



Sepsiste Patojenik Mekanizmalar

Dr. İsmail Cinel

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.

Giriş

Sepsiste mortalite oranları günümüzde gelişmiş merkezlerde bile % 30-60 gibi oranlarda seyretmektedir^(1,2). Mortalite oranları, enfeksiyona yol açan mikroorganizmanın saptanmasına ve uygun antibiyotik kullanımına, yeterli sıvı resüstasyonuna, agresif cerrahi yaklaşımlara, beslenme desteğine, çeşitli anti-sitokin ajanların kullanımına ve son derece gelişmiş yoğun bakım ekipman ile destek tedavilerine rağmen yüksekliğini korumaktadır⁽³⁾. Sepsiste konağın pasif olmadığı, endojen inflamatuvar medyatörlerin organ hasarlanmasındaki rolleri, nonenfeksiyöz tetiklenmelerle de aynı inflamatuvar yanıtın ortaya çıkabildiği ve enfeksiyon eradike edilse bile klinik yanıtın sürebildiği saptanmıştır^(4,5). Sepsis kriterleri içinde tanımlanan hasta grubunun tedaviye aynı şekilde yanıt vermeyen, heterojen bir grup olduğu sonucuna yıllar içinde varılmış ve genetik polimorfizmlerin mortaliteyle ilişkileri ortaya konmaya başlamıştır^(6,7,8).

Yıllar içinde mortalite oranlarında ciddi düzelmeler sağlanamayışı, sepsis patofizyolojisinde daha fazla bilgiye gereksinimimizin olduğunu açık bir şekilde ortaya koymaktadır. Moleküler biyolojideki gelişmeler ile son yıllara kadar sepsis patobiyolojisinde kabul gören mekanizmaların yanına yenileri eklenmiştir. Bu derlemede bir sıra içerisinde sepsisteki patojenik mekanizmalara değinilecektir.

1. Sitokin Fırtınası

Sepsiste organizmada görülen hemodinamik, metabolik ve immün değişiklikler hücreler arası sinyal iletide rol alan medyatörler ve sitokinler aracılığı ile olmaktadır. Sitokinler etkilerini sadece sistemik dolaşıma karışarak değil, direkt hücre-hücre ilişkisi ile ve çok küçük konsantrasyonlarda da ortaya koymaktadırlar. Sepsiste doğal immün yanıtın kontrolsüz bir şekilde aktivasyonu ile makrofaj, endotel ve epitel hücrelerinin lipopolisakkarit (LPS) veya metillenmemiş CpG DNA fragmanları gibi bakteriyel ürünleri spesifik reseptörleriyle tanımları sitokin kaskadının tetiklenmesiyle (TNF- α , IL-1, IL-12, IL-18, IFN- γ , IL-6 ve IL-8 salınması gibi) sonuçlanmaktadır^(9,10). Sepsis başlangıcında hücresel ve humoral savunma mekanizmalarıyla inflamatuvar sistemin hiperaktif hale gelişi Şekil 1'de özetlenmektedir⁽¹¹⁾.

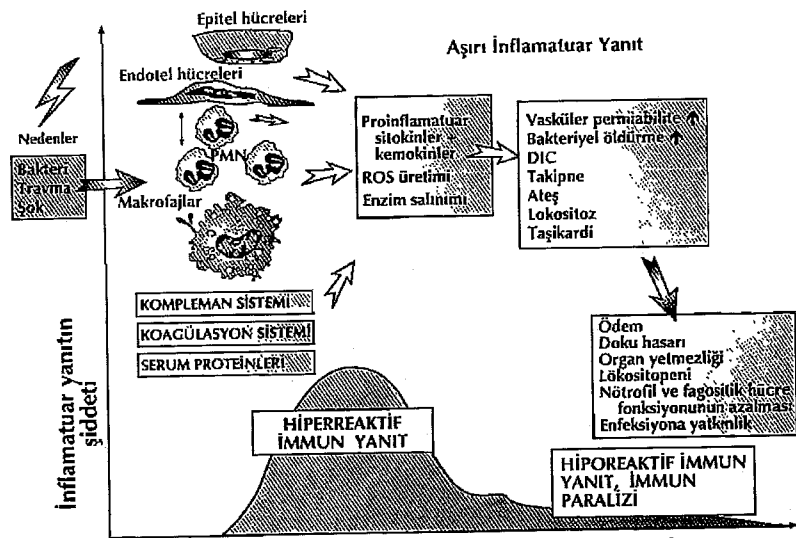


Deneysel sepsis modellerinde "sitokin fırtınası"nın yani immun sistemin aşırı uyarılmasının ölüme yol açtığı gösterilmiş ve anti-sitokin antikorların tedavide mortaliteyi azalttıkları saptanmıştır^(12,13). Oysa klinik çalışmalar bu olguyu desteklememiş ve örneğin meningokoksemi gibi bazı formları dışında sepsiste sitokinlerin yüksekliği ile mortalite arasında korelasyon bulunamamıştır^(14,15,16). Sepsis patofizyolojisinde sitokin fırtınası ile ilgili orijinal saptamanın klinikte tam anlamıyla geçerliliğinin olmaması çok önemlidir. Deneysel ve klinik çalışmalarda TNF- α antagonistlerinin mortaliteyi arttırdıklarının, sadece bazı subgruplarda tedavide yararlı olabileceklerinin gösterilmesi de, sitokinlerin yararlı etkilerinin olabileceğini ön plana çıkarmaktadır^(17,18,19). Aslında organizmada bir dengeğin varlığı; bu bağlamda doğal sitokin antagonistlerinin olduğu bilinmektedir⁽²⁰⁾. Bunların en önemlisi glukokortikoidlerdir ve TNF- α ile IL-6'nın mRNA transkripsiyonlarını inhibe ederek etkili olmaktadır^(21,22). Deneysel sepsis modellerinde verilmiş zamanına göre etkileri değişebilmektedir. Diğer sitokin antagonistleri içinde sitokinlerin "soluble" reseptörleri önemli yer tutmaktadır⁽²³⁾. Sitokinlerin hücre düzeyinde bağlandıkları reseptörleri "soluble" olup kana karışabilmektedir. Bu reseptörlerden en önemlisi TNF- α için olanıdır. Kanda sitokinle karşılaşan bu "soluble" reseptörler bloke edici işlev görmektedir⁽²⁴⁾. Ancak "soluble" reseptörlerin bloke edici işlevleri yüksek konsantrasyonlarında geçerlidir. IL-1 reseptör antagonistleri (IL-1ra) ve IL-10'un kendisi de doğal sitokin antagonistlerindedir. Öte yandan, son yıllarda sitokin toleransından, dokuların sitokinlerin tekrarlayan

dozlarına dirençli hale geldiklerinden ve toleransın mekanizmasında endojen lipoproteinlerinden rolünden söz edilmektedir⁽²⁵⁾.

2. Hücrelerarası Sinyal İleti "Toll-like Receptors (TLRs)"

Sepsiste gram-negatif bakterilerden LPS, gram-pozitif bakterilerden peptidoglikan ve lipoteikhoik asit gibi bakteriyel ürünler, mikobakterilerden lipoarabinomannan, fungal antijenler veya prokaryotik DNA sirkülasyona karışır ve lipopolisakarit "binding" protein (LBP), "soluble" CD14 (sCD14), membran CD14 (mCD14), CD11/CD18 kompleks ve TLRs aracılığıyla doğal immun yanıtı başlatırlar⁽²⁶⁾. Monosit/makrofajlardaki yüzey proteini olan CD14'ün, transmembran "domain"e sahip olmayışından dolayı sinyal iletiyi intrasellüler olarak iletemediği anlaşılmış ve gerçek iletili yüzey molekülü olarak transmembran "domain"e sahip TLRs 1998 yılında keşfedilmiştir⁽²⁷⁾. CD14'ün aksine, TLRs bakteri ve ürünlerinin tipini tanımada çok spesifiklerdir. Gram negatif bakteriyel LPS'yi TLR4, gram-pozitif bakteriyel ürün olan peptidoglikan TLR2 ile birlikte TLR6 ve lipopeptidi TLR2 ile birlikte TLR1, flagellini TLR5, prokaryotik metillenmemiş CpG bakteriyel DNA fragmanını TLR9, mikobakteriyel lipoarabinomannanı TLR2 ve viral RNA'yı TLR3'ün tanıdığı saptanmıştır^(28,29,30) (Şekil 2). Özet olarak, nötrofillerin mikroorganizmaları ve ürünlerini tanımlarında TLRs aracılık etmekte ve doğal immun yanıtı başlatmaktadır^(31,32,33). Sepsiste, TLR4 genin-



Şekil 1: Sepsiste hiperdinamik ve hipodinamik faz ilişkisi (11 no'lu kaynaktan alınmıştır; 2003)

Sepsis sırasında inflammatuar yanıtın dinamik zaman akış şeması



deki mutasyonlar sonucu endotoksine karşı direnç geliştiği saptanmış ve bu konudaki çalışmalar devam etmektedir⁽³⁴⁾. İnsanlarda da TLR4 mutasyonları ile endotoksine yanıtta azalma gözlenmiş fakat istenmeyen bir şekilde infeksiyonlara karşı duyarlılığın arttığı gözlenmiştir⁽³⁵⁾. Endotoksin istenmeyen etkilere sahip olmakla birlikte, total blokajının da ölümcül sonuçlandığı bilinmelidir. Gelişen noktada, "sepsiste endotoksin blokajının fazla basit mi?" kaçtığı sorusu gündeme gelmektedir. Hücreler arası sinyal iletilde bilinenler arttıkça patofizyolojinin daha net olarak ortaya çıkacağı açıktır⁽³⁶⁾.

