

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



PROJE BAŞLIĞI

HMGB1 ile Sepsis ve Ağır Sepsis Arasındaki Korelasyon

Proje No: TSA-11-3559

Proje Türü

Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Prof. Dr. Murat SUNGUR Tıp Fakültesi/İç Hastalıkları AD

**Araştırmacının Adı Soyadı
Birimi/Bölümü**

Arş. Gör. Dr. Gülseren ALTUNYURT Tıp Fakültesi/İç Hastalıkları AD

Mayıs 2014

KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

ÖZET

ABSTRACT

GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

GENEL BİLGİLER

GEREÇ VE YÖNTEM

BULGULAR

TARTIŞMA VE SONUÇ

KAYNAKLAR

EKLER

Sayfa No

ÖZET

Sepsis bir enfeksiyon sonucunda tüm vücutta olan yaygın bir yangı reaksiyonu ve bu reaksiyonun tüm hayati organları etkilemesidir. İleri sepsisteki kardiovasküler depresyon ve organ disfonksiyonunda sitokin adı verilen protein yapısında maddeler rol alır. Sitokinlerin bir kısmı sepsisin ilk saatlerinde salınırken HMGB1 adı verilen sitokin daha geç safhada salınır. Yapılan çalışmalarda HMGB1'in vücut savunmasında görevli makrofaj adı verilen hücreler aktive olduktan 20 saat sonra salınmaya başladığı ve 72. saatte plato düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir. Bu araştırmada HMGB1 adı verilen geç dönem sitokini ile ileri sepsis arasındaki korelasyon araştırılacaktır.

Anahtar kelimeler:Sitokin, sepsis, ağır sepsis,

ABSTRACT

Sepsis is a condition with high mortality, caused by infection or injury of body. Cardiovascular depression and organ dysfunction which seen in severe sepsis caused proteins named as cytokines .Some of those cytokines are released at first hours but for HMGB1 20 hours after macrophage activation is the time for release and in 72 hour plato level is reached .In this study relationship between HMGB1 and severe sepsis is examined.

Key words: Cytokines, sepsis, severe sepsis

GİRİŞ

Sepsis vücuttaki enfeksiyon veya hasar sonucu gelişen mortalitesi yüksek bir durumdur. 1995'te ABD'de 750.000 kişi bu nedenle kaybedilmiştir. TNF-a, IL-1, IL-6, HMGB-1 gibi sitokinlerin sepsis ve septik şokta kardiyovasküler bozukluklar ve organ disfonksiyonlarında önemli rol aldıkları gösterilmiştir. Septik şok hastalarında HMGB-1 düzeyi, sofa skoru, laktat ve prokalsitonin konsantrasyonları arasında pozitif bağlantı saptanmıştır. Önceleri HMGB-1 inhibitörlerinin nekrotik hücre ölümünü engelledikleri ileri sürülürken, son dönemde apaptosisi de önledikleri gösterilmiştir. Erciyes Üniversitesi Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatmakta olan ağır sepsis kriterlerine sahip erken hedefe yönelik tedavi uygulanan hastalarda hasta kabul edildikten sonra 20. ve 72. saatlerde HMGB1 mRNA düzeyi gönderilerek HMGB1 ile sepsis, ileri sepsis arasındaki korelasyonu ortaya konulmaya çalışılacaktır. Hastalarda erken hedefe yönelik tedavi pulmoner arter kateteri veya santral venöz kateter kullanılarak gerçekleştirilecektir.

