücre düzeyleri…… 38
Grafik 8. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama $CD3^{+}HLA\text{-}DR^{+}$ T-lenfosit düzeyleri…… 39
Grafik 9. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD45-FITC ve anti-CD14-Pe monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü…… 41
Grafik 10. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD14-Pe ve anti-HLA-DR-FITC monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü…… 42
Grafik 11. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD3-FITC ve anti-CD19-Pe, anti-CD4-Pe ve anti-CD8-FITC monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü…… 43
Grafik 12. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD3-Pe ve anti-HLA-DR-FITC monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü…… 44

Grafik 13. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD3-FITC ve anti-$CD16^{+}56^{+}$-Pe monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü…… 45

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ACCP : Amerikan Göğüs Hastalıkları Uzmanları Derneği (“American College of Chest Physicians”)

APACHE : Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi (“Acute Physiology and Chronic Health Evaluation”)

ARDS : Akut solunum sıkıntısı sendromu (“Acute Respiratory Distress Syndrome”)

ATS : Amerikan Toraks Derneği (“American Thoracic Society”)

BTLA : B- ve T-lenfosit zayıflatıcı (“B- and T-lymphocyte attenuator”)

CRP : C-reaktif protein

DİK : Dissemine intravasküler koagülasyon (“Disseminated intravascular coagulation”)

ELISA : Enzim bağlı immün inceleme (“Enzyme-linked immunosorbant assay”)

ESICM : Avrupa Yoğun Bakım Derneği (“European Society of Intensive Care Medicine”)

FITC : Floresan İzotiyosiyanat (“Fluorescein isothiocyanate”)

HLA : İnsan lökosit antijen (“Human Leukocyte Antigen”)

ICAM-1 : Hücreler arası adhezyon molekülü-1 (“Intracelluler Adhesion Molecule”)

IL : İnterlökin

INR : Uluslararası normalleştirilmiş oran (“International normalized ratio)

MDL-1 : Myeloid DAP12 ilişkili lektin-1

MHC : Doku uygunluk antijenleri (“Major Histocompatibility Complex”)

MODS : Çoklu organ yetmezliği sendromu (“Multiple organ dysfunction syndrome”)

NF-kb : Nükleer faktör–κb

NK : Doğal öldürücü (“Natural Killer”)

NOD : Nükleotid-oligomerizasyon domain

OAB : Ortalama arter basıncı

PAMPs : Patojen ilişkili moleküler kalıplar (“Pathogen Associated Molecular Patterns”)

PBS : Fosfat tamponlu solüsyon (“Phosphate Buffered Solution”)

PCT : Prokalsitonin

PD-1 : Programlanmış ölüm-1 (“Programmed death-1”)

Pe : Fikoeritrin (“Phycoerythrin”)

PNL : Polimorfonükleer lökosit

PRR : Kalıp tanıma reseptörleri (“Pattern recognition receptors”)

RIG-I : Retinoik asit-indüklenebilir gen-I

SCCM : Yoğun Bakım Derneği (“Society of Critical Care Medicine”)

SIRS : Sistemik inflamatuar yanıt sendromu (“Systemic inflammatory response syndrome”)

SIS : Cerrahi Enfeksiyon Derneği (“Surgical Infection Society”)

SKB : Sistolik kan basıncı

TLR : “Toll-like” reseptör

TNF-α : Tümör nekroz faktör-alfa

Treg : Regulatuar T-helper

TREM-1 : Myeloid hücrelerde ifade edilen tetikleyici reseptör (“Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells”)

VCAM-1 : Vasküler hücre adhezyon molekülü-1 (“Vascular Cell Adhesion Molecule-1”)

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sepsis enfeksiyonlar sonucu gelişen sistemik inflamatuar yanıt sendromu olarak tanımlanmaktadır. Sepsis her ne kadar karmaşık bir patogeneze sahipse de, immünsupresyonun patogenezde ağırlaştırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (1,2). Yanık, travma, pankreatit gibi durumlarda neden enfeksiyon olmamasına rağmen sepsis benzeri belirtiler gösterebilmektedir. Bu nedenle sepsiste önemli olan kaynağın doğru ve zamanında tesbit edilerek kısa zamanda tedaviye başlanabilmesidir. Doğru ve zamanında tesbit edilemeyen sepsis her yıl Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 200.000 kişinin ölümüne neden olmakta ve bu oran her yıl %1,5 - %8 oranında artış gösterebilmektedir (3).

Tanı amaçlı olarak alınan kan ve diğer vücut sıvılarından yapılan kültürlerde sepsis kaynağı saptanabilmektedir. Ancak yetersiz veya uygunsuz örnek alınması ve kültür süresinin uzunluğu gibi nedenlerden dolayı tanıda ve dolayısıyla tedavide gecikme yaşanabilmektedir (4). Bu nedenle kültür sonuçlarından önce hastada enfeksiyon varlığını erken tesbit edebilecek yöntemler, klinisyenlerin hep ilgi alanı olmuştur. Bu amaçla günümüze kadar değişik parametreler incelenmiştir. Bunlar arasında, dolaşımdaki proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinlerin incelenmesi, her ne kadar mortalite sürecini tahmin etmede güvenilir olsa da, sepsis ile sepsis olmayan olguların ayrımında yardımcı olmamıştır. Bakteri kaynaklı bir enfeksiyonun stres hormonları üzerinde etki yapabileceği ve erken uyarı sinyali olabileceği düşüncesiyle

özellikle kortikotropin ve kortizol değerleri araştırılmış ve her iki hormonun da sepsisin ayırıcı tanısında kullanılamayacağı tesbit edilmiştir (5,6).

Özellikle yakın zamanda yapılan çalışmalarda nötrofil ve olgunlaşmış monosit yüzeyinde tanımlanan tetikleyici reseptör ["The triggering receptor expressed on myeloid cells" (TREM)] -1 sentezinin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerle enfeksiyonu olan hastaların hücre ve dokularında hızla arttığı gösterilmiştir. Bu artış proinflamatuar sitokinlerin salınımını da uyarmaktadır. Buna ilaveten TREM-1'in ülseratif kolit, psöriazis ve vaskülit gibi inflamatuar hastalıklarda artış göstermemesi, sepsis için ayırıcı tanıda rol alabilecek bir molekül olduğunu düşündürmektedir (7).

Septik hastalarda lökosit fonksiyonu dramatik değişiklikler gösterebilmektedir. Örneğin; dolaşımda antijen sunan monositlerce arttırılan immün yanıt tekrar programlanarak azaltılmış bir reaktivasyona neden olmaktadır. Bu olay "immünoparalizi" veya "lökositlerin tekrar programlanması" olarak tanımlanmıştır. Sepsis esnasında immünoparalizinin ana nedeni monositlerin mikrobiyal bileşenleri, doku uygunluk antijenleri ["Major Histocompatibility Complex" (MHC)] aracılığı ile kazanılmış immün sistemin etkin hücrelerine yeterince sunamamasıdır. MHC sınıf II proteinler olan insan lökosit antijenleri ["Human Leukocyte Antigens" (HLA)] immün yanıt esnasında önemli rol oynar. HLA-DR/DP/DQ ifadesinde eksiklik, ciddi immün yetmezliklere neden olurken, yüksek düzeyde ifade edilmesi de otoimmün hastalıklara neden olmaktadır. Buna ilaveten immün yanıtın şiddetinin MHC sınıf II proteinlerinin ifade edilme düzeyi ile ilişkili olduğu da belirtilmiştir (8,9).

Bu bilgiler ışığında HLA-DR miktarının dolaşımdaki monositlerin yüzeyinde azalması septik hastalarda immün yanıt bozukluğunu gösteren güvenli bir işarettir. Birçok araştırmacı yoğun bakım hastalarının monositlerinde baskılanmış HLA-DR düzeyi tesbit etmiştir. Buna bağlı olarak da monositlerde düşük HLA-DR düzeyinin sepsisin düzeyi ve mortalitesi ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Ancak, HLA-DR düzeyindeki değişiklik sadece enfeksiyon hastalıkları ile ilişkili değildir. HLA-DR düzeyindeki azalma ile görülen immünparalizlenme tüm kritik hastalarda, özellikle ağır travma, yanıklar, majör cerrahi ve hatta pankreatit esnasında da saptanmıştır (8,9).

HLA-G klasik olmayan MHC-sınıf I antijenidir. HLA-G B- ile T-lenfositlerde, monositlerde ifade edilirken, doğal öldürücü hücrelerde ["Natural killer cells" (NK)] bulunmaz. HLA-G'nin yedi farklı protein izoformu bulunur. Hücre zarına bağlı olanlar HLA-G1, G2, G3, G4 ile çözünür formda olanlar HLA-G5, G6 ve G7'dir. Çözünür formdaki HLA-G5'in immün yanıtı yönlendirici etkisi bulunmaktadır. HLA-G5'in immün yanıtı baskılayıcı etkisi hem doğal immün yanıt hem de kazanılmış immün yanıt üzerinden olabilmektedir (10,11).

Transplantasyon hastalarında artan HLA-G5 düzeyinin greft kabulu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bunun dışında kanser hastalarında artan HLA-G5'in tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasını kolaylaştırdığı ve metastaz etkeni olduğu belirtilmektedir. HLA-G'nin hem çözünür hem de membran formları sitotoksik T lenfosit yanıtını ve hatta NK hücre fonksiyonunu inhibe etmekte, $CD4^+$ T lenfosit proliferasyonunu ve antijen sunucu hücrelerin olgunlaşmasını inhibe etmektedir. Bu etkilerinin yanı sıra baskılayıcı T lenfositleri uyardığı ve muhtemelen yukarıda belirtilen fonksiyonlarını da, bu şekilde gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Her ne kadar septik şokta HLA-G5 artışı gözlense de, bakteri kaynaklı sepsiste HLA-G5 düzeyi bilinmemektedir (10-12).

Çalışmamızda, özellikle immün sistem hücrelerini tanımlayan ve aktivasyon düzeylerini belirleyen reseptörlerin, sepsis patogenezindeki olası rolünü araştırmayı amaçladık. Sepsis tanısı alan hastaların taze kanlarında monosit, T- ve B-lenfosit yüzdeleri belirlenerek, bu mononükleer hücre gruplarının yüzeyinde HLA-DR ifade edilme düzeyini ve HLA-G5, HLA-DR ve TREM-1 düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesini planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

Sepsis, enfeksiyona karşı konakta gelişen bir yanıt olup, ağır sepsis, septik şok, organ fonksiyon bozukluğu ve organ yetmezliğine kadar giden mortalitesi yüksek bir enfeksiyon hastalığıdır. Ağır travma, akut miyokard infarktüsü ya da inmede olduğu gibi ağır sepsiste başlangıçta uygulanan tedavinin hızı ve uygunluğu sonucu etkileyebilir. Bu nedenle sepsis ve benzeri sendromların tanımlarını iyi bilmek, buna bağlı olarak erken dönemde tanı koymak ve tedaviye başlamak hayati önem taşımaktadır (13).

2.2. Tanımlar

Sepsis ve sepsis ile ilgili klinik durumların tanımlanmasında görüş birliği sağlanması amacıyla 1991 yılında Amerikan Göğüs Hastalıkları Uzmanları Derneği ["American College of Chest Physicians" (ACCP)] ve Yoğun Bakım Derneği ["Society of Critical Care Medicine" (SCCM)] tarafından yapılan ortak toplantıda sepsis ile ilgili tanımlar gözden geçirilmiş ve 'Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu' ["Systemic Inflammatory Response Syndrome" (SIRS)] tanımı yapılmıştır (1, 13). Sepsiste hastalığın şiddetini belirtmek için sırasıyla sepsis, ağır sepsis ve septik şok olarak sınıflandırma yapılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: Sepsis ve ilişkili klinik durumların tanımları.

Klinik tablo	Tanım
Enfeksiyon	Mikroorganizmaların, normalde steril konak dokularında bulunması veya invazyonu sonucu gelişen inflamatuar cevaptır.
Bakteriyemi	Canlı bakterinin kan dolaşımında bulunmasıdır. Bakteriyemi tanısı kan kültürü pozitifliği ile konur.
SIRS	Aşağıdaki durumlardan iki veya daha fazlasının bulunması 1. Vücut ısısının >38°C veya <36°C olması 2. Kalp atım hızının >90/dk olması 3. Solunum hızının >20/dk veya $PaCO_2$ <32 mmHg olması 4. Lökosit sayısının >12000/mm^3 veya <4000/mm^3 olması veya periferik yaymada %10'un üzerinde band formunun bulunmasıdır.
Sepsis	Enfeksiyona verilen sistemik inflamatuar cevap olarak tanımlanır. Enfeksiyon sonucu SIRS bulgularının iki veya daha fazlasının bulunmasıdır.
Ağır sepsis	Sepsis ile birlikte organ fonksiyon bozukluğu, hipoperfüzyon veya hipotansiyonun bulunmasıdır. Hipoperfüzyon ve perfüzyon bozukluğunda, laktik asidoz, oligüri veya mental durumda akut değişiklik bulunabilir.
Septik şok	Sepsiste yeterli sıvı tedavisine rağmen, hipotansiyon ile birlikte perfüzyon bozukluğu belirtilerinin (laktik asidoz, oligüri, akut mental değişiklik) devam etmesi durumudur. Perfüzyon bozukluğu belirlendiği zaman inotropik veya vazopressör ilaç alanlarda hipotansiyon olmayabilir. Bu hastalar yine de septik şokta kabul edilmelidir.
Çoklu organ yetmezliği sendromu ["Multiple organ dysfunction syndrome" (MODS)]	Akut hastalık tablosu içinde olan hastada organ fonksiyon değişikliklerinin bulunmasıdır. Bu klinik tabloda tedavisiz hemostaz sağlanamaz.

Sepsisle ilgili bu tanımlar günümüzde halen kullanılmakta olup sepsis patofizyolojisindeki yeni bilgiler nedeniyle tanımlamaları yeniden gözden geçirme gereği duyulmuştur (14). Bu amaçla sepsisle ilgilenen dernekler olan; ACCP, SCCM, “American Thoracic Society” (ATS), “European Society of Intensive Care Medicine” (ESICM) ve “Surgical Infection Society” (SIS)’nın destekleri ile Uluslararası Sepsis Tanımları Konferansı 2001 yılında toplanmış ve bu toplantıda sepsis fizyopatolojisindeki gelişmeler ile 1991 tanımları göz önünde bulundurularak, sepsis tanısının doğru ve etkin konması amacıyla sepsisle ilgili ilk kılavuz hazırlanmıştır. Bu toplantıda sepsis tanısı için henüz bir standart olmadığı ve önerilerin ancak hasta başında klinisyenin karar vermesine yardımcı olacağı vurgulanmıştır (3).

SIRS tanımları 1991 tanımlarıyla genel olarak aynıdır ve enfeksiyona bağlı olan veya olmayan birçok nedenle başlayan sistemik inflamatuar yanıt olarak tanımlanmıştır. SIRS belirteçleri özgül olmadığı için 2001 uzlaşı toplantısında ‘enfeksiyona sistemik inflamatuar yanıt’ belirteçleri eklenmiştir. Bu kılavuzda SIRS tanısı için, klinik bulgularla beraber, serumda interlökin-6 (IL-6), prokalsitonin (PCT) veya C-reaktif protein (CRP) düzeylerinin kullanılabileceği belirtilmiştir (3).

Bazı durumlarda sepsisin ilk belirtileri hemodinamik değişkenlik veya organ yetmezliği olabilir. Bu nedenle kriterlere organ fonksiyon bozukluklarına ait parametreler de eklenmiştir. Belirlenen parametrelerin dışında klinisyenin hasta başındaki değerlendirmesi önemlidir. Enfeksiyon varlığı kanıtlanmamış olsa bile klinisyen tarafından hastanın “septik görüntüsü”nün saptanması değerli bir kriterdir (3).

Klinik pratikte enfeksiyon varlığını hemen her zaman kanıtlamak mümkün olmayabilir. En azından başvuru sırasında kanıtlamak zor olabilir ve kültür sonuçlarını beklemek gerekebilir. Böyle bir durumda kuvvetle olası bir enfeksiyondan bahsedilebilir. Eğer beraberinde SIRS da varsa bu durumda kuvvetle muhtemel sepsisten bahsedilir (14).

Sepsis sınıflamasının bireylerin immün durumunu tam yansıtmaması ve SIRS kriterlerine dayalı tanımlamanın sendromun daha çok proinflamatuar fazını tanımlaması nedeniyle, 2001 yılında yapılan toplantıda sepsiste de

kanser için kullanılan TNM (tümör, nodüller, metastazlar) evrelendirme sistemine benzer bir sistemin kullanılıp kullanılamayacağı tartışılmıştır. Bu evrelendirmeye benzer predispozisyon ("predisposition"), enfeksiyon ("infection"), yanıt ("response") ve organ disfonksiyonu ("organ dysfunction") sözcüklerinin baş harfleri ile oluşturulan PIRO sınıflamasında klinik ve laboratuar parametrelerinin kullanılması önerilmiştir. PIRO sisteminde her başlık aşağıdaki altbaşlıkları içermektedir.

a. Predispozan faktörler: Genetik, alkol, altta yatan hastalıklar vb.
b. Enfeksiyon: Lokal, geniş veya yaygın.
c. Konak cevabı: Sınırlı, şiddetli veya çok şiddetli.
d. Organ fonksiyon bozukluğu: Hafif, orta veya ağır.

PIRO sisteminin klinik pratikte uygulanması için yapılacak çalışmalarla geliştirilmesi gerekmektedir (3).

Sepsisle ilgili 2008 yılında yayınlanan üçüncü kılavuzda kortikosteroidler, kan ürünleri, aktive protein C, renal replasman tedavisi, antibiyotikler, kaynak kontrolü, glukoz kontrolü gibi alt gruplar belirlenmiş ve bu konularda güncel bilgiler ve öneriler sunulmuştur (15). Son kılavuz ise, 2012 yılı sonbaharına kadar yayınlanmış makaleler değerlendirilerek hazırlanmış ve 'Uluslararası Ciddi Sepsis ve Septik Şok Yönetim Kılavuzu' olarak yayımlanmıştır (13). Bu kılavuzda sepsis ve ciddi sepsis tanı kriterleri yeniden belirlenmiş ve güncellenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: Sepsis tanı kriterleri.

Enfeksiyon (kanıtlanmış ve şüphe edilen) varlığı ile aşağıdakilerden bir kaçının olması;

Genel parametreler

- Ateş (vücut ısısı >38.3°C) veya hipotermi (vücut ısısı <36°C),
- Kalp atım hızı >90/dk veya yaş için normal değerden >2 SD*,
- Takipne,
- Mental durum değişikliği,
- Belirgin ödem veya pozitif sıvı dengesi (24 saatte >20ml/kg),
- Hiperglisemi (diyabetin olmadığı durumlarda plazma glikozu >140 mg/dl ya da >7.7 mmol/L).

İnflamatuar parametreler

- Lökositoz (beyaz küre sayısı >12000/mm^3) veya lökopeni (beyaz küre sayısı <4000/mm^3),
- >%10 immatür formun olduğu normal beyaz küre sayısı,
- Plazma CRP'nin normal değerden >2 SD*,
- Plazma prokalsitonin (PCT) değerinin normal değerden >2 SD*.

Hemodinamik parametreler

- Arteriyel hipotansiyon (sistolik kan basıncının <90 mmHg, ortalama arteriyel basıncın <70 mmHg veya sistolik kan basıncının yetişkinlerde >40 mmHg düşmesi ya da yaşa göre normal değerden <2 SD* olması).

Organ disfonksiyon parametreleri

- Arteriyel hipoksemi (PaO_2/FiO_2 **<300),
- Akut oligüri (en az 2 saat yeterli sıvı resüstasyonuna rağmen idrar çıkışı <0.5 mL/kg/saat),
- Kreatininde >0.5 mg/dl veya >44.2 µmol/L artış,
- Koagülasyon anormallikleri [internasyonel normalizasyon oranı (INR) >1.5 veya aktive parsiyel tromboplastin zamanı >60 saniye],
- İleus (barsak seslerinin kaybı),
- Trombositopeni (trombosit sayısının <100000 /mm^3),

- Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin >4 mg/dl veya >70 µmol/L).

Doku perfüzyon parametreleri

- Hiperlaktatemi (>1 mmol/L),
- Azalmış kapiller dolum.