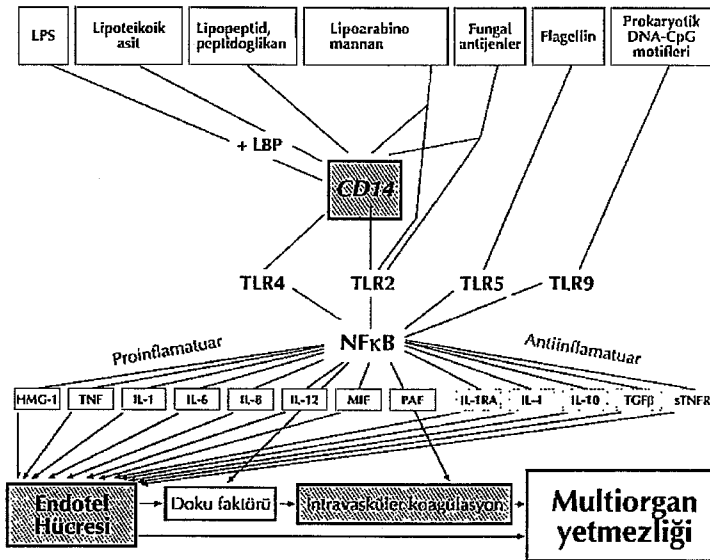
3. Flagellin

Bakterilerin beslenme için motilite ve yayılmaya gereksinimleri vardır ve bunları gerçekleştirebilmek için ise "flagella" adı verilen, protein yapısında büyük çaplı yüzey moleküllerine sahiptirler. "Flagella"nın monomerik fonksiyonel ünitesine flagellin adı verilmektedir. Flagellinin TLR5 üzerinden doğal immun yanıtı LPS'den bile daha güçlü bir şekilde uyaran bir bakteriyel ürün olduğu saptanmıştır^(37,38). Düşük konsantrasyonlarda bile monosit/makrofajlardan, intestinal ve pulmoner epitelden proinflamatuvar medyatörlerin saliverilmelerini in vitro ve in vivo ortamlarda uyaran flagellinin, ICAM-1 ekspresyonunda artışa ve iNOS aktivasyonu sonucu masif miktarlarda NO saliverilmesine yol açtığı gösterilmiştir^(39,40). Flagellin-TLR5 reseptör-NFκB aksının ortaya konması sepsiste kontrolsüz inflamasyonun mekanizmalarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır⁽⁴⁰⁾. İntesti-

nal hücrelerin invazyon gösteren patojen mikroorganizmalara karşı immun yanıtı başlatmalarında yani intestinal epitel hücre aktivasyonunda, flagellin-NFκB ilişkisinin rolü ve flagellin translokasyonunun önemi de sepsis patogenezinde yerini almıştır^(40,41,42). Gram-negatiflerin LPS'den farklı komponentlerinin flagellin üzerinden inflamatuvar kaskadı başlatmaları, bakteriyel ve LPS ile indüklenen septik şok tablolarındaki farklılıkları da açıklamaktadır⁽⁴³⁾. In vivo olarak sepsiste kardiyovasküler kollapsın ve oksidan stres bağımlı organ disfonksiyonlarının patogenezinde flagellinin NO üzerinden etkisini gösterdiği saptanmıştır^(38,40,44,45). Sepsiste tetiklenen organ hasarının, özellikle TLR5 dağılımındaki fazlalık nedeniyle akciğer, karaciğer ve kalpte flagellin üzerinden, intestinal alan ve böbreklerde LPS üzerinden gerçekleştiği ortaya konmuştur^(38,46). Flagellinin kanda dolaşan miktarları septik ratlarda ve insanlarda gösterilmiş, sepsiste akciğer hasarlanma skorlarıyla ilişkisi de henüz yeni gündeme gelmiştir^(40,45).

4. Kompleman-İnflamasyon İlişkisi

Doğal immun yanıt içerisinde yer alan diğer çok önemli bir parça kompleman sistemidir ve üç farklı yolağın komplemanı aktive ettiği saptanmıştır⁽⁴⁷⁾. Antikor-antijen kompleksleriyle aktive olan klasik yolağın ve antikor bağımsız olarak mantar hücre duvarı (zimozan), biyomateryaller (kardiyopulmoner bypass tüpleri) ve doku plazminojen aktivatörü ile aktive olan alternatif yolağın dışında son yıllarda kompleman sistemi içinde lektin yolağı da ortaya konmuştur⁽⁴⁸⁾. "Mannose binding lec-



Şekil 2: TLRs-NFκB-Sitokin ilişkisi (30 no'lu kaynaktan alınmıştır; 2003)



tin (MBL)"nin bakteriyel, mantar, parazit ve virus yüzeyindeki karbohidrat yapılarına bağlanması ile anti-kor bağımsız olarak lektin yolağı aktive olmaktadır. Özellikle oksidan stresin arttığı durumlarda lektin yolağının aktive olduğu bilinmekle birlikte son dönemde "Mannose binding lectin A" eksikliği olan farelerde yapılan bir çalışmada, CLP ile indüklenen sepsiste sitokin düzeylerinin düşük ve yaşam sürelerinin ise uzun olduğu saptanmıştır^(49,50). Komplemanın dolaylı ve dolaysız proinflatuar etkileri vardır. Örneğin, C5a dolaşımdaki nötrofiller için temel kemotaktik faktördür ve endotele adezyonlarında rol alır. Nötrofillerden reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin (ROS/RNS), proteolitik enzimlerin ve lökotrienlerin salıverilmesine yol açmaktadırlar. Ayrıca C5a kemokinlerin, sitokinlerin ve diğer proinflatuar medyatörlerin salıverilmelerini tetikleyerek de inflammatuar yanıtı güçlendirir. Sepsiste kompleman temel olarak klasik yolak aracılığıyla aktive olmaktadır ve C3a ve/veya C5a reseptör inhibisyonuyla sepsiste mortalitenin azaldığı saptanmıştır^(51,52). C5a'nın multi-organ yetmezliği (MOF) ile ilişkisi de gösterilmiştir⁽⁵³⁾. Öte yandan, sepsis patofizyolojisindeki yeri gittikçe popülerite kazanan apoptosis konusunda C5a'nın işlev görmesi çok önemlidir. C5a reseptör ekspresyonunda sepsiste meydana gelen artışın timosit apoptozisindeki rolünün ortaya konmasından sonra, son veriler nötrofil dışında parankimal hücrelerde de C5a reseptör ekspresyonundaki artış saptamışlardır^(54,55,56). Parankimal hücre apoptozisinin sepsiste fonksiyonel doku kaybının patofizyolojisindeki yeri göz önüne alındığında, bu verinin sepsiste değeri bir kat daha önem kazanmaktadır.

5. Koagülasyon-Aktive Protein C-İnflamasyon İlişkisi

Koagülasyon ve inflamasyonun ilişkisi uzun yıllardan beri bilinmektedir ve dolaşım sistemine sahip olmayan primitif mikroorganizmalarda yani kanama hemostazı gerekmeyen canlılarda bile, mikrobiyal invazyona karşı korunma amacıyla kullanılan koagülasyon sisteminin varlığı saptanmıştır⁽⁵⁷⁾. PROWESS çalışması sonrası ise rekombinant insan aktive protein C sepsis tedavisinde geçerliliği ispatlanan tek antiinflatuar ajan olarak tanımlanmaktadır^(58,59). Sistemik inflamasyonun TNF- α , IL-1 gibi medyatörleri monosit ve endotel hücrelerinde intravasküler koagülasyonun ana komponenti olan doku faktörünün ekspresyonunda artışa neden olmaktadır. Böylece trombin ortaya çıkmakta ve fibrinojeni fibrin pıhtılarına çevirmenin

yanısıra inflammatuar reaksiyonları da uyarmaktadır⁽⁶⁰⁾. Şiddetli sepsis tanısı almış hastaların %20'sinden azında dissemine intravasküler koagülasyon gelişmekle birlikte, artmış D-dimer konsantrasyonları ve protein C sistemindeki bozukluklar gibi sepsisle ilişkili koagülopati hemen hemen tüm vakalarda gözlenmektedir⁽⁵⁸⁾. Protein C karaciğerde sentezlenen vitamin K bağımlı faktördür ve zimojen olarak salıverilmekte ve zimojen olması, aktivasyonu için fonksiyonel bir endotelüma gereksinim duyması ile açıklanmaktadır. Normalde fonksiyonel endotel varlığında protein C ile aktive protein C (aPC) arasında bir oran söz konusuysa, sepsiste bu korelasyonun bozulduğu saptanmıştır⁽⁶¹⁾. Endotel protein C reseptörü, trombin ve endotel trombomodulini varlığında oluşan aPC'nin antitrombotik, profibrinolitik ve antiinflatuar özellikleri vardır. Faktör Va ve VIIIa inaktivasyonuna yola açarak antitrombotik etkisini, plazminojen aktivatör inhibitörünün inaktivasyonuyla profibrinolitik etkisini göstererek aPC mikrosirkülasyonunun devamlılığını sağlamakta, iskemi/reperfüzyon hasarını önlemektedir⁽⁶²⁾. Antiinflatuar etkisinin mekanizması ise sepsis patofizyolojisinde son yılların en ilgi çekici konularının başında gelmektedir^(59,63,64,65,66).

aPC'nin antiinflatuar etkisini;

- TNF ve "macrophage migration inhibitory factor" (MIF) üretimlerini inhibe ederek,
- Lökositlerin selektin bağımlı adezyonunu önleyerek,
- Adezyon moleküllerinin (ICAM-I, E-selektin, VCAM gibi) ekspresyonunu önleyerek,
- Trombin tarafından vasküler yatakta uyarılan inflammatuar yanıtı baskılayarak; özellikle trombosit aktivasyonunu, nötrofil dolaşımını ve mast hücre degranülasyonunu önleyerek,
- Hedef hücrelerde NF κ B ekspresyonunu azaltarak gösterdiği ileri sürülmektedir^(64,65,66). Sepsis tedavisindeki başarılı profilinde, antiinflatuar etkinliğinin içinde yer alan MIF'ü inhibe etmesi bir ayrıcalıktır. Sözü edilen faktöre karşı antikorların kullanıldığı deneysel sepsis modellerinde septik şokun önlenmesinin gösterilmiş olması da değerlidir⁽⁶⁷⁾. Sepsiste ek olarak, aPC'nin anti-apoptotik etkisi ortaya konmuş ve mekanizma olarak; bcl-2, eNOS ve apoptosis inhibitörünün (IAP) ekspresyonunda artışa yol açarak apoptozisi inhibe ettiği saptanmıştır⁽⁶⁸⁾. Ek olarak, beyin endotel hücrelerinde iskeminin tetiklediği p-53 bağımlı apoptozisi baskıladığı ve nöroprotektif olduğu henüz yeni ileri sürülmüştür⁽⁶⁹⁾. Antiapoptotik özelliği ve bu özelliğinin sepsis tedavisindeki etkinliğinde antiinflatuar



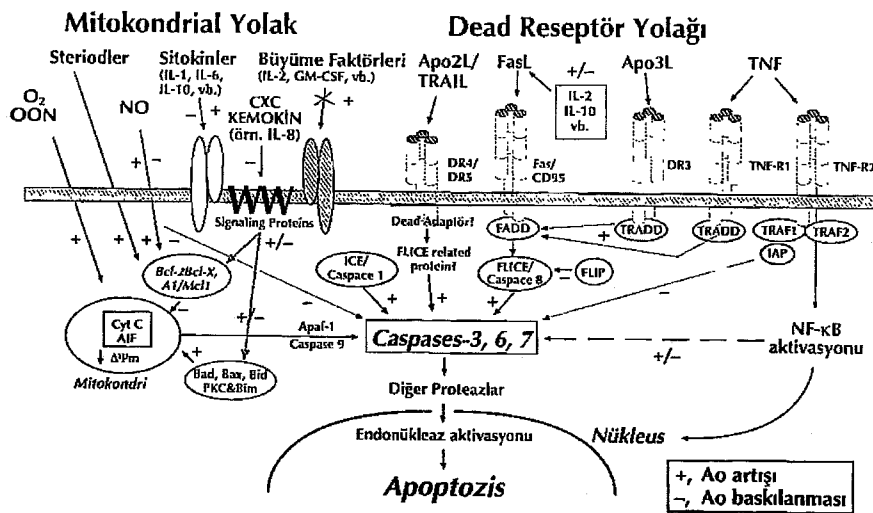
ar etkisinin yanısıra büyük oranda işlev gördüğünün ortaya konması, son yıllarda sepsis patofizyolojisinde aydınlatılan en önemli konular arasında gelen aPC'nin önemini bir kat daha arttırmaktadır. Klinik çalışmalarda sonuçların antitrombotik ve antiinflamatuvar etkisi benzer olan antitrombin-III'e oranla aPC'nin lehine olması da, aPC'nin anti-apoptotik etkisine ve antiinflamatuvar etkisinin daha geniş spektrumlu olmasına bağlı olabilir.

