

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**LEVOSİMENDAN DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE AKCİĞER
HASARINI ENGELLEYEBİLİR Mİ?**

Dr. Filiz KAYMAKCI

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2010

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**LEVOSİMENDAN DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE AKCİĞER
HASARINI ENGELLEYEBİLİR Mİ?**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Filiz KAYMAKCI

Tez Proje Danışmanı
Doç.Dr. Çimen OLGUNER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TABLO LİSTESİ	i
ŞEKİL LİSTESİ.....	ii
GRAFİK LİSTES.....	iii
RESİM LİSTESİ.....	iv
KISALTMALAR.....	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii

1. GİRİŞ VE AMAÇ1

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Sepsis Tanımlamaları	2
2.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji.....	4
2.3. Sepsisin Fizyopatolojisi.....	5
2.4. Sepsiste Organ Yetersizliği Gelişimi	7
2.5. Sepsis ve Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu	8
2.6. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu Tedavisi	9
2.7. Sepsis Tedavisinde Kullanılan Vazoaktif İlaçlar	11
2.7.1. Dopamin	
2.7.2. Norepinefrin	
2.7.3. Dobutamin	
2.7.4. Epinefrin	
2.7.5. Vazopressin	
2.7.6. Levosimendan	

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Denekler	16
3.2.Anestezi Uygulaması.....	16
3.3.Çekum Ligasyon Perforasyon Cerrahisi (ÇLP) İle Deneysel Sepsis Modelinin Oluşturulması.....	16
3.4.Monitorizasyon	16
3.5.Deney Grupları.....	17
3.6.Deney Protokolü	18
3.7.Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	19
3.8.Akciğer Dokusunda MPO ve MDA Ölçümü.....	19
3.9.Histopatolojik İnceleme	19
3.10.İstatistiksel Analiz.....	19

4. BULGULAR

4.1. Ortalama Arter Basınçları.....	20
4.2. Biyokimya Sonuçları.....	21
4.3. Alveoler Makrofaj Sayısı	23
4.4. Akciğer Histopatolojisi.....	24

5.TARTIŞMA

26

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

32

7.KAYNAKLAR.....

33

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Septik şok patogeneğinde rol oynayan bakteriyel yapılar.....	5
Tablo 2. ALI ve ARDS etiolojisinde rol oynayan hastalıklar ve risk faktörleri	8
Tablo 3. ARDS için olası tedaviler.....	10
Tablo 4. Grupların ortalama arter basıçlarındaki değışiklikler	20

SEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. SIRS, sepsis ve enfeksiyon arasındaki ilişki.....	2
Şekil 2. Sepsis fizyopatolojisi.....	6
Şekil 3. Sepsiste organ yetersizliği gelişimi	7
Şekil 4. Levosimendanın kimyasal yapısı	13
Şekil 5. Levosimendanın etki mekanizması	14

GRAFİK LİSTESİ

Sayfa No

Grafik 1 Gruplara göre MPO düzeyi.....21

Grafik 2 Gruplara göre TBARS düzeyi.....22

Grafik 3 Gruplara göre alveoler makrofaj sayısı23

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1. Arter kanülasyonu ve sıvı infüzyonu uygulanması.....17

Resim 2: *Sham*, Sepsis, Sepsis+Levosimendan gruplarına ait akciğer dokusu görüntüleri..25

KISALTMALAR

ACE : Anjiyotensin-*converting* enzim

ARDS: Akut solunum sıkıntısı sendromu (*Acute respiratuar distrees syndrome*)

ALI: Akut akciğer hasarı (*Acute lung injury*)

AMMİFA: Anti Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör (*Antibody Anti macrophage migration inhibitory factor Antibody*)

ATP : Adenozin trifosfat

β : Beta

cAMP : Siklik adenozin monofosfat

ÇLP: Çekal ligasyon ve perforasyon

ÇOY: Çoklu Organ Yetersizliği

DAB : Diyastolik arter basıncı

GM-CSF: Granulosit monosit koloni stimulan faktörleri

IL-1: İnterlökin-1

KAH :Kalp atım hızı

MDA:Malendialdehit

MPO:Miyeloperoksidaz

NO: Nitrik oksit

OAB : Ortalama arter basıncı

PGE1: Prostaglandin E-1

PDE: Fosfodiesteraz

SIRS: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (*Systemic Inflammatory Response Syndrome*)

SAB : Sistolik arter basıncı

TNF: Tümör nekrozis faktör

TBARS : Tiyobarbitürik asit türevleri (*tissue thiobarbituric acid reactive substance*)

TEŞEKKÜR

Asistanlık dönemim boyunca, bilgi birikimi ve deneyimleriyle bana yol gösteren ve eğitimimde emeği geçen tüm değerli hocalarıma,

Tezimin seçimi ve yürütülmesinde bana ışık tutup yol gösteren, desteğini esirgemeyen tez hocam Sayın Doç. Dr. Çimen Olguner'e,

Uzmanlık eğitimi süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma,

Projenin deneysel çalışma sürecinde beni yalnız bırakmayan Uzm. Dr Ulaş Bağatır'a, Dr. Hatice Fidan'a, Dr. Adil Ustaoglu'na,

Anestezi teknisyenlerine, ameliyathane, yoğun bakım, derlenme ünitesi, ağrı ünitesi, gündüz hastanesi hemşire ve çalışanlarına,

Her zaman beni destekleyen ve yanımda olan aileme,

Varlığıyla bana mutluluk ve yaşam gücü veren oğlum Sinan'a,

Sonsuz saygı ve sevgilerimi sunar, teşekkür ederim.

Dr. Filiz Kaymakcı

LEVOSİMENDAN DENEYSSEL SEPSİS MODELİNDE AKCİĞER HASARINI ENGELLEYEBİLİR Mİ?

ÖZET

Amaç: Sepsise bağlı gelişen akciğer yetmezliği, sağaltım yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen yüksek mortaliteye neden olmaktadır. Bu deneysel çalışmanın amacı intraabdominal sepsis modelinde, yeni bir inotropik ilaç olan levosimendanın uygulanmasının sepsiste gelişen akciğer hasarına olan etkilerini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: DEÜTF Deneysel Hayvanları Araştırmaları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra, ağırlığı 250-300 g arasında değişen 21 adet erkek Wistar rat her birinde 7'şer olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Sham grubuna yalnızca laparotomi, Sepsis grubuna laparotomi sonrası ÇLP, Sepsis+Levosimendan grubuna laparotomi sonrası ÇLP ve levosimendan infüzyonu gerçekleştirildi. Sham ve Sepsis grubuna stabilizasyon sonrası 2 saat SF infüzyonu yapılırken, Sepsis+Levosimendan grubuna 12 µg/kg yüklemeyi takiben 0.3 µg/kg/dk levosimendan infüzyonu uygulandı. Bazal (stabilizasyonun 30.dk sı), 10., 20., 30., 60. 90 ve 120.dk ortalama arteriyel kan basınçları kaydedildi. Çalışmanın 12. saatinde tüm denekler anestezi altında sakrifiye edildikten sonra, sağ akciğer histopatolojik incelemeler, sol akciğer biyokimyasal işlemler (doku MPO-TBARS) için total olarak çıkarıldı. İstatiksel değerlendirmede *Kruskal-Wallis* varyans analizi kullanıldı, $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Grupların bazal OAB değerleri arasında fark yoktu. Sepsis grubunda *sham* e oranla OAB'de 30. 60. 120. dk anlamlı düşüş, sepsis+levosimendan grubuna oranla ise bazal ve 10.dk değerleri dışındaki tüm ölçüm zamanlarında belirgin azalma izlendi. Sepsis+levosimendan grubunda OAB, *sham* e göre 10., 20. ve 60. dk da daha düşük bulundu. TBARS, MPO aktivitesi ve alveoler makrofaj sayısı sepsis grubunda diğer gruplara göre anlamlı yüksek saptandı.

Tartışma: Sepsis indüksiyonunun 30.dk sında uygulanmaya başlanan levosimendan infüzyonu akciğerlerde lökosit kümülasyonunu, lipid peroksidasyonunu ve histolojik hasarı azaltmıştır. Sepsisin erken döneminde levosimendan uygulamasının akciğer hasarının iyileştirilmesine katkı sağladığı kanıtlanmakla birlikte, konunun klinik araştırmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, Akciğer hasarı, Levosimendan

CAN LEVOSIMENDAN PREVENT LUNG INJURY IN EXPERIMENTAL RAT SEPSIS MODEL?

ABSTRACT

Aim: Sepsis-induced lung failure is associated with high mortality, despite advances in treatment methods. The aim of this experimental study is to investigate the effects of levosimendan treatment, which is a new inotropic drug, on lung injury in intraabdominal sepsis model.

Materials and Methods: After approval of the study by DEUTF experimental animal research ethics committee, Wistar rats weighing between 250 and 300 grams were used in the study. Twenty-one male *Wistar Albino* rats were randomly allocated into three groups. Sham group underwent only laparotomy. CLP was performed after laparotomy in the sepsis group. Levosimendan infusion was administered to the Sepsis+levosimendan group after laparotomy and CLP. Sham and sepsis groups were given fluid infusion during two hours after stabilization. Continuous levosimendan treatment (0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) was began after an initial loading dose of 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$. MAP were measured at basal, 10, 20, 30, 60, 90, 120 min. Rats were sacrificed at 12 h after the surgical procedure. The left lung was removed for biochemical processes (tissue MPO-TBARS). The right lung was used for histopathological examination. Statistical analysis was performed using *Kruskal-Wallis* variance analysis. We regarded $p < 0,05$ as statistically significant.

Measurements and Main Results: No difference in basal MAP values between groups were found. MAP significantly decreased in sepsis group at 30, 60, 120 min compared with sham group. MAP in Sepsis group, compared with the sepsis+levosimendan group, decreased except for basal and tenth minute. MAP at 10, 20 and 60 minutes in sepsis+levosimendan group were lower than the ones in sham group. TBARS and MPO activity and number of alveolar macrophages in sepsis group was significantly higher than the ones in other groups.

Conclusion: Levosimendan treatment reduced leukocyte accumulation, lipid peroxidation and histological damage in the lung. We concluded that the use of levosimendan in the early sepsis period attenuated the lung injury but this issue must be supported by clinical researchs.

Key Words: Sepsis, Lung injury, Levosimendan

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, mikroorganizma ve toksinlerine karşı organizmanın geliştirdiği sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde medikal uygulamadaki gelişmelere rağmen tüm dünyada önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir (1-4).

Sepsiste altta yatan nedenler arasında bakteriyel enfeksiyonlar bulunur. Genel olarak en fazla gram negatif bakteri ve bunların endotoksinleri tarafından oluşturulduğu kabul edilmektedir (5-6). Yabancı mikroorganizmalar ve onların endotoksin gibi ürünlerinin konakçı organizmanın hücrel defans mekanizmalarını tetikleyerek tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi “erken yanıt sitokinleri” ile birlikte, çok sayıda inflamatuvar mediatörü aktive ettikleri saptanmıştır (7,8). Bunlar arasında pek çok karmaşık ilişkiler ortaya çıkmakta, nötrofiller aşırı ve kontrolsüz biçimde aktifleşmekte, kompleman sistemi, trombosit agregasyonu, araşidonik asit metabolizması uyarılmakta ve sonuç olarak hedef durumdaki mikrovasküler endotel hasarı meydana gelmektedir (9,10). Gelişen endotel hasarı ve doku perfüzyonunda azalma neticesinde çeşitli organ fonksiyonlarında bozulma meydana gelmektedir. Fonksiyonu bozulan ya da yetmezliğe giren ilk organ genellikle akciğerdir. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda alveoler kapillerde yoğun nötrofil sekestrasyonunun olduğu gösterilmiştir (10-14). Sepsisin nedenleri arasında olmasının yanı sıra, sepsise bağlı organ yetersizliğinde de ilk sırada olması akciğerler üzerine odaklanmamıza neden olmuştur.

ARDS fizyopatolojisi üzerine etkisi olduğu söylenen birçok deneysel ve klinik çalışmalar bulunmasına rağmen mekanik ventilasyon stratejileri dışında geçerliliğini kanıtlayan henüz kesin bir yöntem bulunmamaktadır.

Levosimendan yeni bir inodilatör ağandır. Kardiyak troponin-C'nin sitoplazmik kalsiyuma duyarlılığını artırarak kasılmayı sağlarken, vasküler düz kas hücrelerindeki ATP duyarlı potasyum kanallarının açılmasını sağlayarak da arterioler ve venöz dilatasyona neden olur. Ayrıca, fosfodiesteraz (PDE) III'ü selektif olarak inhibe eder (15-17).

Bu çalışmada, rat abdominal sepsis modelinde, levosimendan tedavisinin, akciğer hasarını engelleyici etkisini araştırmayı amaçladık.

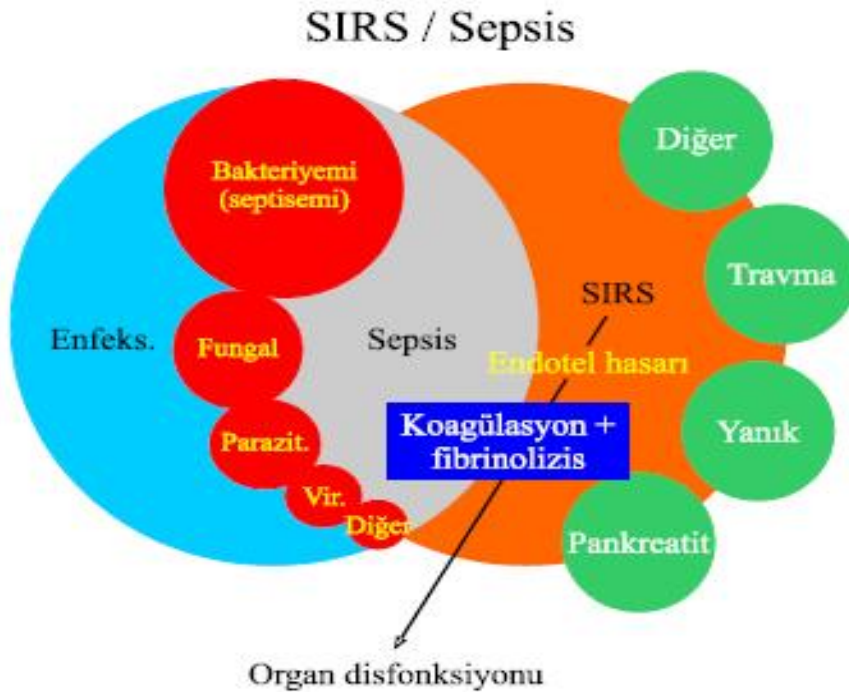
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Sepsis Tanımlamaları

Sepsis “bakteri varlığında hayvan veya sebze veya organik maddenin bozulması” anlamında Yunanca “sepo” kelimesinden türetilmiştir. M.Ö. 400 yılında Hippocrates tarafından vücutta oluşan tehlikeli, biyolojik bir çürüme olarak tanımlanmıştır (1).

