

# Antimikrobiyal Peptidlerin Sepsis Tanısındaki Rolü

## The Role of Antimicrobial Peptides in the Diagnosis of Sepsis

Tuğba Ayhancı<sup>1</sup>, Mustafa Altındış<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya

<sup>2</sup> Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

Yazışma Adresi / Correspondence:

**Tuğba Ayhancı**

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Adnan Menderes Bulvarı, Sağlık Sokak Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya / TURKEY

T: +90 544 236 24 69 E-mail: [tugba.ayhanci@hotmail.com](mailto:tugba.ayhanci@hotmail.com)

Orcid

**Tuğba Ayhancı:** <https://orcid.org/0000-0002-2115-6261>

**Mustafa Altındış:** <https://orcid.org/0000-0003-0411-9669>

Geliş Tarihi / Received : **04.03.2019** Kabul Tarihi / Accepted : **13-03-2019** Yayın Tarihi / Online Published: **30-04-2019**

**Ayhancı T., Altındış M. Antimikrobiyal Peptidlerin Sepsis Tanısındaki Rolü**

**J Biotechnol and Strategic Health Res. 2019;3(1):8-17 DOI: 10.34084/bshr.535317**

### Özet

Sepsis, koroner yoğun bakım ünitesi dışındaki yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda ölümün en sık nedenidir. Erken tanı ve tedavi prognozu olumlu yönde belirleyen en önemli etmendir ve bu sebeple sepsisin erken tanısı için geliştirilecek olan biyobelirteçler gerekli müdahalenin yapılması ve böylece mortalitenin azaltılması yönünde öncelik taşımaktadır. Sepsis tanısında, uzun yıllar boyunca kullanılan sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) kriterlerinin, günümüzde sepsis tanısı için spesifik olmadığı anlaşılmış ve tanıda organ disfonksiyonunu gösteren SOFA skoru daha yararlı bulunmuştur. Fakat birçok parametreyi içeren bu skor, uzun listesi nedeni ile tanıda kolaylık sağlayamamaktadır. Günümüzde, sepsis tanısı için hızlı ve tanı koydurucu testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Biyobelirteçler, hızlı sonuç sağlamaları nedeni ile sepsisin erken tanısında ilgi odağı haline gelmiştir. Bu bağlamda, son yıllarda biyobelirteç özellikleri üzerinde çalışılan antimikrobiyal peptidler (AMP), sepsisin erken tanısında aday testler olabilir. AMP'ler, bakterilerden memelilere kadar birçok canlı tarafından sentezlenebilen doğal bağışıklığın önemli bileşenleridir. Virüs, mantar, bakteri ve parazitlere karşı oldukça geniş spektrumlu mikrobiyosidal aktiviteye sahip bu peptidler vücut sıvılarında ve inflamasyonun indüklendiği dokularda ekspresyon edilir. Sepsis sürecinde sentezinin arttığı gözlenen katelisin, defensin, kalprotektin, hepsidin ve laktoferrin gibi antimikrobiyal peptidler bu hastalık için potansiyel biyobelirteç özelliği göstermektedir. Bu derlemede, AMP'lerden olan katelisin, defensin, kalprotektin, hepsidin, laktoferrin ve bakteriyel geçirenlik artırıcı proteinin (BPI) sepsis sürecindeki etki mekanizmaları ve biyobelirteç özellikleri irdelenmektedir.

Anahtar Kelimeler

Antimikrobiyal peptidler, Biyobelirteçler, Sepsis, SIRS, SOFA

### Abstract

Sepsis is the most common cause of death in patients in intensive care units outside the coronary intensive care unit. Early diagnosis and treatment are the most important determinant of prognosis in a positive way, and biomarkers that are developed for the early diagnosis of sepsis are therefore of paramount importance to make necessary interventions and thus reduce mortality. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) criteria, which have been used for many years in the diagnosis of sepsis, have been found to be non-specific for the diagnosis of sepsis and SOFA score indicating organ dysfunction was found to be more useful in diagnosis. But this score, which contains many parameters, cannot facilitate diagnosis because of its long list. Nowadays, rapid and diagnostic tests are needed for the early diagnosis of sepsis. Biomarkers have become a focus of interest in the early diagnosis of sepsis because of their rapid results. In this context, antimicrobial peptides (AMP), which have been studied in recent years on biomarker properties, may be candidate tests in the diagnosis of sepsis. Antimicrobial peptides are important components of natural immunity that can be synthesized by many organisms from bacteria to mammals. These peptides, with broad spectrum microbicidal activity against viruses, fungi, bacteria and parasites, are excreted in body fluids and inflammation-induced tissues. Antimicrobial peptides such as katelisin, defensin, calprotectin, hepsidine and lactoferrin, which have been shown to increase synthesis during the sepsis process, are potential biomarkers for this disease. In this review, mechanisms of action and biomarker properties of various AMPs in sepsis process are examined.