GENEL BİLGİLER:

Sepsis vücuttaki enfeksiyon veya hasar sonucu gelişen mortalitesi yüksek bir

durumdur. 1995'te ABD'de 750.000 kişi bu nedenle kaybedilmiştir (1). Sepsisteki endotoksinin bu öldürücü etkisinde monosit , makrofaj, nötrofil ve diğer hücrelerden salınan proinflamatuvar sitokinler önemli rol oynar (2-3). Sepsiste doğal immun yanıtın kontrolsüz bir şekilde aktivasyonu ile makrofaj, endotel ve epitel hücrelerinin lipopolisakkarit(LPS) veya metillenmemiş DNA fragmanları gibi bakteriyel ürünlerin spesifik reseptörleriyle tanışmaları, sitokin kaskadının tetiklenmesiyle (TNF-a, IL-1, IL-12, IL-18, IFN-g, IL-6, IL-8, IL-10, MIF [“Macrophage Migration Inhibitory Factor”], HMGB-1 [“High Mobility Group Box-1”] saliverilmesi) sonuçlanmaktadır. TNF-a, IL-1, IL-6, HMGB-1 gibi sitokinlerin sepsis ve septik şokta kardiyovasküler bozukluklar ve organ disfonksiyonlarında önemli rol aldıkları gösterilmiştir (12-13).

Proinflamatuvar sitokinler doku hasarı, metabolik asidoz, hipotansiyon, multiorgan yetmezliği ve ölüm üzerinde etkilidir (2-3). Fareler üzerinde yapılan çalışmada lipopolisakkarid verildikten 1-2 saat sonra TNF alfa ve IL-1beta düzeyinin toksik düzeye ulaştığı görülmüştür (4-5). Bu nedenle yapılan birçok büyük çalışmada erken proinflamatuvar mediatörleri hedef alan tedavilerin başarısız olması şaşırtıcı değildir (5-6). TNF- α , IL-1, IL-6, HMGB1 gibi sitokinlerin sepsis ve septik şokta kardiyovasküler bozukluklar ve organ disfonksiyonlarında önemli rol aldıkları gösterilmiştir (7). HMGB1 sepsiste makrofajlar tarafından salınan geç mediatördür. makrofajlar aktive olduktan 20 saat sonra salınır ve 72 saat plato düzeyinde kaldığı için hastalık başlangıcından itibaren 20-72 saat içinde saptanabilir (8). Toplum kökenli pnömoni (TKP) nedeni ile hospitalize edilen 1895 hasta üzerinden 28 merkezde yapılan prospektif çalışmada HMGB1 düzeyi ölçülmüş çalışmada sağlıklı kontrol grubu olarak 38 kişi alınmış; 43 hastada sepsis, 49 hastada, şiddetli sepsis tanısı konmuş 30 hasta sepsis nedeni ile hayatını kaybetmiştir. Ağır sepsisteki hastalarda HMGB1 düzeyi sepsis tanısı alanlardan daha yüksektir(17). Serum HMGB1 düzeyi 8 sağlıklı ve 25 sepsis hastasında ölçülmüş serum HMGB1 düzeyinin normal kişilerde saptanamayacak düzeyde olduğu ancak sepsis hastalarında belirgin arttığı gösterilmiştir (9). Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda LPS induced akut akciğer hasarı olan hayvanlarda anti-

HMGB1 in akciğerde endotoksin induced nötrofil birikimini önlediği ve akciğer ödeminin şiddetini azalttığı gösterilmiştir (10).

Septik şok hastalarında HMGB-1 düzeyi, sofa skoru, laktat ve prokalsitonin konsantrasyonları arasında pozitif bağlantı saptanmıştır. Önceleri HMGB-1 inhibitörlerinin nekrotik hücre ölümünü engelledikleri ileri sürülürken, son dönemde apoptosisi de önledikleri gösterilmiştir (11). Erken sıvı resusitasyonu açısından konuya yaklaşıldığında da HMGB-1 inhibitörleri (etil pirüvat, nikotin vb.) farklı bir öneme sahiptir. HMGB-1 inhibitörü olan ringer etil pirüvat solüsyonunun LPS uygulanmasından 24 saat sonra verildiğinde bile ölümcül inflamasyondan koruduğu ve geri dönüşümsüz döneme girilmedikçe şok tedavisinde yararlı olduğu bulunmuştur (14,15,16). Bu bağlamda, sıvı resustasyonunda gecikme söz konusu ise, ringer etil pirüvat solüsyonunun tedavide yarar sağlayabileceği vurgulanabilir. Tüm bu çalışmalardan yola çıkarak Erciyes Üniversitesi Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatmakta olan sepsis kriterlerine sahip 29 hastada hasta kabul edildikten sonra 20. ve 72. saatlerde HMGB1 mRNA düzeyi gönderilerek HMGB1 ile sepsis, ileri sepsis arasındaki korelasyonu ortaya konulmaya çalışılacaktır.