6. Apoptozis-İmmün Supresyonun Mekanizması-“Stunning”

Programlanmış hücre ölümü olan apoptozis 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından tanımlanmış ve organ homeostasindeki rolü ortaya konmuştur⁽⁷⁰⁾. Hücre proliferasyonu ile hücre ölümü dokularda denge halindedir ve dokunun hacminin sürekliliği bu şekilde sağlanmaktadır. Hücre ölümü organogenez sırasında ve yetişkinlerde hücre devri ve diferansiyasyonu sırasında fizyolojik olarak gerçekleşirken, çeşitli hasarlanmalara karşı yanıt olarak da gerçekleşebilmektedir ki bu olay patolojiktir (Şekil 3). Apoptozis, nekroz ile birlikte hücre ölümünün iki tipini oluşturmaktadır⁽⁷⁰⁾. 1992 yılında, ilk kez Buchman ve Abello LPS ile indüklenen deneysel sepsis modelinde apoptozisin teklendiğini vurgulamışlardır⁽⁷¹⁾. Sepsis patofizyolojisinde 1996 yılında Bone teorik olarak “CHAOS” a dikkat çekmiştir. “CHAOS” un ortasındaki A harfi apoptozisi simgelemektedir⁽⁷²⁾.

Deneysel sepsis modellerinde, parankimal dokulardan akciğer, karaciğer, böbrek ve intestinal yapılarda apoptozis artışı ve bu artışın serum TNF- α düzeyleri ile doğru orantısı saptanmıştır⁽⁷³⁾.

Hotchkiss ve ark tarafından yapılan sepsis nedeniyle ölen vakaların otopsi çalışmaları, sadece lenfositler ve intestinal epitel hücreleri olmak üzere iki tip hücrede apoptozis ile ölüm geliştiğini göstermektedir⁽⁷⁴⁾. Sepsiste nötrofil apoptozisinin ise gecikmekte olduğu vurgulanmaktaysa da^(75,76), son dönemde klinik bir çalışmada sepsisin erken döneminde nötrofil apoptozisinin arttığı saptanmış ve bu olay inflamatuvar yanıtı dengelemek için kompensatuvar bir mekanizma olarak açıklanmıştır⁽¹⁷⁸⁾. Özellikle sepsiste geciken nötrofil apoptozisi, immün yanıtın aşırı boyutlarda sürmesinde ve MOF'a giden kısır döngünün oluşumunda çok önemlidir. İnflamasyon alanındaki lökositlerin apoptozisi doku hasarını önlemeye yönelik önemli mekanizmalardan birisidir ve apoptozis gelişen nötrofillerin makrofajlar tarafından fagositozunun proinflamatuvar sitokinlerin salıverilmelerine yol açmadıkları bilinmektedir. Oksidan-antioksidan dengesinde enzimlerin gördüğü işlevi, apoptoziste genler görmektedir. LPS ile indüklenen sepsis modelinde anti-apoptotik bcl-2 ekspresyonunda azalma bildirilmiştir⁽⁷⁷⁾. Bcl-2 ekspresyonu fazla olan transjenik farelerde ise apoptozisin azaldığı ve sepsiste “survey” in uzadığı saptanmıştır⁽⁷⁸⁾. Sepsiste, apoptotik akciğer hasarının antioksidanlarla önlenmesi de organ yetmezliklerinin önüne geçilmesi açısından önemlidir⁽⁷⁹⁾. Parankimal hücrelerde, özellikle intestinal epitel hücrelerinde apoptozis artışı oksidatif, nitrozatif stresle ilişkili bulunmuş ve parankimal hücre apoptozisi intestinal bariyer disfonksiyonu-bakteriyel/endotoksin translokasyonu-MOF kısır döngüsünün önemli komponenti olarak gösterilmiştir^(80,81). Coopersmith ve ark. ise sepsiste intestinal epitel apoptozisindeki artışın intestinal proliferasyon artışı ile dengelenmediğini, dengenin



Şekil 3: Apoptozisle ilişkili sinyal ileti yolları (3 no'lu kaynaktan alınmıştır; 2003)



bozulduğunu, proliferasyonunun azalıp hücre siklusunda durma (cell cycle arrest) gerçekleştiğini saptamışlardır⁽¹⁷⁹⁾. Böylece MOF'a giden kaskadı önlemede geliştirilecek yeni tedavi yaklaşımlarında, intestinal epitelin rejenerasyon kapasitesindeki ve hücre siklusundaki değişiklikler, üzerinde durulması gereken yeni detaylar olarak karşımıza çıkmaktadırlar⁽¹⁸⁰⁾.

Sepsiste gözlenen immunsupresyonun mekanizmaları arasında en önemli yeri ise lenfosit apoptozisi tutmaktadır. Sırasıyla gelişen olaylara bakacak olursak; LPS, LBP, lipoteikhoik asit, lipopeptid, peptidoglikan, lipoarabinomannan, fungal antijenler, flagellin ile başlayıp CD14, TLRs aracılığıyla yolaktaki ortak molekül NFκB aktivasyonu ile tetiklenen sitokin ekspresyonu ya proinflamatuvar, ya da antiinflamatuvar hakimiyet ile sonuçlanmaktadır. Sepsiste proinflamatuvar sitokinlerin (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, MIF, PAF, HMGB1; "high mobility group box 1") ön plana çıkması sitokin fırtınasıyla, antiinflamatuvar sitokinlerin (IL-1ra, IL-4, IL-10, TGFβ, sTNFR) ağır basması immunsupresyon ile karşımıza çıkmaktadır⁽³⁰⁾. Aslında her iki durum da zaman içinde sepsiste gelişmektedir; antiinflamatuvar immün supresyonun olduğu tabloya başlangıçtan bir süre sonra ulaşılmaktadır^(82,83). Gerçekten de hastalarda ciddi immün supresyon kliniği; geç tip hipersensitivitenin kaybı, enfeksiyonları sınırlayamama ve nozokomiyal enfeksiyonlara yatkınlıkla kendini göstermektedir. Sözü edilen hastaların serumları LPS ile uyarıldıklarında TNF-α, IL-1β gibi inflamatuvar sitokinleri salıverebilme yetilerinin, kontrole göre azaldığı saptanmıştır⁽⁸⁴⁾. Buna paralel olarak, şiddetli sepsiste sitokin ekspresyonunun azaldığı ve interferon-γ uygulamasının sitokin salıverilme kapasitesini arttırdığı, mortaliteyi azalttığı da ortaya konmuştur^(85,86). Bu bağlamda, sepsiste immunsupresyonun kompensatuvar bir olay değil primer yanıt olarak karşımıza çıktığından söz edebiliriz. Gerçekten de, CD4 T lenfositlerin tip 1 helper T hücresine (Th1) farklılaşarak inflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine, Th2'lere farklılaşarak ise antiinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine yol açtıkları göz önüne alındığında, sepsiste gözlenen immunsupresyonun mekanizmasında Th1'lerin Th2'lere "shift"i önem kazanmaktadır^(6,87). Klinik bir çalışmada sepsiste Th2 shifti henüz yeni gösterilmekle birlikte⁽¹⁹²⁾; literatürde patojenin tipi, miktarı ve enfeksiyonun yeri gibi bileşenlerin, shiftin gerçekleşmesindeki olası etkilerinden söz edilmekte olup henüz CD4 T hücrelerinin Th1 veya Th2 yanıtlara yönelmelerindeki mekanizma açıklanmamıştır⁽⁸⁷⁾. Th2 yanıtlarındaki artış sepsiste mortalite üzerine

etki etmektedir; Th2 yanıtlarının Th1 lehine çevrilmesinin, yani shiftin ters çevrilmesinin mortaliteyi önlediği ve antiinflamatuvar sitokinler içinde bilinen IL-10'un prognostik faktör olarak şiddetli sepsiste kullanılabileceği öne sürülmüştü^(82,88,89). Şiddetli sepsiste monositlerdeki CD40 reseptör ekspresyonunun azalmasının immün yetmezlikle ilişkisi de henüz yeni gösterilmiştir; immunsupresyonla mortalite ilişkisine dikkat çekilmiştir⁽⁹⁰⁾. Immunsupresyona yol açan diğer mekanizmalar içinde anergi ve apoptozis gelmektedir⁽⁶⁾. Aslında apoptozis anerjiye yol açan mekanizma olarak da başrolüdür. Gerek deneysel çalışmalar, gerekse otopsi çalışmaları sepsiste çok fazla sayıda lenfosit ve intestinal epitel hücrelerinin apoptozis ile öldüğünü saptamışlardır^(74,80,91,92,93). Lenfositler içinde CD4 T hücreleri, foliküler dendritik hücreler ve B hücreleri apoptozise giden hücreler arasında yer almaktadırlar ve sırasıyla olay makrofaj aktivasyonunda azalma, antijen sunumu ve antikor üretiminde yetmezlik ile sonuçlanmaktadır^(92,93). Apoptozis ile ölen hücrelerin organizmanın antimikrobiyal defansının arttığı inflamatuvar, ya da patojenlere karşı yanıtın bozulduğu antiinflamatuvar duruma yönlendirme yaptığı saptanmıştır^(94,95). Apoptotik hücreler yaşayan immün hücrelerin fonksiyonlarını etkilemektedirler. Bu bulgu sepsis patofizyolojisinde son yıllarda ortaya konan en önemli saptamalardan birisi olmuştur. Buna paralel olarak, Hotchkiss ve ark. lenfosit apoptozisinin önlenmesiyle sepsiste yaşamın uzadığını göstermişlerdir^(96,97). Geline nokta da apoptozis inhibitörlerinin uygulandığı klinik serilere gereksinim vardır. Sepsis nedeniyle ölen hastaların otopsi sonuçları değerlendirildiğinde, histopatolojik bulguların organ yetmezliklerini teyit etmediği saptanmıştır⁽⁷⁴⁾. Bu bağlamda, diğer bir deyişle "sepsiste hastaların ölüm nedeni tam olarak bilinmiyor" da denmesi fazla iddialı olmamaktadır. Sepsisin patofizyolojisinde apoptozisin yerini aydınlatmaya yönelik çalışmalarıyla otör olan Hotchkiss ve Karl, sepsiste organ disfonksiyonları ile hücresel "stunning" (afallama), diğer bir deyişle hücresel "hibernation" arasında bir ilişki olabileceği olasılığını gündeme getirmişlerdir⁽⁶⁾. "Stunning" miyokardiyal iskemi de ortaya konmuş bir tablodur ve organ fonksiyonlarının en aza indirildiği bir durum olarak tanımlanabilir⁽⁹⁸⁾. Sepsiste organ yetmezliklerinin mekanizması olarak "stunning" öne sürülerek; hücresel düzeyde defans mekanizmalarının devreye girerek hücresel işlemleri en aza indiriyor olmasından söz edilmektedir. Böylece oluşan hücresel düzeyde yetmezlikler, oksijen alımında ve utilizasyonunda bozukluklar bizi organ yetmezliklerine