Keywords Antimicrobial peptides, Biomarkers, Sepsis, SIRS, SOFA

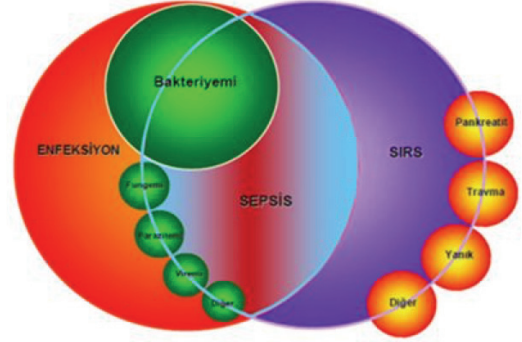
## Giriş

Sepsis, eski çağlardan beri süregelen ve tüm gelişmelere rağmen hala yüksek mortalite ile sonuçlanan, ciddi bir hastalıktır. Günümüzün en büyük sorunlarından biri olan sepsis insidansının, gelişmiş ülkelerde dahi yıllar içerisinde artış gösterdiği ve her yıl 31.000.000 kişinin sepsis tanısı aldığı görülmektedir. Tıbbi teknolojideki gelişmeler, yaşlı nüfus sayısındaki artış, kronik hastalığı olan kişi sayısındaki artış, immünoşüpresif hasta sayısındaki ve invazif cerrahi girişimlerde gözlenen artışlar, sepsis insidansını da arttırmaktadır. Her geçen gün gelişen tıp bilimi ise hala bu konuya çözüm bulamamıştır<sup>1</sup>.

Hipokrat, sepsisi; eti çürüten, pis kokular ve irinli yaralar süreci olarak tanımlamıştır. Günümüzde ise patofizyolojisi daha iyi anlaşılan sepsis; enfeksiyona bağlı düzensiz konak cevabının, hayatı tehdit eden organ disfonksiyonuna neden olması şeklinde tanımlanmaktadır<sup>2,3</sup>. Sepsis, erken tedavi edilmezse hızla septik şok, multiorgan yetmezliği ve ölüme ilerler. Bu nedenle sepsis tanımı, hastalığın tanınması ve erken tedavi edilmesi açısından oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalarda; klinik olarak spesifik bulgu vermeyen sepsisin, ilk 6 saat içerisinde başlanan tedavisinde dahi mortalite oranının %20'lerde olduğu, tedavi süresi geciktiği takdirde bu oranın %70'lere kadar çıkabildiği gösterilmiştir. Bu nedenle özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan<sup>4</sup> sepsisin erken tanı ve tedavisi mortalitenin azaltılması için oldukça önemlidir.

Sepsiste, spesifik klinik bulgular olmadığı için tanımlama ve derecelendirme yapmak oldukça zordur. Bilim insanları kesin tanı koyabilmek adına üç büyük konferans gerçekleştirilmiştir. İlki 2001'de gerçekleştirilen konferans sonucu sepsis, kesin yada olası enfeksiyon varlığında SIRS kriterlerinin (Vücut sıcaklığı >38°C, <36°C, Kalp hızı >90/dk, Solunum sayısı >20 veya PaCO<sub>2</sub><32 mmHg, WBC >12 000, < 4 000 veya >%10 band formu) iki ve ya daha fazlasının bulunması durumunda klinik olarak tanı almaktaydı. Fakat SIRS kriterlerinin; steril inflamasyon,

yanık, travma gibi enfeksiyon dışı sebeplerde ve bazı basit enfeksiyonlarda bile pozitif olması<sup>5-7</sup> tanıda güvenilir olmadığını göstermiştir.<sup>6-8</sup> (Şekil 1).