Erken hedefe yönelik tedavi (EHYT) adı altında hipoperfüzyon gözetilerek uygulanan sıvı resusitasyon tedavisinin erken antibiyotik tedavisi ile beraber verilmesi durumunda, mortalitenin ciddi anlamda azaldığı ortaya konmuştur. Ancak EHYT'de kullanılan hemodinamik monitörizasyonda, yöntemlerden hangisinin daha etkin olduğu net bir şekilde ortaya konulamamıştır. Bu nedenle HMGB1 çalışılacak hastalar pulmoner arter kateteri veya santral kateter yönlendirmeli olarak yapılacak ve HMGB1 düzeylerinin bu iki grup arasında da farklılık olup olmadığına bakılacaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM:

Ağır Sepsis kriterine sahip 29 hastaya erken hedefe yönelik tedavi protokolü uygulandı.14 hastaya pulmoner arter katetetri yerleştirilirken 15 hastaya santral venöz kateter yerleştirildi. Her iki gruptaki hastalardan 20. ve 72. saatlerde EDTALİ tüpe periferik kan alındı. Periferik kandan RNA izolasyonu yapıldı. RNA'dan cRNA (komplementer RNA) elde edildi, cRNA dan

hastaların 20. ve 72. Saatlerdeki HMGB1 geninin quantitative PCR yapılarak mRNA ekspresyon miktarları karşılaştırıldı.

BULGULAR:

Ağır sepsis kriterine sahip ve erken hedefe yönelik tedavi uygulanan 29 hastadan elde edilen sonuçlara göre santral venöz kateter yerleştirilen grupta (CVP) 20.saat HMGB1 değeri 4.59 ± 5.22 iken pulmoner arter kateteri (PAK) yerleştirilen grupta HMGB1 değeri 5.44 ± 2.79 ng/ml olup p değeri 0.594 dir.

Yine santral venöz kateter yerleştirilen grupta (CVP) 72.saat HMGB1 değeri 1.44 ± 1.137 iken pulmoner arter kateteri (PAK) yerleştirilen grupta HMGB1 değeri 2.64 ± 1.58 ng/ml olup p değeri 0.026 dir.

TARTIŞMA ve SONUÇ:

PAC kullanımının güvenilirliği ile ilgili çalışmalar yıllardır devam etmektedir. Connors ve arkadaşlarının yürüttüğü SUPPORT (Study to Understand Prognoses and Preferences for Outcomes and Risk of Treatments) çalışmasında; PAK kullanımının 30 günlük mortaliteyi, yoğun bakımda kalış süresini ve maliyeti artırdığı gösterilmiştir (19). Richard ve arkadaşlarının ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome) veya şoktaki hastalar üzerinde yürüttüğü bir başka çalışmada PAK kullanılan hasta grubu ile PAK kullanılmayan hasta grubunu karşılaştırılmış; iki grup arasında, organ yetmezliği, ventilatörden ayrılma süresi arasında fark saptanmamıştır. Yine aynı çalışmada kateterizasyon sonrası 28-90. günlerde her iki grup arasındaki mortalite karşılaştırılmış ve anlamlı bir fark gözlenmemiştir (20). PAC-Man (Pulmonary Artery Catheters in Patient Management in Intensive care) raporunda PAK ile yapılan tedaviler ile santral venöz kateterizasyonu çalışmalar karşılaştırılmış daha önce bu konu ile ilgili olarak yayınlanan çalışmalarda olduğu gibi PAK kullanan hasta grubu ile kullanmayan hasta grubu arasında mortalite açısından fark gözlenmemiş, ayrıca PAK yerleştirilen grupta ölümcül olabilecek herhangi bir komplikasyona

