T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELATONİN YOKSUNLUĞUN SEPSİSTE SERUM PROKALSİTONİN, TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN STATUS İLE LÖKOSİT, CRP VE MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hatice Feyza AKBULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman
Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA-2016

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELATONİN YOKSUNLUĞUN SEPSİSTE SERUM PROKALSİTONİN, TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN STATUS İLE LÖKOSİT, CRP VE MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hatice Feyza AKBULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman
Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16202002 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2016

ÖNSÖZ

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV yönetiminde hazırlanmış olup, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur.

Tez çalışmam sırasında bilgi ve görüşleriyle beni yönlendiren danışmanım Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV' e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarımda katkıda bulunan ve ilgisini esirgemeyen; Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Metehan UZUN' a, çalışmamın istatistiksel planlanmasında ve sonuçların değerlendirilmesinde büyük katkısı olan Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı başkanı Doç. Dr. Seyit Ali KAYIŞ' a, çalışmamın Çekal bağlama aşamasını gerçekleştiren Yrd. Doç. Dr. Tamer SEKMENLİ' ye, yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Seydişehir Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü Öğretim Görevlisi Hakan VATANSEV' e çok teşekkür ederim.

Eğitimim esnasında bana destek ve emek veren Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyesi hocalarıma, araştırma görevlilerine, özellikle laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan Yük. Biyolog Gülsüm TEKİN' e, tüm Tıbbi Biyokimya çalışanlarına ve Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Son olarak, her zaman olduğu gibi bu süreçte de moral ve motivasyon sağlayan eşim ve çocuklarıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ i

İÇİNDEKİLER ii

SİMGELER ve KISALTMALAR iv

ÖZET v

SUMMARY vi

ÇİZELGE ve ŞEKİL DİZİNİ vii

1.GİRİŞ 1

1.1. Sepsis 3

1.1.1. Epidemiyoloji ve İnsidans 4

1.1.2. Sepsiste Klinik Belirtileri ve Bulgular 6

1.1.2. Sepsis Tanısı 7

1.1.3.1. Sepsis Ayırıcı Tanısında Kullanılan Testler 8

1.1.3.2. Sepsis Etkenini Açıklayıcı Testler 9

1.1.4. Sıçanlarda Deneysel Sepsis Modelleri 10

1.1.4.1. Çekal Bağlama ve Delme modeli [Cecal Ligation and Puncture (CLP)]……10

1.1.4.2. Lipopolisakkarit (LPS) Verilerek Sepsis Modeli Oluşturma.....11

1.2. Melatonin 11

1.2.1. Melatoninin Sentez ve Metabolizması 12

1.2.2. Melatonin Sentez ve Salınımına Etki Eden Faktörler 16

1.2.3. Melatonin Reseptörleri 17

1.2.4. Sıçanlarda Melatonin Yoksunluğu Oluşturmak İçin Kullanılan Yöntemler. 18

1.2.5.Melatoninin Genel Etkileri 19

1.2.5.1. Melatoninin İmmün Sistem Üzerine Etkileri 19

1.2.5.2. Melatoninin Psikiyatrik Hastalıklar Üzerine Etkileri 20

1.2.5.3. Melatonin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri 21

1.2.5.4. Melatoninin Kanser Üzerine Etkileri 22

1.2.5.5. Melatoninin Antioksidan Etkisi 22

1.2.5.6. Melatonin ve Yaşlanma 23

1.3. C-Reaktif Protein (CRP) 24
1.3.1. CRP' nin Enfeksiyon Hastalıklarında Kullanımı 25
1.4. Prokalsitonin (PKT) 26
1.5. Lökositler (Akyuvarlar) 27
1.5.1. Lökositlerin Görevleri 28
1.6. Antioksidan Sistemler 28
1.6.1. Malondialdehit (MDA) 29
1.6.2. Total Oksidan Seviyesi 29
1.6.3. Total Antioksidan Seviyesi 30
2. GEREÇ ve YÖNTEM 31
2.1. Gereçler 31
2.1.1.Kullanılan Kimyasallar 31
2.1.2.Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar gereçleri 31
2.2. Yöntem 32
2.2.1.Kullanılan Deney Hayvanlarının Bakımı 32
2.2.3. Gruplardaki Hayvanlara Uygulanan İşlemler 32
2.3. Biyokimyasal Analizler 35
2.3.1.CRP, MDA, PKT Tayinleri 35
2.3.2.TAS Tayini 35
2.3.3.Lökosit Tayinleri 35
2.4. İstatistik Analizleri 35
3.BULGULAR 36
3.1. Lökosit, CRP, MDA, PKT, TAS Değerlerinin Süreye Bağlı Olarak Değişimi 36
3.2.12/24 Saat Işık Uygulamaları ile Lökosit, CRP, MDA, PKT ve TAS Değerlerindeki Değişim 40
4.TARTIŞMA 43
5.SONUÇ ve ÖNERİLER 47
6.KAYNAKLAR 49
7.EKLER 58
EK.A Etik Kurul Kararı
8.ÖZGEÇMİŞ 59

SİMGELER ve KISALTMALAR

AANAT	Arilalkil Amin N-Asetil Transferaz
ACCP	American Göğüs Hastalıkları
ANOVA	Varyans Analizi
APUD	Amin Öncülünün Tutulumu ve Dekarboksilasyonu
cAMP	Siklik Adenozin Mono Fosfat
CLP	Çekal Bağlama ve Delme
CRP	C-Reaktif Protein
DIK	Dissemine İntravasküler Koagülasyon
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ESH	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
Eqv	Ekuivalant(Eşdeğer)
GSH-Px	Gulutatyon Peroksidaz
HIOMT	Hidroksiindol-O-Metiltransferaz
IL-2	İnterlökin-2
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
K/mm^3	Thousands per cubic millimeter
LHRH	Lutein Hormonu Salgılatan Hormon
LPS	Lipopolisakkarit
MTl	Melatonin 1 Reseptörü
MT2	Melatonin 2 Reseptörü
MT3	Melatonin 3 Reseptörü
NAS	N-Asetil Serotonin
PI	Fosfoinozitid
PW	Peta Watt
PKT	Prokalsitonin
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SCCM	Yoğun Bakım Dernekleri
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
TAS	Toplam Antioksidan Seviyesi
TGF-ß1	Transforming Growth Faktör-ß1
TOS	Toplam Oksidan Seviyesi
WBC	Beyaz Kan Hücreleri

ÖZET

Melatonin Yoksunluğun Sepsiste Serum Prokalsitonin, Total Oksidan ve Antioksidan Status ile Lökosit, CRP ve Malondialdehit Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Hatice Feyza AKBULUT

Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2016

Ana görevi vücudun biyolojik ritmini ayarlamak olan ve vücudun birçok biyolojik ve fizyolojik süreçlerinde yer alan melatonin hormonu üzerine yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır. Yapılan çalışmalarda melatoninin etkinliği kardiyovasküler hastalıklarda, enfeksiyon hastalıklarında, nörolojik hastalıklarda, uyku bozukluklarında, kanser, depresyon, yaşlanma ve bağışıklık sistemi üzerinde gösterilmiştir.

Bu çalışmada sepsis modeli oluşturulmuş sıçanların karanlık ve aydınlık siklusunda melatonin hormon seviyesinin akut faz reaktanı olan CRP, Total Oksidan Status, Total Antioksidan Status, Lökosit, Prokalsitonin ve Malondialdehit düzeyleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, 58 sıçan 8 gruba ayrıldı ve bunların bir kısmı 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık altında, bir kısmı da 24 saat ışık altında 21- 22 ^{o}C' de su kısıtlamasına gidilmeden 10 gün barındırıldı. Bu grupların bir kısmında 11. gün çekal delme-bağlama yöntemi ile sepsis modeli oluşturuldu ve 12.günün sonunda kan ve doku örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle CRP, Malondialdehit, Prokalsitonin ve kolorometrik yöntemle Total Antioksidan Status seviyelerine, hemogram analiziyle de Lökosit seviyeleri tespit edildi.

CRP değerleri açısından Grup 2'de yani çekal uygulanmış ve 24 saat ışık altında tutulan sıçanlarda 12.saat ile 24.saat sonunda sonuçlar 288.8'den 584.0'a yükselerek yaklaşık 2 katlık (584.0/288.8=~2.0) bir yükselme gösterirken, Grup 3'te yani çekal uygulanmış ve 12 saat ışık +12 saat karanlık altında tutulan sıçanlarda ise bu değeler 416.9'dan 619.1'e yükselerek sadece 1.5 katlık (619.1/416.9=~1.5) bir artış gerçekleşmiştir. MDA açısından değerlendirildiğinde Grup 2 ve Grup 3 arasındaki farklılıklar 0.saat ve 12. Saatler arasında daha belirgin olduğu belirlenmiştir. Grup 2'deki MDA değerleri 0.saat 16.53'ten 12.saat 17.66'ya yükselirken bu değer Grup 3'te herhangi belirgin bir değişim göstermediği belirlenmiştir.

MDA'ya benzer duruma PKT değerlerinde de rastlanılmıştır. PKT değerlerinde de Grup 2'deki 0.saat ile 12.saat arasındaki değerlerdeki artış katsayısı 1.26 olurken, Grup 3'te bu artış göz ardı edilecek kadar gerçekleşmiştir.

Sonuç olarak; sepsis modeli oluşturulan ve melatonin yoksunluğu oluşturulan ratlarda oksidatif streste artış gerçekleşti. Buna bağlı olarak yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda ışık kısıtlamasına gidilerek melatonin seviyelerinin artırılmasının iyileşmeye faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Sepsis, Melatonin, CRP, MDA, TAS, TOS, WBC, PKT

SUMMARY

The determination of Effect on the Levels of Serum Procalcitonin, Total Oxidant and Antioxidant Status, Leucocyte, CRP, and Malondialdehyde of melatonin abstinence in sepsis

Hatice Feyza AKBULUT

Selcuk University Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Biochemistry

Advisor: Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Master Thesis / KONYA-2016

Researches on the melatonin hormone whose main task is to adjust the body's biological rhythm and take place in many biological and physiological processes of the body have been increasing day by day. In the studies conducted, the efficacy of melatonin has been shown in cardiovascular diseases, infectious diseases, neurological diseases, sleep disorders, cancer, depression, aging and immune system.

In this study, it was aimed to determine the effect of melatonin hormone level on CRP , Total Oxidant and Antioxidant Status, Leukocyte, Procalcitonin and Malondialdehyde which are the acute phase reactants in the dark and light cycle of rats with sepsis model. For this purpose, 58 rats were divided into 8 groups and some of them were housed under light for 12 hours and under dark for 12 hours, and the others under light for 24 hours at 21-22 ^{o} C for 10 days without water restriction. In some of these groups, sepsis model was formed by cecal puncture-binding method on the 11th days, and blood and tissue samples were taken at the end of the 12th day. Blood samples were analyzed by ELISA for CRP, Malondialdehyde, Procalcitonin, by colorimetric method for Total Oxidant and Antioxidant Status levels, and leukocyte levels were determined by hemogram analysis based on the method.

CRP values were increased in group 2, ie, in the rats that had been cecalized and kept under 24 hours of light, the results increased from 288.8 to 584.0 at the end of the 12th hour and 24th hour and showed an increase of approximately 2 fold (584.0 / 288.8 = ~ 2.0). In rats treated with cecal and kept under 12 hours of light +12 hours of darkness in group 3, these values increased from 416.9 to 619.1, an increase of only 1.5 fold (619.1 / 416.9 = ~ 1.5). When assessed for MDA, it was determined that the differences between Group 2 and Group 3 were more prominent between 0h and 12h. While the MDA values in group 2 increased from 16.53 for 12th hour to 17.66 for 24th hour, it was determined that this value did not show any significant change in group 3. A situation similar to MDY was also found in pCT values. In the PCT values, the increase coefficient in the values between 0th hour and 12th hour in Group 2 was 1.26, whereas in Group 3, this increase was negligible.

As a result; the oxidative stress in the rats, where the sepsis model and melatonin deprivation were created, was increased by light deprivation. Accordingly, it is thought to be useful of light deprivation for treatment of sepsis by increasing of melatonin level in patients hospitalized in the intensive care unit.

Keywords: Sepsis, Melatonin, CRP, MDA, TAS, TOS, WBC, PKT

ÇİZELGE ve ŞEKİL DİZİNİ

Çizelge 1.1. Sistemik bakteriyel enfeksiyonda gözlemlenen belirtiler ve bulgular 6

Çizelge 1.2. Sepsis Tanı Parametreleri 7

Çizelge 3.1. Sıçanlarda WBC, CRP, MDA, PKT ve TAS Değerlerinin Grub içi Wilcoxon signed-rank testi sonuçları 37

Çizelge 3.2. Sıçanlarda WBC, CRP, MDA, PKT ve TAS Değerlerinin Gruplar arası Kruskal-Wallis varyans analizi ve Bonferroni düzeltmesi sonuçları 42

Şekil 1.1. Pinealositlerde Melatonin sentezinin basamakları 6

Şekil 1.2. Melatonin sentez yolağı 19

Şekil 1.3. Prokalsitonini oluşturan yapılar, Pre-PKT: Preprokalsitonin; KC: Katakalsin; N-PKT: N terminal bölge; KT: Kalsitonin 19

Şekil 2.1. Çalışma sonucunda sıçanlarda hayatta kalma sonuçları……34

Şekil 3.1. Sıçanlarda çalışma gruplarının Lökosit (WBC) değerlerinin grafiksel gösterimi .. 36

Şekil 3.2. Sıçanlarda çalışma gruplarının C-Reaktif protein (CRP) değerlerinin grafiksel gösterimi..... 38

Şekil 3.3. Sıçanlarda çalışma gruplarının Malondialdehit (MDA) değerlerinin grafiksel gösterimi 38

Şekil 3.4. Sıçanlarda çalışma gruplarının Prokalsitonin (PKT) değerlerinin grafiksel gösterimi……..39

Şekil 3.5. Sıçanlarda çalışma gruplarının Toplam antioksidan seviye (TAS) değerlerinin grafiksel gösterimi……40

1. GİRİŞ

Yüksek bir mortaliteye sahip olan sepsis tanı konulamayan klinik bir süreçtir. Genel olan kanı, sepsisin oldukça silik bulgularla seyredebileceği, hastanelerde tüm klinik bozukluklarda sepsisin anımsanması gerektiği ve etkin bir tedavi uygulamasının başlanması önerisi şeklindedir (Vincent 2002, Hotchkiss ve Karl 2003) .

Antibiyotik kullanımı ile enfeksiyondan kaynaklı morbidite ve mortalitede keskin düşüşler görülmüştür. Sürekli yapılan araştırmalar neticesinde yeni ve oldukça etkin antibiyotikler geliştirilmiştir. Diğer taraftan hızlı teknolojik gelişmeler neticesinde güçlü ve güvenilirliği oldukça yüksek tanı araçları kullanıma dahil oldu. Bundan dolayı, yoğun bakım sahasında oldukça ciddi gelişmeler vuku buldu. Bu gelişmelere rağmen sepsis belirtileri gittikçe artan sıklık ve yüksek ölüm oranları nedeniyle önemini artırmaya devam etmektedir (Kurt 2006).

Sepsis tanısında daha önceden enfeksiyonun mikrobiyolojik açıdan kanıtlanması, bununla birlikte bakteriyemi şartı aranırken, bugünlerde sepsis tanısı konulmasında mikrobiyolojik kanıt aranmamaktadır (Matot ve Sprung 2001). Klinik bulgularla eş zamanlı olarak ortaya çıkmayan mikrobiyolojik bulgular ile tedavi süreci önemli derecede zaman israfına neden olmakta ve değişik sebeplerle çok sayıda enfeksiyonda mikrobiyolojik delillere erişilememektedir. Ancak yine de sepsisli hastalarda mikrobiyolojik tanı çeşitli yönlerden önem taşımakta olup vazgeçilmezdir (Matot ve Sprung 2001).

Yakın zamana kadar klinisyenler arasında sepsis ve bağlantılı terimlerin tanımı hakkında aynı fikirde değillerdi ve farklı terimler kullanılmaktaydı. Bunlar genellikle aynı amaçla kullanılan sepsis sendromu, septik şok, septisemi, bakteriyemi ve sepsis gibi terimlerdi. Bu araştırmaların ve tedavilerin karşılaştırılmasında, elde edilen sonuçların yorumlanmasında sorunlara neden olmaktaydı. Başka bir açıdan bazı enfeksiyon dışı enflamatuvar vakalar (ciddi yanıklar gibi) da sepsisle eşdeğer klinik bulgularla karşımıza çıkmakta ve aynı düzeyde hasar oluşturabilmektedir. Bunlardan dolayı, yapılan çalışmalarda sepsis patojenezinin iyi bir şekilde araştırılıp aydınlatılarak daha iyi kavranmasından sonra

terimlerin yeniden incelemesi ihtiyacı hissedildi. 1991 yılında American College of Chest Physicians (ACCP) ve Society of Critical Care Medicine (SCCM), ortak bir toplantı yaparak sepsis ve sepsisle alakalı klinik tabloların tanımlarını açıkladılar. Sebebe bakılmaksızın, organizmanın sistemik İmmün yanıtını açıklarken "sistemik enflamatuvar yanıt sendromu" (SIRS) ifadesi kullanıldı. SIRS'nun bölgesel veya yaygın enfeksiyonlar, travma ve akut pankreatit, yanıklar gibi steril enflamasyona sebep olan bazı durumlar sonucunda harekete geçebileceği kabul edildi (Bone ve ark 1992).

Sepsis sebepleri araştırılırken gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerine yoğunlaşılmıştır, fakat parazit kaynaklı ciddi enfeksiyonlarında (milyer tüberküloz ve sistemik mantar enfeksiyonları v.b) aynı belirtileri gösterdiği ortaya konmuştur. Sepsisle ilgili klinik araştırmalarda enfeksiyonun belirtilerindeki anormal değişiklere sebep olan mediatörler ve sitokinlerin bulunması en önemli yararlardan oldu (Kurt 2006).

Sepsis standart, uygun bir tanı metodu bulunmayan bir hastalıktır. Sepsis yalın bir hastalık değildir, kompleks pek çok sebep sepsis olarak meydana çıkabilir bu da kusursuz bir tanı testini imkansız hale getirmektedir. Bu sebeplerden dolayı sepsisin tanısında kullanılan testlerden birkaçını kullanarak tanıya ulaşmak önerilse de, maddi yük bunu büyük bir sorun haline getirmektedir (Aygün 2006).

Melatonin karanlıkta, nöroendokrin organ olan pineal bezden salgılanan bir hormondur (Erlich ve Apuzzo 1985). Pineal bez ve onun hormonu olan melatonin, hormon sisteminin düzenlenmesi, hipotalamus ve hipofizin etkilerini, sinir sisteminin korunması, bağışıklık sisteminin uyarılması ve serbest radikallerin giderilmesi gibi pek çok fizyolojik fonksiyonun kontrol edilmesinde görev alır (Forsling ve ark 1993, Yilmaz ve ark 2000).

Genelde pineal bezden melatonin hormonu salgılandığı sırada yani ışıksız ortamda, sabit ışık uygulamasının melatonin hormon üretimini düşürdüğü bilinmektedir (Lewy ve ark 1980, Reiter 1991). Sıçanların sürekli olarak 24 saat ışığına kesintisiz maruz bırakılmaları sonucu dişi sıçanların günlük aktivitelerinde bozulmaya sebep olmuştur (Albers ve ark 1981).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda melatoninin antihipertansif etkileri araştırılmıştır (Simko ve Paulis 2007, Tain ve ark 2010, Uzun ve Ovali 2015)

Sepsisin tanı ve tedavisinde sıçanlar üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda sepsis modeli oluşturmak için farklı yöntemler uygulanmıştır (Karaca ve ark 2003).

Sepsis tedavisinde sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada sepsisin renal vasküler rezistans artışına neden olduğu kullanılan bazı antioksidan ajanların bu artışı baskıladığı ve serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırılması ve araşidonik asit metabolizmasını değiştirerek böbrek vasküler direncini arttırdığı tespit edilmiştir (Krysztopik ve ark 2000).

Kara ve ark. sepsis oluşturdukları sıçanlarda antioksidan özellikler gösteren albüminin farklı konsantrasyonlarının böbrek antioksidan düzeyleri ve böbrek fonksiyonları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, böbrek dokusunda antioksidan etkilerini tespit ettikleri %25 albuminin hızlı infüzyonunun sepsis olgularında kullanıldığında böbrek disfonksiyonu gelişmesini önleme veya geciktirme açısından etkili olabileceği düşüncesine varmışlardır (Kara ve ark 2014).

1.1.Sepsis

Sepsis, enfeksiyon karşısında gelişmekte olan sistemik bir enflamatuvar yanıt sendromu olarak açıklanabilir. Bu, mikrobiyal kaynaklı hastalığın çeşitli mikrobiyal olmayan koşullarda ortaya çıkabilen benzer bir klinik sendromdan ayırt etmeye yardımcı olan bir terimdir. Klinik tablodaki benzerlik sitokinlerin patofizyolojik rolü ile açıklanmaktadır. Geçerli bir terminoloji 1990'ların ilk başlarında tanımlanmıştır ve son değerlendirmelere rağmen büyük ölçüde değişmeden kalmıştır (Committee 1992, Levy ve ark 2003).