görüyor olabilir tezi ileri sürülmektedir⁽⁶⁾. Bu tez, immun olarak uyarılmış enterositlerin oksijen alımındaki azalmanın, NO-peroksinitrit-poly (ADP-riboz) sentaz yolağı aktivasyonu ile birlikte gelişen NAD yetmezliği yani enerji yetmezliği ile ilişkisinin ortaya konmasıyla desteklenmektedir⁽⁹⁹⁾.

7. Nükleer Faktör Kappa-B (NF-κB)

NF-κB immun yanıtın modifikasyonunda, inflamatuvar medyatörlerin gen ekspresyonunda gerekli olan redoks-duyarlı bir transkripsiyon faktörüdür⁽¹⁰⁰⁾. Yolakların ortasında olması, inflamatuvar yanıtın kontrolünde NF-κB'ye terapötik bir değer yüklemektedir^(101,102). LPS, reaktif oksijen ve nitrojen türleri, hipoksi, hiperoksi, protein kinaz C aktivatörleri, "mitogen activated" protein kinaz (MAPK) aktivatörleri ve UV radyasyon ile aktive olan NF-κB, doğal ve kazanılmış immunité genlerinin her ikisini de düzenlemektedir^(103,104). Bu genlerin içinde proinflamatuvar sitokinler, kemokinler, adezyon molekülleri ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz 2 (COX-2) gibi inflamatuvar enzimler yer almaktadırlar⁽¹⁰⁵⁾. NF-κB dimerleri istirahat halindeki hücre sitoplazmasında IκB olarak bilinen inhibitör proteine bağlı inaktif formda bulunurlarken, uyarıyla fosforile olup "ubiquitinasyo"na uğrayarak yıkılan IκB'ler sonrası NF-κB'nin nükleer translokasyonu gerçekleşmektedir⁽¹⁰⁶⁾. LPS ve proinflamatuvar sitokinler IκB'nin fosforilasyonu ile ilgili IκB kinaz (IKK)'nın aktivasyonuna neden olmaktadır; hatta LPS'nin doğrudan aktive ettiği IκB kinaz gösterilmiştir⁽¹⁰⁷⁾. Aktive olan NF-κB, nükleusta spesifik genlerin başlatıcı ("promoter") veya artırıcı ("enhancer") bölgelerine bağlanarak transkripsiyonu başlatmaktadır. Sepsiste nötrofiller, vasküler endotel ve düz kas hücreleri sitokine NF-κB aktivasyonu ile yanıt vermektedirler^(107,108). Sitokinler dışında gram-negatif, gram-pozitif bakteriler, bakteri ürünleri ve viral RNA da her birine spesifik TLR-4, TLR-2, TLR-5, TLR-9 aracılığıyla NF-κB aktivasyonuna yol açmaktadır⁽³⁰⁾. Endotoksin ile akciğer dokusunda artan NF-κB ekspresyonunun N-asetilsistein tedavisiyle önlendiği ve monositlerdeki NF-κB aktivasyonunun sepsiste mortaliteyle ilişkisi de gösterilmiştir^(109,110). Öte yandan, NF-κB'nin ölüm yollarının ("death pathways") yanısıra sağ-kalım yollarını da indükleyebildiği unutulmamalıdır⁽¹¹¹⁾. NF-κB'nin sağ-kalım etkisi antiapoptotik faktörlerin indüklenmesi ile açıklanmaktadır⁽¹¹²⁾.

8. "Mitogen-activated Protein Kinase" (MAPK) ve JAK/STAT Yolağı

İnflamasyon, oksidan stresin hücre düzeyde yoğun olduğu sepsiste, diğer yolların yanısıra "c-Jun n-terminal kinase (JNK) ve p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK)" gibi intrasellüler sinyal iletimde rol alan stres kinazlar aracılığıyla da tetiklenmektedir⁽¹¹³⁾. Deneysel travma/hemoraji modelinde JNK aktivitesindeki artışın apoptosise ilişkisi ortaya konmuş ve kinaz inhibisyonu ile organ disfonksiyonlarının ve sepsis olasılığının önlendiği gösterilmiştir⁽¹¹⁴⁾. LPS'nin adezyon moleküllerinin ekspresyonlarını arttırırken p38 MAPK yolağını kullandığı ve sepsisteki immun disfonksiyonun patogenezinde p38 MAPK aktivasyonunun rolü olduğu saptanmıştır^(115,116). Şiddetli sepsiste alveoler makrofaj aktivasyonu ve granülosit apoptosisi ile MAPK yolağının ilişkisi de henüz yeni gösterilmiştir^(117,118).

Sitokinler ve büyüme faktörleri biyolojik süreçlerin regülasyonunda membran bağımlı reseptörleri aracılığıyla rol alırlar. Kullandıkları en önemli yollardan birisi tirozin kinazların "Janus" ailesi (Janus kinase, JAK) ve "signal transducers and activators of transcription" (STAT) proteinleridir⁽¹¹⁹⁾. Sitokinlerin hücre içi sinyal iletiminde fosforile olan STAT nükleusa transloke olmakta ve hedef gen transkripsiyonunu transkripsiyon faktörleri üzerinden göstermektedirler⁽¹²⁰⁾. Sepsiste, STAT proteinlerinin doğal immun yanıtındaki regülatör rolleri ortaya konmuştur⁽¹²¹⁾. CLP (Çebal ligasyon performansı) ile indüklenen sepsis modelinde IL-6'nin STAT-3 aktivasyonu ile mortalite üzerine etki gösterdiği de saptanmıştır⁽¹²²⁾. "Suppressors of cytokine signalling" (SOCS) proteinleri ise fonksiyonel olarak sitokin ve büyüme faktörleriyle ilgili sinyalizasyonu inhibe etmektedirler⁽¹²³⁾. SOCS proteinlerinin LPS'nin organizmadaki fatal etkilerini en aza indirmede işlev gördükleri bildirilmiştir⁽¹²⁴⁾. LPS'nin SOCS ekspresyonunu artışıyla JAK/STAT yolağını baskılayarak büyüme hormonu sinyalizasyonunu endotoksemide bozduğu saptanmıştır⁽¹²⁵⁾. Henüz sepsis patofizyolojinde, sitokin sinyal iletiminin uyarıların farklılıklarına göre değiştiği bilinmekle beraber, aydınlatılmayan noktalar vardır ve terapötik yaklaşımlar içinde JAK/STAT ve SOCS proteinlerinin yeri tam olarak ortaya konulmamıştır.

9. Nitrik Oksit-Peroksinitrit-PARS Yolağı

L-Argininden nitrik oksit (NO) oluşumunu katalizleyen nitrik oksit sentaz (NOS) yapısal (cNOS) ve indüklenbilir (iNOS) olmak üzere iki form ha-



lindedir⁽¹²⁶⁾. Bakteriyel endotoksin, sitokinler gibi proinflamatuvar bir uyarıyla başta makrofajlar olmak üzere nötrofiller, lenfositler, vasküler düz kas hücreleri, hepatositler, kupffer hücreleri, glial hücreler ve myositler iNOS ekspresyonundaki artış sonucu masif miktarlarda NO üretmeye başlamaktadırlar^(44,127). cNOS kökenli pulsatil salıverilmenin tersine iNOS ile sürekli bir üretim ve salıverilme söz konusudur. Vasküler yatakta endotel disfonksiyonunun cNOS inhibitörü ile değil de iNOS inhibitörü ile önlenebilmiş olması, sepsiste iNOS üzerinden aşırı NO yapımının endotel hasarına neden olduğunu göstermektedir⁽¹²⁸⁾. Sepsis, iskemi/reperfüzyon gibi süreçlerde inflamatuvar medyatörlere bağlı olarak endotelial cNOS aktivitesi azalırken, iNOS aktivitesinin artışı ile endotel disfonksiyonu gelişmekte ve vazomotor tonusun kaybı, damar duvarına lökosit ve trombosit adezyonu, mikrovasküler dolaşımın bozulması, permeabilite artışı ve bakteriyel translokasyona varan bozukluklarla olay sonuçlanmaktadır^(129,130,131). Bu anlamda, deneysel çalışmalarda iNOS inhibitörleri kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmışsa da; klinikte septik şokun yol açtığı hipotansiyonu önlediğini gösteren çalışmalara rağmen iNOS inhibitörleriyle genel anlamda aynı başarı elde edilmemiştir^(132,133,134).

Sepsiste masif miktarlarda salıverilen NO süperoksit (O₂) radikali ile reaksiyona girerek her iki radikalden de toksik olan peroksinitrit (ONOO-) oluşumuna yol açmaktadır⁽¹³⁵⁾. NO'nun "kötü yüzü" olarak tanımlanan peroksinitritin hücresel düzeyde yol açtığı hasar içinde mitokondrial solunumu inhibe etmesi ve poly (ADP-riboz) sentaz (PARS) yolağını aktive etmesi sonucu gelişen enerji yetmezliğinin sepsis patofizyolojisinde çok önemli yeri vardır^(136,137,138). NO'nun doğrudan kendisinin de mitokondrial solunumu inhibe ettiği saptanmıştır⁽¹³⁹⁾. Sepsisteki mitokondrial solunumun bozulması, hücresel enerji kaynaklarının azalması, oksijen kullanımının bozulması önceleri endotoksinin sitotoksik etkileriyle açıklanmaya çalışılırken, son zamanlardaki çalışmalar NO ile ilişkili sitotoksik yollara kaymıştır^(140,141,142). Yaptığımız çalışmalar da sepsiste ileum, diyafragma gibi organ disfonksiyonlarının etyolojisinde peroksinitrit-PARS yolağına dikkati çekmektedir^(80,143,144). PARS inhibisyonunun iNOS inhibisyonundan farklı olarak sepsiste mutlaka inhibe edilmesinin gerekliliği söz konusudur. Septik şoktaki hastaların serumları ile hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada NO ve PARS inhibisyonlarının mitokondrial solunumu koruduğu açık bir şekilde henüz yeni gösterilmiştir⁽¹⁴⁵⁾. Mitokondrial fonksiyonlar, mitokondrial "sitokrom c" salıverilmesi ve apop-

tosis ilişkisinin sepsis patobiyolojisindeki yeri göz önüne alındığında PARS inhibisyonunun önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır^(80,145,146). Ek olarak, mitokondrial fonksiyonlarla ilgili "mitochondrial permeability transition" (MPT)'nin sepsisteki önemi de deneysel sepsis modelinde ileum dokusunda siklosporin ile mitokondrial hasarlanmanın önlenmesinden yola çıkılarak vurgulanmıştır^(147,148).