(*SD: Standart deviasyon ** PaO_2/FiO_2: Arteryel O_2 basıncı/ inspire edilen O_2 fraksiyonu)

2.3. Epidemiyoloji

Sepsis gelişen hastalarda sıklıkla altta yatan başka bir hastalık olması ve bu hastalıklara bağlı klinik bulguların en az sepsis kadar mevcut tablodan sorumlu olmasından dolayı, sepsis tanısının konması güç olduğu gibi insidansının tam olarak saptanması da zordur.

Martin ve ark. tarafından yapılan epidemiyolojik bir çalışmada 1979-2000 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yaklaşık 750 milyon hasta yatış verisinin incelenmesi sonucunda 10.318.418 sepsis vakası olduğu gözlenmiştir (16). Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda ise yoğun bakım ünitelerinde hastane kaynaklı bakteriyemi/sepsis insidansı %7,6-15,8 arasında bildirilmektedir (17, 18).

Etkin antibiyotik ve destek tedavisine rağmen sepsis hastalarında mortalite hızı %30'un üzerinde olup şok varlığında bu oran %50'nin üzerine çıkmaktadır (19). Hastane kökenli enfeksiyonlarda morbidite ve mortalite daha da artmaktadır. Genellikle bu olguların büyük bir kısmında etken gram negatif bakterilerdir (20). Ülkemizde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatan hastaların %42'sinde gram negatif bakteriyemi geliştiği ve %45 oranında ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (21).

2.4. Etiyoloji

SIRS etiyolojisi enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan olarak ayrıldığında enfeksiyoz etkenler sıklık sırasına göre bakteriler, mantarlar, virüs ve parazitler olarak sıralanmaktadır. Enfeksiyon dışı neden olarak ise; ağır travma, majör cerrahi, pankreatit, yanık, hemoraji ve iskemi sayılabilir (1).

Toplum ve hastane kaynaklı sepsislerde bakteriler en sık saptanan etkenlerdir. Sepsise neden olan mikroorganizmaların türleri sepsisin hastane içi ya da dışında gelişmiş olmasına göre değişiklik gösterir. Toplum kaynaklı sepsis olgularında en sık etkenler *Staph. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Escherichia coli*'dir. Anaerop bakteriler ve mantarlar, toplumda gelişen sepsislerde daha az oranda etken olabilir (22).

Hastane kaynaklı sepsis etkenleri yıllara göre değişiklik göstermiştir. Hastane kaynaklı sepsislerde en sık etkenler; *S.aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, *Enterococcus* türleri, *E.coli* ve diğer enterik bakteriler, *P. aeruginosa* ve diğer nonfermentatif bakteriler, *Candida albicans* ve diğer kandidalardır. Anaeropların hastane kaynaklı sepsislerde etken olarak izole edilmesi düşük orandadır (22, 23).

Antibiyotikler kullanıma girmeden önce gram pozitif bakteriler en sık sepsis nedeni olan bakteriler iken antibiyotikler kullanılmaya başlandıktan sonra gram negatif bakteriler gittikçe artan oranlarda izole edilmeye başlanmıştır (24).

2.5. Sepsiste İmmünopatoloji

2.5.1. İmmün Sistem ve İmmün Yanıt

İmmün sistemi oluşturan farklı hücreler ve moleküller bireyi enfeksiyon etkenlerinden ve bunların neden olduğu hasardan, toksinlerden ve diğer zararlı maddelerden korur. İmmün sistemin bireyi etkin bir şekilde enfeksiyon etkenine karşı koruyabilmesi için dört ana görevi yerine getirmesi gerekir (25, 26):

a. İmmünolojik tanıma başlığı altında enfeksiyon etkeninin varlığının saptanması: Bu görev hem doğal immün sistemin beyaz kan hücreleri hem de kazanılmış immün sistemin lenfositleri tarafından gerçekleştirilir.
b. Enfeksiyon etkeninin tamamiyle elimine edilmesi: Bu görev etkin immün fonksiyonları yerine getiren kompleman sistemi, antikorlar ve lenfositlerce gerçekleştirilir.
c. İmmün yanıtın konağın kendisine zarar vermeyecek düzeyde kontrol altında tutulması olarak tanımladığımız immün regülasyon
d. Kazanılmış immün yanıtın en önemli özelliği olan hafıza fonksiyonunu yerine getirmesi: Hafıza özelliği sayesinde konak immün sistemi, patojenle ikinci defa karşılaştığında daha hızlı ve daha güçlü immün yanıt ile etkeni temizler (26).

İmmün sistem içerisinde yer alan immün yanıt; doğal ve kazanılmış immün yanıt olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Doğal immün yanıt, enfeksiyon etkeninin sistem tarafından ilk kez tanındığı ve savunmanın gerçekleştirildiği yanıttır. Kazanılmış immün yanıt ise, doğal immün yanıtın yetersiz kaldığı durumlarda aktive olan farklı hücre gruplarını ve molekülleri içeren etkin bir yanıttır. Her ne kadar doğal ve kazanılmış immün yanıt aktörleri farklı olsa da, her iki sistem koordineli olarak beraber çalıştıkları zaman etkili olur (25).

Kazanılmış immün yanıt salgısal ve hücresel immün yanıt olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. İnsan hücresel immün yanıt konusunda yapılan çalışmalar üç ana noktada yoğunlaşmıştır. Bunlar; primer immün yetmezlikler, HIV enfeksiyonunda olduğu gibi viral kaynaklı edinsel immün yetmezlikler ve son olarak da otoimmün hastalıklardır. Bunlara ek olarak kronik enfeksiyon, kanser, travma kaynaklı yaralanma, sepsis konularındaki çalışmalar hücresel immün yanıt konusunda önemli bilgiler sağlamaktadır (27).

Hücresel immün yanıt, salgısal immün yanıttan farklı olarak daha karmaşık ve ölçülmesi daha zor bir yanıttır. Salgısal immün yanıta yönelik temel testler geçmişte karşılaşılmış bir virüs veya mikroorganizmaya karşı gelişmiş antikorları ölçerken, çoğu hücresel immün yanıt testleri anlık immün yanıt

düzeyi hakkında bilgi vermektedir. Bu nedenle, hücresel immün yanıtın geçmişteki ve gelecekteki yönü hakkında yorum yapmak zor olabilir (27).

Periferik kanda hücresel immün yanıtın aktörleri lenfositler, monosit/makrofaj ve granülositler olarak sınıflandırılabilir. Enfeksiyonun herhangi bir evresinde bu hücre sınıflarının tanımlanması, saflaştırılması ve aktivasyon düzeylerinin belirlenmesi konak hücresel immün yanıtı hakkında bilgi sağlar (28). Bu hücre sınıfları ve bu sınıflarda yer alan hücrelerden araştırma konumuzda olanların fonksiyonları aşağıda açıklamıştır.

Lenfositler: Fonksiyonel olarak ve protein ürünleri bakımından kendi içinde farklılık gösteren ancak morfolojik olarak benzerlik gösteren alt gruplara ayrılır. Morfolojik olarak benzerlik, lenfositlerin gruplara ve alt gruplara ayrılmasını zorlaştırmaktadır. Bu zorluğun giderilmesinde hücrelerin yüzeyinde bulunan ayırıcı ve tanımlayıcı özellikte olan ancak farklı fonksiyonel özellikleri bulunan farklılaşma moleküller kümesi [“Cluster of differentiation” (CD)] reseptörleri kullanılır. Günümüzde CD reseptörleri sadece lenfositler için değil, farklı hücre gruplarının yüzeyindeki reseptörleri tanımlamak için de kullanılmaktadır. Lenfositler; B- ve T-lenfositler olmak üzere iki ana grupta yer alan salgısal ve hücresel immün yanıtın baş aktörlerindendir (28).

B-Lenfositler: Memelilerde B-lenfositleri fetal karaciğerde ve erişkinde kemik iliğindeki mikro-çevrede hematopoietik kök hücreden gelişerek oluşurlar. B-lenfositlerin gelişimi, kemik iliğinde pro-B hücreleri ile başlar ve plazma hücreleri ve bellek hücrelerinin oluşması ile sona erer. Olgunlaşmış B-lenfositleri yüzeylerinde B-hücre reseptörü dışında diğer lenfosit gruplarından ayırıcı özellikte olan CD19, CD20, CD21 ve CD22 reseptörlerini bulundurur. B-lenfositler lenfoid organların farklı anatomik lokalizasyonlarında yer alan dört gruba ayrılır. Bunlar foliküler B lenfositler, germinal merkez B-lenfositler, marjinal bölge B-lenfositler, hafıza B-lenfositler, B-1 ($CD5^+$) B-lenfositler, B-2 ($CD5^-$) B-lenfositler olarak adlandırılmıştır (29).

T-lenfositler: Kemik iliği kökenli olup gelişimini timusta tamamlar. Timusta gelişimini devam ettiren hücrelere timosit adı verilir. İntrauterin yaşam sırasında, pro-timosit fetal karaciğer ve vitellüs kesesinde gebeliğin yedinci haftasından itibaren görülmeye başlar. Sekiz-dokuzuncu haftadan itibaren fetal timus gelişmeye başlar. Bunu, timositlerin CD2, CD3, T hücre reseptörü (β, α, γ ve δ genleri), CD4 ve CD8 moleküllerini ifade etmeleri izler. Gebeliğin 14. haftasından itibaren majör timosit alt gruplarının hepsi mevcuttur. $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücreleri ilk olarak karaciğer ve dalakta gebeliğin 14. haftasından itibaren görülürler ve T hücrelerinin sayısı bundan sonra kanda artar. Bu artış doğumdan altı ay sonraya kadar devam eder ve sonra yavaş yavaş azalarak erişkin düzeyine iner. Özetle, yeni doğanda T hücre sayısı ve total lenfosit sayısı bir çocuk veya erişkine göre fazladır. Kemik iliğinden timus korteksine ulaşan hematopoietik kök hücrelerden gelişen ilk hücrelerde (pro-T), T-hücre reseptörü (TCR) ve CD fenotipi oluşmamıştır. Timositlerin timüs korteksinden medullaya doğru hareketi sonrası olgunlaşmış T-lenfositler periferik kan dolaşımına karışır. Timusta olgunlaşmış ve eğitim görmüş T-lenfositler CD3, CD4 veya CD8'i içerir.

T-lenfositler fonksiyonel olarak ve yüzeylerinde bulundurdukları reseptörlere göre iki temel gruba ayrılır. Yüzeylerinde CD4 bulunduran yardımcı T-lenfositler (Th) ve yüzeylerinde CD8 reseptörü bulunduran sitotoksik T-lenfositler (Tc)'dir. Yardımcı T-lenfositler aktive olduktan sonra salgıladıkları sitokinler ve yüzeylerinde ifade ettikleri yeni moleküller ile makrofajları aktive ederler ve B-lenfositlerin antikor salgılayan plazma hücrelerine farklılaşmasına yardım ederek kazanılmış immün yanıtın hem salgısal hem de hücresel immün yanıt bölümlerine etki ederler (25).

Yardımcı T lenfositler fonksiyonel özelliklerine, salgıladıkları sitokinlere ve yüzeylerinde ifade ettikleri moleküllere göre alt gruplara ayrılır. Bunlar sırasıyla Th1, Th2, Th17 ve Treg.'dir.

Tablo 3: Yardımcı T-lenfosit alt grupları (24 no'lu kaynaktan alınmıştır).

Yardımcı T-lenfosit	Salgıladığı Sitokin	Fonksiyon
Th1	IFN-α	İnflamatuar immün yanıtın uyarılması ve başlaması
Th2	IL-4, IL-5 ve IL-13	Anti-inflamatuar immün yanıtın uyarılması ve başlaması
Th17	IL-17A, IL-17F, IL-22	Hücre dışı bakteriler ve mantarlara karşı inflamatuar yanıt gelişimi.
Treg	IL-10, TGF-β	Antijen sunucu hücrelerin T-lenfositleri uyarım özeliğini yok eder. İnflamatuar immün yanıtın önlenmesinde etkindir.

Sitotoksik T lenfositler ise; hücre içi bakteriler ve virüsle enfekte hücreler ile tümör hücrelerine karşı litik etki gösteren kazanılmış immün yanıtın etkin lenfosit grubudur. $CD8^+$ T lenfositlerin aktive olup sitotoksik T-lenfositlere ve sonrasında hafıza hücrelerine dönüşmesi $CD4^+$ yardımcı T lenfositlerin katılımı ile gerçekleşir. $CD8^+$ T-lenfositler fonksiyonlarına göre iki gruba ayrılır. Sitotoksik fonksiyonları olan $CD8^+$ T lenfositler ve immün yanıtı baskılayıcı özelliği olan baskılayıcı $CD8^+$ T-lenfositler. Sitotoksik T lenfositler IL-12, IFN-γ ve TNF-α salgılarken, bu hücre grubunun fonksiyonunu bloke eden baskılayıcı özellikteki $CD8^+$ T hücreler IL-10 ve IFN-γ salgılamaktadır. Baskılayıcı $CD8^+$ T lenfositlerin oluşumu Th1 ve Th2 hücrelerden salgılanan sırasıyla IL-12 ve IL-4'ün etkisi ile gerçekleşir (25, 29).

NK hücreler: Dolaşımdaki lenfositlerin %10-15 kadarını NK hücreleri oluştururlar. Bu hücreler iki yönlü gelişim yeteneğine sahip T/NK progenitör hücrelerden gelişirler. T/NK progenitörleri FcγRIII (CD16) reseptörü ifade ederler. NK hücrelerinin yüzey antijenleri farklıdır ve T hücre yüzey reseptörü ve yüzey immünglobulini taşımazlar. Bu nedenle farklı bir lenfoid hücre serisi olduğu kabul edilmektedir. NK hücreleri, immün komplekslerde IgG bağlayan

düşük affiniteli CD16 reseptörü ve NK hücrelerini tanımlayan CD56 reseptörü, ayrıca IL-2R, CD94 yüzey molekülü bulundururlar. Bu moleküller T-hücrelerinde ifade edilmez. Özellikle T hücreleri $CD3^{+}CD56^{-}CD16^{-}$ oldukları halde, NK hücreleri $CD3^{-}CD16^{+}$ ve/veya $CD56^{+}$ olarak tanımlanır. Bu hücreler diğer lenfositlerden daha büyük (12-15μm) oldukları ve sitoplazmalarında diğer lökositlerdekine benzeyen bolca granül taşıdıkları için büyük granüllü lenfosit olarak da isimlendirilmiştir. Bunlar hedef hücrelere doğrudan saldırarak sitolitik etki gösterir. Fagositik aktiviteleri yoktur ve lizozom gibi mikrobisidal sistemlere sahip değillerdir. Ancak IgG için Fc reseptörü olan CD16 taşıdıkları için antikor bağımlı hücresel sitotoksik bir etki de gösterebilirler. NK hücrelerinin hedef hücreleri tahribindeki majör mekanizma, bu hücrelerdeki granüllerin hedef hücreye ekzositozu ile tetiklenen apopitozdur. NK hücreleri self-toleran olduklarından, normal otolog hücrelere saldırmamakta, fakat allojenik hücrelere ve MHC sınıf I moleküllerini ifade etmeyen hücrelere saldırmaktadırlar (25, 29).

NK-T hücreleri; 1987 yılında ilk olarak farelerde tanımlanmış ve sonrasında insanda da bulunduğu gösterilmiş yeni bir T hücre alt grubudur. NK-T hücreleri, NK ve T hücrelerinin özelliklerini taşırlar. Bu hücreler $\alpha\beta$ T hücre reseptör zincirlerine sahip olmakla beraber büyük çoğunluğu CD4 ve CD8 moleküllerini ifade etmez. NK-T hücrelerinin büyük çoğunluğu CD1d ile kısıtlı olarak sunulan glikolipid ve α-galaktozilseramid gibi antijenleri tanır. NK-T hücreleri timus dışında, karaciğer, dalak, lenf düğümleri ve incek barsakta bulunur. Dolaşımdaki miktarı olgun T-lenfositlerin %1-4'üdür.

NK-T hücreleri, perforin ve granzim gibi sitolitik molekülleri ifade ederler. NK hücreleri gibi sitotoksik aktivite de gösterebilir, allograft rejeksiyonda rol alabilirler (29).

Monositler ve Makrofajlar: Makrofajlar ilk olarak vitellüs kesesinde, hemen sonra fetal karaciğerde ve bunu takiben kemik iliğinde olmak üzere gebeliğin dördüncü haftasında ortaya çıkarlar. Monositler yaklaşık 15-20μm çapında hücrelerdir. Sitoplazmaları geniş olup lizozomal granüller içerirler. Nukleus oval, at nalı veya böbrek biçimindedir. Kandaki lökositlerin %5-8 kadarını monositler oluşturur. Nötrofillerin aksine kemik iliğinde monosit rezervi azdır. Kandaki yarılanma ömürleri 1-3 gündür. İnflamasyon anında kemik iliğinde monosit

yapımı hızlanır. Bunlar doku makrofajlarının ara hücreleri olup kandan diyapedez ile süratle ekstravasküler kompartmana geçerler. Dokulara geçen monositler yeniden kan dolaşımına dönemezler ve doku makrofajlarını oluştururlar (29).

Monosit ve makrofajlar, yüzeylerinde, başlıca IgG (özellikle IgG1 ve IgG3'ün Fc kısımlarına özgül) için FcγR1(CD64), FcγRII (CD32) ve FcγRIII (CD16), C3b ve çeşitli sitokinler için reseptörler, transferrin, laktoferrin, fibronektin ve kemotaktik faktörler için reseptörler ve MHC sınıf-II moleküllerini bulundururlar (29)

Monosit/makrofaj sistemi akut ve kronik inflamatuar reaksiyonları esnasında konak savunmasında önemli roller üstlenir. Ana görevi; fagositoz, antijen sunumu ve sitokin üretimidir. Bu görevlerini hücre yüzeyinde bulunan IgG'ye özgül Fc reseptörü, kompleman reseptörü (CR1), β2-integrinler, CD14, IL-2 reseptörü ve MHC sınıf-II HLA-DR reseptörü ile gerçekleştirir (29). Bu moleküllerin monosit yüzeyinde ifadesi hücrenin aktivasyon durumu hakkında da bilgi verir. Monosit yüzeyinde HLA-DR ifadesi monositlerin T-lenfositlere antijen sunumuna imkan sağlar ve sepsis esnasında zincirleme immün reaksiyonun başlaması için önemlidir (31). Erişkinlerde sepsis esnasında monositlerin HLA-DR ifadesinde azalma olduğu saptanmıştır (30, 31) ve bunun cerrahi girişim, karaciğer nakli ve travma sonrası septik komplikasyonun göstergesi olduğu ileri sürülmüştür (32, 33, 34).

Günümüzde; HLA-DR ifade eden monositler, monoklonal antikorlar kullanılarak akım sitometri yöntemi ile tespit edilmekte ve aktiviteleri ölçülmektedir. Birçok çalışmada monositler anti-CD14 monoklonal antikoru kullanılarak tanımlanmıştır. Benzer çalışmalarda CD14 ile beraber HLA-DR'nin ifade edilmesi etkin bir inflamatuar immün yanıtın varlığını işaret ederken, bu hücrelerde düşük HLA-DR ve/veya HLA-DR ifade edilmemesi immün baskılanmayı işaret etmektedir (35).

Granülositler: Kemik iliğinde miyelomonoblastik kök hücreden gelişirler ve gelişimlerini tamamlayınca periferik kana geçerler. Yaklaşık 10-15 μm çapında hücrelerdir. Nukleus, genç hücrelerde band biçiminde olup, hücre yaşlandıkça yer yer boğulma ile loblu görünüm alır. Wright boyası ile boyandıklarında

sitoplazmalarında granülleri ince erguvani renkte olan granülositlere nötrofil, iri parlak kırmızı renkli olanlara eozinofil, iri lacivert renkli olanlara da bazofil denir (29).

Nötrofiller: Kemik iliğindeki miyeloblastların olgun nötrofillere gelişmeleri aşağı yukarı 10 günlük sürede gerçekleşir. Nötrofiller olgunlaştıktan ve ilik havuzunda birkaç gün kaldıktan sonra dolaşıma geçer. Kandaki lökositlerin %50-65 kadarını nötrofiller oluşturur. Nötrofiller güçlü fagositik aktiviteleri ile, inflamasyonun önemli hücreleridir. Sitoplazmalarında iki tip granül taşırlar. Azurofilik (özgül olmayan) granüllerde fagositik aktivite için gerekli olan enzimler (asid fosfataz, katepsin B ve katepsin D, ribonükleaz, lipaz, peroksidaz, aril sülfataz, B-galaktosidaz, B-glukuronidaz, 5′-nükleotidaz, elastaz, kollejenaz, lizozim, a-defensin ve katyonik proteinler) bulunduğu gösterilmiştir. Nötrofilik (özgül) granüllerinde ise laktoferrin, alkalen fosfataz, kollajenaz, plazminojen aktivatör, fibrinojen, fibronektin, laminin, vitronektin ve lizozim bulunur.