Sepsis, modern antibiyotiklerin ve reanimasyon tedavilerin kullanılmasına rağmen kritik hastalarda ölümün önde gelen nedenidir (Angus ve ark 2001). Septik tepki, enflamatuvar ve anti-enflamatuvar süreçleri, humoral ve hücresel reaksiyonları ve dolaşım anormallikleri içeren olayların son derece karmaşık bir zincirdir (Hotchkiss ve Karl 2003, Gullo ve ark 2006).

Sepsis, enfeksiyon karşısında gelişmekte olan sistemik enflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) olarak açıklanabilir. Sepsise çok sayıda enfeksiyon neden olabilirse de solunum sistemi enfeksiyonları, dolaşım sistemi enfeksiyonları ve karın içi odak en çok rastlanan enfeksiyon odaklarıdır. Hastane kaynaklı sepsis olgularında özellikle kateter kaynaklı enfeksiyonlar en çok rastlanan enfeksiyonlar olarak ön sıralarda yer almaktadır (Hotchkiss ve Karl 2003).

Son zamanlarda çok daha iyi anlaşılmıştır ki sepsis sürecinde etkenler değişebilmekte, yeni etkenler ortaya çıkabilmektedir ve bu süreç dinamik bir süreçtir Diğer yandan etkenleri bilmek farklı farklı tedavi imkanlarını kullanabilmeye (antiendotoksin tedavi gibi) olanak da sağlayabilecektir (Cohen ve ark 2004, Dellinger ve ark 2004).

Dünyada, sepsise bağlı olarak günde yaklaşık olarak 20.000 insan ölmektedir. Tüm dünyada dakikada yaklaşık 14 insan sepsise bağlı olarak ölmektedir (Daniels 2011). Dünyada yılda tahminen 18 milyon sepsis vakasının meydana gelmektedir (Global Sepsis Alliance 2010 http://www.global-sepsis-alliance.org/).

İngiltere'de yılda her 100.000 popülasyonda 30 ile 50 arasında ölüm olduğu tahmin edilmektedir. Bu ölümlerin ilk 10 neden arasında uzun süreli hastane koşullarındaki bakım araçları ve herhangi bir hastane koşulu yer almaktadır (Harrison ve ark 2006, Dombrovskiy ve ark 2007).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık yaklaşık olarak 700.000 sepsis vakası görüldüğü ve bu vakaların % 30'nun ölümle sonuçlandığı tahmin edilmektedir (Angus ve ark 2001). Yine bu ülkede 2009 yılında, sepsise bağlı ölüm oranı diğer hastanede kalış nedenlerinden sekiz kez daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Elixhauser ve ark 2006). Buna bağlı olarak sepsis, 2009 yılında, ABD'ndeki en maliyetli hastanede kalma sebebi olmuş ve tüm hastanelerdeki toplam maliyeti yaklaşık olarak 15,4 milyar dolar olduğu belirtilmektedir (Elixhauser ve ark 2006).

1.1.1 Epidemiyoloji ve İnsidans

Mortalite ve morbiditenin önemli nedenleri arasında sepsis ve septik şok gelmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Hastalık Kontrol ve Önleme

Merkezi (Centers for Disease Control), 1979- 1987 yılları arasında bakteriyemi ve septisemi çıkış kodlarına dayalı olarak, sepsis insidansında % 139'luk düzeyde oldukça kaygı verici bir artma olduğunu bildirdi. A.B.D' inde her yıl yaklaşık 500.000 yeni vaka bildirilmiş olup, burada mortalite oranının % 35 olduğu ifade edilmektedir. Son yıllardaki tahminlere dayalı olarak yılda 751.000 yeni sepsis vakasının görüldüğü ve bu vakaların da yaklaşık olarak 250.000'ninin ölümle sonuçlandığı tahmin edilmektedir. A.B.D' inde bulunan Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi (National Center for Health Statistics) bilgilerine dayalı olarak 1996'daki ölüm nedenleri arasında sepsisin 10. sırada yer aldığı bildirilmekte olup, diğer taraftan sepsisin koroner dışı yoğun bakım ünitelerindeyse sıklıkla rastlanan ölüm nedeni olduğu rapor edilmiştir. A.B.D' inde 1979'dan 2000 yılına kadar geçen sürede 22 yıllık periyodu araştıran bir çalışmada sepsis insidansının yılda %8,7'lik bir artma eğilimiyle, 82/100.000'den 240/100.000'e yükseldiği görülmüştür. Ölüm oranı 1979'dan 1984'e kadar olan yıllar arasında %28 ve 1995'dan 2000'e kadar yıllar arasında ise % 18'e düşmüştür. Ancak ölen toplam hasta sayısında halen artışlar devam etmektedir (Angus ve ark 2001, Martin ve ark 2003).

Türkiye'de sepsisle alakalı yeterli veri bulunmamaktadır, ancak ABD'ndeki oranlar Türkiye nüfusun göz önünde bulundurularak uyarlandığında yılda yaklaşık 100.000 sepsis görülmesi söz konusu olabileceği söylenebilir. 1983 ve 1989 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi'nde yapılmış olan çalışmada 7 yıllık süreyle, hastanedeki yatan hastalarda gram negatif sepsis mortalitesi % 45 ve insidansı 4,2 / 1000 olarak tespit edilmiştir. Bunlar yalnızca gram negatif bakterilerle gelişebilen sepsisin sebep olduğu sonuçlardır. Buna yakın oranlarda gram pozitif bakterilerle de sepsisin geliştiği varsayılırsa toplam oranın 8/1000 yaklaştığı söylenebilir (Kurt 2006).

Sepsisli hastalarda çoğu kez yabancı cisim varlığı, steroid kullanımı, malignite, kemoterapi, KOAH(Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı), nötropeni, kronik böbrek yetersizliği, immünsupresyon, asplenizm, majör cerrahi geçirme ve obstrüksiyon (renal, bilyer, intestinal) ve bunlara benzeyen zemin hazırlayıcı etkenler bulunmaktadır (Schrier ve Wang 2004, Chan ve ark 2012).

Toplum veya hastane kaynaklı olmasına göre sepsislerde enfeksiyon odağı değişebilmektedir. Toplum kaynaklı sepsislerde en sık karşılaştığımız odaklar

pyelonefrit, menenjit, pnömoni, kolanjit-kolesistit, deri-yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit olup, hastane kaynaklı sepsislerde ise ventilatörle ilişkili pnömoni, karın içi enfeksiyon, üriner sonda ilişkili pyelonefrit ve yabancı cisim enfeksiyonları en sık odaklardır (Pope ve ark 2010).

1.1.2 Sepsiste Klinik Belirtiler ve Bulgular

Sepsiste, enfeksiyon odağına, mikrobiyolojik etkene ve sepsis evresine göre klinik belirti ve bulgular değişmektedir. Organ fonksiyonlarında bozukluk oluşmamış sepsisteki klinik tabloda sistemik enflamasyona ve primer enfeksiyon odağına bağlı bulgu ve belirtiler hakimdir. Sepsis kliniği kişisel sağlık problemleri, yaş gibi faktörlerle birlikte enfeksiyon oluşum sebebine bağlı sinsi ve yavaş seyirli izlenebildiği gibi çok gürültülü ve korkutucu olarak izlenebilir. Başlangıçta görülmekte olan bu bulgu ve belirtilere sepsisin ilerlemesiyle sistem ve organ fonksiyon bozukluğundan kaynaklanan bulgularda eklenir. Sistemik bakteriyel enfeksiyon gözlemlenen bir sepsis vakasındaki primer ve komplikasyon olarak gelişen bulgu ve belirtiler Çizelge 1.1'de özet olarak sunulmuştur (Kurt 2006).

Çizelge 1.1. Sistemik bakteriyel enfeksiyonda gözlemlenen belirtiler ve bulgular (Kurt 2006)

Primer	**Komplikasyon**
Hipotermi veya ateş	Hipotansiyon
Titreme ve üşüme	Kanama
Deri Lezyonları	Lökopeni
Taşikardi	Trombositopeni
Hiperventilasyon	Organ yetersizliği
Şuur değişikliği	Asidoz, siyanoz: Akciğer
	Anüri, asidoz, oligüri: Böbrek
	Sarılık: Karaciğer
	Konjestif Yetersizlik: Kalp

Çoklu organ yetersizliği sendromu ve ileri sepsiste sistem fonksiyon bozukluğu ve sık olarak organ bozukluğu gelişebilmektedir. Bunlar santral sinir

sistemi, böbrekler ve karaciğer, kan koagülasyon sistemi, kardiyovasküler sistem ve solunum sistemidir. Mortalite riski tutulan sistemle organ sayısı arttıkça artmaktadır. Sistemdeki fonksiyon bozukluğu dört ve bunun üzeri sayıda geliştiğindeyse mortalite oranı % 80' lerin üzerine çıkmaktadır (Bone ve ark 1992, Hebert ve ark 1993).

1.1.3 Sepsis Tanısı

Çizelge 1.2. Sepsis Tanı Parametreleri (Levy ve ark 2003)

SEPSİS TANI PARAMETRELERİ	
Genel parametreler	**Ateş (vücut ısısı >38.3 0C) veya Hipotermi (vücut ısısı <36 °C)** **Kalp atım hızı >90/dk veya yaş için normal değerden >2 SD*** **Mental durum değişikliği** **Belirgin ödem veya pozitif sıvı dengesi 24 saatte >20ml/kg** **Hiperglisemi (diyabetin olmadığı durumlarda plazma glikozu >110mg/lt)**
İnflamatuvar parametreler	**Lökositoz (beyaz küre sayısı >12000/µl) veya lökopeni (beyaz küre sayısı < 4000 /µl)** **Plazma CRP'nin normal değerden >2 SD*** **Plazma prokalsitonin (PKT) değerinin normal değerden >2 SD**
Hemodinamik parametreler	**Arteriyel hipotansiyon (sistolik kan basıncının <90 mmHg, ortalama arteriyel basıncın <70 veya sistolik kan basıncının yetişkinlerde >40 mmHg düşmesi veya yaşa göre normal değerden <2 SD* olması)** **Mikst venöz oksijen satürasyonu >%70** **Kardiyak indeks >3.51 min-1 m-2**
Organ disfonksiyon parametreleri	**Arteriyel hipoksemi (PaO2/FIO2 <300)** **Akut oligüri (asgari 2 saat idrar çıkışı <0.5 mL/kg-1h-1)** **Kreatininde ≥0.5 mg/dl artış** **Trombositopeni (trombosit sayısının <100000 /µ l)** **Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin >4 mg/dl)**
Doku perfüzyon parametreleri	**Hiperlaktatemi (>3 mmol/l)** **Kapiller doluşta azalma veya deride renk değişikliği**

1.1.3.1 Sepsis Ayırıcı Tanısında Kullanılan Testler:

Sepsisi tanımlamak oldukça karmaşıktır. Birden fazla klinik tabloyla ortaya çıkabilen SİYS kriterlerine karşılık sepsis bunlardan farklı bir klinik tabloyla da karşımıza çıkabilmektedir. Hastanede gelişen sepsis özellikle yoğun bakım servislerindeki pek çok klinik tablo ile karışabilmektedir. Akut adrenal yetmezlik, organ reddi, pankreatit, tiroid krizi, politravmalar, tümör lizis sendrom, yanık, malign hipertermi, pulmoner emboli, sitokin uygulamaları, miyokard enfarktüsü, kan ürünleri ile tedavi, venöz, tromboz, subaraknoid kanama sepsis klinik tablosuyla karışabilecek tabloların başta gelenleridir. Bu durumda laboratuar bulguları ve klinik bulgularla sepsis tanısının konulması veya bu tanının desteklenmesi konusu üzerinde çok durulur. Bu amaçla en fazla incelenen markerlar prokalsitonin (PKT) seviyeleri ve C-reaktif protein (CRP) seviyeleri olmuştur (Günal ve Barut 2009) .

Enfeksiyon dışı nedenlere bağlı SIRS ve sepsis olgularının kıyaslandığı çalışmada, sepsisli olgularda PKT düzeylerindeki artışın anlamlı derecede olduğu, fakat C-reaktif protein düzeylerinde anlamsız bir artış olduğu saptanmıştır (Yukioka ve ark 2001). Luzzani ve arkadaşlarının sepsis tanısıyla ilgili yapmış oldukları çalışmadaki PKT ve CRP düzeylerini karşılaştırdıkları verilere göre, PKT seviyesinin CRP' ye göre daha faydalı olduğunu tespit etmişlerdir (Luzzani ve ark 2003).

Clech ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya göre septik şokta olan hastalardaki PKT düzeyi diğer hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Septik şok sonucunda ölen hastalarda ise PKT seviyesi hayatta olan hastalara kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Bu çalışmada gram negatif ve gram pozitif bakterilere bağlı enfeksiyonu olan hastalarda PKT oranları arasında fark gözlenmemiştir. Bu çalışmanın sonucunda PKT'nin bakteriyel kökenli septik şoklu hastalarda hem tanısal hem de prognostik bir faktör olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır (Clec h ve ark 2004).

Yapılan araştırmalar gösteriyor ki sepsis tanısı koyabilmek için uygun, standart bir tanı metodu bulunmamaktadır. Kompleks birden fazla klinik tabloyu içeren sepsisin tek bir hastalık olmaması, mükemmel ve tek bir tanı testini imkânsız hale getirmektedir. Sepsis tanısına gidebilmek için bu testlerin birkaçı kullanılabilir,

ancak bu durumun getirdiği maddi yük kayda değer bir sorun teşkil etmektedir. Çalışmalar sonucunda önerilen ve kullanılan yaklaşıma göre; klinik bulgular ve hastaların bazal CRP ölçümleri tanımlanarak düzenli CRP ölçümleri ile hastaların izlenmesi gerekir. CRP değerlerinde artış eğiliminin tespit edilmesi, sepsis tanısının konulmasında yardımcı olan bir test olarak kabul edilmektedir. Aralıklı prokalsitonin ölçümlerinin özel hasta gruplarında (politravma, immunsupresif vs) yararlı olduğu görülmüştür (Aygün 2006).

1.1.3.2. Sepsis etkenini açıklayıcı testler:

Sepsis tanısı konulduktan sonra etkenin ve odağın gösterilmesi ikinci önemli adımdır. YBÜ de bu her zaman kolay olmamaktadır. Sinüzit, primer bakteriyemi veya karın içi apse odağı dikkatten kaçabilmekte veya çok geç belirgin olabilmektedir. Bilinen mikrobiyolojik yöntemler maalesef bazı sorunları çözümlemek için yeterli değildir. Odağı belirlemek açısından sistemik muayene yapılması temel bir yol göstericidir (Llewelyn ve Cohen 2001, Vincent ve ark 2003, Cohen ve ark 2004) .

Genelde bakteriyemi tanısında klinik bulguların değerlendirilmesinin tanısal önemi yoktur. Jaimes ve ark (Jaimes ve ark 2004)' nın yaptıkları çalışmada hasta başında bakteriyemi tanısında faydalı olabilecek bazı kriterler saptamışlardır. Araştırmacılar bakteriyemi tanısında bu kriterlerin ve bulguların anlamlı bulgular olduğunu tespit etmişlerdir (SIRS Tanı Kriterleri):

- ≥30 yaş olmak,
- ≥90 kalp atış hızı/dakika,
- ≥37.8ºC ateş,
- ≥12.000/mm^3 beyaz küre sayısı ,
- santral venöz kateter mevcudiyeti,
- hastanede yatış süresinin ≥10 gün olması (Jaimes ve ark 2004).

Özellikle hastanelerde santral venöz kataterlerin en sık bakteriyemi kaynağı olduğu bilinmektedir. Katater kaynaklı enfeksiyonu tesbit etmek için değişik metodlara başvurulmuştur. Kataterin giriş yerinden sürüntü/apse örneği kültürü, kantitatif kan kültürü yapmak, çıkarılan kataterin boyanarak incelenmesi, kullanılabilecek bazı yöntemlerdir (Munford 2005).

Bakteriyemi yok iken katater kültüründe üreme saptanan, sepsis bulguları olan hastada bu kavram diğer bütün odakların dışlanmasıyla konulabilen bir tanıdır, ama sık kullanılmaz (Reed ve ark 1995, Cohen ve ark 2004).

1.1.4. Sıçanlarda Deneysel Sepsis Modelleri

Septik şok deneysel modellerinin yeterliliği, bu modellerde kullanılan deney hayvanlarının insanlara göre endotoksine daha az hassasiyet göstermesi gram-pozitif bakterilerle çalışmaların az olması gibi birçok faktör tartışma konusu olmuştur (Villa ve ark 1995).

1.1.4.1.Çekal Bağlama ve Delme modeli [Cecal Ligation and Puncture (CLP)]

Anestezi altındaki hayvanlarda bağırsak geçişinin bozulmamasına dikkat ederek çekumun standart bir iplik ile bağlanması ve bağlanan kısmın standart ölçüdeki bir enjektör iğnesi ile bir veya iki kez delinmesi esasına dayanır (Baker ve ark 1983, Yang ve ark 2002).

Sıçanlar operasyonlardan önce 12 saat aç bırakılır. Anestezi işlemi için Ketamin-Ksilazin kullanılır. Anestezi altındaki sıçanların, karın bölgesi tıraş edildi ve tıraş sonrası % 10'luk povidone-iyodin ile karın duvarı bakteriyel kontaminasyon olmaması için dezenfekte edilir. Daha sonra karın orta hatta 2cm kesi yapılarak, çekum izole edilir ve ilio-çekal valfın hemen distalinde 3- 0 ipek iplik ile bağlanır. 18 gauge iğne ile çekum 2 farklı yerden delinir ve delindikten sonra dışkı dışarı çakana kadar hafifçe sıkılır. Daha sonra karın duvarı dikilen hayvanlar postoperatif bireysel kafeslere alınır. Anesteziden çıktığı belirlenen sıçanlar normal kafeslerine alınır (Olguner ve ark 2013, Xu ve ark 2013).

1.1.4.2.Lipopolisakkarit (LPS) Verilerek Sepsis Modeli Oluşturma

Lipopolisakkarit glikolipid yapıdadırlar, deneysel sepsis modellerinde kullanılırlar ve gram-negatif bakterilerin hücre duvarından elde edilirler. Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa gibi birçok gram-negatif bakteriden elde edilen LPS'ler olmasına rağmen deneysel septik şok çalışmaları E. coli'den elde edilen LPS'ler yoğunlukla tercih edilmiştir (İskit 2005).

LPS verilerek oluşturulacak deneysel septik şok çalışmalarında toz halindeki LPS deneysel çalışma planına uygun olarak suda çözünür ve deney hayvanlarına periton veya damar içine infüzyon veya tek doz olarak verilir. Yapılan çalışmalara bakıldığında uygulanan dozun 1mg/kg ile 80-100 mg/kg arasında geniş bir doz aralığında olduğu gözlenebilir (Iskit ve ark 1999, Baykal ve ark 2000).

1.2 Melatonin

1900'lü yılların ilk yarısında insanlarda biyolojik ritimlerin varlığı gösterilmeye başlanmıştır. 'Zeitgeber'(vücut saati) terimini literatüre kazandıran Jürgen Aschoff 'un arkasından Franz Halberg ilk olarak "sirkadiyen" terimini tanımlamıştır. Geiger melankoli halindeki uyku-uyanıklık döngüsü ile uyku bozuklukları ve belirtilerin birbiriyle bağlantısına dikkat çekmiştir. Medicus 1700'lü yıllardaki araştırmaları sonucunda kış aylarında ortaya çıkan depresyon belirtilerini tanımlamış ve mevsime bağlı olan duygu-durum değişikliğinde biyolojik ritmin bozulmasına dikkati çekmiştir. Medicus' un yaptığı çalışmalar psikiyatrik hastalıklardan kaynaklanan biyolojik ritim bozukluklarına dikkat çeken ilk çalışmalardır (Selvi ve ark 2011).

Nöroendokrin bir organ olan pineal bezden salgılanan melatonin karanlıkta salgılanan bir hormondur. (Erlich ve Apuzzo 1985). Pineal bez ve pineal bezin asıl hormonu olan melatonin (N-acetyl- 5-methoxytryptamine), antigonadotropik etkiler, endokrin ritmin düzenlenmesi, immün sistemin uyarılması, serbest radikal giderici ve sinir sistemi üzerine koruyucu etkisi gibi pek çok fizyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde görev almaktadır (Forsling ve ark 1993, Yilmaz ve ark 2000).

Kardiyak ritmin düzenlenmesi, onkostatik olaylar, immünregülasyon mekanizmaları, duyguların düzenlenmesi, serbest radikal süpürücülüğü, antioksidan fonksiyonlar, reprodüktif fonksiyonların kontrolü ve uyku gibi organizmadaki pek çok fonksiyonda önemli roller alır (Hadley 1992). Bakteri kaynaklı enfeksiyonlar ve bazı virüsler ile savaşta da melatoninin etkili olduğu bildirilmektedir. Antimikrobiyal olaylardaki melatoninin moleküler mekanizmasında serbest radikal oluşumu, demir gibi intrasellüler substratların azaltılması ve bakterilerin dublikasyonunun düzenlenmesi olarak açıklanmaktadır (Srinivasan ve ark 2012).

