



T. C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

SEPSİSTE TLR-2, TLR-4 GEN POLİMORFİZMLERİ

VE mRNA EKSPRESYONU

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. SELCEN KARAKAŞ

KAYSERİ - 2013



T. C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**SEPSİSTE TLR-2, TLR-4 GEN POLİMORFİZMLERİ VE
mRNA EKSPRESYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. SELCEN KARAKAŞ

**Danışman
Prof. Dr. MURAT SUNGUR**

Bu proje Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
TSU-11-3709 proje kodu ile desteklenmiştir.

KAYSERİ - 2013

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve yürütülmesi aşamasında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Murat Sungur'a ve Yard. Doç. Dr. Kürşat Gündoğan'a, çalışmanın genetik yönünü destekleyen Yard. Doç. Dr. Serpil Taheri'ne, istatistiksel değerlendirmesini gerçekleştiren Yard. Doç. Dr. Gökmen Zararsız'a, tecrübesiyle yol gösteren Doç. Dr. Metin Aytekin'e, yardımları için sevgili dostum Dr. Ahmet Turan Durak'a ve tabii daima yanımda olan biricik aileme ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. SEPSİS TANIMI VE TERMİNOLOJİ	3
2.2. SEPSİS EPİDEMİYOLOJİ VE ETİYOLOJİSİ.....	5
2.3. SEPSİSİN PATOFİZYOLOJİSİ.....	7
2.4. DOĞAL İMMÜN YANIT.....	9
2.5. GENETİK VE SEPSİS.....	13
2.6. SEPSİSİN KLİNİĞİ.....	17
2.7. SEPSİSTE LABORATUVAR.....	20
2.8. SEPSİS TANISI.....	21
2.9. SEPSİSTE TEDAVİ.....	22
2.10. SEPSİSİN PROGNOZU VE KORUNMA.....	27

3. HASTALAR VE YÖNTEM	29
3.1. HASTALAR	29
3.2. ÇALIŞMA TASARIMI VE VERİ TOPLAMA	30
3.3. HASTAYA UYGULANAN İŞLEM VE TEDAVİLER.....	32
3.4. GENETİK YÖNTEM.....	33
3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	36
3.6. TANIMLAMALAR	36
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇLAR.....	56
KAYNAKLAR.....	58
EKLER.....	70
APACHE II SKORU	70
SOFA SKORU.....	71
GLASGOW KOMA SKORU.....	72
TEZ ONAY SAYFASI.....	73

KISALTMALAR

aa	: Amino asit
A-a PO₂	: Alveoloarteriyel oksijen gradienti
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABY	: Akut böbrek yetmezliği
ACCP/SCCM	: Amerikan Göğüs Hastalıkları (American College of Chest Physicians) ve Yoğun Bakım Dernekleri (Society of Critical Care Medicine)
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
APACHE	: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
ARDS	: Akut Respiratuvar Distress Sendromu
bç	: Baz çifti
BM	: Boyut markerı
CD	: Cluster of differantiation
cDNA	: Komplementer DNA
CIRCI	: Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency
CRP	: C-reaktif protein
del	: Delesyon
DIC	: Dissemine intravasküler koagülasyon
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik asit

EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
EHYT	: Erken Hedefe Yönelik Tedavi
ERÜTF İHYBÜ	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesi
ETA	: Endotrakeal aspirat
FiO₂	: İnspire edilen oksijen fraksiyonu
GİS	: Gastrointestinal sistem
GKS	: Glasgow Koma Skoru
HMGB-1	: High-mobility grup box-1
HSP	: Sıcak şok proteini
HT	: Hipertansiyon
IL	: İnterlökin
ins	: İnsersiyon
IRAK	: IL-1 receptor-associated kinase
KAH	: Koroner arter hastalığı
KKY	: Konjestif kalp yetmezliği
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LBP	: Lipopolisakkarid bağlayıcı protein
LPS	: Lipopolisakkarid
LRR	: Lösinden zengin tekrarlarla karakterize ekstrasellüler domain
Mal/TIRAP	: MyD88 adaptör-like/Toll-interlökin-1reseptör domain içeren adaptör protein
mEq	: Miliequalan

MODS	: Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu
mRNA	: Mesenger ribonükleik asit
MV	: Mekanik ventilatör
MyD88	: Myeloid diferansiasyon primer cevap geni 88
NF-kB	: Nükleer faktör kappa beta
OAB	: Ortalama arter basıncı
PaCO₂	: Arteriyel karbondioksit basıncı
PAMP	: Patojen ile ilişkili moleküler örgü
PaO₂	: Arteriyel oksijen basıncı
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PRR	: Pattern recognition receptor
RFLP	: Restriction fragment length polymorphism
SAB	: Sistolik arter basıncı
SARM	: Steril alfa ve ısı Armadillo örgüleri
SD	: Standart deviasyon
SIRS	: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SNP	: Single-nucleotide polymorphism
SOFA	: Sepsis-related Organ Failure Assessment
SSC	: Surviving Sepsis Campaign
SVB	: Sanral venöz basınç
SvcO₂	: Santral venöz oksijen satürasyonu
TIR	: Toll-interlökin-1 reseptör

TLR	: Toll-like reseptör
TNF	: Tümör nekrozis faktör
Tollip	: Toll interacting protein
TRAM	: TRIF ilişkili adaptör molekül
TRIF/TICAM-1	: TIR domain içeren adaptör indükleyici interferon-b/TIR içeren adaptör molekül-1

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1:	Sepsiste klinik belirti ve bulgular	17
Tablo 2:	Hastaların özelliklerine göre gruplardaki sayı ve yüzde dağılımı	40
Tablo 3:	Komorbid hastalık sayısına göre hastaların gruplardaki dağılımı	41
Tablo 4:	Hasta gruplarına göre izole edilen mikroorganizmalar ve üreme saptanan kültür örneklerinin sayı ve yüzde olarak dağılımı	42
Tablo 5:	Kullanılan antimikrobiyal ajanların hasta gruplarına göre dağılımı	43
Tablo 6:	Enfeksiyon kökenine göre hasta gruplarının karşılaştırılması	44
Tablo 7:	Hasta gruplarına göre klinik parametrelerin median ve 25.-75. persentil değerleri	45
Tablo 8:	Hasta gruplarının 28 günlük mortalite açısından karşılaştırılması	45
Tablo 9:	Hasta ve kontrol gruplarında TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonu ortalama ve standart sapma değerleri	46
Tablo 10:	Hasta ve kontrol gruplarında TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonu geometrik ortalaması ve %95 güven aralığı değerleri	46
Tablo 11:	Gruplara göre mRNA ekspresyon ölçümlerinin geometrik ortalama ve %95 güven aralığı değerleri	47
Tablo 12:	TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonlarıyla klinik parametrelerin karşılaştırılması ve korelasyon kat sayıları	48

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: Hücrenin LPS tanıma sistemi ve TLR-4 sinyal yolağı	12
Şekil 2: TLR-2 ve TLR-4 sinyal yolları.....	13
Şekil 3: Erken hedefe yönelik tedavi şeması	25
Şekil 4: TLR-2 geni (-196, -174 del) polimorfizmi agaroz jel görüntüsü	33
Şekil 5: TLR-4 geni (Asp299Gly) polimorfizmi agaroz jel görüntüsü	34
Şekil 6: TLR-2 geni mRNA ekspresyonu Real-Time PCR görüntüsü.....	36
Şekil 7: TLR-4 geni mRNA ekspresyonu Real-Time PCR görüntüsü.....	36

ÖZET

AMAÇ: Sepsis, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin aşırı ve düzensiz salınımını içeren multifaktöriyel bir süreçtir. Toll-like reseptörlerin (TLR) aktivasyonu sonucu proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin üretimi uyarılır. TLR gen mutasyonlarının sepsis patogeneziindeki rolü daha önce pek çok çalışmada gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı; ağır sepsis ve septik şok hastalarında TLR-2, TLR-4 gen polimorfizmlerinin mRNA (mesenger ribonükleik asit) ekspresyonları ile ilişkisini ortaya koymaktır. Çalışmanın bir diğer amacı da bu genetik parametrelerin hastalarda organ yetmezliği gelişimi, mekanik ventilatör ve yoğun bakım ihtiyacının süresi, mortalite gibi klinik veriler üzerine etkisinin gösterilmesidir.

HASTALAR VE YÖNTEM: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesinde Mart 2011 ve Ağustos 2012 tarihleri arasında gerçekleştirilen prospektif çalışmaya 45 ağır sepsis ve septik şok hastası ile 31 sağlıklı kontrol dahil edildi. Hastalara rutin tedavi protokolü uygulandı ve klinik verileri toplandı. Kontrol grubu ve hastalardan alınan periferik kan örneklerinden TLR-2 (-196,-174 del) ve TLR-4 geni (Asp299Gly) polimorfizmleri ile mRNA ekspresyonları belirlendi.

BULGULAR: Kontrol grubunda TLR-2 gen polimorfizmi %61.3 normal, %25.8 heterozigot, %12.9 mutant ve TLR-4 gen polimorfizmi %83.9 normal, %16.1 heterozigot; hasta grubunda TLR-2 gen polimorfizmi %82.2 normal, %15.6 heterozigot, %2.2 mutant ve TLR-4 gen polimorfizmi %95.6 normal, %4.4 heterozigot saptandı. Her iki grupta da TLR-4 gen polimorfizmi mutant birey saptanmadı. Hasta ve kontrol grupları arasında TLR-2 gen polimorfizmi açısından istatistiksel anlamlı fark izlenmedi.

TLR-2 gen polimorfizmi normal ve heterozigot hastalar; mekanik ventilatör ihtiyacı, yoğun bakım ünitesinde kalış süresi, mortalite, APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II ve SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)

skorları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Hasta ve kontrol grupları TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (TLR-2 $p=0.544$, TLR-4 $p=0.296$). TLR-2 gen polimorfizmi normal ve heterozigot olan hastalar arasında TLR-2 mRNA ekspresyonlarında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$).

Hastaların TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyon değerleri ile mekanik ventilatör ihtiyacı ve yoğun bakım ünitesinde kalış süresi, mortalite, APACHE II ve SOFA skorları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı ilişki gözlenmedi. Korelasyon katsayıları incelendiğinde TLR-2 geni mRNA ekspresyonu ile SOFA-0 (-0.390), TLR-4 geni mRNA ekspresyonu ile APACHE II (-0.307) ve SOFA-max (-0.407) skorları arasında ters yönde orta düzeyde ilişki gözlemlendi.

SONUÇ: TLR-2, TLR-4 gen polimorfizmi ile mRNA ekspresyonu arasında ve bu genetik parametreler ile hastaların klinik verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilemedi. Bu sonuçlara dayanarak çalışmada incelenen SNP'lerin protein yapısına veya proteinin işlevine etki etmediği düşünüldü.

ANAHTAR KELİMELER: Gen polimorfizmi, mRNA ekspresyonu, sepsis, Toll-like reseptörler

ABSTRACT

AIM: Sepsis is a multifactorial process, including excessive and irregular release of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines. The activation of Toll-like receptors (TLRs) stimulates the production of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines. The role of Toll-like receptor gene mutations in the pathogenesis of sepsis has been previously demonstrated in many studies.

The purpose of the current study is to determine the relation between gene polymorphisms and mRNA (messenger ribonucleic acid) expressions of TLR-2, TLR-4 in patients with severe sepsis and septic shock. Another aim of the study is to demonstrate the effect of these genetic parameters on the clinical data of patients such as development of organ failure, duration of mechanical ventilation and intensive care requirements and mortality.

PATIENTS AND METHODS: 45 patients with severe sepsis and septic shock and 31 healthy control subjects were included in the prospective study carried out in Erciyes University Faculty of Medicine at the Internal Medicine Intensive Care Unit between March 2011 and August 2012. Routine treatment protocol was applied to patients and their clinical data were collected. TLR-2 (-196,-174 del) and TLR-4 gene (Asp299Gly) polymorphisms and mRNA expressions were determined from peripheral blood samples collected from control group and patients.

RESULTS: Among the control group, TLR-2 gene polymorphism was detected 61.3% normal, 25.8% heterozygous, 12.9% mutant and TLR-4 gene polymorphism was detected 83.9% normal, 16.1% heterozygous. TLR-2 gene polymorphism was detected 82.2% normal, 15.6% heterozygous, 2.2% mutant and TLR-4 gene polymorphism was detected 95.6% normal, 4.4% heterozygous in the patient group. There was no mutant individual detected in both groups. Statistically significant difference was not observed between patients and control group in terms of TLR-2 gene polymorphism.

No statistically significant difference was found between the patients with normal and heterozygous TLR-2 gene polymorphism in comparison of need for mechanical ventilation, length of stay at intensive care unit, mortality, APACHE (Acute Physiolog and Chronic Health Evaluation) II and SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) scores ($p>0.05$). No statistically significant difference was determined between patients and control group in terms of TLR-2 and TLR-4 gene mRNA expressions (TLR-2 $p=0.544$, TLR-4 $p=0.296$). Patients with normal and heterozygous TLR-2 gene polymorphism showed no significant difference in mRNA expressions of TLR-2 ($p>0.05$).

mRNA expression values of TLR-2 and TLR-4 genes of the patients were not statistically significantly correlated compared with the need for mechanical ventilation and length of stay at intensive care unit, mortality, APACHE II and SOFA scores. A moderate correlation in the opposite direction is observed from the analysis of the correlation coefficients between TLR-2 gene mRNA expression and the SOFA-0 score (-0.390), TLR-4 gene mRNA expression and APACHE II (-0.307), SOFA-max (-0.407) scores.

CONCLUSION: Statistically significant relation was not detected between gene polymorphisms and mRNA expressions of TLR-2, TLR-4 and also between these genetic parameters and clinical data of the patients. It is thought from these results that there was no affect of SNPs examined in this study on the structure or the function of proteins.

KEY WORDS: Gene polymorphism, mRNA expression, sepsis, Toll-like receptors

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis tanımlanması, tanı konulması ve tedavisi oldukça zor, buna karşın sık karşılaşılan ve yaşamı tehdit eden önemli bir sağlık sorunudur. Sepsisin yıllık görülme sıklığı 100000’de 50-95 olgudur ve bu sıklık her yıl %9 oranında artış göstermektedir (1). Sepsis, koroner dışı yoğun bakım ünitelerinde karşılaşılan ölümlerin en önemli nedenidir (2). Ağır sepsis, tüm dünyada yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. Hastaneye yatırılan her 1000 olgunun 10’unda sepsis ve bu olguların %30’unda Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu (MODS) gelişmesi ve mortalite oranının sepsisli olgularda %20, septik şoklu olgularda %60-80 olması nedeniyle oldukça önemlidir (3).

İmmün sistem doğal ve adaptif immünite olmak üzere iki sistemden oluşur. Doğal immün sistem patojenlere karşı savunmanın ilk hattını oluşturur. Doğal immünitinin önemli bir parçası patojen tanıma reseptörleri olan Toll-like reseptörlerdir. TLR’ler çok sayıdaki enfeksiyon ajanını göreceli az sayıdaki reseptörlerle tanıyarak proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinlerin üretimini tetikleyerek hem doğal hem de adaptif immün sistemi aktive etmede maharetlidir.

Bazı insanlarda belirli enfeksiyonlara karşı yatkınlık varken diğerlerinin korunmuş olması ve az ya da fazla miktarda inflammatuar yanıt oluşturma eğiliminin bulunması enfeksiyona yatkınlığı belirleyen ve inflamasyon yolağını oluşturan endojen medyatörleri etkileyen konakçı genetik faktörlerinin olduğunu düşündürür. Doğal immün cevap ile ilişkili genlerin allelik varyantlarının enfeksiyona ve ağır sepsis veya septik şoka progresyona yatkınlığı etkilediği saptanmıştır (4).

TLR'lerdeki genetik mutasyonlar ve bunların neden olduğu TLR sinyal yolağındaki değişiklikler ile enfeksiyona yatkınlık ve septik şok patogenezi arasındaki ilişki pek çok çalışmada gösterilmiştir (5-10).

TLR ilişkili daha çok gen polimorfizmi aydınlatıldığında bu yolla ilgili bilgi artacak, sepsis ve diğerk pek çok hastalık patogeneziinde TLR'lerin yeri daha iyi anlaşılacaktır. Böylece yeni tedavi modalitelerinin gelişmesi için temel sağlanmış olup morbidite ve mortaliteyi azaltıcı gelişmiş risk değerlendirmesi yapılması ve profilaktik tedavilerin erken başlanması kolaylaşacaktır.

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesinde (ERÜTF İHYBÜ) gerçekleştirilen bu çalışmanın birincil amacı: Toll-like reseptörler olan TLR-2 ve TLR-4 gen polimorfizmlerinin ağır sepsis veya septik şok hastalarında organ yetmezliği ve mortalite üzerine etkilerini araştırmaktır. Çalışmanın ikincil amacı ise polimorfizm saptanan ve saptanmayan hastalar arasında organ yetmezliği gelişimi, mekanik ventilatörle solunum desteği süresi, enfeksiyon kaynağı ve etken ajanlar, sepsisten çıkış ve yoğun bakımda kalış süresi, mortalite açısından anlamlı fark olup olmadığının karşılaştırılmasıdır. Ayrıca bu polimorfizmlerin mRNA ekspresyonları ile ilişkisini ortaya koymak ve ekspresyonların hastaların klinik parametrelerine etki edip etmediğini araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 SEPSİS TANIMI VE TERMİNOLOJİ

Sepsis vücudun enfeksiyona karşı verdiği aşırı ve düzensiz sistemik inflamatuvar yanıttır. Enfeksiyon odağının etkin bir şekilde ortadan kaldırılamadığı veya uygun tedavi edilemediği durumlarda sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliği gelişimi söz konusudur (11,12).

1991 yılında Amerikan Göğüs Hastalıkları (American College of Chest Physicians, ACCP) ve Yoğun Bakım Dernekleri (Society of Critical Care Medicine, SCCM) tarafından gerçekleştirilen uzlaş toplantısında enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz durumların terminolojik standardizasyonu aşağıdaki şekilde yeniden düzenlenmiştir (12).

Enfeksiyon: Mikroorganizmaların, normalde steril olan konak dokularında bulunması veya invazyonu sonucu gelişen bir inflamatuvar cevaptır.

Bakteriyemi: Canlı bakterinin dolaşımda bulunmasıdır. Bakteriyemi tanısı kan kültürü pozitifliği ile konur.

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS): Değişik ağır klinik durumlara inflamatuvar cevap olarak tanımlanmıştır. Enfeksiyon ve enfeksiyon dışı (pankreatit, yanık, travma gibi) nedenlere bağlı gelişebilir. İnflamatuvar cevap, klinik olarak aşağıdaki durumlardan iki veya daha fazlasının bulunması ile tanınır:

1. Vücut ısısının $>38^{\circ}\text{C}$ veya $<36^{\circ}\text{C}$ olması,
2. Kalp hızının >90 atım/dk olması,
3. Solunum hızının >20 /dk veya arteriyel karbondioksit basıncının (PaCO_2) <32 mmHg olması,

4. Lökosit sayısının $>12000/\text{mm}^3$ veya $<4000/\text{mm}^3$ olması veya periferik yaymada %10'un üzerinde band formunun bulunması.

Sepsis: Şüphelenilen ya da kanıtlanmış enfeksiyonun klinik belirtileri ile birlikte SIRS bulgularının iki veya daha fazlasının bulunması.

Ağır sepsis: Sepsis ile birlikte en az bir organ fonksiyon bozukluğu, hipoperfüzyon veya hipotansiyonun bulunması durumudur. Sepsisle ilişkili olarak aşağıda tanımlanan akut organ fonksiyon bozukluklarından en az birinin gözlenmiş olması gereklidir (12-17).

1. Kardiyovasküler: Sepsis dışında ilişkili bir başka neden olmaksızın ortaya çıkan hipotansiyon. Sistolik arter basıncının (SAB) ≤ 90 mmHg olması, yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen en az bir saatlik süre için ortalama arter basıncının (OAB) ≤ 65 mmHg olması, başlangıçtan itibaren SAB'da >40 mmHg'lik düşüş gözlenmesi ya da SAB'nı ≥ 90 mmHg veya OAB'nı ≥ 65 mmHg düzeyinde koruyabilmek için vazodilatör bir ajana gereksinim duyulması.
2. Pulmoner: Sepsise bağlı akut akciğer hasarı ve bu durumla ilişkili ciddi hipoksemi. Oda havasında O_2 saturasyonunun %90'ın altında olması, PaO_2 (arteriyel oksijen basıncı) ≤ 70 mmHg veya $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$ (FiO_2 , inspire edilen oksijen fraksiyonu) olması.
3. Renal: Oligürinin gözlenmesi. Ortalama idrar miktarının yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen 1 saat için $<0,5$ mL/kg/s, 3 saat için <30 mL veya <700 mL/24 saat olması ya da ağır sepsise bağlı olarak renal replasman tedavisine gereksinim duyulması.
4. Hematolojik: Trombositopeni, trombosit sayısının $<100000/\text{mm}^3$ olması ya da trombosit sayısında son 3 gün içinde kaydedilen en yüksek değerde %50 oranında azalma gözlenmesi.
5. Açıklanamayan metabolik asidoz: pH'nın ≤ 7.30 olması ya da baz eksikliğinin ≥ 5.0 mEq/L düzeyinde gözlenmesi ve/veya plazma laktat düzeyinin normal üst sınır değerinin >1.5 katı olması (12). Ölçülen değerler arasında bir neden sonuç ilişkisinin var olabilmesi için, pH veya baz eksikliği ve laktat düzeyi ölçümlerinin klinik olarak anlamlı bir zaman aralığı içinde gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

6. Nörolojik: Glasgow Koma Skorunun (GKS) <13 olması gibi ensefalopati varlığını gösteren bir bulgunun olması.
7. Hepatik: Serum bilirubin değerlerinin belirgin düzeyde artması.
Karaciğer enzimlerinin normalin iki katından daha çok artması, total bilirubin değerinin >4 mg/dl olması.
8. Kapiller dolumun azalması veya beneklenme olması.

Septik şok: Sepsiste, yeterli sıvı tedavisine (20-30 mL/kg) rağmen hipotansiyonun devam etmesi ve hipotansiyon ile birlikte perfüzyon bozukluğu belirtilerinin (laktik asidoz, oligüri, akut mental değişiklik) devam etmesi durumudur.

Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu (MODS): Akut hastalık tablosu içinde olan hastada birden fazla organda fonksiyon bozukluğunun bulunması ve destek (vazopressör kullanımı, diyaliz, mekanik ventilasyon gibi) olmaksızın homeostazın sağlanamaması.