1914 yılında, Schottmueller’in patojenin kan dolaşımında bulunmasının sepsiste gözlenen sistemik semptomların nedeni olduğunu ileri sürmesi, bugünkü anlamda sepsis tanımının başlangıcı olmuştur.

Günümüzde, sepsis fizyopatolojisindeki gelişmelere rağmen, terminolojideki karmaşanın sürdüğü gözlenmektedir. 1991 ve 1992 yıllarında Amerikan Göğüs Hastalıkları (*American College of Chest Physicians-ACCP*) ve Yoğun Bakım Dernekleri (*Society of Critical Care Medicine-SCCM*) biraraya gelerek sepsis tanısı, izlemi ve tedavisinde belli standartları belirlemek adına uzlaşma toplantısı yaparak sepsis tanımlarını yayınlamışlardır (2,3)(Şekil 1)



Şekil1. SIRS, sepsis ve enfeksiyon arasındaki ilişki (3)

Delinger ve ark.(4) tarafından 2004 yılında bu tanımlar gözden geçirilerek yeniden yayınlanmıştır.

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (*Systemic Inflammatory Response Syndrome SIRS*) aşağıdakilerden iki veya daha fazlasının varlığı olarak tanımlanmıştır:

1. Vücut sıcaklığı $> 38^{\circ}\text{C}$ veya $< 36^{\circ}\text{C}$
2. Kalp Hızı $> 90/\text{dk}$.
3. Solunum Sayısı $> 20/\text{dk}$
4. Lökosit sayısı $>12.000/\text{mm}^3$ veya $< 4000/\text{mm}^3$ ya da immatür hücre oranı $> \%10$.

Sepsis: SIRS ile birlikte pozitif kültür sonucu ile dokümente edilmiş bir enfeksiyonun varlığı olarak tanımlanmaktadır. Kültür negatif ise tanı için klinisyenin enfeksiyon varlığını öngörmesi ve/veya aşağıdakilerden birisinin varlığı gerekmektedir.

1. Belirgin ödem veya pozitif sıvı dengesi (20 ml/kg/20 saat)
2. Hiperglisemi: Glukoz $> 120 \text{ mg/dL}$ (Diabetes Mellitus yok iken)
3. İnflamasyon belirteçleri: CRP $> 2\text{SD}$, prokalsitonin $> 2 \text{ SD}$
4. Karışık venöz kanda oksijen satürasyon (SvO₂) $> \%70$
5. Kardiyak İndeks:CI $> 3.5\text{L/dk./m}^2$

Ağır Sepsis: Sepsis ile birlikte organ disfonksiyonu hipoperfüzyon bulguları veya hipotansiyon varlığıdır. Hipoperfüzyon bulguları aşağıdakileri içerir ancak bunlarla sınırlı değildir:

1. Arteryel hipoksemi (PaO₂/FiO₂ $< 300 \text{ mmHg}$)
2. Akut oligoüri (en az iki saat boyunca idrar çıkışı $< 0.5 \text{ ml/kg/saat}$ veya 45 mmol/L)
3. Kreatinin $> 2 \text{ mg/dL}$
4. Koagülasyon bozuklukları: INR > 1.5 veya aPTT $> 60 \text{ sn}$.
5. Trombositopeni: Plt $< 100\ 000/\text{mm}^3$
6. Hiperbilirübinemi: Total Billürubin $> 2 \text{ mg/dl}$ veya 35 mmol/L .
7. Hiperlaktatemi: Laktat $> 2 \text{ mmol/L}$
8. Hemodinamik parametreler: Arteryel hipotansiyon: Sistolik arter basıncı (SAB) $< 90 \text{ mmHg}$, Ortalama arter basıncı (OAB) $< 70 \text{ mmHg}$ veya SAB'da alışılmış değere göre 40 mmHg 'dan fazla düşüş.

Septik Şok: Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen sepsis kaynaklı hipotansiyon ve hipoperfüzyon bulgularının varlığı şeklinde tanımlanmıştır.

Çoklu Organ Yetersizliği (ÇOY) : Akut kritik hastada iki veya daha fazla organın etkilendiği ve homeostazın müdahale olmadan (mekanik ventilasyon, hemodiyaliz gibi) sağlanamadığı durum olarak tanımlanmıştır.

Tüm bu çalışmalar ve gelişmelere rağmen sepsis ve ilişkili tabloların tanısı klinisyenlere sorun teşkil etmeye devam etmektedir

2.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Sepsis epidemiyolojisi konusunda yapılan çalışmalar yöntem olarak belirgin farklılıklar göstermektedir. Bu çalışmalar kullanılan yöntemlere göre 3 grupta ele alınabilir:

1. Hastane çıkış verilerine dayanan çalışmalar,
2. Yoğun bakım ünitesine yatış verilerine dayanan çalışmalar,
3. Hastaneye başvuru verilerine dayanan çalışmalardır.

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 1995 yılında hastane çıkış verilerine dayanılarak yapılan bir çalışmaya göre sepsis tanılı yıllık 751.000 olgunun olabileceği hesaplanmıştır. Bu çalışmada ağır sepsis insidansı 3/1000 kişi ve mortalite de % 28.6 olarak bulunmuştur (9).

1979-2000 yılları arasındaki verilere göre yapılan bir diğer çalışmada, hastaneye yatan hastaların % 1.3 de sepsis izlendiği ve ve 22 yılda insidansta artış olduğu gösterilmiştir. 100.000 nüfus için 1979 yılında 82.7 olan olgu sayısının 2000 yılında 240.4 olarak bulunmuştur. Etiyolojik açıdan bakıldığında önceki yıllarda gram (-) bakteriler yüksek oranda iken, daha sonraki yıllarda gram (+) bakterilerin öne çıktığı saptanmıştır. 20 yıllık süre içinde mantar enfeksiyonlarında % 207'lik bir artış belirlenmiştir (10).

2002 yılında 24 Avrupa ülkesinde yapılan, 198 yoğun bakım ünitesini kapsayan bir çalışmada, 2001 uzlaşma konferansı kriterleri kullanılarak sepsis insidansı %37 olarak bulunmuştur. En sık enfeksiyon odağı olarak % 68 akciğerler, % 22 batın, % 20 kan ve % 14 üriner sistem bulunmuştur. Hastane mortalitesinin % 24.1 olarak bulunduğu bu çalışmada, septik şokta mortalite % 54.1 olarak saptanmıştır (11).

2.3. Sepsisin Fiziopatolojisi

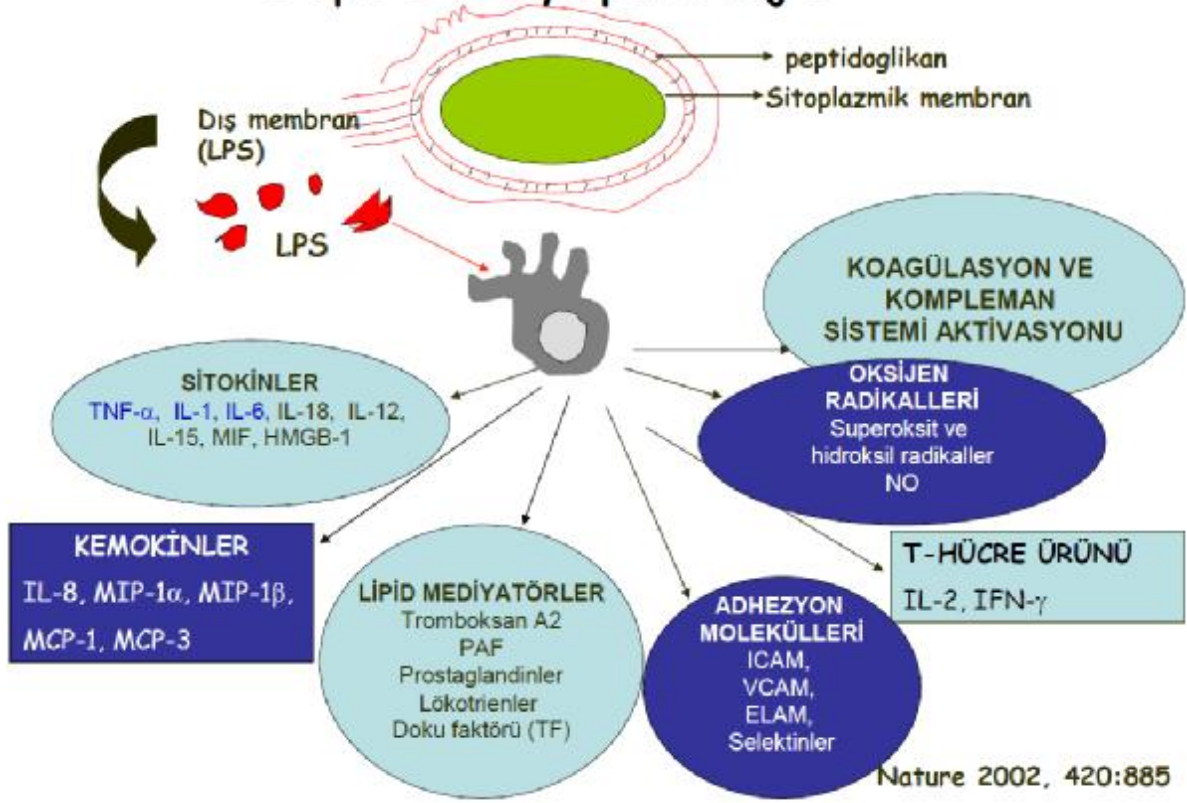
Sepsis ve septik şokta meydana gelen fiziopatolojik olayların temelinde vücuda giren mikroorganizmaların ve bileşenlerinin vücudun doğal bağışıklık sistemini harekete geçirmesi yatmaktadır. Mikroorganizmaların antijenik yapıları ve toksinleri inflamasyonu başlatır (5-8) (Tablo1).

Tablo 1: Septik şok patogeneğinde rol oynayan bakteriyel yapılar

Bakteriyel yapı	Kaynak	Örnek
Endotoksin (LPS, lipid A)	Bütün gram negatif bakteri	E. coli sepsisi Meningokoksemi
Peptidoglikan Lipoteikoik asit	Bütün bakteriler Gram pozitif bakteri	
Ekzotoksinler	S.aureus S. pyogenes E.coli	A-hemolizin Streptolizin-o E.coli hemolizini
Süperantijenler	S.aureus S. pyogenes	Toksik şok sendromu toksini Enterotoksin Pirojenik ekzotoksin
Enzimler	S. pyogenes Clostridium perfringes	IL-1b konvertaz Fosfolipaz

Bu antijenik yapı ve toksinler, dolaşımdaki mononükleer fagositleri, endotel hücrelerini ve diğer farklı bir çok hücreyi uyarak güçlü mediyatörlerin salınmasına neden olurlar. Monositlerden tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8 ve trombositleri aktive eden faktör (PAF) salınır. IL-1 ve IL-6 T hücrelerini aktive ederek γ -interferon, IL-2, IL-4, granülosit monosit koloni stimulan faktörlerin (GM-CSF) salgılanmasını sağlarlar.(Şekil 2) Mediyatörlerin salınmasını takiben koagülasyon sistemi, kompleman sistemi, fibrinolizis ve kinin sistemi aktive olur (6-8).

Sepsis Fizyopatolojisi



Şekil 2: Sepsis fizyopatolojisi (10)

(IL-1; interlökin-1, MİF; makrofaj migrasyon inhibitör faktör HMGB-1; High mobility group B-1, LPS; Lipopolisakkarit MIP: Macrophage inflammatory protein, MCP; Monosit kemotaktik protein-1, NO; nitrik oksit, TNF-α ;Tümör nekrozis faktör-alfa)

Sitokinler, mikroorganizmaların bağışıklık sistemi hücreleri tarafından yok edilmesini güçlendirirken endotel üzerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu da artırmakta, nitrik oksit (NO) üretimi yoluyla vazodilatasyonu tetiklemekte ve pıhtılaşma sistemini de aktive etmektedir (8, 13,14).

Eğer bağışıklık yanıtı mikroorganizmaları yok etmekte başarısız olursa sistem uyarılmaya devam eder; organ hasarı oluşturacak derecede inflamasyon meydana gelebilir. Bu durumda kalp hücrelerinde artmış NO üretimi ve TNF varlığı kalp işlevlerini bozarak kollapsa neden olabilir. Tromboz ve antifibrinolizis sistemik bir hal alır ve protein C gibi antitrombotik faktörler tüketilerek düzeyleri düşer. Meydana gelen yaygın tromboz pıhtılaşma faktörlerini de tükettiği için kanamalar görülmeye başlar (13, 14, 18).

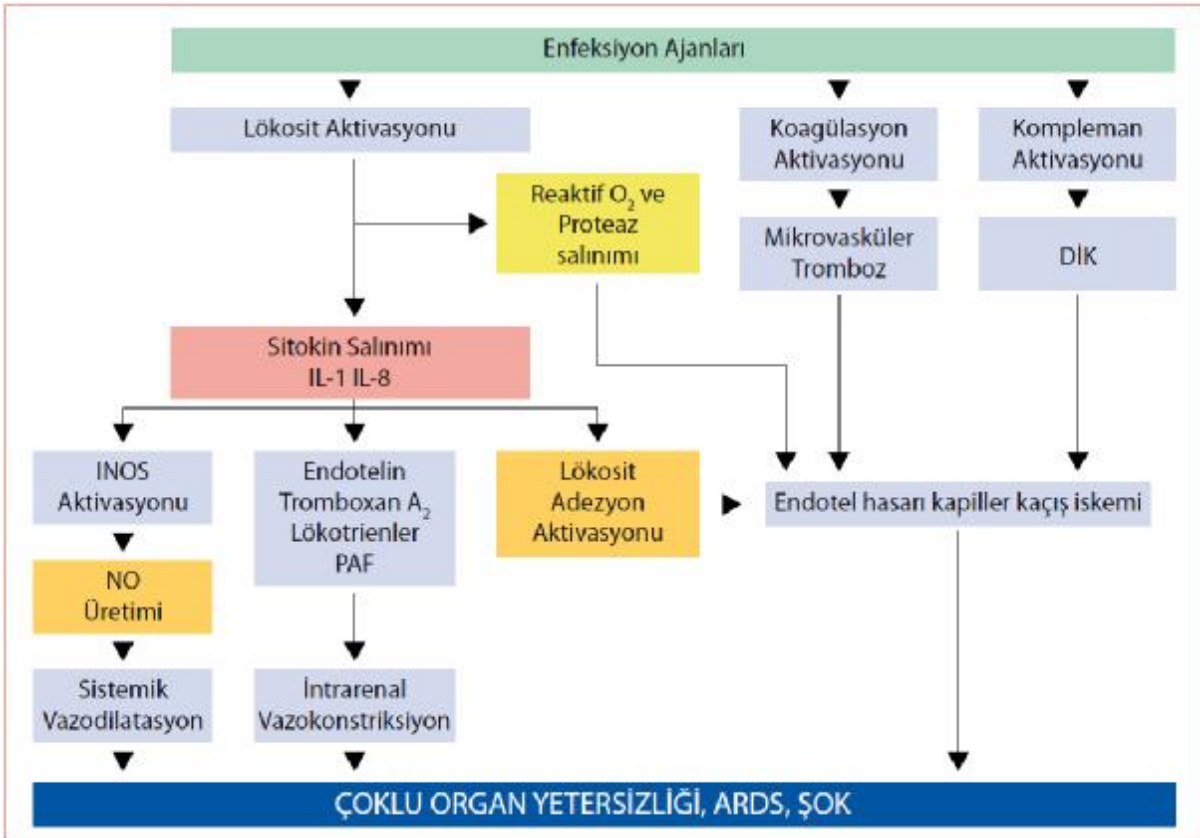
Septik şoktaki klinik patofizyolojik değişiklikler olan;

- Artmış vasküler / kapiller geçirgenlik,
- Patolojik vazokonstriksiyon ve vazodilatasyon,
- İntravasküler koagülasyon ve fibrinolizis bozukluğu,
- Miyokard disfonksiyonu, hücresel düzeydeki bu olaylara bağlı olarak görülmektedir.

