

# Deneysel Sepsis Modelinde Granülosit Kolonistimülatör Faktör ve İmipenem'in Tek Tek ve Kombine Kullanımının Sağkalım Üzerine Etkileri

IN EXPERIMENTAL SEPSIS MODEL EFFECTS OF GRANULOCYTE  
COLONY STIMULATING FACTOR AND IMIPENEM IN SEPARATED  
AND COMBINED FORM ON SURVIVAL

Dr.Mehmet CAN\*, Dr.Cihan YILDIRIR\*, Dr.N. Zafer CANTÜRK\*\*\*, Dr.Bahattin DALKILIÇ\*,  
Dr.Harun ANALAY\*, Dr.Esin YILDIZ\*\*

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, (\*) Genel Cerrahi ABD, (\*\*) Patoloji ABD, SİVAS  
(\*\*\*) Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD, KOCAELİ

## ÖZET

**Amaç:** Sepsis ve septik şok patogeneğinde etkili olduğu bilinen G-CSF'ün nötrofillerin sayı ve fonksiyonlarını geliştirerek sepsiste sağkalımı üzerine etkisini araştırmak.

**Durum Değerlendirmesi:** Cerrahi teknikler, antimikrobiyal ajanlar ve destekleyici tedavilerdeki gelişmelere karşın cerrahi yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda sepsisin önemli morbidite ve mortaliteye yol açması yeni tedavi arayışlarına neden olmuştur. Son yıllarda araştırmalar bunun üzerinde yoğunlaşmıştır.

**Yöntem:** Bu deneysel çalışmada G-CSF'ün tek başına ve imipenemle kombine kullanımında sepsisteki sağkalım üzerine etkileri araştırıldı. Ratlar 5 gruba ayrıldı. 1. Grup sham grubu olarak takip edildi. 2. Grupta CLP ile sepsis oluşturuldu. 3., 4. ve 5. Grupların hepsinde CLP ile sepsis oluşturulduktan 3 saat sonra intraperitoneal (IP) olarak sırasıyla G-CSF, imipenem ve G-CSF+ imipenem kombinasyonu tedavilerine başlandı ve bu tedavilerin kanda lökosit ve nötrofil, peritoneal kavitede nötrofil ve bakteri koloni sayıları ve sonuçta sağkalım üzerine etkileri araştırıldı.

**Çıkarımlar:** G-CSF alan gruplardaki kanda lökosit , nötrofil ve peritoneal kavitedeki nötrofil sayılarının anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. Peritoneal kavitedeki bakteri koloni sayısının ise her üç tedavi grubunda da anlamlı derecede azaldığı tesbit edildi. G-CSF ve imipenemi tek başına alan gruplarda sepsis grubuna göre sağkalımda anlamlı iyileşme görülürken kendi aralarında fark bulunamadı. G-CSF + İmipenem kombinasyonu alan grupta sepsis ve G-CSF grubuna göre sağkalımda artış gözlenirken imipenem grubu ile arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

**Sonuçlar:** G-CSF tedavisinin ratlarda oluşturulan deneysel sepsiste periferik kanda ve enfeksiyon odağında nötrofil sayısını artırıp, mikroorganizma sayısını azaltarak sağkalımı artırdığı, antibiyotiklerle kombine kullanıldığında etkilerinin anlamlı derecede arttığı görüldü. Günümüz sepsis tedavisinde antibiyoterapi ile kombine G-CSF tedavisi uygun vakalarda kullanılabilir

**Anahtar Kelimeler:** Sepsis, Granülosit Koloni Stimülatör Faktör ( G-CSF), İmipenem

## SUMMARY

Although there are many progresses in supportive treatments, antimicrobial therapy and surgical techniques, sepsis is still important cause of morbidity and mortality in surgical intensive care units. On the other hand, new treatment modalities have been searched. In recent years, many researchs

were performed on Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) and it was understood that it has played important roles in pathogenesis of sepsis and septic shock. It is thought that G-CSF increases the survival by promoting the amount and function of neutrophils. In this study we examined the effects of G-CSF with or without imipenem on survival rate in experimental sepsis of rats. Rats were divided into 5 groups as follows: First group, the sham group; second group, sepsis induced group; sepsis induced groups 3,4 and 5, treated with G-CSF, imipenem and G-CSF+ imipenem respectively. Afterwards, white blood cell (WBC) and neutrophil counts and neutrophil and bacterial colony amounts in peritoneal cavity and survival rate determined. In group 3, WBC and blood neutrophil counts and neutrophil amount in peritoneal cavity were significantly high. Bacterial colony amounts in peritoneal cavity were also significantly decreased, in all treatment groups. Although there was better survival rate in group 3 and 4 comparing with group 2, no significant difference was determined between groups 3 and 4 on survival. Significantly better survival rate was determined for group 5, comparing with group 2 and group 3 and there was no significant difference with group 4. In conclusion, G-CSF improves the survival rate by decreasing the amount of microorganisms on local infection area and increasing neutrophil counts in blood and local infective area. We also observed that G-CSF might improve its effects when used in combination with antibiotics. Standard antibiotherapy in combination with G-CSF may be useful treatment regime for suitable cases.

**Keywords:** Sepsis, Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF), Imipenem

Antibiyotikler ve diğer tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen cerrahide enfeksiyonlara bağlı mortalitenin ve morbiditenin yüksek seyretmesi araştırmacıları yeni tedavi seçeneklerini araştırmaya yöneltmiştir.