1.2.1 Melatonin Sentez ve Metabolizması

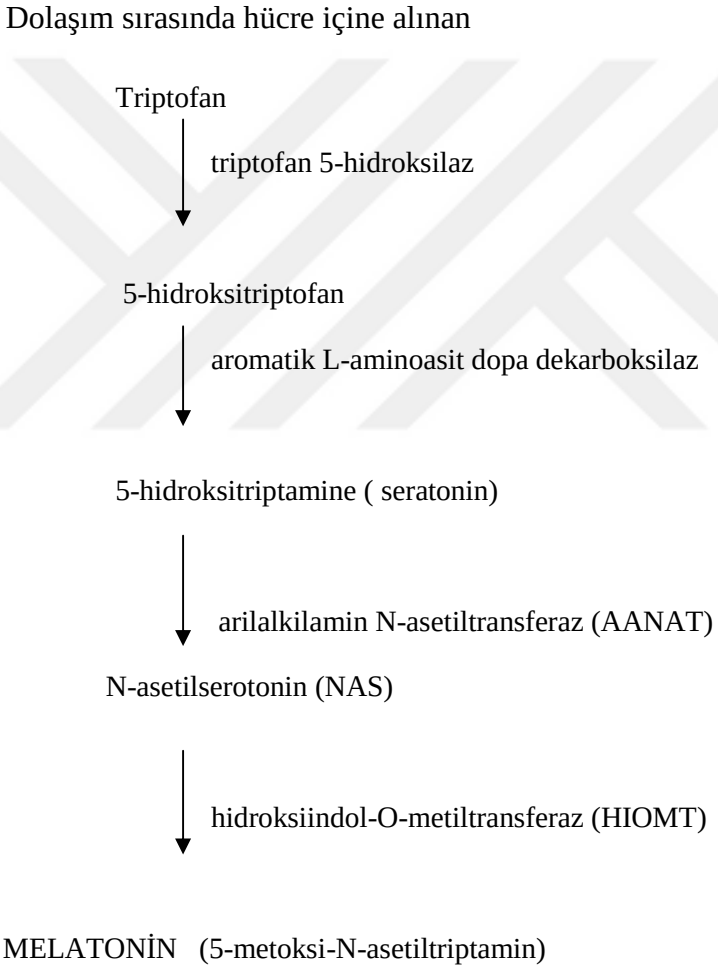
Pineal bez, çam kozalağına benzeyen şekli yüzünden bu adı almıştır. Beynin orta kısmında ve üçüncü ventrikülün arkasında bulunan; 5- 10 x 3-5mm ölçülerinde konik yapılı olup,100-150 mg ağırlıkta insan vücudunda bulunan endokrin bezler içinde en küçük olanıdır. Pineal bez kan-beyin bariyeri içermez ve 4 ml/dk/g kan akımıyla damarsal yapı bakımından böbreklerden sonraki en zengin dokudur (Reiter 1981). Yapısında pinealositler olarak yalnızca melatonin sentezlenmez, norepinefrin, dopamin, histamin, serotonin gibi biyolojik aminleri; somatostatin, LHRH(Lutein Hormonu Salgılatan Hormon), arginin, TRH(Tirotropin Salgılatan Hormon), vazopressin gibi peptidler sentezlenebilmektedir. Nöroglial hücreler 3. aya kadar baskınken daha sonra pinealositlerin artmaya başlamasıyla pineal bezin %95'inde baskın duruma gelir (Brzezinski 1997).

Pineal bezin uyarımında sempatik sistem baskındır. Superiyor sempatik gangliyondan kaynaklanan sinir lifleri internal karotid sinir ile beze ulaşır. Hacmiyle ilgili yapılan radyolojik çalışmalarda, hacminin doğumdan sonraki iki sene sonunda doğuma göre iki kat arttığı (Sumida ve ark 1996) yedi yaşına kadar büyümesinin sürdüğü, çocukluk sürecinde kalsifikasyonun başladığı ve pineal bezin yirmili yaşlardan itibaren değişmediği belirtilmiştir (Altun ve ark 2001).

Karanlık fotoperiyotta pineal bezden sentezlenmekte olan en önemli hormon melatonindir. Pineal bezin gösterdiği endokrin aktivitesi fotoperiyodik çevrenin etkisiyle artma veya azalma gösterir. Çevre şartlarındaki oluşan değişmeler canlılarda bir takım psişik ve metabolik cevaplara neden olur. Mevsimlere bağlı

olarak gelişen ışığın dalga boyundaki farklılıklar ve ışığın yoğunluğu pek çok memeli türünde endojen endokrin ritimlerine etki eden önemli bir potansiyel faktördür. Özellikle karanlıkta fotik (ışığa ait) impulslar taşımakta olan sempatik eferent lifler pineal beze ulaştığında pinealosit membranında norepinefrinin adrenerjik reseptöre bağlanması bir dizi reaksiyonun başlamasını sağlar. Pinealosit membrandaki adenil siklaz aktivitesi ve bununla birlikte cAMP yapımı uyarılır. Sonuç olarak diğer indolaminleri ve melatonin sentezleyen enzimlerin aktivasyonu gerçekleşir (Ebels ve Balemans 1986, Reiter 1991).

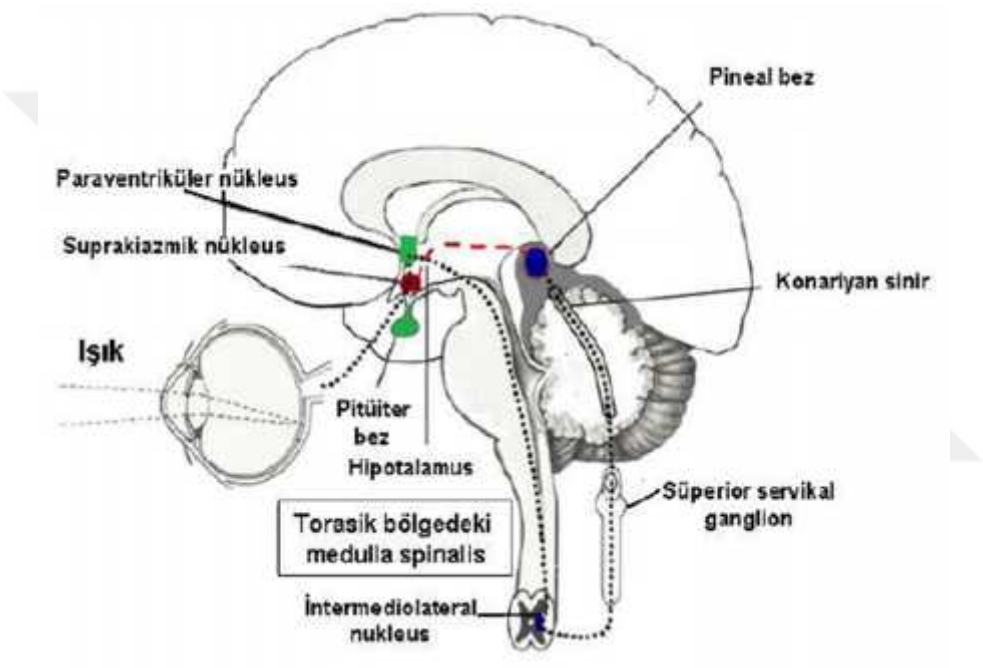
Pinealositlerde melatonin triptofandan sentezlenir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Pinealositlerde Melatonin sentezinin basamakları (Özçelik ve ark 2013)

Karanlıkla birlikte fotoreseptörler, hipotalamusta bulunan suprakiazmatik çekirdeği uyarır. “Biyolojik sirkadiyen saat” memelilerde suprakiazmatik çekirdek

olarak isimlendirilmektedir. Uyarılar suprakiazmatik çekirdekten torasik spinal kordun intermediyolateral kolonuna, daha sonrada superiyor servikal gangliyona ulaşarak buradan postgangliyonik sinirler yardımıyla pineal beze ulaşır (Şekil 1.2). Norepinefrinin pineal bez içinde bulunan postgangliyonik sinir uçlarından salınmasıyla pinealosit membranında bulunan α1 ve β1- adrenerjik reseptörler uyarılır ve hücre içindeki cAMP yapımı artar. Bu da aktivitesi geceleri daha yüksek olan ve melatonin yapım hızını düzenleyen AANAT aktivitesini artırır (Boutin ve ark 2000). Sonuç olarak seratoninden elde edilen melatonin sentezi ve salgılanmasında artma görülür.



Şekil 1. 2. Melatonin sentez yolağı (Özçelik ve ark 2013)

Gün ışığının olduğu saatlerde retina fotoreseptör hücrelerinin hiperpolarize olması ve retina hipotalamik-pineal sistemin sessiz olmasına bağlı olarak sessizdir bu nedenlerden dolayı melatonin az miktarda salgılanır (Arendt 2000).

Melatoninin “drakula hormon” adıyla bilinmesinin sebebi karanlıkta salınan bir hormon olmasıdır; melatonin salınımının baskılanması yalnızca gün ışığıyla olmaz belirli seviyedeki yapay ışıkta bu salınımın baskılanmasına sebep olur (Arendt 2000). İnsanlarda melatonin seviyesi, karanlık çökmesiyle (20:00 - 23:00), birlikte artmaya başlar, gecenin ortasında 01:00 ile 05:00 saatleri arasında en yüksek

seviyesine ulaşır, gecenin ikinci yarısındaysa giderek azalır (Altun ve ark 2001). Genç erişkinlerde gündüz ve gece ortalama tepe değerleri 10-60 pg/ml' dir. Melatoninin sirkadiyen salınım profili her bireyde sabittir. Fakat kişiler arasındaki melatonin seviyeleri çok farklılık gösterir. Melatonin seviyesinin gece maksimal 30-200 pg/ml arasında değişiklik gösterdiği, melatonin salınımında cinsiyetin etkisinin olmadığı ortaya konmuştur (Fourtillan ve ark 2001).

Melatonin yapımından sorumlu olan tek organ pineal bez değildir. APUD (amine precursor uptake and decarboxilation) diffuz nöroendokrin sistem içinde kabul edilir ve hücrelerinde melatonin sentezlendiği gösterilmiştir. Melatonin sentez edilen diğer hücreleri arasında endometrium, lakrimal bezler, böbrek, karaciğer, beynin diğer bölgeleri ile bronş, retina, adrenal bezler, over, gastrointestinal sistem, plasenta, testis ve timus bulunmaktadır. Ayrıca mast hücresi, naturel killer ve lökosit hücrelerinde de melatonin sentezlendiği gösterilmiştir (Altun ve ark 2001).

Melatonin yüksek hidrofilik ve lipofilik özelliğe sahiptir. Melatonin, vücutta depolanmadan vücut sıvılarına ve kana hızlı bir şekilde karışır. Melatonin hidroksilasyonla (6-hidroksimelatonin) karaciğerde büyük ölçüde hızlı bir şekilde metabolize olur ve glukuronik veya sülfürik asitle konjuge olur ve daha sonra idrarla vücuttan atılır. Melatoninin idrardaki başlıca metaboliti 6-sülfatoksimelatoninindir. 6-sülfatoksimelatoninin seviyesiyle serum melatonin seviyesi arasında yakın ilişki vardır. Gece idrarındaki 6-sülfatoksimelatonin seviyesi gece sentezlenen melatonin miktarını yansıtmaktadır. Melatonin, metabolize olduğu organlardan biri de böbreklerdir (Galley 2011).

İlk olarak karaciğerde metabolize olan melatonin, ikinci olarak böbreklerde metabolize olmaktadır. Yaklaşık %90'ı karaciğerden ilk geçişte metabolize olur ve mikrozomal enzimler aracılığıyla, 6. pozisyonda hidroksilasyona uğrarlar ve 6-hidroksimelatonine dönüşür. Oluşan bu madde daha sonra deaktivasyon ve detoksifikasyona uğratılarak daha az miktarda glukronit konjugatı veya yüksek miktarda sülfat halinde vücuttan dışarı idrarla atılır (Brzezinski 1997, Ü.Bilal. 1999).

1.2.2. Melatonin Sentez ve Salınımına Etki Eden Faktörler

Günün uzunluğunun mevsimsel fonksiyonlarla ilişkilendirilmesine fotoperiyodizm denilir. Fotoperiyodik değişmenin algılanmasında sağlam bir epifiz bezine ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir. Melatonin tüm canlılarda gece sentezlenip salgılanmaktadır. Sirkadiyen ritme uymaktadır. Sirkadiyen ritimse temel olarak aydınlık-karanlık siklusunu izlemektedir (Cassone 1990). Melatonin salgılanması pek çok türde gecenin uzunluğu ile bağlantılıdır. Melatonin salgılanması gecenin uzunluğuna bağlı olarak artmaktadır (Arendt 1995). Karanlık fazın başında ya da sonunda salgılamayı baskılayan ve ritmi düzenleyen ışıktır. Mevsimsel farklılığa bağlı olarak melatoninin salgılanması farklılık göstermektedir. Kışın salınım daha erken başlarken yazın salınım daha geç başlamaktadır. Kısa günlerde uzun süren melatonin salınımı görülürken, uzun günlerdeyse kısa süren melatonin salınımı görülmektedir. Sinyalin yorumu ve gün uzunluğu incelenmekte olan canlı cinsinin fizyolojisine bağlı olmaktadır. Melatonin sinyalinde kısa günden önce uzun günler sürecinin olması hayvanlarda üreme siklusunu geliştirmektedir. Melatonin salgısı kısa zamanlı ama kâfi miktarda ışık yoğunluğu olduğunda baskılanmaktadır (Cassone 1990).

Melatoninin sentez ve salınmasında etkili olan birçok faktör olmasına karşın bunlar içinde en önemli olanı ışıktır. Başka bir deyişle gündüz-gece ritmi, aydınlık-karanlık siklusu sentez ve salınımın düzenlenmesini denetler. Bu düzenleme sistemi “fotonöroendokrin kontrol” adıyla tanımlanmaktadır. Işık, melatonin sentezindeki sirkadiyen ritmin düzenlenmesinin yanında, akut olarak melatonin sentezini de baskılayabilir. Özellikle, gece boyunca gözlerin yapay ışığın etkisinde bırakılması sonucunda melatoninin nokturnal sentez ve salınımında ani bir düşüş oluşabilmektedir (Brainard ve ark 1994).

Genel anlamda, melatoninin baskılanma seviyesinin ölçülmesinde ışık şiddeti önemli bir parametredir. Baskılama gücü ışık uyaranının parlaklığının artmasına bağlı olarak, artış göstermektedir (Brainard ve ark 1994). Deney hayvanları üzerinde yapılmış olan çalışmaya göre, gece boyunca loş beyaz ışık (0.037 PW/cm²) uygulamanın melatonin seviyesinde bir düşüşe yol açmadığı daha yüksek şiddette olan (0.074 mikroW/cm²) ışığın gece 20 dakika süreyle uygulanmasının melatonin düzeyinde % 40-50’lik bir azalmaya sebep olduğu; ışığın

şiddeti daha fazla artırıldığındaysa (0.111-1.86 mikroW/cm²) % 80-95'lik bir azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (Yellon 1994, Yellon 1996).

1.2.3. Melatonin Reseptörleri

Melatonin sudaki çözünürlüğünün lipid çözünürlüğünden yüksek olması nedeniyle hücrelere kolayca girebilmektedir. Bu özelliğinden etkileri yalnızca membrana yönelik değildir. Sulu ortamda kısmen çözünmesi de melatoninin intrasellüler etkilerinin oluşmasına katkı sağlar. Son yıllarda yapılan çalışmalar nukleusta melatoninin yüksek konsantrasyonda bulunduğunu ve melatonin için spesifik bağlanma noktalarının olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlara göre melatonin etkilerinin tiroid ve steroid hormonlara benzer şekilde nükleustaki moleküler olaylarla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Penev ve Zee 1997).

Radyoreseptör deneyleri ve 2-[125I]iodo melatonine karşı melatoninli kantitatif in vitro otoradyografi, beyinde ve birçok vertebra türlerinin bazı periferal dokularında (insanlarda da dahil olmak üzere) spesifik hormon reseptörleri mevcudiyetinde açığa çıkmaktadır (Dubocovich 1995). Son kolonlama ve melatonin için G protein bağlı membran reseptörlerinin bir familyasının karakterizasyonu, hormonun reseptör aracılı etkilerinin anlaşılmasında temel bir gelişmedir (Reppert ve Weaver 1995).

İnsan ve memelilerde G protein bağlı (G protein-coupled receptor) iki farklı melatonin reseptörü bulunmuştur. Bu reseptörler MT1 ve MT2 olarak tanımlanmıştır. Bu reseptörlerin dışında amfibi ve kuşlarda MT3 reseptörü bulunmuştur. MT1 reseptörlerine hipofizin pars tubaralis kısmında ve hipotalamusun suprakiyazmatik nukleusunda rastlanmıştır. MT2 reseptörü ise retinada bulunmaktadır. MT1 ve MT2 reseptörlerinin serebellumda, retinal yollarda ve ganglion hücrelerinde de bulunduğu bildirilmiştir (Reppert ve Weaver 1995, Sugden ve ark 2004).

Serebral arter kontraktilitesi, renal fonksiyon, sirkadiyen ritm, üreme ve uykudan MT1 reseptörleri sorumludur. Memeli retinasında Ca+2-bağımlı dopamin salıverilmesi ve retinal fotopigment disklerinin fagositozu gibi ışığa bağlı olaylarda bu reseptörler rol oynar. MT1 reseptör aktivasyonu (GI proteinleri aracılığı ile) adenilat siklaz inhibisyonu ile 3'5' c-AMP düzeyinde düşüşe sebep olur. Ayrıca

MT1 reseptörlerinin, fosfolipaz aktivasyonu aracılığı ile araşidonat salıverilmesini stimüle ettiği gösterilmiştir (Song ve ark 1997).

Sinyal iletiminde MT1 reseptörleri ile benzer davranış sergileyen düşük çekim gücüne sahip MT2 reseptörlerinin G-proteinleri ile bağlı olduğu ileri sürülmektedir. MT2 reseptörleri MT1'lerden farkı MT2 reseptörlerinin aktivasyonunun fosfoinozitid (PI) hidrolizi ile kenetli olduğu ve selektif MT2 antagonisti uygulamanın bu hidrolizi geri çevirdiği belirtilmiştir (Dubocovich 1995).

Son bulgular aynı zamanda hormonun çekirdeksel hormon reseptörlerinin süper ailesi içinde bazı retionoid orfan (yetim) reseptörleri alt tipleri için doğal bir ligand olabileceğini ileri sürmektedir (Carlberg ve Wiesenberg 1995). Bu oldukça sınırlı bulgular, liganda bağlı transkripsiyonel kontrolün beyindeki ve periferik dokulardaki melatoninin bazı fizyolojik etkilerinin altında yattığı hipotezini ortaya çıkarmıştır (Penev ve Zee 1997).

Birçok çalışma, melatoninin reseptör aracılı olmayan antioksidan ve serbest radikal temizleme varlığını işaret etmektedir. Bunların çoğu suprafizyolojik hormon konsantrasyonlarının varlığında gözlenmiştir. Her ne kadar melatoninin bu etkileri önleyici ve / veya terapötik potansiyele sahip olsa da, onların fizyolojik önemini destekleyen kanıtlar sınırlı kalmaktadır (Reiter 1995).

1.2.4. Sıçanlarda Melatonin Yoksunluğu Oluşturmak İçin Kullanılan Yöntemler

Sıçanlarda melatonin yoksunluğu oluşturmak için deneysel olarak uygulanmakta olan iki farklı yöntem bulunmaktadır. Bunlar; sürekli (24 saat) ışığa maruziyet veya pineal bezin çıkarılması (pinealektomi, PLT) operasyonudur. Her iki yöntem de pineal bezin melatonin salgısını yok etme özelliğine sahip olduğu bildirilmektedir (Yılmaz ve ark , Simko ve ark 2012).

Genel olarak karanlık dönemi sırasında yapay ışık uygulamasının pineal bezinden melatonin üretimi ve salgısını azalttığı bilinmektedir (Knauer 1980, Reiter 1991). Sürekli olarak sıçanların 24 saat/gün ışığına uzun süreli maruz kalması dişi sıçanlardaki günlük aktivite ritimlerini bozmuştur (Albers ve ark 1981). Sabit düşük yoğunluklu ışık (5-10 lüks) esas olarak kan basıncı ve kalp hızı da dâhil olmak üzere kardiyovaskülar parametrelerdeki sirkadiyen ritmisiteyi bozmakta ve kan basıncı

ritmi, 1 mg/kg melatoninin intraperitonal enjeksiyonuyla yeniden eski haline getirilmemiştir (Witte ve ark 1998).