Birçok güncel araştırma sepsis patofizyolojisinde bağışıklık sistemi bileşenlerinde görülen apoptozun da önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır

2.4. Sepsiste organ yetersizliği gelişimi

Sepsiste hedef organ damar endotelidir ve hemen hemen bütün mediyatörler damarlar üzerine etkilidir. Endotoksin, TNF- α , IL-1, PAF, lökotrienler, tromboksan A₂ ve nitrik oksit (NO) endotel permeabilitesini artırır. Kompleman sisteminin aktivasyonu da endotel hasarına yol açar, damar permeabilitesini direkt veya nötrofilleri aktive ederek indirekt yolla bozar. Ayrıca degranülasyon esnasında nötrofillerden açığa çıkan toksik oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler de endotel permeabilitesini artırır. Damar permeabilitesinin artması ve endotel hasarı, ekstrasvazyon ve mikrotrombüslerin oluşumunu kolaylaştırır. Endotel hasarı oluşunca, orada organ perfüzyonu bozulur ve organ yetersizliği gelişir (Şekil 3) (6, 7, 8,14)



Şekil 3 . Sepsiste organ yetersizliği gelişimi (DİK; Dissemine intravasküler koagülasyon)

2.5. Sepsis ve Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu

Sepsiste birincil kaynak organ akciğerler olduğu gibi, farklı organ veya sistemlerden kaynaklanması halinde de ilk hedef akciğerdir. Akut akciğer hasarı (ALI; *Acute lung injury*) /Akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS; *Acute respiratory distress syndrome*) gelişme riski sepsis, özellikle gram negatif sepsiste %40–60 dır (Tablo 2). Akciğerlerin hedef organ olmasında zengin damar ağına ve geniş alveolar bölgeye sahip olmasının rolü vardır. Çok etkin bir savunma sistemine sahiptirler ki; bu sistem gerektiğinde çok hızlı agresif inflamatuvar yanıt meydana getirebilir (19-22).

Akciğerlerden geçerken inflamatuvar hücrelerin vasküler endotele çok yakın olmaları da anlamlıdır. Böylece, sağlıklı bireylerde, dolaşımdaki nötrofillerin bir bölümü geçici olarak pulmoner mikrovaskülatürde tutulur. Bu hücreler sağlıklı bireylerde dolaşımdaki nötrofillerin küçük bir bölümünü teşkil eder. Bununla birlikte, sistemik inflamatuvar hadiselerde, spesifik hücre yüzeyi reseptörlerinin up-regülasyonu ile dolaşımdaki nötrofiller aktiveleşir ve bu da nötrofillerin pulmoner endotele adezyonunda artış ile neticelenir. Sonuç olarak, akciğerlerde tutulan aktif nötrofil sayısında çok çarpıcı bir artış meydana gelir. Böylece, nötrofiller akciğer kapillerlerinden geçerken endotele çok yakınlaşmaları ile çok dar bir çevre oluşmakta ve bu daracık çevrede nötrofillerin histotoksik maddelerinin konsantrasyonları çok artarak endotel hücre hasarı riski yükselmektedir. Çok kuvvetli pulmoner inflamasyon ve takiben gelişen endotel harabiyeti ALI ve ARDS'nin major özellikleridir (20).

Tablo 2. ALI ve ARDS etiolojisinde rol oynayan hastalıklar ve risk faktörleri (19)

Primer ARDS (Pulmoner ARDS), (Direk)	Sekonder ARDS (Ekstrapulmoner ARDS), (İndirek)
<ul style="list-style-type: none">• Mide içeriği aspirasyonu• Ağır göğüs travması (Akciğer kontüzyonu)• Ağır pnömoni• Toksik gaz inhalasyonu• Suda boğulma• Pulmoner emboli	<ul style="list-style-type: none">• Sepsis• Ağır nontorasik travma• Multipl uzun kemik kırıkları• Şok• Multipl kan transfüzyonu• Akut pankreatit• İlaç intoksikasyonu• Reperfüzyon hasarı

2.6. Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu Tedavisi

Ashbaugh ve ark. (23) tarafından ilk defa tarif edildiği 1967'den beri 40 yıl geçmesine ve özellikle son 20 yıldır üzerinde yoğun çalışmalar yapılmasına rağmen, ARDS için etkin ve spesifik bir tedavi yöntemi geliştirilememiştir. Bu yüzden hala kritik hastalarda çok sık olarak karşımıza çıkmakta ve yüksek mortalite ile seyretmektedir .

Son yıllarda yoğun bakım alanındaki uygulamaların iyileşmesi ve ARDS tedavisinde kullanılan mekanik ventilasyonun yarattığı akciğer hasarını azaltmaya yönelik çalışmalar, ARDS mortalitesinde azalmaya yol açmıştır.

ARDS'nin akciğerle ilgili (pulmoner) ve akciğer dışı (ekstrapulmoner) bir çok farklı nedenle ortaya çıkması, tek başına bir hastalık olmayıp, bir sendrom olması, tanı kriterlerinin etyolojiyi tanımlayamaması ve başladıktan sonra yaygın inflamatuvar yanıtla seyretmesi tedaviyi zorlaştırmaktadır.

ARDS tedavisinde en önemli nokta, ARDS tanısı alan hastaya bir taraftan yoğun bakım destek tedavisi başlanırken, aynı anda etyolojide rol oynayan faktörlerin tespit edilmesi ve varsa spesifik tedavilerinin yapılmasıdır

ARDS'de ana mekanizma inflamasyon olduğuna göre, antiinflamatuvar ajanlar spesifik tedavide esas rolü oynayacaktır. Bunların başında da kortikosteroidler gelmektedir. Kortikosteroidler dışında, aktive protein C, antitrombin III, pentoksifilin, anti-endotoksin immünoterapi, siklo-oksijenaz inhibitörleri, antiproteazlar, antioksidanlar, inhalasyon yoluyla verilen vazodilatörler (nitrik oksit-NO, Prostaglandinler-PGE1 ve PGE2), anti-adezyon molekülleri, gen tedavisi denenmektedir (23,24).

ARDS nin destek tedavisi olarak, araştırılan birçok farmakolojik ajan bulunmaktadır. Ancak bunların klinikte yer almalarını sağlayacak sınırlı kanıtlar mevcuttur (24) (Tablo 3).

Tablo 3. Akut solunum sıkıntısı sendromu için olası tedaviler

(1) ARDS' deki fizyolojik anormallikler için kullanılabilir terapötik ajanlar
Nitrik oksit
Prostaglandinler ve diğer vazodilatörler
Diüretikler (pulmoner ödem için)
Alveolar surfaktan
(2) ARDS' deki akut inflamatuvar yanıt için kullanılabilir terapötik ajanlar
Nitrik oksit
Prostaglandin E1
Ibuprofen
Glukokortikoidler
Ketokanazol
Pentoksifilin/ lisofilin
N-asetil-sistein
SOD ve katalaz mimetikleri
Anti-endotoksin
Anti-sitokinler
Afelimomab
TNFR füzyon protein
İnterlökin-10
İnterlökin-1 reseptör antagonisti
Kemokin (CCRI) antagonisti
Anti-trombin
Anti-C5a
Nötrofil elastaz inhibitör
Keratinosit büyüme faktörü
Gen terapisi
(3) ARDS' in fibroproliferatif döneminde kullanılabilir terapötik ajanlar
Glukokortikoidler
Gen terapisi

2.7. Sepsis Tedavisinde Kullanılan Vazoaktif İlaçlar

Sepsis sağaltımında ilk basamak sıvı resüsitasyonu ile yeterli kan basıncı ve organ perfüzyonunu sağlamaktır. Sıvı resüsitasyonuna rağmen hipotansiyon düzeltilemiyorsa, vazopressör tedavisine başlanmalıdır

2.7.1. Dopamin

Septik sokta seçilecek ilk vazopresör olarak önerilmektedir. 5µg/kg/dk'nın altındaki dozlarda dopaminerjik reseptörler (DA1,DA2) aracılığı ile renal, mezenterik ve koroner damarlarda vazodilatasyona neden olur (22). 5 -10 µg/kg/dk'lık dozlarda β1 adrenerjik etkisi ön plana çıkarak kardiyak kontraktilite ve kalp hızında artışa neden olur. 10 µg/kg/dk'nın üzerindeki dozlarda α1 adrenerjik etki ile arteriyel vazokonstriksiyona ve kan basıncında artışa neden olur (25,26).

Dopamin, sepsiste yeterli sıvı tedavisine rağmen hipotansif hastalarda, ortalama arteriyel kan basıncını % 24 artırmaktadır (27). Diğer vazopresör ilaçlara göre taşikardi ve aritmiler istenmeyen etkileridir. Pulmoner şantta artma, prolaktin salgılanmasında azalma ve immünosupresyon gibi yan etkileri de bulunmaktadır.

2.7.2. Norepinefrin

Norepinefrin hem α hem de β adrenerjik etkiye sahiptir. Düşük dozlarda beta adrenerjik etki ile kan basıncı ve atım hacmini artırır. Daha yüksek dozlarda primer olarak alfa adrenerjik etki ile sistemik vasküler direnci artırarak kan basıncını artırır. Norepinefrin kalp debisinde %10-20 ve atım hacminde %10-15 artış sağlar (28). Norepinefrin pulmoner arter tıkanma basıncını çok az artırır (1–3 mm Hg) veya hiç değişiklik yapmaz.

Norepinefrin septik şoka bağlı hipotansiyonun tedavisinde dopaminden daha etkilidir. Bazı çalışmalarda sıvı tedavisi ve dopamin infüzyonu sonrası hipotansiyonu devam eden hastalarda norepinefrinin ortalama arteriyel basıncı artırdığı gösterilmiştir (29). İnfüzyon dozları 0.05 µg/kg/dk'dan başlar ve 3,3 µg/kg/dk'ya kadar çıkılabilir.

Norepinefrin, efferent renal arterde afferente göre daha fazla vazokonstriksiyon yaparak filtrasyon fraksiyonunda artışa neden olur. Septik şoktaki hastalarda norepinefrinin tek başına veya dobutamine ek olarak verildiğinde kreatinin klirensini ve idrar çıkışını artırır.

2.7.3. Dobutamin

Dobutamin, β 1 ve β 2 adrenerjik etkilere sahip sentetik bir katekolamindir. Dopamine göre daha az yan etkileri vardır. 5-15 µg/kg/dk dozunda infüzyon ile verilebilir. Etkisi 1-2 dakika içinde başlar ve en yüksek etkiye 10 dk sonra ulaşılır. Bununla birlikte, dobutamin, uzun süreli infüzyon

için miyokardiyal norepinefrin depolarını tüketen dopaminden daha iyi bir seçenektir. Kalp debisini artırması nedeniyle, dobutamin uygulaması ile idrar çıkışında artış sağlanabilir (30).

Dobutaminin septik şok tedavisinde vazopressörler ile koadjuvan rolü vardır ve bu tedavi ile miks venöz oksijen saturasyonu ve kardiyak indekste iyileşme sağlanabilir. Dobutamin sepsiste pulmoner vasküler rezistansı azaltır ve kardiyak indekste iyileşme sağlar. Bu etkiler sonucu sağ kalp kontraktilesini ve splanknik kan akımını artırır (30, 31).

2.7.4. Epinefrin

Epinefrin, sıvı tedavisine ve diğer vazopressörlerin infüzyonuna yanıt vermeyen hastalarda ortalama arteriyel kan basıncını artırır. Oksijen alımını artırırken, tüketimini de yükseltir (32). Splanknik kan akımındaki olumsuz etkileri nedeniyle sepsiste çok tercih edilmez (33).

2.7.5. Vazopressin

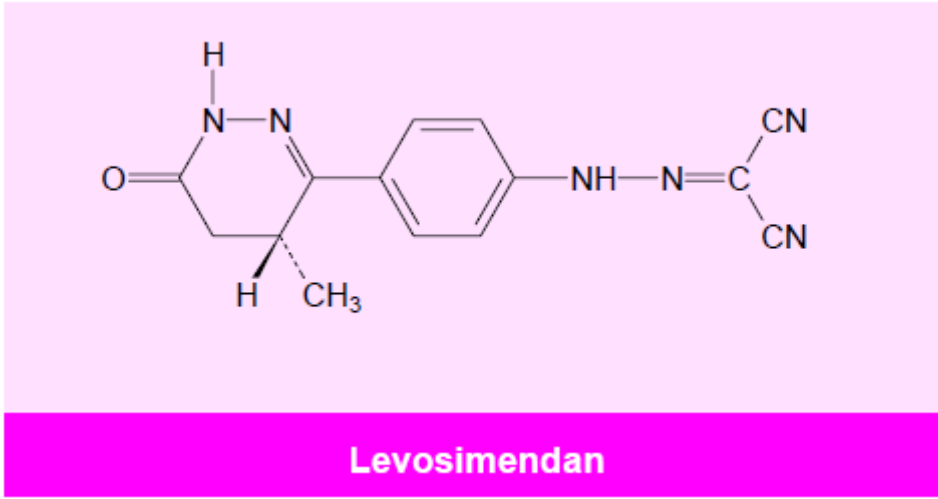
Vazopressin, komplike kardiyovasküler etkileri olan ve V1 reseptörlerini etkileyen kuvvetli vazokonstriktör bir hormon olup, invitro belirgin vazopressör etki gösterir. İn vivo etkisi dolaşımdaki endojen vazopressinin barorefleksleri potansiyasyonu ve sempatik efferentlerin inhibisyonuyla ortaya çıkar (34).