Özellikle ilerlemiş kanseri olan ve immün sistemi baskılanmış hastalarda nötropeni ve sıklıkla şiddetli peritonite saptanır. Bu durum da sepsise ve mortalitede artışa yol açar. Böyle şiddetli peritonitlerde antimikrobiyal tedavi asıl klinik stratejiyi oluşturmakla birlikte, vücudun savunma mekanizmaları genellikle bozulmuş olduğundan etkinlikleri sınırlı kalabilmektedir (1). Yakın zamanda, sitokinlerin sepsis patofizyolojisi ve multiorgan yetmezliğinin yanı sıra, konakçı savunma yanıtında da önemli roller oynadığı gösterilmiş, bazı hayvan modellerinde de bu sitokinlerden yararlanılmaya çalışılmıştır (2,3,4). Nötrofillerin (polimorfonükleer lökositler = PMNL) sepsis ve multiorgan yetmezliğinin patofizyolojisinde önemli roller oynadığı ileri sürülmüştür (5,6,7). Sepsise karşı konakçı savunma sisteminde nötrofiller inflamatuvar olayların anahtar elemanı olarak çalışırlar. Nötrofil sayısındaki azalma ve fonksiyonundaki anormallikler enfeksiyon riskini artırmaktadır (7,8,9,10). Nötropenik hayvanlarda, nötrofil sayısı ve fonksiyonunu artıran yöntemlerin enfeksiyon riskini de azalttığı bildirilmiştir (11,12). Buradan yola çıkarak, kemik iliğinde diğer hücreleri etkilemeksizin sadece nötrofil yapımını ve salınımını artıran Granülosit-Koloni Stimülasyon Faktörü (G-CSF)'ün sepsis oluşturulan hayvan modellerinde kuvvetli bir antibiyotik olan imipenem ile birlikte denen-

mesi düşünüldü.

Bu çalışmada, sepsiste blinen klasik antibiyotik tedavisinin yararı göz ardı edilmeksizin G-CSF'ün ve güçlü bir antibiyotik olan imipenem tedavisinin tek tek ve kombine olarak, sepsis başladıktan sonra kullanımının sağkalım üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

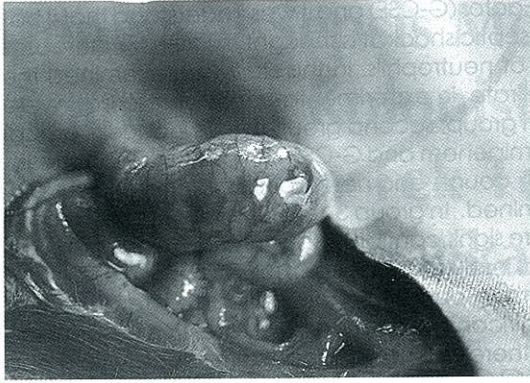
## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hayvanlar

Bu deneysel çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarından alınan ağırlıkları 170-250g. arasında değişen Wistar-Albino tipi 80 adet ratda gerçekleştirildi. Standart yiyeceklerle beslenen sıçanlar cerrahi müdahale uygulamadan 12 saat önce aç bırakıldı ve sadece su verildi. Tüm sıçanlar her grupta 16 adet olmak üzere 5 ayrı gruba bölündüler (Sham, Kontrol, G-CSF, İmipenem, G-CSF + İmipenem).

### Deneysel

Sepsis oluşturmak için ratlarda çekal ligasyon ve delme (CLP) modeli seçildi. Bu yöntem ile gram negatif bakteriyemiyle seyreden peritonit ve sepsis sendromu oluşturulabilmektedir (13). Xylazine (Rompun®) (4mg/kg) ve Ketamine Hydrochloride (Ketalar®) (60 mg/kg) intramüsküler (i.m.) uygulanarak yapılan anestezi sonrası, sıçanların karın traşını takiben cilt Betadinle silinip 2 cm'lik orta hat kesisiyle laparotomi yapıldı. Çekum izole edildi. Assendan kolondan sıvazlanarak çekum gaita ile doldurulduktan sonra ileoçekal valvin altından ince barsak ve



**Resim 1:** Çekal Ligasyon perforasyon yapılişına ait bir adet örnek

kolonun devamlılığını bozmadan 3/0 ipekle bağlandı ve çekum ön yüzünden 22 numaralı intraket iğnesi ile iki defa delindi (Resim 1). Daha sonra çekum itinalı bir şekilde peritoneal kaviteye yerleştirilip abdominal insizyon iki kat olarak kapatıldı. İnsizyon yeri tekrar Betadinle silinip açık bırakıldı. Resüsitasyon için her sıçana 5 ml/100 g isotonik sodyum klorür verildi. Sham Grubu dışında tüm sıçanlara aynı cerrahi işlem uygulandı. Sham Grubuna laparotomi yapılip çekum bulundu ve elle manipülasyon yapılip tekrar karın içine atılarak karın iki kat kapatıldı. Tüm hayvanların postoperatif 12. saatte standart yiyeceklerle beslenmelerine devam edildi. Çalışma grupları ve uygulanan ajanlar şu şekilde sınıflandırıldı:

1. Grup (Sham Grubu) : Laparotomiden başka işlem yapılmadı. 12 saat aralıklarla ve 7 gün boyunca 1 cc SF Subkutan ( s.c.) olarak enjekte edildi.
2. Grup (Kontrol Grubu): Sadece CLP yapıldı ve 12 saat aralıklarla ve 7 gün boyunca 1 cc SF s.c. olarak enjekte edildi.
3. Grup (G-CSF Grubu): CLP'den 3 saat sonra 15 µg/kg dozunda başlanan G-CSF (Roche) daha sonra 12 saat arayla 7 gün boyunca s.c. olarak verildi.
4. Grup (İmipenem Grubu): CLP'den 3 saat sonra 5 mg/kg dozunda başlanan İmipenem (Merck Sharp ve Dohme) 12 saat arayla 7 gün boyunca i.p. olarak enjekte edilerek devam edildi.
5. Grup (G-CSF + İmipenem Grubu) : CLP'den 3 saat sonra her iki ajanda 3. ve 4. gruplarda belirtilen süre ve dozlarda G-CSF s.c. imipenem ise i.p. uygulandı. İlaçların i.p. ve s.c. olarak uygulanması farmakokinetikleri açısından prob-

lem yaratmayacağı için ve uygulama kolaylığı nedeni ile tercih edildi.