Nötrofiller IgG'nin (özellikle IgG1 ve IgG3) Fc parçası ve C3b için özgül yüzey reseptörleri ve kemotaktik reseptörler taşırlar. Ayrıca, çeşitli sitokinler için reseptörleri vardır. Nötrofillerin görevi; mikroorganizmaların, yabancı maddelerin, doku yıkım artıklarının fagositozu ve akut faz cevabının oluşmasına katkı olarak özetlenebilir (28, 29).

Eozinofiller: Eozinofillerin gelişimi IL-3, IL-5 ve GM-CSF ile düzenlenir. Özellikle IL-5 eozinofillerin selektif farklılaşmasından sorumlu olduğu gibi, bu hücrelerin kemik iliğinden kan dolaşımına geçmesini de uyarır. Granüllerinde muhtelif bazik proteinler ve enzimler (majör bazik protein, eozinofil katyonik protein, nörotoksin, peroksidaz, aril sülfataz, fosfolipaz) ile LTC4, PAF, PGE2, TGF-α ve –β, GM-CSF, IL-3, IL-5, TNF-α ve MIP-1α bulunur. Eozinofiller, mast hücreleri ve bazofillerden salınan kemotaktik faktörlerle inflamasyon alanına yönelirler. Düşük kapasiteli ameboid hareket yanında zayıf fagositik aktiviteye sahiptirler. Kandaki lökositlerin %2-3 kadarını oluştururlar. Allerjik ve parazitik hastalıklarda sayıları artar. Glikokortikoidler dolaşımdaki eozinofillerin sayısını ve yaşam süresini dramatik olarak azaltır (28).

Bazofiller: Asidik sitoplazmik granülleri düz kasların kasılmasına neden olan vazoaktif aminleri (örn. histamin) içermektedir ve kolaylıkla "bazik" boyalarla

boyanırlar. Bu iki loblu hücreler, periferik kanda düşük sayılarda (%0-1) veya dokularda yerleşik mast hücreleri olarak bilinen şekilde bulunurlar. Hem bazofiller hem de mast hücreleri edinsel immün yanıttaki allerjik reaksiyonlarda önemlidirler (28).

Trombositler: Megakaryositlerden oluşurlar ve aşırı duyarlılıklarda etkin bir madde olan serotonini salarak bağışık yanıtta yer alırlar. Ayrıca antijen-antikor kompleksinin etkisi ile birbirlerine yapışıp trombusler oluştururlar ve histamin salınmasını etkilerler. Trombosit granüllerinde ayrıca epinefrin, adenozin difosfat, Ca^{++}, K^{+}, pıhtılaşma faktörleri, prostoglandinler vb. biyolojik maddeler bulunur (36).

2.5.2. Sepsiste İmmün Yanıt

Enfeksiyonlara karşı gelişen inflamatuar yanıt olan sepsis, günümüzde en önemli ölüm nedenlerindendir. Sepsisin tanımlandığı günden bu yana her dönemde güncelliğini koruması ve ilgi odağı olmasının altta yatan nedeni patogenezi ve immünolojik gelişim mekanizmalarının yeterince anlaşılamamış olmasıdır. Sepsis immünolojisi, bakteri invazyonunun ardından gerçekleşen sitokin salınımı ve gelişen immün yanıt ile hızla gerçekleşen döngü içinde süratle bozulan dengelerin ortaya çıkardığı karmaşık bir tablodur. Bu tabloda sitokin salınımında rol oynayan genlerden endotel fonksiyonlarındaki önemli bozulmalara, süperantijen yapıları ve apopitotik aktivitelere kadar çok çeşitli yapısal bir döngü bulunmaktadır (37).

Enfeksiyonlara karşı normal konak yanıtı, bakteriyel invazyonu sınırlandırmak, aynı zamanda hasara uğrayan dokuyu tamir etmek amacı taşıyan karışık bir yanıt zinciridir. Bu inflamatuar yanıt, dolaşan ve sabit fagositik hücrelerin aktivasyonu ile proinflamatuar ve antiinflamatuar mediatörlerin eşlik etmiş olduğu olaylar kompleksi şeklinde gelişir. Septik tablo içerisinde normal inflamatuar yanıtta beklenenden fazla bir artış söz konusudur. Sepsis bu nedenle normal bir dokuda enfeksiyona karşı gelişen fizyopatolojik yanıtın gelişimine izin veren kendi kendini yıkan bir olay olarak adlandırılabilir (37).

İlk septik süreçten sorumlu olan bakterinin yapısal komponentlerini saptamak, sadece mekanizmayı anlamak için değil aynı zamanda potansiyel terapötik yaklaşımı tanımlayabilmek için de önemlidir. Doğal bağışıklık sistemi tarafından tanımlanan bu mikrobiyal bileşenler, patojen ilişkili moleküler kalıplar ["Pathogen-associated molecular patterns" (PAMPs)] olarak adlandırılmaktadır. Bu mikrobiyal bileşenlerin bağışıklık hücreleri, özellikle makrofajlar tarafından tanınması ve bağlanması sonrasında enfeksiyona konak yanıtı başlatılır. Bu yanıt çeşitli yollar ile gerçekleşebilir:

a. Mikroorganizmaların patojen ilişkili moleküler kalıpları (PAMPs), konakçı bağışıklık hücrelerinin yüzeyindeki kalıp tanıma reseptörleri (PRR) tarafından tanınır ve bağlanır (38). Toll-like reseptörler (TLRs), nükleotid-oligomerizasyon domain (NOD) lösin zengin tekrar proteinleri ve retinoik asit-indüklenebilir gen I (RIG-I) gibi helikazların olduğu üç PRRs ailesi vardır. Çalışmalar gram pozitif bakterilerin peptidoglikan yapısının konak bağışıklık hücreleri üzerinde TLR-2, gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritinin TLR-4 ve/veya lipopolisakkarit bağlama proteinine (CD14 kompleksi) bağlandığını göstermektedir.
b. Mikrobiyal bileşenler konak bağışıklık hücreleri üzerindeki TREM-1 ve myeloid DAP12 ilişkili lektin (MDL-1) tarafından tanınır ve bağlanır (39).

Mikrobiyal bileşenlerin immün hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasının çoklu etkileri vardır:

a. TLR'e bağlanma sonucunda sitozolik nükleer faktör–κb (NF-κb) aktivasyonu yoluyla bir sinyal akışı ortaya çıkarır. Aktive NF-κb, sitoplazmadan çekirdeğe ilerleyerek transkripsiyon bölgelerine bağlanır ve proinflamatuar sitokinler (TNF-α, IL-1), kemokinler [hücreler arası adhezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler hücre yapışma molekülü-1 (VCAM-1)], ve nitrik oksit gibi konak inflamatuar yanıtını sağlayan geniş bir gen kompleksinin aktivasyonunu uyarır.
b. Polimorfonükleer lökositler (PNL) aktive olarak vasküler endotele marjinasyon ve agregasyonu sağlayan adhezyon moleküllerini salgılar. Daha sonra yuvarlanma, adhezyon, diapedez ve kemotaksis basamaklarını takip ederek vasküler endotelden inflamasyon bölgesine

göç ederler (40). Bu bölgeye gelen PNL'ler tarafından salınan mediatörler lokal inflamasyonun ana belirtilerinden (lokal vazodilatasyon sonucu ısı artışı, hiperemi ve eritem, artan mikrovasküler geçirgenlik nedeniyle proteinden zengin ödem) sorumludur.

c. Bu süreç, dokuya invaze olan bakteriler tarafından aktive edilmiş makrofajlardan salınan proinflamatuar ve antiinflamatuar mediatörler tarafından kontrol edilir (41-43)
d. Proinflamatuar mediatörler: Önemli proinflamatuar sitokinler arasında TNF-α ve IL-1 yer alır. TNF- α dışındaki sitokinler ve mediatörler (örn. IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, platelet aktive edici faktör, interferon ve eikosanoidler) diğer mediatörlerin (örn. parakrin sekresyon) düzeylerini arttırırken, TNF-α'nın salınımı kendi tarafından kontrol edilir (örn. otokrin sekresyon). Bu proinflamatuar ortam, daha fazla PNL ve makrofajın dahil olmasına neden olur.
e. Antiinflamatuar mediatörler: TNF-α ve IL-1 üretimini engelleyen sitokinler antiinflamatuar mediatörler olarak kabul edilir. Mononükleer hücreler ve monosit-bağımlı T yardımcı hücreleri tarafından sitokin üretimini inhibe ederek bağışıklık sistemini baskılarlar. Ancak, antiinflamatuar etkileri evrensel olmayabilir. Örneğin, IL-10 ve IL-6, B hücre fonksiyonlarını (proliferasyon, immünoglobulin salgılanması) geliştirir ve sitotoksik T hücrelerinin gelişimini teşvik ederler (44).

Proinflamatuar ve antiinflamatuar mediatörlerin arasındaki denge ile inflamatuar süreçler (adherenste artış, kemotaksis, invaze olan bakterinin fagositozu ve hasarlı dokudaki debrisin fagositozu gibi) düzenlenir (45).

Septik immünosupresyonda artmış IL-10 salınımına bağlı olarak proinflamatuar T helper-1'den antiinflamatuar T helper-2'ye doğru kayma gerçekleşir. Son yıllardaki çalışmalar, sepsise bağlı hasarın ilk 24 saatinde lenfosit apopitozuna bağlı immün sistemde baskılanma meydana geldiğini göstermektedir (46). Regülatuar T helper, hastalığın progresyonu ya da regresyonunda önemli rol oynar (47). Lenfositlerde ve dendritik hücrelerde indüklenmiş massif apopitozlar, hücre yüzeyinde HLA-DR ekspresyonunun azalması, bozulmuş lökosit göçü, "Programlanmış ölüm-1" (PD-1) reseptör

ekspresyonunun artması, sitotoksik T-lenfosit antijen- 4 ile B ve T lenfosit zayıflatıcı (BTLA) moleküllerin artması gibi birçok mekanizma bu durumdan sorumludur (48, 49).

2.6. Klinik bulgular

Sepsis evresine göre klinik belirti ve bulgular değişiklik gösterir. Sepsisli hastaların büyük çoğunluğunda vücut ısısı yükselir. Ateş ile beraber titreme de gözlenir. Bazı hastalarda vücut ısısı normal olabileceği gibi, hipotermi de görülür. Sepsise bağlı hipotermi, bebeklerde, ileri yaşlarda, üremi veya alkolizm gibi kronik hastalığı olan hastalarda görülür. Hipotermi sepsiste kötü prognozun bir işareti olarak yorumlanmaktadır. Nötropenik ve immünsupresif hastalar sistemik enfeksiyona yatkındırlar. Ateş görülmeden sepsis gelişebilir. Hipotansiyon, oligüri, trombositopeni ve kanamanın gözlenmesi, bu hastaların sepsis yönünden değerlendirilmesini gerektirir (20, 50, 51).

Hiperventilasyon, sepsisin en erken belirtisi olabilir. Yoğun bakım ünitelerinde devamlı takip edilen hastalarda hiperventilasyon ve respiratuar alkaloz gözlenmesi sepsisi ilk planda düşündürmelidir (51-53). Santral sinir sistemi tutulumu olmaksızın mental değişikliklerin olması sepsiste önemli bir bulgudur. Klinik tablo bir ensefalopatidir. Oryantasyon bozukluğu, konfüzyon, letarji, ajitasyon ve şuurda küntlük şeklinde klinik tablo ortaya çıkar (51, 52)

Sepsiste değişik özellikte deri lezyonlarıda görülür. Bu lezyonlar üç kategoride değerlendirilebilir;

a. Deri ve derialtı dokusunun bakteriyel enfeksiyonu,
b. Sepsise bağlı şok ve/veya dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) tablosu sonucu, bakteriyel invazyon olmadan gelişen deri lezyonları,
c. Mikroemboli ve immünkompleks vasküliti sonucu end-arteriyel obstrüksiyona bağlı gelişen deri lezyonları (infektif endokarditte görülen deri lezyonları gibi) (51)

Stafilokok ve streptokok sepsislerinde deride metastatik enfeksiyonlar ve selülit sıklıkla gözlenir. Gram pozitif bakteriyel selülit dışında, pirojenik veya eritrojenik toksinlerin etkilerine bağlı deride eritrodermi oluştururlar. Gram

negatif bakteriyel sepsislerde, ektima, hemorajik veziküller veya büllöz lezyonlar, selülit, diffüz eritematöz lezyonlar veya peteşiyel deri lezyonları görülebilir (51, 54).

Sepsis ve DİK, hastaların el ve ayak parmaklarında, kulak ve burun uçlarında nekroza kadar giden akrosiyanoza yol açabilir. Bu lezyonlar simetrik periferik gangren olarak da isimlendirilmektedir. Genellikle gram negatif bakteriyel sepsislerde görülürken gram pozitif bakteriyel sepsislerde nadiren gözlenir (51, 55, 56, 57).

Sepsisin erken döneminde kardiak output artar. Periferik damar direnci azalır. Arteriyel kan basıncı düşer. Bu erken hiperdinamik fazda, periferik vazodilatasyon vardır. Genellikle perfüzyon bozulmaz. Bu dönemi şok takip eder. Sepsisli hastalarda sistolik kan basıncının 90 mmHg'nın altına düşmesi, klinik olarak şok kabul edilmektedir. Hastalarda, hipotansiyon, taşikardi, takipne ve periferik vazodilatasyon gözlenir ve deri sıcaktır. Şokun uzaması ile periferik vazokonstrüksiyon gelişir. Organ perfüzyon bozuklukları belirtileri ortaya çıkar, anüri gelişir, deri soğuk ve soluktur. Tedavi edilmeyen veya tedaviye cevap vermeyen vakalarda organ yetmezliği ve ölüm takip eder (20, 50, 58, 59).

Sepsiste akciğer komplikasyonları önemli bir yer tutar. Bunlar hiperventilasyon, akut respiratuar distres sendromu (ARDS) ve solunum kaslarında fonksiyon kaybıdır. Akciğer tutulumu klinik tabloyu ağırlaştırır. ARDS veya şok akciğeri, gram negatif bakteriyel sepsislerde daha sık görülür. Mekanizma oldukça karışıktır. Bakteriyemik nekrotizan pnömoni, alveolar kapiller permeabilitenin bozulmasına bağlı akciğer ödemi ve DİK'e bağlı akciğerlerde makro veya mikroembolizasyon sorumlu tutulmaktadır. Akciğerin su hacmi artar, kompliansı azalır ve solunum fonksiyonu bozulur. Klinik tablo hipoksi, sağ-sol şant ve diffüz akciğer infiltrasyonuna bağlı solunum sıkıntısı, hava açlığı ve siyanoz ile karakterizedir. Solunum kaslarında güçsüzlük, ilerleyici hiperkapni, apne ve ölüme kadar götürür. Akciğer ödemi solunum fonksiyonunu bozar, hipoksi enerji üretimini azaltır. Kardiak output'un azalması, enerji dağıtımını azaltır. Laktik asidoz ve hipofosfatemi adale kontraksiyonunu bozar (20, 50, 51, 53, 60).

Sepsiste görülen en önemli komplikasyonlardan biri de organ yetmezlikleridir. Yetmezlik yönünden risk altında olan organlar; kardiyovasküler sistem, akciğerler, böbrekler, karaciğer, pankreas, gastrointestinal sistem, metabolik bozukluklar, koagülasyon sistemi ve santral sinir sistemidir. Sepsiste hipotansiyonla birlikte oligüri gözlenir. Hastanın şoka girmesi ile anüriye kadar giden böbrek fonksiyon değişiklikleri görülür. Hastanın saatte 20 ml'den az idrar çıkarması oligüri olarak tanımlanmaktadır. (50, 51)

Primer hepatobiliyer hastalık olmaksızın sarılık sık görülür. Direkt bilirubin artışı ile beraber hiperbilirubinemi, alkalen fosfataz ve transaminaz seviyelerinde artış görülür. (50, 61)

Akut DİK'in en sık nedeni sepsistir. Trombositopeni, intravasküler trombin oluşumu, fibrin birikimi, pıhtılaşma faktörlerinde azalma ve fibrinoliz ile karakterizedir. Deri ve mukozalarda peteşi ve purpura, hemorajik büller, akral siyanoz ve bazen de gangrenler görülebilir. Uzayan şok DİK tablosunu ağırlaştırır. DİK hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriyel sepsislerde görülür. Gram negatif bakteriyel sepsislerde görülme sıklığı daha fazladır. (20, 50, 57)

Sepsiste hiperglisemi görülebilir. Diyabetli hastalarda ise kan şekeri regülasyonunun bozulması ve hiperglisemi enfeksiyon gelişmesinin önemli bir ipucu olabilir. Sepsis bulguları olan hastalardan en kısa zamanda kan kültürü, enfeksiyon odağından kültürler alınmalı ve uygun tedavi hemen başlanmalıdır (51).

2.7. Tanı

Sepsisin etiyolojik tanısı kan kültürleri ve primer enfeksiyon odağından alınan kültürler ile konur. Kan kültürleri aseptik koşullarda ve antibiyotik verilmeden önce, değişik venlerden en az üç set alınmalıdır. Aerop ve anaerop koşullarda inkube edilmelidir (62, 63). Sepsis tanısı konulan hastaların ancak %50-60'ında kan kültürü pozitifliği elde edilmektedir (63).

Pozitif kültür sonucu olmadan bazı hastalarda sepsis tanısı koymak zor olabilir. Akut pankreatit, adrenal yetmezlik, vaskulitler, multiple travmalar, yanık,

akut DİK nedenleri, multiple akciğer embolileri, miyokard infarktusu, diyabetik ketoasidoz, sistemik lupus eritematozus, aşırı kanama ve hipovolemiler, masif aspirasyon ve atelektazi gibi SIRS oluşturan hastalıklar ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulmalıdır (1,63).

Son yıllarda sepsisin erken tanısı, enfeksiyon dışı nedenlerle oluşan SIRS'ın ayrılması ve sepsisin prognozunu belirlemede bazı belirteçler üzerinde birçok çalışma yapılmıştır (7, 8, 11, 39).

2.7.1. Sepsis İmmünopatogenezinde Yer Alan Çeşitli Belirteçler

Belirteçler noninvazif, hızlı ulaşılabilir ve hastalık seyri boyunca takip edilebilir oldukları için sepsisli hastaların yönetimine önemli katkı sağlamaktadırlar. Tedavi kararını belirlemede büyük ölçekli randomize kontrollü çalışmalar için potansiyel hedefler olarak rol alırlar. Tetkik güvenilirliği, "cut-off" değerleri ve düşük maliyet bir belirteç yaygınlaşmadan önce değerlendirilmesi gereken özelliklerdir.

Belirteç, normal biyolojik süreçlerin, patolojik süreçlerin ve terapötik müdahaleye farmakolojik cevabın objektif ölçülebilir bir göstergesi olarak tanımlanır (64). Bir belirtecin yaygın kullanımından önce, standardize edilmiş olması, hastalık süreci ve klinik son noktalarda kullanımının uygun olduğunun gösterilmesi gereklidir (65).

2.7.1.1. C-reaktif protein (CRP)

C-reaktif protein enfeksiyona veya doku inflamasyonuna cevap olarak salınımı artan akut faz proteinlerinden biri olup vücutta hepatositler tarafından sentezlenir. CRP üretimi özellikle IL-6, IL-1 ve TNF gibi sitokinler tarafından uyarılır (66). Sağlıklı bireylerde kandaki seviyesi 10 mg/L'den az olup hastalık durumunda bu seviye ilk 6-8 saatte artar ve yaklaşık 48 saat sonra tepe noktası

olan 350-400 mg/L'ye ulaşır (67). CRP klasik kompleman yolağını aktive eder ve fagositik hücrelerin fonksiyonunu düzenler. CRP'nin *in vivo* olarak tam fonksiyonu bilinmemesine rağmen, bu özellikleri enfeksiyon ajanlarının ve hasarlı hücrelerin opsonizasyonunda rol aldığını düşündürmektedir (68, 69).