Normalde endojen vazopressin düzeyleri çok düşük olup vazokonstriktör etkisi yoktur. Septik şokun başlangıcında vazopressin düzeyleri artar. Uzamış septik şokta göreceli vazopressin eksikliği gelişir (35). Ekzojen vazopressin verilmesi dramatik olarak hemodinamik tabloyu değiştirerek kan basıncını hızla yükseltir.

Vazopressin, diğer vazoaktif ajanların etkilerini potansiyalize eder. Septik şokta yüksek doz vazoaktif ajan kullanıldığı halde yanıt alınamayan hastalarda vazopressin uygulaması önerilmektedir. Fizyolojik dozu (0.01-0.04 U/dk) olup; yüksek dozları ciddi ve zararlı vazokonstriksiyona neden olur (34).

2.7.6. Levosimendan

Levosimendan, piridazinon-dinitril derivesi, miyokardın kalsiyum duyarlılığını artıran ve vazodilatör etkiye sahip yeni bir inotropik ajandır. (15) (Şekil 4) Sürekli sabit dozda infüzyon yapıldığında kararlı duruma 4. saatte ulaşır; ancak, daha hızlı etki istendiğinde yükleme dozu infüzyonu ile plazma doruk konsantrasyonuna 12 dakikada ulaşılır. %95-98 oranında plazma proteinlerine bağlanır.

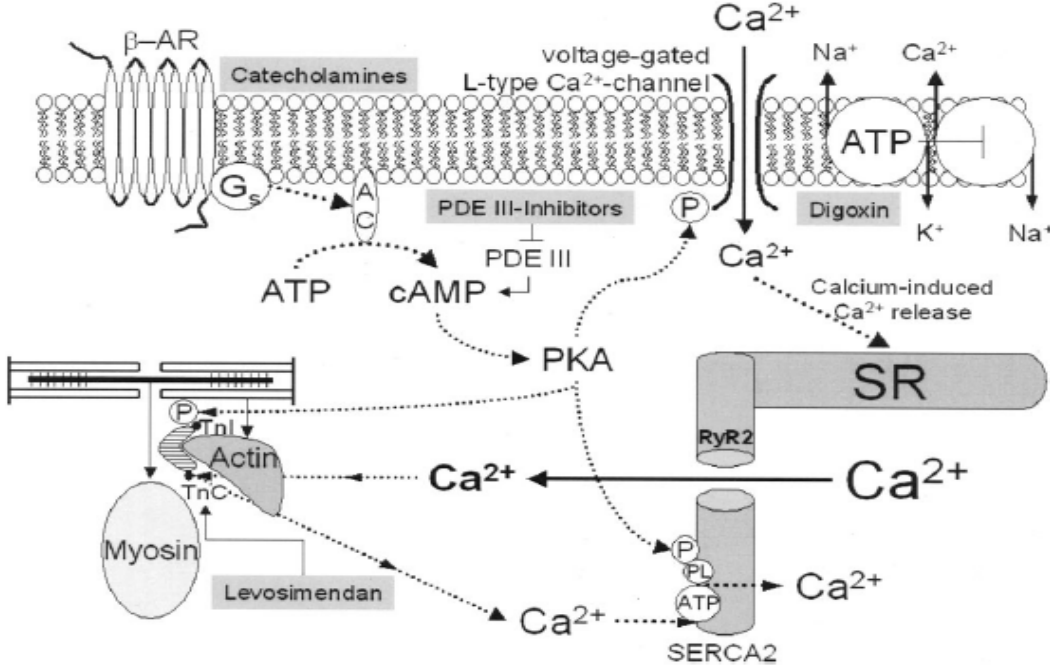


Şekil 4. Levosimendanın kimyasal yapısı

Konjugasyon, ekskresyon yoluyla karaciğer ve böbreklerde elimine edilir. Yarı ömrü bir saattir. Levosimendan'ın yaklaşık %5'i önce aktif bir metabolit olan OR-1855'e, daha sonra da daha aktif olan OR-1896'ya asetile edilir. OR-1896'nın oluşumu yavaştır ve doruk konsantrasyona infüzyonun kesilmesinden 1-2 gün sonra ulaşılır; % 40'ı plazma proteinlerine bağlanır ve yarılanma ömrü yaklaşık 80 saattir. Yanı sıra farmakolojik etkileri ilacın kesilmesinden sonra bir haftaya kadar sürer (16). Levosimendan'ın ventrikül doluşu yada çıkış yolunu etkileyen belirgin mekanik obstrüksiyon, ciddi böbrek yetersizliği (kreatinin klirensi < 30 ml/dk), ileri derecede karaciğer yetersizliği, ciddi hipotansiyon (sistolik kan basıncı < 85 mm Hg) ve taşikardi (kalp hızı > 120/dk) ve “torsade de pointes” öyküsü bulunan hastalarda kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir (17). En sık görülen yan etkileri baş ağrısı, hipotansiyon, bulantı, sersemlik, taşikardi, miyokard iskemisi, atriyal fibrilasyon, ekstrasistol ve ventrikül taşikardisidir (36-38).

Levosimendan, hücre içi kalsiyum ve siklik adenzin monofosfat (cAMP) düzeylerini artırmaksızın, troponin C'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin kalsiyuma duyarlılığını yükselterek kardiyak performansı iyileştirir. Bu nedenle, cAMP bağımlı ajanların olumsuz etkilerini taşımadıkları ileri sürülmektedir. Levosimendan ayrıca fosfodiesterazı (PDE) selektif olarak inhibe eder. Diğer kalsiyum duyarlılaştırıcıların PDE inhibisyonu terapötik dozlarda izlenirken, levosimendanın bu etkisi yalnızca terapötik düzeyin üzerindeki dozlarda gözlenmektedir. Pozitif inotropik etkisi kalsiyum konsantrasyonuna bağımlıdır. Sistolde troponin C'nin N-terminal ucuna bağlanıp, kalsiyum-troponin C bağlantısını stabilize eder. Buna karşın, kalsiyum konsantrasyonu ve sensitizasyonu diyastolde azaldığı için diyastolik relaksasyonun etkilenmediği yada iyileştiği ileri sürülmüştür (15-17) (Şekil 5).

Sonuçta levosimendan proaritmojenik etki göstermeden ve enerji tüketimini artırmadan kontraktiletiyi artırmaktadır. Levosimendan, miyozit ve damar duvarlarındaki ATP bağımlı potasyum kanallarını açarak, sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona, miyokardiyal önyük ve ardyükte azalmaya neden olmaktadır. Koroner arterlerde de vazodilatasyon yaparak miyokard kan akımını artırdığı, buna karşın miyokardın oksijen tüketimini artırmadığı bildirilmiştir (39).



Şekil 5. Levosimendanın etki mekanizması

Septik şokta levosimendanın olumlu etkilerinin olabileceği ilk olarak Oldner ve ark. (40) tarafından ileri sürülmüştür. Araştırmacılar çalışmalarında, levosimendanın, sistemik ve intestinal oksijen sunumunda iyileşme, kardiyak indeksde ve atım hacminde artış sağladığını, ayrıca ortalama arteriyel basınç (OAB), sistemik vasküler dirençte azalma, portal kan akımında ise artışa neden olduğunu göstermişlerdir.

Levosimendanın septik şokta klinik kullanımı ilk kez Matejovic ve ark. (41) tarafından 2005 yılında yayınlanan olgu sunumunda bildirilmiştir. Daha sonra çok az olgu sunumu ve küçük vaka serilerinde, septik şoktaki hastalarda oksijen transportunda ve hemodinamik parametrelerde iyileşme sağladığı rapor edilmiştir (42).

Birçok çalışmada, vazoaktif ajanların çoklu organ yetersizliği ve ARDS tedavisinde hemodinamik destek olarak kullanılmalarının yanında, sitokin salınımı ve inflamatuvar yanıt üzerine direkt etkilerinin olduğu gösterilmiştir (43).

Levosimendanın da inotropik ve vazodilatatör etkilerinin yanı sıra anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkilerinin olduğu ve bu etkilerini de dolaşımda bulunan proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-6) ve apoptoz mediatörlerinin (Fas-fas ligand) serbestleşmesini azaltarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir (44-46)

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, DEÜTF DeneY Hayvanları Araştırmaları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra Multidisipliner DeneY Hayvanları Laboratuvarı'nın olanakları kullanılarak yapıldı.

3.1.Denekler

Çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 21 adet *Wistar Albino* tipi erişkin erkek rat kullanıldı. DEÜTF DeneY Hayvanları Laboratuvarı'ndan sağlanan denekler standart rat yemi ve su ile beslendiler. Oda ısısında 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda tel kafeslerde yaşatıldılar. Cerrahiden 12 saat önce sadece su içmelerine izin verildi. DeneY süresince hayvanların vücut sıcaklığı sabit tutuldu.

3.2.Anestezi Uygulaması

Deneklere 50 mg/kg ketamin (*Ketalar* ®, Pfizer Pharma GMBH, Almanya) ve 10 mg/kg *xylazine hydrochloride* (*Alfazyne*®, %2, Alfasan International, 3440 AB, Woerden, Hollanda) intraperitoneal olarak uygulanarak anestezi sağlandı.

3.3.Çekum Ligasyon Perforasyon Cerrahisi (ÇLP) İle Deneysel Sepsis Modelinin Oluşturulması

Sepsis oluşturmak için Wichterman ve ark.(47) tarafından tanımlanan çekal ligasyon ve perforasyon (ÇLP) yöntemi uygulandı. Anestezi altında 2 cm lik bir orta hat insizyonunun ardından, çekuma ulaşıldı. Çıkan kolonun manipülasyonla feçesle dolması sağlanarak çekum, antimezenterik yüzden, iliyoçekal valvin hemen distalinden, intestinal obstrüksiyondan kaçınılarak 2-0 ipek ile bağlandıktan sonra 18 Gauge venöz kanülle (Bıçakçılar, İstanbul, Türkiye) 2 kez perfore edildi. İşlem sonrası çekum abdominal kaviteye yerleştirilerek ve batın 3/0 ipekle devamlı sütürle kapatıldı. İşlem sonunda 3mL/kg SF iv uygulandı.

Tüm ratlar operasyondan 12 saat sonra sakrifiye edildi.

3.4. Monitorizasyon

Anestezi altında sağ inguinal bölgeye femur başına paralel olacak şekilde 2 cm genişliğinde insizyon uygulanarak femoral arter disseke edildi ve heparinize serum fizyolojik (100 Ü/mL) sıvı ile yıkanmış 26 gauge kanül (Bıçakçılar, İstanbul, Türkiye) yerleştirildi. Kanülün proksimal ucu basınç transdüserine (MLT844 Physiological Pressure Transducer, Interlab LTD, İstanbul, Türkiye) bağlanarak ortalama arter basınçları kaydedildi. İ.V. damar yolu olarak tüm ratların kuyruk veni

kullanıldı. Sıvı ve ilaç uygulamaları için 24 gauge kanül (Bıçakcılar, İstanbul, Türkiye) ratların kuyruk venine yerleştirildi.

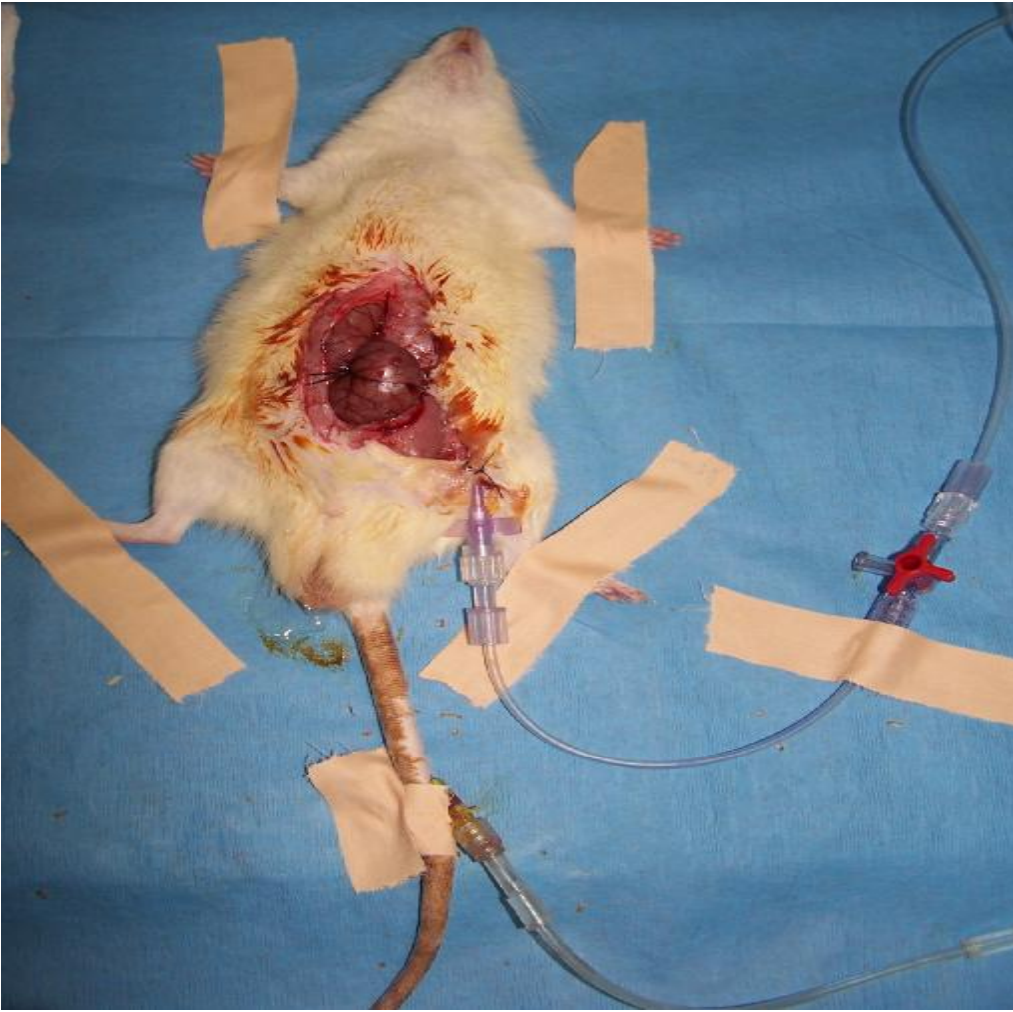
3.5.Deney Grupları

Ratlar rastgele olarak üç gruba ayrıldı:

Sham grubu (n=7); sadece laparotomi yapıldı. 2cm'lik orta hat insizyonu ile batın açıldıktan sonra çekum eksplere edildi ve işlem yapılmadan batın 3/0 ipekle kapatıldı

Sepsis grubu (n=7); laparotomi sonrası ÇLP uygulandı, intravenöz SF infüze edildi.

