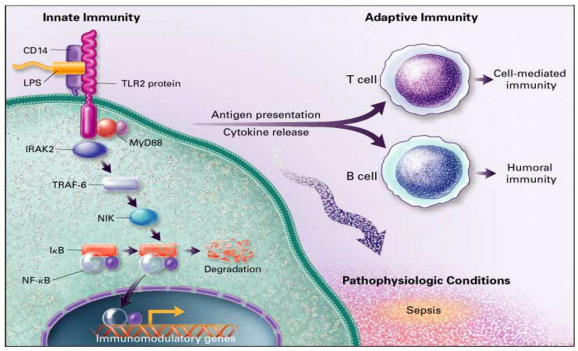
Sepsis Biyolojisi ve Farmakolojisi

Prof. Dr. Alper B. İskit
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

e-posta: alperi@hacettepe.edu.tr

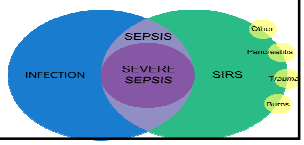
06 Mart 2015-İstanbul

Patofizyoloji



Sepsis...

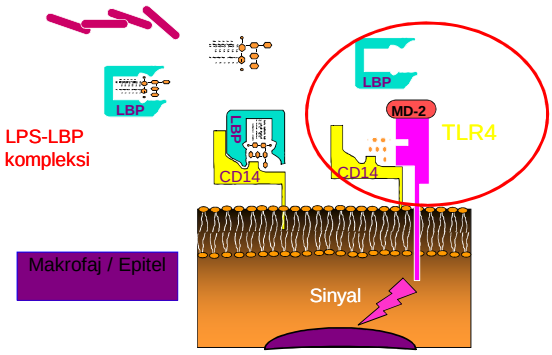
- Ağır Sepsis
- Dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir...
  - Koroner Bakım Üniteleri dışındaki Yoğun Bakım Ünitelerinde en önde gelen ölüm nedeni
  - Tüm ölüm nedenleri arasında 11. sıradadır
- > 750,000 / yıl; > 500 / gün ağır sepsis olgusu ölmektedir
- Ölüm oranı: %28-50 (%30-90)
- Kompleks bir sendrom



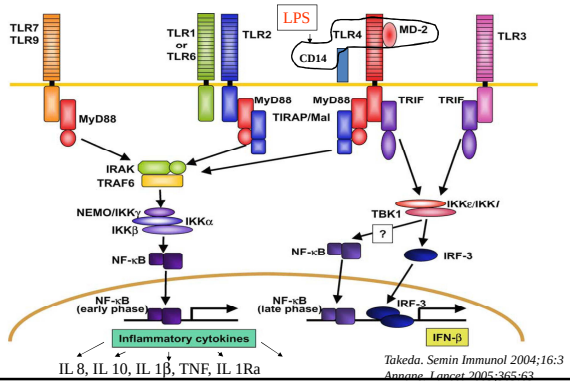
"Toll Like Receptors" (TLRs)

- İmmun sistemde TLRs aracılığıyla hücreler mikroorganizmaları tanırlar ve doğal immun yanıtı başlatırlar.
- Sepsiste vital organlarda TLR2 ve TLR4 ekspresyonları değişmektedir.

LPS ve Gram-negatif Bakteriye Konak Yanıtı



TLR Sinyalizasyonu



Takeda. Semin Immunol 2004;16:3
Annane. Lancet 2005;365:63

Nükleer Faktör kappa-B

- İnflamatuar medyatörlerin gen ekspresyonunda gerekli olan redoks duyarlı bir transkripsiyon faktörüdür.
- Sepsiste nötrofiller, endotel, alveol epitelinde NF-kB aktivasyonu ve mortaliteyle ilişkisi gösterilmiştir.