Son dönemlerde ACCP/SCCM tarafından düzenlenen tanımlamaların sepsis gibi karmaşık bir hastalığı karakterize etmekte ve tanı koymada yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Bu nedenle ACCP/SCCM tarafından sepsis ile ilişkili tanımlamalar 2001 yılında revize edilerek bazı belirteçler eklenmiştir (18).

- Lökositoz (beyaz küre sayısı >12000/mm³)
- Lökopeni (beyaz küre sayısı <4000/mm³)
- Normal beyaz küre sayısı ve immatür formlarının %10'dan fazla olması
- Plazma C-reaktif protein >2 SD (standart deviasyon)
- Plazma prokalsitonin >2 SD

2.2 SEPSİS EPİDEMİYOLOJİ ve ETİYOLOJİSİ

Sepsis tedavisi güç ve mortalitesi yüksek olması nedeniyle özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda önde gelen bir sağlık sorunudur. Sepsis ilişkili mortalite oranı %15-80 arasında değişmektedir (1). Ağır sepsis ve septik şok, cerrahi ve dahili yoğun bakım ünitelerindeki en sık görülen hasta kabul ve ölüm nedenidir (11,12).

Sepsis, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ölüm nedenleri arasında onuncu sıradadır ve 1999-2005 yılları arasında bir milyondan fazla ölüm, toplam ölümlerin %6'sı, sepsise atfedilmiştir (19,20). ABD'de her yıl yaklaşık olarak 751000 ağır sepsis ve septik şok vakası görülmekte ve bunların 215000'i ölümlle sonuçlanmaktadır (21). Vakaların yaklaşık olarak üçte ikisini komorbid durumları

olan hastalar oluşturur. Sepsis sıklığı ve sepsis ilişkili mortalite, ileri yaş ve komorbid durum bulunması ile artış göstermektedir (22). Sadece ABD’de sepsisle ilgili yıllık tıbbi harcama miktarı yaklaşık olarak 17 milyar dolardır (1). Sepsis ilişkili maliyet sağlık harcamalarının %2.5’ini oluşturarak sepsisi 1997 yılından beri hastanede tedavi edilen hastalıklar arasında en yüksek maliyetli hastalık yapmıştır (23).

Son 20 yılda sepsis ve septik şokun insidansı anlamlı derecede artmıştır (24,25). Ağır sepsis ve septik şokun artan insidansı popülasyonun yaşlanması, kronik hastalığı olan insanların yaşam süresinin uzaması, AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) popülasyonunun artışına bağlıdır (22). Cerrahların daha agresif ameliyatlar yapması, vücuda implante olan cihazlar ve kateterler, invaziv girişimlerin artması, hastalıklara ve bağışıklık sistemini baskılayan ilaçlara bağlı olarak bağışıklığı baskılanmış hasta sayısındaki artış, antimikrobiyal ajan kullanımına bağlı daha dirençli mikroorganizmaların çevrede bulunması ve mekanik ventilasyon ağır sepsis görülme sıklığını arttıran diğer nedenlerdir (1).

Sepsiste gelişen en önemli fizyopatolojik olaylardan birisi de septik şoktur. Septik şok en fazla gram negatif bakteriyel sepsislerde görülür (11). Ağır sepsis olgularında başta akciğer olmak üzere akciğerler ve böbrekler en sık yetmezliği gelişen iki organdır. İki veya daha fazla organ yetmezliği oluşan hastalarda mortalite oranı %70’e kadar yükselir (1). Ağır sepsis ve septik şok mortalitesi, şok ve çoklu organ yetmezliği ile komplike olduğu zaman %25-75 arasında değişir (1,21,26,27).

Sepsis etiyolojisinden birçok etken sorumludur. Gram pozitif veya gram negatif bakteriler, mantarlar ve nadiren de protozoa ve riketsialara bağlı olabilir. Bazı kaynaklara göre streptokoklar ve stafilokoklar en sık sepsis nedeni olan bakterilerdir (28). Değişik çalışmalarda, sepsislerin %20-64’ünde gram negatif bakterilerin etken olduğu, %27-74’ünde gram pozitif bakterilerin etken olduğu, %15 ve daha az oranda ise polimikrobiyal etken izole edildiği görülmektedir (28-30). Gram negatif bakterilerden en sık *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* ve *Pseudomonas* türleri saptanırken gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus agalactiae* sık izole edilmektedir. Ağır sepsis vakalarının yaklaşık %20-40’ında ve septik şokluların %40-70’inde bakteri ya da mantar üretilmektedir (22).

Sepsis enfeksiyonun kökeni bakımından hastanede gelişen (nozokomiyal) sepsis ve toplum kaynaklı sepsis olarak ikiye ayrılabilir. Toplum kaynaklı sepsiste deri ve yumuşak dokuda *Staphylococcus aureus*, solunum yollarında *Streptococcus pneumoniae* ve üriner sistemde *Escherichia coli* en sık izole edilen etkenlerdir. Nozokomiyal sepsis ise daha çok damar içi ve üriner kateterlere bağlı görülmekte ve hastalarda koagülaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus*, enterokoklar, *Pseudomonas aeruginosa* ve kandida türlerine sık rastlanmaktadır (29).

Tıbbi teknolojiadaki gelişmeler ve yoğun bakım alanındaki çalışmalara rağmen tedavi yöntemlerinin neredeyse tamamı başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Başarısızlığın önemli nedenlerinden biri sepsise neden olan konakçı yanıtının fizyopatolojik ve genetik temellerinin tam olarak bilinmemesidir.

2.3 SEPSİSİN PATOFİZYOLOJİSİ

Bir patojenik veya potansiyel patojenik mikroorganizma kan akımına girdiği zaman normal cevap esnasında, immün sistem patojeni temizlemek ve etkilenmiş dokunun iyileşmesini sağlamak için proinflamatuvar medyatörler salgılar (22,31). Proinflamatuvar medyatörler tümör nekrosis faktör (TNF), interlökin (IL) ve kemokinler ile hücre içi proteinleri içerir. Bir patojene normal cevapta koagülasyon kaskadı da aktive olur (22). Fibrinojen fibrine dönüşerek patojeni izole etmek amacıyla bir pıhtı oluşturur. Fibrinoliz inhibitörleri de pıhtıyı sürdürerek vücut lizisle pıhtıyı eritmeden patojeni yok edecek zamanı kazandırmak amacıyla salınır. Patojen izole iken proinflamatuvar medyatörler patojeni yok eden aktive nötrofilleri alana çeker (22). Normal cevabın diğer bileşenleri etkilenmiş dokuya kan akımında artış ve lokal kan damarı permeabilitesinde artıştır. Proinflamatuvar cevabın normal dokuları etkilemesini önlemek için cevabı nötralize eden antiinflamatuvar medyatörler salınır. İnflamatuvar ve antiinflamatuvar medyatörlerin dengesi inflamatuvar cevabı lokal enfeksiyon alanına sınırlar. Sepsis meydana geldiğinde ise immün cevap patojenin bulunduğu alana lokalize değil sistemik bir hale gelmiştir.

Septik şok patofizyolojisi proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin salınımında dengesizliği içeren oldukça karmaşık ve multifaktöriyel bir süreçtir (32-35). Septik şokta öncelikle inflamasyon aşırı aktive olur ve koagülasyonda artmaya, trombosit aktivasyonuna, nötrofil ve mononükleer hücrelerde artmaya ve fibrinolizde

bozulmaya yol açar. İnflamasyon ve koagülasyon birbirini tetikler ve bir pozitif geri besleme halkası oluşur. Doku hipoksisi de inflamasyon ve koagülasyonu artırır. Aşırı koagülasyon ile fibrinojen fibrine dönüşür. Mikrovasküler trombüsler kan akımını engelleyerek doku hipoksisine ve medyatör salınımı ile endotel hasarına neden olur ve hücre nekrozuna yol açar (22,31). Patojenler de endotoksin ve ekzotoksin oluşturarak prokoagülan ve proinflamatuvar etkilerle endotel disfonksiyonu ve sonunda da organ disfonksiyonuna neden olabilirler (31). Vasküler konjesyon, endotel hasarı ve koagülasyon sisteminin aşırı uyarılması, hücre ölümü ve organ hasarı ile sonlanır. Yaygın endotel hasarı septik şokun önemli özelliklerinden biridir; hasarlı endotel daha geçirgen olur, böylece karaciğer gibi organlardan dokulara proteinden zengin sıvı geçişi olur. Akciğer ve bağırsak epiteli hücrelerinde apoptozis gelişir (36). İntestinal epitel hasarı bağırsak geçirgenliğini arttırarak bakteri ve endotoksinin translokasyonuna yol açar.

Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin yüzey molekülleri (peptidoglikan ve lipopolisakkarid) toll-like reseptör 2 ve 4'e bağlanır. Bu bağlanma bir dizi hücre içi uyarıya yol açar. Sonuçta TNF- α ve IL-6 transkripsiyonunu tetikleyen nükleer faktör kappa beta (NF-kB)'nın nükleer transportuna neden olur. Makrofaj ve nötrofiller TNF- α ve IL-1B gibi erken medyatörlerin salınımı ile inflamatuvar yanıtı oluşturmanın yanı sıra high-mobility grup box-1 (HMGB-1) gibi geç medyatörleri de salgılar (37). Sitokinler, nötrofil ve endoteliyal hücrelerin adezyon moleküllerini artırır ve nötrofil aktivasyonu ile bakterilerin öldürülmesine yol açar. Devam eden aşırı ve tutarsız sitokin aktivasyonu ise konakta doku hasarına neden olur (38).

Sepsis nötrofil, monosit ve makrofajları içeren doğal immün hücrelerin aracılık ettiği sistemik inflamatuvar cevap ile karakterizedir. Normalde TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimi enfeksiyon ve doku hasarını sınırlayan yararlı konak doğal immün cevabını tetikler. Sepsiste bu sitokinlerin aşırı ve uzamış üretimi orjinal enfeksiyondan daha ölümcül olabilen karşı konulamaz bir inflamatuvar yanıtı neden olur. Özellikle ağır sepsiste proinflamatuvar sitokillerin aşırı üretimi kapiller kaçak, doku hasarı ve ölümcül olan çoklu organ yetmezliğine neden olur (39-41). Yüksek proinflamatuvar sitokin düzeyinin sepsis şiddeti ve mortaliteyle direkt ilişkili olduğu gösterilmiştir (42,43).

Sitokinler konakta ateş, lökositoz, glukoz ve kas metabolizmasında artış, kompleman ve koagülasyon kaskadının aktivasyonu ile gözlenen bir akut faz cevabına neden olur (44). Bu sitokinlerin sebat eden yüksekliği bir dizi patolojik olaya neden olur. Vasküler adezyon molekülleri ve siklooksijenaz ürünleri sentezlenir, nötrofiller aktive olur, nitrik oksit ve reaktif oksijen radikalleri oluşur, apoptotik hücre ölümü, hipotansiyon ve şok benzeri durum indüklenir (35). Proinflamatuvar sitokinler pozitif geri besleme yoluyla inflamatuvar medyatör salınımını arttırarak ileri hasarı tetikler (45).

2.4 DOĞAL İMMÜN YANIT

Doğal bağışıklık güçlü bir erken savunma sistemidir. Epitelyal bariyerler, dokularda ve dolaşımda bulunan hücreler (fagositler; granülosit, monosit/makrofaj, dendritik hücre ve doğal öldürücü hücreler), kompleman sistemi, sitokinler ve diğer plazma proteinleri doğal bağışıklığın komponentleridir.

Doğal bağışıklığın yapıtaşları, konak hücrede bulunmayan, buna karşın farklı mikroorganizmalar üzerinde ortak olarak bulunan yapıları tanırlar. Doğal bağışıklığın hedefi olan bu mikrobiyal moleküllere, aynı tip mikroorganizmalar üzerinde bulunmaları nedeniyle moleküler örgüler (pattern) adı verilir. Lipopolisakkarid (LPS), flagelin, çift zincirli RNA ve CpG DNA (metillenmiş deoksiribonükleik asit) patojen ilişkili moleküler örgülere örnektir (46). Patojen ile ilişkili moleküler örgüler (PAMP) başta antijen sunan hücreler olmak üzere doğal immün sistem içerisinde yer alan hücrelerin yüzeyinde bulunan örgüleri tanıyan reseptörler (pattern recognition receptor, PRR) tarafından tanınır. Doğal bağışıklığın reseptörleri germ hücrelerinde kodlanır ve klonal farklılaşma göstermez. Herbir hücre tipinin yüzeyinde aynı ortak reseptör eksprese edilir. PRR'ler patojen ilişkili moleküler paternler olan LPS (gram negatif bakteri), lipoteikoik asit, peptidoglikan (gram pozitif bakteri) ve mannanı (maya hücresi) tanır (47). PRR'ler üç aileden oluşur: Toll-like reseptör ailesi bunların başında gelir (48,49).

TLR'ler Drosophila türlerinde bulunan ve embriyogenez ile yetişkin sineğin konak immün cevabında rolü olan membran proteini Toll proteinine olan benzerliği nedeniyle Toll benzeri reseptör (Toll-like receptor, TLR) ismini almışlardır (50). Toll-like reseptörler, birçok patojene karşı doğal immün cevabın oluşmasını, aynı

zamanda adaptif immün cevabın da aktive olmasını sağlayan tip 1 transmembran proteinleridir. TLR'ler farklı mikroorganizma bölgelerine özgüllük gösterirler. TLR ailesinin üyeleri bakteri, virüs, mantar ve protozoaları hücre yüzeyi veya lizozom ve endozomların içinde tanıyabilir. TLR'lerin eksojen patojen derive ligandlarının yanı sıra pek çok endojen ligandı da tanımlanmıştır: hiyaluronik asit, HMGB-1, sıcak şok proteini (HSP) gibi.

İnsanlarda eksprese olan 10 adet TLR ve TLR-10 dışında hepsi için en az bir ligand tanımlanmıştır. Toll-like reseptörlerden 1, 2, 4, 5 ve 6 hücre yüzeyinde eksprese olur ve bakteriyel ürünlerin tanınmasında görev alırlar (51). TLR-3, 7, 8 ve 9 ise intrasellüler kompartmanlarda lokalizedir ve virüslerin veya bakteri ve virüs nükleik asitlerinin tanınmasında rol oynarlar (52,53). TLR-2 ve TLR-4 hematopoetik sistem derive hücreler, dalak ve akciğer gibi pek çok dokuda eksprese olmasına rağmen en yüksek transkripsiyon düzeyi monositlerde (54).

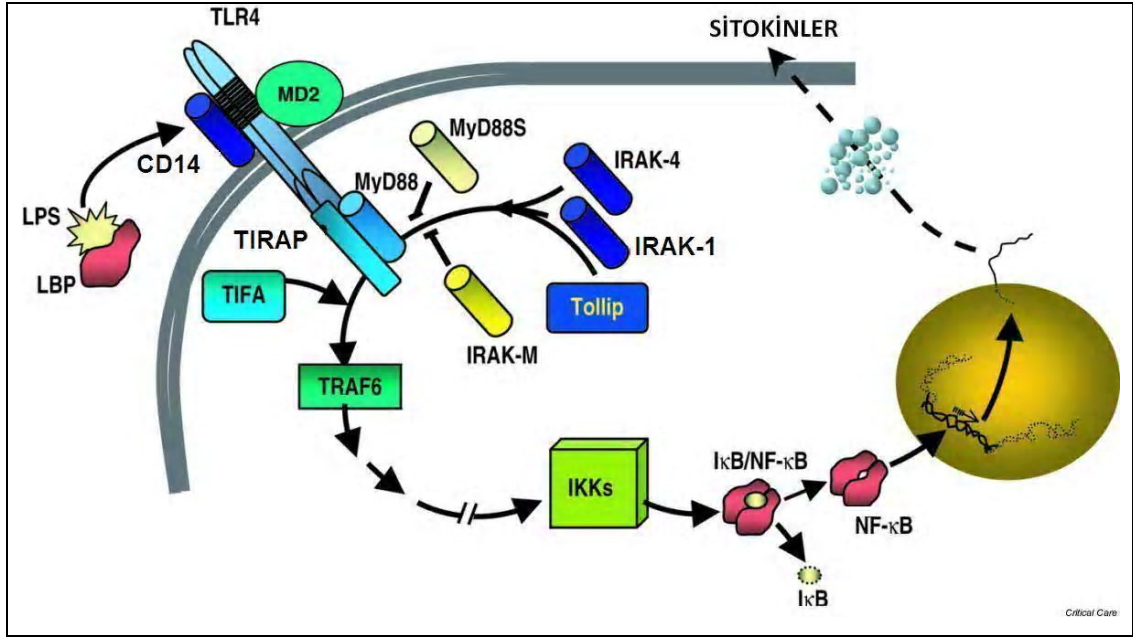
TLR'lerin lösinden zengin tekrarlarla karakterize ekstrasellüler domaini (LRR) ve stoplazmik TIR (toll-interlökin-1 reseptör) domaini vardır (55). LRR, TLR ligand etkileşiminden sorumludur. TIR domaini ise myeloid diferansiasyon primer cevap geni 88 (MyD88) isimli adaptör protein ile etkileşerek proinflamatuvar sitokinlerin salınımıyla sonuçlanan sinyal kaskadını aktive eder (56,57). TLR hücre içi sinyal iletim görevi, TIR domainine bağlanan IRAK (IL-1 receptor-associated kinase) tarafından regüle edilir. Bu işlem için MyD88, MyD88 adaptör-like/Toll-interlökin-1 reseptör domain içeren adaptör protein (Mal/TIRAP), TIR domain içeren adaptör indükleyici interferon- β /TIR içeren adaptör molekül-1 (TRIF/TICAM-1), TRIF ilişkili adaptör molekül (TRAM) ve steril alfa ve ısı Armadillo örgüleri (SARM) gibi TIR adaptif proteinlere ihtiyaç vardır (51). MyD88S ve Tollip (toll interacting protein) ise aktivasyon supressörleri proteinlerdir.

İlk tanımlanan TLR, TLR-1 olmasına rağmen, bu reseptörlerden fonksiyonu ilk belirlenen TLR-4 olmuştur. 1990'ların sonunda Bruce Beutler'in laboratuvarında TLR-4, LPS için özgül bir reseptör olarak tanımlanmıştır. Monosit ve makrofajların yüzeyinde eksprese olan TLR-4 ve CD-14 (CD, cluster of differentiation) gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan lipopolisakkaridlerine (endotoksin) özgüllük gösterir (47). TLR-4'ün diğer ligandları HSP 60 ve 70, fibronektinin

ekstrasellüler A domaini, polisakkarid fragmanları ve düşük molekül ağırlıklı oligosakkaridlerdir (58).

TLR-4 fonksiyonel olarak hücre yüzeyinde CD14 ve lipopolisakkarid bağlayıcı protein (LBP) olan MD-2'yi içeren lipopolisakkarit reseptör kompleksini oluşturmaktadır (59). Sekretuar glikoprotein olan hücre yüzey molekülü MD-2, TLR-4'ü membran yüzeyinde doğru pozisyonda tutarak LPS'in tanınmasında, TLR-4/MD-2 kompleksinin ligand spesifikliğinin sağlanmasında ve sinyal transdüksiyonunun başlamasında önemli rol alır (60-62). Soluble LPS, opsonin olarak işlev gören LBP'e bağlanır. LBP hepatosit, epitel ve diğer hücrelerden salınan tip 1 akut faz proteini. LPS-LBP kompleksi kendi reseptörü olan ve TLR-4 ile kompleks oluşturacak olan CD-14'e taşınır (63). LPS'in CD14'e bağlanması TLR aracılığıyla sinyal transdüksiyonunu başlatmaktadır. TLR aktivasyonu sonucu oluşan sinyal NF-kB transkripsiyon faktörünü aktive eder. Aktive NF-kB sitoplazmadan nükleusa giderek sitokinlerin transkripsiyonu başlatan bölgelere bağlanır. Böylece TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonu ve aktive fagositlerin antimikrobiyal etkilerinde rolü olan proteinlerin üretimi uyarılır (27). (Şekil 1)

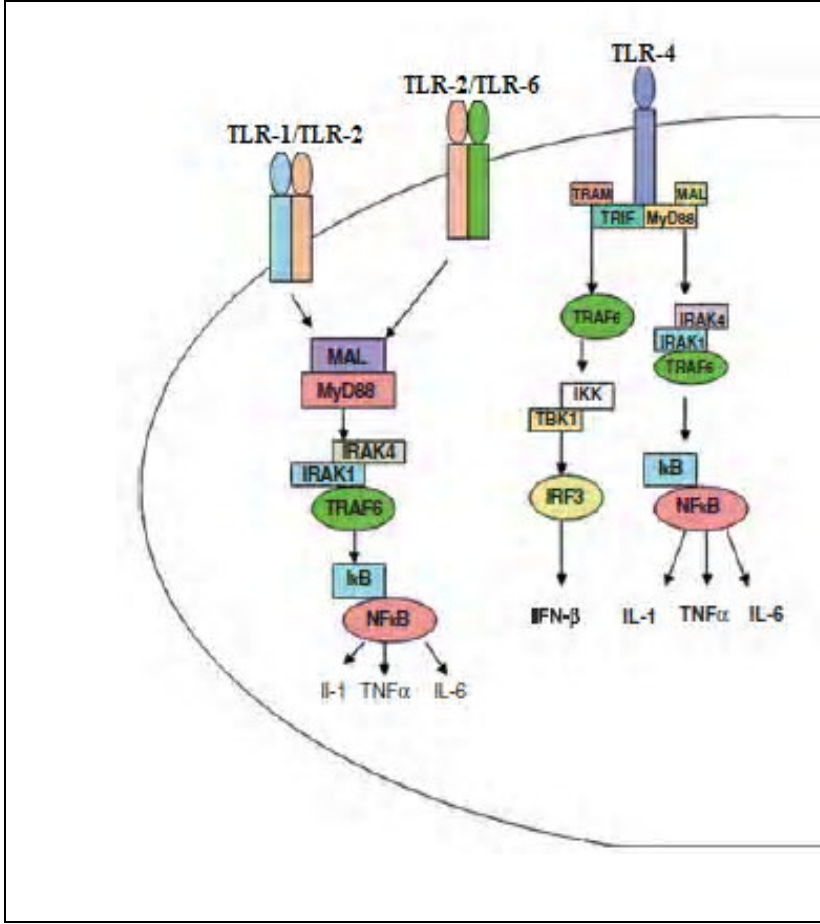
TLR-2, ekstrasellüler domaini aracılığıyla TLR-1 veya TLR-6 ile heterodimer oluşturarak çalışır (64). TLR-2 gram pozitif bakteri ürünleri için en önemli reseptördür. Birçok bakteri lipoglikanına karşı makrofajların yanıt vermesinde rol oynar. Peptidoglikan, lipoteikoik asit ve bir grup gram pozitif makromolekül ile bağlanabilmektedir. Bazı gram negatif bakteriler ile mikobakteri, mantar, mikoplazma türleri, virüs ve parazitleri tanıma özelliği nedeniyle en geniş PAMP repertuarına sahiptir.