Eliminasyon yarı ömrü 4-9 saat olup inflamasyonun veya doku hasarının gerilemesiyle beraber CRP seviyeleri hızla düşer (70, 71). Kan seviyesindeki bu hızlı postinflamatuar azalma hastalık aktivitesini değerlendirmede yararlıdır. CRP düzeyi anemi, polisitemi, protein miktarı, hasta yaşı ve cinsiyetinden etkilenmez. CRP plazma konsantrasyonu >50 mg/L ise, enfeksiyona bağlı inflamasyon diğer inflamasyon tiplerinden ayırt edilir. CRP seviyesinin bir önceki güne göre %25 artması büyük ihtimalle sepsisi düşündürür (72).

2.7.1.2. Prokalsitonin (PCT)

Kalsitoninin propeptidi olan prokalsitonin, tiroid bezinin C-hücrelerinde üretilir. Normalde dolaşımda çok az miktarda bulunur. Sağlıklı kişilerde serum düzeyi 0.1 ng/ml'nin altındadır (73). Yarılanma ömrü yaklaşık 22-23 saattir (74). Ama böbrek fonksiyon bozukluğunda yarı ömrü %30 kadar uzayabilir.

Prokalsitonin ciddi bakteriyel enfeksiyonlarda yararlı bir biyobelirteçtir ama viral enfeksiyonu göstermez. Eğer lokal bir enfeksiyon varsa PCT değeri yükselmez. Enfeksiyon sistemik inflamatuar cevapla birlikte olduğunda PCT yükselir. PCT ölçümü enfeksiyöz SIRS'ı non-enfeksiyöz SIRS'tan ayırt etmede kullanılabilir. Sepsisi olmayan pnömonili hastalarda ortalama PCT seviyesi 2,4 ng/mL iken sepsis saptanan hastalarda 31 ng/mL olarak bulunmuştur (75). Sepsis sırasındaki PCT'nin nerede üretildiği tam olarak belli değildir. Ciddi sistemik enfeksiyonlar sırasında PCT muhtemelen tiroid dışı dokularda da üretilmektedir. Endotoksinler ve proinflamatuar sitokinler mononükleer lökositlerde PCT mRNA ekspresyonunu uyarırlar (76). Böylelikle mononükleer lökositler sepsiste PCT'nin en büyük kaynağını oluştururlar. Dandona ve ark.'nın sağlıklı gönüllülerde yaptıkları çalışmada tek sefer endotoksin enjeksiyonundan (4ng/kg) 4 saat sonra PCT salgılandığını bildirmişlerdir (77). PCT seviyesi altı saat sonra tepe noktasına ulaşır ve yaklaşık 24 saat bu

noktada kalır, bu davranış TNF-α ile paralellik gösterir. Sepsis sırasında PCT'nin patofizyolojik rolü hala tam olarak açıklanabilmiş değildir. Yapılan son çalışmalarda PCT'nin iNOS gen ekspresyonunu ve nitrik oksit sentezini, endotoksin, TNF-α ve interferon gama'da olduğu gibi *in vitro* olarak arttırdığı gösterilmiştir (78).

Prokalsitonin, otoimmün hastalıklar, ağır travma, cerrahi, kardiyak cerrahi veya kardiyojenik şok gibi non-enfeksiyöz durumlarda da yükselir. Doku inflamasyonu da PCT cevabını tetikleyebilir. PCT'nin travma, kardiyopulmoner bypass sonrası ve kardiyojenik şok sırasındaki artışının mekanizması tam olarak bilinmese de sadece barsak mukozasından hipoperfüzyon sonucu bakteri veya endotoksin translokasyonuna bağlı değil; doku travması, cerrahi ve sistemik enfeksiyona bağlı sitokin stimulasyonuna da bağlı olabileceği düşünülmektedir (79).

2.7.1.3. Myeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör ["The triggering receptor expressed on myeloid cells" (TREM-1)]

Nötrofiller ve monositler/makrofajlar doğal immünitenin primer mediatörleridirler ve aktive olduklarında TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuar sitokinlerin salınmasını teşvik ederek end-organ disfonksiyonuna katkı sağlarlar (80, 81). TREM-1, immünoglobulin süper ailesinin bir parçasıdır, bakteri veya mantarlara yanıt olarak upregüle olur ve liganda bağlandığında, sinyal transdüksiyon molekülü DAP12 aracılığıyla proinflamatuar sitokinlerin salınımını uyarır (82, 83).

Lipopolisakkarit enjekte edilen sağlıklı gönüllüler ve septik şok tanısı alan hastalarda TREM-1 ekspresyonunun yüksek olduğu gösterilmiştir (84, 85). TREM-1 ve TLR-4 aracılı yollar arasında karmaşık ve henüz tam anlamıyla anlaşılamamış bir ilişki bulunmaktadır. Fakat immün yanıtı artırmak için sinerjistik etki gösterirler (86-88). Enfeksiyöz durumların aksine, TREM-1'in inflamatuar bağırsak hastalığı ve SIRS gibi non-enfeksiyöz inflamatuar hastalıklarda up-regüle olmadığı gösterilmiştir (39). Ayrıca, TREM-1

modülasyonunun murin sepsis modellerinde koruyucu olduğu gösterilmiştir, bu da TREM-1'i potansiyel bir belirteç yapmaktadır (39, 89, 90).

Çeşitli çalışmalarda, bir tanı belirteci olarak TREM-1 kullanımı araştırılmıştır ve CRP ve PCT'den daha duyarlı ve daha özgül olduğu gösterilmiştir (91, 92). TREM-1'in çözünür bir formu (sTREM-1) aktif fagositik hücre zarlarından geçer ve insan vücut sıvılarında saptanabilir. Pnömoni şüphesi olan mekanik ventilasyondaki hastalar üzerinde yapılan bir prospektif çalışmada, bronkoalveolar sıvıdan hızlı immünoblot test ile elde edilen sTREM-1'in yararlı bir belirteç olduğu gösterilmiştir ve pnömoni teşhisi için standart parametreler ile karşılaştırıldığında en güçlü bağımsız belirleyici olduğu bildirilmiştir (91).

2.7.1.4. İnsan Lökosit Antijenleri ["Human Leukocyte Antigens" (HLA)]

Araştırmacıların 1944 yılında yaptıkları hayvan deneyleri ile organ transplantasyonunda görülen reaksiyonların immünolojik bir temele dayalı olduğu gösterilmiştir. Takip eden çalışmalarda, ilk kez insan lökositlerinde doku uygunluk antijenleri saptanmıştır. Bazı araştırıcılar da kan transfüzyonu yapılmış kişilerin serumlarında lökositlere karşı gelişmiş antikorların bulunduğunu kanıtlamışlar, yapılan çalışmalarla kendilerine karşı antikor gelişen antijenlerin sadece lökositlerde değil, doku hücrelerinde de bulunduğunu göstermişlerdir. Bu antijenler "Doku Uygunluk Antijenleri" veya "Transplantasyon Antijenleri" olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra 1967'de bu antijenlerin isimlendirilmesinde görüşbirliğine varılarak ilk kez lökositlerde gösterilmiş olmalarından dolayı "İnsan Lökosit Antijenleri" anlamına gelen "Human Leukocyte Antigens" (HLA) olarak kullanılmaya başlanmıştır (93). HLA antijenlerinin oluşması organizmada Majör Histokompatibilite Kompleksi ["Major Histocompatibility Complex Gen Region " (MHC)] adı verilen bir gen bölgesinin kontrolü altındadır. Bu gen bölgesi insanlarda 6 numaralı kromozomun kısa kolu üzerinde yer almaktadır. Üç ana gruba ayrılan bu bölgede MHC Sınıf-I (HLA-

A/B/C/E/F/G), MHC Sınıf-II (HLA-DR/DP/DQ/DO/DN) ve MHC Sınıf-III (C2, C4A, C4B, PF, TNF-α,β) antijenleri bulunur (94, 95).

HLA ve hastalık ilişkileri konusunda birçok teori ileri sürülmüş, bunlardan en çok üç tanesi kabul görmüştür.

a. İmmün cevap genleri teorisi: Hastalık etmenlerine karşı immünolojik cevabın kişinin genetik yapısıyla ilişkili olduğu, immün cevap genlerinin de HLA antijenleri gibi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunduğu ileri sürülmüştür. İmmün cevabı farklı kılan bu gen yapısındaki değişikliklerin yakın komşuluk sebebiyle HLA antijenlerini regüle eden genler ile tanımlanabileceği savunulmaktadır (96).

b. Antijenik benzerlik teorisi: HLA antijenleri ile bazı hastalık nedeni antijenlerin arasında benzerlik bulunması sebebiyle immün cevabın tam olmadığını ve bu hastalık etkeninin kronik hastalığa neden olduğunu ileri sürülmektedir (96).

c. Membran reseptörleri teorisi: Hücreler bulundukları ortam ile ilişkilerini yüzeylerindeki reseptörler ile sağlarlar. HLA antijenleri de hücre yüzeyinde bulunan reseptörler olarak kabul edilirse, hücrelerin aynı etken karsısında farklı cevap vermeleri mümkündür (96).

İkiz ve üvey çalışmaları insanlarda enfeksiyona yatkınlıktan konağın genetik faktörlerinin sorumlu olduğunu, patojen antijenlere karsı hücresel ve humoral immün cevapta katkılarının söz konusu olduğunu göstermiştir. Genetik çalışmalarına göre, insan enfeksiyon hastalıklarında immünogenetik polimorfizm söz konusudur (97). HLA varyasyonu ile malaryaya, tüberküloza, lepraya, AIDS ve hepatit virüslerine dirençli ya da yatkın olma arasında ilişki gösterilmiştir (98, 99). MHC kompleksi dışındaki genetik komponentlerden ise, TNF gen promoterindeki varyasyonlar, kemokin reseptör polimorfizmi, gama interferon reseptör mutasyonları, vitamin D ve NRAMP1 adlı bir makrofaj geni enfeksiyonlara yatkınlık ya da direnç ile ilişkilendirilmiştir (97).

2.7.1.5. HLA G5

HLA-G, doğal öldürücü (NK) hücreler ile etkileşen klasik olmayan bir MHC sınıf I tipi molekülü olup normal koşullarda trofoblastlar, amnion sıvısı ve timik epitelyal hücreler tarafından salgılanır. HLA-G nin yedi protein izoformu mevcut olup, HLA-G5 çözünebilir formlarındandır. $CD4^+$ T lenfosit proliferasyonunu baskılar ve NK hücreleri ile T hücre bağımlı sitolizi inhibe eder. Yapılan bazı çalışmalarda sepsis tanısı alan hastaların tanının ilk iki gününde bakılan HLA-G5 düzeyleri anlamlı yüksek saptanmış ve bu mortalite ile ilişkili bulunmuştur (11).

2.7.1.6. HLA-DR

HLA-DR, makrofajlar, dendritik hücreler ve B hücreleri gibi antijen sunan hücreler tarafından eksprese edilen ve hücre yüzeyinde yer alan MHC-II proteinlerindendir. HLA-DR miktarının azalması septik hastalarda immün yanıt bozukluğunu gösteren güvenilir bir parametredir. Monositlerde düşük HLA-DR düzeyinin sepsis şiddeti ve mortalite ile korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (100).

3. MATERYAL ve METOD

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 02.08.2011 tarih ve 2011/101 sayılı uygunluk kararı ile çalışmaya başlandı. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezine Kasım 2011-Haziran 2013 tarihleri arasında başvuran, sepsis ya da ağır sepsis tanısı alan 20 hasta ile 20 sağlıklı gönüllü aşağıda belirtilen kriterler göz önüne alınarak çalışmaya dahil edildi.

3.1. Hasta Grubu:

Uluslar arası sepsis kılavuzuna göre (13) sepsis ve ağır sepsis tanısı konan ve çalışmaya katılmak için gönüllü olan, 18-65 yaş arası, bilinen herhangi bir alt hastalığı olmayan 20 hasta çalışmaya alındı. Travma, otoimmün hastalık, HIV enfeksiyonu, gebelik, akut/kronik pankreatit, hepatit B ve C enfeksiyonu, yanık, kronik böbrek yetmezliği, steroid kullanımı, nötropeni, diyabet, malignite, immünsupresif ilaç kullanımı öyküsü olan hastalar araştırmaya alınmadı. Hasta grubunda hastalık şiddeti göstergesi olarak Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi ["Acute Physiology and Chronic Health Evaluation" (APACHE)] II skor değerleri kullanıldı. Çalışmaya alınan hastaların APACHE II skorları, sepsis tanısı konulduğu ilk gün hesaplandı ve kaydedildi.

3.2. Kontrol Grubu:

Herhangi bir şikayeti ve alt hastalığı bulunmayan, bu çalışmaya katılmak için gönüllü olanlardan çalışmaya alınan hastalar ile yaş ve cinsiyet açısından benzerlik gösteren 20 kişi kontrol grubu olarak seçildi.

3.3. Materyallerin Toplanması ve Saklanması:

Çalışmaya alınan hastalardan sepsis veya ağır sepsis tanısının konulduğu ilk gün antibakteriyel tedaviye başlamadan önce periferik kanları alındı. Hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden alınan periferik kan heparinli tüpte toplanıp, alınır alınmaz immünfenotipleme analizi için akım sitometri yöntemiyle çalışıldı.

sHLA-G5 ve sTREM-1 ölçümü periferik kandan ayrılan serum örnekleriyle yapıldı. Toplanan serum örnekleri çalışma zamanına kadar -80°C derin dondurucuda (Heraeus) muhafaza edildi.

Hastalardan enfeksiyon odaklarına yönelik olarak idrar, balgam, yara yeri, apse ve perifer kan kültürleri alındı ve üremeler kaydedildi.

3.4. Periferik kanda immünofenotipleme ve sHLA-G5 ve sTREM-1 düzeyinin saptanması:

Sepsis ve ağır sepsis tanısı almış hastalar ve sağlıklı gönüllülerin periferik kanlarında immünfenotipleme akım sitometri yöntemi ile sistemik dolaşımda sHLA-G5 ve sTREM-1 düzeyi “enzyme-linked immunosorbant assay” (ELISA) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

3.4.1. Heparinize periferik kan örneklerinde, akım sitometri yöntemi ile lenfosit-monosit-granülosit oranları:

Heparinize periferik kan örneklerinde akım sitometri yöntemi ile lenfosit-monosit-granülosit oranları; lenfosit alt grupları (T- ve B- lenfositler), monosit

oranı ve bu hücrelerde HLA-DR ifade edilme yüzdesi tespit edildi. Periferik kanda immünfenotipleme amacıyla fikoeritrin (Pe) ve floresan izotiyosiyanat (FITC) işaretli anti-insan monoklonal antikorları kullanıldı. Lenfoid ve myeloid seri hücrelerini tanımlamak amacıyla FITC işaretli anti-insan CD45 ve Pe işaretli anti-insan CD14 antikorları; T- ve B-lenfosit hücre gruplarını tanımlamak amacıyla FITC işaretli anti-insan CD3 ve Pe işaretli anti-insan CD19 antikorları, yardımcı ve sitotoksik T-lenfosit alt gruplarını belirlemek amacıyla FITC işaretli anti-insan CD4 ve Pe işaretli anti-insan CD8, aktive T-lenfosit ve monosit populasyonlarını belirlemek amacıyla Pe işaretli anti-insan HLA-DR, doğal öldürücü (NK) ve NK-T hücrelerini belirlemek amacıyla FITC işaretli anti-insan CD3 ve Pe işaretli anti-insan $CD16^{+}56$ monoklonal antikorları kullanıldı. İmmünfenotipleme için periferik kan 100 µL uygun tüplere dağıtıldıktan sonra, yukarıda belirtilen antikorlar uygun floresan renk çiftleri olacak şekilde tüplere 10 µL hacimde dağıtıldı. Antikorların dağıtımı sonrası örnekler 1 saat +4°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben periferik kandaki eritrositler, eritrosit lizis solüsyonu ile patlatıldı. Eritrosit patlatma işlemi sonrası hücreler fosfat tampon solüsyonu ["Phosphate Buffered Solution" (PBS)] ile iki defa yıkanarak +4°C'de 1400 rpm'de santrifüj edildi. Son yıkama sonrası hücreler 300 µL PBS ile süspanse edildikten sonra akım sitometri cihazında (FACSCanto™ II; BD BioSciences, USA) analizi gerçekleştirildi. Hücre gruplarının yüzdeleri FACS Diva (BD BioScience, USA) bilgisayar programı kullanılarak saptandı.

3.4.2. Serum örneklerinde sTREM-1 düzeyi ölçümü:

Serum örneklerinde sTREM-1 düzeyi kantitatif sandviç ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Ticari amaçla satılan sTREM-1 ELISA kitinde (ADIPO BIOSCIENCE, Santa Clara, CA, USA) belirtilen yöntem takip edilerek serum örneklerinde sTREM-1 ölçümü yapıldı. Ölçüm sonunda kit içerisinde bulunan, konsantrasyonları bilinen sTREM-1 standartlarının vermiş olduğu optik dansite değerleri kullanılarak standart sTREM-1 grafiği çizildi. Örneklerdeki sTREM-1 konsantrasyonu standart sTREM-1 grafiği kullanılarak Microsoft Excel programında analiz edildi. Kullanılan kitin ölçüm duyarlılığı 47 pg/mL idi.

3.4.3. Serum örneklerinde sHLA-G5 düzeyi ölçümü:

Serum örneklerinde sHLA-G düzeyi kantitatif sandviç ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Ticari amaçlı satılan sHLA-G ELISA kitinde (BIOVENDOR-Laboratorni Medicina A.S., Karasek, Czech Republic) belirtilen yöntem takip edilerek serum örneklerinde sHLA-G5 ölçümü yapıldı. Ölçüm sonunda kit içerisinde bulunan konsantrasyonları bilinen sHLA-G5 standartlarının vermiş olduğu optik dansite değerleri kullanılarak standart sHLA-G5 grafiği çizildi. Örneklerdeki sHLA-G5 konsantrasyonu standart sHLA-G5 grafiği kullanılarak Microsoft Excel programında analiz edildi. Kullanılan kitin ölçüm duyarlılığı 3 Ünite/mL idi.

Kullanılan Çözelti ve Tamponlar: PBS: [(150 mM NaCl, 30 mM KCl, 15 mM Na_2HPO_4, 2 mM KH_2PO_4, pH 7.4)]

3.5. İstatiksel Hesaplama:

Araştırmadan elde edilen veriler SPSS 17.0 istatistik programı kullanılarak analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama (ort) ± Standart sapma (SS), kategorik değişkenler sayı ve % olarak verildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılımı Shapiro Wilk normallik testi ile analiz edildi. Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında; normal dağılım gösteren sürekli değişkenler (yaş, $CD4^+$ T-lenfositler, granülosit) için "unpaired" T-testi, göstermeyenler (lenfosit, monosit, $CD14^+$, $CD14^+$HLA-DR^+, $CD14^+$HLA-DR^- monosit, $CD19^+$ B-lenfosit, $CD3^+$, $CD8^+$, $CD3^+$HLA-DR^+ T-lenfositler, NK ve NK-T hücreler [$CD3^+CD16^+CD56^+$], sTREM-1, sHLA-G, $CD4^+/CD8^+$ T-lenfosit oranı) için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Hasta grubunda granülosit, monosit, APACHE skoru, sTREM-1, sHLA-G, $CD19^+$ B-lenfosit, $CD3^+$ ve $CD3^+$HLA-DR^+ T-lenfosit, $CD14^+$ ve $CD14^+$HLA-$DR^{+/-}$ monosit arasında ilişki Spearman's korelasyon analizi kullanılarak saptandı. $p<0.05$, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

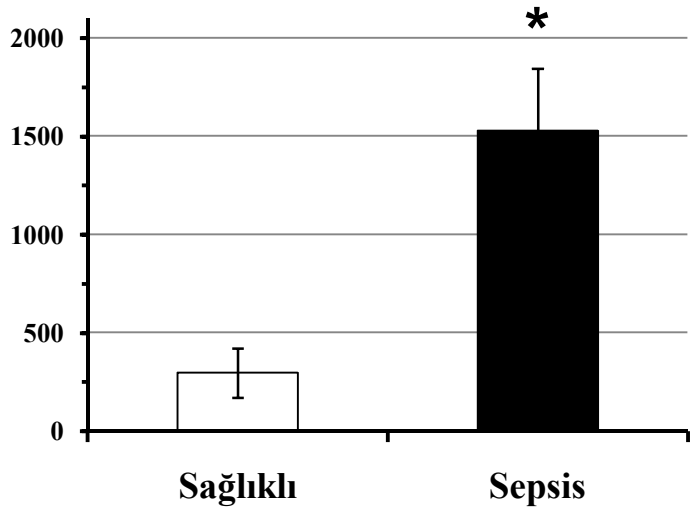
Çalışmaya 20 sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta ile 20 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Hastaların cinsiyetleri ve yaşları Tablo 4'te gösterildi.