1. Sepsiste İmmunoloji

SIRS, CARS

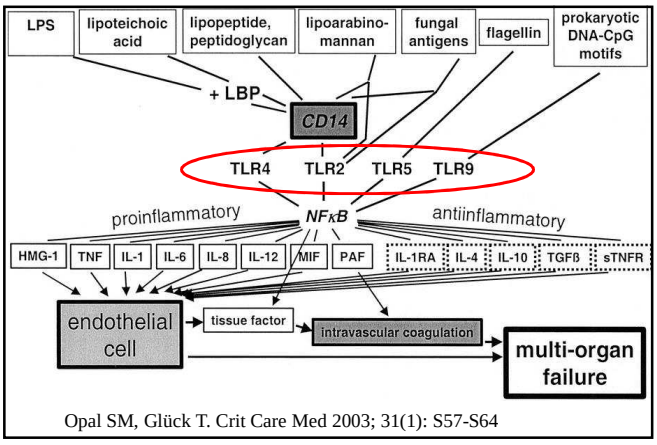
Systemic inflammatory response syndrome (SIRS)

Compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS)

- CARS 1990 (Bone RC)

SIRS

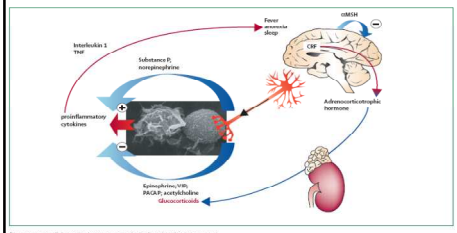
- İnflamasyonla birlikte doğal ve kazanılmış immunite
- Doğal immunite infeksiyon ve doku hasarlanmasına karşı hazır-çabuk yanıttır
- Mikroorganizmanın patojenitesinin, büyümesinin, invazyonunun azaltılması, bakteriyel infeksiyonun eliminasyonunu



Opal SM, Glück T. Crit Care Med 2003; 31(1): S57-S64

Doğal İmmunitede Rol Alan Hücreler

Dendritik hücreleri (DC)
Nötrofil
Monosit
"Natural killer"lar (NK)
Makrofajlar



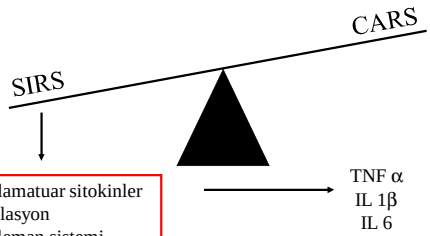
Annane. Lancet 2005;365:63

Sepsis biyolojisi (ve patofizyolojisi)

Organizmanın verdiği abartılı yanıt ve immunsupresyon

1. Sepsiste immunoloji
2. Sitokin fırtınası
3. İnflamasyon-koagülasyon ilişkisi (endotel)
4. Apoptozis (organ ve immun yetmezlik)
5. Mitokondrial fonksiyon bozuklukları

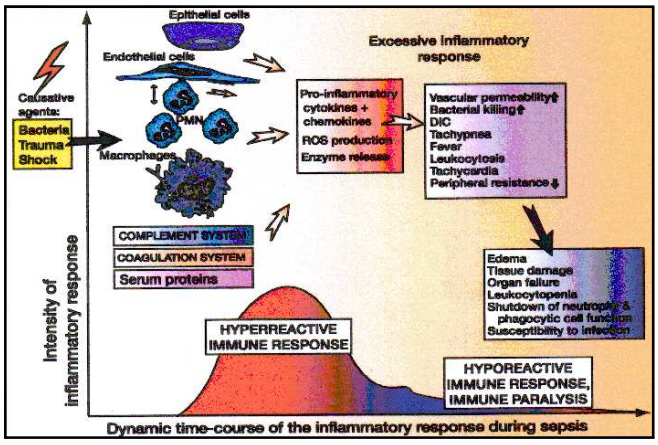
Erken Olaylar



Proinflamatuar sitokinler
Koagülasyon
Kompleman sistemi…
"hücre hasarının endojen sinyalleri", (I/R)

TNF α
IL 1β
IL 6

SIRS: Sistemik inflamatuar yanıt sendromu
CARS: Kompansatuar antiinflamatuar yanıt sendromu



Immunosuppression in Patients Who Die of Sepsis and Multiple Organ Failure

Jonathan S. Boomer, PhD
Kathleen To, MD
Kathy C. Chang, PhD
Osamu Takasu, MD
Dale F. Osborne, BS
Andrew H. Walton, MS
Traci L. Bricker, BS
Stephen D. Jarman II, BSN, RN
Daniel Kreisel, MD, PhD
Alexander S. Krupnick, MD
Anil Srivastava, MD
Paul E. Swanson, MD
Jonathan M. Green, MD
Richard S. Hotchkiss, MD

Context Severe sepsis is typically characterized by initial cytokine-mediated hyperinflammation. Whether this hyperinflammatory phase is followed by immunosuppression is controversial. Animal studies suggest that multiple immune defects occur in sepsis, but data from humans remain conflicting.