Sepsis+Levosimendan grubu (n=7); laparotomi sonrası ÇLP uygulandı, intravenöz levosimendan (Sımdax konsantre infüzyon ®, Abbott, 2,5 mg/5 ml, flakon , ABD) infüze edildi.



Resim 1. Arter kanülasyonu ve sıvı infüzyonu uygulanması

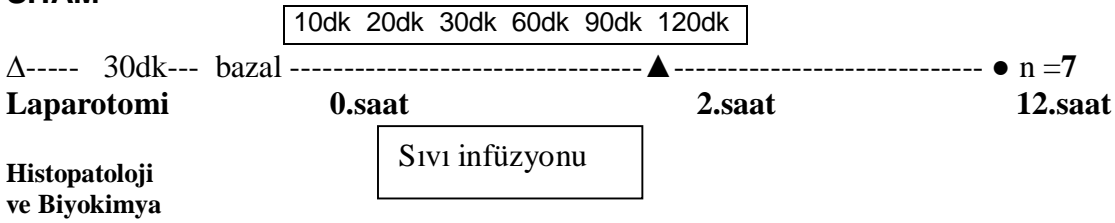
3.6.Deney Protokolü

Batın kapatıldıktan sonra 30 dk stabilizasyon için beklendi. Sepsis+Levosimendan grubuna 10 dk 12 µg/kg yükleme sonrası 110 dk boyunca 0.3 µg/kg/dk levosimendan infüzyonu (48), diğer gruplara aynı hacimde SF infüzyonu başlandı. Gruplara uygulanan sıvı miktarı 20 mL /kg/saat . Toplam çalışma süresi tüm gruplarda aynı tutuldu.

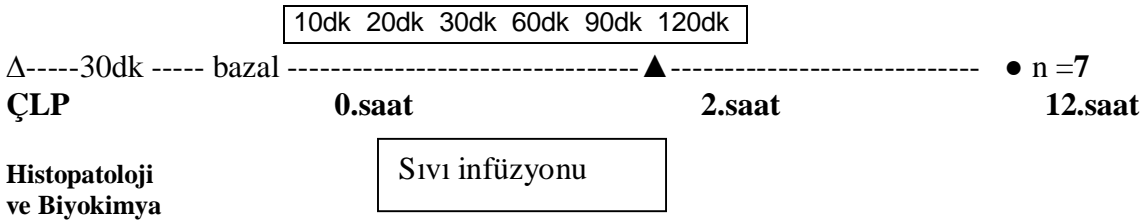
Bazal (stabilizasyonun 30.dk sı), 10., 20., 30., 60. 90 ve 120.dk ortalama arteriyel basınçları kaydedildi. Çalışma boyunca sıçanların normotermik (37°C) olması için, çalışma ortamının sıcaklığı ısıtıcı bir lamba ile korundu.

Çalışma gruplarının şematik görünümü

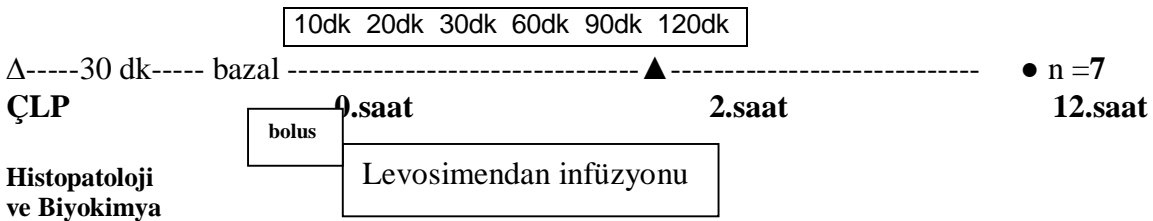
SHAM



SEPSİS GRUBU



SEPSİS+LEVOSİMENDAN GRUBU



3.7. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Çalışmanın 12. saatinde tüm denekler ketamin+xylazine anestezisini takiben intrakardiyak kan alınarak sakrifikasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra, akciğerden doku örnekleri alındı. Sağ akciğer histopatolojik incelemeler için %10 tamponlanmış formol çözeltisi içerisinde saklandı. Sol akciğerden ise biyokimyasal işlemler (doku MPO-MDA ölçümleri) için %0.9'luk NaCL ile yüzeysel yıkama ve kurutma işlemlerinin ardından mikrosantrifüj (eppendorf) tüplerine yerleştirilerek, ölçüm yapılacağı güne kadar -80°C'de derin dondurucu içinde korundu.

3.8. Akciğer Dokusunda MPO ve MDA Ölçümü

Doku Miyeloperoksidaz (MPO) düzeyleri Krawisz ve ark.'ın (49) yöntemiyle gerçekleştirildi. MPO sonuçları ünite/gram yaş doku olarak değerlendirildi. (Ü/g doku).

Doku Malendialdehit (MDA) düzeyleri Ohkawa ve ark. (50) belirttiği yöntem (tiyobarbitürik asit türevleri; *tissue thiobarbituric acid reactive substance /TBARS*) ile nmol/g yaş doku olarak ölçüldü

3.9. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme gruplardan habersiz bir histolog tarafından yapıldı. %10'luk formol içinde tespit edilen sağ akciğer 2 gün bekletildikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan akciğerin orta zonuna uyacak şekilde kesitler alındı. Hemotoksilen-Eozin ile boyanıp x10'luk objektif kullanılarak mikroskop altında incelendi.

Akciğer dokusundan elde edilen kesitler alveol yapısı, alveol duvar kalınlıkları, ödem, alveoler makrofajların miktarı, mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, enflamasyon, kapiller konjesyon ve kapiller permeabilitede artış, parankimde hemoraji, ödem ve konjesyon yönünden değerlendirildi. Ayrıca alveol lümenindeki alveoler makrofajların miktarı dijital olarak görüntülenerek morfometrik yöntemlerle birim alandaki miktarları belirlendi (makrofaj sayısı/0,016 mm²).

3.10. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme için *Statistical Package of Social Sciences 15 (SPSS 15,0, Chicago, IL, USA)* programı kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde *Kruskal-Wallis* varyans analizi uygulandı. Grupların ikili karşılaştırmaları için *Mann-Witney U* testi ile kullanıldı ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1.Ortalama Arter Basınçları (OAB)

Grupların bazal OAB değerleri arasında fark bulunmadı. Sepsis grubunda *sham* e oranla OAB'de 30.,60., 120. dk anlamlı düşüş (p:0.001, p:0.001, p:0.001), sepsis+levosimendan grubuna oranla ise bazal ve 10.dk değerleri dışındaki tüm ölçüm zamanlarında belirgin azalma izlendi (20.dk p:0.001, 30.dk p: 0.001, 60.dk p: 0.002, 90.dk p: 0.001, 120.dk p: 0.001). Sepsis+levosimendan grubunun OAB sinin *sham* e göre 10., 20. ve 60. dk da daha düşük olduğu gözlemlendi (sırasıyla p: 0.002, p: 0.001, p: 0.007) (Tablo-4).

Tablo-4: Grupların ortalama arter basınçlarındaki değişiklikler

Gruplar	Bazal	10.dk	20.dk	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk
<i>SHAM</i>	97,28±5,08	98,00±5,59	89,57±2,22	87,54±3,30 ⁺	90,42±2,50 ⁺	87,14±1,95	86,14±1,95 ⁺
SEPSİS	93,14±4,25	93,14±4,01	93,00±4,76 ^{&}	77,28±3,40 ^{&}	75,42±4,99 ^{&}	65,57±6,47 ^{&}	58,00±5,32 ^{&}
SEPSİS+ LEVOSİMENDAN	94,57±2,93	89,28±2,28*	81,42±3,25*	86,57±1,71	84,71±3,81*	86,42±2,22	86,14±3,00

Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

+ *Sham* ile sepsis grubu karşılaştırıldığında (p:0,001, p:0,001, p:0,001)

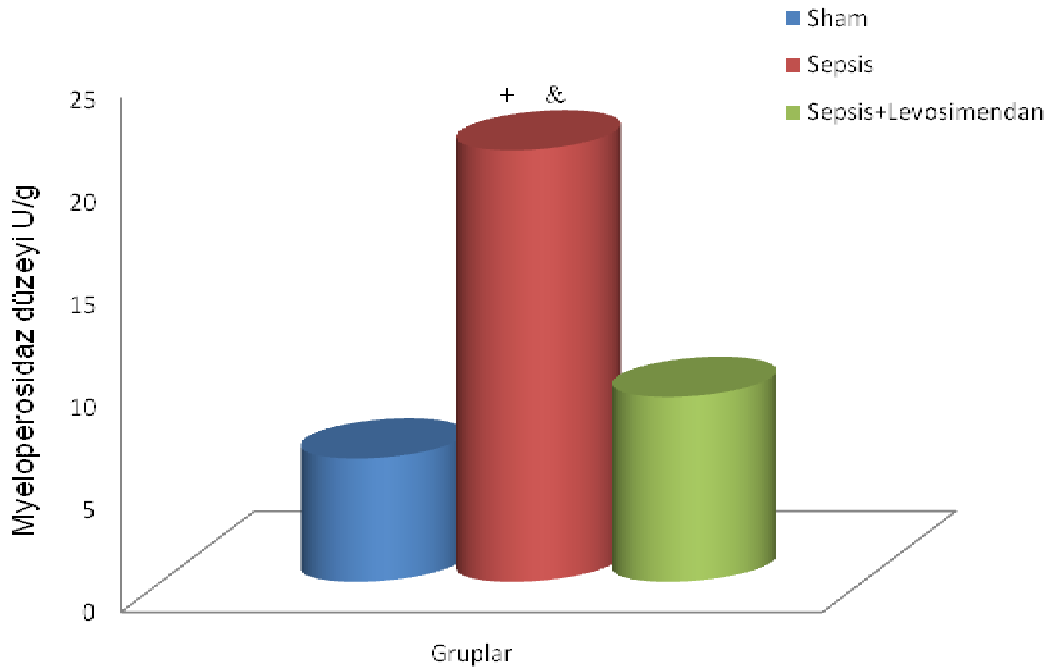
* *Sham* ile sepsis+levosimendan grubu karşılaştırıldığında (p:0,002, p:0,001, p:0,007)

& Sepsis grubu ile sepsis+levosimendan grubu karşılaştırıldığında (p:0,001, p: 0.001, p: 0.002, p: 0.001, p:0.001)

4.2. Biyokimyasal Değerler

Miyeloperoksidaz (MPO)(Ü/g doku)

Sham (5,79±2,22), sepsis (20,91±3,74) ve sepsis+levosimendan (9,96±1,15) grupları karşılaştırıldığında, sepsis grubu MPO düzeylerinin sham ve sepsis+levosimendan grubuna oranla belirgin yüksek olduğu (sırasıyla p: 0,002 ve p:0,003), buna karşın sham ve sepsis+levosimendan grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır (p:0,56).



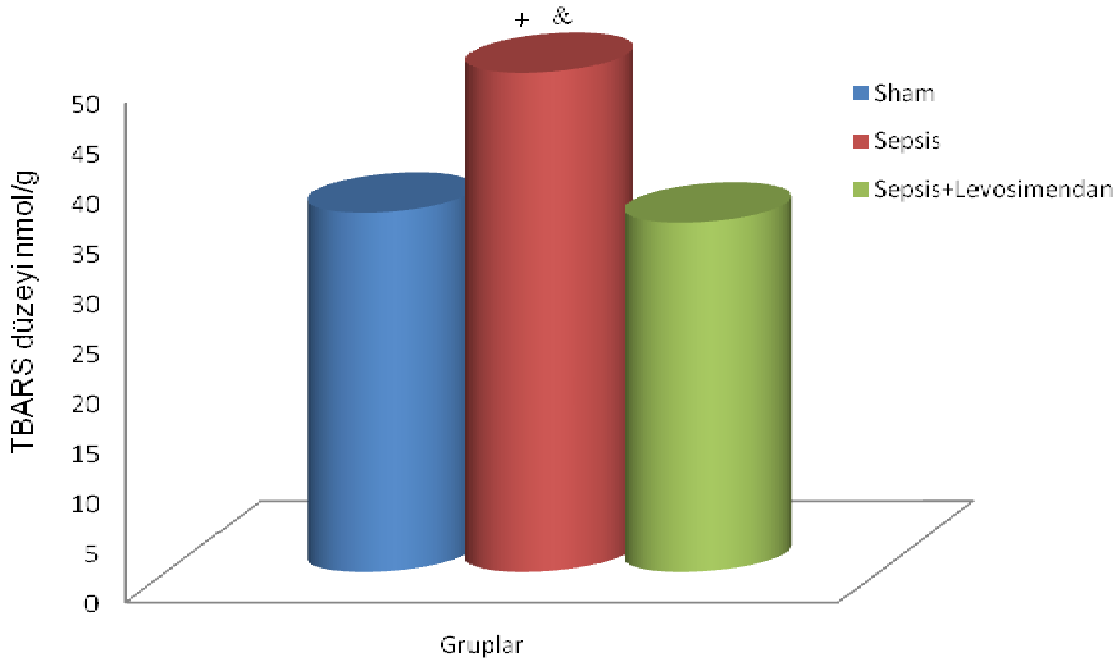
Grafik 1: Gruplara göre MPO düzeyi

+ *Sham* ile sepsis grubu karşılaştırıldığında (p:0,002)

& Sepsis grubu ile sepsis+levosimendan grubu karşılaştırıldığında (p:0,003)

Tiyobarbitürik asit türevleri (*Tissue Thiobarbituric Acid Reactive Substance /TBARS*) (nmol/g yaş doku)

Sham (36,25±5,22), sepsis (50,44±7,11) ve sepsis+levosimendan (35,40±9,89) grupları karşılaştırıldığında, sepsis grubunun TBARS düzeylerinde *sham* ve sepsis+levosimendan grubuna göre anlamlı artış görülürken, (sırasıyla p:0,004 ve p:0,009), *sham* ve sepsis+levosimendan grupları arasında fark saptanmamıştır (p:0,25).