10. Hiperdinamik Fazdan Hipodinamik Faza Geçiş Medyatörü; "Adrenomedullin"

Sepsis kliniğine en uygun deneysel model olarak bilinen çekal ligasyon ve delme (CLP) modelinde; erken hiperdinamik/metabolik proinflamatuvar (kardiak debi artışı, doku perfüzyonunda artış, vasküler dirençte düşme, hiperglisemi ve hiperinsülinemi ile karakterize) faz ve geç hipodinamik/metabolik antiinflamatuvar (kardiak debide ve doku perfüzyonunda azalma, vasküler dirençte artış, hipoglisemi ve hipoinsülinemi ile karakterize) faz tanımlanmıştır^(12,149,150). CLP ile indüklenen endotoksemide hipodinamik antiinflamatuvar faza geçiş net bir şekilde gözlenebilmektedir^(151,152). Son yıllarda, adrenomedullin upregülasyonunun hiperdinamik yanıtı başlattığı ve adrenomedülline vasküler duyarsızlık gelişmesinin hiperdinamik fazdan hipodinamik faza geçişten sorumlu olduğu ileri sürülmüştür^(153,154,155). Vasküler adrenomedullin üretiminin yüksek olduğu transgenik farelerde ise endotoksemide vasküler kollaps ve organ hasarı önlenmiştir⁽¹⁵⁶⁾. Ek olarak, "adrenomedullin hiding proteins" (AMBP-1) çeşitli türlerde ve insanda saptanmış ve insan plazmasında komplemanlarla benzerliği gösterilmiştir^(157,158). Deneysel sepsisin otörlerinden Chaudry ve ekibi henüz yeni basıma kabul edilen çalışmalarında sepsis tetiklenmeden adrenomedullin ve AMBP-1'i birlikte uygulayarak hiperdinamik fazdan hipodinamik faza geçişi, organ hasarını ve mortaliteyi önlemişlerdir⁽¹⁵⁹⁾.

11. MIF: "Macrophage Migration Inhibitory Factor"

Sepsiste sitokin yanıtının büyüklüğü doku hasarlanmasında önemlidir. İlk kez T hücrelerinden salıverilen bir sitokin olarak tanımlanan MIF'in hipofiz hücreleri, monosit-makrofaq serisinden de salıverildiği ve sepsiste proinflamatuvar sitokinlerin NF-κB ilişkili artışına yol açtığı gösterilmiştir^(181,182,183,184). SIRS, sepsis ve septik şok tanısı alanlarda plazma düzeyleri ile kötü mortalite arasında doğru orantı saptanmakla birlikte infeksiyöz gibi noninfeksiyöz tetiklenmelerle de yükseldiği



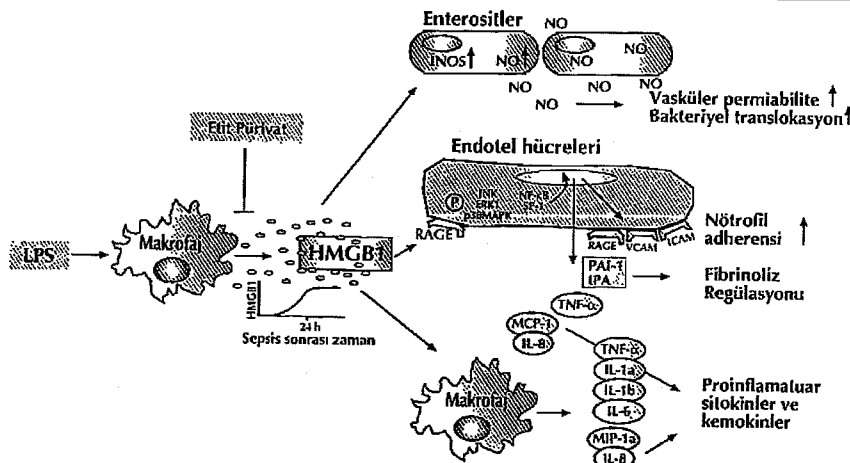
kritik hastalarda gösterilmiştir^(185,186). MIF “knock-out” farelerde yapılan bir çalışmada endotoksin sonrası yaşamın uzadığı gösterilmiş ve MIF’e karşı kullanılan antikörlerin gram pozitiflerle gelişen letal infeksiyonda koruyucu rolü ortaya konulmuştur^(67,182,187). Öte yandan, MIF’in makrofajlardaki TLR-4 ekspresyonunu regüle ettiği ve MIF “knock-out” farelerde p53 ile indüklenen makrofaj apoptozisinin gerçekleşmediğinin gösterilmesi MIF’in sepsis patobiyolojisinde özellikle immun hücrelerle ilişkili rolüne işaret etmektedir^(188,189). Son aylarda ise sepsis patobiyolojisindeki gelişmelere paralel olarak, MIF’in sepsiste endotoksine verilen immun yanıtı TLR4 üzerinden regüle ettiği ve oksidan stres-apoptozis ilişkisindeki rolü de ortaya konmuştur^(190,191).

12. İnflamasyonun Geç Medyatörü; “High Mobility Group Box-1”

Sitokinlerin inflamatuvar yanıtın ilk birkaç saatinde salıveriliyor olmaları, onları hedef alan tedavi yaklaşımlarında ciddi zorluklara yol açmaktadır; en ufak bir gecikme tedavinin etkinliğini düşürmektedir⁽¹⁶⁰⁾. “High mobility group box-1 (HMGB1)” hücrede kromatin ile ilişkili bir protein grubu olarak yirmi yıldır bilinmesine rağmen, endotoksin ile gelişen öldürücü inflamasyonun geç medyatörü olarak tanımlanması son yıllarda olmuştur^(161,162). Anti-HMGB1 antikörlerinin hastalığın başlangıcından 24 saat bile sonra uygulandıklarında endotoksemiye ve öldürücü sistemik inflamasyona karşı koruyucu olduğunun saptanması sepsiste tedavisinde umut vadetmektedir^(163,164). Üzerinde yoğunlaşan molekül HMGB1’in, kromatin fonksiyonlarını kolaylaştıran yapısal komponentleri yeniden gözden geçirilmiş ve potansiyel sitokin ve inflamatuvar rolü net olarak ortaya konmuştur^(165,166,167).

Şekil 4’te sözü edilen özellikleri endotel, makrofaj ve enterositlerde gösterilmektedir⁽¹¹⁾.

Sitokin olarak ekstrasellüler HMGB1’in endotoksin, IL-1 veya TNF- α ile uyarılan monosit, makrofaj serisi ve pituisitlerden zaman/doz bağımlı salıverilmesinin yanısıra inflamatuvar uyarının ana bileşeni olarak hasarlanmış hücrelerden salıverilmesi gösterilmiştir⁽¹⁶⁷⁾. Burada sepsis açısından söz edilmesi gereken önemli bir özelliği apoptosise uğrayan nötrofillerden belirgin olarak daha az salıverilmesidir^(168,169). Nekrotik hücrelere oranla apoptotik hücrelerin inflamatuvar yanıtı daha az uyarmasının mekanizması da böylece açıklanmış olmaktadır. HMGB1 aynı anda aktive olan makrofajlar dışında doku hasarlanmasının olduğu yerlerden de ortama salıverilerek birikmekte ve proinflamatuvar sitokin sentezini arttırarak kısır döngüde yer aldığı saptanmıştır⁽¹⁷⁰⁾. “Advanced glycation end products” için olan reseptörlere bağlanarak NF- κ B ve MAPK yollarını aktive ettiği ortaya konmuştur⁽¹⁷¹⁾. Sözü edilen yolların sepsisteki önemi düşünüldüğünde HMGB1’in sepsisteki yeri de önem kazanmaktadır. HMGB1 veya tek başına “B box”ın intestinal permeabiliteyi arttırdığı, bariyer fonksiyonunu bozduğu ve LPS’ye eşdeğer TNF- α , IL-1 ekspresyonunu tetiklediği de saptanmıştır^(172,173). Terapötik yaklaşım açısından, deneysel modellerde sepsis, iskem/reperfüzyon ve hemorajik şok HMGB1 salıverilmesini uyarmakta; etil püruvat mekanizması bilinmeyen bir şekilde bunu baskılamakta ve doku hasarını önlemektedir^(163,174,175,176). Prognostik faktör olarak da HMGB1 düzeylerinin, gram-negatif ve gram-pozitif enfeksiyonların yol açtığı sepsiste ve hatta enfeksiyon, endotoksemisinin yer almadığı, kaskad olarak sitokinlerin ve doku hasarının tetiklendiği hemorajik şok kliniğinde değerlendirilebileceği ile-



Şekil 4: HMGB1 ile ilişkili sinyal ileti yolları (11 no’lu kaynaktan alınmıştır; 2003)



ri sürülmüştür^(162,177). Sonuç olarak, HMGB1'in sepsis patofizyolojisinde üzerinde çalışılması gereken moleküller arasına girdiğini söyleyebiliriz.

Sonuç

Mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç geliştirdikleri göz önüne alındığında, sepsis patofizyolojisi ve patobiyolojisinin de evrim geçirmekte olduğu düşünülebilir. Ashında sepsis kendi içinde de süreyle değişim gösteren, bırakın hastadan hastaya genetik farklılıkları, tek bir bireyde zaman dilimleri içinde değişim gösteren bir süreçtir. İnflamatuvar uyarı ile immün aşırı yanıtılık halinin inatçı immunsupresyona geçişi, hücrelerin o an içinde buldukları ortamda sinyal iletilerine verdiği yanıtlara bağlıdır. İçinde bulunduğu ortam stresine ilişkili olarak, hücrenin genomu tarafından şifrelenen protein dizileri (proteom) değişebilmektedir. NF- κ B'nin ölüm ve sağ-kalım yollarını tetikleyebilme özelliği bu bağlamda açıklanabilir. Apoptosisin immunsupresyonun en önemli mekanizması olduğu, immunsupresyonun ise sepsiste kompensatuar değil de primer yanıt olduğu üzerinde durulabilir. Gelinen noktada, sepsis karşımıza hücre içi sinyal ileti mekanizmalarının aydınlatılmasıyla hücresel düzeyde teorilerle çözülebilecek bir olgu olarak çıkmaktadır.