CLP'den sonraki 16. saatten sonra ratlarda tüylerde dikleşme, konjonktival hiperemi, letarji ve ishal olup olmadığı kaydedilip, rektal ısıları ölçüldü (13). Daha sonra her gruptan gelişigüzel 8'er adet rat ayrıldı. Bunlara tekrar anestezi uygulandı ve intrakardiyak olarak kan örnekleri alındıktan sonra laparotomi yapıldı. Steril şartlarda peritoneal sıvıdan kültür alındı. Batın içinin makroskopik görünümü her grupta kaydedildi. Daha sonra aşağıdaki yöntemle alınan peritoneal sıvıda nötrofil sayımı yapıldı. Her gruptan aynı tedavileri alan diğer 8 rat ise sağkalım yönünden izlendi.

#### Peritoneal lavaj sıvısında nötrofil sayılması

Anestezi altında relaparotomide ve direkt gözlemlenilen kontrol grubu dışında beklenen peritonit bulguları doğrulandı. Fosfatla tamponlanmış 10 ml serum fizyolojik peritoneal kavite içine enjekte edildi. Herhangi bir abdominal organın veya karın duvarının zedelenmemesi için aşırı dikkat sarfedildi. Ratlar nazikçe birkaç kez başaşağı ve sağa sola döndürüldükten sonra lavaj sıvısı 10 ml'lik steril bir enjektör içine çekildi ve sayım yapılacak olan tüplerin içine kondu. Her rat için aynı işlem tekrarlandı. Hücre ayırımı için lökosit solüsyonu kullanıldı. Hücreler 450 g'de 25 dk süreyle santrifüje edildikten sonra kontamine kırmızı hücreler hipotonik lizis yöntemiyle uzaklaştırıldı ve kalan hücreler 150 g de 5 dk süreyle santrifüje edildi. Nötrofilden zengin bu mayi fosfatla tamponlanmış soğuk serum fizyolojik ile sulandırılıp 150 g de 5 dk süreyle santrifüje edildi. Son yıkamadan sonra hücreler tekrar 1 ml fosfatla tamponlanmış serum fizyolojik içinde sulandırılıp CA 610 Medonic marka tam kan sayım cihazı ile sayımları yapıldı.

#### Periferik kan elemanları ve lökosit tayini

Alınan kan örneklerindeki lökositler Ca 610 Medonic marka tam kan sayım cihazı ile sayıldı. Kanda nötrofil sayısı, lam üzerine yayılan kanın Wright ile boyanıp ışık mikroskopuyla sayılmasıyla elde edildi.

#### Peritoneal sıvıdan kültür

Peritoneal sıvıdan alınan steril numunelerin hemen %5 koyun kanı ilave edilmiş kanlı agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) agarlı plaklara 0.1 cc olacak şekilde steril pipetlerle ekimleri yapıldı. Bir gece 35°C de aerob şartlarda enkübe edildik-

ten sonra üreme görülen plaklar değerlendirmeye alınırken üreme görülmeyenler bir gece daha 35°C de bekletildi. Üreyen bakteriler klasik yöntemlerle idantifiye edildi ve mililitredeki bakteri koloni sayıları tespit edildi.

### Dokuların histolojik incelenmesi

Sepsisin dokularda oluşturduğu değişiklikler açısından gruplar arasında farklılıkları göstermek için; çekum ve ince barsak, karaciğer, dalak, akciğer ve böbreklerden örnekler alındı. Her bir örnek ayrı ayrı kaplarda %10'luk formaldehit solüsyonuyla tespit edildi. Rutin işlemlerden geçirildikten sonra parafin bloklaya yapıldı. Hematoksin Eozinle standart metod kullanılarak boyandı ve ışık mikroskopuyla incelendi.

### İstatistik

Sağkalım tayini için her grupta kalan 8'er adet rat 7 gün boyunca ilaçları yapılarak izlendi. Sonuçların değerlendirilmesinde ANOVA testi ile çoklu karşılaştırma için Tukey-kramer çoklu karşılaştırma testi ve sağkalımı irdelemek için ise Kaplan Meier survival analizi kullanıldı ve  $p < 0.05$  olasılık değerleri istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