Tablo 4. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamasına göre dağılımı.

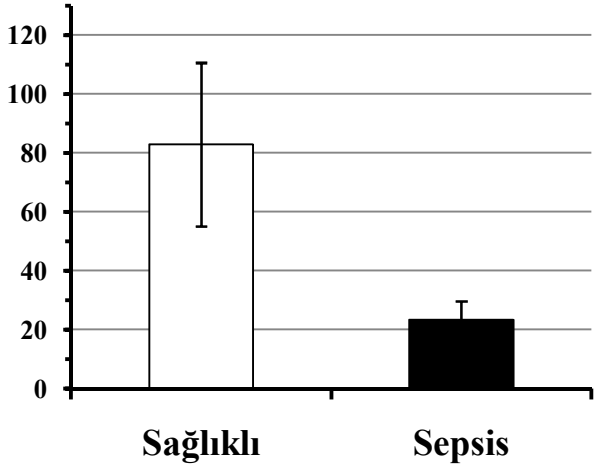
	Hasta grubu	**Kontrol grubu**	**p**
Erkek n(%)	15 (75)	12 (60)	
Kadın n(%)	5 (25)	8 (40)	0,311
Yaş ortalaması±SS	40,3±14,4	40,4±14,5	0,983
(min.-maks.)	(18-63)	(19-64)	

Yirmi hastanın 9 (%45)'undan alınan kültürlerinde en az bir üreme oldu. Çalışmaya alınan hastaların 16 (%80)'sı sepsis, 4 (%20)'ü de ağır sepsis tanısı aldı. Hasta grubunda sepsis ve ağır sepsise neden olan enfeksiyonun kaynağı ise; 9 (%45) hastada üriner sistem enfeksiyonu, 5 (%25) hastada alt solunum yolu enfeksiyonu, 3 (%15) hastada deri ve yumuşak doku, 1 (%5) hastada batın ve 1 (%5) hastada kan dolaşımı enfeksiyonu olarak saptanırken, 1 (%5) hastada enfeksiyon kaynağı belirlenemedi. Bu enfeksiyonların 5 (%25)'i hastane kaynaklı iken, 15 (%75)'i toplum kaynaklıydı.

Hasta grubundaki sTREM-1 düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek (p=0.0001) saptandı (Grafik 1).



Grafik 1. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 düzeyleri. (* işareti istatiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.)



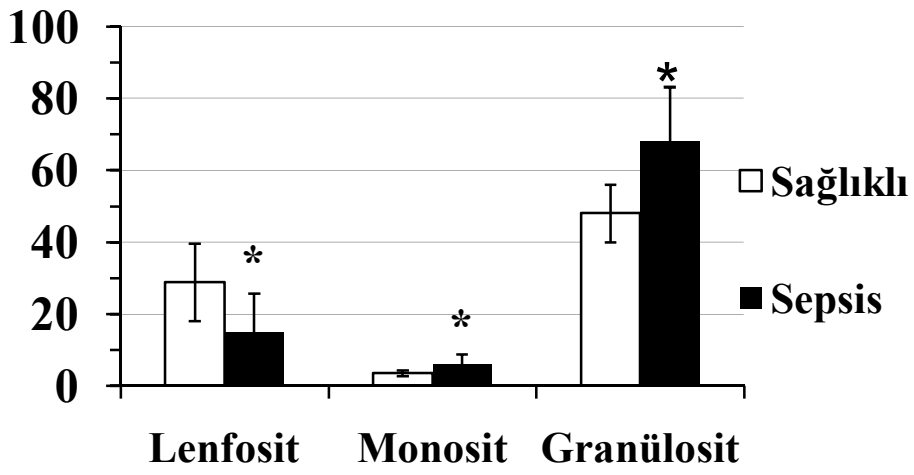
Grafik 2. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun sHLA-G5 düzeyleri.

Hasta grubundaki sHLA-G5 düzeyleri ile kontrol grubu arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Grafik 2). Her iki gruba ait sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeyleri Tablo 5'te gösterildi.

Tablo 5. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeyleri.

Parametreler	Hasta	Kontrol	p
sTREM-1±SS (pg/ml)	1526,5±1428,3	371,1±678,6	0,0001
(min.-maks)	(770-6985)	(0-2063,4)	
sHLA-G5±SS (U/ml)	23,5±27,9	80,4±123,9	0,786
(min.-maks.)	(2,3-107)	(0-384,1)	

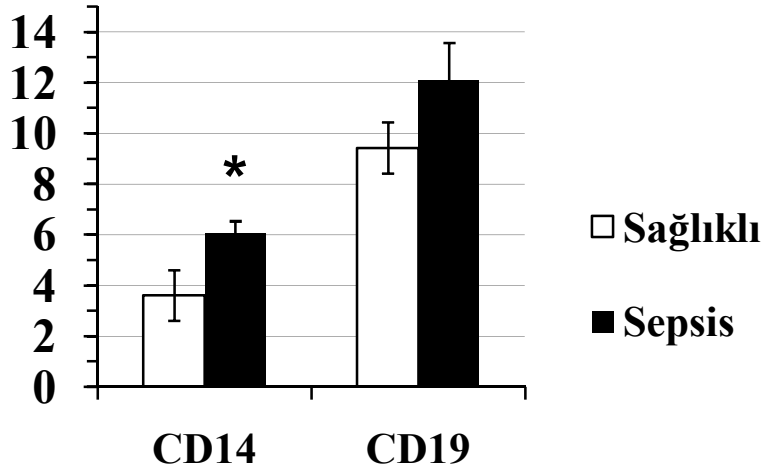
Hasta grubu ile kontrol grubunun periferik kandan çalışılan lenfosit, monosit, granülosit, $CD14^+$ ve $CD14^+HLA\text{-}DR^{+/-}$ monosit, ve $CD3^+$ T-lenfosit, $CD19^+$ B-lenfosit, $CD3^+HLA\text{-}DR^+$, $CD4^+$ ve $CD8^+$ T-lenfosit, NK ve NK-T hücrelerinin sonuçları Grafik 3-7'de gösterildi.



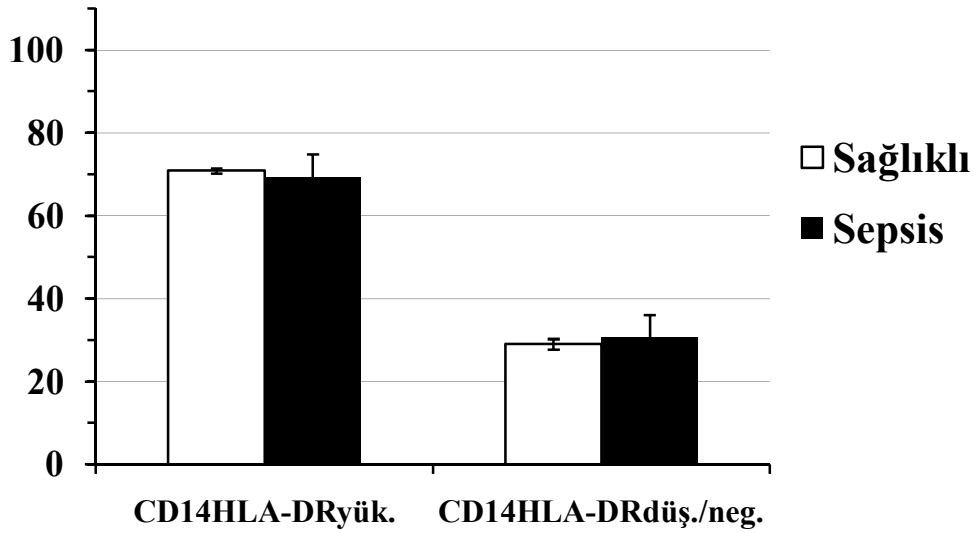
Grafik 3. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama lenfosit, monosit ve granülosit düzeyleri. (* işareti istatiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.)

Hasta grubu ile kontrol grubunun periferik kandan çalışılan kan lökosit gruplarının dağılımına bakıldığında hasta grubunun lenfosit, monosit ve

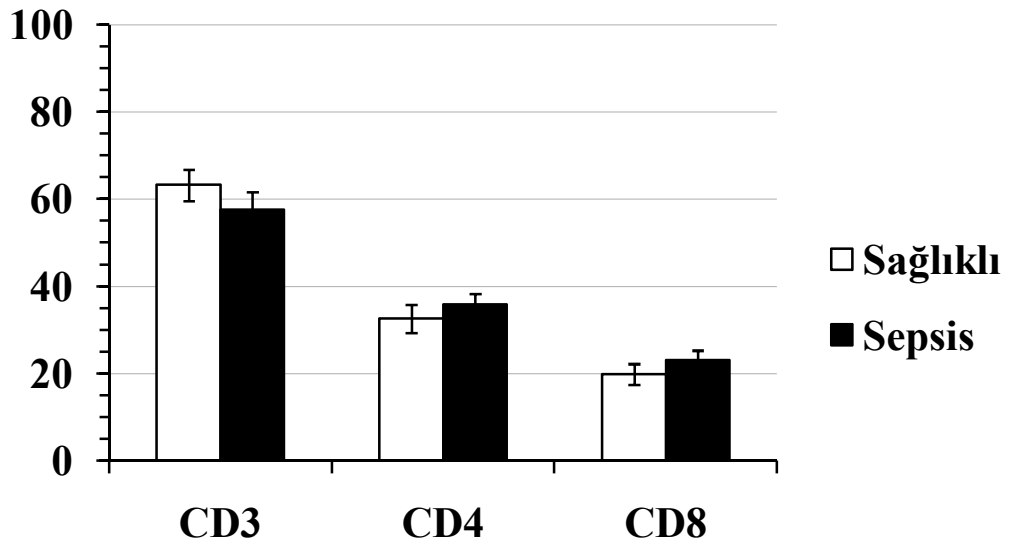
granülosit düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.



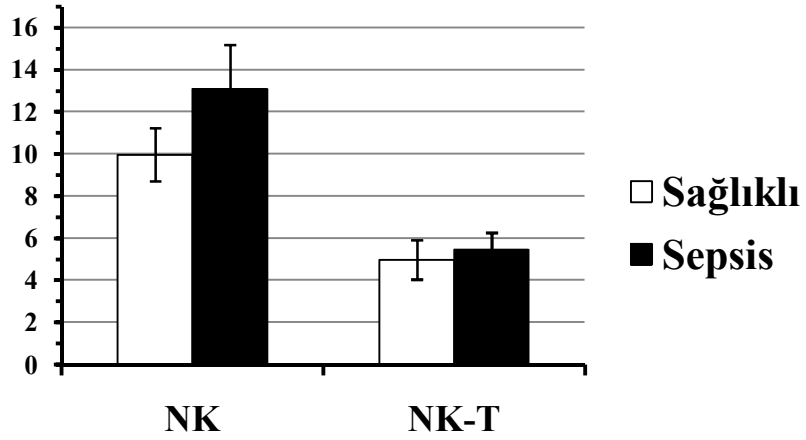
Grafik 4. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama CD14 monosit ve CD19 B-lenfosit düzeyleri. (* işareti istatiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.)



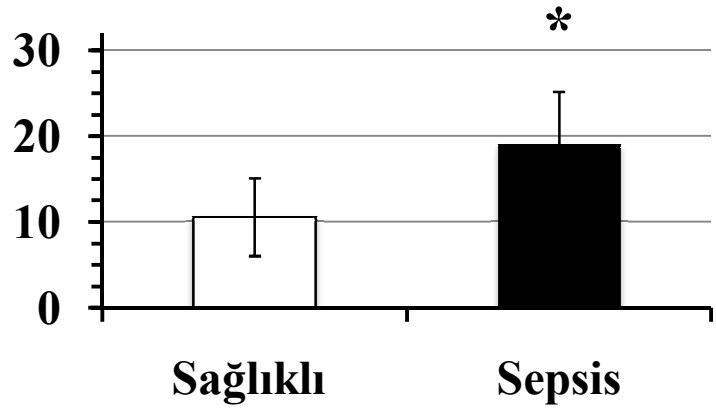
Grafik 5. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{+}$ ve $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{-}$ monosit düzeyleri.



Grafik 6. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama CD3, CD4 ve CD8 T-lenfosit düzeyleri.



Grafik 7. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama NK ve NK-T hücreleri düzeyleri.



Grafik 8. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalar ile kontrol grubunun ortalama $CD3^{+}HLA\text{-}DR^{+}$ T-lenfosit düzeyleri. (* işareti istatiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.)

Hasta ve kontrol grupları arasında $CD19^{+}$ B-lenfosit, $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{+/-}$ monosit, $CD3^{+}$ T-lenfositleri, $CD4^{+}$ ve $CD8^{+}$ T-lenfositleri, NK ve NK-T hücreleri, düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken; hasta grubunun $CD14^{+}$ monosit ve $CD3^{+}HLA\text{-}DR^{+}$ T-lenfosit düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Tablo 6).

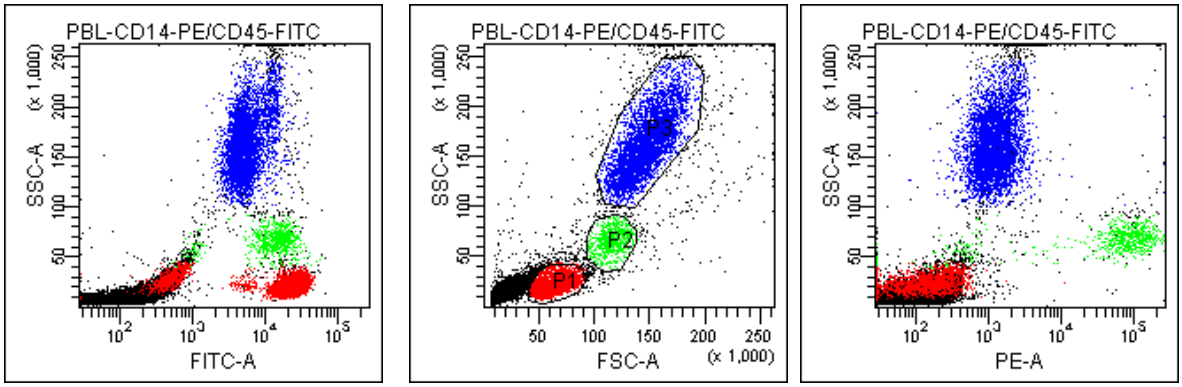
Tablo 6. Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastaların ve kontrol grubunun kan lökosit gruplarının dağılımı.

Lökosit grup ve alt grupları	Hasta grubu [Ortalama±SS (min-maks); (%)]	Kontrol grubu [Ortalama±SS (min-maks); (%)]	p
Lenfosit	15,1±7(4,9-29,9)	29,4±10,8(13-52,9)	0,0001
Monosit	6,1±2,8(1,4-11,6)	3,6±1,6(1,2-6,6)	0,002
Granülosit	68,1±13,9(16,9-83,9)	48,1±8(40,5-69,3)	0,0001
$CD14^+$ monosit	6±2,9(1,4-11,8)	3,6±1,5(1,2-6,2)	0,002
$CD14^+HLA\text{-}DR^+$ monosit	69,4±24,7(16,3-95,9)	70,9±11,6(34,5-93,4)	0,655
$CD14^+HLA\text{-}DR^-$ monosit	30,6±24,7(4,1-83,7)	29±11,6(6,6-65,5)	0,715
$CD3^+$T-lenfosit	57,7±14,2(38,2-78,0)	63,2±6,2(49,2-71,9)	0,351
$CD19^+$ B-lenfosit	12,1±6,7(2,6-32,8)	9,4±3,5(5,2-20)	0,099
$CD3^+HLA\text{-}DR^+$ T-lenfosit	19,1±11,9(3,8-48,4)	10,6±4,5(4,4-21,1)	0,006
$CD4^+$ T-lenfosit	35,9±10,7(7,5-54,9)	32,6±14,6(7,8-58,4)	0,419
$CD8^+$ T-lenfosit	23±10,2(3,6-49,6)	19,9±10,6(5,4-49,9)	0,310
NK hücreleri	13,1±9,3(1,2-40,7)	10±5,7(2-21,7)	0,298
NK-T hücreleri	5,4±3,6(0,6-14,7)	5±4,2(0,8-20,1)	0,379
$CD4^+/CD8^+$ T lenfosit	1,8±0,6(0,8-3,1)	1,8±0,8(0,4-4,4)	0,914

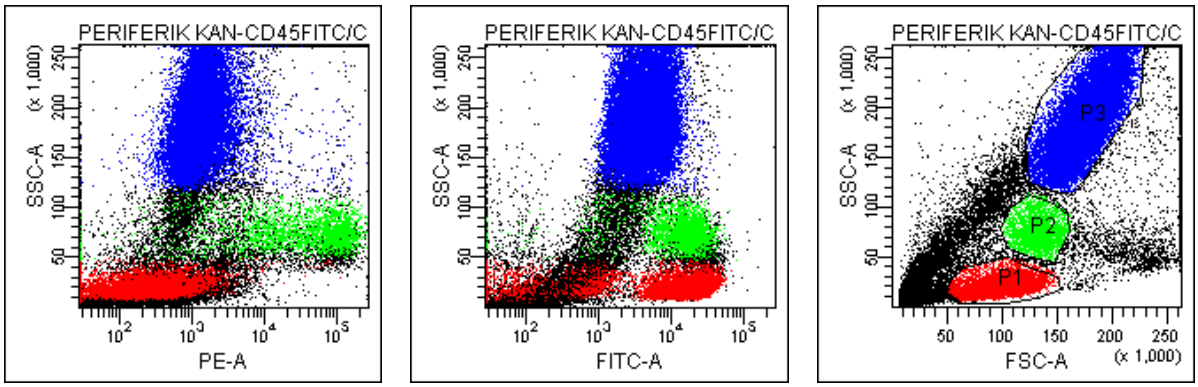
Hasta grubu ile kontrol grubunun temsili akım sitometri grafikleri Grafik 9-13'de sunulmuştur.

.

Sağlıklı

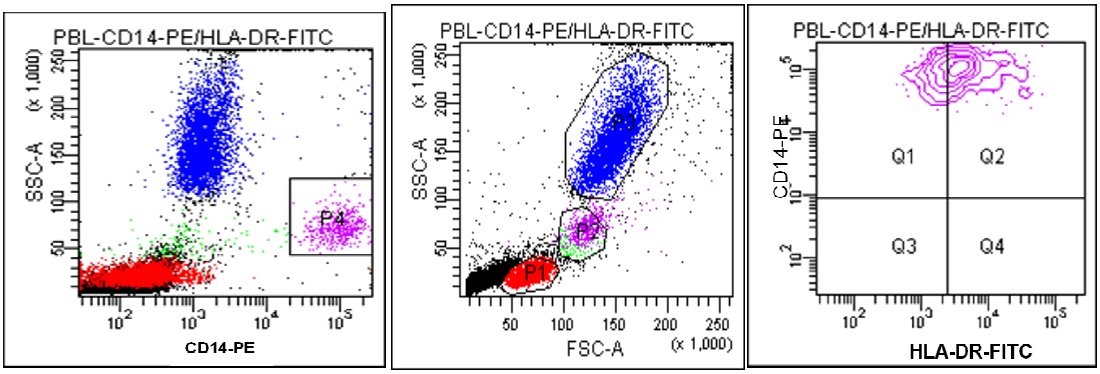


Hasta

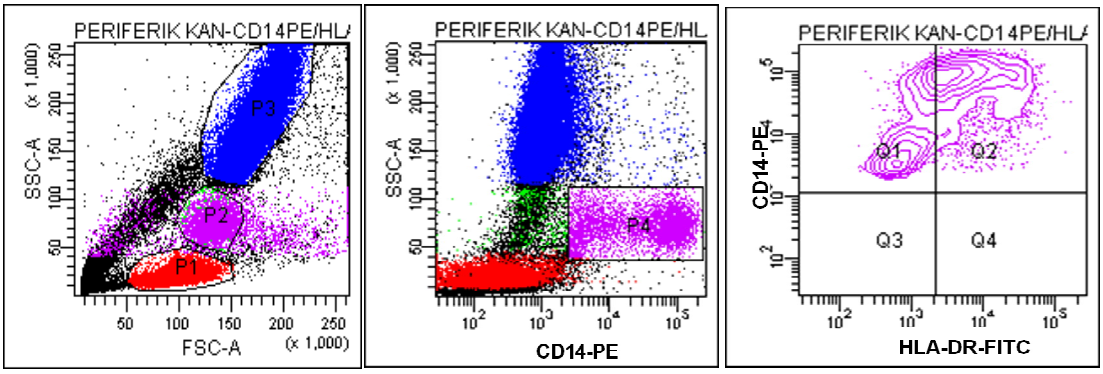


Grafik 9. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD45-FITC ve anti-CD14-Pe monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü.