Şekil 1: Hücrenin LPS tanıma sistemi ve TLR-4 sinyal yolağı (65)

TLR-2'nin gram pozitif bir bakteri tarafından uyarılması sonrası TIR domaini ile ilişkili adaptör moleküller olan MyD88 ve TIRAP reseptör kompleksine katılır. Sonradan komplekse katılan IRAK-1 ve IRAK-4 aktive olarak sinyal yolağındaki adaptör proteinlerin çalışması sonucu transkripsiyon faktörü NF-κB'yı aktive eder (66). (Şekil 2)

TLR uyarısı bazen karmaşıktır ve uzamış inflamatuvar cevap doku hasarına neden olabilir (67). Doku hasarı veya proteoliz sırasında ekstrasellüler matriks bileşenleri açığa çıkarak TLR'ler için ligand gibi davranabilirler ki bu da TLR aracılı sinyal transdüksiyonunu ve doku hasarını artırır (68).



Şekil 2: TLR-2 ve TLR-4 sinyal yolları (69)

2.5 GENETİK ve SEPSİS

Son dönemlerde yapılan epidemiyolojik çalışmaları ve genomik analizleri dikkate alırsak genetik varyasyonun enfeksiyöz hastalıkların sıklığını ve gidişatını etkilediğine hiç şüphe yoktur. Enfeksiyonlara yatkınlığı belirlemede konakçı genetik faktörlerinin rolü daha açık hale gelmiştir. Bazı insanlar belirli enfeksiyonlara yatkınlığa sahipken diğerleri korunmaktadır (70).

Sorensen ve arkadaşları tarafından 1988'de yapılan çalışmada 1924-1926 yılları arasında doğan ve evlatlık verilen çocuklar ile biyolojik ebeveynleri 1982 yılına kadar takibe alınmıştır. Eğer bir biyolojik ebeveyn enfeksiyona bağlı olarak 50 yaşından önce ölmüş ise çocuğunun enfeksiyondan ölümünün görece riski 5.81 olarak saptanmıştır (71). Bu çalışma ile genetik yatkınlığın mortal enfeksiyonlarla anlamlı derecede ilişkili olduğu görülmüştür.

Sepsis, birçok genin enfeksiyon gibi çevresel bir uyarı ile etkileştiği, çok genli (poligenik) hastalığa güzel bir örnektir. Son çalışmalarda değişik derecelerde olmak

üzere koagülasyon (faktör V), inflamatuvar cevap (TNF- α , IL-6, IL-10) ve patojen tanıma (CD-14, TLR-2, TLR-4) sistemlerinde saptanan polimorfizmler ile septik şok riski ve kritik hastada mortalite arasında ilişki gösterilmiştir (72).

Dünya nüfusunun %40'ı için önemli bir sağlık sorunu olan malarya, enfeksiyona yatkınlıkta bireysel farklılıklar açısından en iyi bilinen enfeksiyon hastalığıdır. Hemoglobin S için heterozigot olan bireyler *Plasmodium falciparumun* neden olduğu malarya enfeksiyonuna karşı korunurken homozigot bireylerde orak hücreli anemi oluşur. Genetik yatkınlık açısından ilk incelenen enfeksiyon da malarya olmuştur. Bu incelemede yatkınlık ve dirençle ilgili pek çok polimorfizm tanımlanmıştır (73).

Genetik polimorfizm, bir popülasyonda sabit olarak var olan allelik (allel, genin mutasyon sonucu oluşan alternatif formu) varyanttır ve genellikle sıklığı >%1'dir. Bir popülasyonda iki veya daha fazla sayıda birbirinden ayrılmış veya farklı fenotiplerin varlığı olarak da tanımlanabilir. Polimorfizmin en sık çeşidi tek nükleotid polimorfizmidir (single-nucleotide polymorphism, SNP). SNP tek bir nükleotidin yerine geçme, delesyon ya da insersiyonu ile oluşabilir. Bir SNP yaklaşık olarak 1000 baz çiftinde bir oluşur ve en sık sitozinin timin ile yer değiştirmesi şeklinde görülür. SNP sonucu farklı bir protein oluşabilir, normal proteinin ekspresyon miktarı değişebilir veya proteinin fonksiyonunda fark edilebilir bir değişiklik olmayabilir (74). Çoğu SNP'nin hücre fonksiyonu üzerine etkisi yoktur. Bunun nedeni SNP sonucu amino asit değişikliği olmaması veya amino asit değişikliğinin proteinin yapısını ve fonksiyonunu etkilememesidir.

İnsan genomunun çözümlenmesi aynı türün bireyleri olarak ne kadar benzer olduğumuzu ortaya koyarken genetik polimorfizm çalışmaları ise bireysel olarak ne kadar eşsiz olduğumuzu göz önüne sermektedir. Araştırmalar etnik farklılıkların genetik polimorfizmlerin dağılımı ve allel sıklığında anlamlı derecede etkisi olduğunu göstermektedir (75).

Son 15 yılda insan genomunda yaklaşık on milyon polimorfizm tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda öne sürülen hipotezlerde sepsise cevabın ortak polimorfizmlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Sepsisin ortaya çıkışı ve sonuçlarındaki heterojenite ise tek nükleotid polimorfizmlerine bağlanmaktadır (76).

2.5.1 TLR-2

TLR-2 geni 4q32 kromozomunda lokalizedir ve 3 ekzondan meydana gelir. TLR-2 geninde iki temel polimorfizm tanımlanmıştır; 677. amino asitte (aa) argininin triptofana değişimi (Arg677Trp) ve 753. aa'te glutaminin argininle yer değişimi (Arg753Gln). Bu polimorfizmler TIR domaininde bulunup intrasellüler sinyal iletimini etkilerler (5,77).

Lorenz ve arkadaşlarının çalışmasında TLR-2 C-terminal bölgesindeki Arg753Gln polimorfizmi ilk kez tanımlanmıştır. 91 septik şoklu hastada yapılan çalışmada, bu polimorfizmin TLR-2'nin gram pozitif bakteri komponentlerine yanıtını azalttığı ve heterojenite saptanan hastalarda *Staphylococcus aureus* enfeksiyonuyla ilişkili olduğu saptanmıştır (5).

Ben-Ali ve arkadaşları, çalışmalarında Tunus popülasyonunda Arg677Trp polimorfizminin tüberkülozlu hastalarda anlamlı derecede yüksekliğini raporlamışlardır (78). Ayrıca Oğuz ve arkadaşları tarafından Türk popülasyonunda Arg753Gln allel sıklığının %4,7 saptandığı çalışmada Arg753Gln polimorfizminin tüberküloz tanısı almış hastalar arasında sık görülmesi nedeniyle bu SNP ile tüberküloz gelişim riskinde artışın ilişkisi ortaya konmuştur (79). Daha önceki çalışmalarda Arg677Trp polimorfizminin in vitro *Mycobacterium leprae* ve *Mycobacterium tuberculosis* aracılı NF-kB aktivasyon ve üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (80,81). Ayrıca, Kore'de yapılan bir çalışmada TLR-2'nin intrasellüler domaininde saptanan Arg677Trp polimorfizmi ile lepromatöz lepra yatkınlığı ilişkilendirilmiştir (77).

2.5.2 TLR-4

TLR-4'te en sık gözlenen iki mutasyon, ekstrasellüler domaini etkileyen 4. ekzonda 299. aa'te aspartik asitin glisin ile yer değiştirmesi (Asp299Gly) ve 399. aa'te treoninin yerine izolösinin geçmesi (Thr399Ile) şeklindedir.

2000 yılında Arbour ve arkadaşları TLR-4 reseptör ekstrasellüler domainini etkileyen iki SNP (Asp299Gly ve Thr399Ile) tanımlamış ve inhale lipopolisakkaride yanıtızlıkla ilişkilerini ortaya koymuştur (6). Bu çalışma TLR-4'teki ortak mutasyonların insanlarda LPS cevabındaki farklılıklarla ilişkisini gösteren ilk genetik kanıtı sağlamış ve gen sekans değişikliklerinin konağın çevresel strese yanıt verme

yeteneğini değiştirebileceğini göstermiştir. Başka bir çalışmada bu polimorfizmin respiratuvar sinsityal virüs, iyi bilinen bir TLR-4 ligandı, ile indüklenen bronşite yatkınlıkla ilişkisi de ortaya konmuştur (82).

Çeşitli nedenlerle (sepsis, kardiyovasküler yetmezlik, pankreatit, solunum yetmezliği gibi) yoğun bakım ünitesine kabul edilmiş 94 hasta ile yapılmış bir çalışmada TLR-4 Asp299Gly SNP'i ile hastane veya yoğun bakımda kalış süresi arasında korelasyon gösterilememiştir. Fakat mortalite TLR-4 SNP taşıyıcılarda daha yüksek saptanmıştır (9). Asp299Gly/Thr399Ile polimorfizmi taşıyanlar ile SNP taşımayanlar karşılaştırıldığında LPS injeksiyonuna cevap olarak inflamasyon belirteçleri IL-6, IL-8 ve C-reaktif protein (CRP) plazma düzeyi anlamlı derecede düşük izlenmiştir (10).

91 septik şoklu hasta ile yapılan Lorenz ve arkadaşlarının çalışmasında gram negatif bakteri enfeksiyonlarında septik şok insidansı ile Asp299Gly ve Thr399Ile SNP'leri arasında ilişki olduğu saptanmıştır (7). Agnese ve arkadaşları tarafından sistemik inflamatuvar sendromu olan yoğun bakım hastalarında yapılan çalışmada TLR-4 mutasyonu olan vakalarda gram negatif enfeksiyon insidansı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (8). Ayrıca bir başka çalışmada TLR-4 SNP (896 A>G) varyantını taşıyan gebe kadınlarda *Gardnerella vaginalis* ve anaerob gram negatif basillerin vajinal kolonizasyonu on kat fazla saptanmıştır (83).

Barber ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise yanık hastalarında Asp299Gly polimorfizmi olanların ağır sepsis geliştirme riskinin 1,8 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (84).

Genetik polimorfizmin kritik durumdaki yoğun bakım hastalarında klinik sonuçla anlamlı korelasyonu bazı çalışmalarda saptanmıştır (85,86). Böylece genetik polimorfizmlerin inflamatuvar medyatörlerin kan seviyesini ve etkilerini güçlü bir şekilde etkileyebileceği gösterilmiştir. Yapılan pek çok gen çalışması genetik polimorfizmin septik hastaların klinik durumları veya bir kısım tedavilere cevapları ile ilişkili olduğu sonucuna varmıştır (87-89). Bu tür sonuçlar gelecekteki uygulamalarda terzi elinden çıkmış gibi kişiye özel tedavilerin genetik polimorfizmlere dayanarak geliştirilebilmesi olanağını düşündürmektedir (90).

2.6 SEPSİS KLİNİĞİ

Kritik hastanın tanısai incelemesinin başlangıcında hemen havayolu (intübasyon ihtiyacı), solunum (solunum sayısı ve distresi, pulse oksimetre), dolaşım (kalp hızı, kan basıncı, juguler venöz basınç, cilt dolaşımı) değerlendirilmeli ve resusitasyonun hızla başlatılmasına odaklanılmalıdır. Vital bulgular ve lökosit sayısı kullanılarak hastada SIRS olup olmadığı belirlenmeli, arteriyel kan gazı ve laktat seviyesi değerlendirilmelidir. Septik cevabın kliniği hastadan hastaya belirgin değişiklik gösterebilir ve altta yatan hastalığının veya primer enfeksiyonun belirti ve bulgularıyla karışmış haldedir. (Tablo 1)

Tablo 1: Sepsiste klinik belirti ve bulgular

-
- Ateş veya hipotermi
 - Üşüme ve titreme
 - Hiperventilasyon
 - Taşikardi
 - Şuur değişikliği
 - Hipotansiyon
 - Deri lezyonları
 - Kanama
 - Trombositopeni
 - Lökositoz veya lökopeni
 - Organ yetmezliğine bağlı bulgular

Akciğer : ARDS

Böbrek : Oligüri, anüri, asidoz

Karaciğer : Sarılık

Kalp : Yetmezlik

Hiperventilasyon sık gözlenen erken bir septik bulgudur. Ventilasyon perfüzyon uyumsuzluğu erken dönemde arteriyel oksijen basıncında düşüşe neden olur. Alveoler epitel hasarı ve kapiller permeabilite artışı sonucu pulmoner sıvı miktarının artması, akciğer kompliyansının azalmasına ve oksijen değişiminin zarar görmesine neden olur. Pnömoni ya da kalp yetmezliğinin olmadığı durumda progresif diffüz

pulmoner infiltratlar ve arteriyel hipoksemi ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$) hafif Akut Respiratuvar Distress Sendromu (ARDS), daha ağır hipoksemi ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$) ise orta ve şiddetli ARDS olduğunu gösterir. Ağır sepsis veya septik şoklu hastaların %50'sinde akut akciğer hasarı ya da ARDS gelişir (22). Solunum kaslarında oluşan güçsüzlük de hipoksi ve hiperkapniyi arttırır.

Septik şok artmış nabız basıncı, azalmış sistemik vasküler direnç ve fonksiyonel hipovolemi ile karakterize dağılımsal şokun klasik şeklidir. Sıçrayıcı nabız, sıcak ve kızarmış cilt, düşük juguler venöz basınç gözlenir. Birçok hastada sepsisin erken döneminde taşikardi ve kan basıncı düşüklüğü vardır. Sepsise bağlı hipotansiyonun muhtemel nedenleri, kan akımı ve hacmindeki jeneralize dağılım bozukluğu, diffüz kapiller kaçak, intravasküler volümü azaltarak dehidratasyona neden olan bir hastalığın varlığı, farkında olunmayan sıvı kayıpları, kusma, ishal ve poliüridir. Santral venöz basınç genellikle düşüktür ve volüm resusitasyonu ile artar. Normal veya artmış kardiyak output ve azalmış sistemik vasküler direnç septik şokun kardiyojenik ve hipovolemik şoktan ayırt edilmesini sağlar.

Ağır sepsisli hastalarda 24 saat içinde miyokard fonksiyon bozukluğuna bağlı bulgular (artmış diyastol sonu ve sistolik ventriküler volüm, azalmış ventriküler kontraktile ve ejeksiyon fraksiyonu) gelişir. Düşük ejeksiyon fraksiyonuna rağmen ventriküler dilatasyon sayesinde normal atım volümü sağlanır. Sağ kalanlarda miyokard fonksiyonları günler içinde geriye döner. Yüksek serum troponin seviyeleri sepsisli kritik hastaların %80 kadarında gözlenir ve yüksek mortalite ile bağlantılıdır (91). Ölüm tek başına kardiyak disfonksiyondan çok refrakter şok ve çoklu organ yetmezliği nedeniyledir.

Kliniği ağır olan hastalarda adrenal yetmezlik tanısı oldukça zor konabilir. Hidrokortizon alması gereken hasta grubunu belirlemek için adrenokortikotropik hormon (ACTH) stimülasyon testi önerilmemektedir (92). Hastada yeterli sıvı replasmanına ve vazopressör tedaviye dirençli hipotansiyon saptanması durumunda intravenöz hidrokortizon (≤ 300 ng/gün) uygulanması önerilir (92). Bu durumdaki hastada kritik hastalık ilişkili kortikosteroid yetmezliğinden (CIRCI, Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency) şüphelenilmelidir. CIRCI hastalığın şiddetine karşın yetersiz kortikosteroid aktivitesini ifade eder. CIRCI adrenal bezin yapısal hasarına bağlı olabildiği gibi daha sık olarak hipotalamo-hipofizer aksın geri dönüşlü

disfonksiyonuna, glukokortikoid reseptör anormalliklerine bağlı doku kortikosteroid direncine veya kortizolün kortizona artmış dönüşümüne bağlıdır (93). Fulminan Neisseria meningitidis bakteriyemisi, dissemine tüberküloz, AIDS veya glukokortikoid, megestrol, etomidat ve ketokonazol gibi glukokortikoid üretimini bozan ilaçların kullanımı da etyolojide yer alır (22).

Oligüri, poliüri, azotemi, proteinüri ve nonspesifik silendirler gibi özgül olmayan renal belirti ve bulgular septik hastalarda sıklıkla bulunur. Sepsiste renal yetmezliğin nedeni çoğunlukla renal tübüler epitelin toksik ve iskemik hasarıdır. Bu hasar nekroz veya apoptozis ile sonuçlanarak akut tübüler nekrozu oluşturur (94). Bazı hastalarda glomerülonefrit, renal kortikal nekroz veya interstisyel nefrit görülebilir. Tedavi komplikasyonu olarak ilaca bağlı renal hasar da oluşabilir, hipotansif durumlarda aminoglikozid antibiyotiklerin etkisi gibi. Kiers ve arkadaşları erken hedefe yönelik tedavide hemodinamik hedeflere ulaşmadaki gecikmenin akut böbrek yetmezliği gelişimiyle anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermiştir (95). Kritik hastalarda sepsis tanısı konduğu anda akut renal hasar veya yetmezliğin birlikte var olması durumunun daha yüksek hastane mortalitesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (96).

Sepsis ilişkili koagülopati ılımlı laboratuvar değişikliklerinden şiddetli dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) tablosuna kadar geniş bir yelpazede gözlenebilir. Trombositopeni hastaların %10-30'unda gözlenir (22). DIC olan hastalarda trombosit sayısı çok düşüktür ($<50000/\mu\text{L}$) ve diffüz endotelyal zedelenme veya mikrovasküler trombozu yansıtır. Mikrovasküler tromboz özellikle meningokokseminde görülen sepsisin yaygın patolojik bir komponentidir (97,98). Hipotansiyon ve DIC tablosu periferik dokularda iskemik nekroz ve akrosiyanoz gelişimini hızlandırır.

Uzun süren ve derin hipotansiyon akut hepatik yetmezlik veya iskemik bağırsak nekrozuna neden olabilir.

Nörolojik belirtiler, oryantasyon bozukluğu, konfüzyon, akut mental değişiklikler ve diğer ensefalopati bulguları daha çok yaşlı ve önceden nörolojik bozukluğu olanlarda gözlenir. Fokal defisitler ise nadirdir. Septik hastalık haftalar, aylar sürerse ağır hastalık polinöropatisi oluşabilir. Bu da ventilatör desteğinden ayrılmayı geciktirir ve distal motor zayıflığa neden olur.

2.7 SEPSİSTE LABORATUVAR

Sepsisin erken döneminde laboratuvar bulguları lökositoz ve sola kayma veya lökopeni, trombositopeni, hiperbilirubinemi ve proteinüridir. Periferik kan yaymasında nötrofillerde toksik granülasyon, Döhle cisimcikleri ve stoplazmik vakuoller bulunabilir. Septik tablo ağırlaştıkça trombositopeni derinleşir, azotemi ve hiperbilirubinemi belirginleşir ve aminotransferazların düzeyi artar. Aktif hemoliz bulunması klostridyal bakteriyemi, malarya, ilaç reaksiyonu ve DIC’u düşündürür. DIC tablosunda trombin zamanında uzama, fibrinojen düzeyinde azalma, D-dimer oluşumu ve periferik kan yaymasında mikroanjiyopatik değişiklikler görülür.

Erken sepsiste hiperventilasyon respiratuvar alkalozu neden olur. Solunum kaslarında yayıflama ve laktat birikimi ile metabolik asidoz da tabloya eklenebilir. Arter kan gazında gözlenen hipoksemi başlangıçta oksijen desteği ile düzeltilebilirken daha sonra %100 oksijene dirençli hale gelmesi sağdan sola şantı gösterir. Direkt grafide normal bulgular olabileceği gibi sıvı yüklenmesi, altta yatan pnömoni veya ARDS’nun yaygın infiltratları da saptanabilir. Elektrokardiyogramda sinüs taşikardisi veya nonspesifik ST-T anormallikleri görülebilir.

Sepsiste bozuk glukoneogenez ve aşırı insülin salınımı ara sıra hipoglisemiye neden olsa da kan glukoz konsantrasyonu genelde yüksektir. Diyabetik ketoasidoz ve hiperozmolar hiperglisemik durum diyabetin iki ciddi komplikasyonudur ve genellikle enfeksiyonla presipite olur (99). Ağır enfeksiyon diyabetik ketoasidoza, ketoasidoz ise hipotansiyona eğilim yaratır. Hiperglisemi durumunda suyun hücre içinden hücre dışına osmotik akışı nedeniyle genelde hiponatremi gözlenir (99). Sitokin aracılı akut faz cevabı transtiretin sentezini inhibe ederken CRP, fibrinojen ve kompleman komponentlerinin üretimini artırır. Protein katabolizması belirgin derecede hızlanır. Serum albümin düzeyi, azalmış hepatik sentez ve albüminin interstisyel alana hareketi sonucu düşer.

Pek çok dokuda miks venöz oksijen saturasyonu normal ya da normale yakın olmasına rağmen kandaki oksijen normal şekilde alınıp kullanılamaz. Dokuda kan akımının azalması mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu etkileyerek enerji metabolizmasını anaerobik glikolize kaydırır ve sonuçta laktik asit üretilir (100). Artmış glikoliz kadar oluşan laktat ve pirüvatın karaciğer ve böbreklerden atılımının bozulması da kan laktat seviyesini artırır. Tek merkezli bir kohort çalışmada yüksek

serum laktat düzeyinin ağır sepsisli hastalarda mortaliteyi etkilediği saptanmıştır (101). Nguyen ve arkadaşları hastalık başlangıcından itibaren ilk 6 saat içinde laktatın klirensinin proinflatuar ve antiinflatuar biyomarkerlarda azalma, organ fonksiyonlarında düzelme ve mortalitede azalma ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermiştir (102,103).

Sepsiste hastalık ilerledikçe hipovolemiye bağlı dolaşım yetmezliği, myokard depresyonu, artmış metabolik ihtiyaç ve vazoregülatör perfüzyon anormallikleri nedeniyle organ yetmezlikleri gelişir. Tüm bu hemodinamik bozukluklar sistemik oksijen ihtiyacı ve sunumu arasında dengesizliğe neden olarak doku hipoksisi ve şoka yol açar (104,105).