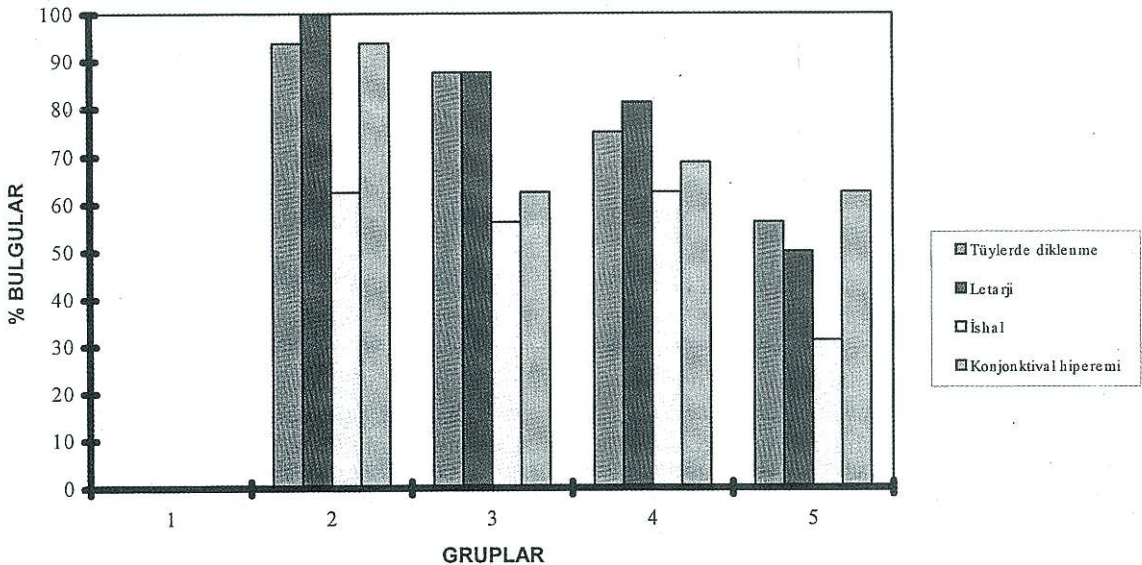
Sham grubunu oluşturan ratlarda sepsise ait bulguya rastlanmaz iken, sepsis oluşturulan tüm

gruplarda tüylerde dikleşme, letarji, konjonktival hiperemi ve ishal gibi bulgular gözlemlendi. Bu bulgular Grup 2'de, Grup 3,4 ve 5'e göre daha fazla idi (Şekil 1). Gruplara göre rektal ateş değerleri Şekil 2'de verildi.

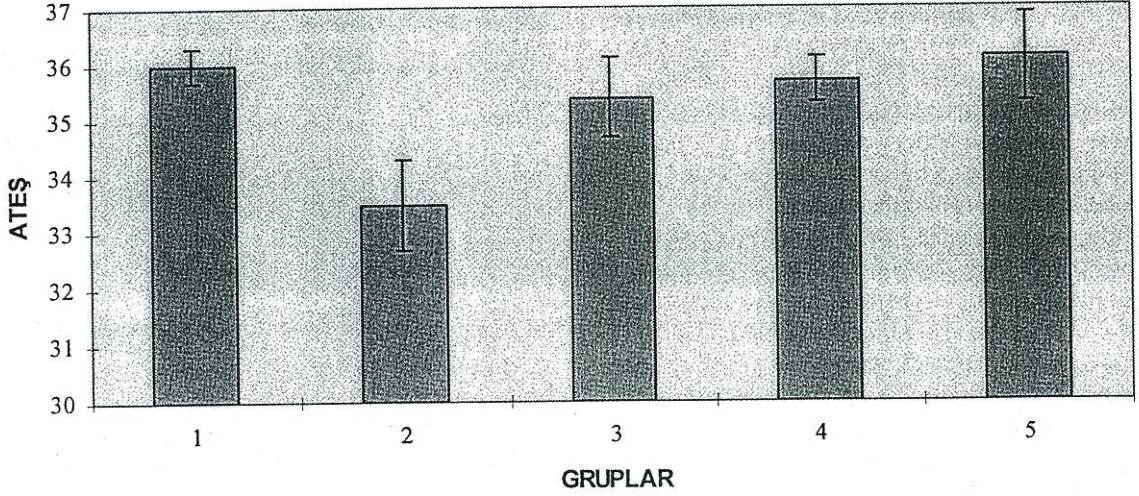
Bütün CLP oluşturulan gruplarda relaparotomide makroskopik olarak intraperitoneal pürülan mayi mevcuttu. Grup 2'de ince bağırsaklarda ileri derece ödem ve hiperemi görülürken Grup 3 ve Grup 4'de ödem ve hiperemi Grup 2'ye göre daha hafif görünümde idi. Grup 5'de ise ödem ve hiperemi bazı segmentlerde görüldü.

Sağkalım yönünden gruplar incelendiğinde sham grubunda tüm ratlar 7. güne kadar yaşarken, Grup 2'de 4. günden sonra hiç yaşayan rat kalmadı. Grup 3'de 7. günde 1 (%12.5), Grup 4'de 3 (%37.5) ve Grup 5'de 5 (%62.5) rat yaşıyordu. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, Grup 2 ile Grup 3 ( $p < 0.05$ ) ve Grup 2 ile Grup 4 ( $p < 0.05$ ) karşılaştırıldığında yedi günlük sağkalım oranı istatistiksel olarak anlamlı, Grup 5'de ise ileri derece anlamlı olarak yüksekti ( $p < 0.001$ ). Grup 3 ile Grup 4 ve Grup 4 ile Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken ( $p > 0.05$ ), Grup 3 ile kıyaslandığında Grup 5'deki sağkalım oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ( $p < 0.05$ ) (Şekil 3).

Kanın şekilli elemanları değerlendirildiğinde Grup 2'deki lökopeni ile kıyaslandığında Grup