Objectives To determine the association of sepsis with changes in host innate and adaptive immunity and to examine potential mechanisms for putative immunosuppression.

Design, Setting, and Participants Rapid postmortem spleen and lung tissue harvest was performed at the bedsides of 40 patients who died in intensive care units (ICUs) of academic medical centers with active severe sepsis to characterize their immune status at the time of death (2009-2011). Control spleens (n=29) were obtained from patients who were declared brain-dead or had emergent splenectomy due to trauma; control lungs (n=20) were obtained from transplant donors or from lung cancer resections.

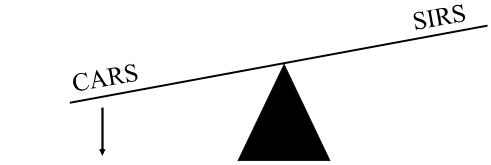
Main Outcome Measures Cytokine secretion assays and immunophenotyping of cell surface receptor-ligand expression profiles were performed to identify potential mechanisms of immune dysfunction. Immunohistochemical staining was performed to evaluate the loss of immune effector cells.

Results The mean ages of patients with sepsis and controls were 71.7 (SD, 15.9) and 52.7 (SD, 15.0) years, respectively. The median number of ICU days for patients with

Organizmanın verdiği abartılı yanıt ve immunsupresyon

JAMA. 2011;306(23):2594-260

Geç Olaylar



Antiinflamatuar sitokinler
Apoptoz
Anerji
İmmünosüpresyon
Sekonder infeksiyonlar
Hibernasyon
...

Bulgular

- **İmmünsüpresyon**
  - **Anti-CD3/Anti-CD28 stimüle edilmiş splenositlerde sitokin sekresyonunda azalma: TNF, IFN-γ, IL-6, IL-10**
  - **LPS stimülasyonu ile de sonuç benzer**
- **Sitokin sekresyonunda %10 azalma**
- **İnhibitör reseptör, ligand ve süpresör hücrelerde azalma**
- **CD4, CD8, HLA-DR hücrelerinde azalma**

Hedefe yönelik immün-stimülan tedavi !

Proinflamatuar

İnflamasyonun tetiklenmesi
- Lökosit adezyonu
- Araşidonik asit metabolitlerinin aktivasyonu
- Kompleman aktivasyonu
- Nötrofil kemotaksisi

Koagülasyonun tetiklenmesi
- Doku faktörünün artışı
- Membran koagülanlarının artışı

Anti-koagülan aktivitenin inhibisyonu
- Trombomodulin azalması
- P-antitripsin artışı

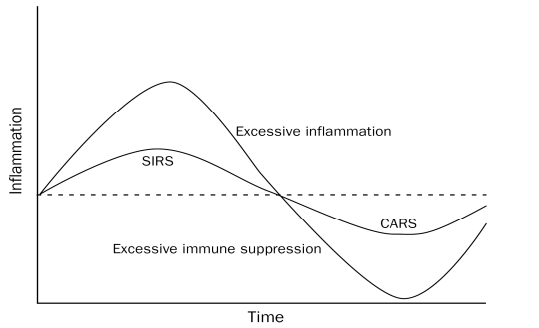
Fibrinolizisin inhibisyonu
- PAI-1 artışı

Anti-inflamatuar

İnflamasyonun inhibisyonu
- TNF inhibisyonu
- Akut faz reaktanlarının güçlendirilmesi
- İmmunglobulinlerin arttırılması
- T lenfosit fonksiyonlarının baskılanması
- Makrofaj fonksiyonlarının baskılanması

Koagülasyonun inhibisyonu
- Sitokinler tarafından koagülasyonun aktivasyonunun baskılanması