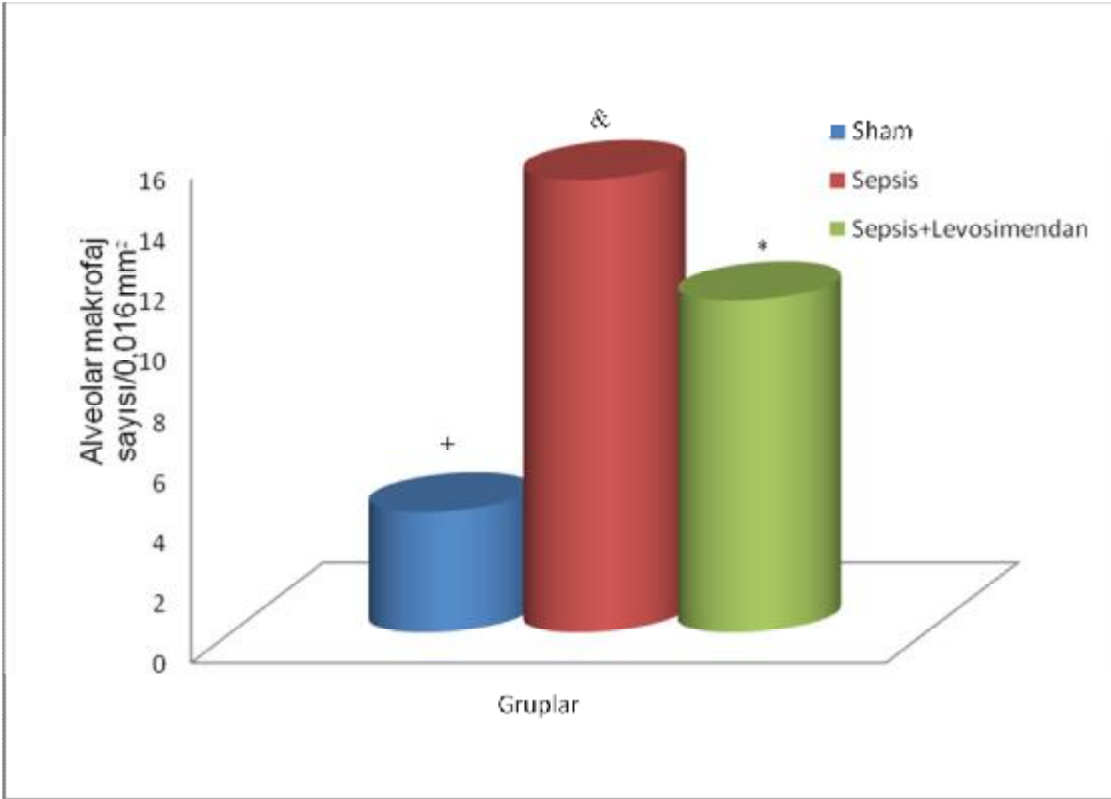
Grafik 2: Gruplara göre TBARS düzeyi

+ *Sham* ile sepsis grubu karşılaştırıldığında (p:0,004)

& Sepsis grubu ile sepsis+levosimendan grubu karşılaştırıldığında (p:0,009)

4.3. Alveoler Makrofaj Sayısı (makrofaj sayısı/0,016 mm²)

Sham (4,2±0,34), sepsis (15,31±0,71) ve sepsis+levosimendan grubunun (10,94±0,81) alveoler makrofaj sayıları karşılaştırıldığında, sepsis grubunda *sham* grubuna göre anlamlı derecede artış saptandı ($p:0,002$). Sepsis+levosimendan grubu alveoler makrofaj sayılarının Sepsis grubuna göre anlamlı derecede düşük ($p:0,002$), Sepsis+levosimendan grubu alveoler makrofaj sayılarının ise *sham* grubuna oranla yüksek olduğu saptandı ($p:0,009$)



Grafik 3: Gruplara göre alveoler makrofaj sayısı

+ *Sham* ile sepsis grubu karşılaştırıldığında ($p:0,002$)

& Sepsis grubu ile sepsis+levosimendan grubu karşılaştırıldığında ($p:0,002$)

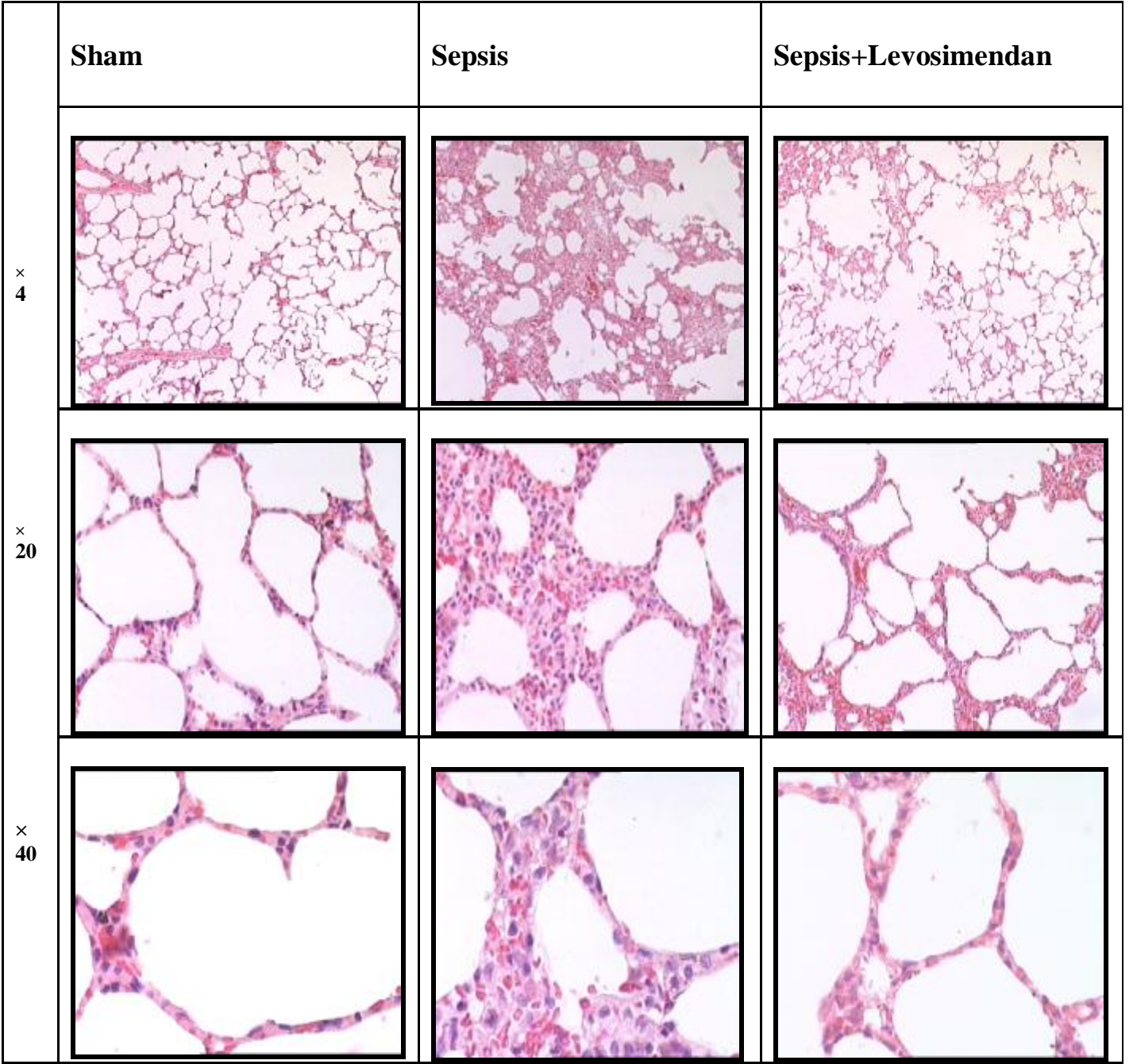
* *Sham* ile sepsis+levosimendan grubu karşılaştırıldığında ($p: 0,009$)

4.4. Akciğer Histopatolojisi

Hematoksilen & Eosin boyalı preparatlarda *sham* grubunda akciğerlerin yapısı normal olarak gözlemlendi. İnflamasyon ve kapiller permeabilitede artma olmadığı, alveol yapılarının normal olduğu, alveolar septumlarda kalınlaşma, alveol lümeninde alveoler makrofaj, tip II pnömosit ve nötrofiller gözlenmedi. Parankimde hemoraji, ödem ve konjesyon yönünden patolojik bulgu saptanmadı (Resim 2).

Sepsis grubu *sham* grubu ile karşılaştırıldığında yaygın akut akciğer hasarı gözlemlendi. Bu grupta yaygın mononükleer hücre infiltrasyonu, kapiller permeabilitede artış izlendi. Alveollerin histopatolojik olarak değerlendirilmesinde diffuz alveoler hasar, alveoler ödem, alveoler septumlarda kalınlaşma, alveol lümeninde yoğun alveoler makrofaj daha az miktarda nötrofil ve tip II pnömositler gözlemlendi. Parankimde yaygın hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonu, ödem ve vasküler konjesyon saptandı.

Sepsis+levosimendan grubu, sepsis grubu ile karşılaştırıldığında daha az oranda akut akciğer hasarı gözlemlendi. Bu grupta mononükleer hücre infiltrasyonu ve kapiller permeabilitede bazı alanlarda artış bulundu. Alveollerin histopatolojik olarak değerlendirilmesinde alveoler hasar, alveoler ödem, ve alveoler septumlarda kalınlaşmaya daha az rastlandı. Alveol lümeninde sepsis grubunda yoğun olarak görülen alveoler makrofaj, nötrofil ve tip II pnömositler daha az miktarda idi. Parankimde sepsis grubuna oranla daha az yaygın hemoraji, mononükleer hücre infiltrasyonu, ödem ve vasküler konjesyon saptandı.



Resim 2: *Sham*, Sepsis, Sepsis+Levosimendan gruplarına ait akciğer dokusu görüntüleri.

İnflamasyon, kapiller permeabilite, alveol yapıları, alveoler septumlar, alveol lümeninde alveoler makrofajların gruplar arası farklılıkları

(H&E) x4, x20 , x40

5.TARTIŞMA

Sepsis her geçen gün patogenezi, fizyopatolojisi, tanı ve sağıltım yöntemlerindeki buluşlara karşın bugün hala önemini koruyan enfeksiyona bağlı ölümcül bir hastalıktır (51). Deneysel ve klinik olarak sepsisin yol açtığı uzak organ hasarlarını azaltmaya yönelik araştırmalar sürmektedir. Bu çalışmada sepsis indüksiyonu aşamasında tedavi olarak verilen levosimendanın sepsise bağlı akciğer hasarını, değerlendirdiğimiz biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerle, azalttığı gösterilmiştir.

Laboratuvar hayvanlarında sepsis oluşturmak amacıyla kullanılabilcek modelleri ilk defa Wichterman ve ark. sınıflandırmışlardır (47). Bunlar: 1) Canlı E. Coli intravenöz infüzyonu, 2) Peritoneal kaviteye fekal materyal veya canlı mikroorganizmanın uygulanması, 3)ekstremitelere, yumuşak dokulara enfekte materyal implantasyonu ile abse oluşturulması, 4) Cerrahi girişim ile gastrointestinal traktustaki normal bariyerlerin hasarlanması şeklindedir. Son yöntemin yaygın kullanımı çekal ligasyon perforasyon olarak bilinmektedir.

Araştırmamızda, ucuz, dayanıklı olmaları, kolay sağlanabilmeleri ve spesifik bir patojen içermemeleri nedeniyle ratlar tercih edilmiş, sepsis oluşturmak için ÇLP yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde perforasyonu gerçekleştiren materyalin ve perforasyon büyüklüğünün sepsis oluşumuna etkilerinin farklı olduğu bildirilmiş ve 18 G venöz kateter ile gerçekleştirilen ponksiyonla 5 saat sonunda 80 mg/kg intraperitoneal endotoksin verilmesine eş değer TNF- α düzeyleri elde edildiği gösterilmiştir (52). Bu nedenle araştırmada ÇLP için etkinliği kanıtlanmış 18 G venöz kateter kullanımı yeğlenmiştir.

Sepsis tedavisinde ana hedef kan volümünün düzeltilmesi, yeterli doku perfüzyonunun ve dokuların oksijen ihtiyacının sağlanmasıdır (53). Sıvı resüsitasyonuna rağmen kan basıncının yükseltilemediği, organ perfüzyonun sağlanamadığı durumlarda vazopressör ajanların tedaviye eklenmesi, ağır hipotansiyon varlığında ise direkt vazopressör ile tedaviye başlanabileceği önerilmektedir (54).

Sepsisli hastaların %10-15'ine yaştan bağımsız olarak miyokardiyal depresyon eşlik eder. Bu durum, her iki ventrikülde sistolik ve diyastolik disfonksiyon ile sonuçlanan karmaşık olayların sonucudur. Bu olaylar, β adrenerjik sitümülasyonda azalma, intrasellüler kalsiyum trafiğinde değişiklik ve myofibriller seviyesinde elektromekanik bağlanmada bozulmadır. Bunlar içinde intrasellüler kalsiyum trafiğindeki değişiklik önemli bir yer tutmaktadır. Septik sıçan izole kalp kası hücresinde, endotoksin ve sitokinlerin L tipi voltaja duyarlı kalsiyum kanallarında, kalsiyum akımını baskılayarak intrasellüler

kalsiyum konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (55, 56, 57). Ayrıca sepsiste Ryanodin reseptör dansitesinin azalması ile sistol sırasında sarkoplazmik retikulumdan kalsiyuma bağlı kalsiyum salınımının bozulduğu gösterilmiştir (58,59). Sonuç olarak, sistol sırasında intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunun azalması miyokardiyal kontraksiyonun azalmasına neden olur.

Miyokardın kalsiyum duyarlılığını artıran ve vazodilatör etkiye sahip yeni bir inodilatör olan levosimendan, inotropik etkisini diğer pozitif inotropik ajanlardan farklı olarak hücre içi kalsiyum miktarını artırmadan gerçekleştirir. Miyokardın oksijen tüketimini artırmadan kontraktilesini artırır ve hücre içi kalsiyum artışına bağlı olarak gelişen aritmi, iskemi ve miyozit disfonksiyonu gibi yan etkiler önlenmiş olur (15-17). Levosimendanın bu özelliği bize sepsiste miyokard disfonksiyonuna sekonder olarak ağırlaşan organ yetersizliğine olumlu etkisi olabileceğini düşündürmüştü ve bu çalışmada sepsisin erken döneminde başlatılan levosimendanın akciğer hasarına etkisi araştırılmıştır.