Şekil 1: Deneklerde sepsisse ait klinik bulguların dağılımı

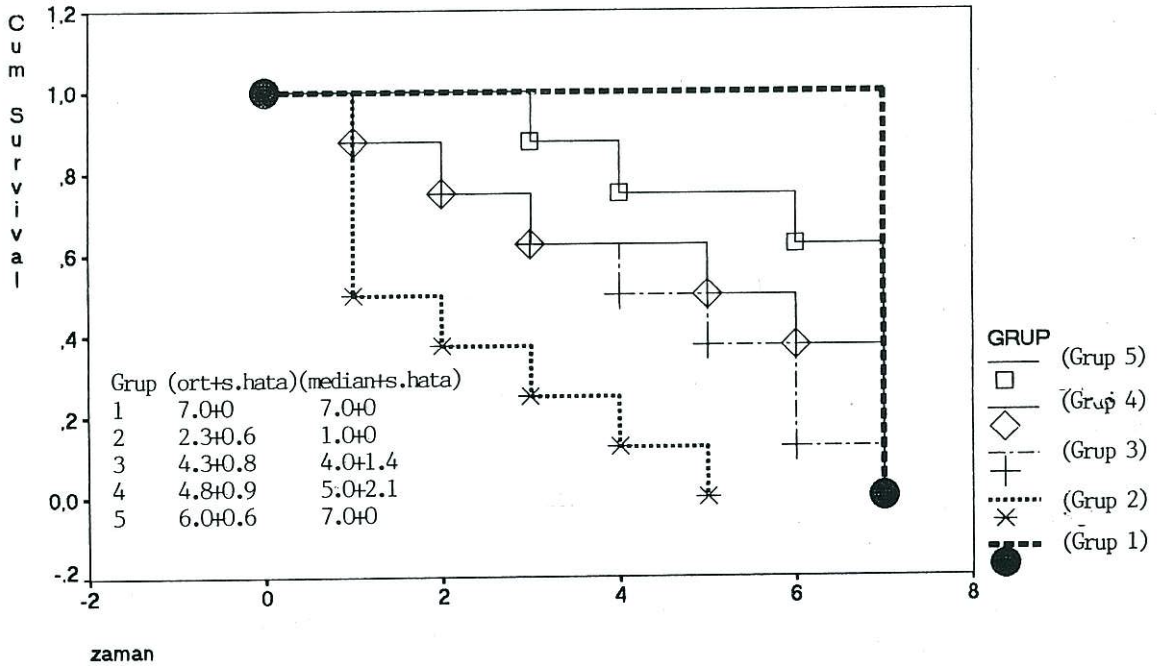


Şekil 2: Gruplarda rektal ateş farkı

1, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'de anlamlı bir lökositöz tesbit edildi ( $p < 0.001$ ). Grup 1 ile Grup 3'deki lökosit sayıları ile kıyaslandığında Grup 4 ile Grup 5'teki lökositöz istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.001$ ). Ancak, Grup 3 ve Grup 5'teki lökosit değerleri ile Grup 1 ve Grup

4'deki lökosit değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo I):

Yapılan yaymalarda Grup 2'deki nötropeni ile kıyaslandığında Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'de istatistiksel olarak anlamlı nötrofil tesbit edildi ( $p < 0.001$ ). Anlamlı nötrofil görülen gruplar



Şekil 3: Tüm gruplarda yer alan ratların sağkalımlarını gösteren sağkalım eğrisi

G1-2, logrank = 17.46  $p = 0.00001$ ; G1-3, logrank = 12.08  $p = 0.0005$ ; G1-4, logrank = 6.93  $p = 0.0085$ ; G1-5, logrank = 3.46  $p = 0.063$ ; G2-3, logrank = 4.27  $p = 0.039$ ; G2-4, logrank = 5.66  $p = 0.0174$ ; G2-5, logrank = 11.39  $p = 0.0007$ ; G3-4, logrank = 0.69  $p = 0.4$ ; G3-5, logrank = 4.06  $p = 0.044$ ; G4-5, logrank = 1.21  $p = 0.27$

**TABLO 1: OLGULARA AİT HEMATOLOJİK PARAMETRELER VE GRUPLARIN İSTATİSTİK KARŞILAŞTIRILMASI**

Gruplar	Gruplara ait parametreler Ortalama $\pm$ SD (Ortanca)			
	Kanda lökosit (mm 3)	Kanda nötrofil (mm 3)	Periton lavaj sıvısında nötrofil (mm 3)	Periton sıvısı kültüründe bakteri koloni sayısı (koloni/mm 3)
1	6225 $\pm$ 1060.7 (6400)*	1090.5 $\pm$ 190.4 (1140)	13687 $\pm$ 2210 (13950)	3000 $\pm$ 2060 (2205)
2	1850 $\pm$ 531.8 (2000)	511.5 $\pm$ 112.8 (500)	20875 $\pm$ 3035 (19800)	57000 $\pm$ 20725 (56800)
3	10225 $\pm$ 2096.1 (4300)	4143.2 $\pm$ 1153.4 (3806)*	71712 $\pm$ 8950 (70980)*	5989 $\pm$ 3846 (6000)*
4	4425 $\pm$ 999.6 (9900)	1767.0 $\pm$ 396.8 (1780)	24300 $\pm$ 3825 (24300)	5750 $\pm$ 3783 (7050)
5	9625 $\pm$ 2125.9 (10800)*	46540.0 $\pm$ 1248.4 (4446)*	75762 $\pm$ 6439 (75050)*	5487 $\pm$ 3091 (6500)
ANOVA	f=40.401 s.d. = 4 p = 0.0001	f=44.570 s.d. = 4 p = 0.0001	f=238.3 s.d. = 4 p = 0.0001	f=45.806 s.d. = 4 p = 0.0001
Tukey's-Kramer çoklu karşılaştırma-da anlamlı gruplar	(1-2, 1-3, 1-5) (2-3, 2-4, 2-5) (3-4, 4-5)	(1-3, 1-5) (2-3, 2-4, 2-5) (3-4, 4-5)	(1-3, 1-4, 1-5) (2-3, 2-5) (3-4, 4-5)	(1-2) (2-3, 2-4, 2-5)

arasında Grup 3 ve 5'deki nötrofil Grup 4'deki ne nazaran daha anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ). Ancak Grup 3 ve Grup 5 arasında anlamlı farklılık bulunamadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo 1).