Ağır sepsis ve septik şokta karşılaştığımız anemi altta yatan hastalık, akut volüm resusitasyonu, bozulmuş kemik iliği cevabı ve eritropoietin reseptör duyarlılığında azalmanın kombine etkisinden kaynaklanabilir (106).

Hipoksi, hiperkarbi, ciddi metabolik asidoz, şuur durumunda bozulma ve ‘ölüme yakın görünüm’ olması ventilatör desteği endikasyonlarından. Ayrıca sebat eden düşük santral venöz oksijen saturasyonu (SvcO₂) bulunması kardiyopulmoner dekompanzasyonu ve ventilatör desteği gereksinimini gösterir (107,108). ARDS’lu hastalarda nöromusküler blokerlerin erken kullanımı mekanik ventilasyon süresini azaltıp sonucu iyileştirmektedir (109).

2.8 SEPSİS TANISI

Septik cevap için spesifik bir tanı testi yoktur. Şüpheli veya kanıtlanmış enfeksiyonu olan bir hastada ateş veya hipotermi, takipne, taşikardi ve lökositoz veya lökopeni bulunması tanısız olarak anlamlı bulgulardır. Ancak hastaların vücut ısısı, solunum sayısı, kalp atım hızı ve beyaz küre sayısı normal de olabilir. Mental durumda akut bozulma, trombositopeni, yüksek kan laktat düzeyi ve hipotansiyon da tanıyı destekler. Septik cevap hastadan hastaya değişkenlik gösterebilir. Ayrıca enfekte olmayan hastaların sistemik cevabı da sepsis karakteristikleriyle benzer klinikte gözlenebilir. SIRS; pankreatit, yanık, travma, adrenal yetmezlik, pulmoner emboli, aort anevrizma diseksiyonu veya rüptürü, myokard infarktı, okkült hemoraji, kardiyak tamponad, post kardiyopulmoner bypass sendromu, anafilaksi, tümör ilişkili laktik asidoz ve ilaç aşırı dozu gibi nonenfeksiyöz nedenlerle de oluşabilir.

Kesin etiyolojik tanı için mikroorganizma kan veya lokal enfeksiyon bölgesinden izole edilmelidir. İki farklı venden en az iki kan kültürü alınmalıdır. Santral venöz kateteri olan hastalarda ise her iki lümeninden ve periferik venden örnek alınmalıdır. Çoğu sepsis vakasında kan kültürleri negatif saptanır; bunun başlıca nedenleri önceden antibiyotik kullanımı, yavaş ve zor üreyen bir organizmanın etken olması, kan dolaşımında mikrobiyal invazyon olmamasıdır. Primer enfeksiyon sahasından veya enfekte deri lezyonlarından alınan gram ve kültür örnekleri bu durumlarda tanıda faydalıdır. Tanısal değeri olabilecek bulgular açısından deri ve mukozalar dikkatlice ve defalarca incelenmelidir. Hastada enfeksiyon ve sepsis tablosu varlığı kanıtlanamamış olsa bile klinisyen tarafından hastada 'septik görünüm' saptanması da tanı için değerli bir kriter olarak kabul görmektedir (18).

2.9 SEPSİSTE TEDAVİ

Sepsisin yüksek mortaliteye sahip olması nedeniyle sepsis farkındalığını yükseltmek ve tedaviye yön vererek mortaliteyi azaltmak amacıyla erken hedefe yönelik tedavi (EHYT) geliştirilmiştir (110). EHYT, öncelikli olarak yüksek riskli hastaların hipotansiyon (sistolik kan basıncı <90 mmHg) ve laktat seviyesine (>4 mmol/L) göre erken sınıflandırılması ile başlar. Bu hastalara sıvı resusitasyonu derhal başlanmalıdır. Hastalar sınıflandırıldıktan sonra enfeksiyon kaynağı taraması yapılmalı ve uygun kültürler alınarak erkenden uygun antibiyoterapi başlanmalıdır. Hutchinson ve arkadaşları yaptıkları çalışmada antibiyotik tedavisinin erken başlanmasının hastanede kalış süresi ve hastane masraflarının azalması ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermiştir (111).

Hasta ağır sepsis veya septik şok tanısını aldıktan sonra mümkün olan en kısa zamanda, ilk bir saat içinde kan kültürü alınarak antimikrobiyal tedavinin acil olarak başlanması gerekir (92). Bağışıklık durumu ve alerji gibi konakçı faktörleri göz önüne alınarak gram pozitif ve gram negatif bakterilere etkili, geniş spektrumlu, maksimum dozda, IV yoldan tekli ya da çoklu ampirik antibiyoterapi başlanmalıdır. Seçilen ajanın muhtemel enfeksiyon alanına penetrasyonunun iyi olması gerekir. Ampirik antibiyotik tedavisi giderek artan gram pozitif bakteriler, dirençli mikroorganizmalar ile toplum ve hastane duyarlılığı bilgileri dikkate alınarak başlanmalıdır. Diğer ilgili kültürler vakit kaybetmeden uygun şekilde alınmalıdır. Kültür sonuçları ile etken ajan saptanabilirse dirençli mikroorganizmaların

oluşmasını önlemek için antibiyotik spektrumu daraltılmalıdır. Hastanın uygulanan tedaviye verdiği yanıt değerlendirilerek tedavi süresi planlanmalıdır. Hastalar genellikle 7-10 gün süreyle tedaviye ihtiyaç duyarlar (92).

Sepsis kaynağı saptandıktan sonra apse ve ampiyemlerin drenajı, idrar yolu obstrüksiyonunun radyolojik veya cerrahi olarak düzeltilmesi ve peritonit, bağırsak nekrozu, kolesistit, kolanjit, nekrotizan fasiit ve gazlı gangrenin cerrahi tedavisi üzerine odaklanarak enfeksiyon kaynağının ortadan kaldırılması hayati önem taşır.

Erken hedefe yönelik tedavi acil tedavinin köşe taşıdır. Genellikle resusitasyonun hedefi doku oksijen dağılımını artırmak için düşük kan basıncını, yetersiz kan akımını, düşük arteriyel oksijen saturasyonunu ve santral venöz oksijen saturasyonunu arttırmaktır. Santral venöz basınç (SVB) 8-12 mmHg'da tutulmalı ve gerekirse kolloid ve kristaloidlerle sıvı resusitasyonu yapılmalıdır. Ortalama arteriyel basınç hedefi 65 mmHg'dır ve yeterli sıvı replasmanına rağmen hipotansiyon devam ederse noradrenalin, dopamin gibi vazopressörler tedaviye eklenmelidir. Santral venöz oksijen saturasyonu düşük (<%70) ise kan transfüzyonu ile hematokrit %30'un üzerinde tutulmalıdır. Santral venöz basınç, ortalama arteriyel basınç ve hematokrit optimize edilmesine rağmen santral venöz oksijen saturasyonu %70'in altında ise tedaviye dobutamin gibi inotrop ajanlar eklenmelidir (110). (Şekil 3)

Tüm bu tedavilerde ana hedef yeterli perfüzyonun sağlanmasıdır. Saatlik idrar miktarı (>0.5 mL/kg/saat), arteriyel laktat seviyesi (<2 mmol/L), bilinç durumu ve cilt perfüzyonu takibi, ortalama arter basıncı (>65 mmHg), santral venöz basınç ve santral venöz oksijen saturasyonu gibi belirteçlerle perfüzyonun yeterliliği değerlendirilir. Ortalama arter basıncını 60-65 mmHg düzeyinde tutmayı hedefleyen EHYT ilk 6 saatlik resusitasyonda bu hedef için kristaloid veya kolloidlerle yüksek miktarlarda volüm uygulanmasını ve vazopressör kullanımının azaltılmasını önerir. Sıvı resüsitasyonu için SVB monitörizasyon amaçlı kullanılır. Başlangıç sıvı resusitasyonu için SVB değerini 8-12 mmHg hedefe ulaştıracak şekilde her 30 dakikada 500 ml kristaloid (110) ya da 20 mL/kg volüm önerilir (31,92,112,113). Hastalığın ilerleyen aşamalarındaki hipotansiyon sıvı uygulamasına daha dirençlidir.

ScvO₂; solunan oksijen konsantrasyonunun arttırılması (arteriyel hipoksi), eritrosit süspansiyonu transfüzyonu (düşük arteriyel oksijen konsantrasyonu), inotrop tedavi (miyokard supresyonu) ve mekanik ventilasyon (artmış oksijen ihtiyacı) için bir tetik değer oluşturur (103,107,114). Pope ve arkadaşları ilk 6 saat içinde %70 ScvO₂ hedefine ulaşmada başarısızlık olmasını anlamlı derecede artmış mortalite (%14) ile ilişkili bulmuştur (115).

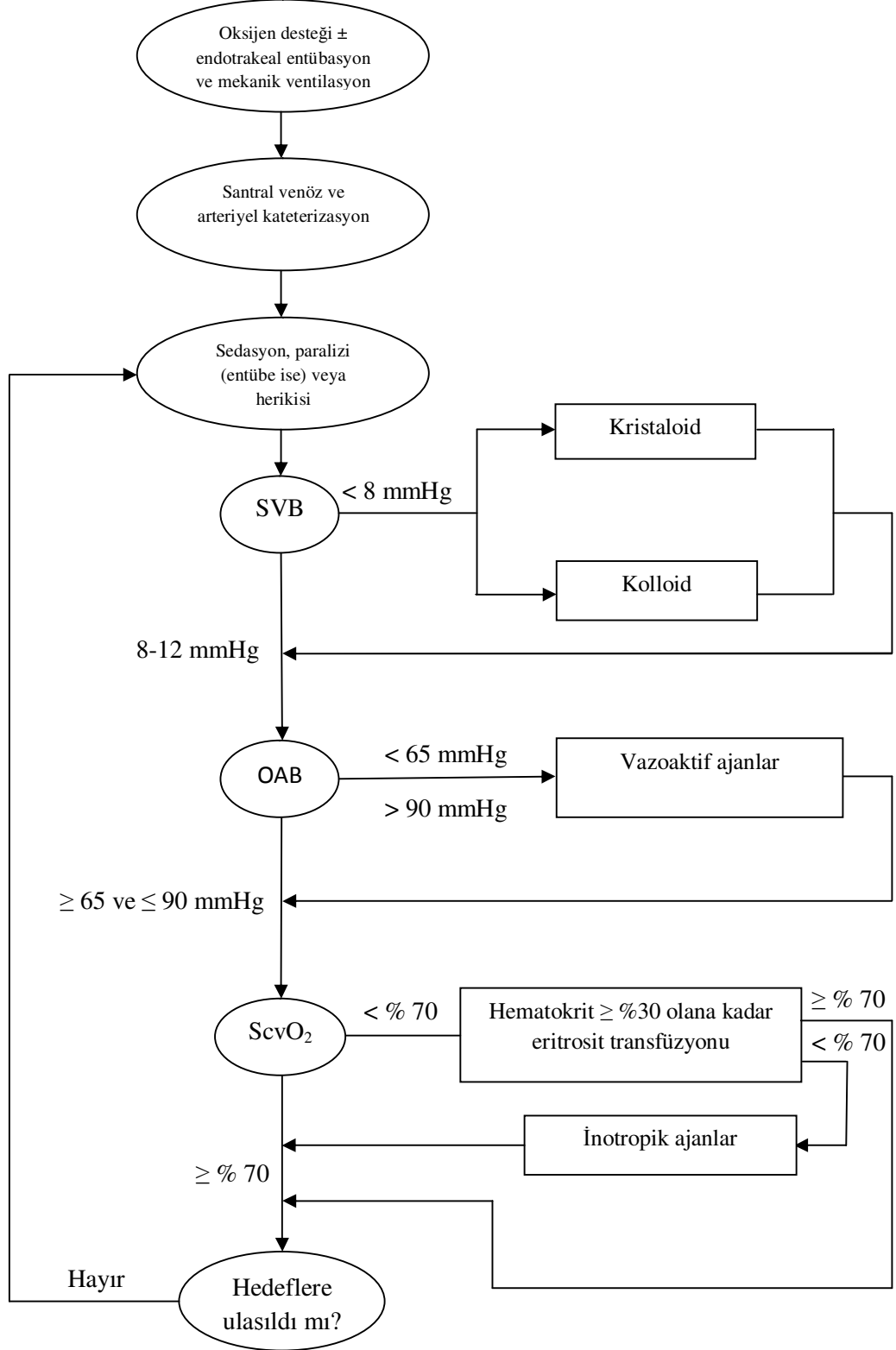
Surviving Sepsis Campaign (SSC), ağır sepsis ve septik şok yönetimi için EHYT önerilerini iki pakette sınıflandırmıştır (92). İlk 6 saatte uygulanması gereken resusitasyon paketi kültürlerin erken alınması ve mümkün olan en kısa zamanda antibiyoterapinin başlanması, kaynak kontrolü, sıvı resusitasyonu, tanısal çalışmalar, laktat seviyesi tayinini içerir. İlk 24 saat uygulanacak yönetim paketi ise glisemik kontrol ve inspiratuvar plato basıncının 30 cmH₂O'nun altında tutulması ile septik şok varlığında düşük doz kortikosteroid ihtiyacının belirlenmesinden oluşur (31,92,112,113). Erken resusitasyon paketinin uygulanması mortalitenin azalması ile bağlantılıdır (112, 113).

Resusitasyon paketi: Erken kültürlerin alınması ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisinin mümkün olan en kısa zamanda, yoğun bakıma başvuruda ≤1 saat içinde ve acil servise başvuruda ise ≤3 saat içinde, başlanması önerilir. Santral venöz basınç hedefi 8-12 mmHg'dir. Santral venöz oksijen saturasyonu hedefi ise %70'tir. Özellikle sıvı tedavisine cevap vermeyen hipotansif hastalar ve laktat seviyesi >4 mmol/L olanlar için bu hedefler mortaliteyi azaltmada önemlidir (92).

Yönetim paketi: Septik hastalarda glisemik kontrol mortaliteyi azaltır. NİCE SUGAR çalışmasında yoğun insülin tedavisi ile sıkı kan şekeri kontrolüne karşın 180 mg/dL altında glisemik hedefin düşük mortalite ile ilişkisi belirtilmiştir (116). Inspiratuvar plato basıncının <30 cmH₂O olması akciğer hasarlı hastalarda mortaliteyi azaltır (92).

Tüm septik şoklu hastalar başlangıçta oksijene gereksinim gösterir. Hastaların birçoğunda ise mekanik ventilasyon gereklidir çünkü akut akciğer hasarı septik şokun en sık komplikasyonudur. Mekanik ventilasyon ile izlenen hastaların yatak başı kontrendikasyon yoksa 30-45° yüksek tutularak mikroaspirasyonlar önlenabilir. Sedasyon protokolleri kullanılarak hastalar yeterli miktarda ve objektif değerlere

göre titre edilerek sedatize edilmelidir. Mekanik ventilatörden ayırma kararı weaning protokolüne göre düzenlenmeli ve ihtiyaç ortadan kalktıktan sonra en kısa sürede uygulanmalıdır (92).



Şekil 3: Erken hedefe yönelik tedavi şeması (110)

Septik şokta anemi sık görülür ve hedefe yönelik tedavi %30 hematokriti amaçlar. Fakat yoğun bakım hastalarında kan transfüzyonu konusunda yapılan bir randomize kontrollü çalışmada akut miyokard infarktüsü ve unstable anjinası olan hastalar hariç olmak üzere 7-9 g/dL arasındaki hemoglobin değerinin 10-12 g/dL arasındaki değere eşit veya daha iyi klinikle uyumlu olduğu gösterilmiştir (117). Altta yatan kalp hastalığı olan hastalar hariç, ilk 6 saat için %30 hematokriti eşik değeri olarak kabul etmek daha sonra kalan hastane yatışının tümünde hemoglobin eşik değerini 7-9 g/dL düzeyine düşürmek kabul edilebilir bir yaklaşımdır.

Hiperglisemi ve insülin direncine de sıklıkla rastlanır. Hiperglisemi prokoagülan ve proapoptotiktir; nötrofil fonksiyonlarını bozar, enfeksiyon riskini artırır, yara iyileşmesini bozar ve artmış mortalite ile ilişkilidir. Bununla beraber septik şokta endokrin fonksiyonun stabil olmaması ve sedasyon nedeniyle fark edilmeyen hipoglisemi serebral hasar riskini artırır. Bu nedenlerle yoğun insülin tedavisi dahili yoğun bakım hastalarında yararlı değildir (118).

Akut böbrek yetmezliği ilişkili olduğu morbidite ve mortalite nedeniyle septik şokun önemli bir komplikasyonudur. Yoğun bakımda yatan kritik hastalarda böbreklerin korunması için en basit ve etkin yöntemler nefrotoksik ajanlardan kaçınılması, sıvı tedavisi, hemodinamik dengenin sağlanarak kardiyak debi ve kan basıncının optimizasyonu ve uygun yoğun bakım ünitesi desteğidir. Aminoglikozidler, amfoterisin B ve radyokontrast ajanlar yoğun bakımlarda en sık kullanılan nefrotoksik ajanlardır. Sürekli renal replasman tedavisi aralıklı hemodiyalize göre daha az hemodinamik bozukluk oluşturur. Fakat renal korumada elde edilen verilere göre herhangi bir hemodiyaliz uygulaması rutin olarak önerilmemektedir (119).

Düşük doz unfraaksiyone heparin ya da düşük molekül ağırlıklı heparin ile venöz tromboemboli profilaksisi, aktif kanama ve koagülopati gibi heparin için kontrendikasyonu olmayan hastalarda önerilir. 5000 ünite heparin subkütan 8-12 saatte bir uygulanır (120). Heparin için kontrendikasyon mevcutsa antiembolik çorap ve aralıklı kompresyon aletleri ile mekanik profilaksi de mümkündür. Yüksek riskli hastalara hem farmakolojik hem de mekanik profilaksi birlikte uygulanabilir (92).

Stres ülser profilaksisinde H₂ reseptör antagonistleri, proton pompa inhibitörleri ve sukralfat kullanılabilir. Bu amaçla en yaygın kullanılan ilaçlar olan H₂ reseptör antagonistleri gastrointestinal kanama riskini etkili oranda azaltır (121).

Enteral beslenme, genellikle total parenteral beslenmeden daha güvenli ve etkindir. Bağırsak mukoza bütünlüğünü ve fonksiyonunu, safra sekresyonunu, sekretuvar immünglobülin A salınımını ve bağırsak lenfoid dokusunu korur; splanknik kan akımını artırır ve stres ülser gelişimini engeller. Bu nedenle bakteriyel translokasyonu ve buna bağlı gelişen enfeksiyöz komplikasyonları engeller. Travma hastalarında erken enteral beslenmenin, parenteral beslenmeye nazaran enfeksiyöz komplikasyonlarda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (122, 123). Ancak abdominal sepsis, cerrahi ve travma hastalarında parenteral beslenme gerekebilir. Protein-kalori malnütrisyonu izlenen hastalarda erken parenteral nütrisyon guideline önerisidir (124).

2.10 SEPSİSİN PROGNOZU ve KORUNMA

Yoğun bakım üniteleri hastane geneline göre invaziv girişimlerin daha sık uygulandığı ve dirençli mikroorganizmaların daha çok izole edildiği yerlerdir. Yoğun bakım ünitelerinde antibiyotik tüketimi hastanenin diğer birimlerindeki yaklaşık on katı kadar fazladır (125). Bu fazla miktarda olan antibiyotik kullanımı çoklu ilaç direnci olan patojenlerin üremesini kolaylaştırır. Bir çalışmada bu patojenler, dünya çapında hastane enfeksiyonlarının major nedeni oldukları ve antibakteriyel ilaçların etkisinden etkin şekilde kaçabildikleri için 'escape' patojenler olarak vurgulanmıştır: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri (126).

Enfeksiyon kontrol önlemlerine dikkatle uyulması gereken yerlerin başında yoğun bakım üniteleri gelmektedir. El yıkama, yatak başının yükseltilmesi, steril teknikle kateter yerleştirilmesi ve kateter değişiminde yeni giriş alanı kullanmak gibi önlemlerle enfeksiyonlara karşı koruma sağlanabilir. İnvaziv işlem sayısı azaltılarak, damar içi ve idrar yolu kateterlerinin gereksiz kullanımından kaçınarak, ihtiyaç ortadan kalktıktan sonra en kısa sürede kateterlerin çıkarılmasıyla, mekanik ventilasyondan erken ayırma ile ve lokalize nozokomiyal enfeksiyonlar daha etkin tedavi edilerek sepsise ilerlemesi olası enfeksiyonların önüne geçilebilir. Gelişigüzel antimikrobik ajan ve glukokortikoidlerin kullanımından da kaçınılmalıdır.

Ağır sepsis hastalarının ilk 30 gün için mortalitesi yaklaşık %20-35 ve septik şoklu hastaların ise %40-60'tır (22). Septik şokun 28 günlük mortalitesi %40-70'tir. Erken ölümler (ilk 72 saat içinde) genellikle arttırılan yaşam desteğine rağmen ilerleyen dirençli şokun sonucudur. Geç dönem ölümler (72 saatten sonra) ise çoklu organ yetmezliğine bağlıdır. Geç dönem mortalite kötü kontrollü enfeksiyon, immünsupresyon, yoğun bakım komplikasyonları ve altta yatan hastalığa bağlı da gelişebilir (22). Yetmezliği olan organ sayısı, organ yetmezliğinin ilerlemesi, ileri yaş, diyabetes mellitus gibi altta yatan tıbbi durum, yüksek APACHE II skoru, artmış laktat seviyesi, vazopressörlere cevap alınamaması, erken hedefe yönelik tedavide hedeflere yetişmede gecikme olması kötü prognozu işaret eden faktörlerdir (127-130). Çalışmalar göstermektedir ki nozokomiyal ağır sepsis veya septik şok hastalarının %50-70'i en az bir gün önceden daha hafif septik bir klinik göstermiştir (22). Organ disfonksiyonu ya da hipotansiyon gelişmeden önce artmış risk altındaki hastaları tanımlamak bu nedenle önemlidir.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

Bu prospektif çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesinde Mart 2011 ile Ağustos 2012 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenerek (Proje Kodu: TSU-11-3709) gerçekleştirildi. Çalışma öncesinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı (Tarih: 03.05.2011; Etik Kurul karar no: 2011/309) alındı.