Levosimendanın pozitif inotropik etkilerine ek olarak miyozit ve vasküler düz kas hücrelerinde ATP bağımlı potasyum kanallarını açarak sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona yol açtığı daha önce gösterilmiştir (39). Oldner ve ark. endotoksinden önce başlanan levosimendan infüzyonunun sistemik vasküler direnç indeksinde % 37, ortalama arteriyel basınçta yaklaşık % 22'lik azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir (40). Çalışmamızda sepsis+ levosimendan grubunda bolus sonrası 10.dk başlayan ve 20. dk ya devam eden OAB de azalma literatür bulgularıyla uyumlu ve beklenen bir sonuçtur. Otuzuncu dk itibarıyla sham ve sepsis+levosimendan grupları OAB leri arasında fark kalmamış, ancak sepsis grubunda 30.dk da başlayan kan basıncı düşüşü sıvı verilmesine rağmen devam etmiştir. Bu sonuç hem başarılı bir şekilde sepsis oluşturulduğunu, hem de sepsis oluşturulmuş ratlarda bolus sonrası 30. dk dan itibaren levosimendanın sham grubundan farksız hemodinami sağladığını göstermektedir. Sepsis grubundaki kan basıncı düşüklüğüne rağmen denekler çalışmayı tamamlamış ve sakrifikasyon aşamasına kadar ek sorun oluşmamıştır.

Klinik kullanımda levosimendanın kan basıncı üzerine olumsuz etkilerinin kısa süreli olduğu ve özellikle katekolaminlere dirençli septik şok olgularında tercih edilmesi gerektiğini bildiren olgu sunumları vardır (41,60). Barraud ve ark. (61) da levosimendanın sistolik ve diyastolik kardiyak fonksiyonları milrinon ve dobutamine oranla daha iyi idame ettirdiklerini ileri sürmüştür. Yapılan başka bir deneysel çalışmada, normodinamik endotoksemide levosimendan infüzyonu sonrası sistemik hipotansiyon gelişmekle birlikte sistemik ve intestinal oksijen sunumunun belirgin yükseldiği, intramukozal asidoz gelişiminin önlendiği ve oksijen transportunun iyileştiğini bildirmişlerdir (62).

Faivre ve ark. (63) levosimendan, vazopressin ve noradrenalinin LPS ile indüklenen deneysel sepsis modelinde, kardiyak ve renal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, vazopressinin renal kan akımını azaltmasına rağmen noradrenalinin artırdığını ve levosimendan ile noradrenalinin sepsiste daha yararlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu çalışma farklı bir konuyu irdelemekle beraber, araştırmamızda levosimendanın ÇLP ile indüklenen sepsiste sepsis grubuna göre OAB yi idame ettirmede tek başına yeterli olduğu sonucuna varılmıştır.

Levosimendanın önerilen klinik dozu 6-24 µg/kg bolus sonrası 24 saat 0.05-0,2 µg/kg/dk infüzyon olarak bildirilmiştir (64). Deneysel çalışmalarda ise çok farklı dozlarla çalışılmıştır. Denek olarak koyunların kullanıldığı bir çalışmada levosimendan 100 µg/kg/saat yükleme sonrası aynı dozda idame ettirilmiştir (65), benzer şekilde levosimendanın sepsiste hemodinamik etkilerinin domuzlarda araştırıldığı çalışmada 200 µg/kg/saat seçilmiştir (40). Fries ve ark.(48) da levosimendan ile norepinefrinin septik şokta mikrovasküler oksijenasyona etkilerini karşılaştırdıkları araştırmalarında levosimendanı 10 dk. 12 µg/kg bolus sonrası, 110 dk. 0,3 µg/kg/dk dozunda kullanmışlar ve olumlu etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Ratlarda seçilen tek doz olan bu araştırmaya ve klinik kullanıma uygunluk düşünülerek çalışmamızda yukarıdaki dozlar seçilmiştir.

Bakteriyel sepsis sırasında oluşan sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna yaygın olarak akciğer komplikasyonları eşlik eder. Sepsis hastalarının %25-42'sinde akut akciğer hasarı görülmekte ve %50'ye varan mortalite ile sonuçlanmaktadır (66). Sepsisteki akciğer hasarını önlemeye veya tedavi etmeye yönelik birçok araştırma bulunmasına rağmen henüz etkinliği kesin kanıtlanmış ve tedavi protokolünde yer alan bir ilaç uygulaması yoktur.

Akciğer hasarı sırasında sitokin üretimi ile makrofaj, lenfosit ve nötrofil aktivasyonu paralel olarak gelişir. Sıçanlarda LPS indüksiyonu ile oluşturulmuş sepsiste Anti -Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör *Antibody'nin* (AMMİFA) akciğer nötrofil birikimine etkisi araştırıldığında; akciğer MPO aktivitesi, BAL sıvısında hücre diferansiasyonu ve nötrofil oranlarının AMMİFA ile tedavi edilen grupta baskılandığı gösterilmiştir (67).

Hasar belirteçlerinden MPO, nötrofillerin akciğerdeki birikimini gösterir (49, 68, 69). N – asetil sistein (70) ve metilen mavisi (71) gibi antioksidan özellikleri olan ilaçların deneysel kullanımında, akciğer dokusunda MPO düzeylerinde anlamlı azalma sağladığı, sepsiste miktarı azalan faktörlerden biri olan Ghrelin hormonunun (72) NF-κB inhibisyonu aracılığıyla, proinflamatuvar sitokinler ve akciğer hasarında azalma yoluyla sepsis sağkalımında artışa neden olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda sepsis grubunda MPO düzeyinin sham ve sepsis+levosimendan grubundan belirgin yüksek olması, sepsis+levosimendan grubunda MPO düzeyinin sham grubundan farklı olmaması, sepsis oluşmasına rağmen levosimendanın akciğerlere nötrofil göçünü azalttığı şeklinde yorumlanmıştır. Benzer şekilde Koca ve ark.(73) ön tedavi olarak uygulanan antitrombin III ün sepsise bağlı gelişen akciğer hasarını engellediğini göstermişlerdir. Sitokin üretiminin azaltılması olarak da görülebilecek bu sonuç, bir alkaloid olan berberinin TNF- α üretimi ve sitozolik fosfolipaz A2 ekspresyonunu baskılayarak sekonder akut akciğer hasarını iyileştirdiğini bildiren Zhang ve ark.(74) görüşüyle örtüşmektedir.

ARDS'li olgularda renin anjiyotensin sisteminin inflamatuvar yanıtın oluşması ve patogenezinde yer aldığı anlaşılmıştı. Bu nedenle 2009 yılında yayımlanan deneysel bir araştırmada, sepsis modelinde ön tedavi olarak kullanılan ACE inhibitörü enalaprilin, akciğer MPO düzeylerini belirgin şekilde azalttığı bildirilmiştir. Çalışmacılar akciğer dokusunun histopatolojik incelenmesinde interstisyel ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun da azaldığını göstermişlerdir (75).

Okside lipid ve proteinler hücre membran hasarının oluşmasında önemli rol oynar. Lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan bu olayın değerli bir göstergesi TBARS veya MDA dır. İskemik önkoşullamanın (İÖK) ATP duyarlı K kanallarını açması ve vazodilatasyon yapması levosimendanın etki mekanizması ile benzeşmektedir. İÖK nin iskemi reperfüzyon sonrası oluşan lipid peroksidasyonun engelleyerek akciğer hasarını azalttığı (76), N asetil sistein, metilen mavisi gibi antioksidan ajanların sepsiste akciğer MDA düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir (70,71). Araştırmamızda sepsis+levosimendan grubunda TBARS değerlerinin sham grubundan farksız ancak sepsis grubundan belirgin düşük bulunması, levosimendanın akciğerlerde lipid peroksidasyonunu engellediğini düşündürmüştür.

Levosimendan, düşük dozlarda kalsiyum duyarlılığını artıran bir ilaç olarak etki gösterirken, yüksek dozlarda fosfodiesteraz 3 inhibisyonuna yol açmaktadır. Fosfodiesteraz enzim inhibitörlerinin etki mekanizması, özellikle inflamatuvar sitokinlerin baskılanması ve antiinflamatuvar sitokinlerin artması olarak açıklanmıştır (77-79). Makrofajların fosfodiesteraz 3 düzeyleri, birçok hücreye göre (lenfosit, monosit, endotel hücreleri) daha yüksek olduğu için levosimendanın antiinflamatuvar etkinliğinde rol oynayabilir. Olprinon, inotropik ve periferik vazodilatör etkilerin yanısıra spesifik bir fosfodiesteraz 3 inhibitörüdür. Olprinonun sepsiste akciğer hasarına etkisini araştıran Koike ve ark. (79) ratlara iv LPS vermeden önce uygulanan olprinonun, TNF- α , IL-6 düzeylerinde azalma, antiinflamatuvar sitokin IL-10 düzeyinde ise artışa neden

oluşunu ve akciğer dokusuna nötrofil geçişini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda levosimendan grubundaki alveoler makrofaj sayısı sepsis grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu sonuç levosimendanın alveoler makrofaj aktivasyonunu azalttığını göstermektedir. Aktive protein C nin sepsiste ön tedavi olarak uygulandığı deneysel araştırmada da ilacın levosimendana benzer şekilde alveoler makrofaj sayılarını azalttığı bildirilmiştir (80).

Akciğerlere nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olarak kullanılan MPO nun yanı sıra dokunun histopatolojik değerlendirmeleri, akciğer hasarını belirlemede önemlidir. Sepsisle ilişkili ARDS akciğerde akut ve diffüz polimorfonükleer hücrelerin birikimi, endotel hasarı, interstisyel ve alveolar ödem ile karakterize görünüm sergilemektedir (20). Çalışmamızda akciğerlerin histopatolojik incelenmesinde sepsis grubunda izlenen ağır interstisyel ödem, vasküler konjesyon, alveoler hemoraji ve alveolar septum kalınlaşmasının, levosimendan ile belirgin olarak azaltıldığı saptanmıştır. Bu sonuç levosimendanın vazodilatasyon ve pulmoner dolaşımı artırıcı etkisi yanı sıra antiinflamatuvar etkinliği ile de gerçekleşmiş olabilir.

Sepsiste intrasellüler adezyon moleküllerinden ICAM 1, lökositlerin endotelden geçişi ve ekstravasküler alana transmigrasyonunda önemli rol oynar. Bedirli ve ark.(81) septik ratlarda mortaliteyi azalttığı kanıtlanmış polisakkarid bir immunmodülatör olan β -glukanın CLP ile indüklenmiş sepsiste akciğer dokusunda ICAM 1 ekspresyonunu azalttığını kanıtlamışlar ve bu yolağın gerek doku MPO aktivitesinin düşürülmesinde gerekse histolojik hasarın iyileştirilmesinde etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Öztürk ve ark.(82) leflunomidin akciğerde histolojik hasarı ve MPO düzeylerini azalttığını göstermişlerdir. Ulaşabildiğimiz kadarıyla levosimendanın sekonder ARDS de adezyon molekülleri üzerine etkisini gösteren bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte, MPO ve histopatolojik değerlendirme sonuçlarımız levosimendanın akciğer hasarının iyileştirilmesinde adezyon molekülleri üzerinden de etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Ulaşabildiğimiz kaynaklara göre levosimendanın deneysel sepsis modelinde akciğer hasarına lipid peroksidasyonu ve nötrofil aktivasyonuna etkisi ile birlikte inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır.

Erbüyün ve ark. (83) rat sepsis ve abdominal kompartman sendromu modelinde levosimendanın akciğerlerde iNOS ve TNF alfa düzeylerini azalttığını öne sürmüşlerdir.

Vazopressör ajanların hemodinamik etkilerinin yanı sıra antiinflamatuvar, immünomodülatör ve antiapoptotik özelliklerinin de olduğunu ileri süren birçok klinik ve deneysel

çalışma bulunmaktadır. Boyd ve ark. (84) vazopressörlerin deneysel sepsis modelinde V2 vazopressin reseptörleri aracılığıyla akciğerlerde lokal antienflamatuvar etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Sağlıklı gönüllülerde yapılan başka bir çalışmada, endotoksin infüzyonundan sonra verilen epinefrinin TNF- α 'nın salınımını baskıladığı, IL-10 salınımını ise artırdığı gösterilmiştir (85).

Dekompanze kalp yetmezlikli olgularda levosimendan ve dobutaminin, inflamasyon ve apoptozis üzerine etkileri araştırılmış; levosimendanın tedaviden 48 saat sonra TNF- α ve apoptotik mediyatörlerden sFas ve sFasL'nin plazma konsantrasyonlarında belirgin azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (44). Benzer şekilde oksidatif hasar (MDA) ve sitokin düzeylerinin de levosimendan lehine belirgin azaldığını bildiren yayınlar bulunmaktadır (45, 46).

Levosimendanın sahip olduğu farklı etki mekanizmalarından yola çıkılarak, sepsise sekonder akciğer hasarındaki etkinliğinin araştırıldığı bu çalışmada, 2 saat süren uygulama ile akciğer dokusunda alveoler makrofaj sayısı, MPO ve TBARS düzeylerinde belirgin azalma elde edilmiştir.

Sitokin düzeyleri ve apoptozis belirteçlerinin çalışılmaması nedeniyle levosimendanın bu yollar üzerindeki etkisi direkt olarak belirlenememiştir. Ancak benzer şekilde inflamatuvar yanıtın baskılanarak akciğerlere nötrofil infiltrasyonunun azaltılmasına katkı sağladığını düşündük.

Bu çalışma levosimendanın sepsise sekonder akciğer hasarına etkisini sorgulamıştır. Erken dönemde levosimendan uygulaması akciğerlerde lökosit kümülasyonunu, lipid peroksidasyonunu ve histolojik hasarı azaltmıştır. Araştırmamızın sonuçları sepsisin erken döneminde levosimendan uygulamasının akciğer etkilenmesini azaltabileceğini düşündürmekle birlikte bu konunun klinik araştırmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu deneysel çalışmada rat sepsis modelinde, tedavi olarak verilen levosimendanın sepsise bağlı akciğer hasarı üzerine etkileri, doku MDA-MPO düzeyi, alveolar makrofaj sayısı ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

Levosimendan, sepsiste ciddi hemodinamik etkilenmeye neden olmamıştır.

Levosimendan, sepsise bağlı akciğer hasarını azaltmıştır.

Bu araştırmada inflamatuvar sitokinler, adezyon molekülleri çalışılmamış; akciğer hasarı lipid peroksidasyon, nötrofil akümüasyonu ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

Sepsisin klinik tedavisinde rutin olarak yer almayan levosimendanın erken dönem uygulaması akciğer hasarını azaltabilir.