Kaynaklar

1. Cohen J et al (2001) New strategies for clinical trials in patients with sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 29(4): 880-886.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al (2001) Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 29: 1303-1310.
3. Ayala A, Lomas J, Grutkoski P, Chung CS (2003) Pathological aspects of apoptosis in severe sepsis and shock? *Int J Biochem & Cell Biol* 35: 7-15.
4. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 101: 1644-55.
5. Warren HS (1997) Strategies for the treatment of sepsis. *N Engl J Med.* 336: 952-953.
6. Hotchkiss RS, Karl IE (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med.* 348(2): 138-150.
7. Freeman BD, Buchman TG (2000) Gene in a haystack: tumor necrosis factor polymorphisms and outcome in sepsis. *Crit Care Med.* 28: 3090-3091.
8. van Deventer SJ (2000) Cytokine and cytokine receptor polymorphisms in infectious disease. *Intens Care Med.* 26: Suppl 1: 98-102.
9. Matzinger P (2002) An innate sense of danger. *Ann N Y Acad Sci* 961: 341-342.
10. Akira S, Takeda K, Kaisho T (2001) Toll-like receptors: Critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2: 675-680.
11. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA (2003) Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nature Medicine* 9(5): 517-524.
12. Deitch EA (1998) Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 9: 1-11.
13. O'Reilly M, Newcomb DE, Remick D (1999) Endotoxin, sepsis and the primrose path. *Shock* 12: 411-420.
14. Girardin E, Grau GE, Dayer JM, et al (1988) Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe sepsis infectious purpura. *N Engl J Med.* 319: 397-400.
15. Pruitt JH, Welborn MB, Edwards PD, et al (1996) Increased soluble interleukin-1 type II receptor concentrations in postoperative patients and in patients with sepsis syndrome. *Blood* 87: 3282-3288.
16. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer L (2000) Cytokine signalling-regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med.* 28: 3-12.
17. Echtenacher B, Weigl K, Lehn N, Mannel DN (2001) Tumor necrosis factor-dependent adhesions as a major protective mechanism early in septic peritonitis in mice. *Infect Immun* 69: 3550-3555.
18. Fisher CJ, Agosti JM, Opal SM, et al (1996) Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein. *N Engl J Med.* 334: 1697-1702.
19. Reinhart K, Karzai W (2001) Anti-tumor necrosis factor therapy in sepsis: update on clinical trials and lessons learned. *Crit Care Med.* 29: Suppl: 121-125.
20. Liles WC, Van Voorhis WC (1995) Review: nomenclature and biologic significance of cytokines involved in inflammation and the host immune response. *J Infect Dis* 172(6): 1573-1580.
21. Dumont A, Hehner SP, Schmitz ML, et al (1998) Cross-talk between steroids and NF- κ B: what language? *Trends Biochem Sci* 23(7): 233-235.
22. Van Zee KJ, Kohno T, Fischer E, et al (1992) Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 4845-4849.
23. Aderka D, Engelmann H, Maor V, et al (1992) Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med.* 175: 323-327.
24. Lesslauer W, Tabuchi H, Gentz R, et al (1991) Recombinant soluble tumor necrosis factor receptor proteins protect mice from LPS-induced lethality. *Eur J Immunol* 1991; 21: 2883-2889.
25. Kasravi FB, Welch WJ, Peters Lideur CA, et al (2003) Induction of cytokine tolerance in rodent hepatocytes by chylomicron-bound LPS is low-density lipoprotein receptor dependent. *Shock* 2003; 19(2): 157-162.
26. Medzhitov R, Janeway C (2000) Innate immunity. *N Engl J Med.* 343: 338-344.
27. Pollarak A, He X, Smirnova I, et al (1998) Defective signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tlr4 gene. *Science* 282: 2085-2088.
28. Opal SM, Huber C (2002) The toll-like receptors and their role in septic shock. *Critical Care* 6: 125-136.
29. Means TK, Golenbock DT, fenton MJ (2000) the biology of toll-like receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 11: 219-232.
30. Opal SM, Gl ck T (2003) Endotoxin as a drug target. *Crit Care Med.* 31(1): 57-64.
31. Aderem A (2001) Role of toll-like receptors in inflammatory response in macrophages. *crit Care Med.* 29(7): 16-18.
32. Underhill DM, Ozinsky A (2002) Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immunol* 14: 103-110.



33. Vasselon T, Detmers PA (2002) Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun* 70: 1033-1041.
34. Modlin RL, Brightbill HD, Godowski PJ (1999) The toll of innate immunity on microbial pathogens. *N Engl J Med*. 340: 1834-1835.
35. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al (2000) TRL4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 25: 187-191.
36. Nguyen A, Yaffe MB (2003) Proteomics and systems biology approaches to signal transduction in sepsis. *Crit Care Med*. 31(1): 1-6.
37. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, et al (2001) The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by toll-like receptor 5. *Nature* 410: 1099-1103.
38. Liaudet L, Murthy KG, Mabley JG, et al (2002) Comparison of inflammation, organ damage, and oxidant stress induced by *Salmonella enterica* serovar Muenchen flagellin and serovar Enteritidis lipopolysaccharide. *Infect Immun* 70: 192-198.
39. Aldridge P, Hughes KT (2002) Regulation of flagellar assembly. *Curr Opin Microbiol* 5: 160-165.
40. Eaves-Pyles T, Murthy K, Liaudet L, et al (2001) Flagellin, a novel mediator of *Salmonella*-induced epithelial activation and systemic inflammation: $\text{I}\kappa\text{B}$ alpha degradation, induction of nitric oxide synthase, induction of proinflammatory mediators, and cardiovascular dysfunction. *J Immunol* 166: 1248-60.
41. Gewirtz AT, Rao AS, Simon PO, et al (2000) *Salmonella typhimurium* induces epithelial IL-8 expression via Ca^{2+} -mediated activation of the NF- κB pathway. *J Clin Invest* 105: 79-92.
42. Sierro F, Dubois B, Coste A, et al (2001) Flagellin stimulation of intestinal epithelial cells triggers CCL20-mediated migration of dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 13722-13727.
43. Szabo C (2003) Role of flagellin in the pathogenesis of shock and acute respiratory distress syndrome: Therapeutic opportunities. *Crit Care Med*. 31(1): 39-45.
44. Liaudet L, Srinano FG, Szabo C (2000) Biology of nitric oxide signalling. *Crit Care Med*. 28: 37-52.
45. Liaudet L, Szabo C, Evgenov O, Murthy K, Pacher P, Virg L, Mahley J, Marton A, Soriano F, Kirov M, Bjertnaes L, Salzman AL (2003) Flagellin from gram-negative bacteria is a potent mediator of acute pulmonary inflammation in sepsis. *Shock* 19(2): 131-137.
46. Ogata H, Su I, Miyake K, et al (2000) The toll-like receptor protein RP105 regulates lipopolysaccharide signalling in B cells. *J Exp Med*. 192: 23-29.
47. Bhole D, Stahl GL (2003) Therapeutic potential of targeting the complement cascade in critical care medicine. *Crit Care Med*. 31(1): 97-104.
48. Turner MW (1998) Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. *Immunobiology* 199: 327-339.
49. Collard CD, Vakeva A, Morrissey MA, et al (2000) Complement activation following oxidative stress: Role of the lectin complement pathway. *Am J Pathol* 156: 1549-1556.
50. Takahashi K, Gordon J, Hong L, et al (2002) Lack of mannose-binding lectin-A enhances survival in a mouse model of acute septic peritonitis. *Microbes Infect* 4(8): 773-784.
51. Kildsgaard J, Hollmann T, Matthews KW, et al (2000) Cutting edge: Targeted disruption of the C3a receptor gene demonstrates a novel protective anti-inflammatory role for C3a in endotoxin-shock. *J Immunol* 165: 5406-5409.
52. Czermak BJ, Sarma V, Pierson CL, et al (1999) Protective effects of C5a blockade in sepsis. *Nat Med*. 1999; 5: 788-92.
53. Huber-Lang M, Sarma VJ, Lu KT, et al (2001) Role of C5a in multiorgan failure during sepsis. *J Immunol* 166: 1193-99.
54. Guo RF, Huber-Lang M, Wang X, et al (2000) Protective effects of anti-C5a in sepsis-induced thymocyte apoptosis. *J Clin Invest* 106: 1271-80.
55. Riedemann NC, Guo RF, Laudes IJ, et al (2002) C5a receptor and thymocyte apoptosis in sepsis. *FASEB J* 16: 887-888.
56. Riedemann NC, Guo RF, Neff TA, et al (2002) Increased C5a receptor expression in sepsis. *J Clin Invest* 110: 101-108.
57. Roenigk RD, Aird WC (1999) Vascular-bed-specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med*. 340: 1555-1564.
58. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med*. 344: 699-709.
59. Matthay M (2001) Severe sepsis- A new treatment with both anticoagulant and antiinflammatory properties. *N Engl J Med*. 344: 759-762.
60. Bernard G (2003) Drotrecogin alfa (activated) (recombinant human activated protein C) for the treatment of severe sepsis. *Crit Care Med*. 31(1): 85-93.
61. Taylor FB, Wada H, Kinasewitz G (2000) Description of compensated and uncompensated disseminated intravascular coagulation (DIC) responses (non-overt and overt DIC) in baboon models of intravenous and intraperitoneal *Escherichia coli* sepsis and in the human model of endotoxemia: Toward a better definition of DIC. *Crit Care Med*. 28: 12-19.
62. ten Cate H (2000) Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Crit Care Med*. 28: 9-11.
63. Siegel JP (2002) Assessing the use of activated protein C in the treatment of severe sepsis. *N Engl J Med*. 347(13): 1030-1034.
64. Schmidt-Supprian M, Murphy C, While B, et al (2000) Activated protein C inhibits tumor necrosis factor and macrophage migration inhibitory factor production in monocytes. *Eur J Cytokine Netw* 11: 407-413.
65. Grinnell BW, Herman RB, Yan SB (1994) Human protein C inhibits selectin-mediated cell adhesion: Role of unique fucosylated oligosaccharide. *Glycobiology* 4: 221-225.
66. Joyce DE, Grinnell BW (2002) Recombinant human activated protein C attenuates the inflammatory response in endothelium and monocytes by modulating nuclear factor- κB . *Crit Care Med*. 30: 288-293.
67. Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, et al (2000) Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat Med*. 6: 164-170.
68. Joyce DE, Gelbert L, Ciaccia A, et al (2001) Gene expression profile of antithrombotic protein C defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis. *J Biol Chem* 276: 11199-11203.
69. Cheng T, Liu D, Griffin JH, et al (2003) Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. *Nat Med*. 3: online publication.
70. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biologic phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-57.
71. Buchman TG, Abello PA, Smith EH (1992) Induction of heat shock response leads to apoptosis in endothelial cells previously exposed to endotoxin. *Am J Physiol* 265: 165-170.
72. Bone RC (1996) Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med*. 24: 163-172.
73. Hiramatsu M, Hotchkiss RS, Karl IE (1997) Cecal ligation and puncture induces apoptosis in thymus, spleen, lung and gut by an endotoxin and TNF-independent pathway. *Shock* 7: 247-253.
74. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, et al (1999) Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med*. 27: 1230-1251.
75. Jimenez MF, Watson RW, Parodo J et al (1997) Dysregulated expression of neutrophil apoptosis in the systemic inflammatory response syndrome. *Arch. Surg* 132: 1263-1269.