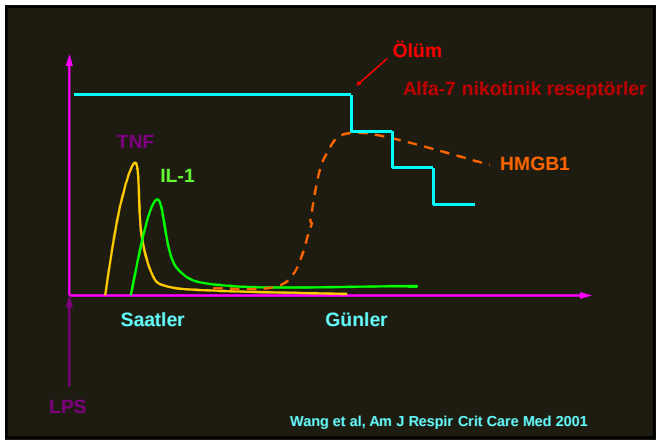
Kompansatuar Olaylar

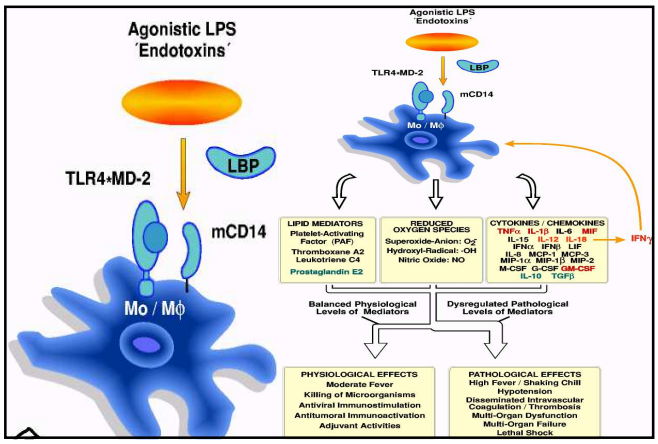


Cobb. Lancet 2004;363:2076

2. Sitokin Fırtınası

- Çok küçük konsantrasyonlarda kuvvetli etkiler
- Sepsiste doğal immun yanıtın kontrolsüz bir şekilde aktivasyonu
- Makrofaj, endotel ve epitel hücreleri
- Sitokin kaskatı aktive olur (TNF-α, IL-1, IL-12, IL-18, IFN-γ, IL-6 ve IL-8)





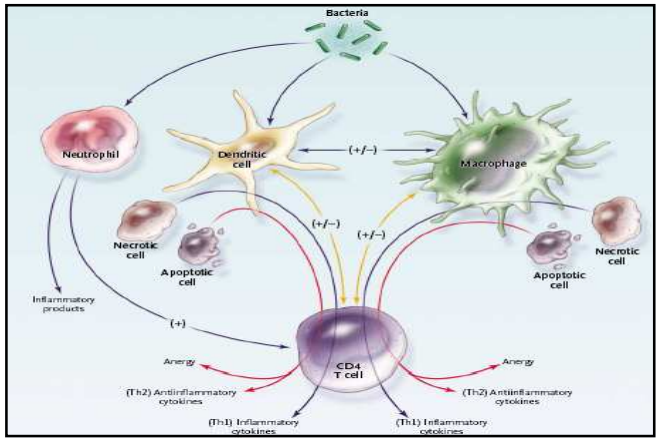
Çok amaçlı tedavi yaklaşımı: Steroidler

- Lokosit ekstravazasyon (adezyon molekül) inhibisyonu
- Lenfosit hareketlerinin blokajı
- Makrofaj ve antijen özelliğindeki hücrelerin inhibisyonu
- Makrofaj fagositozunun inhibisyonu
- TNF-alfa ve interlökin-1 inhibisyonu
- Siklooksijenaz-2 inhibisyonu, PG sentez inhibisyonu
- Antikor inhibisyonu
- iNOS inhibisyonu

Katzung et al. **Basic and Clinical Pharmacology 11th ed. Ch 39** 2009

"High mobility group box 1 (HMGB-1)"

- LPS infüzyonundan 12-18 saat sonra ölçülebildiği ve uzun süre yüksek düzeylerde kalan geç dönem mediatörü
- Anti-HMGB1 antikorları koruyucu
- Santral **alfa-7 nikotinik reseptörler** ile bağlantılı



Sitokinler, inflamatuar hücreler ve cevap azalır…

"In the 80s, we loved the steroids"

Yüksek doz steroid (30mg/kg metilprednizolon)

1987, 14 günlük takipte mortalitede artış (Bone RC ve diğ., 1987)

1990'ların sonunda "**Small, "stress" doses of steroids"**
Vazopressör ihtiyacını azaltmak

2004, Yüksek dozdan kaçınma (Dellinger ve diğ., 2004)
2008, Hayatta kalımı etkilemez (Sprung ve diğ., 2008)