1.2.5.Melatoninin Genel Etkileri

Genellikle pineal bezden salındığı bilinmekte olan melatoninin, gastrointestinal sistemde kan düzeylerine kıyasla 10- 100 kat fazla olduğu iddia edilmektedir. Şener ve arkadaşlarının deneysel ülser üzerine yapmış oldukları çalışmada melatonin uygulamasının mukoza oksidan parametreler, histolojik değerlendirmeler ve asidite ile ülser indeksinde olumlu etkisi olduğu ve düzelme yaptığı gösterilmiştir (Sener-Muratoglu ve ark 2001, Sener ve ark 2004).

1.2.5.1 Melatoninin İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Melatoninin, melatonin reseptörleri aracılığıyla immün sistem hücrelerini etkilediği düşünülmektedir. Lökositler ve lenfositler üzerinde tespit edilen melatonin reseptörleri bunun ispatı olarak gösterilmektedir. Lenfositler üzerinde bulunan melatonin reseptörleri genellikle CD4 + T lenfositleri, B hücreleri ve CD8+ T lenfositlerinde bulunmuştur. Diğer yandan melatonin, nükleer melatonin reseptörüyle insana ait tek çekirdekli olan periferik kan hücreleri aracılığıyla sitokin üretimini destekler (Maestroni 2001).

Melatoninin bağışıklık sistemine üzerine olan etkileri arasında anti enflamatuvar etkisi de sayılmaktadır. Yapılan birçok çalışma melatoninin HIV, kanser ve bakteriyel enfeksiyonlar gibi bulaşıcı olabilen ve virüs içerebilen hastalıklarda etkili olabileceğini öne sürmektedir (Maestroni 1999).

Melatonin kuvvetli serbest radikal süpürücüdür. Bu etkisiyle nitrikoksit sentaz enziminin aktivitesini engelleyerek de antioksidan etki göstermektedir (Reiter ve ark 2000, Reiter ve ark(a) 2009, Reiter ve ark (b)2009). İskemi reperfüzyon hasarı, sepsis, yanık hasarı ve buna benzer iltihabi hastalıklarda nötrofil aktivasyonunun dokularda sebep olduğu oksidan hasarına da engel olduğu ifade edilmiştir. İmmün yanıt üzerinde melatoninin inhibitör tesiri molekülün antioksidan özelliğiyle alakalı olması dolayısıyla organ transplantasyonun da faydalı olabileceği

fikri ortaya atılmıştır. Bu ajanın toksisitesinin olmaması da transplantasyonda güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini desteklemektedir (Reiter ve Maestroni 1999).

Melatonin peroksit ve hidroksil radikallerinin güçlü süpürücüsüdür. E vitamininin süpürücü etkisi peroksit radikalini süpürücü etkisinden daha fazladır. Bu yüzden lipoperoksit radikaline karşı daha düşük nötralize edici etkisi olduğu bildirilmiştir (Escames ve ark 1997, Reiter ve ark 2000).

Serbest radikaller üzerine melatoninin dolaylı etkileri olduğu da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Melatonin, hidroperoksitlerin metabolize olmasını sağlayan GSH-Px enzimini aktif hale getirerek, O_2 radikalini H_2O_2'ye katalizini sağlayan SOD aktivitesini artırarak, NO oluşumuna neden olan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek ve oksidatif stres sırasında katalaz aktivitesindeki azalmaya engel olarak ta antioksidan etki göstermektedir (Reiter ve ark 2000, Reiter ve ark(a) 2009, Reiter ve ark (b)2009).

1.2.5.2 Melatoninin Psikiyatrik Hastalıklar Üzerine Etkileri

Melatonin düzeyi ve psikiyatrik hastalıkların arasındaki ilişki incelenirken yapılan çalışmaların pek çoğunu uyku-uyanıklık ve depresyon ile ilgili araştırmalar oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalarda psikiyatrik hastalıkların gelişmesinde pineal bezden kaynaklanan fonksiyon bozukluklarının etkili olduğu bildirilmektedir (Parry ve ark 1991).

Depresyondaki hastalarda kortizol sirkadiyen ritmi, deksametazon supresyon testi ve hipersekresyon sonuçları negatif bulunmuştur. Bunun nedeni ise pineal bez ve hipotalamus- hipofiz- adrenal bezi arasındaki ilişkinin bozulması olarak açıklanmıştır (Beck-Friis ve ark 1985). Yapılan çalışmalara bakıldığında depresyon hastalarında tedavi amaçlı kullanılan melatoninin uyku düzenini sağladığı ve depresyon belirtilerinde de gerilemeye sebep olduğu görülmüştür (Challet 2007).

Şizofreni hastalarında yoğun antipsikotik kullanıldığı dönem ve psikotik atak dönemlerinde belirgin uyku sorunları ortaya çıkmaktadır. Şizofren hastalarında

melatonin kullanımının yan etkiye sebep olmadan ve sirkadiyen ritmi bozmadan uyku sorunlarına çözüm olabileceği düşünülmektedir (Shamir ve ark 2000).

1.2.5.3 Melatoninin Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Kalp-damar sistemi üzerine melatoninin etkileri iki değişik mekanizmayla gerçekleşmektedir. Bunlar reseptör aracılı olan ve reseptör aracılı olmayan şeklinde ifade edilmektedir. Melatonin serebral arterlerde vazokonstrüksiyona sebep olurken periferal damar yataklarında vazodilatasyona sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarda miyokard ani, ölüm riski ve infarktüsü olan koroner kalp hastalarındaki melatonin seviyeleri düşük tespit edilmiştir (Sewerynek 2002, Dubocovich ve Markowska 2005). Şener ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada hiperlipidemili yüksek kolesterol ile beslenen hayvanlarda melatonin uygulanmış ve bunun sonucunda melatoninin antioksidan enzim etkinliklerini artırarak aortuda koruduğu bildirilmiştir (Şener ve ark 2004).

Yapılan son çalışmalara bakıldığında melatoninin kardiyovasküler sistem üzerine etkisinin reseptör ve non-reseptör aracılı olduğu gözlemlenmiştir. Serebral arterlerde vazokonstrüksiyona neden olan melatonin damar yataklarında ise vazodilatasyona sebep olmaktadır. Ani ölüm riski ve miyokart enfarktüsü bulunan hastalarda melatonin düzeyleri düşük tespit edilmiştir (Sewerynek 2002).

Melatoninin fizyolojik eksikliğine bağlı olarak oksidatif hasar ve hipoksinin artabileceği düşünülmektedir. Bu sebeple oksidatif hasardan kaynaklanan kalp rahatsızlıklarında melatonin kullanımının önem arz ettiği düşünülmektedir (Reiter ve Tan 2003).

Yapılan bir çalışmada hiperlipidemili hayvanlar yüksek kolesterol ile beslenmiş ve bu hayvanlara melatonin uygulaması yapılmıştır. Melatonin antioksidan enzim aktivitelerini artırarak bu hayvanların aortun da koruyucu etki yapmıştır (Şener ve ark 2004).

Gece boyunca yüksek dozda salınan melatonin kalp hızı ve kan basıncını düşürmekte ve buna bağlı olarakta yüksek tansiyonun dengelenmesinde önemli etkisinin olabileceği düşünülmektedir (Yıldız ve Akdemir 2009).

1.2.5.4 Melatoninin Kanser Üzerine Etkileri

Yapılan araştırmalara göre pinealektomi uygulanan hayvanlarda tümör oluşumunda hızlanma gözlenmesi, buna karşın bu hayvanlara tekrar melatonin uygulanmasıyla gelişimin yavaşlaması melatoninin tümör büyümesini yavaşlatıcı etkisini ortaya koymakta ve bu etki klinik çalışmalarla da desteklenmektedir. Melatoninin tümör hücrelerine antikanser etkisi ve direkt onkostatik etkisi antioksidan ve immün modülatör etkisine bağlanmaktadır (Carrillo-Vico ve ark 2006).

Pinealektominin veya melatonin yoksunluğu oluşturulmasının melanom, over, lösemi, hipofiz bezi, akciğer, karaciğer, prostatın deneysel kanser büyümesini ve metastazını arttırdığı, yüksek miktarda melatoninin ise bu dokulardaki kanser büyümesini baskıladığı tespit edilmiştir (Regelson ve Pierpaoli 1987)

Kanser tedavisinde melatonin, IL-2 ile birlikte kullanılmaktadır. İnterlökin 2'nin antikanserojenik etkisi çok yüksek dozlarda ortaya çıkar ve tek başına kullanıldığında ciddi toksik etkileri bulunur. Melatonin ve IL-2 kombinasyonunda, melatoninin IL-2'nin istenilen etkisini artırdığı gözlenmiş ve etkin IL-2 dozunun azaltılması sağlanmıştır. Bu kombinasyon metastatik böbrek kanseri, metastatik akciğer kanseri, metastatik kolorektal karsinom, metastatik hepatom, metastatik gastrik karsinom, metastatik endokrin tümörler, pankreatik tümörler ve meme kanserinde uygulanmış ve başarılı bulunmuştur (Lissoni ve ark 1995).

1.2.5.5 Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatoninin güçlü bir antioksidan olduğu hem invivo hem de invitro çalışmalarla kanıtlanmıştır (Hardeland ve ark 1995). Melatonin; doğrudan oksijen kaynaklı serbest radikalleri giderir, dolaylı olarak özgül melatonin reseptörleri yardımı ile antioksidan enzimleri aktif hale getirerek veya pro-oksidatif enzimleri aktivitesini engelleyerek koruyucu özellik gösterir (Şahna ve ark 2006). Melatonin kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilme özelliği sayesinde E vitamininden daha

üstün bir antioksidan olmasını sağlamıştır (Kuzmenko 1998). Doğal bir antioksidan olarak bilinen melatoninin glutatyondan 5 kat fazla OH radikalini nötralize etme özelliği gösterdiği ve E vitamininden 2 kat daha fazla peroksit radikal giderme özelliği olduğu saptanmıştır (Reiter 1996).

Antioksidan özelliğine sahip olan melatonin, yaşam fonksiyonlarında çok önemli yere sahip olan DNA'nın oksidatif hasardan korumasını sağlayarak tümör oluşumunu engeller. Bu durum, melatoninin güçlü radikal tutucu özelliği ve kimyasal ve zehirli maddelerin uzaklaştırıldığı yolları aktifleştirme özelliğinin sayesinde iki farklı işleviyle gerçekleşir. Bunun sonucunda kansere yol açan yapılar DNA'ya bağlanamamakta veya açığa çıkan zararlı maddeler hücrede birikememektedir. Kanser hücrelerinin gelişmesinde, büyümesinde ve çoğalmasında enerji kaynağı olarak rol alan linoleik asit vücutta üretilemediği için vücuda dışarıdan besinlerle alınmak zorundadır. Linoleik asitin kanserli hücreye girmesini engelleyen melatonin metabolize edilmesini de baskılamaktadır (Kerman ve ark 2005).

1.2.5.6 Melatonin ve Yaşlanma

Doğumdan sonra ki 3-4 aylık dönemde bebekte melatonin ritmi görülmez ve melatonin seviyesi oldukça düşüktür (Özçelik ve ark 2013). Gençlik dönemimde yetişkinlikte erişeceği düzeye ulaşır ve bu seviyede sabit kalır. Yaşın ilerlemesiyle birlikte melatonin seviyesinde gözle görülür bir düşüş gerçekleşir (Sack ve ark 1986).

Melatoninin sirkadiyen ritmi yaşlanma ile bozularak, demans gibi nörodejeneratif hastalıklar sonucunda ise salınımı tamamen yok olmaktadır. Melatoninin günlük ritmini koruyabilmek için dışarıdan farmakolojik olarak uygun miktarda melatonin uygulaması ve besinsel takviye veya kısıtlamalar yapılmakta ve bunun sonucunda yaşam süresinin uzatılması, yaşam kalitesinin arttırılması, erken yaşlanmanın önlenmesi ve çeşitli nörodejeneratif hastalıkların ortaya çıkma yaşının geciktirilmesi sağlanmaktadır (Reiter 1993). Yaşlanmayla birlikte antioksidan kapasitesinin azalması ve serbest radikallerin oluşturduğu hasardan dolayı organlarda işlevsel kayıp ve anatomik bozukluklar gözlemlenir (Mollaoğlu ve

Özgüner 2005). Bunun nedeni ise yaşla birlikte azalan melatonin hormonu olarak gösterilmektedir. Çünkü melatoninin beyin dokusunu oksidatif hasardan koruyan, lipit peroksidasyonunu azaltan ve antioksidan enzimleri uyaran bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Kerman ve ark 2005).

Yapılan çalışmalarda genç deney hayvanlarındaki pineal bez organ nakli yapılarak yaşlı deney hayvanlarına aktarıldığında yaşlı deney hayvanlarının hayatta kalma süresi anlamlı olarak uzatmakta, bu işlemin tersi uygulandığında yaşlı deney hayvanlarının pineal bezi genç deney hayvanlarına aktarımı, hayatta kalma süresini anlamlı olarak azaltmaktadır (Palaoglu ve ark 1994).

1.3. C-reaktif protein (CRP)

CRP, özellikle IL-6, TNF-alfa ve IL-1β uyarısıyla üretilen, başlıca karaciğerde sentezlenen, özellikle bakteri eradikasyonunda çok önemli işlevi bulunan bir akut faz proteinidir. Sağlıklı bireylerden alınan serumda çok kısıtlı miktarda bulunan (<1mg/dl) CRP seviyesi gün boyunca değişiklik göstermez (Meier-Ewert ve ark 2001). Akut miyokard enfarktüsü, akut enfeksiyonlar, maligniteler ve romatolojik hastalıklar gibi doku hasarının olduğu birçok vakada diğer pozitif akut faz reaktanlarında olduğu gibi CRP'nin de seviyesi artmaktadır. CRP seviyesi enflamasyon başladıktan sonra 4- 6 saat içinde yükselmeye başlar ve en yüksek değerine 24- 48 saat sonra ulaşır (Steel ve Whitehead 1994).

Normal seviyesinin 100-2000 katına kadar çıkabilir. Doku hasarı ve enflamasyon devam ettiği sürece CRP düzeyi yüksek olur, yarılanma ömrü ise 4-7 saat arasında değişiklik gösterir ve enflamasyon sonlandıktan sonra ancak 3-7 gün içerisinde normal seviyeye döner (Young ve ark 1991, Jaye ve Waites 1997) .C-reaktif protein metabolizmasındaki gerçekleşen bu değişiklik doku tamiri ve zedelenmesi ile sıkı bir paralellik gösterir (Jaye ve Waites 1997).

Serum CRP konsantrasyonunu laboratuvarlarda nefelometrik yöntemle kolay, güvenilir ve çabuk şekilde ölçmek mümkündür. Bu sebeple hastalığın aktivitesinin gösterilmesinde CRP' nin değişim hızı çok daha az ve yavaş olan diğer akut faz reaktanlarına göre üstünlüğü vardır (Jaye ve Waites 1997, Husain ve Kim 2002).

Cerrahi girişim, travma gibi bir tek uyaran sonrasında yükselen CRP düzeyleri günler sonra normal düzeylerine döner. CRP kullanımını araştıran çalışmalarda sepsis tanısında sınır olarak 50 - 100 mg/L üzerindeki değerler baz alınmış fakat mutlak bir sınır- değer belirlenmemiştir. Sepsis tanısında özgüllük % 40- 78 arasında, duyarlılık % 68- 98,5 arasında bulunmuştur. Sepsis tanısı konmasında tek bir ölçümle güvenilir sonuç alınabilen bir parametre olmadığı ve sepsis prognozu hakkında da yeterince bilgi alınamadığı sonucuna ulaşılmıştır. Hastalığın ilerleyen döneminde gerçekleşen artışı sebebiyle sepsis gibi çok dinamik olan bir süreçte yararlı olmayacağı, sepsis dışında bir çok sebepte yükselebilmesi (yanık, travma, enfarktüs, cerrahi vs.) sebebiyle özellikle YBÜ(Yoğun Bakım Ünitesi) hastalarındaki sepsis tanısında çok yararlı bir test olarak kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır (Carrol ve ark 2002, Mitaka 2005).

1.3.1. CRP' nin Enfeksiyon Hastalıklarında Kullanımı

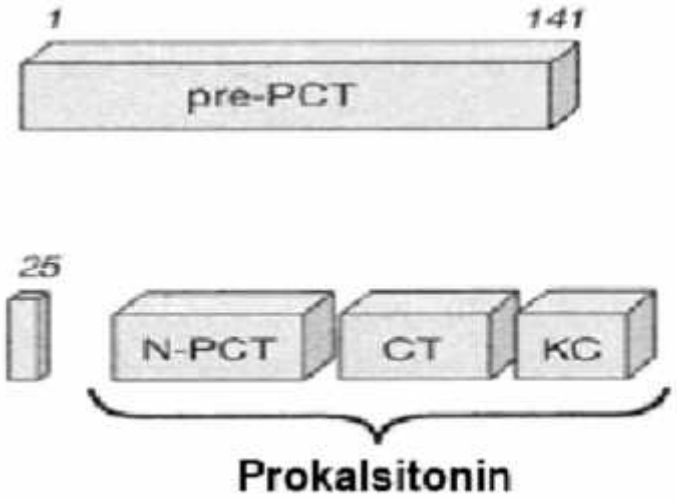
Ekseriyetle klinikte aynı bulguları gösteren bakteriyel ve viral enfeksiyonların ayrımı yapılırken, ciddi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin tedavi yanıtlarının değerlendirilmesinde ve gelişen komplikasyonların tespitinde CRP' den faydalanılır. Hastalığın seyrinin takibi için bir tek değer yeterli değildir, klinik bulgularla birlikte bir seri CRP ölçümleri daha fazla bilgi vermektedir (Jaye ve Waites 1997, Husain ve Kim 2002).

Genel olarak viral enfeksiyonlarda CRP değeri düşük bulunmasına karşın, invaziv akut bakteriyel enfeksiyonlarda daha yüksek tespit edilmiştir (Baumann ve Gauldie 1994, Steel ve Whitehead 1994, Jaye ve Waites 1997). Ama bu kural kesin değildir. Adenovirus, kızamık, sitomegalovirus, kabakulak, influenza ve diğer virüslerden kaynaklanan enfeksiyonlarda da yüksek olarak tespit edilebilir (Jaye ve Waites 1997). Diğer yandan CRP değerlerinin düşük olması da bakteriyel enfeksiyon ihtimalini ortadan kaldırmaz. Hastalık başladığı andan itibaren geçen ilk 12 saat içinde CRP düzeyi negatif tespit edilebilir. Bu sebeple klinik olarak bakteriyel enfeksiyon şüphesi varsa bir dizi CRP ölçümleri kullanılması gerekir (Kono ve ark 1999).

Genel olarak CRP seviyesindeki artış bakteriyel enfeksiyonlarda doku hasarına paralel olarak artış gösterir, ama enfeksiyonun etiyolojisi hakkında bilgi vermez (Jaye ve Waites 1997) . CRP bakteriyel enfeksiyonu tespit etmede kan beyaz küre sayısı ve ESH(Eritrosit Sedimantasyon Hızı)'den daha önemlidir (Valmari 1984, Ng 1997, Husain ve Kim 2002).

1.4. Prokalsitonin

Prokalsitonin ve kalsitonin sentezi karmaşık bir olaydır. Bu olay preprokalsitoninin trankslokasyonuyla başlar. Preprokalsitonin 141 amino asitten oluşur. Hücre içi proteolizle ilk aşamada 116 aminoasitten oluşan PKT, ikinci aşamada da 32 aminoasitten oluşan kalsitonin üretilir (Uludağ Yanaral 2009).



Şekil 1.3. Prokalsitonini oluşturan yapılar, Pre-PKT: Preprokalsitonin; KC: Katakalsin; N-PKT: N terminal bölge; KT:Kalsitonin (Uludağ Yanaral 2009)

Prokalsitonin, kalsitonin propeptididir ve normal şartlarda tiroid C hücrelerinden salgılanır. Sağlıklı bir insanda plazmada PKT değeri (5- 50 pg/ml gibi) çok düşük seviyelerde ölçülür. IL-6, TNF-alfa uyarısıyla karaciğer hücrelerinden ve bakteriyel lipopolisakkaridlerin uyarısıyla mononükleer hücrelerden sentezlendiği tahmin edilmektedir. Uyarı gerçekleştikten sonraki 3- 4 saat içinde artış başlar ve yaklaşık 6 saatte pik değerine erişir. PKT' nin yarılanma ömrü, 25- 30 saat arasındadır. Böbrek yetmezliği olan hastalarda yarılanma ömrü %

30 kadar uzamaktadır. Lokalize bakteriyel enfeksiyonlar, viral enfeksiyonlar ve enflamatuvar olaylar hafif artışa sebep olurken, sistemik bakteriyel enfeksiyonda PKT miktarında ciddi bir artış olduğu tespit edilmiştir (Carrol ve ark 2002, Mitaka 2005).