Sağlıklı

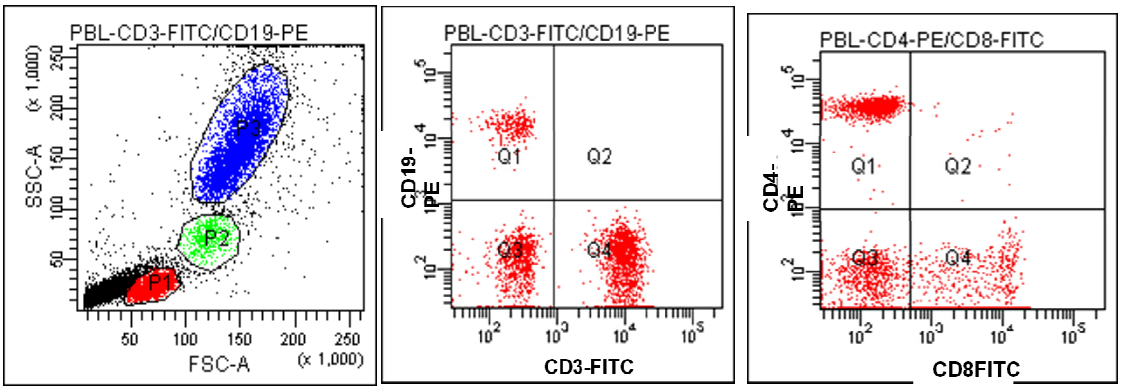


Hasta

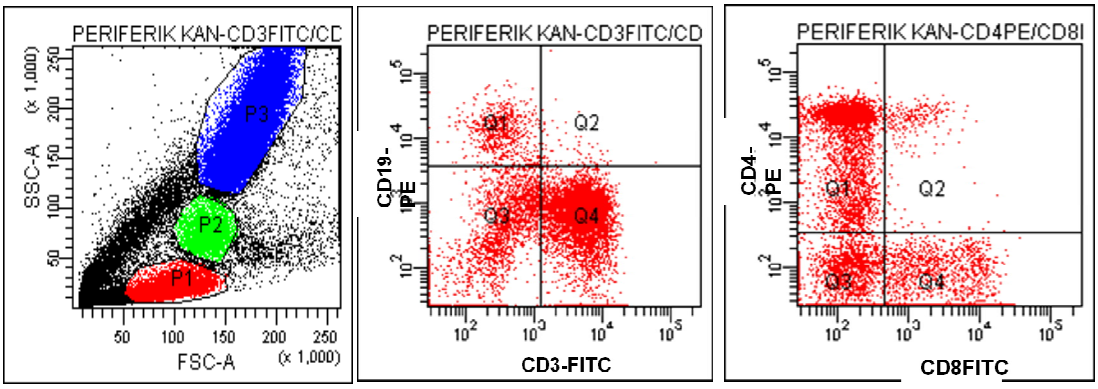


Grafik 10. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD14-Pe ve anti-HLA-DR-FITC monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü.

Sağlıklı

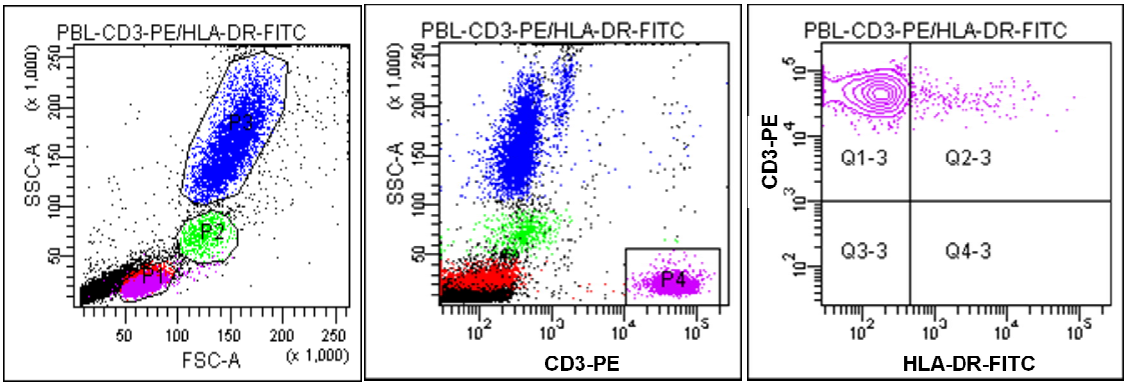


Hasta

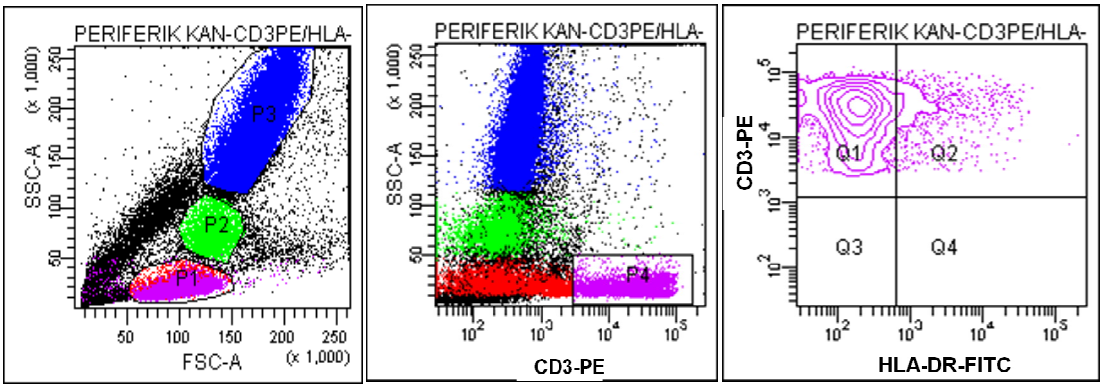


Grafik 11. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD3-FITC ve anti-CD19-Pe, anti-CD4-Pe ve anti-CD8-FITC monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü.

Sağlıklı

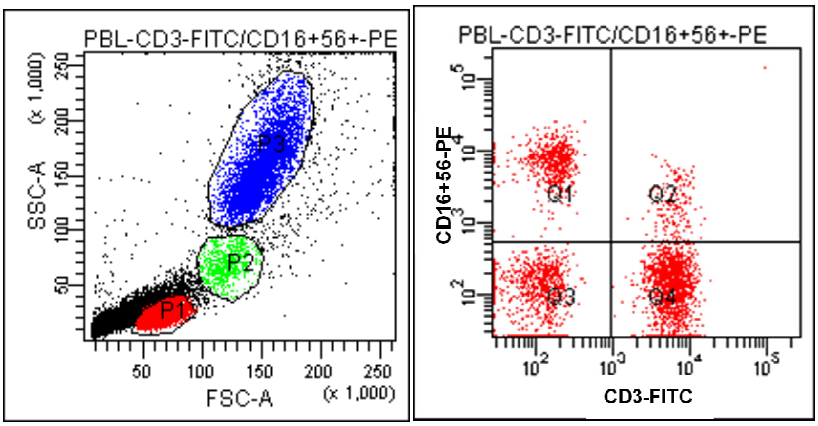


Hasta

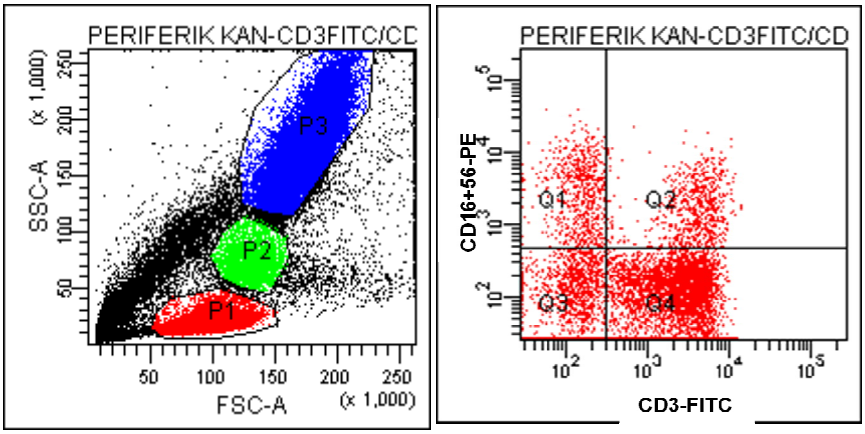


Grafik 12. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD3-Pe ve anti-HLA-DR-FITC monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü.

Sağlıklı



Hasta



Grafik 13. Sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kan örneklerinin anti-CD3-FITC ve anti-CD16^{+}56^{+}-Pe monoklonal antikorlarla işaretlenmesi sonrası temsili akım sitometri görüntüsü.

Hasta grubunda APACHE skoru, sTREM-1, sHLA-G, $CD14^+$ monosit, $CD14^+HLA\text{-}DR^{+/-}$ monosit, granülosit, $CD3^+$ T lenfosit, $CD3^+HLA\text{-}DR^+$ T-lenfosit, monosit ve $CD19^+$ B-lenfositlerin arasında korelasyon olup olmadığı araştırıldı. İstatiksel analiz sonucu anlamlı olan parametreler Tablo 7'de gösterilmiştir.

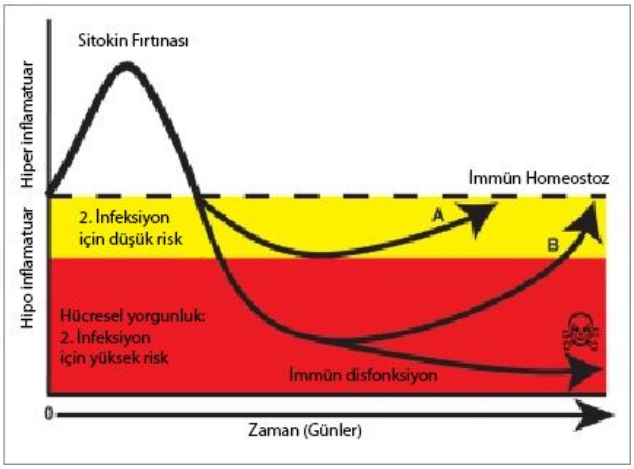
Tablo 7. Hastaların istatiksel olarak anlamlı olan parametrelerinin korelasyonu.

Korelasyonu Yapılan Parametreler		**p**
sTREM-1	**APACHE skoru**	0,0001
sTREM-1	**$CD19^+$ B lenfosit**	0,007
Granülosit	**sHLA-G**	0,047
Granülosit	**$CD19^+$ B-lenfosit**	0,042

5. TARTIŞMA

Sepsis, Amerika Birleşik Devletlerinde yoğun bakım ünitelerindeki yıllık yaklaşık 250.000 insanın başlıca ölüm nedenidir. Yeni tedavi algoritmalarında empirik geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve hasta yönetimindeki ilerlemelere rağmen ölüm oranının hala %30'lar düzeyinde olduğu bildirilmektedir (13, 101).

Sepsis esnasında konakta gelişen immün yanıt; eşlik eden hastalıklar (diyabet, kalp hastalıkları, malignite, v.s.), patojenin virülansı ve mikroorganizmanın dokuya geçiş düzeyi gibi birçok faktör tarafından etkilenmektedir. Sepsis esnasında hem proinflamatuar hem de antiinflamatuar mekanizmalar ilk bir kaç gün sürekli aktive edilse de, klinik görünüm artan düzeyde TNF-α, IL-1β ve IL-6 ile karakterize, 'sitokin fırtınası' adı verilen hiperinflamatuar yanıt ağırlıklıdır (Şekil 1). Sepsisin bu döneminde doğal ve kazanılmış immün yanıt hücrelerinin apoptozis ile yıkımı hiperinflamatuar yanıtı köreltmektedir (102).



ŞEKIL 1: Sepsiste immün yanit (102 no'lu referanstan alinmiştir)

Diğer yandan bu dönemde hastalarda gelişen kontrollü antiinflamatuar yanıt immün homeostazın geri dönmesini sağlar. Ancak, hastalarda gelişen kontrolsüz antiinflamatuar yanıt ile hastada hipoinflamatuar yanıt başlar. Hastanın hipoinflamatuar dönemde uzun zaman geçirmesi immün sistem hücrelerinin yorulmasına neden olabilir. Bu durum T-lenfositlerde artan PD-1 ve azalan CD127 (IL-7R) ifadesi ile karakterize olup, hücrelerde fonksiyonel bozukluğa da neden olmaktadır. Dolayısıyla hasta, bu dönemde tam bir immün yanıt geliştiremez. Sıklıkla avirulan veya fırsatçı mikroorganizmalara bağlı sekonder enfeksiyonlar ve viral reaktivasyon görülebilir (103).

Hem doğal hem de kazanılmış immün yanıt parçaları sepsis sonrası hem fonksiyonel hem de hücre döngüsü düzeyinde etkilenmektedir. Klinik araştırmalarda ağır sepsis hastalarının sendromun ilk saatlerinde yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirdikleri ancak, immün baskılanmanın başlaması ile hastalarda ölümün gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bu immün yetersizlik, hastaların primer bakteriyel enfeksiyon kaynakları ile mücadelesini zorlaştırmakta ve sonrasında gelişecek olan sekonder nozokomiyal enfeksiyonlar ve viral reaktivasyonlara zemin hazırlamaktadır. Geçtiğimiz 5-10 yıl arasında sepsis esnasında doğal immün yanıtın verdiği reaksiyonlar araştırılmış ve bu araştırmalar özellikle monosit HLA-DR ilişkisi üzerine yoğunlaşmıştır. Sepsis esnasında kazanılmış immün yanıt düzeyi ve aktivasyonu hakkında çok fazla araştırma yapılamamıştır. Araştırmamızın birinci

basamağında sepsis hastalarının periferik kanlarında yer alan doğal ve kazanılmış immün yanıt hücrelerinin sıklığı ve aktivasyon düzeyi hakkında bilgi edinilmiştir. İkinci basamağında ise, sepsis esnasında serumda arttığı bilinen sTREM-1 düzeyi ve bu artışa karşın immün yanıtın baskılanmasında rol alan sHLA-G5 düzeyinin ne yönde seyrettiği araştırılmıştır. Araştırmamızın son basamağında ise doğal ve kazanılmış immün yanıt fenotipinin sTREM-1 ve sHLA-G5 ile korelasyonu araştırılmıştır. Elde edilen veriler sayesinde sepsis esnasında doğal ve kazanılmış immün yanıt patogenezi hakkında ve sepsisin erken tanısında yararlı olabilecek veriler elde edilmiştir.

Araştırmamız sonucunda, sepsis hastalarının monosit ve granülosit miktarlarında sağlıklı bireylere göre belirgin bir artış saptanmıştır. Monosit /makrofaj sistemi, akut ve kronik inflamatuar reaksiyonlarda konak savunmasında baş aktörlerdendir. Schinkel ve ark.larının araştırmasında sepsis esnasında monosit sayısında artış olduğu gösterilmiştir (103). Ancak, monosit yüzeyindeki CD14 miktarı konusunda monosit miktarında olduğu gibi net bir sonuca varılamamıştır, çünkü bir kısım çalışmada sepsis esnasında monosit yüzeyinde CD14 miktarının sağlıklı bireylere göre azaldığı bir kısım çalışmada ise herhangi bir değişiklik göstermediği belirtilmiştir (104-107). Buna ek olarak erişkinlerde sepsis esnasında monosit yüzeyinde HLA-DR'nin ifade edilme düzeyi cerrahi operasyonlar ve travma sonrası septik komplikasyonlar için bir belirteç olmuştur (33,34). Haveman ve ark., karaciğer transplantasyonu sonrası monosit popülasyonunda HLA-DR ifadesindeki azalmanın bakteri kaynaklı sepsisi işaret ettiğini göstermişlerdir (35). Bir diğer çalışmada ise Hershman ve ark., monosit HLA-DR düzeyinin travma hastalarının klinik gidişini gösteren bir işaret olabileceğini bildirmişlerdir (33). Bu noktada önemle belirtmek gerekir ki, monositlerde HLA-DR düzeyinin düşük olması HLA-DR$^{düşük/negatif}$ ifade eden CD14^{+} monositlerin immün baskılayıcı etki göstermesinden kaynaklanmaktadır. Nitekim, Lin ve ark.'nın çalışmasında non-Hodgkin lenfoma, hepatoselüler karsinoma, melanoma, pediatrik akut lösemi, lenfoma gibi malign hastalıklarda ve pankreatit, karaciğer yetmezlikleri gibi malign olmayan hastalıklarda immün yanıtı baskılayıcı özelliği olan CD14^{+}HLA-DR$^{düşük/negatif}$ popülasyonda artış

olduğu gösterilmiştir (108). Araştırmamız sonucunda sepsis hastalarında $CD14^+$ monosit popülasyonunun belirgin düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır. Ne var ki mevcut çalışmalardan farklı olarak $CD14^+$ monosit popülasyonu içerisinde $HLA\text{-}DR^{düşük/negatif}$ içeren hücre yüzdesi sağlıklı bireylerle hemen hemen aynı düzeyde bulunmuştur. Hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında bu parametrede bir fark bulunamamasının nedeni hastaların %80'inin sepsis ve %20'sinin ağır sepsis klinik görünümünde olması olabilir. Bilindiği üzere, ağır sepsis döneminde immün sistemi hipoinflamatuar yanıt durumuna geçiren immün yanıtı baskılayıcı monosit ve T-lenfosit hücreler yoğun olarak bulunmaktadır (102). Janols ve ark.ları araştırmalarında septik şok ve gram pozitif sepsis hastalarında $CD14^+HLA\text{-}DR^{düşük/negatif}$ düzeyinde belirgin artış saptarken, gram negatif sepsis ve viral enfeksiyonu olan hastalarda normal düzeyde bulmuşlardır. Buna paralel olarak da gram negatif sepsisli hastalarda proinflamatuar immün yanıta işaret eden, immün baskılayıcı yanıtın saptanmadığı bildirilmiştir (109).

Sepsis esnasında kazanılmış hücresel immün yanıtın düzeyini saptamak amacıyla, B-lenfosit ve T-lenfosit düzeyleri yanında T-lenfosit aktivasyonu HLA-DR düzeyi ölçülerek araştırılmıştır. Hem doğal immün yanıtta hem de kazanılmış immün yanıtta etkin rol üstlenen B-lenfositlerin sepsis patogenezindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. Darton ve ark., invaziv pnömokok enfeksiyonu sonrasında iyileşen bireylerde fonksiyonel bozukluk gösteren B-lenfositleri saptamışlardır (110). Ayrıca, Monserrat ve ark.'nın septik şok geçiren hastaların periferik kan B-lenfosit alt gruplarını ve aktivasyon düzeylerini araştırdıkları çalışmada hastalarda lenfopeni saptanmış ve buna ilaveten $CD19^+$ B-lenfosit düzeyinde sağlıklı bireylere göre belirgin düzeyde azalma tespit edilmiştir. B-lenfosit aktivasyon belirteçleri üzerinde yaptıkları araştırmada erken aktivasyon belirteci CD69 ifade eden B-lenfosit yüzdesi, yaşayan ve ölen sepsis hastalarında sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca, CD23 taşıyan $CD19^+$ immün yanıtı düzenleyici B-lenfositlerde septik şok hastalarında sağlıklı bireylere göre belirgin düzeyde azalma saptanmıştır (111). Bilindiği üzere lipopolisakkarit (LPS) gram negatif bakterilerin başlıca dış membran komponenti olup, hidrofilik polisakkarit yapılardan oluşan O antijeni ile

hidrofobik özellikteki lipid A'dan oluşur. Lipid A, molekülün biyolojik etkilerinden sorumludur ve inflamasyon patogenezinde rol alan temel moleküldür. Serbest LPS, LPS bağlayan protein (LBP) ile kompleks yapmış olarak taşınır ve monosit-makrofaj ve nötrofil hücre yüzeyinde bulunan CD14 reseptörüne (mCD14) bağlanır. Dolayısıyla ortamda LPS varlığında mCD14 miktarında artış olması immünolojik bir reaksiyondur. Bick ve ark., değişik gram negatif bakterilerden izole ettikleri parçaların periferik kan lenfositleri ile inkübasyonu sonrası poliklonal antikor yanıtının geliştiğini tespit ederek, bu izolatların poliklonal B-lenfosit aktivasyonuna neden olduğunu belirtmişlerdir (112-115). Araştırmamızda sepsis hastalarının periferik kan $CD19^+$ B-lenfosit oranında kontrol grubuna göre belirgin bir fark saptanmamıştır. Ancak, çalışmamızda sepsis hastalarında B-lenfositlerin özgül aktivasyonuna işaret edecek bir parametre bulunmadığından, sepsis hasta grubunda özgül B-lenfosit varlığı veya yokluğu ile ilgili bir yorum yapılamamaktadır. Dolayısıyla ileri çalışmalarla sepsis hastalarının izole edilen etkenlerle uyarılması sonrası B-lenfosit çoğalması ve aktivasyonu araştırılabilir.