3.1 HASTALAR

Ağır sepsis ve septik şok tanısıyla ERÜTF İHYBÜ'ne kabul edilen hastalar çalışmaya alındı. Çalışmaya dahil edilmeden önce şuuru açık olan hastaların kendisine, şuuru açık olmayan hastaların ise birinci derece yakınlarına çalışmayla ilgili bilgilendirme yapıldı. Bilgilendirme sonrası bilgilendirilmiş onam formu hasta veya yakını tarafından dolduruldu.

Ağır sepsis ve septik şok tanısı alan hastaların çalışmaya dahil edilme ve çalışmadan dışlanma kriterleri aşağıda belirtilmiştir:

A. Çalışmaya alınma kriterleri:

1. Hastanın ACCP/SCCM tarafından belirlenen ağır sepsis kriterlerine sahip olması
2. Ağır sepsis tanısı konulduktan sonra ilk 12 saat içinde çalışmaya dahil edilmesi

B. Çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. Kronik böbrek yetmezliği bulunması veya renal replasman tedavisi alıyor olması
2. İmmüsupresif tedavi, uzun süreli veya yüksek doz steroid tedavisi
3. Gebelik
4. 48 saat içinde ölüm riskinin yüksek olması
5. Başka bir sağlık kurumunda sepsis tedavisi alırken Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne sevk edilmiş olması
6. 18 yaşından küçük olması
7. Kemoterapi veya radyoterapi tedavisi uygulanan malignite tanısı bulunması

3.2 ÇALIŞMA TASARIMI VE VERİ TOPLAMA

Çalışmaya alınan tüm hastalar için önceden oluşturulmuş olan hasta takip formu dolduruldu. Tüm hastaların adı, soyadı, cinsiyeti, yaşı ve protokol numarası kaydedildi. Hastada mevcut olan diyabetes mellitus (DM), hipertansiyon (HT), koroner arter hastalığı (KAH), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), konjestif kalp yetmezliği (KKY), akut böbrek yetmezliği (ABY), kronik karaciğer hastalığı, malignite ve varsa diğer komorbid durumlar rapor edildi. Her hasta için akut solunum yetmezliği, kardiyak arrest, şok, postoperatif nedenler, nörolojik nedenler ve olası diğer yoğun bakıma yatış nedenleri kayıt altına alındı.

Sepsis odağı, kültür alınan örnekler ve izole edilebilen mikroorganizmalar, hastanın sepsis tedavisi süresince aldığı antibiyotikler ve sepsisten çıkış süresi kaydedildi. Sepsis odağı primer bakteriyemi, üriner veya gastrointestinal sistem (GİS), solunum sistemi, kateter veya yara yeri ve yumuşak doku olarak kayıt altına alındı. Üreyen mikroorganizmalar *Staphylococcus aureus*, gram pozitif koklar, aerob gram negatif basiller, anaeroblar ve funguslar olarak gruplandı. Mikroorganizma üretilen örnekler kan, ETA (endotrakeal aspirat), idrar, kateter, yara ve abse başlıkları altında kaydedildi. Sepsise neden olan enfeksiyon kökenine göre toplum veya hastane kaynaklı enfeksiyon olarak değerlendirildi. Bir enfeksiyon hastanın hastaneye

başvuru anında mevcut değil ya da inkübasyon zamanında değilse fakat hastaneye kabulden en erken 48 saat sonra oluşmuşsa nozokomiyal enfeksiyon kabul edildi. Hastanın sepsis tedavisi süresince aldığı antibiyotikler gruplanarak kayıt altına alındı; antifungal, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu, glikopeptit, karbapenemler, kinolonlar, klaritromisin, klindamisin, kolistin, linezolid, metronidazol, seftriakson, sulbaktam, daptomisin, tigesiklin.

Hastalığın şiddetini ölçmek amacıyla APACHE II ve SOFA skorları hastanın yoğun bakım ünitesine kabul edilişinde hesaplandı. APACHE II skoru (14), kritik durumdaki yoğun bakım hastalarında organ disfonksiyonu ve bozulmuş genel durumu ölçmede kullanılan bir indeks olmakla birlikte sadece hastalığın şiddetini ölçmekte kullanılmayıp aynı zamanda prognostik bir belirteçtir. Organ disfonksiyonunu ve MODS şiddetini değerlendirmek için de kullanılan SOFA skoru hasta sepsisten çıkana veya eksitus olana kadar her gün için 24 saatlik periyotta saptanan en kötü değerlerle hesaplanarak kaydedildi. SOFA-0 yoğun bakıma kabul ediliş, SOFA-1 ilk 24 saatlik zamandaki en yüksek değerleri ve SOFA-max ise izlem boyunca saptanan en yüksek SOFA değerini göstermek için kullanıldı. Ağır sepsis veya septik şok teşhisi anındaki mental durum Glasgow Koma Skoru (GKS) ile değerlendirildi. Hastaların tanı anındaki GKS kaydedildi.

Hastalarda ağır sepsis kriterlerinden hipotansiyon gözlenip gözlenmediği ve metabolik asidoz, hipoksi ($\text{PaO}_2 < 75 \text{ mmHg}$), oligüri, laktik asidoz, akut ensefalopati, dissemine intravasküler koagülasyon gibi organ yetmezliği bulgularının hangilerinin mevcut olduğu kayıt altına alındı. Mikroorganizmalar için vücuda giriş kapısı olabilecek endotrakeal tüp, santral ven ve arter kateterleri, pulmoner arter kateteri, idrar sondası gibi invaziv aletlerin hastada mevcut olup olmadığı kaydedildi. Solunum desteğine ihtiyaç duyan hastaların noninvaziv mekanik ventilatör ve endotrakeal entübasyon veya trakeostomi ile invaziv mekanik ventilatörde (MV) kalış süreleri değerlendirildi. Hastaların toplam kaç gün hastanede ve yoğun bakımda yattığı ve yatışının sonucu taburcu ya da eksitus olarak kaydedildi. Ağır sepsis veya septik şok tanısı ile izlenen hastalar için sonlanım noktası sepsisten çıkış veya eksitus olarak belirlendi.

3.3 HASTAYA UYGULANAN İŞLEM VE TEDAVİLER

ACCP/SCCM tarafından belirlenen ağır sepsis kriterlerini sağlayan hastalar dahil edilme kriterlerini karşılamaları durumunda tanı konulduktan sonra ilk 12 saat içinde çalışmaya alındı. Çalışmadan dışlanma kriterlerine sahip olanlar ve 48 saati doldurmadan eksitus olanlar çalışmaya alınmadı.

Hastaların ağır sepsis veya septik şok tanısını almalarını takiben ilk 1 saat içinde iki set kan kültürü (aerob ve anaerob) ve gerekli durumlarda diğer kültürler için örnekler alınarak ampirik geniş spektrumlu intravenöz antibiyotik tedavisine başlandı. 48-72 saat sonra kültür ve antibiyogram duyarlılık testi sonuçlarına göre tedavinin devamı düzenlendi. Tüm hastalara organ disfonksiyonu ve yetmezliğine karşı standart destek tedavisi, sıvı resusitasyonu, vazoaaktif ilaçlar ile medikal müdahalede bulunuldu. Yoğun bakım ünitesine kabulde tüm hastaların rutin tam kan sayımı ve biyokimyasal parametreleri çalışıldı. Oksijen ihtiyacı değerlendirilerek solunum desteği planlanması yapıldı. Oksijen desteği gereken hastalara hastanın ihtiyacına göre maske oksijen, noninvaziv mekanik ventilasyon ya da endotrakeal entübasyon uygulanarak mekanik ventilasyon uygulandı. Santral venöz basınç kontrolü ile sıvı resusitasyonu amaçlı santral venöz kateter takıldı. Hipotansif ve vazoaaktif ilaç kullanım ihtiyacı olanlara santral arteriyel kateter takıldı. Tüm hastalar üretral sonda ile saatlik idrar takibi yapılarak izlendi.

Çalışmaya alınan tüm hastalara EHYT'de ilk 6 saatte uygulanması gereken SSC resusitasyon paketi önerileri uygulandı: İzlemde tedavi hedefleri olan SVB için 8-12 mmHg, OAB için ≥ 65 mmHg ve ScvO₂ için ise $\geq 70\%$ ulaşılmaya çalışıldı. SVB hedef değerinin altında ise kristaloid sıvılarla intravenöz sıvı replasmanı uygulandı. OAB hedefini tutturmak için hastalara gerekli durumlarda vazopressör ajanlar olan noradrenalin veya dopamin infüzyonu yapıldı. ScvO₂ $< 70\%$ ise öncelikle hematokrit düzeyi $\geq 30\%$ olacak şekilde eritrosit replasmanı uygulanarak sonrasında gerekli ise dobutamin gibi inotropik ajanlar kullanıldı. Tedavinin devamında SSC, ağır sepsis ve septik şok yönetimi için EHYT önerilerinde bulunan sepsis yönetimi paketine uygun olarak glisemik hedef < 180 mg/dL ve mekanik ventilatörle izlenen hastalar için inspiratuvar plato basıncı < 30 cmH₂O sağlanmaya çalışıldı (110).

Hastalara kontrendikasyon olmaması durumunda derin ven trombozu, stres ülser profilaksisi uygulandı ve yatak başı yatak seviyesinden 30-45° yüksekte tutuldu.

3.4 GENETİK YÖNTEM

Çalışmaya dahil edilen 45 hastadan ilk 24 saatte 12 ml periferik kan örnekleri alındı. Kontrol grubu olarak 31 sağlıklı gönüllüden de periferik kan örnekleri alındı. Örnekler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda çalışıldı. EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) içeren 3ml'lik tüpe alınan periferik kan örneklerinden MagNa Pure LC (Roche) cihazı ile otomatik DNA izolasyonu yapıldı. DNA konsantrasyonları Nanodrop 2000 (spectrophotometer) cihazında ölçüldü.

TLR-2 geni (-196,-174 del) polimorfizmi direkt polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle belirlendi (131).

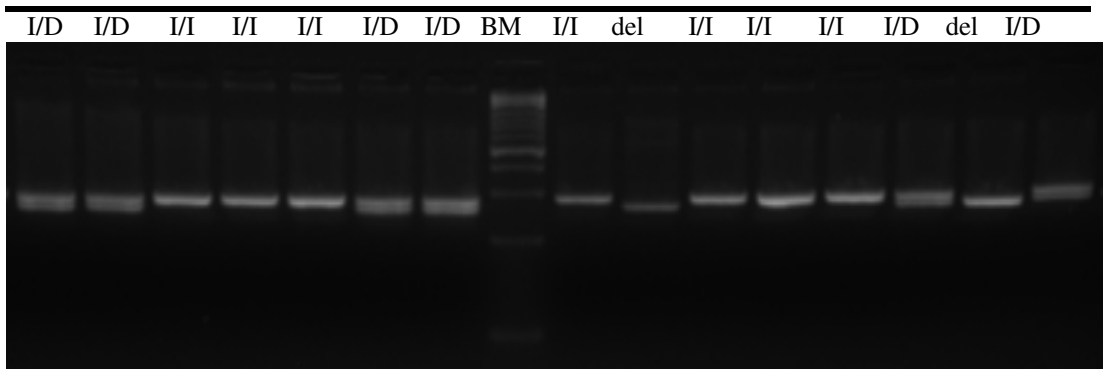
95 C° 5 dk

95 C° 30 sn
60 C° 40 sn
72 C° 40 sn

} 35 döngü

72 C° 7 dk

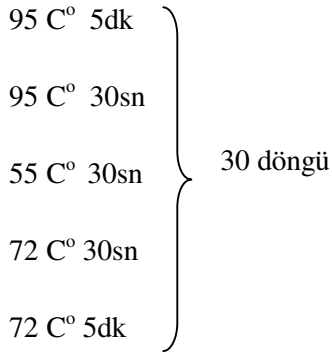
Elde edilen PCR ürünleri %3'lük agaroz jelde koşturuldu. 286 bç (baz çifti) TLR-2 ins/ins (insersiyon), 264 bç homozigot delesyon, 286-264 bç heterozigot olan duruma göre değerlendirme yapıldı.



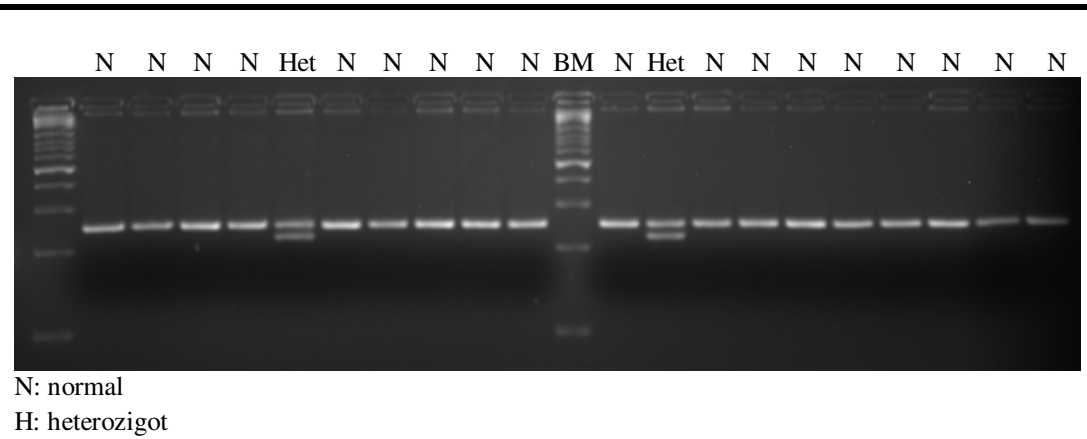
I/I: insersiyon/insersiyon, normal
I/D: insersiyon/delesyon, heterozigot
del: delesyon, mutant
BM: boyut markeri

Şekil 4: TLR-2 geni (-196, -174 del) polimorfizmi agaroz jel görüntüsü

TLR-4 geni (Asp299Gly) polimorfizmi PCR-RFLP (RFLP, restriction fragment length polymorphism) yöntemine göre belirlendi (131).



Elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde görüntülendi. 299bp'lik PCR ürününe *NcoI* enzimi ile RFLP yapıldı. Elde edilen RFLP ürünleri %4'lük agaroz jelde koşturuldu. 252 bp Asp, 224 bp Gly, 224/252 bp heterozigot olan duruma göre değerlendirme yapıldı.



Şekil 5: TLR-4 geni (Asp299Gly) polimorfizmi agaroz jel görüntüsü

TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonları elde edilen RNA örneklerinden Real Time PCR yöntemine göre belirlendi. Ekspresyon için; Transkriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kiti (Roche) ile LightCycler 480 (Roche) cihazı kullanılarak cDNA (komplementer DNA) sentezlendi. cDNA sentezi için 0.2 ml'lik PCR tüplerinde aşağıdaki gibi reaksiyon hazırlandı:

RNA (1-4ng)	5 µl
Oligo Primer	1 µl
Random Hexamer	1 µl
H ₂ O PCR grade	4,4 µl

65 C° 'de 10 dk inkübe edildi.

Reaction Buffer	4 µl
RNase Inhibitor	0,5 µl
Deoxynucleotide	2 µl
DTT	1 µl
Reverse Transkriptase	1,1 µl

Hazırlanan miks 1. basamaktaki tüplere 8.6'şar µl olarak dağıtıldı ve aşağıdaki PCR reaksiyonu kullanılarak cDNA sentezi yapıldı.

55 C° 30 dk

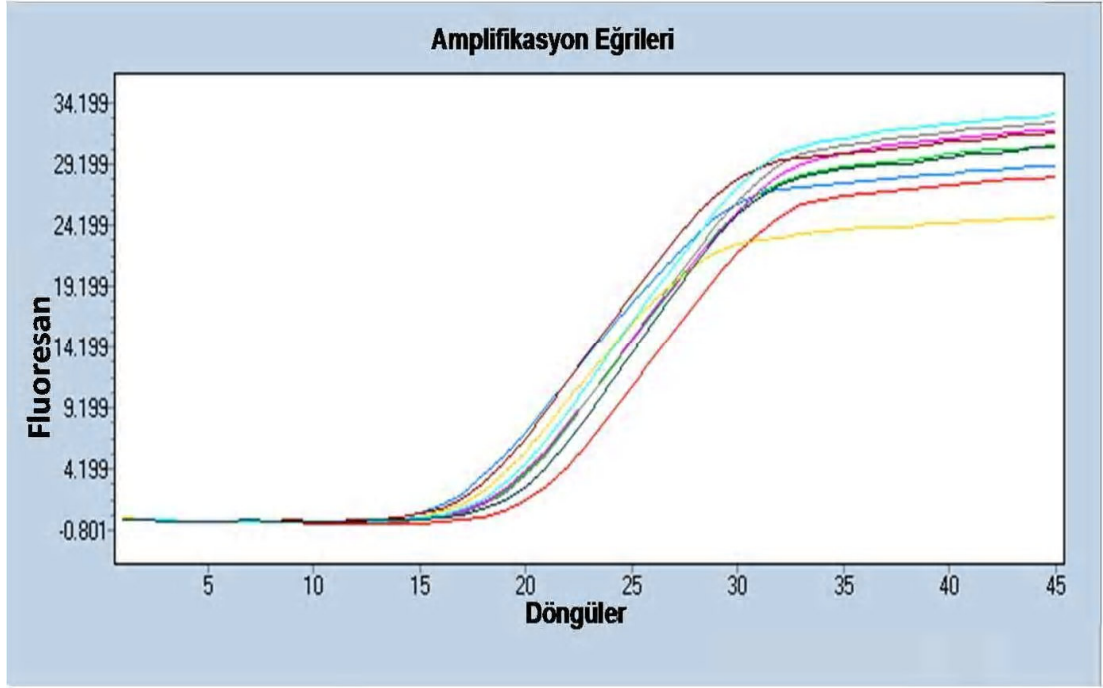
85 C° 5 dk

+4 C° ∞

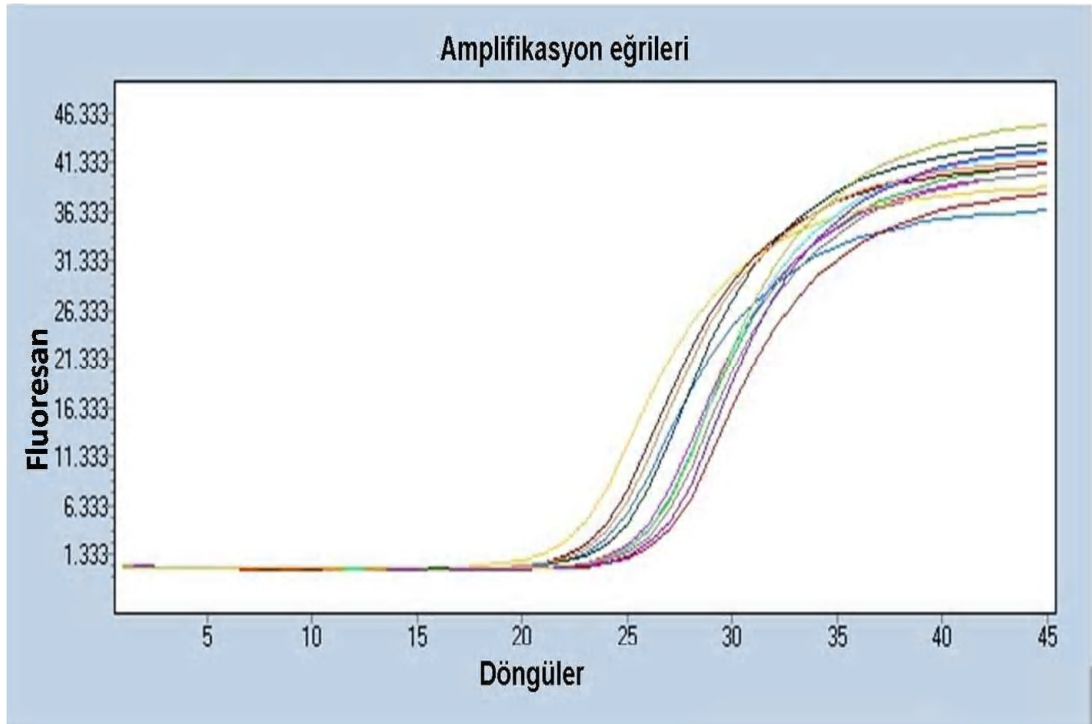
TLR-2, TLR-4 mRNA ekspresyonlarını belirleyebilmek için aşağıdaki gibi reaksiyon miksi hazırlandı. House-keeping gen olarak *beta-aktin geni* kullanıldı ve kontrol grubundan alınanlar da dahil olmak üzere bütün örnekler çift çalışıldı.

LightCycler 480 Probes Master	10µl
Prob	1 µl
dH ₂ O	7 µl
cDNA	2 µl

Hazırlanan reaksiyon miski 0.2 ml'lik PCR tüplerine 17'şer µl olarak dağıtıldı ve üzerine cDNA'lar eklendi ve LightCycler 480 cihazına koyuldu.



Şekil 6: TLR-2 geni mRNA ekspresyonu Real-Time PCR görüntüsü



Şekil 7: TLR-4 geni mRNA ekspresyonu Real-Time PCR görüntüsü

3.5 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile varyans homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda T-testi, Mann-Whitney U testi ve Ki-kare analizleri kullanıldı. Korelasyon analizleri için Spearman testi kullanıldı. Veriler frekans ve yüzde, ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca ve 25.-75. persentil, geometrik ortalama ve %95 güven aralığı olarak ifade edildi. Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 20.0 (Chicago IL) programı ile yapıldı. $p<0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

3.6 TANIMLAMALAR

APACHE II skortlama sistemi

Rutin kullanım için karmaşık olan APACHE sisteminin Knaus ve arkadaşları tarafından 1985'te düzenlenmesiyle oluşmuş basit ve klinik olarak kullanışlı bir skortlama sistemidir. Yaş ve kronik sağlık durumu puanları ile 12 adet fizyolojik ölçüme dayalı akut fizyoloji skorundan oluşan üç temel puanın toplamıdır. Akut fizyoloji skorunda GKS ile ölçülen nörolojik fonksiyon daha ağırlıklı puana sahiptir. Kayda alınan değerler 24 saat içinde normalden en çok sapma gösteren değerlerdir. Hastanın alabileceği en yüksek skor 71'dir. (Ek-I)

SOFA skoru

European Society of Intensive Care and Emergency Medicine tarafından organ yetmezliğini ve dinamik süreci objektif olarak değerlendirmek amacıyla geliştirilmiştir. Skor önceki 24 saat içindeki en kötü değerle hesaplanır. 6 organ sistemi 0-4 arasında puanlanır ve SOFA skoru her biri için elde edilen skorların aritmetik toplamı ile hesaplanır. Hastanın alabileceği en yüksek skor 24'tür. (Ek-II)

Glasgow koma skoru

GKS hastanın bilinç durumunu başlangıç ve sonraki değerlendirmelerde güvenilir ve objektif olarak saptamada kullanılır. Göz açma, sözel ve motor yanıt olmak üzere üç fonksiyon değerlendirilerek puanlanır. 3-8 puan anlamlı nörolojik hasarı (koma), 9-12 puan orta dereceli nörolojik hasarı, 13-15 puan ise hafif nörolojik hasarı gösterir. (Ek-III)

4. BULGULAR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesinde gerçekleştirilen çalışmaya ACCP/SCCM tarafından belirlenen ağır sepsis kriterlerine sahip 45 ağır sepsis ve septik şok hastası dahil edildi. Kontrol grubu 31 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu. Hastaların 21'i (%46.7) erkek, 24'ü (%53.3) kadın ve kontrol grubunun ise 13'ü (%41.9) erkek, 18'i (%58.1) kadındı. Her iki grup arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.684$). Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalaması 63.36 ± 18.72 iken kontrol grubunun yaş ortalaması 59.64 ± 7.37 olarak hesaplandı. Yaş ortalaması açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.234$).