Sepsiste tanı koydurucu tam olarak oluşturulmuş sınır değer yoktur. Sınır değer farklılıkları ve hasta grupları ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda sepsis tanısında PKT özgüllüğü % 48- 94 ve duyarlılığı % 65- 97 arasında bulunmuştur (Carrol ve ark 2002, Mitaka 2005) . PKT değeri >2 ng/ml üzerindeyse ağır sepsis ve >11,6 ng/ml üzerindeki değerlerin septik şok tanısında yararlı olabileceği belirtilmiştir (Brunkhorst ve ark 2000). Yoğun bakımda, özellikle yenidoğan sepsisinde başarılı olduğu düşünülmektedir (Chiesa ve ark 1998).

Yapılan pek çok çalışmada PKT ve CRP kıyaslanmıştır ve genelde PKT enfeksiyon kaynaklı olmayan SIRS ve sepsis tanısı ile sepsis ayrımında CRP' ye göre daha başarılı olduğu kanaatine varılsa da bu konu tartışmalıdır. PKT sepsisin ağırlığını ve prognozunu göstermede daha başarılı olarak değerlendirilmiştir. Simon ve arkadaşlarının yaptıkları meta analiz sonucuna göre hastaneye yatırılmış olan hastalarda bakteriyel enfeksiyon tanısında CRP seviyesi ölçümünün PKT ölçümüne göre daha az faydalı olduğu sonucuna ulaşmışlardır (Simon ve ark 2004).

1.5. Lökositler (Akyuvarlar)

Lökositler vücudun savunma mekanizmasında görev alan hareketli kan hücreleridir. Bunlara beyaz kan hücresi denmesinin nedeni ise pigment kapsamamalarıdır. Alyuvarlara kıyasla daha büyük ve çekirdekli olan lökositler normal şartlarda 1mm³ kanda 4000 - 10.000 arasında bulunmaktadır. Ortalama sayılarının 6000 - 7000 civarında olduğu kabul edilir. Klinikte 1mm³ kanda 4000'den az sayıda bulunursa lökopeni, eğer 10.000'den fazla sayıda bulunursa lökositoz adı verilen durum meydana gelir.

Lökositler sitoplazmalarında özel boyalarla belirlenen granülleri ihtiva edip etmemelerine göre iki gruba ayrılır. Bunlar;

Granülositler; Granülositler kemik iliğinde miyeloid seriden gelişirler, hematolojik yöntemlerle boyandıkları zaman sitoplazmalarındaki granüllerin boya alma özelliğine göre granülositler 3'e ayrılır.

1- Nötrofil: Nötral boya alır, pembe leylak renktedir,
2- Eozinofil: Asit boya alır, kırmızı görünümdedir,
3- Bazofil: Bazik boya alır, koyu mavi renktedir.

Agranülositler; Bu grupta nükleus tektir. Agranülositler grubunda monositler ve lenfositler yer alır. Sitoplazmalarında ki granüller azur boya ile çok ince granüller olarak gözlemlense de granülositler kadar belirgin değillerdir.

1.5.1. Lökositlerin görevleri

Lökositler, ölü doku atıklarını, değişik yollarla vücuda giren mikroorganizmaları, yabancı partikülleri ya ürettikleri antikorlarla ve duyarlı lenfositlerle harap ederek ya da fagosite ederek yok etmeye çalışırlar. Diapedez ile doku aralıklarına girerler. Kemotaksis ile enflamasyonlu doku bölgelerine hareket ederler. Mikroorganizmaları ve yabancı maddeleri fagositoz işlemi ile sindirir ve yok ederler.

Akyuvarlar (lökosit) immünolojik savunmanın esas faktörleri ve bağışıklık sistemimizdeki en önemli savaşçılardır. Damar içinde dolanan lökositler tehlike sinyallerini aldıkları anda damardan ayrılıp ölü doku ve bakteri gibi yabancı cisimlerin bulunduğu bölgelerde etrafını sarabilirler. Lökositler plazma kaynaklı kan proteinleriyle birlikte organizmanın bütünlüğünü sağlarken bir askeri güce benzer şekilde görev yaparlar. Bu savaşçıların virüs ve bakterilerin yok edilmesinde görev alan farklı çeşitleri vardır.

1.6. Antioksidan Sistemler

Canlı hücrelerde bulunan okside olabilecek DNA, protein, karbonhidrat ve lipid gibi moleküllerin okside olmasını engelleyen veya oksidasyonu geciktirebilen yapılara antioksidanlar denir. Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak peroksidasyonu önler.

Antioksidanlar endojen ve ekzojen antioksidanlar olarak iki grup altında incelenir (Halliwell 1994). Endojen antioksidanlarda enzim yapısında (glutatyon peoksidaz, sitokrom oksidaz, glutatyon transferaz, süperoksit dismutaz, katalaz,) ve enzim yapısında olmayan antioksidanlar (metionin, ∂-karoten, glutatyon, E vitamini, bilurubin, melatonin, albumin, askorbik asit, , ferritin, sistein, hemoglobin, ürat, miyoglobin, laktoferrin, seruloplazmin, transferrin) bulunur (Halliwell ve Gutteridge 1984).

1.6.1. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit, non-enzimatik özellikteki oksidatif lipidperoksitlerin parçalanmasıyla meydana gelen toksik etkili son ürünlerden biridir. Üç veya daha fazla çift bağ taşıyan yağ asitlerinin eikozanoid sentezinde ve otooksidasyonunda serbestleşen döngüsel endoperoksitler MDA'nın esas kaynağını oluşturur. Bu lipid peroksidasyon ürünlerinin biyolojik ve toksik etkileri bulunmaktadır (Slater 1984, Yagi 1987, Valko ve ark 2007) . Bunların zararları önlenebilir özellikte olup ve uzun yaşam süreli olmaları bu bileşiklerin lipid peroksidasyonunda hedef organlardaki etkilerden sorumlu olduğunu akla getirmektedir. Yüksek konsantrasyondaki bu son ürünler hücre ölümüne sebep olmakta monooksijenaz sistem fonksiyonları, mitokondrial, protein sentezi, solunum ve benzeri fonksiyonları inhibe etmektedir (Dündar Y 1999).

MDA, fosfolipidlere, nükleik asitlere veya proteinlerin amino gruplarına bağlanarak toksik etkisini gösterir (Halliwell ve Gutteridge 1999). Lipid peroksit seviyelerinin tespitinde, MDA miktarının ölçümü sıklıkla kullanılmaktadır (Buege ve Aust 1978).

1.6.2. Total Oksidan Seviyesi

Oksidatif metabolizmanın seyri esnasında, çevresel toksinler ve ilaçların tesiriyle oksijen indirgenir ve sonuçta serbest oksijen radikalleri (SOR), diğer bir ifadeyle reaktif oksijen yan ürünleri meydana gelir (Gerschman ve ark 1954, Gate ve ark 1999) . Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş

elektron bulundururlar. Bu eşlenmemiş elektronlar diğer moleküllerle reaksiyona girer ve reaksiyona girdiği molekülün yapı ve fonksiyonlarında değişikliğe yol açabilirler.

Serbest oksijen radikalleri biyolojik sistemler için hem yararlı hem de zararlı etkilere sahiptir (Valko ve ark 2006) . Düşük ve orta derecedeki konsantrasyonlarda yararlı etkilerini gösterirler. Enfeksiyon ajanlarına karşı vücut savunması, mitojenik yanıtın başlatılması ve hücresel sinyalizasyonu yararlı etkiler arasında sayılabilir. Eğer antioksidan sistemler ile SOR arasında bir dengesizlik oluşursa, ortamda oksidasyona yatkınlık gelişir. Gelişen bu yatkınlık oksidatif stres olarak tanımlanır. Ve birçok patolojik olaya sebep olabilir (Sies 1986, Valko ve ark 2005). Antioksidanların aktivitelerindeki azalma ve/veya reaktif oksijen yan ürünlerinin fazla üretimi oksidatif strese neden olur (Krinsky 1992).

Serbest oksijen radikalleri temel vücut yapı taşlarından deoksiribonükleik asidin (DNA) yapısındaki nükleik asit bazları, hücre membran doymamış yağ asitleri, karbonhidratlar, lipidler ve proteinlerin tiyol grupları gibi önemli hedefleri oksitlerler. Buna bağlı olarak bu moleküllerde fonksiyon kaybına veya yapı değişikliklerine neden olarak, pek çok patolojik süreci başlatabilirler (Ceconi ve ark 2003).Yaşlanma, koroner arter hastalığı, enflamatuvar hastalıklar reperfüzyon hasarı ve kanser bu patolojik süreçlerden başlıcalarıdır (Ames ve Shigenaga 1992, Benzie 2000).

1.6.3. Total Antioksidan Seviyesi

Canlılarda oksidatif stresle baş etmek ve sistemlerin aksamadan çalışması için hayati önem taşıyan pek çok antioksidan sistem bulunur (Halliwell ve Gutteridge 1990). Artan oksidatif stres şartlarının üstesinden gelmek için hücre içi ve hücre dışı sıvıda bulunan antioksidanların seviyesi organizma tarafından arttırılabilir. Güçlü bir savunma oluşturmak için reaktif oksijen yan ürünlerine karşısında tek bir antioksidan maddenin karşı koyması yerine, pek çok antioksidan maddenin birlikte hareket etmesi gerekir. Buna askorbatı rejenere eden α-tokoferol sinerjizmi ve glutatyonu rejenere eden askorbik asit örnek gösterilebilir (Packer ve ark 1979, Stocker ve ark 1986). Bütün antioksidanların gerekli yerlere iletilmesinde kan dolaşımı merkezi rol oynamaktadır (Halliwell 1994, Davies 1995).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi ve Tıbbi Biyokimya Laboratuvarlarında yürütülmüştür. Hayvanlar 2015/37 sayılı etik kurul kararıyla Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilmiştir.

Araştırmada Wistar Albino ırkı yetişkin 4 - 5 aylık toplam 54 adet, 200–300g ağırlığında erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlarda sepsis modeli oluşturmak için çekal bağlama delme modeli uygulandı. Çekal bağlama delme modelini tercih etme sebebimiz; oluşturduğumuz sepsis modelin birden fazla mikroorganizmadan meydana gelmesi ve klinikteki septik şoka benzer bir tablo ortaya çıkmasıdır.

Sıçanlar rastgele seçilerek üç gruba ayrıldı.

Grup 1: SHAM-CLP (n=18)

Grup 2: CLP (n=18)

Grup 3: SHAM-PLT+CLP (n=18)

2.1. Gereçler

2.1.1. Kullanılan Kimyasallar

- Sunred MDA rat kiti
- Sunred CRP rat kiti
- Sunred PKT rat kiti
- Rel assay diagnostics TAS kiti

2.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

- Abbott Architect C16000 (Japan) cihazı
- Rayto-2100C Microplate Reader (India) ELISAcihazı
- Rayto-2600C Microplate washer yıkama cihazı
- Etüv (memmert)
- Santrifüj: Sigma 3K30

- Wistar Albino türü erkek sıçan
- Rompun (Ksilazin)
- Ketamin (Ketasol)
- Mikropipet (1000, 200, 10µl): Gilson
- Kırmızı kapaklı tüpler
- Mor kapaklı tüpler
- Enjektör (10 ml)
- 3/0 İpek ip
- 15 nolu Bistüri
- 18 gauge iğne

2.2. Yöntem

2.2.1. Kullanılan Deney Hayvanlarının Bakımı

Grup 1 ve Grup 3'teki hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodu uygulanarak, 21- 22 ^{o}C' de, su ve yiyecek kısıtlamasına gidilmeden barındırıldı. Grup 2'de bulunan hayvanlar ise 24 saat 202 lüks beyaz ışık altında (yapay pinealektomi), 21- 22^{o}C' de, su ve yiyecek kısıtlamasına gidilmeden barındırıldı. Ancak anestezi gerektiren işlemlerden 12 saat önce tüm sıçanlara yiyecek kısıtlaması uygulandı.

2.2.2. Gruplardaki Hayvanlara uygulanan işlemler

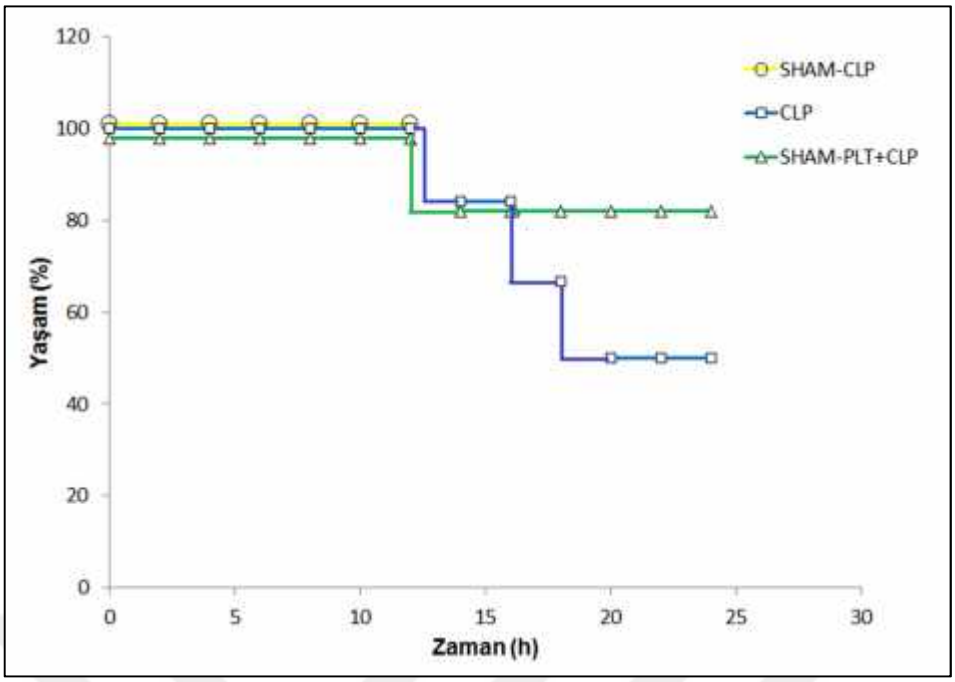
GRUP I (SHAM-CLP; n=18): Bu gruptaki tüm sıçanlara araştırmanın 1.gününden 10. gününe kadar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyoduna tabi tutuldu. Araştırmanın 10. gününde gruptan rastgele 6 sıçan seçilerek anestezi altında kalplerinden kan örnekleri alındı. Bu alınan kan örnekleri 0. Saat olarak kabul edildi. Bu amaçla Ketamin-Ksilazin anestezisi uygulandı. Hayvanlar anesteziye girer girmez göğüs boşluğu açılarak kan örnekleri bir enjektör vasıtası ile alındı. Kan örnekleri alınarak da sıçanların ölmesi sağlandı. Her sıçandan 8-10 ml arasında kan elde edildi. Kalan 12 sıçana CLP operasyonunda yapılan işlemlerin aynısı tek bir farkla yapıldı. Batın açıldı, çekum çıkarılıp tekrar yerine yerleştirildi ancak

çekuma herhangi bir delme ve bağlama işlemi yapılmadı. SHAM-CLP operasyonu uygulanan 12 sıçandan her seferinde rastgele 6 sıçan seçilerek 12. ve 24. saatlerde yukarıda anlatılan yöntemle kan alımıyla ölümleri sağlandı.

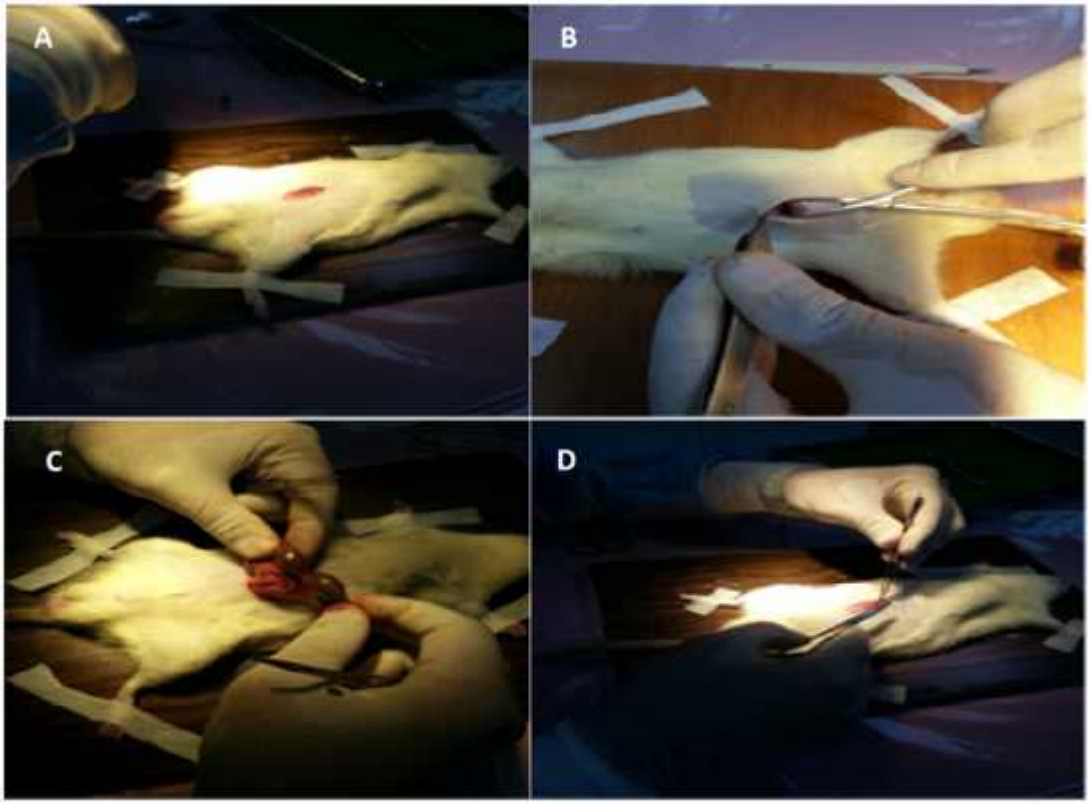
GRUP II (CLP; n=18): Bu gruptaki tüm sıçanlar araştırmanın 1. gününden 10. gününe kadar 24 saat 202 lüks beyaz ışığa maruz bırakıldı. Araştırmanın 10. gününde gruptan rastgele 6 sıçan seçilerek anestezi altında kalpten kan örnekleri alındı. Her sıçandan 8-10 ml arasında kan elde edildi. Bu alınan kan örnekleri 0. Saat olarak kabul edildi. Bu amaçla Ketamin-Ksilazin anestezisi uygulandı, hayvanlar anesteziye girer girmez göğüs boşluğu açıldı ve kan örnekleri bir enjektör vasıtası ile alındı. Kan örnekleri alınarak sıçanların ölmesi sağlandı. Kalan 12 sıçana CLP operasyonu yapıldı ve operasyon sonrası her seferinde rastgele 6 sıçan seçildi 12. ve 24. saatlerde yukarıdaki yöntemle kan örnekleri alındı.

GRUP III (SHAM-PLT+CLP; n=18): Bu gruptaki tüm sıçanlar araştırmanın 1.gününden 10. gününe kadar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyoduna tabi tutuldu. Araştırmanın 10. gününde gruptan rastgele 6 sıçan seçilerek anestezi altında kalpten kan örnekleri alındı. Her sıçandan 8-10 ml arasında kan elde edildi. Bu alınan kan örnekleri 0. Saat olarak kabul edildi. Bu amaçla Ketamin-Ksilazin anestezisi uygulandı, hayvanlar anesteziye girer girmez göğüs boşluğu açıldı ve kan örnekleri bir enjektör vasıtası ile alındı. Kan örnekleri alınarak sıçanların ölmesi sağlandı. Kalan 12 sıçana CLP operasyonu yapıldı ve operasyon sonrası her seferinde rastgele 6 sıçan seçilerek 12. ve 24. saatlerde yukarıdaki yöntemle kan örnekleri alındı. Tüm gruplardaki sıçanlardan alınan kanlar EDTA'lı ve düz kan tüplerine paylaştırıldı.

Bu çalışma sonucunda sıçanların hayatta kalma durumları Şekil 2.1'de verilmektedir. Şekil 2.1'de de görüldüğü gibi 24 saatin sonunda Grup 2 (CLP)' de bulunan sıçanlardan 3 tanesinde ölüm gerçekleşti. Grup 3 (SHAM-PLT+CLP)'te ise 12 saatin sonunda bir sıçan öldü.



Şekil 2.1. Çalışma sonucunda sıçanlarda hayatta kalma sonuçları



Resim 1: A: karnın 2cm genişliğinde kesilmesi, B: açıklıktan bağırsağa ulaşılması, C: bağırsağın bağlanması ve delinmesi, D: karnın tekrar kapatılıp dikilmesi

2.2. Biyokimyasal Analizler

Ratlardan alınan kan örnekleri 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 devir/dakika hızda 5 dakika santrifüj edildi ve serumlara ayrıldı. Test öncesine kadar -21^{0}C de muhafaza edildi.

2.3.1. CRP, MDA, PKT Tayinleri: Abcam (USA) marka rat ticari kitler kullanılarak, kit çalışma prosedürlerine uygun olarak Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarında bulunan Rayto-2100C Microplate Reader (India) cihazında, Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi ile CRP 5ng/ml-900ng/ml, MDA 0,3nmol/ml- 65nmol/ml, PKT 25pg/ml-7200pg/ml duyarlılık aralığında 450 nm'de analiz edildi. Birimler CRP- mg/L, PKT- ng/ml, MDA- nmol/ml'dir.