rastlanmamıştır. Bu çalışmada da diğer birçok çalışmada olduğu gibi, net bir şekilde yoğun bakım hastalarında PAK şu sebeple tercih edilmelidir ya da tercih edilmemelidir denilememiştir (21). Boyd ve arkadaşlarının 528 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada; PAK yerleştirilen 528 hastanın 126'sında komplikasyon gelişmiş bu komplikasyonların 23'ü (% 4.4) ciddi olmasına rağmen hiçbiri direk ölümlle sonuçlanmamıştır (22). Sprung ve arkadaşlarının PAK yerleştirilen 307 hastanın 293'u üzerinde yaptıkları çalışmada; hastaların %3'ünde PAK yerleşiminden önce sağ kalp bloğu yokken PAK yerleşimi sonrası sağ kalp bloğu saptanmıştır (23). Artur P. ve arkadaşlarının akciğer hasarı olan 1000 hasta üzerinde yürüttükleri çalışmada PAC kullanımının yaşam süresini uzatmadığı, organ fonksiyonlarını iyileştirmediği ve CVC grubu ile karşılaştırıldığında PAC kullanımı ile daha fazla komplikasyon geliştiği saptanmıştır.(nejm referans)

EÜİH YBÜ yapılan bu çalışmada iki hastada kateter yerleştirme sırasında ventriküler ekstrasistol, bir hastada ventriküler taşikardi gelişmiştir. Kateterin geri çekilmesi ile semptom düzelmiş bu nedenle komplikasyonun, kateter ucunun ventrikül duvarına değmesi sonucu geliştiği düşünülmüştür. Hastalara kateter komplikasyonuna yönelik medikal tedavi uygulanmamıştır. Çalışma sırasında ölümcül bir komplikasyona rastlanmamıştır.

Rivers ve arkadaşları acil servise başvuran ağır sepsis ve septik şok hastalarına; başvuru sonrası ilk altı saatlik sürede sıvı replasmanı, eritrosit transfüzyonu ve inotropik ajan kullanımını içeren erken hedefe yönelik tedavi protokolü uygulamışlardır. Çalışmanın sonunda 28 günlük mortalitenin % 16 oranında düştüğü bildirilmiştir (24). Micek ve arkadaşlarının 120 septik şok hastası üzerinde yürüttükleri çalışmada konvansiyonel tedavi uygulanan hasta grubu ile karşılaştırıldığında; rehber dayalı tedavi uygulanan hasta grubuna; daha fazla sıvı tedavisi verildiği, daha erken antibiyoterapi başlandığı ve daha az vazopressör kullandığı tespit edilmiştir. Protokole dayalı tedavi uygulanan hasta grubunda diğer hasta grubuna göre ölüm oranı %18 düşük bildirilmiştir (25). EÜİH YBÜ de CVP grubunda Rivers ve arkadaşlarının uyguladığı protokol kullanılmıştır, CVP grubunda 8-12-24.st idrar miktarı daha fazla, sistolik ve diyastolik kan basıncı değeri daha yüksek, 4-8.st vazopressör ihtiyacı ve 24.st laktat düzeyi

daha düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). EÜİH YBÜ yapılan çalışmada; PAK yöntemi ile konvansiyonel yöntem arasında 28 günlük mortalite, yoğun bakımda kalma süresi ve mekanik ventilatör ihtiyacı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır sonuçların bu şekilde olması hasta sayısının az olması nedeniyle olabilir.

Sepsis tanısı konulan hastalarda PAC ile CVC yönteminin etkinliğini karşılaştıran çok sayıda çalışma olmasına rağmen; bu iki yöntemle beraber sitokin düzeyini ölçen çalışma bulunmamaktadır. EÜİH YBÜ de yapılan çalışmada her iki hasta grubunda HMGB1 düzeyi bakılmış CVC grubunda 72. saat HMGB1 düzeyi daha düşük olarak saptanmıştır.

Yapılan bu çalışmada HMGB1 düzeyi 20 saatte yükselmiş ve 72. Her iki saatte düzeyi düşmüştür. Ancak santral venöz kateterizasyon yapılan grupta düşüş daha fazladır.