Çalışmaya alınan hastaların yoğun bakım ünitesine en sık yatış nedeni %80 oranla septik şoktu. Hastaların yoğun bakım ünitesine kabuldeki ortalama APACHE II skoru 24.9 hesaplandı. En sık rastlanan komorbid hastalıklar %31.1 oranla HT ve %20 oranla DM oldu. Akciğerler %55.6 oranla en sık sepsis odağı olurken bunu %35.6 ile abdomen (en sık neden, cerrahi alan enfeksiyonu) izledi. Kan kültürü pozitifliği vakaların %35.6'sında saptandı. En sık patojen izolasyonu %40 oranla ETA örneklerinde gerçekleşti. Gram negatif bakteriler %51.1 oranla dominant izole edilen patojen oldu. Vakaların %55.6'sı hastane kaynaklı enfeksiyonlardı. Antibiyoterapi kombinasyonlarında en çok tercih edilen ajanlar %64.4 karbapenemler ve %57.8 beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonuydu.

Hastaların %80'inde mekanik ventilatör ile solunum desteği ihtiyacı mevcuttu. Ortalama yoğun bakım ünitesinde kalış süresi 13.3 ve toplam hastanede yatış süresi 22.3 gün hesaplandı. 28 günlük mortalite oranı %46.7 saptandı.

4.1 POLİMORFİZM SONUÇLARI

31 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu TLR-2 gen polimorfizmi açısından incelendiğinde 19'u (%61.3) normal, 8'i (%25.8) heterozigot ve 4'ü (%12.9) mutant saptandı. Bu grupta TLR-4 gen polimorfizmi için 26 (%83.9) normal ve 5 (%16.1) heterozigot birey saptanırken mutant birey saptanmadı. Hasta grubunu oluşturan 45 ağır sepsis ve septik şok hastası TLR-2 gen polimorfizmi için değerlendirildiğinde 37'si (%82.2) normal, 7'si (%15.6) heterozigot, 1'i (%2.2) mutant; TLR-4 gen polimorfizmi için ise 43'ü (%95.69) normal, 2'si (%4.4) heterozigot saptandı. TLR-4 gen polimorfizmi mutant hasta saptanmadı. Hasta ve kontrol grupları arasında TLR-2 gen polimorfizmi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). TLR-4 gen polimorfizmi için heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı.

Hastalar TLR-2 ve TLR-4 gen polimorfizmi sonuçlarına göre gruplara ayrıldı. TLR-2 polimorfizmi açısından normal saptanan hastalardan oluşan grup TLR-2 N, heterozigot saptanan hastalardan oluşan grup TLR-2 H ve TLR-4 polimorfizmi açısından normal saptanan hastalardan oluşan grup TLR-4 N, heterozigot saptanan hastalardan oluşan grup ise TLR-4 H şeklinde isimlendirildi. TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan bir hasta olduğu için gruplamaya dahil edilmeyerek ayrıca değerlendirildi.

TLR-2 N ve TLR-2 H, TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında yoğun bakıma yatış nedeni, komorbid hastalıklar, ağır sepsis kriterleri, sepsis odağı ve mevcut invaziv aletler gibi özellikler açısından ilişki olup olmadığı incelendi. TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Bu özellikler bakımından gruplardaki hastalar sayı ve yüzde oran olarak Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Hastaların özelliklerine göre gruplardaki sayı ve yüzde dağılımı

Özellikler		TLR-2 N	TLR-2 H	P TLR-2	TLR-4 N	TLR-4 H
YBÜ Yatış Nedeni	Solunum yetmezliği	17(%38.6)	1(%2.3)	0.211	18(%40)	0(%0)
	Kardiyak arrest	2(%4.5)	1(%2.3)	0.413	3(%6.7)	0(%0)
	Şok	29(%65.9)	6(%13.6)	0.999	34(%75.6)	2(%4.4)
	Postoperatif	8(%18.2)	2(%4.5)	0.649	10(%22.2)	0(%0)
	Nörolojik	0(%0)	1(%2.3)	0.159	1(%2.2)	0(%0)
Komorbid Hastalık	DM	6(%13.6)	2(%4.5)	0.593	9(%20)	0(%0)
	HT	11(%25)	2(%4.5)	0.999	14(%31.1)	0(%0)
	KAH	7(%15.9)	0(%0)	0.575	6(%13.3)	1(%2.2)
	KOAH	7(%15.9)	0(%0)	0.575	7(%15.6)	0(%0)
	KKY	1(%2.3)	0(%0)	0.999	1(%2.2)	0(%0)
	ABY	1(%2.3)	0(%0)	0.999	1(%2.2)	0(%0)
	Karaciğer hastalığı	4(%9.1)	0(%0)	0.999	4(%8.9)	0(%0)
	Malignite	2(%4.5)	0(%0)	0.999	2(%4.4)	0(%0)
Sepsis Kriterleri	Metabolik asidoz	19(%43.2)	3(%6.8)	0.999	21(%46.7)	2(%4.4)
	Hipoksi	7(%15.9)	1(%2.3)	0.999	8(%17.8)	0(%0)
	Oligüri	18(%40.9)	2(%4.5)	0.428	19(%42.2)	2(%4.4)
	Laktik asidoz	8(%18.2)	4(%9.1)	0.075	11(%24.4)	1(%2.2)
	Akut ensefalopati	6(%13.6)	1(%2.3)	0.999	7(%15.6)	0(%0)
	DIC	0(%0)	1(%2.3)	0.159	1(%2.2)	0(%0)
	Hipotansiyon	33(%75)	7(%15.9)	0.999	39(%86.7)	2(%4.4)
Sepsis Odağı	Bakteriyemi	3(%6.8)	0(%0)	0.999	3(%6.7)	0(%0)
	Üriner sistem	4(%9.1)	0(%0)	0.999	4(%8.9)	0(%0)
	Akciğer	22(%50)	3(%6.8)	0.443	24(%53.3)	1(%2.2)
	Kateter	3(%6.8)	0(%0)	0.999	3(%6.7)	0(%0)
	Deri-yumuşak doku	2(%4.5)	2(%4.5)	0.113	5(%11.1)	0(%0)
	GİS	13(%29.5)	3(%6.8)	0.692	15(%33.3)	1(%2.2)
İnvaziv Aletler	Endotrakeal tüp	27(%61.4)	6(%13.6)	0.659	32(%71.1)	2(%4.4)
	Santral venöz kateter	37(%84.1)	7(%15.9)	-	43(%95.6)	2(%4.4)
	Santral arter kateteri	28(%63.6)	58(%11.4)	0.999	33(%73.3)	1(%2.2)
	Pulmoner arter kateteri	0(%0)	1(%2.3)	0.159	1(%2.2)	0(%0)
	İdrar sondası	37(%84.1)	7(%5.9)	-	43(%95.6)	2(%4.4)

TLR-2 polimorfizmi açısından mutant saptanan hastanın yoğun bakım ünitesine yatış nedeni şok; komorbid hastalıkları DM ve HT; ağır sepsis kriterleri hipotansiyon, metabolik asidoz ve oligüri; sepsis odağı deri ve yumuşak doku; mevcut invaziv aletleri endotrakeal tüp, idrar sondası, santral arter ve ven kateterleri saptandı.

Hastalar komorbid hastalık sayıları bakımından incelendi. Komorbid hastalığı olmayanlar 0, bir komorbid hastalığı olanlar 1, iki komorbid hastalığı olanlar 2 ve üç veya daha fazla komorbid hastalığı olanlar ≥ 3 olarak gruplara ayrıldı. Komorbid hastalık sayılarının TLR-2 N, TLR-2 H, TLR-4 N ve TLR-4 H gruplarında dağılımı sayı ve yüzde oran olarak Tablo 3'teki gibidir.

TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan hastanın komorbid hastalık sayısı 2 saptandı.

Tablo 3: Komorbid hastalık sayısına göre hastaların gruplardaki dağılımı

Komorbid hastalık sayısı	TLR-2 N n: 44	TLR-2 H	TLR-4 N n: 45	TLR-4 H
0	10 (% 22.72)	4 (% 9.09)	13 (% 28.89)	1 (% 2.22)
1	16 (% 36.36)	2 (% 4.54)	17 (% 37.78)	1 (% 2.22)
2	10 (% 22.72)	1 (% 2.27)	12 (% 26.67)	0 (% 0)
≥ 3	1 (% 2.27)	0 (% 0)	1 (% 2.22)	0 (% 0)

Hastalardan alınan örneklerden izole edilen mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus*, gram pozitif koklar, aerob gram negatif basiller, anaeroblar ve funguslar değerlendirildiğinde TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Mikroorganizmaların üretilbildiği örnekler olan kan, ETA, idrar, kateter, yara ve abse kültürleri açısından karşılaştırıldığında TLR-2 N ve TLR-2 H grupları için istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için bu veriler açısından istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Hasta gruplarına göre izole edilen mikroorganizma ve üreme saptanan örnek çeşitlerinin dağılımı sayı ve yüzde olarak Tablo 4'teki şekilde saptanmıştır.

TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan hastada fungus grubu mikroorganizma idrar kültüründen izole edildi.

Tablo 4: Hasta gruplarına göre izole edilen mikroorganizmalar ve üreme saptanan kültür örneklerinin sayı ve yüzde olarak dağılımı

		TLR-2 N	TLR-2 H	P TLR-2	TLR-4 N	TLR-4 H
İzole Edilen Patojen	<i>S. aureus</i>	3(%6.8)	1(%2.3)	0.513	3(%6.7)	1(%2.2)
	Gram (+) kok	7(%15.9)	2(%4.5)	0.619	9(%20)	0(%0)
	Aerob gram (-)	17(%38.6)	6(%13.6)	0.097	22(%48.9)	1(%2.2)
	Anaerob	1(%2.3)	1(%2.3)	0.296	2(%4.4)	0(%0)
	Fungus	10(%22.7)	2(%4.5)	0.999	12(%26.7)	1(%2.2)
Patojen Üreyen Örnek	Kan	13(%29.5)	3(%6.8)	0.692	16(%35.6)	0(%0)
	ETA	16(%36.4)	2(%4.5)	0.682	17(%37.8)	1(%2.2)
	İdrar	6(%13.6)	0(%0)	0.568	6(%13.3)	1(%2.2)
	Kateter	7(%15.9)	1(%2.3)	0.999	8(%17.8)	0(%0)
	Yara-abse	5(%11.4)	3(%6.8)	0.100	8(%17.8)	0(%0)

Hastaların sepsis tedavisinin önemli bir parçası olarak aldığı antimikrobiyal tedavi ajanları; antifungal, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu, glikopeptit, karbapenemler, kinolonlar, klaritromisin, klindamisin, kolistin, linezolid, metronidazol, seftriakson, sulbaktam, daptomisin, tigesiklin başlıkları altında TLR-2 N ve TLR-2 H grupları için değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Antimikrobiyal ajanların gruplara göre hastalarda kullanım sayı ve yüzdeleri Tablo 5'te verilmiştir.

TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan hastanın tedavi süresince aldığı antibiyoterapi ajanları antifungal, glikopeptit, karbapenem, kolistin ve sulbaktam olarak saptandı.

Tablo 5: Kullanılan antimikrobiyal ajanların hasta gruplarına göre dağılımı

Antimikrobiyal Ajan	TLR-2 N n:44	TLR-2 H	p TLR-2	TLR-4 N n:45	TLR-4 H
Antifungal	9(%20.5)	2(%4.5)	0.999	11(%24.4)	1(%2.2)
Blak+Blakz inh	21(%47.7)	5(%11.4)	0.682	24(%53.3)	2(%4.4)
Glikopeptit	14(%31.8)	3(%6.8)	0.999	17(%37.8)	1(%2.2)
Karbapenemler	24(%54.5)	4(%9.1)	0.692	28(%62.2)	1(%2.2)
Kinolonlar	9(%20.5)	1(%2.3)	0.999	10(%22.2)	0(%0)
Klaritmisin	2(%4.5)	1(%2.3)	0.413	3(%6.7)	0(%0)
Klindamisin	1(%2.3)	0(%0)	0.999	1(%2.2)	0(%0)
Kolistin	10(%22.7)	1(%2.3)	0.659	12(%26.7)	0(%0)
Linezolid	2(%4.5)	0(%0)	0.999	2(%4.4)	0(%0)
Metronidazol	3(%6.8)	1(%2.3)	0.513	4(%8.9)	0(%0)
Seftriakson	9(%20.5)	1(%2.3)	0.999	10(%22.2)	0(%0)
Sulbaktam	2(%4.5)	0(%0)	0.999	3(%6.7)	0(%0)
Daptomisin	1(%2.3)	0(%0)	0.999	1(%2.2)	0(%0)
Tigesiklin	1(%2.3)	0(%0)	0.999	1(%2.2)	0(%0)

Blak+Blakz inh: beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu

Sepsise neden olan enfeksiyon, kökenine göre toplum veya hastane kaynaklı enfeksiyon olarak değerlendirildi. Hastalar enfeksiyon kökenine göre incelendiğinde TLR-2 N grubunda 15 (%34.1) hastada toplum kaynaklı ve 22 (%50.0) hastada hastane kaynaklı enfeksiyon saptandı. TLR-2 H grubunda ise 5 (%11.4) hastada toplum kaynaklı ve 2 (%4.5) hastada hastane kaynaklı enfeksiyon saptandı. TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Saptanan enfeksiyon kökenine göre değerlendirme sonuçları Tablo 6'daki gibidir.

TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan hastada ise hastane kökenli enfeksiyon mevcuttu.

Tablo 6: Enfeksiyon kökenine göre hasta gruplarının karşılaştırılması

Enfeksiyon Kökeni	TLR-2 N	TLR-2 H	P _{TLR-2}	TLR-4 N	TLR-4 H
Toplum	15 (%34.1)	5 (%11.4)		19 (%42.2)	1 (%2.2)
Kaynaklı Hastane Kaynaklı	22 (%50.0)	2 (%4.5)	0.217	24 (%53.3)	1 (%2.2)

TLR-2 ve TLR-4 gen polimorfizmi için normal ve heterozigot gruplar mekanik ventilatör ihtiyacı açısından karşılaştırıldığında; TLR-2 N grubundaki hastaların 29'u (%78.4) ve TLR-2 H grubundaki hastaların 6'sı (%85.7), TLR-4 N grubundan 34 (%79.1) hasta ve TLR-4 H grubundan 2 (%100) hasta mekanik ventilatör desteğine ihtiyaç duydu. TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.999$). TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı.

TLR-2 N ve TLR-2 H grupları noninvaziv ve invaziv mekanik ventilatörde kalış süresi, sepsisten çıkış gün sayısı, yoğun bakım ünitesi ve toplam hastanede kalış gün sayısı, GKS, APACHE II skoru, SOFA-0, SOFA-1 ve SOFA-max skorları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Bu veriler açısından saptanan median ve %25-75 değerleri Tablo 7'de gösterildi.

TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan hastanın MV gün sayısı 3, sepsisten çıkış gün sayısı 9, yoğun bakım ünitesinde kalış gün sayısı 9, hastanede yatış gün sayısı 20, GKS 14, APACHE II skoru 24, SOFA-0 skoru 7, SOFA-1 skoru 7 ve SOFA-max skoru 12 saptandı.

Tablo 7: Hasta gruplarına göre klinik parametrelerin median ve 25.-75. persentil değerleri

Klinik	TLR-2 N	TLR-2 H	TLR-4 N	TLR-4 H
Parametreler	median (%25-75)		median (%25-75)	
MV	6 (4-15)	5.5 (3-10)	6 (3-15)	4 (3-5)
Noninvaziv MV	4 (2-5)	-	4 (2-5)	-
Sepsis süresi (gün)	6 (4-10)	4 (3-10)	6 (4-10)	3.5 (3-4)
YBÜ yatış gün	10 (5-18)	6 (4-12)	10 (5-18)	4 (3-5)
Hastane yatış gün	16 (7-30)	13 (6-83)	16 (8-31)	4 (3-5)
GKS	10 (4-14)	5 (3-14)	10 (3-14)	5 (3-7)
APACHE II	25 (18-30)	25 (20-29)	25 (18-30)	30 (24-36)
SOFA-0	9 (7-12)	10 (8-10)	9 (7-11)	11.5 (10-13)
SOFA-1	11 (9-13)	9 (8-10)	10 (8-13)	11.5 (10-13)
SOFA-max	12 (9-13)	10 (9-13)	12 (9-13)	14 (10-18)

28 günlük mortalite açısından değerlendirildiğinde TLR-2 N grubunda 17 (%45.9) ve TLR-2 H grubunda ise 3 (%42.9) hastada izlem mortalite ile sonlandı fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.999$). TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan hastanın izlemi de eksitus ile sonuçlandı. TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Elde edilen veriler aşağıda Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8: Hasta gruplarının 28 günlük mortalite açısından karşılaştırılması

	TLR-2 N	TLR-2 H	p	TLR-4 N	TLR-4 H
	n:37	n:7	TLR-2	n:43	n:2
28 günlük mortalite	17 (%45.9)	3 (%42.9)	0.999	19 (%44.2)	2 (%100.0)

4.2 EKSPRESYON SONUÇLARI

TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonları açısından hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (TLR-2 için $p=0.544$, TLR-4 için $p=296$). TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyon değerlerinin ortalama ve standart sapması Tablo 9’da görülmektedir.

Tablo 9: Hasta ve kontrol gruplarında TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonu ortalama ve standart sapma değerleri

mRNA Ekspresyonu		Ortalama	SD
TLR-2 geni	Hasta	-6.495814294	1.505480668
	Kontrol	-6.682907976	0.9650274232
TLR-4 geni	Hasta	-5.156419800	0.9572107397
	Kontrol	-5.376525247	0.7863075944

Hasta ve kontrol grupları için TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyon ölçümlerinin geometrik ortalaması ve %95 güven aralığı değerleri Tablo 10’daki gibi saptandı.

Tablo 10: Hasta ve kontrol gruplarında TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonu geometrik ortalaması ve %95 güven aralığı değerleri

mRNA Ekspresyonu		Ortalama	%95 Güven Aralığı
Hasta	TLR-2 geni	0.010952312	0.008124555 - 0.014796137
	TLR-4 geni	0.028039029	0.023249061 - 0.034349214
Kontrol	TLR-2 geni	0.009732944	0.007820580 - 0.012421513
	TLR-4 geni	0.024071582	0.020087543 - 0.029333593

Hastalarda TLR-2 ve TLR-4 gen polimorfizmi ile mRNA ekspresyonu ilişkisi araştırıldı. Hastalar kendi arasında değerlendirildiğinde TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında TLR-2 geni mRNA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). TLR-2 polimorfizmi mutant saptanan hastanın ekspresyon değeri 0.0185 saptandı. TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında

heterozigot hasta sayısı 2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Gruplar için ekspresyon ölçümlerinin geometrik ortalamaları ve %95 güven aralığı değerleri Tablo 11’de verildi.

Tablo 11: Gruplara göre mRNA ekspresyon ölçümlerinin geometrik ortalama ve %95 güven aralığı değerleri

mRNA Ekspresyonu		Ortalama	% 95 Güven Aralığı
TLR-2	Normal	0.010635912	0.007950992 - 0.013771877
Polimorfizm	Heterozigot	0.012787883	0.003860344 - 0.059268626
TLR-4	Normal	0.028949455	0.023566704 - 0.035420176
Polimorfizm	Heterozigot	0.014333004	0.009050000 - 0.022700000

TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonlarının mortalite üzerine etkisi olup olmadığı değerlendirildi. TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyon değerleri ile 28 günlük mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (TLR-2 için $p=0.493$, TLR-4 için $p=0.482$).