2.3.2. TAS Tayini: Serumları ayrılan kan örnekleri Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan Abbott Architect C16000 (Japan) cihazında, Rell Assay marka ticari kitlerle kalibrasyon- kontrol işlemlerinden sonra kolorometrik yöntemle analiz edildi. Sonuçlar mmol Trolox Ekivalent/L birimi cinsinden verildi. TOS analizi yeterli kan numunesi olmadığı için yapılamadı.

2.3.3. Lökosit Tayinleri (WBC): EDTA'lı kan tüplerine alınan örnekleri Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan Abbott CELL-DYN 3700 System (USA) cihazında analiz edildi. Sonuçlar K/mm^3 birimi cinsinden verildi.

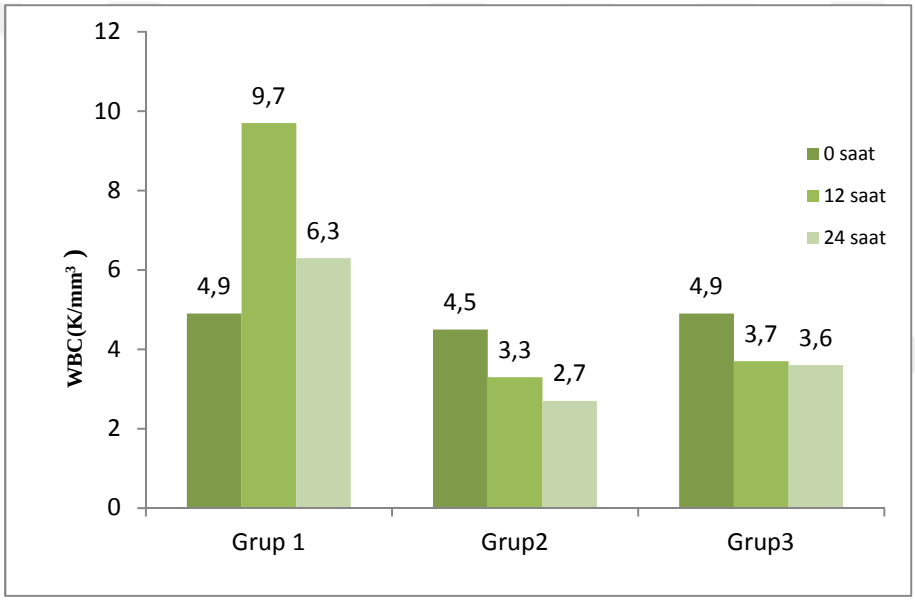
2.4. İstatistik Analizleri

Veriler normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Verilerimizin hiçbiri normal dağılım göstermediği için non-parametrik testler kullanıldı. Kruskal-Wallis Varyans analizi ile gruplar arasında farklılık tesbit edilirken; fark bulunan parametrelerin ikili karşılaştırmaları Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Grup içi farklılığın değerlendirilmesinde Wilcoxon Signed-Rank testi uygulandı.

3.BULGULAR

3.1.Lökosit, CRP, MDA, PKT, TAS Değerlerinin Süreye Bağlı Olarak Değişimi

Lökosit, CRP, MDA, PKT, TAS değerlerinin gruplar arası istatistik değerlendirmesi ve değişimleri Çizelge 3.1' de gösterilmektedir. Değerlerin süreye bağlı olarak değişimleri sırasıyla Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4. ve 3.5.'te grafikle gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Sıçanlarda çalışma gruplarının Lökosit (WBC) değerlerinin grafiksel gösterimi

Şekil 3.1' de ve Çizelge 3.1 görüldüğü gibi WBC değerleri açısından 0. saat ile 12. saat değer arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (p:0,028). Grup 2 ve Grup 3'te bulunan sonuçlar istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çizelge 3.1. Sıçanlarda WBC, CRP, MDA, PKT ve TAS Değerlerinin Grup içi Wilcoxon signed-rank testi sonuçları

		GRUP1 (12saat ışık)	GRUP2 (24saat ışık+çekal)	GRUP3 (12saat ışık+çekal)
WBC (K/mm^3)	0. saat	4,93(3,73-5,94)	4,54(2,31-5,98)	4,93(3,73-5,94)
	12. saat	9,67(5,19-10,70)[a]	3,33(1,56-3,74)	3,7(2,91-4,82)
	24. saat	6,37 (2,15-8,30)	2,76(1,75-8,94)	3,6(2,8-6,0)
CRP (mg/l)	0. saat	146,0(118,0-164,8)	153,3(132,6-172,1)	146,0(118,0-164,8)
	12. saat	151,3(130,9-164,6)	288,8(134,8-530,6)	416,7(214,4-542,7)[f]
	24. saat	213,9(142,6-447,9)	584,0(235,8-846,9)	619,1(361,8-800,2)
MDA (nmol/l)	0. saat	18,15(15,33-19,66)	16,53(15,34-19,55)	18,15(15,34-19,66)
	12. saat	18,90(14,54-20,66)	17,66(14,02-26,97)	18,37(16,44-19,80)
	24. saat	19,32(11,13-33,63)	16,95(15,47-17,69)	18,30(14,22-28,50)
PKT (ng/mol)	0. saat	1683(1531-2122)	1768(941-2328)	1683(1531-2122)
	12. saat	2285(1999-3615)[b]	2221(1646-2551)[e]	1738(1547-2594)
	24. saat	1839(1614-2464)[c]	2086(2050-2592)	2245(1839-2335)
TAS(mmol Trolox Eqv/L)	0. saat	2,2(1,8-2,4)	2,3(2,1-3,0)	2,2(1,8-2,4)
	12. saat	1,7(1,4-2,2)	2,1(1,7-2,2)	1,8(1,5-2,0)
	24. saat	1,4(1,3-1,4)[d]	1,3(1,2-1,9)	1,15(0,8-1,3)

a: Grup1 WBC 0.Saat-12. saat farkı p:0,028

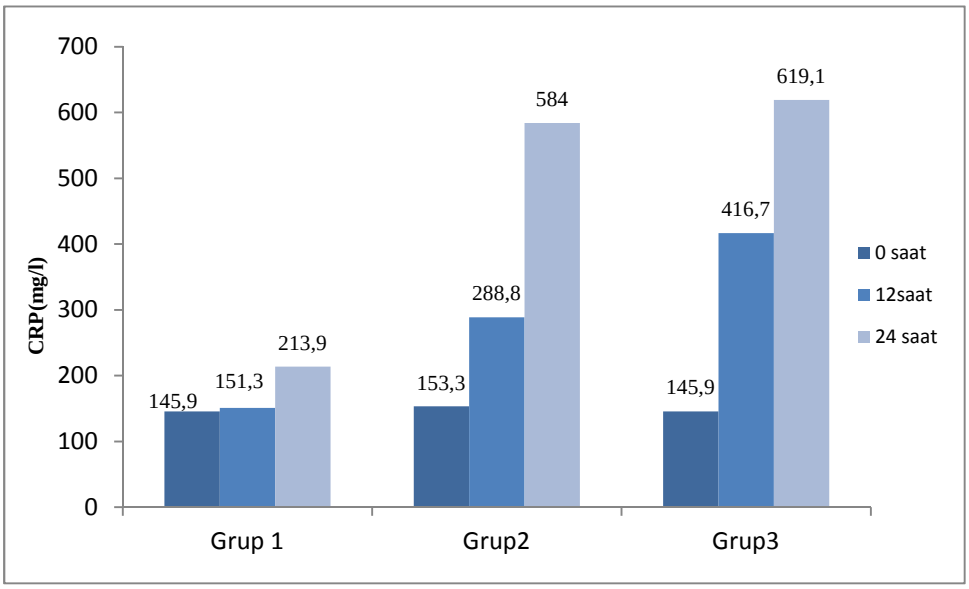
b: Grup1 PKT 0.Saat-12. saat farkı p:0,043

c: Grup1PKT 0.Saat-24. saat farkı p:0,046

d: Grup1TAS 0.Saat-24. saat farkı p:0,027

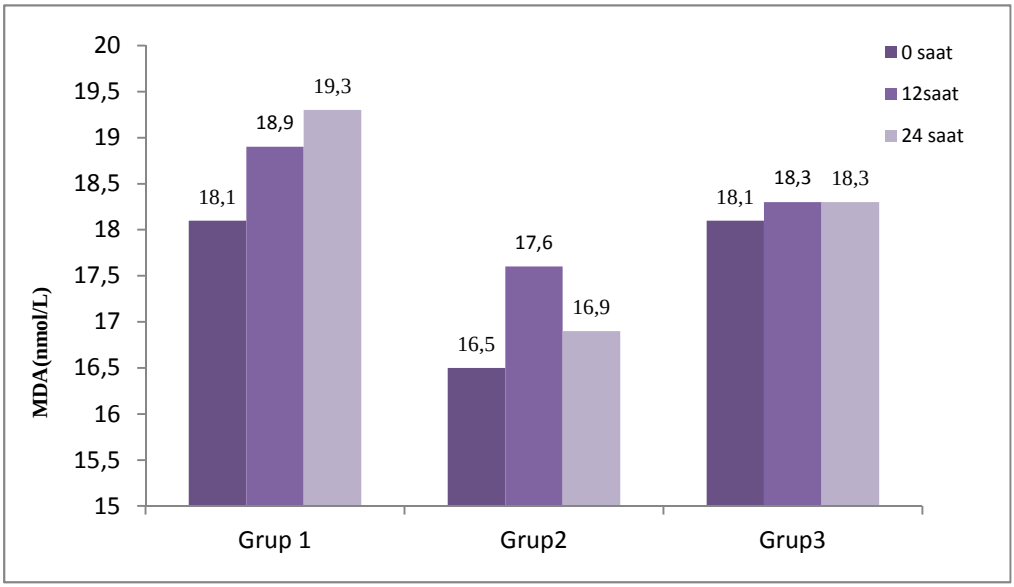
e:Grup2 PKT 0.Saat-12. saat farkı p:0,046

f: Grup3 CRP 0.Saat-12. saat farkı p:0,043



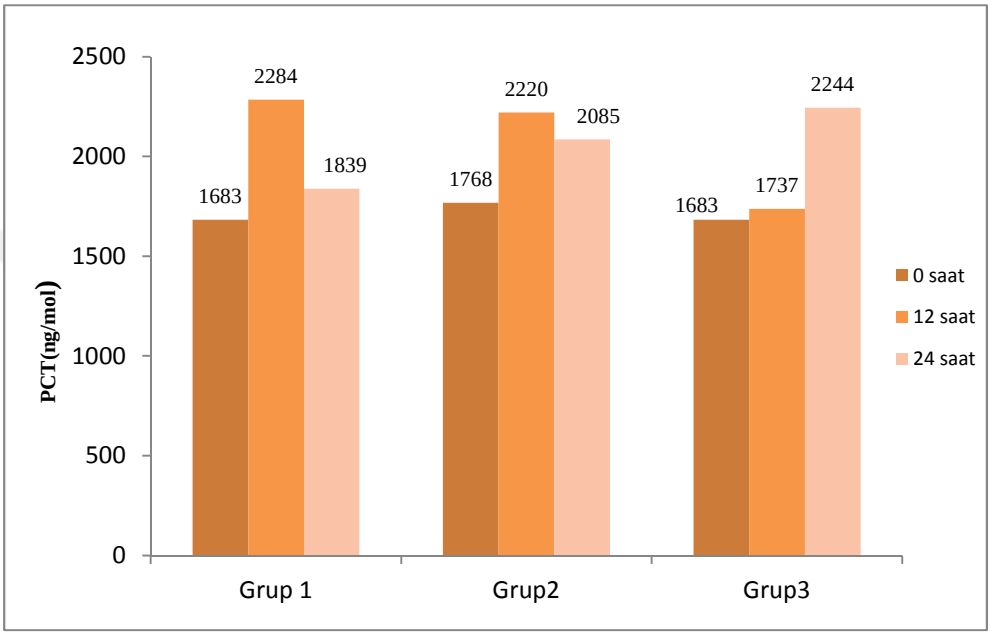
Şekil 3.2. Sıçanlarda çalışma gruplarının C-Reaktif protein (CRP) değerlerinin grafiksel gösterimi

Şekil 3.2'de sıçanlardan alınan kan örneklerinde gruplar içi CRP düzeylerindeki değişim görülmektedir. Zamana bağlı olarak CRP düzeylerinde artış olduğu gözlenmiştir. Yapılan istatistiki değerlendirmede Grup3' de ki bu artışın 0. ve 12. saatler arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (p:0,043). Grup 1 ve Grup 2' de CRP değerlerindeki değişimler istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.



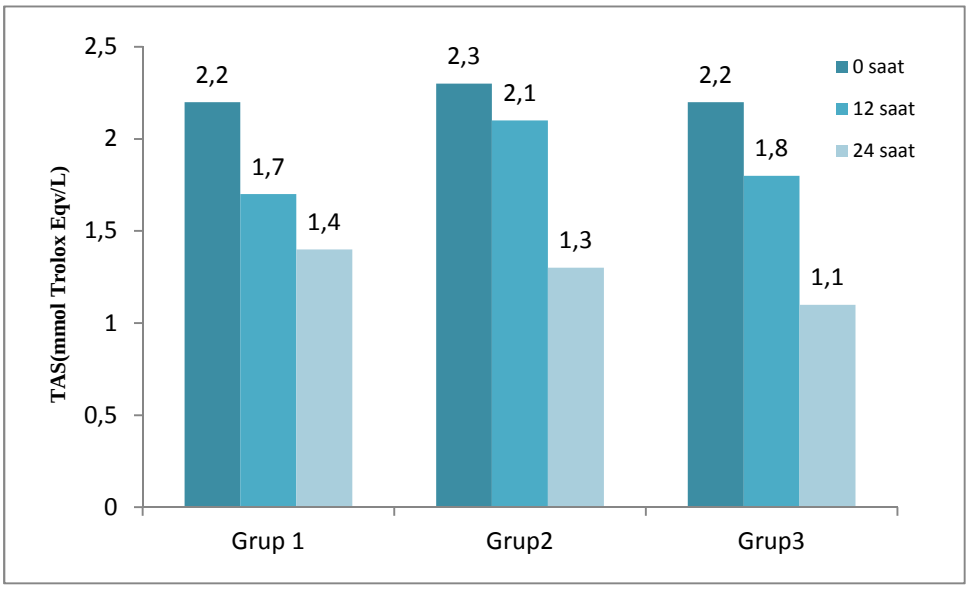
Şekil 3.3. Sıçanlarda çalışma gruplarının Malondialdehit (MDA) değerlerinin grafiksel gösterimi

Örneklerde ki MDA düzeyleri Şekil 3.3’ de görüldüğü gibi Grup1’ de 24 saatin sonunda SOR düzeylerinin yükselmesi ile birlikte arttığı gözlenmiştir. Zamana bağlı olarak meydana gelen bu artışta istatistiksel olarak anlamlılığa rastlanmamıştır. Grup 2 ve Grup 3’te elde edilen verilerde istatistiki olarak anlamlı sonuçlar tespit edilememiştir.



Şekil 3.4. Sıçanlarda çalışma gruplarının Prokalsitonin (PKT) değerlerinin grafiksel gösterimi

Şekil 3.4’ de görüldüğü üzere Grup1 ve Grup2 de PKT değerleri 0. saate göre 12.saatte istatistiki olarak anlamlı olan bir artış olmuştur (sırasıyla p:0,043, p:0,046). Buna karşın Grup3’ de anlamlı bir artış olmamıştır. Grup1 0. saat ile 24. saat değerleri arasında istatistiki olarak anlamlık bulunmuştur(p:0,046).



Şekil 3.5. Sıçanlarda çalışma gruplarının Toplam antioksidan seviye (TAS) değerlerinin grafiksel gösterimi

TAS değerleri zamana bağlı olarak değerlendirildiğinde Şekil 3.5' te de görüldüğü gibi Grup 3 0. Saat ile 12. Saat değerlerindeki düşüşün istatistiki olarak anlamlı olduğu bulunmuştur(p:0,043). Grup 1 ve Grup 2' de TAS değerlerinde istatistiki anlamlılık tespit edilmemiştir.

3.2. 12/24 Saat Işık Uygulamaları ile Lökosit, CRP, MDA, PKT ve TAS Değerlerindeki Değişim

Lökosit, CRP, MDA, PKT ve TAS değerlerinin ışık-süre kombinasyonları için tanımlayıcı istatistikler Çizelge 3.2.'de verilmektedir. Burada 12 saat ışıkta kalanlarla 24 saat ışık altında bekletilerek melatonin yoksunluğu oluşturulan ratlardan alınan kan örneklerinin Lökosit, CRP, MDA, PKT ve TAS değerleri verilmiştir. Çalışma parametrelerinin başlangıç değerlerinde 24 saat ışık altında tutulan denekler ile 12 saat ışık / 12 saat karanlıkta bekletilen deneklerden elde edilen değerlere göre değişimlerin olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

12. saatte ki Lökosit sonuçların da lökositoz gelişen Grup 1 ile lökopeni gelişen Grup 2 ve Grup 3 arasında istatistiki olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur (sırasıyla;

p:0,008, p:0,012). Ayrıca Grup 1 ve Grup 3 arasında 12. ve 24. saatteki CRP değerleri anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla; p:0,018, p:0,038). 24. saatteki TAS değerlerinde de Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı fark bulunmuştur (p:0,022).

Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda 12 saat ışık/12 saat karanlıkta tutulan ratlarda(Grup 1) lökositoz 12. saatte oluşmakta 24. saatte normale doğru düşüş gözlenmiştir. 24 saat ışıkta tutulan ve çekal delme yapılan Grup 2 ve 12 saat ışık/12 saat karanlıkta tutulan ve çekal delme yapılan Grup 3 de ise 12. ve 24. saatlerde sepsise bağlı lökopeni oluşmuştur.

Çalışmamızda 12 saat ışık ve 12 saat karanlıkta tutulan ve karın bölgesinde aç-kapa işlemi yaptığımız Grup 1'deki ratlar ve 24 saat ışık altında tutulan ve çekal uygulaması yapılan Grup 2' de enfeksiyona bağlı olarak ilk 12 saat içerisinde PKT düzeylerinde hızlı bir yükseliş gözlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçları değerlendirdiğimizde, Grupların hepsinde oksidatif strese bağlı olarak ilk 12 saatte MDA değerlerinde artış gözlenmiştir.

Çalışmamızda CRP değerlerinin oluşturulan sepsis modeline bağlı olarak Grup 2 ve Grup 3'te ilk 12 saatte artış gösterdiği , 24. saatte ise yükselmenin devam ettiği görülmüştür. CRP değerlerindeki artış yönündeki değişim, sepsis modelinin ratlarda oluştuğunu göstermektedir.

24 saat ışık altında tutularak melatonin yoksunluğu oluşturduğumuz grupta (Grup 2) oksidatif stres fazla olduğu için TAS değerlerinin diğer gruplara (Grup 1-Grup 3) göre daha yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. TAS değerlerinin zamana bağlı olarak örneklerde düşmesi enfeksiyonda/sepsiste anti oksidanların kullanılarak tükenmesini göstermektedir.

Çizelge 3.2. Sıçanlarda WBC, CRP, MDA, PKT ve TAS Değerlerinin Gruplar arası Kruskal-Wallis varyans analizi ve Bonferroni düzeltmesi sonuçları

		GRUP1 (12saat ışık)	GRUP2 (24saat ışık+çekal)	GRUP3 (12saat ışık+çekal)	p
0. saat	WBC	4,93(3,73-5,94)	4,54(2,31-5,98)	4,93(3,73-5,94)	0,996
	CRP	146,0(118,0-164,8)	153,3(132,6-172,1)	146,0(118,0-164,8)	0,643
	MDA	18,15(15,33-19,66)	16,53(15,34-19,55)	18,15(15,33-19,66)	0,853
	PKT	1683(1531-2122)	1768(941-2328)	1683(1531-2122)	0,983
	TAS	2,2(1,8-2,4)	2,3(2,1-3)	2,2(1,8-2,4)	0,141
12. saat	WBC[a,b]	9,67(5,19-10,7)	3,33(1,56-3,74)	3,7(2,91-4,82)	**0,003**
	CRP[c]	151,3(130,9-164,6)	288,8(134,8-530,6)	416,7(214,4-542,7)	**0,034**
	MDA	18,90(14,54-20,66)	17,66(14,01-26,97)	18,37(16,44-19,80)	0,948
	PKT	2285(1999-3615)	2221(1646-2551)	1738(1547-2594)	0,326
	TAS	1,7(1,4-2,2)	2,1(1,7-2,2)	1,8(1,5-2)	0,089
24. saat	WBC	6,37(2,15-8,30)	2,76(1,75-8,94)	3,64(2,80-6,02)	0,437
	CRP[d]	213,9(142,6-447,9)	584,0(235,8-846,9)	619,1(361,8-800,2)	**0,025**
	MDA	19,32(11,13-33,63)	16,95(15,47-17,69)	18,30(14,22-28,5)	0,492
	PKT	1839(1614-2464)	2086(2050-2592)	2245(1839-2335)	0,227
	TAS[e]	1,4(1,3-1,4)	1,3(1,2-1,9)	1,15(0,8-1,3)	**0,050**

a: 12. Saatteki WBC Grub 1-Grub 2 arasında ki fark p:0,008

b: 12. Saatteki WBC Grub 1-Grub 3 arasında ki fark p:0,012

c: 12. saatteki CRP Grub 1-Grub 3 arasında ki fark p:0,018

d: 24. saatteki CRP Grub 1-Grub 3 arasında ki fark p:0,038

e: 24. saatteki TAS Grub 1-Grub 3 arasında ki fark p:0,022

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada sepsis oluşturulan ratlarda melatonin yoksunluğunun serumdaki Lökosit, Prokalsitonin, Total Antioksidan seviyeleri, C-Reaktif Protein ve Malondialdehit düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

4.1.Lökosit

Sepsis sonrası terminal faz olan DİK(Dissemine İntravasküler Koagülasyon)'nun patogenezisinde; vücudun yangısal dengesinin bozulmasına sebep olan enfeksiyonlar, yanık, travma ve buna benzeyen ağır klinik sebepler ve oluşan fizyolojik anormallikler, bir dizi sistemik yangısal reaksiyonlar meydana getirmekte ve lökositlerin bu reaksiyonlara katılımıyla nötrofilik enzimler ve serbest oksijen radikalleri açığa çıkarak doku hasarına sebep olmaktadır (Gaviria ve ark 1998).