Peritoneal lavaj sıvısındaki nötrofil sayıları karşılaştırıldığında Grup 2'ye göre Grup 3 ve Grup 5'de istatistiksel olarak anlamlı bir nötrofil artışı gözlenirken ( $p < 0.001$ ), Grup 2 ile Grup 4 arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Tedavi grupları arasında da Grup 3 ve Grup 5'de Grup 4'e göre istatistiksel olarak anlamlı nötrofil artışı saptandı ( $p < 0.001$ ). Grup 3 ile Grup 5 arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo 1)

Peritoneal sıvıdan alınan kültürde Grup 2'nin tüm elemanlarında üreme olurken, Grup 1'de 8 ratdan 6'sında, Grup 5'de ise 8 hayvandan 2'sinde üreme görülmedi. Grup 1'de üreme olan 2 hayvanda üreyen mikroorganizmalar hem miktar olarak az hem de staphylococcus grubu mikroorganizmalardı. Grup 3 ve 4'de her bir gruptan beşer ratta üreme oldu. Üreyen mikroorganizmalar Escherichia species, staphylococcus species ve proteus species sıklık sırasına göre yer alıyordu. Alınan peritoneal sıvıdaki

mikroorganizma koloni sayıları gözönüne alındığında Grup 2'ye göre tedavi gruplarının hepsinde istatistiksel olarak anlamlı azalma tesbit edildi ( $p < 0.001$ ), (Tablo 1).

Patolojik inceleme için alınan örneklerden, terminal ileum ve çekum duvarından hazırlanan kesitlerde tedavi gruplarında biraz daha az olmak üzere sepsis oluşturulan tüm gruplarda, mukozada nekroz, submukozada belirgin hiperemi, ödem, tunika muskularis ve serozada PMNL infiltrasyonu ile kanama odakları tesbit edildi (Şekil 5).

Dalak ve böbrek örneklerinde patolojik bulgular arasında çok büyük farklılık yoktu. En büyük farklılığın bulunduğu akciğer örneklerinde Grup 1'de minimal hiperemi ve fokal amfizematöz değişiklik vardı. Grup 2'de hiperemi, diffüz amfizematöz değişiklik, alveolar duvarda parçalanma ve interstisyumda kanama mevcuttu. Tedavi gruplarının tümünde (Grup 3, Grup 4 ve Grup 5) minimal hiperemi, minimal ve yer yer de diffüz olmak üzere amfizematöz değişiklik vardı. Karaciğer kesitlerinde, Grup 1'de hiperemi, kupffer hücre hiperplazisi, bir tanesinde hepatositlerde bulanık şişme vardı. Grup 2'de, hiperemi,



**Resim 2:** CLP oluşturulan ratlara ait barsakların mikroskopik görünümüne örnek (HEx75)

kupffer hücre hiperplazisi, hepatositlerde bulanık şişme, fokal nekroz alanları, tek hücre nekrozu, portal alanlarda lenfositik infiltrasyon vardı. Grup 3 ve Grup 4'de Grup 2'ye göre daha hafif olmak üzere benzer bulgular tespit edildi. Grup 5'de, Grup 1'deki bulgulara benzer şekilde hiperemi ve kupffer hücre hiperplazisi görüldü.

## TARTIŞMA

Cerrahideki gelişme ve yeniliklere rağmen patofizyolojisi tam olarak anlaşılammış ise de sepsis hala cerrahide en önemli ölüm nedenlerinden biridir. Her geçen gün klasik tedavi metotlarına yenileri eklenmektedir (3,6,14,15,16). Bizde klasik tedavi metotlarından biri olan antibiyoterapiye ek olarak, son yıllarda sepsiste nötrofil fonksiyonlarının öneminin daha iyi anlaşılmasından yola çıkarak nötrofil sayısını ve fonksiyonlarını geliştirebildiği ileri sürülen G-CSF'yi sepsis tedavisinde kullandık. G-CSF'ün sepsiste kan parametreleri, enfeksiyon kaynağındaki bakteri sayısı, subjektifte olsa bazı klinik bulgular ve sağkalım üzerine etkilerini inceledik.

Sepsis ve multiorgan yetmezliğinin patofizyolojisinde rol alan PMNL'in inflamatuvar reaksiyonlarda ve konakçı yanıtında kompleks bir rol üstlenmektedir. Enfeksiyonlar karşısında aktif hale geçen nötrofiller antibakteriyel savunma mekanizmalarında merkezi ve kritik bir rol oynamaktadır (5,7,8,17). İnterlökinler, lenfokinler, G-CSF, GM-CSF gibi çeşitli sitokinlerin monosit/makrofaj üretimini artırıp fonksiyonlarını geliştirerek, potansiyel olarak enfektif komplikasyonları azalttıkları ve özellikle immün direnci düşük ve nötrofil fonksiyonları bozulmuş konakçılarda hem enfeksiyonun önlenmesinde ve hem de tedavide kullanılabilecekleri ileri sürülmüş-

tür (18,19,20,21). Hem normal hem de defektif PMNL'lerin G-CSF tedavisiyle hem sayılarının ve hem de fonksiyonlarının iyileştiği ve böylece G-CSF'ün enfeksiyonlara karşı etkili olduğu ileri sürülmüştür (10,22,23).