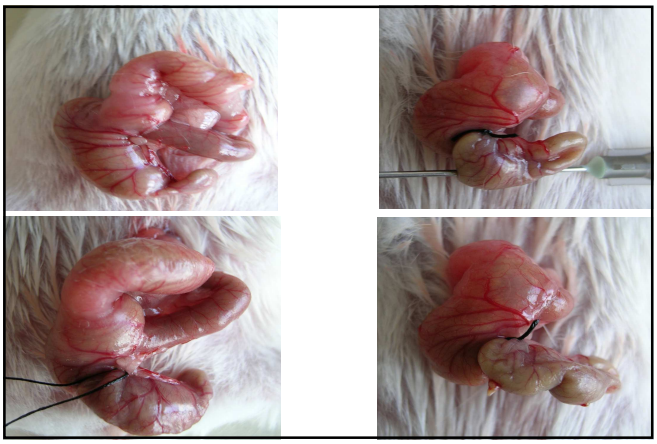
JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH 188 (2014) 496–502

Dexamethasone effects on vascular flow and organ injury in septic mice

Huseyin Ozgur Aytac, MD,[a,] Alper B. Iskit, MD,[b] and Iskender Sayek, MD[c]*
[a]Department of General Surgery, Baskent University Faculty of Medicine, Adana Teaching and Research Hospital, Adana, Turkey
[b]Department of Pharmacology, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey
[c]Department of General Surgery, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey

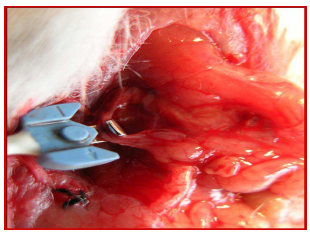
1. Mezenterik kan akımı
2. Vazopressörlere cevap (Fenilefrin)
3. Oksidatif hasar
4. Sağkalım

Düşük doz steroid tedavisi









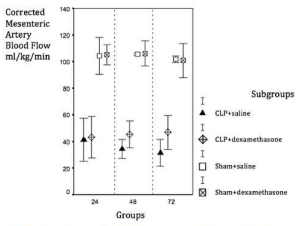


Fig. 1 – Effect of steroid treatment on mesenteric blood flow is demonstrated by comparing corrected mesenteric blood flow of four different subgroups (CLP + saline, CLP + dexamethasone, sham + saline, and sham + dexamethasone) of 24-, 48- and 72-h groups. Vertical bars indicate the standard deviation of the arithmetic mean of the number of data points for that column. $n = 12$ for each data point, $P < 0.05$ at 48 and 72 h (CLP + saline versus CLP + dexamethasone).

Table 2 – Liver MDA levels according to the different groups.

Groups	CLP + saline (nmol/g)	CLP + dexamethasone (nmol/g)	Sham + saline (nmol/g)	Sham + dexamethasone (nmol/g)
24 h	202 ± 16*	157 ± 13	147 ± 3	160 ± 4
48 h	159 ± 9	153 ± 5	134 ± 10	163 ± 14
72 h	217 ± 15†	182 ± 7†	150 ± 5	151 ± 19

*$P < 0.01$ versus sham + saline.
†$P < 0.05$ versus sham + saline.

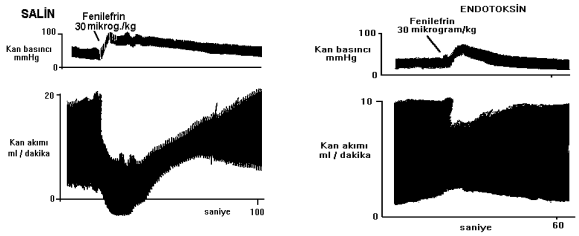
Table 3 – Lung MDA levels according to the different groups.

Groups	CLP + saline (nmol/g)	CLP + dexamethasone (nmol/g)	Sham + saline (nmol/g)	Sham + dexamethasone (nmol/g)
24 h	112 ± 10	98 ± 5	94 ± 3	100 ± 3
48 h	100 ± 8	89 ± 4	91 ± 6	99 ± 4
72 h	87 ± 4	85 ± 5	91 ± 6	87 ± 0

Table 4 – Peritoneum MDA levels according to the different groups.

Groups	CLP + saline (nmol/g)	CLP + dexamethasone (nmol/g)	Sham + saline (nmol/g)	Sham + dexamethasone (nmol/g)
24 h	105 ± 7*	92 ± 5	77 ± 7	79 ± 1
48 h	95 ± 10*	77 ± 7†	76 ± 2	78 ± 4
72 h	102 ± 6*	78 ± 5†	75 ± 2	75 ± 8

*$P < 0.05$ versus sham + saline.
†$P < 0.05$ versus CLP + saline.