Sistemik enflamatuvar yanıt sendromunun tanı kriterleri arasında yer alan lökositoz, rutin olarak alınan kan örneklerinden otomatik kan sayımı cihazı ile saptanabilmektedir. Diferansiyel sayımla ayırt edilen lökosit türleri sayesinde, septik şokta lökositoz oluştuğu sırada sitokinlerin uyarmasıyla kemik iliğinden nötrofil ve öncüllerinin salınmasında bir denge gözlenir. Bu dengeyle birlikte nötrofil hâkimiyetinde geniş salınımlar gözlenir (Márta Lapsley 2014).

Yapılan çalışmalarda ilk 24 saatte yapılan toplam lökosit sayısı ölçümlerinin sepsiste erken tanı koymakta faydalı olduğu bildirilmektedir (Chiesa ve ark 1998, Adnan 2004, Chiesa ve ark 2004).

Uygun ve arkadaşlarının sıçan sepsis modelinde asimetrik dimetilargininin rolünü araştırdıkları çalışmalarında sham ve sepsis gruplarındaki biyokimyasal ve hematolojik değerlere bakmışlardır. Lökosit değerlerini sham grubunda 9500 (±1600) ve sepsis grubunda 10000 (±2700) hücre/mm^3 olarak tesbit etmişlerdir (Uygun ve ark 2010) .

4.2.Prokalsitonin

Gönüllü deneklerle yapılan çalışmada düşük miktarda bakteri endotoksini damara enjekte edilerek PKT salınımı sağlanmıştır. İnjeksiyonun gerçekleşmesinden 2-4 saat sonra PKT saptanmaya başlar ve hızla yükselmeye devam ederek 6-12 saat sonra en üst düzeye ulaşır. 24-48 saat boyunca PKT konsantrasyon seviyesi sabit kalır.2 gün sonra tekrar normal seviyeye iner (Meisner 2000, Carrol ve ark 2002).

Liu ve arkadaşları çalışmalarında PKT nin sepsis ve sistemik inflamatuvar cevap sendromu olan hastaları ayırt etmek ve bu hastalıkların kontrolünü sağlayabilmekteki rolünü araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda prokalsitonin ve interlökin-6 seviyelerinin hastalığın ilerlemesiyle başka iltihabi reaksiyon ölçütlerine göre farkedilir düzeyde artış gösterdiği gözlemlenmiştir (Liu ve ark 2005).

Assicot ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, PKT seviyelerinin bakteriyemisi ve sistemik infeksiyonu olan hastalarda, bakteriyel infeksiyonu ve viral infeksiyonu olan hastalara göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır (Assicot ve ark 1993).

Prokalsitoninin sepsisteki rolü tam olarak anlaşılamasa da, bu alanda yapılan araştırmalarda insanların lökositlerinde katakalsin antikorları kullanıldığında prokalsitonine benzeyen aktiviteler oluştuğu gözlemlenmiştir (Oberhoffer ve ark 1997).

4.3.Malondialdehit

Artan oksidatif stresin göstergesi olan Malondialdehit, aktif rol aldığı ve lipid peroksidasyonunda artış görülen hastalıklarda belirteç olarak kabul edilebilir. Çoklu doymamış yağ asitleri peroksidasyonu bütün biyolojik aktivitelerde MDA ‘nın temel kaynağıdır (Pryor ve Stanley 1975).

MDA bir lipid peroksidasyon ürünü olduğundan, peroksidasyonun arttığı düşünülen pek çok patolojik olayda bir oksidatif stres belirteci olarak çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar MDA’nın farklı kanser türlerinde kanserin başlamasına neden olan bir parametre ve aynı zamanda lipid peroksidasyonununda belirteci olduğunu

göstermiştir. Malondialdehit seviyesinin yüksek olduğu kanserler arasında mide kanseri, meme kanseri,kronik miyelositer lösemi ve serviks sayılabilir (Akbulut ve ark 2003, Bakan ve ark 2003).

MDA, kollagen gen ekspresyonunu ve üretimini artırmakta ve Kupffer hücrelerini aktive ederek profibrogenetik sitokinleri(TGF-ß1) salınımına etki etmektedir. Bu özelliklerinden dolayı, hücresel hasarın derecesinin ölçülmesinde lipid peroksidasyonun son ürünlerinden olan MDA ölçümü kullanılmaktadır. ROS'un direk ölçümü zordur.Oksidatif durumu ölçebilmek için moleküler ve enzimatik antioksidanların doku ve kandaki düzeylerine bakılır (Cross ve ark 1987, Britton ve Bacon 1994).

Ayan ve ark. deneysel sepsis modeli oluşturdukları sıçanlarda glutatyon, myeloperoksidaz, plazma ve doku Mda Düzeyleri üzerine N-Asetilsistein ve erdosteinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında plazma MDA değerlerini kontrol grubunda 5. 47 ± 2.64 nmol/ml ve sepsis oluşturulan grupta 11,48 ± 5,82 nmol/ml olarak bulmuşlardır (Ayan ve ark 2009).

4.4.C-Reaktif Protein

CRP en başta enfeksiyon olmak üzere yaralanma, cerrahi, travma, tümör ve doku nekrozu gibi inflamatuvar veya ateş durumlarına cevap olarak karaciğerde IL-6'nın uyarısıyla sentezlenir.

CRP kan düzeyleri 4-6 saatte yükselir, genellikle 24-36. saatte en yüksek düzeyini yakalar (negatif prediktif değeri % 100'e yaklaşır), yarı ömrünün 19 saat olduğu bildirilmiştir; ancak organ (karaciğer) yetmezliği durumunda sentezinin düşmesi beklenir .

CRP dolaşıma girdikten sonra immün yanıta katılır, zedelenmiş hücre duvarı ile CRP-ligand komplekslerini oluşturur; bu kompleks kompleman aktivasyonu yapar ve fagositik hücrelere bağlanır, böylece immün cevap kuvvetlenir (Du Clos 2000).

CRP düzeyinin düşük olması bakteriyel enfeksiyon ihtimalini ortadan kaldırmaz. Hastalığın başlangıcından itibaren ilk 12 saat içerisinde CRP değeri

negatif bulunabilir. Bu yüzden klinik olarak bakteriyel enfeksiyondan şüpheleniliyorsa bir dizi CRP ölçümü yapılmalıdır (Kono ve ark 1999).

Genel olarak bakteriyel enfeksiyonlarda CRP düzeyindeki yükselme doku hasarı ile paralellik gösterir, fakat enfeksiyonun etiyolojisini göstermez (Jaye ve Waites 1997) .

Sıçanlarda iki farklı yöntemle sepsis modeli oluşturulan çalışmada çekal bağlama yönteminde CRP değerleri ortalamasının 0,6 ± 0,4 mg/dl, bakteri uygulması yönteminde ise CRP değerleri ortalamasının 0,5 ± 0,4 mg/dl olduğu rapor edilmiştir (Karaca ve ark 2003).

4.5.TAS

Memelilerde oksidatif stresle baş etmek üzere pek çok antioksidan sistem bulunur ve sistemlerin aksamadan çalışması için hayati önem taşır (Halliwell ve Gutteridge 2015).

Günümüzde sepsis tedavisinin temelini antimikrobik ve destekleyici tedavi oluşturmaktadır. Oksidan ajanların rolünün her gecen gün biraz daha anlaşılması, tedavinin de antioksidanlar üzerinden yürütülmesi ile ilgili çalışmaları artırmaktadır. Serbest radikaller, sitokinlerin sentezini tetikleyerek sepsiste rol alırlar. Yapılan çalışmalarda sepsisde ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin etkilerini nötralize etmek için uygulanan antioksidan ajanlardan alfa tokoferol analoglarının sepsisdeki sağkalımı uzattığı gösterildi (Powell ve ark 1991).

Sırça ve ark' nın splenektominin sıçanlarda intestinal obstrüksiyona bağlı ortaya çıkan bakteriyel translokasyon ve enflamatuvar yanıt değişiklikleri üzerine etkisinin araştırılması ile ilgili yapmış oldukları çalışmada TAS değerlerinin ortalaması sham grubunda 0,72 ± 0,07 mmol Trolox Eq/L, intestinal obstrüksiyon yapılan grupta 0,71 ± 0,1 mmol Trolox Eq/L, spelenektomi+intestinal obstrüksiyon uygulaması yapılan grupta ise 0,69 ± 0,1 mmol Trolox Eq/L tespit edilmiştir. Sonuçlar kıyaslandığında düşüş gözlenmiştir fakat istatistiki olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir (Sırça ve ark 2012).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sepsis oldukça riskli komplikasyonları olan önemli bir hastalıktır. Bu çalışma ile sepsis tanısı konmuş insanlarda melatonin salgılanmasını azaltan faktörlere maruz kaldıklarında ne gibi değişimlerin olabileceğinin öngörülmesi sağlanabilmiştir.

CRP değerleri açısından Grup 2'de yani çekal uygulanmış ve 24 saat ışık altında tutulan sıçanlarda 12.saat ile 24.saat sonunda sonuçlar 288.8'den 584.0'a yükselerek yaklaşık 2 katlık (584.0/288.8=~2.0) bir yükselme gösterirken, Grup 3'te yani çekal uygulanmış ve 12 saat ışık +12 saat karanlık altında tutulan sıçanlarda ise bu değeler 416.9'dan 619.1'e yükselerek sadece 1.5 katlık (619.1/416.9=~1.5) bir artış gerçekleşmiştir. Bu katsayısal artışlar arasındaki farklılıklar, 12 saat ışık +12 saat karanlık uygulamasının CRP değerlerinde baskılayıcı yönde etki ettiği anlaşılabilir.

MDA açısından değerlendirildiğinde Grup 2 ve Grup 3 arasındaki farklılıklar 0.saat ve 12. Saatler arasında daha belirgin olduğu belirlenmiştir. Grup 2'deki MDA değerleri 0.saat 16.53'ten 12.saat 17.66'ya yükselirken bu değer Grup 3'te herhangi belirgin bir değişim göstermediği belirlenmiştir.

MDA'ya benzer duruma PKT değerlerinde de rastlanılmıştır. PKT değerlerinde de Grup 2'deki 0.saat ile 12.saat arasındaki değerlerdeki artış katsayısı 1.26 olurken, Grup 3'te bu artış göz ardı edilecek kadar gerçekleşmiştir.

CRP, MDA ve PKT değerlerindeki değişim göz önünde bulundurulduğunda sepsisli sıçanların 12 saat ışık altında tutulması, 24 saat ışık altında tutulmasına göre daha olumlu sonuçlar verebileceği sonucu çıkartılabilir.

Bu çalışmada melatoninin immün sistem üzerindeki bilinen etkisinden faydalanılarak, septik şok oluşturulan ratlardaki WBC, MDA, PKT, CRP ve TAS değerlerinin saate bağlı olarak değişimi incelendi. Işık, süre, ışık-süre kombinasyonlarını ayrı ayrı karşılaştırıldı. Sonuçlar değerlendirildiğinde sepsis modeli oluşumunun gerçekleştiği kanısına varılabilir.

Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda gelişen sepsisin tedavisi sırasında, melatonin seviyesini artırarak tedavinin hızlanmasına katkıda bulunulabilir.

6. KAYNAKLAR

Adnan ÖM, 2004. Enfeksiyon Hastalıkları. Türk Neonatoloji Derneği Neonatoloji. Ankara, 354-83.

Akbulut H, Akbulut KG, Icli F, Büyükcelik A, 2003. Daily variations of plasma malondialdehyde levels in patients with early breast cancer. Cancer detection and prevention, 27, 2, 122-6.

Albers HE, Gerall AA, Axelson JF, 1981. Circadian rhythm dissociation in the rat: effects of long-term constant illumination. Neuroscience letters, 25, 1, 89-94.

Altun A, Vardar A, Altun BU, 2001. [Melatonin and the cardiovascular system]. Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = the Anatolian journal of cardiology, 1, 4, 283-8, axvi.

Ames BN, Shigenaga MK, 1992. Oxidants are a major contributor to aging. Annals of the New York Academy of Sciences, 663, 85-96.

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR, 2001. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Critical Care Medicine-Baltimore-, 29, 7, 1303-10.

Arendt J, 2000. Melatonin, circadian rhythms, and sleep. New England Journal of Medicine, 343, 15, 1114-6.

Arendt J, 2000. Melatonin, circadian rhythms, and sleep. The New England journal of medicine, 343, 15, 1114-6.

Assicot M, Bohuon C, Gendrel D, Raymond J, Carsin H, Guilbaud J, 1993. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. The Lancet, 341, 8844, 515-8.

Ayan M, Gül M, Köylü R, Seydanoğlu A, Erdem S, Köylü Ö, Cander B, 2009. Deneysel Sepsis Modelinde Glutatyon, Myeloperoksidaz, Plazma ve Doku Mda Düzeylerine N-Asetilsistein ve Erdostein'in Etkilerinin Karşılaştırılması. Akadenik Acil Tıp Dergisi.

Aygün G, (2006). Sepsis Tanısı. Güncel Bilgiler Işığında Sepsis. Etkinlikleri İstanbul. **51:** 51-60.

Bakan N, Taysi S, Yilmaz Ö, Bakan E, Kuşkay S, Uzun N, Gündoğdu M, 2003. Glutathione peroxidase, glutathione reductase, Cu–Zn superoxide dismutase activities, glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde concentrations in serum of patients with chronic lymphocytic leukemia. Clinica chimica acta, 338, 1, 143-9.

Baker CC, Chaudry IH, Gaines HO, Baue AE, 1983. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. Surgery, 94, 2, 331-5.

Baumann H, Gauldie J, 1994. The acute phase response. Immunology today, 15, 2, 74-80.

Baykal A, Iskit AB, Hamaloglu E, Guc MO, Hascelik G, Sayek I, 2000. Melatonin modulates mesenteric blood flow and TNFα concentrations after lipopolysaccharide challenge. European Journal of Surgery, 166, 9, 722-7.

Beck-Friis J, Kjellman B, Aperia B, Unden F, Rosen Dv, Ljunggren JG, Wetterberg L, 1985. Serum melatonin in relation to clinical variables in patients with major depressive disorder and a hypothesis of a low melatonin syndrome. Acta psychiatrica scandinavica, 71, 4, 319-30.

Benzie IF, 2000. Evolution of antioxidant defence mechanisms. European journal of nutrition, 39, 2, 53-61.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ, 1992. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Chest, 101, 6, 1644-55.
Boutin J, Delagrange P, Rettori M, 2000. Melatonin: molecular pharmacology and therapeutic applications. Medicographia, 22, 72-80.
Brainard G, Gaddy J, Ruberg F, Barker F, 1994. Ocular mechanisms that regulate the human pineal gland. Advances in pineal research, 8, 415-.
Britton R, Bacon B, 1994. Role of free radicals in liver diseases and hepatic fibrosis. Hepato-gastroenterology, 41, 4, 343-8.
Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forycki ZF, Brunkhorst R, 2000. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock. Intensive care medicine, 26 Suppl 2, S148-52.
Brzezinski A, 1997. Melatonin in humans. The New England journal of medicine, 336, 3, 186-95.
Buege JA, Aust SD, 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods in enzymology, 52, 302-10.
Carlberg C, Wiesenberg I, 1995. The orphan receptor family RZR/ROR, melatonin and 5-lipoxygenase: An unexpected relationship. Journal of pineal research, 18, 4, 171-8.
Carrillo-Vico A, Reiter RJ, Lardone PJ, Herrera JL, Fernández-Montesinos R, Guerrero JM, Pozo D, 2006. The modulatory role of melatonin on immune responsiveness. Current Opinion in Investigational Drugs, 7, 5, 423.
Carrol E, Thomson A, Hart C, 2002. Procalcitonin as a marker of sepsis. International journal of antimicrobial agents, 20, 1, 1-9.
Cassone VM, 1990. Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. Trends in neurosciences, 13, 11, 457-64.
Ceconi C, Boraso A, Cargnoni A, Ferrari R, 2003. Oxidative stress in cardiovascular disease: myth or fact? Archives of biochemistry and biophysics, 420, 2, 217-21.
Challet E, 2007. Minireview: entrainment of the suprachiasmatic clockwork in diurnal and nocturnal mammals. Endocrinology, 148, 12, 5648-55.
Chan JK, Roth J, Oppenheim JJ, Tracey KJ, Vogl T, Feldmann M, Horwood N, Nanchahal J, 2012. Alarmins: awaiting a clinical response. The Journal of clinical investigation, 122, 8, 2711-9.
Chiesa C, Panero A, Rossi N, Stegagno M, De Giusti M, Osborn JF, Pacifico L, 1998. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 26, 3, 664-72.
Clec h C, Ferriere F, Karoubi P, Fosse JP, Cupa M, Hoang P, Cohen Y, 2004. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock. Critical Care Medicine-Baltimore-, 32, 5, 1166-9.
Cohen J, Brun-Buisson C, Torres A, Jorgensen J, 2004. Diagnosis of infection in sepsis: an evidence-based review. Critical care medicine, 32, 11, S466-S94.
Committee ASCC, 1992. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit. Care Med., 20, 864-74.
Cross CE, Halliwell B, Borish E, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, Mccord JM, Harman D, 1987. Oxygen radicals and human disease. Annals of internal medicine, 107, 4, 526-45.

Daniels R, 2011. Surviving the first hours in sepsis: getting the basics right (an intensivist's perspective). The Journal of antimicrobial chemotherapy, 66 Suppl 2, ii11-23.
Davies KJ, 1995. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. Biochemical Society symposium, 61, 1-31.
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, 2004. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Critical care medicine, 32, 3, 858-73.
Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL, 2007. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. Critical care medicine, 35, 5, 1244-50.
Du Clos TW, 2000. Function of C-reactive protein. Annals of medicine, 32, 4, 274-8.
Dubocovich ML, 1995. Melatonin receptors: are there multiple subtypes? Trends in pharmacological sciences, 16, 2, 50-6.
Dubocovich ML, Markowska M, 2005. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. Endocrine, 27, 2, 101-10.
Dündar Y, Aslan R, 1999. Oksidan-Antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. Hayvancılık Araştırma Dergisi, 9, 1-2, 32.
Ebels I, Balemans MG, 1986. Physiological aspects of pineal functions in mammals. Physiological reviews, 66, 3, 581-605.
Elixhauser A, Friedman B, Stranges E, 2006. Septicemia in U.S. Hospitals, 2009: Statistical Brief #122. In: Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs. Eds. Rockville (MD): Agency for Health Care Policy and Research (US), p.
Erlich SS, Apuzzo ML, 1985. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance. Journal of neurosurgery, 63, 3, 321-41.
Escames G, Guerrero JM, Reiter RJ, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A, Ortiz GG, Oh CS, 1997. Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates. Neuroscience letters, 230, 3, 147-50.
Forsling ML, Stoughton RP, Zhou Y, Kelestimur H, Demaine C, 1993. The role of the pineal in the control of the daily patterns of neurohypophysial hormone secretion. Journal of pineal research, 14, 1, 45-51.
Fourtillan JB, Brisson AM, Fourtillan M, Ingrand I, Decourt JP, Girault J, 2001. Melatonin secretion occurs at a constant rate in both young and older men and women. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism, 280, 1, E11-22.
Galley H, 2011. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. British journal of anaesthesia, 107, 1, 57-64.
Gate L, Paul J, Ba GN, Tew KD, Tapiero H, 1999. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 53, 4, 169-80.
Gaviria JM, Dale DC, Root RK, 1998. Neutrophils: Function and role in sepsis syndrome. Sepsis, 2, 2, 107-17.
Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO, 1954. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. Science (New York, N.Y.), 119, 3097, 623-6.
Gullo A, Bianco N, Berlot G, 2006. Management of severe sepsis and septic shock: challenges and recommendations. Critical care clinics, 22, 3, 489-501.