Bu sonucun klinik araştırmalar ile desteklenmesi uygun olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Duane J. Funk, Parrillo J, Kumar A. Sepsis and Septic Shock: A History Crit Care Clin 25 (2009) 83–101
2. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference Crit Care Med 2003 Vol. 31, No.
3. 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 Collage of Chest Physicans. Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101:1644–55.
4. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM, Ramsay G, Zimmerman JL, Vincent JL, Levy MM. Surviving Sepsis Campaign guidelines for the management of severe sepsis and septic shock. Crit Care Med 2004;32:858–873.
5. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. Ann Intern Med 1991;115: 457-69.
6. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. Nature 2002;420:885-91.
7. Hotchkiss RS, Karl IE. The Pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med 2003;348/2:138-150.
8. Cinel İ. Sepsiste Patogenez Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci 2006, 2(32):8-20
9. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated cost of care. Crit Care Med 2001;29:1303-10
10. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, and Moss M. The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000 The new england journal of medicine 2003; 348:1546-54
11. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study Crit Care Med. 2006; 34:344-53
12. Vincent JL, Abraham E. The last 100 years of sepsis. Am J Respir Crit Care Med 2006;173 256-63
13. Yalçın A, Gürsoy B. Sepsis İmmünopatogenezi Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2008; 5(3):25-29
14. Cavailon JM, Adib-Conquy M, Fitting C, Adrie C, Payen D. Cytokine cascade in sepsis. Scand J Infect Dis 2003;35(9):535-44.
15. Antoniadis C, Tousoulis D, Koumallos N. Levosimendan: Beyond its simple inotropic effect in heart failure Pharmacology&Therapeutics 114 (2007) 184-197

16. Kivikko M, Antila S, Eha J, et al. Pharmacodynamics and safety of a new calcium sensitizer, levosimendan, and its metabolites during and after an extended infusion in patients with severe heart failure. *J Clin Pharmacol* 2002; 42: 43–51
17. Figgitt DP, Gillies PS, Goa KL. Levosimendan. *Drugs* 2001; 61: 613-27.
18. Yorgancı K. Sepsis patofizyolojisi Yoğun Bakım Dergisi 2005;5(2):80-84.
19. Kunkel SL, Lukacs NW, Strieter RM, Chensue SW. The role of chemokines in the immunopathology of pulmonary disease. *Forum* 1999; 9:339-52.
20. Fındık S. Akut Respiratuvar Distres Sendromu: Patogenez ve Patofizyoloji Türkiye Klinikleri J Surg 20 Med Sci 2007, 3(19)
21. Costa E.L.V. Schettino I.A.L. The lung in sepsis: guilty or innocent? *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders- Drug Targets*, 2006, 6, 213-216
22. Ware LB, Mathay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Eng J Med* 2000; 342(18):1334-1349.
23. Öz H. ve ark. Akut Respiratuvar Distres Sendromu: Tedavisi Türkiye Klinikleri J Surg 42 Med Sci 2007, 3(19)
24. Sharma S. and Kumar A. Septic shock, multiple organ failure, and acute respiratory distress syndrome. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2003, 9: 199-209
25. Vincent JL. International Sepsis Forum. Hemodynamic support in septic shock. *Intensive Care Med* 2001;27 (Suppl 1):80-92.
26. Hoogenberg K, Smit AJ, Girbes ARJ. Effects of low-dose dopamine on renal and systemic hemodynamics during incremental norepinephrine infusion in healthy volunteers. *Crit Care Med* 1998;26: 260-5.
27. Meier-Hellmann A, Bredle DL, Specht M, et al. The effects of low-dose dopamine on splanchnic blood flow and oxygen utilization in patients with septic shock. *Intensive Care Med* 1997;23: 31-37.
28. Martin C, Perrin G, Saux P, et al. Effects of norepinephrine on right ventricular function in septic shock patients. *Intensive Care Med* 1994;20: 444-7.
29. Levy B, Bollaert PE, Charpentier C, et al. Comparison of norepinephrine and dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and gastric tonometric variables in septic shock: A prospective, randomized study. *Intensive Care Med* 1997;23: 282-7.
30. Hollenberg SM, Ahrens TS, Annane D, et al. Practice parameters for hemodynamic support of sepsis in adult patients: 2004 update. *Crit Care Med* 2004;32(9):1928-48.
31. Woolsey CA, Coopersmith CM. Vasoactive drugs and the gut: is there anything new?. *Curr Opin Crit Care* 2006;12:155-9.

32. Le Tulzo Y, Seguin P, Gacouin A, et al. Effects of epinephrine on right ventricular function in patients with severe septic shock and right ventricular failure: A preliminary study. *Intensive Care Med* 1997;23:664-70.
33. Zhou SX, Qiu HB, Huang YZ, et al. Effects of norepinephrine, epinephrine, and norepinephrine-dobutamine on systemic and gastric mucosal oxygenation in septic shock. *Acta Pharmacol Sin* 2002;23:654-8.
34. Holmes CL, Patel BM, Russell JA, et al. Physiology of vasopressin relevant to management of septic shock. *Chest* 2001;120(3):989-1002.
35. Landry DW, Oliver JA. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 2001;345(8):588-95.
36. Moiseyev VS, Poder P, Andrejevs N, Ruda MY, Golikov AP, Lazebnik LB, Kobalava ZD, Lehtonen LA, Laine T, Nieminen MS, Lie KI. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction. A randomized, placebo-controlled, double-blind study (RUSSLAN). *Eur Heart J* 2002; 23:1422-32.
37. Packer M. REVIVE II: Multicenter placebo-controlled trial of levosimendan on clinical status in acutely decompensated heart failure. In: American Heart Association Scientific Sessions 2005; November 13-16, 2005; Dallas, Texas. Late Breaking Clinical Trials II. *Circulation* 2005; 112:3363.
38. Mebazaa A, Nieminen MS, Packer M, Cohen-Solal A, Kleber FX, Pocock SJ, Thakkar R, Padley RJ, Poder P, Kivikko M. Levosimendan vs Dobutamine for Patients With Acute Decompensated Heart Failure The SURVIVE Randomized Trial. *JAMA* 2007; 297(17):1883-1891.
39. Lasse A, Lehtonen, Saila Antila. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Intravenous Inotropic Agents *Clin Pharmacokinet* 2004; 43(3): 187-203
40. Oldner A, Konrad D, Weitzberg E, Rudehill A. Effects of levosimendan, a novel inotropic calcium-sensitizing drug, in experimental septic shock *Crit Care Med* 2001
41. Matejovic M, Krouzecky A, Radej J and Novakmatejovic I. Successful reversal of resistant hypodynamic septic shock with levosimendan *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 127
42. Morelli A et al. Effects of levosimendan on systemic & regional hemodynamics in septic myocardial depression *Intensive Care Med* 2005; 31: 638-44.
43. Vinay K, Dhingra, M.D., Ari Uusaro, M.D., Ph.D., Attenuation of Lung Inflammation by Adrenergic Agonist in Murine Acute Lung Injury *Anesthesiology* 2001;95:947-53
44. Parissis JT, Adamopoulos S, Antoniades C, et al. Effects of levosimendan on circulating proinflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with decompensated advanced heart failure. *Am J Cardiol* 2004;93: 1309 -12.

45. Avgeropoulou C, Andreadou I, Sophia Markantonis-Kyroudis T, et al. The Ca²⁺ sensitizer levosimendan improves oxidative damage, BNP and pro-inflammatory cytokine levels in patients with advanced decompensated heart failure in comparison to dobutamine. *Eur J Heart Fail* 2005;7: 882-7.
46. Kyrzopoulos S, Adamopoulos S, Parissis JT, et al. Levosimendan reduces plasma B-type natriuretic peptide and interleukin 6, and improves central hemodynamics in severe heart failure patients. *Int J Cardiol* 2005;99: 409-13.
47. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH, et al: Sepsis and septic shock-A review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 29: 189, 1980.
48. Fries M, İnce C, Rossaint R, Bleilevens C. Levosimendan but not norepinephrine improves microvascular oxygenation during experimental septic shock. *Critical Care Medicine* 2008; 36: 1886-1891
49. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay of acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology* 1984; 87: 1344-50
50. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
51. Aykaç B. Türkiye Klinikleri *J Surg Med* 34 Sci 2006, 2(32) Sepsiste Sağlıkım Kampanyası Rehberinin Tedavi Algoritmasındaki Yeri
52. Otero-Anto[´]n A, Gonza[´]lez-Quintela A, Lo[´]pez-Soto S. Cecal Ligation and Puncture as a Model of Sepsis in the Rat: Influence of the Puncture Size on Mortality, Bacteremia, Endotoxemia and Tumor Necrosis Factor Alpha Levels *Eur Surg Res* 2001;33: 77-79
53. Dellinger R, Carlet J, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Juan Gea-Banacloche, for the Surviving Sepsis Campaign Management Guidelines Committee. Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004 Vol. 32, No. 3
54. Cinel I, Dellinger RP. Current treatment of severe sepsis. *Current Infectious Disease Reports* 2006 Sep; 8 (5) : 358-65
55. Abi-Gerges N, Tavernier B, Mebazaa A, et al. Sequential changes in autonomic regulation of cardiac myocytes after in vivo endotoxin injection in rat. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1196-204.
56. Zhong J, Hwang T-C, Adams HR, et al. Reduced L-type calcium current in ventricular myocytes from endotoxemic guinea pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1997;273:2312-24.
57. Liu S, Schreier KD. G protein-mediated suppression of L-type Ca²⁺ current by interleukin-1 beta in cultured rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 1995;268:339-49.
58. Callahan L, Supinski G. Sepsis-induced myopathy *Crit Care Med* 2009 Vol. 37, No.10

59. Dong LW, Wu LL, Ji Y, et al. Impairment of the ryanodine-sensitive calcium release channels in the cardiac sarcoplasmic reticulum and its underlying mechanism during the hypodynamic phase of sepsis. *Shock* 2001;16: 33-39.
60. Powell P. , De Keulenaer L. Levosimendan in septic shock: a case series *British Journal of Anaesthesia*; Sep 2007; 99,
61. Barraud D, Faivre V, Damy T, et al. Levosimendan restores both systolic and diastolic cardiac performance in lipopolysaccharide-treated rabbits: comparison with dobutamine and milrinone. *Crit Care Med* 2007;35(5):1376-82.
62. Dubin A. Maskin B. Murias G. Effects of levosimendan in normodynamic endotoxaemia: a controlled experimental study *Resuscitation (2006) 69, 277-2*
63. Faivre V. Kaskos M. Callebort J. Cardiac and Renal Effects of Levosimendan, Arginine, Vasopressin, and Norepinephrine in Lipopolysaccharide-treated Rabbits *Anesthesiology* 2005, 103: 514-21
64. Charalambos A. Tousoulis D. Koumallos N. Marinou K. Stefanadis C. ,Levosimendan: Beyond its simple inotropic effect in heart failure *Pharmacology & Therapeutics* 114 (2007) 184–197
65. Dubin A. Murias G. Sottile J. Effects of levosimendan and dobutamine in experimental acute endotoxemia: a preliminary controlled study *Intensive Care Medicine* (2007) 33: 485-494
66. Sungur M. Sepsiste Organ Destek Tedavileri *Yoğun Bakım Dergisi* 2005;5(2):112-121
67. Makita H, Nishimura M, Miyamoto K et al. Effect of Anti-macrophage migration inhibitory factor antibody on LPS induced pulmonary neutrophil accumulation. *Am J Respir. Crit Care Med.* 1998; 158:573–79.
68. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assesment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology.* 1984; 87: 1344–50.
69. Goya T, Abe M, Shimura H.Characteristics of alveolar macrophages in experimental septic lung. *J Leukoc Biol.* 1992; 52: 236–43.
70. Özdülger A, Cinel İ, Köksel O. The Protective Effect of N-Acetylcysteine on Apoptotic Lung Injury in Cecal Ligation and Puncture-induced sepsis model. *SHOCK, Vol. 19, No. 4, pp. 366–372, 2003*
71. Demirbilek S, Sizanli E, Karadağ N. The Effects of Methylene Blue on Lung Injury in Septic Rats *Eur Surg Res* 2006;38: 35–41
72. Rongqian W, Weifeng D, Mian Z. Ghrelin Attenuates Sepsis-induced Acute Lung Injury and Mortality in Rats

73. Koca U, Olguner Ç, Özkardeşler S. Karcı A. Antithrombin III pretreatment reduces neutrophil recruitment into the lung in a rat model of abdominal sepsis. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2005; 49: 203-208
74. Zhang H. Wang H. Lu D. Ren-bin Q. Wang Y. Berberine inhibits cytosolic phospholipase A 2 and protects against LPS-induced lung injury and lethality independent of the 2 adrenergic receptor in mice. *SHOCK*, Vol. 29, No. 5, pp. 617Y622, 2008
75. Satoshi H. Hideo I. Shigekiyo M. Seigo H. Takayuki N. Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on the inflammatory response in *in vivo* and *in vitro* models. *Crit Care Med* 2009 Vol. 37, No. 2
76. Şahin E. Olguner Ç. Bodur H. Uzak ve Doğrudan İskemik Önkoşullamanın Karaciğerin Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(2):381-7
77. Hafner D, Germann PG. Additive effects of phosphodiesterase-4 inhibition on effects of Rsp-c Surfactant. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1495-500
78. Miotla JM, Teixeira MM, Hellewell PG. Suppression of acute lung injury in mice by an inhibitor of phosphodiesterase type 4. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;18:411-20
79. Terumoto Koike T, Qutab M, Tsuchida M. Pretreatment with olprinone hydrochloride, a phosphodiesterase III inhibitor, attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury via an anti-inflammatory effect *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 21 (2008) 166–171
80. Duran E, Koca U, Bodur H, Ergür B, Ateş O, Olguner Ç. Aktive protein C'nin intraabdominal sepsis modelinde epitelyal apoptozis üzerine etkisi. *Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği XXXXII. Ulusal Kongresi*, 2008, Antalya
81. Bedirli A, Kerem M, Pasaoglu H. Beta-Glucan Attenuates Inflammatory Cytokine Release and Prevents Acute Lung Injury in an Experimental Model of Sepsis *SHOCK*, Vol. 27, No. 4, pp. 397Y401, 2007
82. Ozturk E, Demirbilek S, Begec Z. Does leflunomide attenuate the sepsis-induced acute lung injury? *Pediatr Surg Int* (2008) 24:899–905
83. Erbüyün K, Vatansever S, Tok D. Effects of levosimendan and dobutamine on experimental acute lung injury in rats. *Acta histochemica* (2008) , doi:10,1016
84. Boyd J, Holmes C, Wang Y. Vasopressin decreases sepsis-induced pulmonary inflammation through the V2R *Resuscitation* (2008) 79, 325-331
85. Van der Poll T, Buller HR, ten Cate HT, et al. Activation of coagulation after administration to TNF to normal subjects. *N Engl J Med* 1990;322:1622-7.