T-lenfositlerin antijen sunucu hücreler gibi antijeni işleyip sunma fonksiyonları yoktur. Dolayısıyla bu amaca yönelik olarak kullanılan MHC Sınıf II molekülü bulundurmamalarına karşın, sadece insan T lenfositlerine özgü olmak üzere aktive olduklarında yüzeylerinde HLA-DR molekülünü ifade ederler. Bu özellik aynı zamanda insan T-lenfosit alt gruplarında da bulunmaktadır (25). Holub ve ark., 40 sepsis hastasında yaptıkları araştırmada hastaların periferik kanlarında total T-lenfosit ve $CD4^+$ T-lenfosit sayısında belirgin azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmalarının diğer bir bölümünde ise, aktive T-lenfosit ($CD3^+HLA\text{-}DR^+$) sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak Holub ve ark. sepsis hastalarının periferik kan $CD8^+$, NK hücre sayılarında ve CD4/CD8 oranında belirgin azalma olduğunu tespit etmişlerdir (116). Janols ve ark., sepsis hastalarını gruplandırarak yaptıkları araştırmada sağlıklı gönüllülerin periferik kan mononükleer hücre düzeylerini sepsis, gram negatif sepsis ve gram pozitif sepsisli hastaların değerleri ile karşılaştırmışlar ve Holub ve ark.'dan farklı olarak gruplar arasında aktive T-lenfosit düzeyi bakımından bir fark bulamamışlardır. Buna karşın, aktive T-lenfosit yüzdesinin

en fazla değişkenlik gösterdiği grubun gram pozitif sepsisli hastalar olduğunu saptamışlardır (109). Araştırmamız sonucunda sepsisli hastaların periferik kanlarında $CD3^+$, $CD4^+$ ve $CD8^+$ T-lenfositlerin oranlarında sağlıklı gruba göre bir fark saptanmamıştır. Ancak, yukarıdaki çalışmaların sonuçları ile farklı olarak sepsis hastalarında aktive T-lenfosit düzeyinde sağlıklı bireylere göre belirgin bir artış saptanmıştır. Yakın zamanda yapılan çalışmalar aslında T-lenfositlerin de bakterilere karşı immün yanıtta etkin olduklarını göstermektedir. Polisakkarit ile ilişkili lipid, CD1 molekülü aracılığı ile T-lenfositleri uyarabilmektedir (117). Ayrıca, abse oluşumuna neden olan bakteriyel enfeksiyonlarda IL-17 salınımında aktive $CD4^+$ T lenfositlerin (Th17) etkin oldukları da bildirilmiştir (118). Bizim çalışmamızda hangi T-lenfosit grubunun aktif olduğu ayrıntılı araştırılmadığından total T-lenfosit grubuna yönelik veriler sunulmuştur.

Çözünür HLA-G5, immün sistemin farklı kollarına etki eden immün yanıtı düzenleyici moleküllerden biridir. Sadece T-lenfosit yanıtını baskılamakla kalmaz aynı zamanda doğal immün sistemi üzerinde de baskılayıcı etki gösterir. Monneret ve ark. tarafından sepsis tanısı almış 64 hastanın yedi günlük klinik takibi esnasında yapılan araştırmada, hem hücre membranında, hem de plazmada çözünür formda HLA-G5 düzeyleri üç farklı zaman diliminde araştırılmıştır. Araştırmanın sonucunda septik şok hastalarının plazmalarında sHLA-G5 düzeyinde belirgin artış olduğu tespit edilmiştir. Bu artışın hayatta kalanlarda ölenlere göre her üç zaman diliminde de belirgin düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (11). Araştırmamızda sepsisli hastalarda sHLA-G5 düzeyi sağlıklı bireylerin değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Her ne kadar Monneret ve ark.'nın yaptıkları çalışmada sepsisli hastaların plazma örneklerinde belirgin düzeyde sHLA-G5 saptamış olsalar da, bu analizin sağlıklı bireylerin verileri ile karşılaştırılması yapılmamıştır. Urbonas ve ark. ise, pediatrik onkoloji hastalarında sepsis erken tanısı amacıyla, febril nötropeni tanısı almış çocuklarda sHLA-G düzeyini araştırmışlar ve araştırmalarının sonucunda sHLA-G'nin bu hastalarda sepsis tanısı için yeterli düzeyde güvenilir bir belirteç olmadığını belirtmişlerdir (119). Değişik araştırmalarda sHLA-G düzeylerinin farklı seyretmesi, sepsiste immün yanıtın birbirine zıt iki dönemde gerçekleşmesinden dolayı olabilir. Belki de sHLA-G

düzeylerinin, hayatta kalan sepsis hastaları ile ölenler arasında belirgin bir fark göstermesi bu nedenden dolayıdır. Ayrıca, daha önce yukarıda farklı çalışmalardan da örnek verildiği gibi sepsise neden olan etkenlerin farklı yönde immün yanıt oluşturmasından da kaynaklanıyor olabilir.

TREM-1; nötrofil, monosit, makrofaj yüzeyinde bulunan, TLR tarafından başlatılan inflamatuar yanıtı arttıran ve sinyal yolaklarını DAP12 molekülünün yardımı ile aktive eden immünoglobulin süper ailesi üyesi reseptörlerdir. Bouchon ve ark. tarafından, TREM-1 ile ilişkili yaptıkları çalışmada bakteri varlığında TREM-1 ifadesinin nötrofil ve monositlerde arttığı, ancak enfeksiyöz olmayan inflamasyonlarda bir artış olmadığı saptanmıştır (39). Gibot ve ark. da septik hastalarda artan hücre yüzeyindeki TREM-1 ifadesinin plazmada çözünür formdaki sTREM-1 artışına da neden olduğunu göstermişlerdir (91). Araştırmamızda diğer araştırma gruplarının verileri ile uyumlu olarak sepsis ve ağır sepsis hastalarının dolaşımında sTREM-1 düzeyinin sağlıklı bireylere göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir.

Hasta grubunda hastalığın şiddetinin göstergesi olarak APACHE sistemi kullanılmış olup ilk olarak 1981'de Knaus ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Yoğun bakım ünitelerinde sağ kalımın takibinde yaygın olarak kullanılmaktadır. APACHE II puanlama sistemi akut fizyolojik puanlama, yaş değerlendirmesi ve kronik sağlık değerlendirmesi olarak 3 bölümden oluşmaktadır. Akut fizyolojik puanlama hastanın vital bulguları, hematolojik ve biyokimyasal kan testleri, arteriyel kan gazı bulguları, Glaskow koma skalasını içerir. Kronik sağlık değerlendirmesinde ise kronik organ yetmezlikleri, immünsüpresyon varlığı, acil veya elektif operasyon varlığı değerlendirilmektedir (120). Poukoulidou ve ark.'ının septik hastalarda yaptıkları çalışmada nötrofiller ve monositlerdeki sTREM-1 ifadesi ile APACHE skoru arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (121). Bizim çalışmamızda ise hasta grubunun APACHE skoru arttıkça sTREM-1 düzeyinde de artış saptanmış olup istatiksel olarak anlamlıydı.

Sonuç olarak, sepsis esnasında immün yanıt patogenezi hakkında ve sepsisin erken tanısında yararlı olabilecek veriler elde etmek amacıyla

yaptığımız bu çalışmada hasta grubunda sTREM-1 ve aktive T-lenfosit ($CD3^{+}HLA\text{-}DR^{+}$) düzeyinin sağlıklı bireylere göre anlamlı düzeyde arttığı, sHLA-G düzeyinde ise her iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Bu çalışmada hasta sayısının kısıtlı olması nedeniyle daha fazla sayıda hasta ile benzer çalışmaların yapılması sepsisteki immün yanıt patogenezinin aydınlatılmasında yarar sağlayabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında sTREM-1 düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek saptandı.

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında sHLA-G düzeyleri açısından istatistiksel farklılık yoktu.

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında $CD4^+$/ $CD8^+$ T-lenfosit oranları açısından anlamlı farklılık saptanmadı.

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lenfosit düzeyleri düşük, monosit ve granülosit düzeyleri yüksek saptandı.

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hastalarda $CD14^+$ monosit düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksekti.

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta grubunda $CD3^+$HLA-DR^+ T-lenfosit düzeyleri daha yüksek saptandı.

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında $CD19^+$ B-lenfosit, $CD14^+$HLA-$DR^{+/-}$ monosit, $CD3^+$ T-lenfosit, $CD4^+$T-lenfosit, $CD8^+$ T-lenfosit, NK ve NK-T hücreleri düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı.

• Sepsis ve ağır sepsis tanısı alan hasta grubunda sTREM-1 ve APACHE II skoru arasında korelasyon saptandı.

7. ÖZET

SEPSİS ve AĞIR SEPSİSLİ HASTALARDA TREM-1, HLA-G5 ve HLA-DR DÜZEYLERİNİN ve ARALARINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Sepsis, enfeksiyonlara bağlı gelişen sistemik inflamatuar yanıt sendromu olarak tanımlanmaktadır. Enfeksiyon odağının etkin bir şekilde ortadan kaldırılamadığı veya uygun tedavi edilemediği durumlarda ağır sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliğine kadar ilerleyebilir. Sağlık bakımı ve enfeksiyon hastalıklarının yönetimi, tanı veya tedavisindeki ilerlemelere rağmen, sepsiste uygunsuz veya geç gelen tanı mortalitenin artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, mikrobiyolojik test sonuçları elde edilene kadar, enfeksiyöz veya enfeksiyöz olmayan durumları ayırt edebilen yöntemler, sepsisli hastalara doğru ve zamanında yaklaşım konusunda klinisyenlere yardımcı olmaktadır. Günümüze kadar bu amaçla değişik parametreler araştırılmıştır. C-reaktif protein ve prokalsitonin seviyelerindeki artış sepsis tanısında yol gösterici olabilse de, bilim adamları yeni ve daha özgül belirteçleri araştırmaya devam etmektedirler. Çalışmamızda; sepsis ve ağır sepsisli hastalarda sTREM-1, sHLA-G5 ve lenfosit alt tiplerinin düzeylerini değerlendirmeyi hedefledik. Amacımız sepsis immünopatogenezinin daha iyi anlaşılmasını sağlamak ve sepsisin erken veya ayırıcı tanısında bu belirteçlerin değerini göstermekti.

Yirmi sağlıklı kontrol grubu ile, sepsis ve ağır sepsis tanısı almış 20 hasta çalışmaya alındı. Antimikrobiyal tedavi başlamadan önce, hasta serumlarında ELISA yöntemi ile sTREM-1 ve sHLA-G5 düzeyleri; akım sitometri yöntemi ile

lenfosit, monosit, granülosit, $CD14^+$ monosit, $CD14^+HLA\text{-}DR^+$ hücreleri, $CD3^+$, $CD3^+HLADR^+$, $CD4^+$ ve $CD8^+$ T-lenfosit, $CD19^+$ B-lenfosit, NK ve NK-T hücre düzeyleri çalışıldı.

Hasta grubunda $CD14^+$ monosit ve $CD3^+HLA\text{-}DR^+$ T-lenfosit düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu saptanırken ($p<0,05$), diğer lenfosit alt tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). sTREM-1 düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksekti ($p<0,05$). sHLA-G5 düzeyleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Sonuç olarak, sepsis patogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır ve sepsisin tanısında duyarlılık ve özgüllüğü daha yüksek altın standart bir belirteç bulunmamaktadır. Daha fazla hasta sayısı içeren ileri çalışmaların patogenezi daha iyi açıklayacağı ve hızlı tanıyı kolaylaştıracağı kanısındayız.

8. SUMMARY

EVALUATION OF TREM-1, HLA-G5 AND HLA-DR LEVELS AND THEIR RELATIONSHIP IN PATIENTS WITH SEPSIS AND SEVERE SEPSIS

Sepsis is defined as the systemic inflammatory response syndrome caused by infections. If focus of infection can not removed or treated appropriately it may progress to septic shock and multiple organ failure. Although improvements in healthcareand management, diagnosis or treatment of infectious diseases, inadequate or late diagnosis of sepsis still lead to increase the mortality. Therefore, until receiving the microbiological test results, methods that can discriminate the infectious and noninfectious conditions, help to clinicians for accurate and timely approach to the patients with sepsis. For this reason, different parameters have been investigated to date. Increased C-reactive protein and procalcitonin levels are helpful in sepsis, but the researches continue to investigate for new and more specific markers. In our study, we aimed to evaluate the levels of sTREM-1, sHLA-G5 and lymphocyte subtypes in patients with sepsis and severe sepsis. Thus, we intend to provide better understanding of the immunopathogenesis of sepsis, to demonstrate the value of these markers in early or differential diagnosis of sepsis.

Twenty healthy control subjects and 20 patients diagnosed with sepsis and severe sepsis, were included the study. Before initiation of antimicrobial therapy, serum levels of sTREM-1 and sHLA-G5 levels measured with ELISA method; lymphocyte, monocyte, granulocyte, $CD14^+$ monocyte, $CD14^+$ HLA-

DR^+ cells, $CD3^+$, $CD3^+$ HLA DR^+, $CD4^+$ and $CD8^+$ T-lymphocytes, $CD19^+$ B-lymphocytes, NK and NK-T cell levels were measured by flowcytometry.

In the patient group, $CD14^+$ monocytes, $CD3^+$ HLA-DR^+ T-lymphocyte levels were found higher than the control group ($p < 0.05$), there were no statistically significant differences between other lymphocyte subtypes ($p > 0.05$). sTREM-1 levels in the patient group were found higher than the control group ($p<0.05$). There were no significant differencesat the levels of sHLA-G5 between the patient and the control groups ($p > 0.05$).

In conclusion, pathogenesis of sepsis is still not exactly understood, and there is no marker as a gold standard marker with high sensitivity and specificity in the diagnosis of sepsis. We believe that further studies containing larger number of patients will clarify the pathogenesis and help for rapid diagnosis of the sepsis.

9. KAYNAKLAR

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992;101(6):1644-55.

2. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis N Engl J Med. 2003 9;348(2):138-50.

3. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Intensive Care Med. 2003;29(4):530-8.

4. Iregui M, Ward S, Sherman G, Fraser VJ, Kollef MH. Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. Chest. 2002;122(1):262-8.

5. Fumeaux T, Dufour J, Stern S, Pugin J. Immune monitoring of patients with septic shock by measurement of intraleukocyte cytokines. Intensive Care Med. 2004;30(11):2028-37.

6. Venkatesh B, Mortimer RH, Couchman B, Hall J. Evaluation of random plasma cortisol and the low dose corticotropin test as indicators of adrenal secretory capacity in critically ill patients: a prospective study. Anaesth Intensive Care. 2005;33(2):201-9.
7. Barati M, Bashar FR, Shahrami R, Zadeh MH, Taher MT, Nojomi M. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 and the diagnosis of sepsis. J Crit care. 2010;25(2):362.e1-6.

8. Flohé S, Scholz M. HLA-DR monitoring in the intensive care unit--more than a tool for the scientist in the laboratory? Crit Care Med. 2009;37(10):2849-50.

9. Mueller A, Kreuzfelder E, Nyadu B, Lindemann M, Rebmannn V, Majetschak M, et al. Human leukocyte antigen-DR expression in peripheral blood mononuclear cells from healthy donors influenced by the sera of injured patients prone to severe sepsis. Intensive Care Med. 2003;29(12):2285-90.

10. Carosella ED, Gregori S, Rouas-Freiss N, LeMaoult J, Menier C, Favier B. The role of HLA-G in immunity and hematopoiesis. Cell Mol Life Sci. 2011;68(3):353-68

11. Monneret G, Voirin N, Krawice-Radanne I, Bohé J, Lepape A, Rouas-Freiss N, et al. Soluble human leukocyte antigen-G5 in septic shock: marked and persisting elevation as a predictor of survival. Crit Care Med. 2007;35(8):1942-7.

12. Deschaseaux F, Delgado D, Pistoia V, Giuliani M, Morandi F, Durrbach A. HLA-G in organ transplantation: towards clinical applications. Cell Mol Life Sci. 2011;68(3):397-404.

13. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. Intensive Care Med. 2013;39(2):165-228.

14. Yorgancı K, Sayek İ : Sepsis ve ilgili tanımlamalar. Yoğun bakım dergisi 5(2):75-79, 2005.

15. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008 Intensive Care Med. 2008; 34(1): 17–60.

16. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiyoloji of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med 348:1546-54, 2003.

17. Arslan H, Gürdoğan K. Yoğun bakım ünitelerinde gözlenen hastane enfeksiyonları. Hastane Enfeksiyonları Dergisi 1999;3:165-170.

18. Çetin CB, Turgut H, Kaleli İ, Orhan N. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakultesi Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesindeki Nozokomiyal Enfeksiyonlar. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2002;6:98-101.

19. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, Suffredini AF, Danner RL, Cunnion RE et al. Septic shock in humans. Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. Ann Intern Med 1990. 113:227–242.

20. Young LS. Sepsis Syndrome. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. New York: Churchill Livingstone 1995; 690-705.

21. Uzun O, Akalin HE, Hayran M, Unal S. Factors influencing prognosis in bacteremia due to gram-negative organisms: evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. Clin Infect Dis. 1992;15(5):866-73.

22. Doğanay M. Sepsis.. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 1. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (editörler). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 2002, 621-636.

23. Weinstein MP, Towns ML, Quartery SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al.. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: A prospective comprehensive evaluation of microbiology, epidemiology and outcome of bacteremia and fungemia in adults. Clin Infect Dis1997; 24(4):584.

24. Bone RC. Gram-positive organisms and sepsis. Arch Intern Med 1994 10;154(1):26-34.

25. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai. Cellular and Molecular Immunology. 7th Edition, Elsevier Saunders. Philadelphia, 2012.1-15.

26. Kenneth Murphy. Janeway's Immunobiology. 8th. Edition, Garland Science, Taylor and Francis Group, New York, 2012.1-75.

27. Roger S. Riley, Ronald Mageau, Jonathan Ben-Ezra. Laboratory Evaluation of the Cellular Immune System, Chapter 45, Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd Edition. Richard A. McPherson, Matthew R. Pincus (Eds), Elsevier Saunders, Philadelphia, 2011.877-80.

28. Thao Doan, Roger Melvold, Susan Viselli, Carl Waltenbaugh. Immunology, Lippincott's Illustrated Reviews. Walter Kluwer, Lippincott Williams&Wilkins. 2nd Edition. 2013.1-158.

29. Kaya Kılıçturgay. İmmünoloji. Nobel& Güneş Tıp Kitabevi, Bursa. 3. Baskı, 2003.

30. Marwizt PA., Van Arkel-Vigna E., Rijkers GT., Zegers BJ. Expression and modulation of cell surface determinants on human adult and neonatal monocytes. Clin Exp Immunol. 1988;72:260-6.

31. Unanue ER, Beller DI, Lu CY, Allen PM. Antigen presentation: comments on its regulation and mechanism. J Immunol 1984; 132:1-5.

32. Hershman MJ, Chaedle WG, Welhausen SR, Davidson PF, Polk HC. Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the travma patients. Br J Surg 1990; 77:204-7.

33. Wakefield CH, Carey PD, Monson JRT, Guillou PJ. Changes in major histocompatibility complex class II expression on monocytes and T-cells of patient developing infection after surgery. Br J Surg 1993; 80:205-9.

34. Havemon JW, van der Berg AP, van der Berk JM, Mesander G, Slooff MJ, de Leij LH, The TH. Low HLA-DR expression on peripheral blood monocytes predicts bacterial sepsis after liver transplantation:relation with prednisolone intake. Transpl. Infect. Dis. 1999. 1(3):146-52.