Günal Ö, Barut HŞ, 2009. Sepsis ve prokalsitonin. Cumhuriyet Medical Journal, 31, 4, 502-12.
Hadley M, (1992). Endocrine role of the Pineal gland. Endocrinology. 3th. New Jersey, Prentice-- Hall. 532-540.
Halliwell B, 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet (London, England), 344, 8924, 721-4.
Halliwell B, Gutteridge JM, 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. Lancet (London, England), 1, 8391, 1396-7.
Halliwell B, Gutteridge JM, 1990. The antioxidants of human extracellular fluids. Archives of biochemistry and biophysics, 280, 1, 1-8.
Halliwell B, Gutteridge JM, 1999. Free radicals in biology and medicine, Oxford university press Oxford, p.
Halliwell B, Gutteridge JM, 2015. Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, USA, p.
Hardeland R, Balzer I, Poeggeler B, Fuhrberg B, Una H, Behrmann G, Wolf R, Meyer TJ, Reiter RJ, 1995. On the primary functions of melatonin in evolution: mediation of photoperiodic signals in a unicell, photooxidation, and scavenging of free radicals. Journal of pineal research, 18, 2, 104-11.
Harrison DA, Welch CA, Eddleston JM, 2006. The epidemiology of severe sepsis in England, Wales and Northern Ireland, 1996 to 2004: secondary analysis of a high quality clinical database, the Icnarc Case Mix Programme Database. Critical care, 10, 2, 1.
Hebert PC, Drummond AJ, Singer J, Bernard GR, Russell JA, 1993. A simple multiple system organ failure scoring system predicts mortality of patients who have sepsis syndrome. Chest, 104, 1, 230-5.
Hotchkiss RS, Karl IE, 2003. The pathophysiology and treatment of sepsis. New England Journal of Medicine, 348, 2, 138-50.
Husain TM, Kim DH, 2002. C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in orthopaedics. Univ Pa Orthop J, 15, 13-6.
İskit AB, 2005. Sepsiste deneysel modeller. Yoğun Bakım Dergisi, 5, 133-6.
Iskit AB, Sungur A, Gedikoglu G, Guc MO, 1999. The effects of bosentan, aminoguanidine and L-canavanine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. European journal of pharmacology, 379, 1, 73-80.
Jaimes F, Arango C, Ruiz G, Cuervo J, Botero J, Vélez G, Upegui N, Machado F, 2004. Predicting bacteremia at the bedside. Clinical infectious diseases, 38, 3, 357-62.
Jaye DL, Waites KB, 1997. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. The Pediatric infectious disease journal, 16, 8, 735-46; quiz 46-7.
Kara Ö, Umuroğlu T, Gürsoy T, Saraçoğlu KT, Goğüs FY, 2014. Sepsis oluşturulan sıçanlarda farklı konsantrasyonlarda verilen albuminin böbrek antioksidan ve serbest oksijen radikalleri üzerine etkisi. Marmara Medical Journal, 27, 1, 42-6.
Karaca B, Uzuncan N, Evliyaoğlu O, Arısoy A, Coşkuner A, Özgenç O, 2003. Ligasyon, Çekal Süspansiyonu, E Coli Verilerek Sepsis Oluflturulmufl Ratlarda LBP, TNF-, IL-6 ve CRP Düzeyleri.
Kerman M, Cirak B, Ozguner MF, Dagtekin A, Sutcu R, Altuntas I, Delibas N, 2005. Does melatonin protect or treat brain damage from traumatic oxidative stress? Experimental brain research, 163, 3, 406-10.
Knauer RS, 1980. Light Suppresses Melatonm Secretion in Humans. Science, 210, 12.

Kono T, Otsuka M, Ito M, Misawa M, Hoshioka A, Suzuki M, Migita T, Seki I, 1999. Negative C-reactive protein in children with bacterial infection. Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society, 41, 5, 496-9.

Krinsky NI, 1992. Mechanism of action of biological antioxidants. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.), 200, 2, 248-54.

Krysztopik RJ, Matheson PJ, Spain DA, Garrison RN, Wilson MA, 2000. Lazaroid and pentoxifylline suppress sepsis-induced increases in renal vascular resistance via altered arachidonic acid metabolism. Journal of Surgical Research, 93, 1, 75-81.

Kurt C, (2006). Sepsis ile İlişkili Tanımlar, Epidemiyoloji,İnsidans ve Klinik. Güncel Bilgiler Işığında Sepsis. Etkinlikleri. İstanbul. **51:** 17 - 26.

Kuzmenko AI, 1998. Antioxidant Activity of Melatonin as Assessed by. Melatonin in the Promotion of Health, 59.

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent J-L, Ramsay G, 2003. 2001 sccm/esicm/accp/ats/sis international sepsis definitions conference. Intensive care medicine, 29, 4, 530-8.

Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP, 1980. Light suppresses melatonin secretion in humans. Science (New York, N.Y.), 210, 4475, 1267-9.

Lissoni P, Barni S, Tancini G, Mainini E, Piglia F, Maestroni G, Lewinski A, 1995. Immunoendocrine Therapy with Low-Dose Subcutaneous lnterleukin-2 plus Melatonin of Locally Advanced or Metastatic Endocrine Tumors. Oncology, 52, 2, 163-6.

Liu X, Du B, Pan J, Xu Y, Hua B, 2005. [Role of procalcitonin in the differentiation and surveillance of systemic inflammatory response syndrome]. Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 27, 1, 48-52.

Llewelyn M, Cohen J, 2001. Diagnosis of infection in sepsis. Intensive care medicine, 27, 14, S10-S32.

Luzzani A, Polati E, Dorizzi R, Rungatscher A, Pavan R, Merlini A, 2003. Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. Critical care medicine, 31, 6, 1737-41.

Maestroni GJ, 1999. Therapeutic potential of melatonin in immunodeficiency states, viral diseases, and cancer. Advances in experimental medicine and biology, 467, 217-26.

Maestroni GJ, 2001. The immunotherapeutic potential of melatonin. Expert opinion on investigational drugs, 10, 3, 467-76.

Márta Lapsley AD, Ruth Ayling, (2014). Clinical Biochemistry Metabolic and Clinical Aspects. Metabolic response to stress. Ayling MLADR. Edinburg, Churchill Livingstone.

Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M, 2003. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. New England Journal of Medicine, 348, 16, 1546-54.

Matot I, Sprung CL, 2001. Definition of sepsis. Intensive care medicine, 27 Suppl 1, S3-9.

Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM, 2001. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. Clinical chemistry, 47, 3, 426-30.

Meisner M, 2000. Procalcitonin (PCT), Georg Thieme Verlag, p.
Mitaka C, 2005. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. Clinica chimica acta, 351, 1, 17-29.
Mollaoğlu H, Özgüner MF, 2005. Yaşlanma sürecinde melatoninin rolü. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 12, 3.
Munford R, (2005). Sepsis, severe sepsis, and septic shock. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6.th ed, . Philadelphia,.
Ng T, 1997. Erythrocyte sedimentation rate, plasma viscosity and C-reactive protein in clinical practice. British journal of hospital medicine, 58, 10, 521-3.
Oberhoffer M, Vogelsang H, Meier-Hellman A, Jäger L, Reinhart K, 1997. Anti-Katacalcin-Antibody-Reaction in Different Types of Human Leukocytes İndicates Procalsitonin Content: 487. Shock (Augusta, Ga.), 7, 123.
Olguner ÇG, Koca U, Altekin E, Ergür BU, Duru S, Girgin P, Taşdöğen A, Gündüz K, Güzeldağ S, Akkuş M, 2013. Ischemic preconditioning attenuates lipid peroxidation and apoptosis in the cecal ligation and puncture model of sepsis. Experimental and therapeutic medicine, 5, 6, 1581-8.
Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M, 2013. Melatonin: general features and its role in psychiatric disorders. Psikiyatride Guncel Yaklasimlar-Current Approaches in Psychiatry, 5, 2, 179-203.
Packer JE, Slater TF, Willson RL, 1979. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. Nature, 278, 5706, 737-8.
Palaoglu S, Sungur A, Atasever A, Ruacan S, Akalin S, Özgen T, Erbengi A, 1994. Morphological assessment in pinealectomy and foetal pineal gland transplantation in rats: part I. Acta neurochirurgica, 128, 1-4, 1-7.
Parry BL, Rosenthal NE, James SP, Wehr TA, 1991. Atenolol in premenstrual syndrome: A test of the melatonin hypothesis. Psychiatry research, 37, 2, 131-8.
Penev PD, Zee PC, 1997. Melatonin: a clinical perspective. Annals of neurology, 42, 4, 545-53.
Pope JV, Jones AE, Gaieski DF, Arnold RC, Trzeciak S, Shapiro NI, Investigators EMSRN, 2010. Multicenter study of central venous oxygen saturation (ScvO 2) as a predictor of mortality in patients with sepsis. Annals of emergency medicine, 55, 1, 40-6. e1.
Powell R, Machiedo G, Rush Jr B, Dikdan G, 1991. Effect of oxygen-free radical scavengers on survival in sepsis. The American surgeon, 57, 2, 86-8.
Pryor WA, Stanley J, 1975. Suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. The Journal of organic chemistry, 40, 24, 3615-7.
Reed CR, Sessler CN, Glauser FL, Phelan BA, 1995. Central venous catheter infections: concepts and controversies. Intensive care medicine, 21, 2, 177-83.
Regelson W, Pierpaoli W, 1987. Melatonin: a rediscovered antitumor hormone? Its relation to surface receptors; sex steroid metabolism, immunologic response, and chronobiologic factors in tumor growth and therapy. Cancer investigation, 5, 4, 379-85.
Reiter R, 1996. Functional diversity of the pineal hormone melatonin: its role as an antioxidant. Experimental and clinical endocrinology & diabetes, 104, 01, 10-6.

Reiter RJ, 1981. The mammalian pineal gland: structure and function. The American journal of anatomy, 162, 4, 287-313.
Reiter RJ, 1991. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. Endocrine reviews, 12, 2, 151-80.
Reiter RJ, 1993. Pineal function during aging: attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. Acta neurobiologiae experimentalis, 54, 31-9.
Reiter RJ, 1995. Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation. Frontiers in neuroendocrinology, 16, 4, 383-415.
Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, Qi W, Tan DX, 2000. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. Annals of the New York Academy of Sciences, 917, 376-86.
Reiter RJ, Maestroni GJ, 1999. Melatonin in relation to the antioxidative defense and immune systems: possible implications for cell and organ transplantation. Journal of molecular medicine (Berlin, Germany), 77, 1, 36-9.
Reiter RJ(a), Paredes SD, Manchester LC, Tan DX, 2009. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. Critical reviews in biochemistry and molecular biology, 44, 4, 175-200.
Reiter RJ, Tan D-X, 2003. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic/reperfused heart. Cardiovascular research, 58, 1, 10-9.
Reiter RJ(b), Tan DX, Erren TC, Fuentes-Broto L, Paredes SD, 2009. Light-mediated perturbations of circadian timing and cancer risk: a mechanistic analysis. Integrative cancer therapies, 8, 4, 354-60.
Reppert SM, Weaver DR, 1995. Melatonin madness. Cell, 83, 7, 1059-62.
Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer WM, Singer CM, 1986. Human melatonin production decreases with age. Journal of pineal research, 3, 4, 379-88.
Schrier RW, Wang W, 2004. Acute renal failure and sepsis. New England Journal of Medicine, 351, 2, 159-69.
Selvi Y, Aydin A, Gumrukcuoglu HA, Gulec M, Besiroglu L, Ozdemir PG, Kilic S, 2011. Dream anxiety is an emotional trigger for acute myocardial infarction. Psychosomatics, 52, 6, 544-9.
Sener-Muratoglu G, Paskaloglu K, Arbak S, Hurdag C, Ayanoglu-Dulger G, 2001. Protective effect of famotidine, omeprazole, and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. Digestive diseases and sciences, 46, 2, 318-30.
Sener G, Paskaloglu K, Ayanoglu-Dülger G, 2004. Protective effect of increasing doses of famotidine, omeprazole, lansoprazole, and melatonin against ethanol-induced gastric damage in rats. Indian journal of pharmacology, 36, 3, 171.
Sewerynek E, 2002. Melatonin and the cardiovascular system. Neuro endocrinology letters, 23 Suppl 1, 79-83.
Shamir E, Rotenberg VS, Laudon M, Zisapel N, Elizur A, 2000. First-night effect of melatonin treatment in patients with chronic schizophrenia. Journal of clinical psychopharmacology, 20, 6, 691-4.
Sies H, 1986. Biochemistry of oxidative stress. Angewandte Chemie International Edition in English, 25, 12, 1058-71.
Simko F, Paulis L, 2007. Melatonin as a potential antihypertensive treatment. Journal of pineal research, 42, 4, 319-22.

Simko F, Reiter RJ, Pechanova O, Paulis L, 2012. Experimental models of melatonin-deficient hypertension. Frontiers in bioscience (Landmark edition), 18, 616-25.
Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J, 2004. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 39, 2, 206-17.
Sırça T, Önder A, Kapan M, Tekin R, Fırat U, Evliyaoğlu O, Taşkesen F, 2012. Ratlarda oluşturulan deneysel ince bağırsak obstrüksiyonlarında splenektominin bakteriyel translokasyon ve inflamatuvar değişikliklere etkisi. Ulusal Cerrahi Dergisi, 28, 1, 001-7.
Slater TF, 1984. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. Methods in enzymology, 105, 283-93.
Song Y, Chan C, Brown G, Pang S, Silverman M, 1997. Studies of the renal action of melatonin: evidence that the effects are mediated by 37 kDa receptors of the Mel1a subtype localized primarily to the basolateral membrane of the proximal tubule. The FASEB journal, 11, 1, 93-100.
Srinivasan V, Mohamed M, Kato H, 2012. Melatonin in bacterial and viral infections with focus on sepsis: a review. Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery, 6, 1, 30-9.
Steel DM, Whitehead AS, 1994. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. Immunology today, 15, 2, 81-8.
Stocker R, Weidemann MJ, Hunt NH, 1986. Possible mechanisms responsible for the increased ascorbic acid content of Plasmodium vinckei-infected mouse erythrocytes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 881, 3, 391-7.
Sugden D, Davidson K, Hough KA, Teh MT, 2004. Melatonin, melatonin receptors and melanophores: a moving story. Pigment cell research, 17, 5, 454-60.
Sumida M, Barkovich AJ, Newton TH, 1996. Development of the pineal gland: measurement with MR. AJNR. American journal of neuroradiology, 17, 2, 233-6.
Şahna E, Deniz E, Aksulu E, 2006. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. Anadolu Kardiyol Derg, 6, 163-8.
Şener G, Balkan J, Çevikbaş U, Keyer-Uysal M, Uysal M, 2004. Melatonin reduces cholesterol accumulation and prooxidant state induced by high cholesterol diet in the plasma, the liver and probably in the aorta of C57BL/6J mice. Journal of pineal research, 36, 3, 212-6.
Tain YL, Huang LT, Lin I, Lau YT, Lin CY, 2010. Melatonin prevents hypertension and increased asymmetric dimethylarginine in young spontaneous hypertensive rats. Journal of pineal research, 49, 4, 390-8.
Uludağ Yanaral T, (2009). Yoğun Bakım Hastalarında Prokalsitonin ve C-Reaktif Protein'in Prognostik Anlamının Apache II ve Sofa skorlarıyla Karşılaştırılarak Değerlendirilmesi.
Uygun İ, Denİz M, Demİrel ÖU, Tuğtepe H, İskit SH, Yurdun T, Bilsel S, Emrullah Dağlı T, 2010. Sıçan sepsis modelinde asimetrik dimetilargininin rolü.
Uzun M, Ovali MA, (2015). Deneysel Hipertansiyon Oluşturulan Erkek Sıçanlarda KCNQ, KNNH2 Gen Ekspresyonları ile QT Süresi Üzerine Etkileri. 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi. Çanakkale.

Fırat Tıp Dergisi, 1999. Melatonin: Güçlü bir antioksidan ve serbest radikal giderici 7.
Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry & cell biology, 39, 1, 44-84.
Valko M, Morris H, Cronin MT, 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. Current medicinal chemistry, 12, 10, 1161-208.
Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M, 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-biological interactions, 160, 1, 1-40.
Valmari P, 1984. White blood cell count, erythrocyte sedimentation rate and serum C-reactive protein in meningitis: magnitude of the response related to bacterial species. Infection, 12, 5, 328-30.
Villa P, Sartor G, Angelini M, Sironi M, Conni M, Gnocchi P, Isetta AM, Grau G, Buurman W, Van Tits L, 1995. Pattern of cytokines and pharmacomodulation in sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin. Clinical and diagnostic laboratory immunology, 2, 5, 549-53.
Vincent J-L, Opal S, Torres A, Bonten M, Cohen J, Wunderink R, 2003. The PIRO concept: I is for infection. Critical Care, 7, 3, 252.
Vincent JL, 2002. Sepsis definitions. The Lancet. Infectious diseases, 2, 3, 135.
Witte K, Grebmer W, Scalbert E, Delagrange P, Guardiola-Lemaître B, Lemmer B, 1998. Effects of melatoninergic agonists on light-suppressed circadian rhythms in rats. Physiology & behavior, 65, 2, 219-24.
Xu L, Bao HG, Si YN, Han L, Zhang R, Cai MM, Shen Y, 2013. Effects of adiponectin on acute lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis rats. The Journal of surgical research, 183, 2, 752-9.
Yagi K, 1987. Lipid peroxides and human diseases. Chemistry and physics of lipids, 45, 2-4, 337-51.
Yang S, Chung CS, Ayala A, Chaudry IH, Wang P, 2002. Differential alterations in cardiovascular responses during the progression of polymicrobial sepsis in the mouse. Shock (Augusta, Ga.), 17, 1, 55-60.
Yellon SM, 1994. Acute 60 Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. Journal of pineal research, 16, 3, 136-44.
Yellon SM, 1996. 60-Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm and photoperiod control of reproduction. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 270, 5, E816-E21.
Yıldız M, Akdemir O, 2009. Assessment of the effects of physiological release of melatonin on arterial distensibility and blood pressure. Cardiology in the Young, 19, 02, 198-203.
Yilmaz B, Kutlu S, Mogulkoc R, Canpolat S, Sandal S, Tarakci B, Kelestimur H, 2000. Melatonin inhibits testosterone secretion by acting at hypothalamo-pituitary-gonadal axis in the rat. Neuro endocrinology letters, 21, 4, 301-6.
Yılmaz O, Bülbül A, Uçar M, Ratlarda Pinealektomi.
Young B, Gleeson M, Cripps AW, 1991. C-reactive protein: a critical review. Pathology, 23, 2, 118-24.
Yukioka H, Yoshida G, Kurita S, Kato N, 2001. Plasma procalcitonin in sepsis and organ failure. Annals of the Academy of Medicine, Singapore, 30, 5, 528-31.

7. EKLER

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ MÜDÜRÜLÜĞÜ

Sayı : 41475755-2015/37
Konu : Etik Kurulu Onayı

17.02.2015

Sayın Yrd. Doç.Dr. Hüsamettin VATANSEV

"Melatonin yoksunluğun sepsiste serum Prokalsitonin, Total oksidan ve antioksidan status ile Lökosit, CRP ve Malondialdehit düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması" isimli ve 2015/37 sayılı projeniz 17.02.2015 tarihinde yapılan Etik Kurul Toplantısında kabul edilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Nilsel OKUDAN
ETİK KURUL BAŞKANI

SÜDAM Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
İletişim: 0332 2230936

http://www.selcuk.edu.tr/sudam/tr
e-mail: sudametik@selcuk.edu.tr

8. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Malatya'da doğdum. 1985'te İlköğrenimimi Malatya Derme ilkokulunda, 1988'de ortaöğrenimimi Malatya Kız Sanat Orta Okulu'nda, 1991'de Lise öğrenimimi Malatya Lisesi'nde tamamladım. 1996 yılında Lisans eğitimimi İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde tamamladım. 2013 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ve Gıda Mühendisliği Anabilim Dalları'nda Yüksek Lisansıma başladım ve halen her iki anabilim dalında da Yüksek Lisansıma devam etmekteyim. 2001 yılından beridir alanım ile ilgili çeşitli sektörlerde görev alarak yaklaşık 10 yıldan fazla iş tecrübesi edindim. Alanım ile ilgili çeşitli kurslara katılarak sertifikalar aldım. Aynı zamanda İş sağlığı ve Güvenliği kursuna katılarak girdiğim sınavda A sınıfı İş sağlığı ve güvenliği uzmanlık belgesini aldım. 2016 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Atabey Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümünde Öğretim Görevlisi olarak göreve başladım. Aynı yıl Gıda İşleme Bölümünde Bölüm Başkanlığına atandım. Halen SDÜ Atabey MYO' unda Öğretim Görevlisi olarak görev yapmaktayım. Orta düzeyde İngilizce bilmekteyim. Evli ve 3 erkek çocuk annesiyim (20.11.2016).

Hatice Feyza AKBULUT