Hastalarda saptanan TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonu değerlerinin; hastaların noninvaziv ve invaziv mekanik ventilatörle solunum desteği süresi, sepsisten çıkış gün sayısı, yoğun bakım ünitesi ve hastanede yatış süresi, APACHE II, SOFA-0, SOFA-1 ve SOFA-max skorları ile ilişkisi araştırıldı. Karşılaştırmalarda istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$). Ancak korelasyon katsayıları incelendiğinde TLR-2 geni mRNA ekspresyonu ile SOFA-0 skoru ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonu ile APACHE II ve SOFA-max skoru arasında ters yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü. TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonlarıyla klinik parametrelerin karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri ve korelasyon kat sayıları Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12: TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonlarıyla klinik parametrelerin karşılaştırılması ve korelasyon kat sayıları

Klinik Parametreler	TLR-2 mRNA ekspresyonu		TLR-4 mRNA ekspresyonu	
	kat sayı	p	kat sayı	p
MV	0.111	0.466	-0.167	0.280
Noninvaziv MV	0.062	0.688	-0.158	0.307
Sepsis süresi	0.172	0.259	-0.075	0.626
YBÜ yatış gün	0.095	0.534	-0.022	0.885
Hastane yatış gün	0.052	0.732	-0.017	0.915
APACHE II	-0.195	0.199	-0.307*	0.043
SOFA-0	-0.390*	0.008	-0.285	0.061
SOFA-1	-0.190	0.212	-0.219	0.153
SOFA-max	-0.268	0.075	-0.407*	0.006

5. TARTIŞMA

Bir enfeksiyona karşı konak cevabı immün hücrelerin mikrobiyal komponentlere bağlanıp, onları tanımasıyla başlar. Bakteri hücre duvarı ürünleri, monosit ve makrofajların hücre yüzeylerinde bulunan Toll-like reseptörler aracılığıyla bu hücreler tarafından tanınır. Bu etkileşimin sonucu olarak TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler ve interlökinler aktive mononükleer hücrelerden salınır ve inflamatuvar cevap tetiklenmiş olur. Sepsis enfeksiyonun tetiklediği sistemik inflamatuvar cevap ile karakterize poligenik ve kompleks bir sendromdur (132). Bakteri komponentlerinin doğal immünite ile tanınması ve sonraki sitokin aktivasyonu sepsis patofizyolojisi için önemlidir. Yakın geçmişte, bu cevapla ilgili moleküllerin fonksiyonel gen polimorfizmleri saptanmış; patojenlerin tanınması ve sitokin üretilmesindeki kişisel farklılıkların genetik farklılıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (75). Genetik polimorfizmlerin septik hastalarda hastalık şiddeti ve klinik sonuçla ilişkisi ortaya konmuştur (75,85). Etnik farklılıkların genetik polimorfizm ve allel sıklığının dağılımında anlamlı etkisi olduğu gösterilmiştir (75). Genetik polimorfizmin konağın enfeksiyona yatkınlığını etkilediği ve konağın yatkınlığının da sepsis için risk ve sonucu etkilediği gösterilmiştir (76). Septik hasta gruplarında daha önce yapılmış klinik çalışmaların verileri incelendiğinde bazı çalışmalarda benzer ve bazı çalışmalarda ise farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Ocak 2002-Aralık 2007 arasında yapılan retrospektif bir çalışmada ağır sepsis ve septik şok ile komplike olan 754 gram negatif bakteriyemili hastanın ortalama yaşı 59.3 saptanmıştır (133). 564 ağır sepsis ve septik şok hastasının değerlendirildiği bir

çalışmada yaş ortalaması 66 olarak raporlanmış ve ileri hasta yaşı artmış mortalite ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur (134). Toplum kaynaklı ağır sepsis ve septik şok hastalarında yapılan 184 hastalık bir başka çalışmada ise yaş ortalaması 57.1 saptanmıştır (135). Kore’de toplum kökenli ağır sepsis ve septik şok hastalarında yapılan prospektif, çok merkezli çalışmada ortalama hasta yaşı 65.0 hesaplanmıştır (136). Tanrıöver ve arkadaşları tarafından Ocak 2002 ve Haziran 2003 tarihleri arasında yapılan retrospektif çalışmada sepsis tanısı almış hastaların ortalama yaşı 61.8 hesaplanmıştır (137). Erciyes Üniversitesi’nde gerçekleştirilen 45 ağır sepsis ve septik şok hastasının dahil olduğu mevcut çalışmada hastaların yaş ortalaması 63.4 saptandı. Septik hasta popülasyonunda yapılan çalışmalarda çoğunluğu ileri yaştaki hastalar oluşturmaktadır ve bu nedenle yaş ortalaması oldukça yüksektir. İleri yaş enfeksiyon için başlı başına bir risk faktörüdür. Ayrıca yaşlı hastalar; komorbid durumlar, cerrahi müdahaleler, protez ve implante cihaz kullanımı, romatizmal ve diğer hastalıklar nedeniyle immünsupresif ilaç kullanımı gibi sorunlar nedeniyle enfeksiyonlar açısından riskli bir gruptur.

Grozdanovski ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada hastaların komorbid durumları incelendiğinde %35.3 oranla kronik kalp yetmezliği en sık komorbidite olarak saptanmıştır. Hastaların %26.1’inde komorbidite saptanmamış ve %9.8’inde komorbidite sayısının ≥ 3 olduğu görülmüştür (135). 112 toplum kaynaklı ağır sepsis ve septik şoklu hasta ile yapılan prospektif bir çalışmada hastaların %66’sında bir ya da daha fazla sayıda komorbid hastalık saptanmıştır (138). Bir başka çalışmada ise hastaların %71.1’inde en az bir komorbid hastalık izlenmiştir (136). Türkiye’de yapılan bir çalışmada en sık rastlanan komorbid durumlar hipertansiyon, malignite ve diyabetes mellitus olmuştur (137). ERÜTF İHYBÜ’de yapılan mevcut çalışmada hastaların %66.7’sinde en az bir komorbid hastalık vardı. En sık rastlanan komorbid hastalıklar %31.1 oranla HT ve %20 oranla DM oldu. Kritik hastalarda komorbidite sağkalım ile anlamlı derecede ilişkilidir (139). Ayrıca DM, kronik karaciğer hastalığı, HIV ve kanser gibi komorbid hastalık varlığı hastanın sepsis geliştirme riskini arttıran bağımsız bir risk faktörüdür (21).

Mevcut çalışmada ağır sepsis ve septik şoklu vakaların %55.6’sında hastane kaynaklı enfeksiyon gözlendi. Akciğerler %55.6 oranla en sık sepsis odağı olurken bunu %35.6 ile abdomen izledi. Daha önce yapılmış çalışmalar incelendiğinde de en sık enfeksiyon odağının akciğer olduğu görülmektedir. Bir çalışmada septik hastalarda en sık enfeksiyon odağı %54.6 pnömoni, %20.2 abdominal enfeksiyon ve %14.9

üriner enfeksiyon olarak saptanmıştır (134). Hastaların %74'ünü ABD ve %26'sını Avrupa'daki merkezlerden katılan yoğun bakım ünitesinde tedavi gören ağır sepsis ve septik şok vakalarının oluşturduğu bir çalışmada nozokomiyal enfeksiyon oranı ABD grubunda %18.7 ve Avrupa grubunda %42.5, en sık enfeksiyon odağı olarak pnömoni ABD grubunda %45.8 ve Avrupa grubunda %45.2 oranda saptanmıştır (140). Benzer şekilde diğer bir çalışmada da alt solunum yolları %65.8 oranla en sık sepsis odağı olarak belirlenmiştir (135). 1177 sepsisli hasta ile gerçekleştirilen bir çalışmada en sık saptanan enfeksiyon kaynakları %68 oranla akciğer ve %22 oranla abdomen olmuştur (130). 2005-2009 yılları arasında yapılan çalışmada ise en sık saptanan sepsis odağı solunum sistemi, sonra üriner sistem, abdomen, deri ve yumuşak doku ile primer bakteriyemi olmuştur (136). Bir başka çalışmada vakaların yarısında hastane kaynaklı sepsis saptanmış, en sık enfeksiyon odağı tanı anında %44.9 oranda saptanan pnömoni olarak raporlanmıştır (137).

ERÜTF İHYBÜ'de gerçekleştirilen mevcut çalışmada kan kültürü pozitifliği vakaların %35.6'sında saptanırken en sık üreme %40 oranla ETA örneklerinde saptandı. Gram negatif bakteriler %51.1 oranla dominant izole edilen patojen oldu. Antibiyoterapi kombinasyonlarında en çok tercih edilen ajanlar %64.4 karbapenemler ve %57.8 beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonuydu. Ağır sepsis ve septik şok hastalarında yapılan bir başka çalışmada *Escherichia coli* %30.8, *Klebsiella pneumoniae* %23.2, *Pseudomonas aeruginosa* %17.6, *Enterobacter* türleri %10.1 ve *Acinetobacter* türleri %8.4 oranlarıyla kan kültüründe en sık izole edilen mikroorganizmalar olarak saptanmıştır (133). Kan kültürü pozitifliği oranı %34.2 saptanan diğer bir çalışmada en sık izole edilen mikroorganizmalar %26.6 oranla gram pozitif bakteriler olmuştur. Gram pozitif bakterilerden %15.8 oranla en sık *Staphylococcus aureus* ve gram negatif bakterilerden %3.3 oranla en sık *Escherichia coli* izole edilmiştir (135). Başka bir çalışmada da kültür pozitifliği septik hastalarda %60 oranında izlenirken en sık saptanan mikroorganizmalar %30 *Staphylococcus aureus*, %14 *Pseudomonas* türleri, %13 *Escherichia coli* olarak raporlanmıştır (130). Ayrı bir çalışmada ise örneklerden en sık izole edilen patojenler %25 *Escherichia coli* ve %21.4 *Staphylococcus aureus* olmuştur (138). %69.7 hastada enfeksiyon etkeni patojenin dökümente edilebildiği bir çalışmada dominant patojenler olarak %43 gram negatif bakteriler, %20.4 gram pozitif bakteriler, %0.7 mantarlar ve %0.6 anaeroblar izole edilmiştir (136). Tanrıöver ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kan kültür pozitifliği %47.7 oranda

saptanırken %65.9 oranla gram negatif bakteriler izole edilen dominant patojen olmuştur. Gram negatif bakteriler içerisinde %40.7 *Klebsiella* türleri ve %29.6 *Escherichia coli* en sık izole edilmiştir. Etken patojenler açısından toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı sepsis vakalarında farklılıklar saptanmıştır. Toplum kaynaklı vakaların %41'inde kan kültürü pozitifliği ve baskın patojen olarak %56.2 oranda gram pozitif organizmalar saptanmıştır. Hastane kaynaklı vakalarda ise %53.2 kan kültürü pozitifliği ve %80 oranda gram negatif bakteriler baskın olarak gözlenmiştir. Yine bu çalışmada antibiyoterapide en sık kullanılan kombinasyonlar %13.1 ampisilin-sulbaktam ve siprofloksasin, %8.7 imipenem/meropenem ve glikopeptit, %8.7 piperasilin-tazobaktam ve glikopeptit olmuştur (137).

ERÜTF İHYBÜ'de yapılan mevcut çalışmada hastaların %80'inde mekanik ventilatör ile solunum desteği ihtiyacı mevcuttu. Ağır sepsis ve septik şok hastalarında daha önce yapılmış çalışmalara bakıldığında hastaların mekanik ventilatör ihtiyacı %41.4 ile %75.4 oranında değişmektedir (133,137,140).

Mevcut prospektif çalışmada hastaların yoğun bakım ünitesine kabuldeki ortalama APACHE II skoru 24.9 hesaplandı. Sepsis ve septik şok hastalarında yapılan bir çalışmada ortalama APACHE II skoru 23 saptanmış ve yüksek APACHE II skoru istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış mortalite ile ilişkili gösterilmiştir (134). Benzer iki çalışmada da ortalama APACHE II skorları 18.8 ve 23.7 raporlanmıştır (133,136).

Micek ve arkadaşlarının çalışmasında ortalama hastanede yatış süresi 10.2 gün saptanmıştır (133). 25375 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada yoğun bakımda yatış günü ortalaması ABD için 4.2, Avrupa için 7.8 gün; hastanede yatış günü ortalaması ABD için 10.5, Avrupa için 22.8 gün saptanmıştır (140). Diğer bir çalışmada ortalama hastanede yatış süresi 13 gün saptanmıştır (135). Koreli septik hasta popülasyonunda ise hastanede kalış süresi sağkalımı olanlarda 26.5, olmayanlarda 21.1 gün hesaplanmıştır (136). ERÜTF İHYBÜ'de yapılan bu çalışmada ise ortalama yoğun bakım ünitesinde kalış süresi 13.3 ve toplam hastanede yatış süresi 22.3 gün olarak hesaplandı.

28 günlük mortalite oranı mevcut çalışmada %46.7 saptanırken diğer çalışmaların mortalite oranları incelendiğinde bir çalışmada önceden antibiyotik kullanım öyküsü olan hastalarda mortalite oranı %51.3, antibiyotik kullanım öyküsü olmayanlarda %34 raporlandığı görülmüştür (133). 2005 ve 2010 tarihleri arasında yapılmış diğer

bir çalışma toplam hastane mortalitesini %32 olarak belirtmiştir (140). Toplum kaynaklı ağır sepsis ve septik şok hastalarında Grozdanovski ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise toplam mortalite oranı %51.6, ağır sepsis mortalitesi %44.4 ve septik şok mortalitesi %71.4 hesaplanmıştır (135). Artero ve arkadaşlarının yaptığı prospektif çalışmada toplam mortalite oranı %41.9, ağır sepsis mortalitesi %34.4 ve septik şok mortalitesi %44.5 izlenmiştir (138). Başka bir çalışmada da ağır sepsis ve septik şok hastalarının 28 günlük mortalite oranı %23 saptanmıştır (136). Tanrıöver ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada hastane mortalite oranı %87.3, 28 günlük mortalite oranı %76.8, toplum kaynaklı sepsis mortalitesi %67.7 ve hastane kaynaklı sepsis mortalitesi ise %91.2 saptanmıştır (137).

ERÜTF İHYBÜ’de yapılan bu çalışmada ağır sepsis ve septik şok hastalarında daha önce yapılmış polimorfizm çalışmalarından farklı olarak saptanan gen polimorfizmlerinin hastaların klinik parametreleri üzerine etkisi araştırıldı. TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında hastaların yoğun bakıma yatış nedenleri, komorbid hastalıkları, ağır sepsis kriterlerinden hangilerine sahip oldukları, mevcut invaziv aletleri ve sepsis odakları, izole edilen mikroorganizmalar, üreme saptanan örnekler ve antimikrobiyal tedavide kullanılan ajanlar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. TLR-2 N ve TLR-2 H grupları mekanik ventilatör ihtiyacı, mekanik ventilatörde kalış süresi, sepsisten çıkış gün sayısı, yoğun bakım ünitesi ve hastanede yatış gün sayısı, GKS, APACHE II skoru, SOFA-0, SOFA-1 ve SOFA-max skorları açısından karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. 28 günlük mortalite açısından TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında anlamlı farklılık izlenmedi.

TLR-2 gen polimorfizminin ağır sepsis ve septik şok hastalarında organ yetmezliği, klinik seyrin şiddeti, prognoz ve mortalite üzerine etkisinin olmadığı görüldü. Bu durumun nedenlerinden birinin polimorfizm çalışmasında incelenen TLR-2 geninde bulunan (-196,-174 del) SNP’nin amino asit değişikliğine yol açmaması olabileceği düşünüldü.

TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonları açısından hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Hastalar kendi arasında değerlendirildiğinde TLR-2 N ve TLR-2 H grupları arasında TLR-2 geni mRNA ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Diğer bir deyişle ağır sepsis veya septik şok kliniği bulunan hastalarda TLR-2 ve TLR-4

geni mRNA ekspresyonu sağlıklı kontrollerdeki ile benzer bulundu. Sepsisin varlığının ve klinik durumun ağırlığının mRNA ekspresyonu üzerine etki etmediği görüldü. Ayrıca hastanın TLR-2 gen polimorfizmi için homozigot veya heterozigot olmasının da TLR-2 geni mRNA ekspresyonu açısından bir fark oluşturmadığı görüldü. Gen polimorfizmi ve mRNA ekspresyonu arasında ilişki saptanmaması çoğu SNP'nin olduğu gibi bu çalışmada saptanan SNP'nin de protein yapısına veya proteinin işlevine etkisi olmaması ihtimali ile açıklanabilir.

TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyon değerleri ile 28 günlük mortalite, mekanik ventilatörle solunum desteği süresi, sepsisten çıkış gün sayısı, yoğun bakım ünitesi ve toplam hastanede yatış gün sayısı, APACHE II skoru, SOFA-0, SOFA-1 ve SOFA-max değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Çoğu SNP, amino asit değişikliğine yol açmadığı ya da amino asit değişikliği proteinin yapı ve karakteristiğini değiştirmedığı için hücre fonksiyonuna etki etmez. Gen mRNA ekspresyonu değerleriyle hastaların klinik verileri arasında anlamlı ilişki saptanmamış olması bu nedene bağlanabilir.

Sepsiste aşırı ve düzensiz inflamatuvar yanıtı bağlı pek çok TLR aktive hale geldiği için tek bir TLR kaybı kompanze edilebilir. TLR'ler ve TLR sinyal proteinlerindeki polimorfizmler belirli enfeksiyonlara eğilimi arttırırken sepsis gelişimi ve sonucuna major bir etkileri olmayabilir.

İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmasa da korelasyon katsayıları incelendiğinde TLR-2 geni mRNA ekspresyonu ile SOFA-0 skoru ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonu ile APACHE II ve SOFA-max skorları arasında ters yönde orta düzeyde bir korelasyon olduğu gözlemlendi. Bu sonuç TLR-4 geni mRNA ekspresyonu ne kadar yüksekse hastanın APACHE II ve SOFA-max skorunun o kadar düşük yani klinik seyrinin daha iyi olduğunu gösterir. Benzer şekilde TLR-2 geni mRNA ekspresyonu yüksekliğiyle SOFA-0 skorunda azalma ve hastanın klinik parametrelerinde düzelme ilişkili bulundu. Klinik skorlar ile TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonları arasında korelasyon olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilememesinin nedeni çalışmadaki hasta sayısının istatistiksel ilişkiyi göstermek için yetersiz kalması olabilir.

Bu çalışmada pek çok kısıtlılık mevcuttu. Hastalar TLR-2 ve TLR-4 gen polimorfizmi sonuçlarına göre gruplara ayrıldı, parametreler bu gruplar arasında karşılaştırıldı. Fakat TLR-4 N ve TLR-4 H grupları arasında heterozigot hasta sayısı

2 olduğu için istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Hasta sayısının kısıtlı olmasından dolayı bu grupların değerlendirilememesi ve TLR-2 için bir mutant hasta saptanırken TLR-4 mutant hasta saptanamamasının değerlendirme sonuçlarını etkilediği ve istenilen düzeyde ilişki gösterilememesine neden olduğu düşünöldü. Etnik farklılıkların polimorfizmler üzerine kanıtlanmış etkisi nedeniyle çalışmada seçilen hasta popölasyonu bu sorunların gözlenmiş olması da muhtemeldir.

TLR'ler ile ilgili yapılan farklı çalışmaların her biri farklı bir bakış açısı ile bu önemli reseptörler sisteminin çözümlenmesine fayda sağlayacaktır. Bu çalışma da TLR-2 ve TLR-4 gen polimorfizmleri ile mRNA ekspresyonlarının birbiri ile ilişkisini ve hastanın klinik parametreleri üzerine etkilerini araştıran öncöl bir çalışma olarak değerlidir.

SONUÇLAR

ERÜTF İHYBÜ’de yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre:

1. Sağlıklı popülasyonda; TLR-2 gen polimorfizmi %61.3 normal, %25.8 heterozigot, %12.9 mutant ve TLR-4 gen polimorfizmi %83.9 normal, %16.1 heterozigot saptandı. TLR-4 gen polimorfizmi için mutant birey saptanmadı.
2. Hasta grubunda; TLR-2 gen polimorfizmi %82.2 normal, %15.6 heterozigot, %2.2 mutant ve TLR-4 gen polimorfizmi %95.6 normal, %4.4 heterozigot saptandı. TLR-4 gen polimorfizmi mutant hasta saptanmadı.
3. Hasta ve kontrol grubu arasında TLR-2 ve TLR-4 gen polimorfizmi açısından anlamlı fark saptanmadı.
4. TLR-2 gen polimorfizmi normal ve heterozigot saptanan hastalar; yoğun bakıma yatış nedeni, komorbid hastalık, ağır sepsis kriterleri, invaziv aletler, sepsis odağı, enfeksiyon kökeni, izole edilen patojen, üreme saptanan örnek, kullanılan antimikrobiyal ajan açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
5. TLR-2 gen polimorfizmi normal ve heterozigot saptanan hastalar karşılaştırıldığında; noninvaziv ve invaziv mekanik ventilatörde kalış süresi, yoğun bakım ünitesinde ve hastanede yatış süresi, GKS, APACHE II skoru, SOFA-0, SOFA-1 ve SOFA-max skorları, 28 günlük mortalite açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.
6. Hasta ve kontrol grubu arasında TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonları açısından anlamlı fark saptanmadı.

7. TLR-2 gen polimorfizmi normal ve heterozigot saptanan hasta grupları karşılaştırıldığında TLR-2 geni mRNA ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
8. TLR-2 ve TLR-4 geni mRNA ekspresyonları ile noninvaziv ve invaziv mekanik ventilatörle solunum desteği süresi, yoğun bakım ünitesinde ve hastanede yatış süresi, APACHE II skoru, SOFA-0, SOFA-1 ve SOFA-max skorları, 28 günlük mortalite arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmadı.
9. TLR-2 geni mRNA ekspresyonu ile SOFA-0, TLR-4 geni mRNA ekspresyonu ile APACHE II ve SOFA-max skorları arasında korelasyon katsayılarında ters yönde orta düzeyde ilişki gözlemlendi.

KAYNAKLAR

- 1) Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546-54.
- 2) Margaux Conference on Sepsis and Coagulation. *Crit Care Med* 2000;28:1-89.
- 3) Luce JM. Pathogenesis and Management of Septic Shock. *Chest* 1987;91:883-8.
- 4) Hill AV. The genomics and genetics of human infectious disease susceptibility. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001;2:373-400.
- 5) Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, Arbour NC, Schwartz DA. A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect Immun* 2000;68:6398-401.
- 6) Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 2000;25:187-91.
- 7) Lorenz E, Mira JP, Frees KL, et al. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med* 2002;162:1028-32.
- 8) Agnese DM, Calvano JE, Hahn SJ, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis* 2002;186:1522-5.
- 9) Child NJ, Yang IA, Puletz MC, et al. Polymorphisms in Toll-like receptor 4 and the systemic inflammatory response syndrome. *Biochem Soc Trans* 2003;31:652-3.

- 10) Marsik C, Jilma B, Joukhadar C, et al. The Toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms influence the late inflammatory response in human endotoxemia. Clin Chem 2005;51:2178-80.
- 11) Bone RC. The pathogenesis of sepsis. Ann Intern Med 1991;115:457.
- 12) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, 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;101:1644-55.
- 13) Vincent JL, de Mendonca A, Cantraine F, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. Crit Care Med 1998;26:1793-800.
- 14) Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. Crit Care Med 1985;13:818-29.
- 15) Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. JAMA 1993;270:2957-63.
- 16) Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, et al. Multiple Organ Dysfunction Score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. Crit Care Med 1995;23:1638-52.
- 17) Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. Intensive Care Med 2002;28:108-21.
- 18) Levy MM, Fink MP, Marshall JC. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med 2003;31:1250-6.
- 19) Kung HC, Hoyert DL, Xu J, Murphy SL. Deaths: final data for 2005. Natl Vital Stat Rep 2008;56:1-120.
- 20) Melamed A, Sorvillo FJ. The burden of sepsis-associated mortality in the United States from 1999 to 2005: an analysis of multiple-cause-of-death data. Crit Care 2009;13:28.