76. Ertel W, Keel M, Infanger M, et al (1998) Circulating mediators in serum of injured patients with septic complications inhibit neutrophil apoptosis through up-regulation of protein-tyrosine phosphorylation. *J Trauma* 44: 767-775.
77. Haendeler J, Messmer UK, Brune B et al (1996) Endotoxic shock leads to apoptosis in vivo and reduces Bcl-2. *Shock* 6: 405-409.
78. Hotchkiss RS, Swanson PE, Knudson CM, et al (1999) Overexpression of Bcl-2 in transgenic mice decreases apoptosis and improves survival in sepsis. *J Immunol* 162: 4148-4156.
79. Ozdülger A, Cinel I, Köksel O, et al (2003) The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in CLP-induced sepsis model. *Shock* 19(4): 366-372.
80. Cinel I, Buyukafsar K, Cinel L, et al (2002) The role of poly (ADP-ribose) synthetase inhibition in preventing endotoxemia-induced intestinal epithelial apoptosis. *Pharm Res.* 46(2): 119-127.
81. Nadler EP, Ford HR (2000) Regulation of bacterial translocation by nitric oxide. *Pediatr Surg Int* 16(3): 165-168.
82. Lederer JA, Rodrick ML, Mannick JA (1999) The effects of injury on the adaptive immune response. *Shock* 11: 153-159.
83. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL (2001) Sepsis syndromes; understanding the role of innate and acquired immunity. *Shock* 16: 83-96.
84. Ertel W, Kremer J-P, Kenney J, et al (1995) Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients. *Blood* 85: 1341-1347.
85. Docke WD, Randow F, Syrbe U, et al (1997) Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med.* 3: 678-681.
86. Cabioğlu N, Bilgiç S, Deniz G, et al (2002) Decreased cytokine expression in peripheral blood leukocytes of patients with severe sepsis. *Arch Surg* 137(9): 1037-1043.
87. Abbas AK, Murphy KM, Sher A (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 383: 787-793.
88. Opal SM, DePalo VA (2000) Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 117: 1162-1172.
89. Cogos CA, Drosou E, Bassaris HP, et al (2000) Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis* 181: 176-180.
90. Sugimoto K, Galle C, Preiser JC, et al (2003) Monocyte CD40 expression in severe sepsis. *Shock* 19(1): 24-27.
91. Hotchkiss RS, Swanson PE, Cobb JP, et al (1997) Apoptosis in lymphoid and parenchymal cells during sepsis: findings in normal and T- and B-cell-deficient mice. *Crit Care Med.* 25: 1298-1307.
92. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al (2001) Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol* 166: 6952-6963.
93. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al (2002) Depletion of dendritic cells, but not macrophages, in patients with sepsis. *J Immunol* 168: 2493-2500.
94. Green DR, Beere HM (2000) Apoptosis: gone but not forgotten. *Nature* 405: 28-29
95. Voll RE, Herrmann M, Roth EA, et al (1997) Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 390: 350-351.
96. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al (1999) Prevention of lymphocyte cell death in sepsis improves survival in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 14541-14546.
97. Hotchkiss RS, Chang KC, Swanson PE, et al (2000) Caspase inhibitors improve survival in sepsis: a critical role of the lymphocyte. *Nat Immunol* 1: 496-501.
98. Sawyer DB, Loscalzo J (2002) Myocardial hibernation: restorative or preterminal sleep? *Circulation* 105: 1517-1519.
99. Khan AU, Delude RL, Han YY, et al (2002) Liposomal NAD(+) prevents diminished O₂ consumption by immunostimulated Caco-2 cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 282: 1082-1091.
100. Abraham E (2000) NF- κ B activation. *Crit Care Med.* 28(4): 100-104.
101. Christman JW, Lancaster LH, Blackwell TS (1998) Nuclear factor κ B: a pivotal role in the systemic inflammatory response syndrome and new target for therapy. *Int Care Med.* 24: 1131-1135.
102. Zingarelli B, Sheehan M, Wong H (2003) Nuclear factor- κ B a therapeutic target in critical care medicine. *Crit Care Med.* 31(1): 105-111.
103. Li N, Karn M (1999) Is NF- κ B the sensor of oxidative stress? *FASEB J* 13: 1137-1143.
104. Rahman I, MacNee W (2000) Regulation of redox glutathione levels and gene transcription in lung inflammation: therapeutic approaches. *Free Rad Biol Med.* 28: 1405-1420.
105. Collins T, Read MA, Neish AS, et al (1995) Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF- κ B and cytokine inducible enhancers. *FASEB J.* 9: 899-909.
106. Regnier CH, Song HY, Gao X, et al (1997) Identification and characterization of an I- κ B kinase. *Cell* 90: 373-383.
107. Shimida T, Kawais T, Takeda K (1999) IKK-i, a novel lipopolysaccharide-inducible kinase that is related to I κ B kinases. *Int Immunol* 11: 1357-1362.
108. Baeuerle PA (1998) I κ B-NF- κ B structures: at the interface of inflammation control. *Cell* 95: 729-731.
109. Blackwell TS, Holden EP, Blackwell TR, et al (1996) Activation of NF- κ B in rat lung by treatment with endotoxin: modulation by treatment with N-acetylcysteine. *J Immunol* 157: 1630-1634.
110. Bohrer H, Qui F, Zimmermann T (1997) Role of NF- κ B in the mortality of sepsis. *J Clin Invest* 100: 972-975.
111. Maulik N, Goswami S, Galang N, et al (1999) Differential regulation of bcl-2, AP-1 and NF- κ B on cardiomyocyte apoptosis during myocardial ischemic stress adaptation. *FEBS Lett* 443: 331-336.
112. Beg AA, Baltimore D (1996) An essential role for NF- κ B in preventing TNF- α induced cell death. *Science* 1996; 274: 782-784.
113. Strassheim D, Park JS, Abraham E (2002) Sepsis: current concepts in intracellular signalling. *Int J Biochem Cell Biol Dec; 34(12): 1527-33.*
114. Jarrar D, Wang P, Song GY, et al (2000) Inhibition of tyrosine kinase signalling after trauma-hemorrhage: a novel approach for improving organ function and decreasing susceptibility to subsequent sepsis. *Ann Surg* 231: 399-407.
115. Yan W, Zhao K, Jiang Y, et al (2002) Role of p38 MAPK in ICAM-1 expression of vascular endothelial cells induced by lipopolysaccharide. *Shock* 17(5): 433-438.
116. Song GY, Chung CS, Jarrar D, et al (2002) Mechanism of immune dysfunction in sepsis: inducible nitric oxide-mediated alterations in p38 MAPK activation. *J Trauma* 53(2); 276-282.
117. Jarrar D, Kuebler JF, Rue LW, et al (2002) Alveolar macrophage activation after trauma-hemorrhage and sepsis is dependent on NF- κ B and MAPK/ERK mechanisms. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283(4): 799-805.
118. Harter L, Keel M, Steckholzer U, et al (2002) Activation of mitogen-activated protein kinases during granulocyte apoptosis in patients with severe sepsis. *Shock* 18(5): 401-6.
119. Ihle JN (1995) Cytokine receptor signalling. *Nature* 377: 591-594.
120. Imada K, Leonard WJ (2000) The JAK/STAT pathway. *Mol Immunol* 37: 1-11.
121. Matsukawa A, Kaplan MH, Hogaboam CM, et al (2001) Pivotal role of signal transducer and activator of transcription