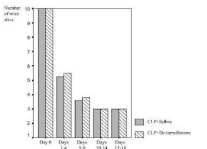
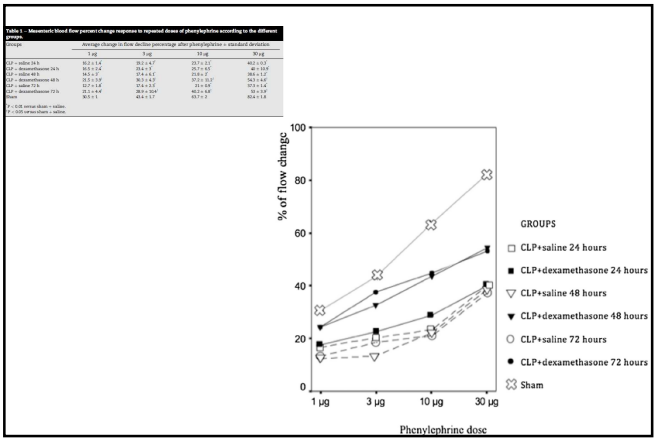


Fig. 3 – CLP + saline and CLP + dexamethasone groups each consisting of 10 mice challenged with CLP were observed for 18 d to determine the survival.



3. İnflamasyon-koagülasyon ilişkisi (endotel)

ANTİ-İNFLAMATUAR SİTOKİNLER FİBRİNOLİZİS

PRO-İNFLAMATUAR SİTOKİNLER KOAGÜLASYON

Prognoz Belirleyicileri

- ↑ PAI-I
- ↓ AT III
- ↓ APC

} MORTALİTE ↑

Trombin aktivasyonu, koagülasyona yatkınlık

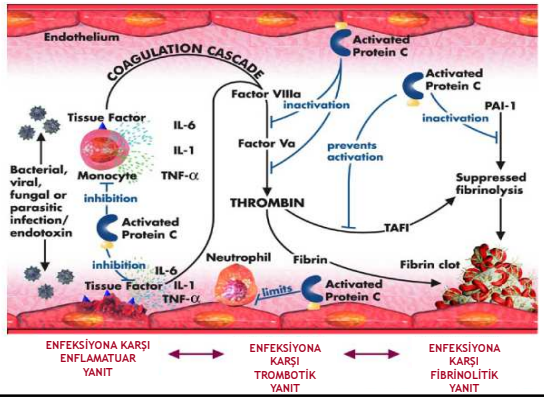
PROWESS

Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis

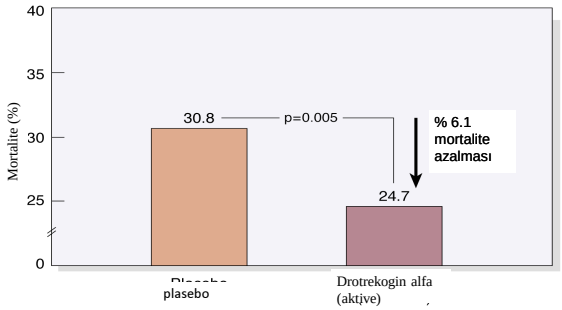
Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis

Ağır Sepsiste Rekombinant İnsan Aktive Protein C'nin Dünya Çapında Değerlendirilmesi Çalışması

Aktive Protein C'nin sepsisteki çoklu etki mekanizması



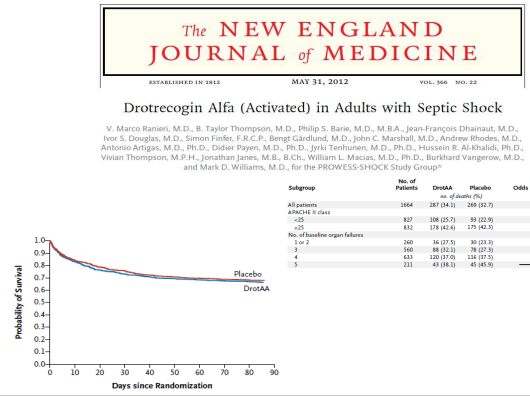
PROWESS - Sonuçlar



Farmakodinamik etkiler

Aktive Protein C, çoklu etki mekanizmasıyla sepsisin inflamatuar ve uygunsuz koagülasyondan oluşan kaskadını kırar.