35. Kanakoudi-Tsakatidou F, Debonera F, Drossou-Agakidou V, Sarafidis K, Tzimouli V, Taparkou A, Kremenopoulos G. Flow cytometric measurement of HLA-DR expression on circulating monocytes in health and sick neonates using monocytes negative selection. Clin Exp Immunol 123: 402-7;(2001).

36. Hakkı Bilgehan. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları, İzmir, 9. Baskı. 1999.

37. Hotchkiss, RS., Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med. 2003. 9;348(2):138-50.

38. Cinel I, Dellinger RP. Advances in pathogenesis and management of sepsis. Curr Opin Infect Dis 2007; 20(4):345-52.

39. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. Nature 2001; 410(6832):1103-7.

40. Movat HZ, Cybulsky MI, Colditz IG, Chan MK, Dinarello CA. Acute inflammation in gram-negative infection: endotoxin, interleukin 1, tumor necrosis factor, and neutrophils. Fed Proc 1987; 46(1):97-104.

41. van der Poll T, Lowry SF. Tumor necrosis factor in sepsis: mediator of multiple organ failure or essential part of host defense? Shock 1995; 3(1):1-12.

42. Pruitt JH, Copeland EM 3rd, Moldawer LL. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism in sepsis, systemic inflammatory response syndrome, and septic shock. Shock 1995; 3(4):235-51.

43. Barriere SL, Lowry SF. An overview of mortality risk prediction in sepsis. Crit Care Med 1995; 23(2):376-93.

44. Szabo G, Kodys K, Miller-Graziano CL. Elevated monocyte interleukin-6 (IL-6) production in immunosuppressed trauma patients. I. Role of Fc gamma RI cross-linking stimulation. J Clin Immunol 1991; 11(6):326-35.

45. Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Ann Intern Med 1996; 125(8):680-7.

46. Kasten KR, Tschop J, Adediran SG, Hildeman DA, Caldwell CC. T cells are potent early mediators of the host response to sepsis. Shock 2010;34:327e36.

47. Nascimento DC, Alves-Filho JC, Sonego F, Fukada SY, Pereira MS, Benjamim C, et al. Role of regulatory T cells in long-term immune dysfunction associated with severe sepsis. Crit Care Med 2010;38:1718e25.

48. Hotchkiss RS, Nicholson DW. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. Nat Rev Immunol 2006;6:813e22.

49. Hotchkiss RS, Osmon SB, Chang KC, Wagner TH, Coopersmith CM, Karl IE. Accelerated lymphocyte death in sepsis occurs by both the death receptor and mitochondrial pathways. J Immunol 2005;174:5110e8.

50. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J (eds). Infectious Diseaes. London:Mosby; 1999: volume one, section 2, 47.1-14.

51. Haris RL, Musher DM, Bloom K, Gathe J, Rice L, Sugarman B, et al: Manifestations of Sepsis Arch Intern Med. 1987;147(11):1895-906.

52. Hamill RJ, Maki DG Endotoxin shock in man caused by Gram-negative bacilli - etiology, clinical features, diagnosis, natural history and prevention. In: Proctor RA, ed. Handbook of Endotoxin. Vol.4, Amsterdam: Elsevier; 1986:55.

53. Martin MA, Silverman HJ. Gram-negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. Clin Infect Dis 1992; 14(6):1213-28

54. Kieft H, Hoepelman AI, Zhou W, Rozenberg-Arska M, Struyvenberg A, Verhoef J. The sepsis syndrome in a Dutch university hospital: clinical observations. Arch Intern Med. 1993. 11;153(19):2241-7.

55. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. N Engl J Med. 1999. 19;341(8):586-92.

56. van Gorp EC, Suharti C, ten Cate H, Dolmans WM, van der Meer JW, ten Cate JW, et al. Review: infectious diseases and coagulation disorders. J Infect Dis. 1999;180(1):176-86.

57. Bick, RL. Disseminated intravascular coagulation: a review of etiology, pathophysiology, diagnosis, and management: guidelines for care. Clin Appl Thromb Hemost. 2002;8(1):1-31.

58. Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J. Septic shock: pathogenesis. Lancet. 1991 21;338(8769):732-6.

59. Voyce, SJ., Becker RC. Adaptive and maladaptive cardiovascular responses in human sepsis. Am Heart J. 1991 ;122(5):1441-8.

60. Archer, L. T. "Pathologic manifestations of septic shock." Handbook of endotoxin 4 (1986): 18-54.

61. Franson, TR., Hierholzer WJ Jr., LaBrecque DR. Frequency and characteristics of hyperbilirubinemia associated with bacteremia. Rev Infect Dis 1985. 7(1): 1-9.

62. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J (eds). Infectious Diseases. London:Mosby; 2004:613-27.

63. Munford RS. Sepsis, severe sepsis and septic shock. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practise of Infectious Diseases. 2005. Newyork: Churchill Livingstone ,2005;906-26.

64. The Biomarker Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther 2001;69(3):89–95.

65. Wagner JA, Williams SA, Webster CJ. Biomarkers and surrogate end points for fit-for-purpose development and regulatory evaluation of new drugs. Clin Pharmacol Ther 2007;81(1):104–7.

66. Rosen H, Sunnerhagen KS, Herlitz J, Blomstrand C, Rosengren L. Serum levels of the brain-derived proteins S-100 and NSE predict long-term outcome after cardiac arrest. Resuscitation 2001; 49(2): 183–191.

67. Zarkovic K, Zarkovic N, Schlag G, et al: Histological aspects of sepsis-induced brain changes in a baboon model. In: Shock, Sepsis, and Organ Failure–Brain Damage Secondary to Haemorrhagic-Traumatic Shock, Sepsis and Traumatic Brain Injury. Schlag G (eds). Heidelberg, Springer 1997; 146 –64.

68. Weigand MA, Volkmann M, Schmidt H, Martin E, Böhrer H, Bardenheuer HJ. Neuron-specific enolase as a marker of fatal outcome in patients with severe sepsis and septic shock. Anesthesiology 2000; 92(3): 905–7.

69. Sanchez PJ, Siegel JD: Sepsis Neonatorum. In: Mcmillan JA, De Angelis CD, Feigin RD, Warshaw JB (eds). Oski's Pediatrics. 3rd ed. Philadelphia, Lippincott Williams&Wilkins 1999; 404-13.

70. Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F: Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. Pediatrics 1994; 93(1): 54- 8.

71. Damas P, Canivet JL, de Groot D, Vrindts Y, Albert A, Franchimont P, et al: Sepsis and serum cytokine concentrations. Crit Care Med 1997; 25(3): 405- 12.

72. Silveira RC, Procianoy RS: Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis. Acta Paediatr 1999; 88(6): 647- 50.

73. Carol ED, Thomson APJ, et al. Procalcitonin as a marker of sepsis; Int J Antimicrob Agents. 2002 Jul;20(1):1-9.

74. Missler U, Wiesmann M, Friedrich C, Kaps M. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. Stroke 1997; 28(10): 1956-60.

75. Martens P, Raabe A, Johnsson P. Serum S-100 and neuron-specific enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. Stroke 1998; 29(11): 2363–6.

76. Georgiadis D, Berger A, Kowatchev E, Lautenschläger C, Börner A, Lindner A. Predictive value of S-100_ and neuronspecific enolase serum levels for adverse neurologic outcome after cardiac surgery. J Thorac Cardiovasc Surg 2000; 119(1): 138–47.

77. Raabe A, Grolms C, Sorge O, Zimmerman M, Seifert V. Serum S-100B protein in severe head injury. Neurosurgery 1999; 45(3): 477–83.

78. Wunderlich MT, Ebert AD, Kratz T, Goertler M, Jost S, Herrmann M. Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. Stroke 1999; 30(6): 1190–5.

79. Bottiger BW, Mobes S, Glatzer R, Bauer H, Gries A, Bärtsch P, et al: Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and outcome after cardiac arrest in humans. Circulation 2001; 103(22): 2694–8.

80. Dinarello CA. Proinflammatory and antiinflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. Chest 1997;112(6 Suppl):321S–9S.

81. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. Ann Intern Med 1991;115(6):457–69.

82. Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting Edge: Inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. J Immunol 2000;164(10):4991–5.

83. Lanier LL, Corliss BC, Wu J, Leong C, Phillips JH. Immunoreceptor DAP12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. Nature 1998; 12; 391 (6668):703-7.

84. Knapp S, Gibot S, de Vos A, Versteeg HH, Colonna M, van der Poll T. Cutting edge: expression patterns of surface and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in human endotoxemia. J Immunol 2004;173:7131–4.

85. Gibot S, Le Renard PE, Bollaert PE, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Faure GC, Lévy B. Surface triggering receptor expressed on myeloid cells 1 expression patterns in septic shock. Intensive Care Med. 2005;31(4):594-7.

86. Ornatowska M, Azim AC, Wang X, Christman JW, Xiao L, Joo M. Functional genomics of silencing TREM-1 on TLR4 signaling in macrophages. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007;293(6):L1377–84.

87. Klesney-Tait J,Colonna M. Uncovering the TREM-1-TLR connection. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007;293(6):L1374–6.

88. Dower K, Ellis DK, Saraf K, Jelinsky SA, Lin LL. Innate immune responses to TREM-1 activation: overlap, divergence, and positive and negative cross-talk with bacterial lipopolysaccharide. J Immunol 2008; 180(5):3520–34.

89. Gibot S, Buonsanti C, Massin F, Romano M, Kolopp-Sarda MN, Benigni F. Modulation of the triggering receptor expressed on the myeloid cell type 1 pathway in murine septic shock. Infect Immun 2006;74(5):2823–30.

90. Gibot S, Alauzet C, Massin F, Sennoune N, Faure GC, Béné MC. Modulation of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 pathway during pneumonia in rats. J Infect Dis 2006;194(7):975–83.

91. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. N Engl J Med 2004;29;350(5):451–8.

92. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Cravoisy A, Levy B, Faure GC, et al. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. Ann Intern Med 2004;141(1):9–15.

93. Schwartz BD. The human major histocompatibility HLA complex. In: Stites DP, Stobo JD, Wells JV (eds). Basic and Clinical Immunology. 6th ed. California: Appleton and Lange; 1987. p.50-64.

94. Kuby J. Major histocompatibility complex. Immunology. 3th ed. New York: Van Hoffman Press; 1997. p.223-48.

95. Oguz FS, Çarin M. MHC genlerinin organizasyonu. Sendrom 1999;11:126-7.

96. Dick HM. HLA and disease. Introductory review. Br Med Bull 1978;34:271-4.

97. Hill AV. The immunogenetics of human infectious diseases. Annu Rev Immunol 1998;16:593-617.

98. Zavaglia C, Bortolon C, Ferrioli G, Rho A, Mondazzi L, Bottelli R, et al. HLA typing in chronic type B, D and C hepatitis. J Hepatol 1996;24(6):658-65.

99. Luscher MA, Choy G, Embree JE, Nagelkerke NJ, Bwayo JJ, Njenga S, et al. Anti-HLA alloantibody is found in children but does not correlate with a lack of HIV type 1 transmission from infected mothers. AIDS Res Hum Retroviruses 1998;14(2):99-107.

100 .Monneret G, Lepape A, Voirin N, Bohe J, Venet F, Debard AL, et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. Intensive Care Med 2006, 32(8):1175-83.

101.Balk RA. Optimum treatment of severe sepsis and septic shock: evidence in support of the recommendations. Dis Mon. 2004;50(4):168-213.

102.Boomer JS, Green JM, Hotchkiss RS. The changing immune system in sepsis: Is individualized immuno-modulatory therapy the answer? Virulence. 2014;5(1):45-56.

103.Schinkel C, Sendtner R, Zimmer S,Faist E. Functional analysis of monocyte subsets in surgical sepsis. J Travma 44(5):743-8;1998.

104.Brunialti MKC, Martins PS, Carvalho HB, Machado FR, Barbosa LM, Salomao R. TLR2, TLR4, CD14, CD11B AND CD11C expression on monocytes surface and cytokine production in patients with sepsis, severe sepsis and septic shock. Shock. 25(4):351-7;2006.

105.Ertel W, Kremer JP, Kenney J, Steckholzer U, Jarrar D, Trentz O et al. Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients. Blood. 1995 1;85(5):1341-7.

106.Glück T, Silver J, Epstein M, Cao P, Farber B, Goyert SM. Parameters influencing membrane CD14 expression and soluble CD14 levels in sepsis. Eur. J. Med. Res. 2001, 6(8):351-8.

107.Hiki N, Berger D, Prigl C, Boelke E, Wiedeck H, Seidelmann M et al. Endotoxin Binding and Elimination by Monocytes: Secretion of Soluble CD14 Represents an Inducible Mechanism Counteracting Reduced Expression of Membrane CD14 in Patients with Sepsis and in a Patient with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Infect Immun. 1998; 66(3): 1135–1141.

108.Lin Y, Gustafson MP, Bulur PA, Gastineau DA, Witzig TE, Dietz AB. Immunosuppressive $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{low/-}$monocytes in B-cell non-Hodgkin lymphoma. Blood. 2011; 117(3): 872–81.

109.Janols H, Bredberg A, Thuvesson I, Janciauskiene S, Grip O, Wullt M. Lymphocyte and monocyte flow cytometry immunophenotyping as a diagnostic tool in uncharacteristic inflammatory disorders. BMC Infectious Diseases 2010, 10:205;1471-2334.

110.Darton TC, Wing JB, Lees A, Heath AW, Read RC. Adult survivors of invasive pneumococcal disease exhibit defective B cell function. Clin Infect Dis. 2011;52(9):1133-6.

111.Monserrat J, de Pablo R, Diaz-Martín D, Rodríguez-Zapata M, de la Hera A, Prieto A et al. Early alterations of B cells in patients with septic shock. Critical Care 2013, 17:R105

112.Bick PH, Carpenter AB, Holdeman LV, Miller GA, Ranney RR, Palcanis KG et al. Polyclonal B-cell activation induced by extracts of Gram-negative bacteria isolated from periodontally diseased sites. Infect Immun. 1981;34(1):43-9.

113.Humprey JH, Parrott DMV, East J. Studies on Globulin and Antibody Production in Mice Thymectomized at Birth. Immunology, 1964; 7: 419-39.

114.Marchant CD, Band E, Froeschle JE, McVerry PH. Depression of anticapsular antibody after immunization with Haemophilus influenzae type b polysaccharide-diphtheria conjugate vaccine. Pediatr Infect Dis J. 1989; 8(8):508-11.

115.Martin F, Oliver AM, Kearney JF. Marginal Zone and B1 B Cells Unite in the Early Response against T-Independent Blood-Borne Particulate Antigens. Immunity, 2001; 14(5): 617–629.

116.Holub M, Klucková Z, Beneda B, Hobstová J, Huzicka I, Prazák J, et al. Changes in lymphocyte subpopulations and $CD3^+/DR^+$ expression in sepsis. Clin Microbiol Infect. 2000;6(12):657-60.

117.Sieling PA, Chatterjee D, Porcelli SA, Prigozy TI, Mazzaccaro RJ, Soriano T, et al. CD1-restricted T cell recognition of microbial lipoglycan antigens. Science. 1995. 14;269(5221):227-30.

118.Tzianabos AO, Finberg RW, Wang Y, Chan M, Onderdonk AB, Jennings HJ. T Cells Activated by Zwitterionic Molecules Prevent Abscesses Induced by Pathogenic Bacteria. J Biol Chem. 275(10):6733-40; 2000.

119.Urbonas V, Eidukaitė A, Tamulienė I. The predictive value of soluble biomarkers (CD14 subtype, interleukin-2 receptor, human leucocyte antigen-G) and procalcitonin in the detection of bacteremia and sepsis in pediatric oncology patients with chemotherapy-induced febrile neutropenia. Cytokine. 2013;62(1):34-7.

120.Knaus WA, Draper EA, Wagner DP. APACHE II: A severity of disease classification system. Crit Care Med 13:818-29, 1985.

121.Poukoulidou T, Spyridaki A, Mihailidou I, Kopterides P, Pistiki A, Alexiou Z et al. TREM-1 expression on neutrophils and monocytes of septic patients: relation to the underlying infection and the implicated pathogen. BMC Infectious Diseases 2011, 11:309

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
"SEPSİS ve AĞIR SEPSİS TANILI HASTALARDA TREM-1, HLA-G5 ve HLA-DR DÜZEYLERİNİN ve ARALARINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI" HASTA TAKİP FORMU

Adı soyadı:		Dosya No:	
Yaş:		Altta yatan hastalıklar	
Cinsiyet:	○ Erkek ○ Kadın		
Yatış Tarihi:		Tanı aldığı yatış günü	
Taburcu Tarihi			
Sepsis kaynağı	○ Kaynak belirlenemedi ○ Solunum sistemi ○ Üriner sistem ○ Kan dolaşımı ○ SSS ○ Batın ○ Deri ve yumuşak doku	○ Toplum kökenli ○ Hastane kökenli	
Sepsis evresi	○ SEPSİS o AĞIR SEPSİS		

Çalışmaya alınma kriterleri:

1. 18-65 yaş arasında olmak
2. Gebelik, TRAVMA, HIV, HBV,ve HCV enfeksiyonu, Kronik Böbrek yetmezliği, NÖTROPENİ, İMMÜNSUPRESİF KULLANIMI, OTOİMMÜN HASTALIK, AKUT/KRONİK PANKREATİT, STEROİD TEDAVİSİ, YANIK, DM, MALİGNİTESİ OLMAMAK
3. Sepsis veya ağır sepsis tanısı almış fakat henüz tedavi başlanmamış hastalar

PARAMETRELER	KÜLTÜR	SONUÇ
• HLA-G5:	1.	
• TREM-1:	2.	
• HLA-DR:	3.	
• CRP:	4.	
ANTİMİKROBİYAL TED	ANTİMİKROBİYAL TED	SÜRE:
1.	2.	
3.	4.	
SONUÇ:	○ ŞİFA	
Notlar		

Glasgow Koma Skalası

1- Göz açma yanıtı (E) : Bu değerlendirme ödem veya hematom nedeni ile gözün kapalı olduğu durumlarda uygulanmaz.

a) Spontan göz açık E= 4 puan

b) Sözlü uyaran ile göz açılır E= 3 Puan

c) Ağrılı uyaran ile göz açılır E= 2 Puan

d) Göz açmaz E= 1 Puan

2- Sözel yanıt (V) : Entübe olgularda değerlendirmek mümkün değildir.

a) Oryante- ismini, yaşını, vb. biliyor V= 5 Puan

b) Konfüzyonda ancak sorulara cevap veriyor V= 4 Puan

c) Uygunsuz yanıtlar V= 3 Puan

d) Anlamsız sözler V= 2 Puan

e) Yok V= 1 Puan

3- Motor yanıt (M) : herhangi bir ekstremiteden alınan en iyi motor yanıtı ifade eder. Değerlendirme sırasında ağrılı uyaran el ya da ayak tırnaklarından birine uygulanabilir.

a) Emirlere uyuyor M= 6 Puan

b) Lokalize ediyor M= 5 Puan

c) Ekstremiteyi kaçırmaya çalışıyor M= 4 Puan

d) Anormal fleksiyon (dekortikasyon) M= 3 Puan

e) Ekstansör yanıt (deserebrasyon) M= 2 Puan

f) Hareket yok M= 1 Puan

Değerlendirme

koma < 8

orta derecede kafa travması 9-12

Hafif derecede kafa travması 13-15

APACHE II VE SOFA SKORU HESAPLAMAK İÇİN GEREKLİ BİLGİLER

VÜCUT ISISI:	ARTERİYEL TANSİYON:
ORTALAMA ARTER BASINCI=(SİS-DİAS/3)+DİAS:	
KALP HIZI: /dk	
SOLUNUM HIZI: /dk	
FİO2:	
PaCO2:	
PaO2:	
PaO2/FiO2:	
ARTERİYEL Ph	
Na:	K:
BUN: Cre:	AST: ALT:
AKUT BÖBREK YETERSİZLİĞİ	VAR YOK
MEKANİK VENTİLATÖR TEDAVİSİ	VAR YOK
HEMATOKRİT:	HEMOGLOBİN:
BEYAZ KÜRE:	
TROMBOSİT:	
TOTAL BİLİRUBİN:	KREATİNİN:
GLASGOW KOMA SKALASI:	
DESTEK TEDAVİSİ (DOZLA)	DOPAMİN: DOPUTAMİN NOREPİNEFRİN
GENEL DURUM	ACİL POSTOPERATİF ELEKTİF POSTOPERATİF MEDİKAL

http://www.sfar.org/scores2/apache22.html#calcul

İLK 24 SAAT İÇİNDEKİ EN UÇ DEĞERLERİ YAZINIZ