Kontrol grubunda subjektif te olsa sepsise ait daha fazla klinik bulgunun görülmesi ve hipotermi oluşması klinik açıdan sepsisin oluşturulduğunu gösterdi. Sepsis grubu ile karşılaştırıldığında, tek başına G-CSF, tek başına imipenem ve G-CSF ile kombine imipenem alan gruplarda lökositoz ve nötrofil artışı saptandı. Hastanemizde daha önce yapılan bir çalışmada da gösterildiği gibi deneysel modellerde, G-CSF tedavisinin nötrofillerin sayı ve fonksiyonlarını normalleştirdiği ve morfolojik olarak olgun nötrofillerin enfeksiyon bölgesine göçlerinin hızlandığı ve bakteri sayılarının azaldığı tesbit edilmiştir (11,24,25,26,27,28,29,30). Gerçektende peritoneal lavaj sıvısındaki nötrofil sayısına bakıldığında G-CSF uygulanan guruplarda nötrofil sayılarının literatürle uyumlu bir şekilde arttığını gözledik (1,22,25,31). Bu bilgilerin ışığında G-CSF'ün kemik iliğindeki lökosit progenitorlerini uyardığını, periferik kana salınımını kolaylaştırdığını ve fonksiyonlarını geliştirdiği düşünülebilir.

Sepsis sırasında lökopeni gelişebileceği için, G-CSF'ün de çeşitli nedenlerle bozulmuş lökosit fonksiyonlarını düzelttiği, kanda ve enfeksiyon alanında lökosit sayısını artırabildiği için, enfeksiyon alanına nötrofil akımını artırıp özellikle enfeksiyon alanındaki bakteri sayısını azaltarak etkili olduğu ve sonuçta sağkalımda anlamlı bir iyileşme sağladığı ileri sürülmüştür (31,32,33,34). Sham grubunda iki ratta üreme olurken bu üreme oranı minimal idi ve istatistik olarak anlamsızdı. Bundan dolayı kontaminasyon olarak kabul edildi. Bizim sonuçlarımızda peritoneal eksuda kültürlerinde sepsis grubuna göre tüm tedavi gruplarında bakteri koloni sayılarında azalma izledik. Bu da enfeksiyon bölgesinde nötrofil sayısının artırılmasının enfeksiyon ajanlarına karşı koruyucu olabileceği fikrini desteklemektedir (11,22,24,31). Ancak tekbaşına antibiyotik tedavisi ile bakteri koloni sayısı azaltılabildiği halde G-CSF ile kombine antibiyotik kullanılan grupta diğer gruplarla fark bulunmamış olması bu konuda aditif etkinin olmadığını düşündürülebilir. Gerçekten bu verilerin sonucunda G-CSF uygulamasının septik tablo oluşturduğumuz ratlarda sağkalımı nasıl artırılabilirdiği açıklanabilir. Bunlara ilaveten bizim bakamadığımız bir grup parametrenin G-CSF ile düzeltilebildiği

iddia edilebilir. Zira G-CSF'ün savunma mekanizmalarını güçlendirdiği, sitokin (TNF) düzeylerini ve kandaki mikroorganizma sayısını azalttığı ve kardiyopulmoner fonksiyonları iyileştirerek sağkalımı uzattığı ileri sürülmüştür (31). Histopatolojik incelemesi yapılan G-CSF'ün denendiği sepsis çalışmalarında, olduğu gibi bizim çekum ve ince barsak kesitlerimizde PMNL'in enfeksiyon bölgesinde toplandığı ve daha önceki çalışmalarda organ incelemelerinde sadece akciğer spesmenlerinde farklılık olduğu ve G-CSF alan gruplarda destrüksiyonun daha az görüldüğü bildirilmiştir ve diğer organ incelemelerinde belirgin bir fark bulunamamıştır (1,24).

Bizim tedavi gruplarımızın sağkalım sonuçları, literatür incelendiğinde sepsiste tek başına G-CSF tedavisinin sağkalımı olumlu yönde etkilediğini ve antibiyotiklerle kombine kullanımının tek tek kullanımlarına göre additif etki yaratarak sağkalımı daha iyi yönde geliştirdiğini bildiren çalışmalarla uyumluuydu (1,11,24,29,30,33).

Sonuç olarak, cerrahi klinikleri ve yoğun bakım ünitelerinin en önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam eden sepsiste, G-CSF kullanımının antibiyotiklerle kombine edildiğinde tek başına kullanımına göre daha anlamlı ve etkili olarak periferik kanda ve enfeksiyon odağında nötrofil sayısını artırması ve mikroorganizma sayısını azaltması suretiyle sağkalımı artırabildiğini düşünmekteyiz. Bu ajanın sepsis tedavisinde uygun vakalarda ilave tedavi olarak kullanılabileceği, ancak etki mekanizmalarının tam manası ile açıklığa kavuşturulabilmesi için daha detaylı çalışmalara gerek olduğu kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Toda H, Murata A, Matsuura N, Uda K, Oka Y, Tanaka N, Mori T. Therapeutic Efficacy of Granulocyte Colony-Stimulating Factor Against Rat Cecal Ligation and Puncture Model. *Stem Cells*, 1993, 11: 228-234.
2. Roilides E, Pizzo PA. Modulation of host defenses by cytokines: Evolving adjuncts in prevention and treatment of serious infection in immunocompromised hosts. *Clin Infect Dis.*, 1992, 15: 508-524.
3. Christman JW. Potential treatment of sepsis syndrome with cytokine specific agents. *Chest* 1992; 102: 613-617.
4. Baumgartner JD, Heumann D. Cytokines et sepsis graves. *Rev Prat.* 1993; 43: 559-563.
5. Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J.