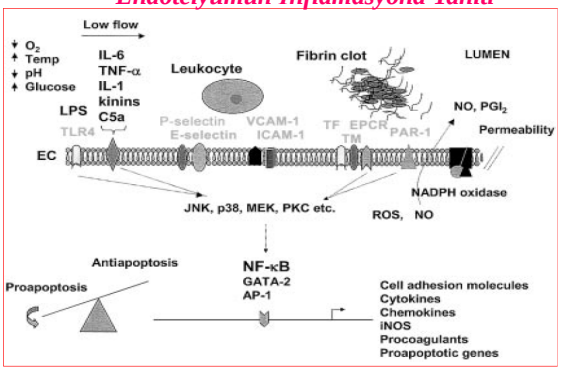
- **Antikoagülan veya antitrombotik**
  - -Faktör Va ve VIIIa'yı inhibe eden endojen bir antikoagülandır.
- **Profibrinolitik**
  - -PAI-1'i inhibe eder,
  - -Endotelden tPA salınımını uyarır,
  - -TAFI aktivasyonunu engeller.
- **Antienflamatuar**
  - - Sitokin üretimini azaltır(IL-6 seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir).
  - - Selektinlerin aracılık ettiği adezyonu azaltarak vasküler enflamasyonu ve endotel hasarını azaltır



Aktive Protein C Serüveni

- 2004 • Ağır sepsiste Ölüm riski yüksek, APACHE 2 > 25, çoklu organ yetmezliği olan hastalarda kullanılabilir (B)
- 2008 • (2B); cerrahi geçirmiş hastada (2C)
- 2012 • Pazardan çekildi; öneriye gerek yok

Endotelyumun İnflamasyona Yanıtı



Aird. Blood 2003;101:3765-3777

3. İnflamasyon-koagülasyon ilişkisi (endotel)

Endotel Hücre Disfonksiyonu

- Vasküler relaksasyon bozulur
- Antiadhesiv özellikler kaybolur
- Koagülasyon bozulur

Endotel Disfonksiyonu & Mikrovasküler Tromboz

↓

Hipoperfüzyon & İskemi

↓

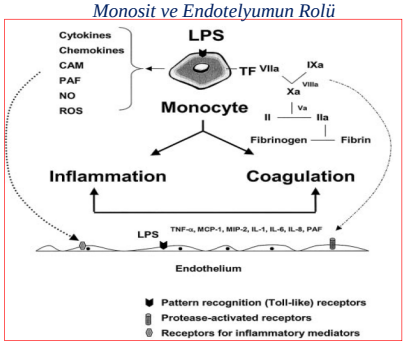
Akut Organ Disfonksiyonu (Ağır Sepsis)

↓

Ölüm

3. İnflamasyon-koagülasyon ilişkisi (endotel)

Monosit ve Endotelyumun Rolü

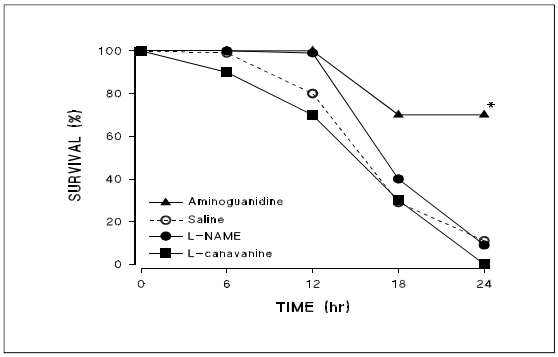


Aird, *Blood* 101: 3765-3777, 2003

Septik Şokun Dönemsel Analizi

"Erken"	"Geç"
Hiperdinami	Hipodinami
Düşük	Yüksek
Periferik Vasküler Direnç	Periferik Vasküler Direnç
Nitrik Oksit	Endotelin

Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonu



Sonuç...

Nitrik oksit blokajı tek başına etkisiz (-)

Uygun zamanlama ile kombine tedavi etkili

ELSEVIER European Journal of Pharmacology 414 (2001) 281–287

www.elsevier.nl/locate/ejphar

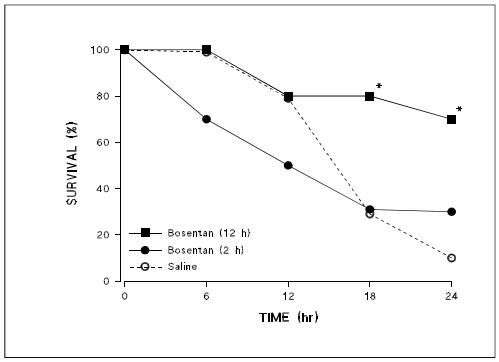
The timing of endothelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock

Alper B. Iskit, M. Oguz Guc *

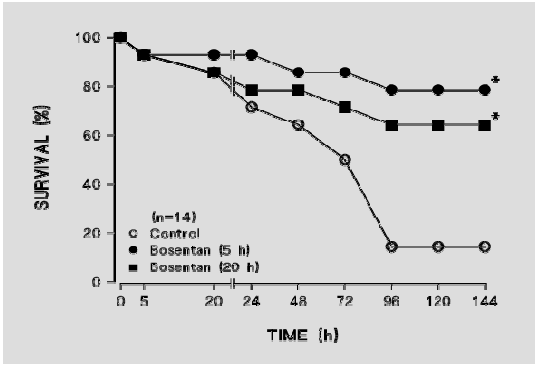
Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara 06100, Turkey

Received 14 November 2000; received in revised form 25 January 2001; accepted 30 January 2001

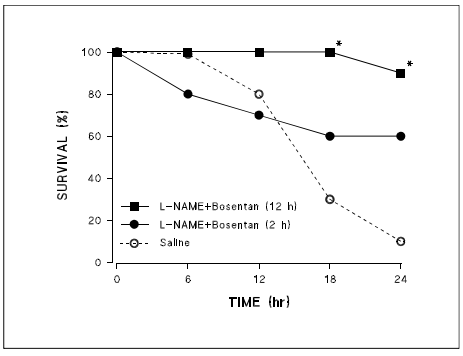
Endotelin Reseptör Blokajı



CLP

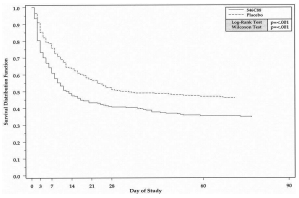


Kombinasyon Tedavisi



Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: Effect on survival in patients with septic shock*

Angel López; Jose Angel Lorente; Jay Steingrub; Jan Bakker; Angela McLuckie; Sheila Williatts; Michael Brockway; Antonio Anzueto; Laurent Holzapfel; Desmond Breen; Michael S. Silverman; Jukka Takala; Jill Donaldson; Carl Arneson; Geraldine Grove; Steven Grossman; Robert Grover



Crit Care Med 2004 Vol. 32, No. 1

The safety and efficacy of 546C88 (N^G-methyl-L-arginine hydrochloride), a NOS

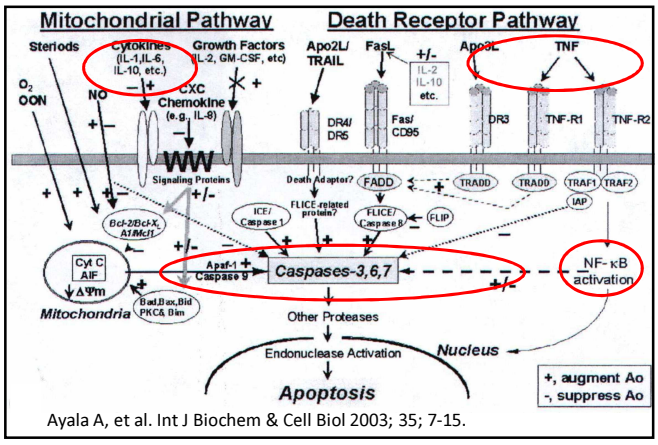
4. Apoptozis

- Programlanmış hücre ölümü (1972)
- Doğal ve patolojik faktörler
- Nekrozdan farklı
- Doku "turnover"ı (fizyolojik)
- Apoptozis sepsiste artmaktadır (patolojik)

Olumsuz Sonuçlanan >100 Faz III Çalışma

- Corticosteroids
- Agents targeting LPS or TLR-4
- Agents targeting TNF
- Agents targeting IL-1
- Agents targeting PAF
- Agents targeting coagulation cascade
- Agents up-regulating immune function
- Others
  - NOS inhibitors
  - Ibuprofen
  - Pentoxifylline
  - NAC
- …

Çalışmalar devam ediyor…..



Ayala A, et al. Int J Biochem & Cell Biol 2003; 35; 7-15.

5. Mitokondrial fonksiyon bozuklukları

1. Nitrik oksit ve peroksinitrit hasarı
2. PARS harabiyeti
3. Apoptozis