- (Stat4 and Stat6 in the innate immune response during sepsis. *J Exp Med.* 193(6): 679-688.
122. Andrejko KM, Chen J, Deutschman CS (1998) Intrahepatic STAT-3 activation and acute phase gene expression predict outcome after CLP sepsis in the rat. *Am J Physiol* 275(6 Pt 1): 1423-1429.
123. Cooney RN (2002) Suppressors of cytokine signaling (SOCS): Inhibitors of the JAK/STAT pathway. *Shock* 17(2): 83-90.
124. Nakagawa R, Naka T, Tsutsui H, et al (2002) SOCS-1 participates in negative regulation of LPS responses. *Immunity* 17(5): 677-687.
125. Mao Y, Ling PR, Fitzgibbons TP, et al (1999) Endotoxin-induced inhibition of growth hormone signaling in rat liver in vivo. *Endocrinology* 140: 5505-5515.
126. Moncada S, Palmer RMS, Higgs EA (1991) Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-141.
127. Szabo C (1995) Alterations in nitric oxide production in various forms of circulatory shock. *New Horizons* 1995; 3: 2-32.
128. Cobb JP, Natanson C, Hoffman WD (1992) N-amino-L arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase raises vascular resistance but increases mortality rates in awake canines challenged with endotoxin. *J Exp Med.* 176: 1175-1182.
129. Payen D, Bernard C, Beloucif S (1996) Nitric oxide in sepsis. *Clin Chest Med.* 17: 333-350.
130. Cinel I, Oral U (2002) Nitric oxide synthetase, poly (ADP-ribose) synthetase and ischemic preconditioning. *Crit Care Med.* 30(9): 2167-2168.
131. Aksöyek S, Cinel I, Avlan D, et al (2002) Intestinal ischemic preconditioning protects the intestine and reduces bacterial translocation. *Shock* 18(5): 476-480.
132. Shan Q, Bourreau J (2000) Cardiac and vascular effects of nitric oxide synthase inhibition in lipopolysaccharide-treated rats. *Eur J Pharmacol* 406(2): 257-264.
133. Vincent JL, Zhang H, Szabo C, Preiser JC (2000) Effects of nitric oxide in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 161(6): 1781-5.
134. Dirlik M, Büyükaşar K, Cinel I, et al (2003) Effect of ornithine on the ileal histology, nitric oxide production and lipid peroxidation in LPS-induced endotoxemia. *Acta Okayama Med.* 57(3): 117-122.
135. Pryor WA, Squadrito GL (1995) The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Physiol* 268: 699-704.
136. Beckman JS, Koppenol WH (1996) Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: The good, the bad and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 271: 1424-1437.
137. Szabo C, Dawson VL (1998) Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischemia-reperfusion. *TIPS* 19: 287-295.
138. Cassino A, Radi R (1996) Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys* 328: 309-316.
139. Brown GC (1999) Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochem Biophys Acta* 1999; 1411: 351-359.
140. Schumer W, Dasgupta T, Moss G, et al (1970) Effect of endotoxemia on live mitochondria in man. *Ann Surg* 875-882.
141. Szabo C, Zingarelli B, Salzman A (1996) Role of poly-ADP ribosyltransferase activation in the vascular contractile and energetic failure elicited by exogenous and endogenous nitric oxide and peroxynitrite. *Circ Res* 78: 1051-1063.
142. King CJ, Tygat S, Delude R, et al (1999) Ileal mucosal oxygen consumption is decreased in endotoxemic rats but is restored toward normal by treatment with aminoguanidine. *Crit Care Med.* 27: 2518-2524.
143. Taner S, Cinel I, Ozer I, et al (2001) Poly (ADP-ribose) synthetase inhibition reduces bacterial translocation in rats after endotoxin challenge. *Shock* 16(2): 159-162.
144. Ozdulger A, Cinel I, Unlu A, et al (2002) Poly (ADP-ribose) synthetase inhibition attenuates lipopolysaccharide-induced peroxynitrite mediated damage in diaphragm. *Pharm Res* 46 (1): 67-73.
145. Boulous M, Astiz ME, Barua RS, et al (2003) Impaired mitochondrial function induced serum from septic shock patients is attenuated by inhibition of nitric oxide synthase and poly(ADP-ribose) synthase. *Crit Care Med.* 31(2): 353-358.
146. Adrie C, Bachelot M, Vayssier-Taussat M, et al (2001) Mitochondrial membrane potential and apoptosis in peripheral blood monocytes in severe sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 164: 389-395.
147. Croser ED, Julian MW, Joshi MS, et al (2002) Cyclosporin A ameliorates mitochondrial ultrastructural injury in the ileum during acute endotoxemia. *Crit Care Med.* 30(12): 2722-2728.
148. Sayeed MM (2002) Mitochondrial dysfunction in sepsis: A familiar song with new lyrics. *Crit Care Med.* 30(12): 2780-1.
149. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH (1980) Sepsis and septic shock: A review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res* 29: 189-201.
150. Wang P, Chaudry IH (1998) A single hit model of polymicrobial sepsis: Cecal ligation and puncture. *sepsis* 2: 227-233.
151. Yang S, Cioffi WG, Bland KI, et al (1999) Differential alterations in systemic and regional oxygen delivery and consumption during the early and late stages of sepsis. *J Trauma* 47: 706-712.
152. Koo DJ, Zhou M, Chaudry IH, et al (2001) The role of adrenomedullin in producing differential hemodynamic responses during sepsis. *J Surg Res* 95: 207-218.
153. Wang P, Zhou M, Ba ZF, et al (1998) Up-regulation of a novel potent vasodilatory peptide adrenomedullin during polymicrobial sepsis. *Shock* 10: 118-122.
154. Wang P, Ba ZF, Cioffi WG, et al (1998) The pivotal role of adrenomedullin in producing hyperdynamic circulation during the early stage of sepsis. *Arch Surg* 133: 1298-1304.
155. Wang P, Yoo P, Zhou M, et al (1999) Reduction in vascular responsiveness to adrenomedullin during sepsis. *J Surg Res* 85: 59-65.
156. Shindo T, Kurihara H, Maemura K, et al (2000) Hypotension and resistance to lipopolysaccharide-induced shock in transgenic mice overexpressing adrenomedullin in their vasculature. *Circulation* 101: 2309-2316.
157. Elsasser TH, Kahl S, Martinez A, et al (1999) Adrenomedullin binding protein in the plasma of multiple species: characterization by radioligand blotting. *Endocrinology* 140: 4908-4911.
158. Pio R, Martinez A, Unsworth EJ, et al (2001) Complement factor H is a serum binding protein for adrenomedullin: The resulting complex modulates the bioactivities of both partners. *J Biol Chem* 276: 122292-122300.
159. Yang S, Zhou M, Chaudry IH, et al. A novel approach to prevent the transition from the hyperdynamic phase to the hypodynamic phase of sepsis: The role of adrenomedullin and adrenomedullin binding protein-1. *Ann Surg.* In press.
160. Tracey KJ (2002) The inflammatory reflex. *Nature* 420(6917): 853-859.
161. Goodwin GH, Sanders C, Johns EW (1973) A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids. *Eur J Biochem* 38: 14-17.
162. Wang H, Bloom O, Zhang M, et al (1999) HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 285: 248-251.



163. Ulloa L, Ochani M, Yang H, et al (2002) Ethyl pyruvate prevents lethality in mice with established lethal sepsis and systemic inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 12351-12356.
164. Bustin M, Reeves R (1996) High-mobility-group chromosomal proteins: Architectural components that facilitate chromatin function. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1996; 54: 35-100.
165. Czura CJ, Wang H, Tracey KJ (2001) Dual roles for HMGB1: DNA binding and cytokine. *J Endotoxin Res* 7: 315-321.
166. Wang H, Yang H, Czura CJ, et al (2001) HMGB1 as a late mediator of lethal systemic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164(10 Pt 1): 1768-1773.
167. Czura CJ, Tracey KJ (2003) Targeting high mobility group box 1 as a late acting mediator of inflammation. *Crit Care Med*. 31(1): 46-50.
168. Bustin M (2002) At the crossroads of necrosis and apoptosis: Signalling to multiple cellular targets by HMGB1. *Sci STKE* 2002(151): PE39.
169. Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME (2002) Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 418: 191-195.
170. Andersson U, Wang H, Palmblad K, et al (2000) HMG-1 stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J Exp Med*. 192: 565-70.
171. Srikrishna G, Hultunen H, Johansson L, et al (2002) N-glycans on the receptor for advanced glycation end products influence amphotericin binding and neurite outgrowth. *J Neurochem* 80: 998-1008.
172. Sappington PL, Yang R, Yang H, et al (2002) HMGB1 B box increases the permeability of Caco-2 enterocytic monolayers and impairs intestinal barrier function in mice. *Gastroenterology* 123: 790-802.
173. Agnello D, Wang H, Yang H, et al (2002) HMGB-1; a DNA binding protein with cytokine activity, induces brain TNF and IL-6 production, and mediates anorexia and taste aversion. *Cytokine* 18: 231-236.
174. Fink MP (2002) Reactive oxygen species as mediators of organ dysfunction caused by sepsis, acute respiratory distress syndrome, or hemorrhagic shock: Potential benefits of resuscitation with Ringer's ethyl pyruvate solution. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5: 167-74.
175. Sims CA, Wattanasirichaigoon S, Menconi MJ, et al (2001) Ringer's ethyl pyruvate solution ameliorates ischemia/reperfusion-induced intestinal mucosal injury in rats. *Crit Care Med*. 29: 1513-B.
176. Yang R, Gallo DJ, Baust JJ, et al (2002) Ethyl pyruvate modulates inflammatory gene expression in mice subjected to hemorrhagic shock. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 283: 212-221.
177. Ombrellino M, Wang H, Ajemian MS, et al (1999) Increased serum concentrations of high-mobility-group protein 1 in haemorrhagic shock. *Lancet* 354: 1446-1447.
178. Martins PS, Kallias EG, Neto MC, Dalboni MA, Blecher S, Salomao R (2003) Upregulation of reactive oxygen species generation and phagocytosis, and increased apoptosis in human neutrophils during severe sepsis and septic shock. *Shock* 20(3): 208-212.
179. Coopersmith C, Stromberg P, Davis C, Dunne WM, Amiot D, Karl J, Hotchkiss RS, Buchman T (2003) Sepsis from *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia decreases intestinal proliferation and induces gut epithelial cell cycle arrest. *Crit Care Med*. 31(6): 1630-1637.
180. Mohammed S (2003) Intestinal epithelial regenerative capacity: An Achilles heel in trauma/burn/sepsis injuries? *Crit Care Med*. 31(6): 1864-1866.
181. Calandra T, Bernhagen J, Bucala R (1994) The emerging role of MIF in septic shock and infection. *Biotherapy* 8(2): 123-127.
182. Calandra T, Bernhagen J, Mitchell RA, Bucala R (1994) The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med*. 179: 1895-1902.
183. Bernhagen J, Calandra T, Mitchell RA, Martin SB, Tracey KJ, Voelker W, Manogue KW, Ceremi A, Bucala R (1993) MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxemia. *Nature* 365: 756-759.
184. Bozza M, Satoskar AR, Lin G, Lu B, Humbles AA, Gerard C, David JR (1999) Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis. *J Exp Med*. 189: 341-346.
185. Gando S, Nishihira J, Kobayashi S, Morimoto Y, Nanzaki S, Kemmotsu O (2001) Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med*. 27: 1187-1193.
186. Lehmann LE, Novender U, Schroeder S, Pietsch T, von Spiegel T, Putensen C, Hoeft A, Stubber F (2001) Plasma levels of macrophage migration inhibitory factor are elevated in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med*. 27: 1412-1415.
187. Calandra T, Spiegel LA, Metz CN, Bucala R (1998) Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of gram-positive bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 11383-11388.
188. Roger T, David J, Glauser MP, Calandra T (2001) MIF regulates innate immune responses through modulation of Toll-like receptor 4. *Nature* 414: 920-924.
189. Roger T, Froidevaux C, Martin C, Calandra T (2003) Macrophage migration inhibitory factor (MIF) regulates host responses to endotoxin through modulation of Toll-like receptor 4 (TLR 4). *J Endotoxin Res* 9(2): 199-223.
190. Nguyen MT, Lue H, Kleeman R, Thiele M, Tolle G, Finkelmeier D, Wagner E, Braun A, Bernhagen J (2003) The cytokine macrophage migration inhibitory factor reduces pro-oxidative stress-induced apoptosis. *J Immunol* 170(6): 3337-3347.
191. Mitchell RA, Liao H, Chesney J, Fingerle-Rowson G, Baugh J, David J, Bucala R (2002) Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role in the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 345-350.
192. Roth G, Moser B, Krenn C, Brunner M, Haisjackl M, Almer G, Gerlitz S, Wolner E, Boltz-Nitulescu G, Ankersmit HJ (2003) Susceptibility to programmed cell death in T-lymphocytes from septic patients: a mechanism for lymphopenia and Th2 predominance. *Biochem Biophys Res Commun* 308(4): 840-846.