KAYNAKLAR:

- 1-Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med 2001;29(7):1303–10.
- 2-Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. Science 1986;234(4775):470–4.
- 3- Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. Science 1999;285(5425):248–51.
- 4- Hesse DG, Tracey KJ, Fong Y, et al. Cytokine appearance in human endotoxemia and primate bacteremia. Surg Gynecol Obstet 1988;166(2): 147–53.
- 5-Beutler BA, Milsark IW, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor: production, distribution, and metabolic fate in vivo. J Immunol 1985; 135(6):3972–7.
- 6-Remick D, Manohar P, Bolgos G, et al. Blockade of tumor necrosis factor reduces lipopolysaccharide lethality, but not the lethality of cecal

- ligation and puncture. *Shock* 1995;4(2):89–95.
- 7-Cinel I. Sepsiste patogenezi. Türkiye klinikleri. *J Surg Med Sci* 2006; 2(32):8-20. Esen F. Sepsis patofizyolojisine yeni bakış. Türkiye Klinikleri. *J Surg Med Sci* 2006; 2(32):21-23. Cinel I, Dellinger R. Advances in pathogenesis and management of sepsis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20(4):345-352x
- 8- H. Yang et al., Reversing established sepsis with antagonists of endogenous high-mobility group box 1, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101 (2004), pp. 296–301.
- 9-Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova F, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999;285:248–251
- 10-Abraham E, Arcaroli J, Carmody A, Wang H, Tracey KJ. HMG-1 as a mediator of acute lung inflammation. *J Immunol* 2000;165:2950–2954
- 11- Bell CW, Jiang W, Reich CF et al. The extracellular release of HMGB1 during apoptotic cell death. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 291:1318-1325
- 12-Esen F. Sepsis patofizyolojisine yeni bakış. Türkiye Klinikleri. *J Surg Med Sci* 2006; 2(32):21-23.
- 13-Cinel I, Dellinger R. Advances in pathogenesis and management of sepsis. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20(4):345-352.
- 14-Czura CJ, Yang H, Tracey KJ. High mobility group box-1 as a therapeutic target downstream of tumor necrosis factor. *J Infect Dis* 2003; 187(Suppl 2):S391-6.
- 15- Gibot S, Massin F, Cravoisy A, Barraud D, et al. High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock. *Intensive Care Med* 2007 May 25; (abstract).
- 16-Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel treatment for sepsis. *Novartis Found Symp* 2007; 280:147-56; discussion 156-64.
- 17-Critical Care Medicine April 2007 - Volume 35 - Issue 4 - pp 1061-1067
Clinical Investigations
- 18-Critical Care Medicine: April 2007 - Volume 35 - Issue 4 - pp 1061-1067doi: 10.1097/01.CCM.0000259534.68873.2AClinical Investigations:
- 19-Connors AF Jr, Speroff T, Dawson NV, et al. For the SUPPORT

Investigators: The effectiveness of right heart catheterization in the initial care of critically ill patients. JAMA 1996;276:889-97.

20- Richard C, Warszawski J, Anguel N, et al. French Pulmonary Artery Catheter Study Group: Early use of the Pulmonary Artery catheter and outcomes in patients with shock and acute respiratory distress syndrome. JAMA 2003;290:2713-20.

21-Harvey S, Harrison DA, Singer M, et al. PAC-Man study collaboration; Assessment of clinical effectiveness of pulmonary artery catheters in management of patients in intensive care (PAC-Man) : A randomised controlled trial. The Lancet 2005;366:472-7.

22-Boyd KD, Thomas SJ, Gold J, et al. A prospective study of complications of pulmonary artery catheterization in 500 consecutive patients. Chest 1983;84:245-49.

23-Sprung CL, Elser B, Schein RM. Risk of right bundle-branch block and complete heart block during pulmonary artery catheterization. Crit Care Med 1989;17:1-3.

24-Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. N Engl J Med 2001;345:1368-77.

25- Micek ST, Roubinian N, Heuring T, et al. Before-after study of a standardized hospital order set for the management of septic shock. Crit Care Med 2006;34:2707-13.