- 21) Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303-10.
- 22) Munford RS. Severe sepsis and septic shock. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al. (eds) *Harrison's Principles of Internal Medicine* (18th ed) McGraw-Hill, New York 2012, pp. 2223-31.
- 23) Andrews RM, Elixhauser A. The National Hospital Bill: Growth Trends and 2005 Update on the Most Expensive Conditions by Payer: Statistical Brief #42. 2007 Dec. Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs [Internet]. Rockville (MD): Agency for Health Care Policy and Research (US); Available from: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56314/>
- 24) Oberholzer C, Oberholzer A, Clare-Salzler M, Moldawer LL. Apoptosis in sepsis: a new target for therapeutic exploration. *FASEB J* 2001;15:879-92.
- 25) Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat Med* 2003;9:517-24.
- 26) Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* 2007;35:1244-50.
- 27) Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med* 2006;355:1699-713.
- 28) Bone RC. Gram-positive organisms and sepsis. *Arch Intern Med* 1994;154:26.24
- 29) Weinstein MP, Towns ML, Quarterny SM 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 Dis* 1997; 24:584.
- 30) Uzun Ö, Akalin HE, Hayran M, Ünal S. Factors influencing prognosis in bacteremia due to gram-negative organism: evaluation fo 448 episodes in a Turkish University Hospital. *Clin Infect Dis* 1992;15:866.
- 31) Cinel I, Dellinger RP. Advances in pathogenesis and management of sepsis. *Curr Opin Infect Dis* 2007;20:345-52.
- 32) Wenzel RP, Pinsky MR, Ulevitch RJ, Young L. Current understanding of sepsis. *J Clin Infect Dis* 1996; 22:407-13.

- 33) Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 1999;340:207-14.
- 34) Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986;234:470-4.
- 35) Dinarello CA. Proinflammatory and antiinflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest* 1997;112:321-9.
- 36) Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999;27:1230-51.
- 37) van Zoelen MA, Yang H, Florquin S, et al. Role of toll-like receptors 2 and 4, and the receptor for advanced glycation end products in high-mobility group box 1-induced inflammation in vivo. *Shock* 2009;31:280-4.
- 38) Matsuda A, Jacob A, Wu R, et al. Novel therapeutic targets for sepsis: regulation of exaggerated inflammatory responses. *J Nippon Med Sch* 2012;79:4-18.
- 39) Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis and hemorrhage. *Mediators Inflamm* 2010;2010:642462.
- 40) Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003;348:138-50.
- 41) Riedemann NC, Ward PA. Anti-inflammatory strategies for the treatment of sepsis. *Expert Opin Biol Ther* 2003;3:339-50.
- 42) Mira JP, Cariou A, Grall F, et al. Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA* 1999;282:561-8.
- 43) Van der Poll T, Lowry SF. Tumor necrosis factor in sepsis: mediator of multiple organ failure or essential part of host defense? *Shock* 1995;3:1-12.
- 44) Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response. *J Pathol* 1997;181:257-66.
- 45) Kast RE. Tumor necrosis factor has positive and negative self regulatory feedback cycles centered around cAMP. *Int J Immunopharmacol* 2000;22:1001-6.

- 46) Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Semin Immunol* 2007;19:24-32.
- 47) Holmes CL, Russell JA, Walley KR. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest* 2003;124:1103-15.
- 48) Creagh EM, O'Neill LA. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol* 2006;27:352-7.
- 49) Uematsu S, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *J Mol Med* 2006;84:712-25.
- 50) Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell* 1988;52:269-79.
- 51) Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004;4:499-511.
- 52) Ahmad-Nejad P, Hacker H, Rutz M, et al. Bacterial CpG-DNA and lipopolysaccharides activate Toll-like receptors at distinct cellular compartments. *Eur J Immunol* 2002;32:1958-68.
- 53) Takeda K, Akira S. Microbial recognition by Toll-like receptors. *J Dermatol Sci* 2004;34:73-82.
- 54) Rehli M. Of mice and men: species variations of Toll-like receptor expression. *Trends Immunol* 2002;23:375-58.
- 55) Kang JY, Lee JO. Structural biology of the toll-like receptor family. *Annu Rev Biochem* 2011;80:917.
- 56) Kawai T, Adachi O, Ogawa T, Takeda K, Akira S. Unresponsiveness of MyD88-deficient mice to endotoxin. *Immunity* 1999;11:115-22.
- 57) O'Neill LA, Fitzgerald KA, Bowie AG. The Toll-IL-1 receptor adaptor family grows to five members. *Trends Immunol* 2003;24:286-90.
- 58) Lebow BI, Souba WW. Glutamine. *World J Surg* 2000;24:1503-13.
- 59) Li L. Regulation of innate immunity signaling and its connection with human diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2004;3:81-6.
- 60) Nagai Y, Akashi S, Nagafuku M. et al. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat Immunol* 2002;3:667.
- 61) Kim HM, Park BS, Kim JI. et al. Crystal structure of the TLR4-MD 2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell* 2007;130:906.

- 62) Park BS, Song DH, Kim HM, et al. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature* 2009;458:1191.
- 63) Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000;406:782-7.
- 64) Kirschning CJ, Schumann RR. TLR2: cellular sensor for microbial and endogenous molecular patterns. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002;270:121-44.
- 65) Villar J, Maca-Meyer N, Pérez-Méndez L, Flores C. Bench-to-bedside review: Understanding genetic predisposition to sepsis. *Crit Care* 2004;8:180-9.
- 66) Takeuchi O, Hoshino K, Akira S. Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to *Staphylococcus aureus* infection. *J Immunol* 2000; 165:5392-6.
- 67) Van der Poll T, Opal SM. Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis* 2008;8:32-43.
- 68) Wagner H. Endogenous TLR ligands and autoimmunity. *Adv Immunol* 2006;91:159-73.
- 69) Carpenter S, O'Neill LA. How important are Toll-like receptors for antimicrobial responses? *Cell Microbiol* 2007;9:1891-901.
- 70) Hill AV. Genetics and genomics of infectious disease susceptibility. *Br Med Bull* 1999;24:381-4.
- 71) Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, et al. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med* 1988;318:727-32.
- 72) Texereau J, Chiche JD, Taylor W, Choukroun G, Comba B, Mira JP. The importance of Toll-like receptor 2 polymorphisms in severe infections. *Clin Infect Dis* 2005;41 Suppl 7:408-15.
- 73) Burt RA. Genetics of host response to malaria. *Int J Parasitol* 1999; 29:973-9.
- 74) Wong HR. Genetics and genomics in pediatric septic shock. *Crit Care Med* 2012;40:1618-26.

- 75) Nakada TA, Hirasawa H, Oda S, et al. Influence of toll-like receptor 4, CD14, tumor necrosis factor, and interleukine-10 gene polymorphisms on clinical outcome in Japanese critically ill patients. *J Surg Res* 2005;129:322-8.
- 76) Namath A, Patterson AJ. Genetic polymorphisms in sepsis. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2011;23:181-202.
- 77) Kang TJ, Chae GT. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001;31:53-8.
- 78) Ben-Ali M, Barbouche MR, Bousnina S, Chabbou A, Dellagi K. Toll-like receptor 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:625-6.
- 79) Ogus AC, Yoldas B, Ozdemir T, et al. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur Respir J* 2004;23:219-23.
- 80) Kang TJ, Lee SB, Chae GT. A polymorphism in the toll-like receptor 2 is associated with IL 12 production from monocyte in lepromatous leprosy. *Cytokine* 2002;20:56-62.
- 81) Bochud PY, Hawn TR, Aderem A. Cutting edge: a Toll-like receptor 2 polymorphism that is associated with lepromatous leprosy is unable to mediate mycobacterial signaling. *J Immunol* 2003;170:3451-4.
- 82) Kurt-Jones EA, Popova L, Kwinn L, et al. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat Immunol* 2000;1:398-401.
- 83) Genc MR, Vardhana S, Delaney ML, et al. Relationship between a toll-like receptor-4 gene polymorphism, bacterial vaginosis-related flora and vaginal cytokine responses in pregnant women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;116:152-6.
- 84) Barber RC, Aragaki CC, Rivera-Chavez FA, et al. TLR-4 and TNF- α polymorphisms are associated with an increased risk for severe sepsis following burn injury. *J Med Genet* 2004;41:808-13.

- 85) Watanabe E, Hirasawa H, Oda S, et al. Cytokine-related genotypic differences in peak interleukin-6 blood levels of patients with SIRS and septic complications. *J Trauma* 2005;59:1181-90.
- 86) Watanabe E, Hirasawa H, Oda S, et al. Extremely high interleukin-6 blood levels and outcome in the critically ill are associated with tumor necrosis factor- and interleukin-1-related gene polymorphisms. *Crit Care Med* 2005;33:89-97.
- 87) Barber RC, Chang LY, Lemaire SM, et al. Epistatic interactions are critical to gene-association studies: PAI-1 and risk for mortality after burn injury. *J Burn Care Res* 2008;29:168-75.
- 88) Zhai R, Zhou W, Gong MN, et al. Inhibitor jB-a haplotype GTC is associated with susceptibility to acute respiratory distress syndrome in Caucasians. *Crit Care Med* 2007;35:893-8.
- 89) Calvano JE, Um JY, Agnese DM, et al. Influence of the TNF-alpha and TNF-beta polymorphisms upon infectious risk and outcome in surgical intensive care patients. *Surg Infect* 2003;4:163-9.
- 90) Christie JD. The interleukin-6 gene and critical illness: is inflammatory gene variation the key to personalized medicine in the intensive care unit? *Crit Care Med* 2008;36:1647-9.
- 91) Rudiger A, Singer M. Mechanisms of sepsis-induced cardiac dysfunction. *Crit Care Med* 2007;35:1599-1608.
- 92) Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med* 2008;36:296-327.
- 93) Marik P. Critical Illness Related Corticosteroid Insufficiency. *Chest* 2009;135:181-93.
- 94) Klenzak J, Himmelfarb J. Sepsis and the kidney. *Crit Care Clin.* 2005;21:211-22.
- 95) Kiers HD, Griesdale DE, Litchfield A, et al. Effect of early achievement of physiologic resuscitation goals in septic patients admitted from the ward on the kidneys. *J Crit Care* 2010;25:563-9.
- 96) Bagshaw SM, George C, Bellomo R. Early acute kidney injury and sepsis: a multicentre evaluation. *Crit Care* 2008;12:47.

- 97) Powars DR, Rogers ZR, Patch MJ, et al. Purpura fulminans in meningococemia: Association with acquired deficiencies of proteins C and S. *N Engl J Med* 1987;317:571-2.
- 98) Hazelzet JA, Risseuw-Appel IM, Kornelisse RF, et al. Age-related differences in outcome and severity of DIC in children with septic shock and purpura. *Thromb Haemost* 1996;76:932-8.
- 99) Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA. Hyperglycemia crisis in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2006;29:2739-48.
- 100) Jones AE, Shapiro NI, Trzeciak S, et al. Lactate clearance vs central venous oxygen saturation as goals of early sepsis therapy: a randomized clinical trial. *JAMA* 2010;303:739-46.
- 101) Mikkelsen ME, Miltiades AN, Gaieski DF, et al. Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. *Crit Care Med* 2009;37:1670-7.
- 102) De Backer D, Biston P, Devriendt J, et al. Comparison of Dopamine and Norepinephrine in the Treatment of Shock. *N Engl J Med* 2010;362:779-89.
- 103) Vallet B, Robin E, Lebuffe G. Venous oxygen saturation as a physiologic transfusion trigger. *Crit Care* 2010;14:213.
- 104) Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, et al. Incidence, risk factors and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis. *JAMA* 1995;274:968-74.
- 105) Levy MM, Macias WL, Vincent JL, et al. Early changes in organ function predict eventual survival in severe sepsis. *Crit Care Med* 2005;33:2194-201.
- 106) Walden AP, Young JD, Sharples E. Bench to bedside: A role for erythropoietin in sepsis. *Crit Care* 2010;14:227.
- 107) Hernandez G, Pena H, Cornejo R, et al. Impact of emergency intubation on central venous oxygen saturation in critically ill patients: a multicenter observational study. *Crit Care* 2009;13:63.
- 108) Krafft P, Steltzer H, Hiesmayr M, Klimscha W, Hammerle AF. Mixed venous oxygen saturation in critically ill septic shock patients. The role of defined events. *Chest* 1993;103:900-6.

- 109) Papazian L, Forel JM, Gacouin A. Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2010;363:1107-16.
- 110) Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001;345:1368-77.
- 111) Hutchinson RW, Govathoti DA, Fehlis K, et al. Improving severe sepsis outcomes: cost and time to first antibiotic dose. *Dimens Crit Care Nurs* 2011;30:277-82.
- 112) Jones AE, Brown MD, Trzeciak S, et al. The effect of a quantitative resuscitation strategy on mortality in patients with sepsis: a meta-analysis. *Crit Care Med* 2008;36:2734-9.
- 113) Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, et al. The Surviving Sepsis Campaign: results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. *Intensive Care Med* 2010;36:222-31.
- 114) Perner A, Haase N, Wiis J, White JO, Delaney A. Central venous oxygen saturation for the diagnosis of low cardiac output in septic shock patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2010;54:98-102.
- 115) Pope JV, Jones AE, Gaieski DF, et al. Multicenter study of central venous oxygen saturation (ScvO₂) as a predictor of mortality in patients with sepsis. *Ann Emerg Med* 2010;55:40-6.
- 116) NICE-SUGAR Study Investigators, Finfer S, Chittock DR, et al. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med* 2009;360:1283-97.
- 117) Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. *N Engl J Med* 1999;340:409-17.
- 118) Van den Berghe G, Wilmer A, Hermans G, et al. Intensive insulin in the medical ICU. *N Engl J Med* 2006;354:449-61.
- 119) Venkataraman R. Can we prevent acute kidney injury? *Crit Care Med* 2008;36:166-71.

- 120)** Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, et al. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. (8th ed.). Chest 2008;133:381-453.
- 121)** Cook DJ, Reeve BK, Guyatt GH, et al. Tress ulcer prophylaxis in critically ill patients: resolving discordant meta-analyses. JAMA 1996;275:308-14.
- 122)** Nitenberg G. Nutritional support in sepsis: Still skeptical? Current Opinion in Critical Care 2000;6: 253-66.
- 123)** Moore FA, Feliciano DV, Andrassy RJ, et al. Early enteral feeding, compared with parenteral, reduces postoperative septic complications: The results of a meta-analysis. Ann Surg 1992;215:172-83.
- 124)** Martindale RD, McClave SA, Vanek V, et al. Guidelines for the provision and assessment of nutrition support therapy in the adult critically ill patient: Society of Critical Care Medicine and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition: Executive Summary. Crit Care Med 2009;37:1757-61.
- 125)** Roder BL, Nielsen SL, Magnussen P, Engquist A, Frimodt-Moller N. Antibiotic usage in an intensive care unit in a Danish university hospital. J Antimicrob Chemother 1993;32:633-42.
- 126)** Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. J Infect Dis 2008;197:1079-81.
- 127)** Mannino DM, Buist AS, Petty TL, Enright PL, Redd SC. Lung function and mortality in the United States: data from the First National Health and Nutrition Examination Survey follow up study. Thorax 2003;58:388-93.
- 128)** Egi M, Bellomo R, Stachowski E, et al. Blood glucose concentration and outcome of critical illness: the impact of diabetes. Crit Care Med 2008;36:2249-55.
- 129)** Mostafa G, Huynh T, Sing RF, et al. Gender related outcomes in trauma. J Trauma 2002;53:430-4.
- 130)** Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis occurrence in acutely ill patients investigators: sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. Crit Care Med 2006;34:344-53.

- 131)** Pandey S, Mittal RD, Srivastava M, Srivastava K, Singh S, Srivastava S, Mittal B. Impact of Toll-like receptors [TLR] 2 (-196 to -174 del) and TLR 4 (Asp299Gly, Thr399Ile) in cervical cancer susceptibility in North Indian women. *Gynecol Oncol* 2009;114:501-5.
- 132)** Arcaroli J, Fessler MB, Abraham E. Genetic polymorphisms and sepsis. *Shock* 2005;24:300-12.
- 133)** Micek S, Johnson MT, Reichley R, Kollef MH. An institutional perspective on the impact of recent antibiotic exposure on length of stay and hospital costs for patients with gram-negative sepsis. *BMC Infect Dis* 2012;12:56.
- 134)** Shiramizo SC, Marra AR, Durão MS, et al. Decreasing mortality in severe sepsis and septic shock patients by implementing a sepsis bundle in a hospital setting. *PLoS One* 2011;6:e26790.
- 135)** Grozdanovski K, Milenkovic Z, Demiri I, Spasovska K. Prediction of Outcome from Community-Acquired Severe Sepsis and Septic Shock in Tertiary-Care University Hospital in a Developing Country. *Crit Care Res Pract* 2012;2012:182324.
- 136)** Park DW, Chun BC, Kim JM, et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of Community-Acquired Severe Sepsis and Septic Shock: A Prospective Observational Study in 12 University Hospitals in Korea. *J Korean Med Sci* 2012;27:1308-14.
- 137)** Tanriover MD, Guven GS, Sen D, Unal S, Uzun O. Epidemiology and outcome of sepsis in a tertiary-care hospital in a developing country. *Epidemiol Infect* 2006;134:315-22.
- 138)** Artero A, Zaragoza R, Camarena JJ, et al. Prognostic factors of mortality in patients with community-acquired bloodstream infection with severe sepsis and septic shock. *J Crit Care* 2010;25:276-81.
- 139)** Esper AM, Martin GS. The impact of comorbid [corrected] conditions on critical illness. *Crit Care Med* 2011;39:2728-35.
- 140)** Levy MM, Artigas A, Phillips GS, et al. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2012;12:919-24.

EKLER

EK I: APACHE II SKORLAMA SİSTEMİ:

A. Akut Fizyoloji Skoru:

Değişkenler	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Isı (rektal) °C	≥41	39-40.9		38.5-38.9	36-38.4	34-35.9	32-33.9	30-31.9	≤29.9
OAB mmHg	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
Kalp hızı/dk	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤39
Solunum hızı/dk	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
A-a PO ₂ * mmHg PaO ₂ * mmHg	≥500	350-499	200-349		<200 >70	61-70		55-60	<55
Arteriyel pH VenHCO ₃ ** mEq/L	≥7.7 ≥52	7.6-7.69 41-51.9		7.5-7.59 32-40.9	7.33-7.49 23-31.9		7.25-7.32 18-21.9	7.15-7.24 15-17.9	<7.15 <15
Serum sodyum mEq/L	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
Serum potasyum mEq/L	≥7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Serum kreatinin mg/dl	≥3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hematokrit %	≥60		50-59.9	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
Lökosit mm ³ /L	≥40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
GKS	Skor: 15-GKS=								

mEq/L: miliequalan

* FiO₂ ≥0.5 ise A-a PO₂ (alveoloarteriyel oksijen gradienti), FiO₂ <0.5 ise PaO₂ kullanılır.

** Arteriyel kan gazı ölçümü yoksa kullanılır.

B. Yaş Ayarlaması:

Yaş	Puan
<44	0
45-54	2
55-64	3
65-74	5
>75	6

C. Kronik Sağlık Durumu Puanlaması:

Kronik Sağlık Durumu	Puan
Biyopsi ile kanıtlanmış siroz	1
Kalp yetmezliği class IV	2
Ciddi KOAH	3
Kronik diyaliz	4
İmmün yetmezlik	5
Elektif cerrahi/Cerrahi olmayan	+2
Acil cerrahi	+5

Toplam APACHE II Skoru: A puanı+B puanı+C puanı=

EK II: SOFA (The Sequential Organ Failure Assessment) SKORU:

	0	1	2	3	4
Solunum PaO ₂ /FiO ₂ mmHg	> 400	301-400	201-300	101-200 solunum desteği ile	< 100 solunum desteği ile
Koagölasyon Trombosit sayısı 10 ³ /mm ³	> 150	101-150	51-100	21-50	≤ 20
Karaciğer Bilirubin mg/dL	< 1.2	1.2-1.9	2-5.9	6-11.9	≥ 12
Kardiyovasküler Hipotansiyon mmHg İlaçlar* µg/kg/dk	OAB ≥70	OAB <70	Dopamin ≤ 5 veya dobutamin herhangi bir dozda	Dopamin > 5 veya noradrenalin ≤ 0.1 veya adrenalin ≤ 0.1	Dopamin ≥15 veya noradrenalin >0.1 veya adrenalin > 0.1
Santral Sinir Sistemi GKS	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Böbrek Kreatinin mg/dL İdrar volümü	<1.2	1.2-1.9	2-3.4	3.5-4.9 veya ≤ 500 ml/gün	> 5 veya ≤ 200 ml/gün

*Adrenerjik ajanlar en az 1 saat süre ile uygulanmalıdır.

SOFA skoru altı organ sisteminin her biri için elde edilen skorların aritmetik toplamı ile hesaplanır.

EK III: GLASKOW KOMA SKORU:

GLASKOW KOMA SKALASI	Puan
Göz Açma	
Spontan	4
Sözel uyarı ile	3
Ağrılı uyarı ile	2
Tepki yok	1
Sözel Yanıt	
Oryante	5
Konfü konuşma	4
Bağılantısız kelimeler	3
Anlamsız sesler	2
Yanıt yok/Entübe	1
Motor Yanıt	
Komutlara uyma	6
Ağrıyı lokalize etme	5
Ağrı ile ekstremitayı çekme	4
Anormal fleksiyon yanıtı	3
Anormal ekstansiyon yanıtı	2
Tepki yok	1
Glasgow Koma Skoru	Toplam

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Selcen Karakaş'a ait "SEPSİSTE TLR-2, TLR-4 GEN POLİMORFİZMLERİ VE mRNA EKSPRESYONU" adlı çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza:

Prof. Dr. Oktay OYMAK
Dip. Tes. No: 36838
Nefroloji Bilim Dalı
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri

Başkan.....İmza

Üye.....İmza

Prof. Dr. Murat SENGUR
İç Hastalıkları AD.
Dip. Tes. No: 34989 Dip. No: 688
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri

Üye.....İmza

Prof. Dr. Sebnem GÜRSÖZ
Gastroenteroloji Bilim Dalı
Dip. Tes. No: 43175
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri

Üye.....İmza

Üye.....İmza

Prof. Dr. Munis DUNDAR
Tıbbi Genetik A.B.D. Başkanı
Tıbbi Genetik Uzmanı
Dip. No: 328
Uzmanlık No: 47809/39312