- Septic shock: Pathogenesis. *Lancet* 1991; 338: 732-738.
6. Spapen HD, Diltoer M, Huyghens LP. Passive immunotherapy of gram-negative bacteremia, sepsis and septic shock. *Crit Care* 1993; 48: 20-29.
  7. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991; 115: 457-469.
  8. Hewett JA, Schultze AE, Vancise S, Roth RA. Neutrophil depletion protects Against liver injury from bacterial endotoxin. *Lab. Invest* 1992; 66 (3): 347-361.
  9. Brown MF, Ross AJ, Dasher J, Turley DL, Ziegler MM, O'Neill JA Jr. The role of leukocytes in mediating mucosal injury of intestinal ischemia-reperfusion. *J Ped Surgery* 1990; 25 (2): 214-217.
  10. Roilides E, Walsh TJ, Pizzo PA, Rubin M. Granulocyte Colony-stimulating factor enhances the phagocytic and bactericidal activity of normal and defective human neutrophils. *J Infect Dis* 1991; 163: 579-583.
  11. Matsumoto M, Matsubara S, Matsuno T, Tamura M, Hattori K, Nomura H, Ono M, Yokota T. Protective effect of human granulocyte colony-stimulating factor on microbial infection in neutropenic mice. *Infect immun* 1987; 55: 2715-2720.
  12. Weisbart RH, Gasson JC, Golde DW. Colony-Stimulating factor and host defense. *Ann Intern Med* 1989; 110: 297-303.
  13. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic dhock: A review of laboratory models of a proposal. *J Surg Res* 1980; 29: 189-201.
  14. Charles LS, Definitions of sepsis. Have we reached a consensus? *Crit Care Med* 1991; 19: 849-851.
  15. Dunn DL. Immunotherapeutic advances in the threatment of Gram-Negative Bacterial sepsis. *World J Surg* 1987; 11: 233-240.
  16. Bone RC. Gram - Negative Sepsis: Background, Clinical Features and Intervention. *Chest* 1991; 100: 802-808.
  17. MacLean LD, Meakins JL, Taguchi K, Duignan JP, Dhillon KS, Gordon J. Host resistance in sepsis and trauma. *Ann Surg* 1975; 182: 207-216.
  18. Gillan ER, Christensen RD, Suen Y, Ellis R, Ven CV, Cairo MS. A randomized, placebo-controlled trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration in newborn infants with presumed sepsis: Significant induction of peripheral and bone marrow neutrophilia. *Blood* 1994; 84 (5): 1427-1433.
  19. Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, Kris M, Grous J, Picozzi V, Rausch G, Smith R, Gradishar W, Yahanda A, Vincent M, Stewart M, Glaspy J. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 1991; 325 (3): 164-170.
  20. Hammond IV WP, Price TH, Souza LM, Dale DC. Treatment of cyclic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *N. Engl. J. Med* 1989; 320: 1306-1311.



21. Grimsley EW. Granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of alcohol abuse, leukopenia, and pneumococcal sepsis. *South-Med. J* 1995; 88 (2): 220-221.
22. Cohen AM, Hines DK, Korach ES, Ratzkin BJ. In vivo activation of neutrophil function in hamsters by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Infect. Immunol* 1988; 56: 2861-2865.
23. Jakubowski AA, Souza L, Kelly F, Fain K, Budman D, Clarkson B, Bonilla MA, Moore MAS, Cabrilove J. Effects of human granulocyte colony stimulating factor in a patient with idiopathic neutropenia. *N Engl J Med* 1989; 320: 38-42.
24. Yasuda H, Ajiki Y, Shimozato T, Kasahara M, Kawada H, Iwata M, Shimizu K, Therapeutic efficacy of granulocyte colony - stimulating factor alone and in combination with antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* infections in mice. *Infect Immun* 1990; 58 (8): 2502-2509.
25. Sartorelli KH, Silver CM, Gamelli RL. The effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) upon burn-induced defective neutrophil chemotaxis. *J Trauma* 1991; 31 (4): 523-530.
26. Lieschke GJ, Burgess AW, Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *N. Engl. J. Med* 1992; 327 (1): 28-35.
27. Hollingshead LM, Goa KL. Recombinant Granulocyte colony -stimulating factor (rG-CSF): A Review of its pharmacological properties and prospective role in neutropenic conditions. *Drugs*; 1991; 42 (2): 300-330 .
28. Demetri GD, Griffin JD. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *J Am Soc. Hem* 1991; 78: 2791-2808.
29. Cantürk Z, Önen F, Cantürk Z, Şencan M, Dökmetaş S, Topçu S, Gültekin F: Diabetes mellitusta nötrofil fonksiyon bozukluklarının düzeltilmesinde rekombinant granülosit koloni-stimüle edici faktörün etkisi. *İlaç ve Tedavi Dergisi* 1997; 10 (4): 237-243.
30. Ayanoglu HÖ, Cantürk Z, Koca U, Moral AR: Deneysel sepsiste granülosit koloni-stimulan faktör uygulamasının mortaliteye etkisi. *Türk Anest Rean Cem Mecmuası* 1996; 24:436-439.
31. Eichacker PQ, Waisman Y, Natanson C, Fareser A, Hoffman WH, Banks SM, MacVittie TJ. Cardiopulmonary effects of granulocyte colony- stimulating factor in a canine model of bacterial sepsis. *J. Appl. Physiol* 1994; 77 (5): 2366-2373.
32. Lang CH, Molina PE, Abumrad NN. Granulocyte colony - stimulating factor prevents ethanol - induced impairment in host defens in septic rats. *Alcohol - Clin - Exp - Res.* 1993; 17 (6): 1268-74.
33. O'Reilly M, Silver GM, Greenhalgh DC, Gamelli RL, Davis JH, Hebert JC. Treatment of intra-abdominal infection with granulocyte colony-stimulating factor. *J. Trauma* 1992; 33 (5): 679-82.
34. Iguchi K, Inoue S, Kumar A. Effect of Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration in normal and experimentally infected newborn rats. *Exp. Hematol* 1991; 9: 352-358.

**YAZIŞMA ADRESİ:**

Op.Dr. Mehmet CAN  
Aydoğan M Hayri Sığırcı Cd.  
Anadolu 5 Başer Ap.D:4  
SIVAS