Şekil 1. Sepsis, Enfeksiyon ve SIRS ilişkisi

Bunun üzerine 2001 yılında tanıyı güçlendirmek için birçok laboratuvar parametresi eklenmiş ve sepsis, belirti ve bulguların kompleks topluluğu olarak tanımlanmıştır. Fakat eklenen parametreler ile oluşan uzun liste, tanıyı kolaylaştırmadığı için SIRS kriterleri kullanılmaya devam edilmiştir. 2016 yılına gelindiğinde ise gerçekleştirilen Sepsis 3 adlı konferans sonucu sepsis, enfeksiyona bağlı düzensiz konak cevabının, hayatı tehdit eden organ disfonksiyonuna neden olması şeklinde tanımlanmış ve tanıda organ disfonksiyonunu gösteren SOFA kriterleri kullanılmaya başlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1: SOFA Skoru<sup>13</sup>.

SOFA skoru	0	1	2	3	4
<b>Solunum</b> PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	>400	≤400	≤300	≤200	≤100
<b>Koagülasyon</b> Trombosit 10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup>	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
<b>Karaciğer</b> Bilirubin mg/dl	<1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	>12
Bilirubin mol/l	<20	20-32	33-101	102-204	>204
Kardiyovasküler	yok	MAP<70	Dopa ≤5	Dopa >5	Dopa >15
Hipotansiyon			Dobu	Epi ≤0.1 Nor ≤0.1	Epi ≥0.1 Nor ≥0.1
<b>Merkezi Sinir Sistemi</b> Glaskov Kom Skoru	15	13-14	10-12	6-9	<6
<b>Renal</b> Kreatinin (mg/ml)	<1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9	>5.0
Kreatinin (µmol/l)	<110	110-170	171-299	300-440	>440
İdrar çıkışı (ml/gün)				<500	<200

Fakat sepsis tanısının konulabilmesi için bu kriterlerin yanı sıra enfeksiyon varlığının kesin olarak gösterilmesi gerekmektedir.

Enfeksiyon varlığı ise etken izolasyonuna yönelik testler ve serolojik testler ile gösterilebilir. Etken izolasyonuna yönelik testlerden olan kan kültürü, sepsis tanısında hala altın standart yöntemdir<sup>9</sup> ve özellikle uygun antibiyoterapinin başlanması için önemlidir<sup>10</sup>. Fakat hızlı tanının hayati önem taşıdığı sepsiste kültür zaman almakta ve önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır. Etkenin aynı gün içerisinde saptanmasını ve direnç paternlerinin belirlenmesini sağlayan PCR temelli moleküler yöntemler<sup>11</sup> ise umut vaat etse de deneyimli personel gerekliliği ve yüksek maliyet nedeniyle şu an için yaygın kullanım alanı bulamamaktadır<sup>12</sup>.

Sepsisin laboratuvar tanısında kullanılan diğer testler, serolojik testlerdir. Günümüzde sepsis tanısı için 180 biyobelirteç tanımlanmış olup, bunların %20'si araştırılmıştır. Hali hazırda kullanılmakta olan PCT ve CRP, 2001 yılı kriterlerine eklenmiş 7 ve özellikle enfeksiyona bağlı durumlarda daha çok artış gösterdiği gözlenerek daha yararlı bulunmuştur<sup>14</sup>. Fakat bu testlerin duyarlılıklarının yüksek olduğu halde özgüllüklerinin düşük olması sepsis tanısında güvenilir parametre olmadıklarını göstermektedir<sup>15-16</sup>. Bu nedenle bu testlerin tanıya yardımcı olarak diğer parametrelerle birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir. Ayrıca; Pentraksin, Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein (LBP), Miyeloid Hücrelerden Salınan Tetikleyici Faktör 1 (Strem-1), Çözünebilir Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü (suPAR), Yüksek Hareketli Grup1 Protein ( HMGP-1), Makrofaj Migrasyon İnhibe Edici Faktör (MIF), Adrenomedullin, Pro vazopressin, Natriüretik Peptidler (ANP ve BNP), Endotelin-1, Neopterin, Presepsin (CD-14) biyobelirteç olarak üzerinde çalışılan diğer moleküllerdir (Tablo 2). Fakat bu parametrelerin henüz rutin kullanımları bulunmamaktadır. Son yıllarda ise antimikrobiyal peptidler, bu bağlamda odak noktası haline gelmiştir. Bu peptidler, mikroorganizmalar üzerinde sidal etki gösterirken,

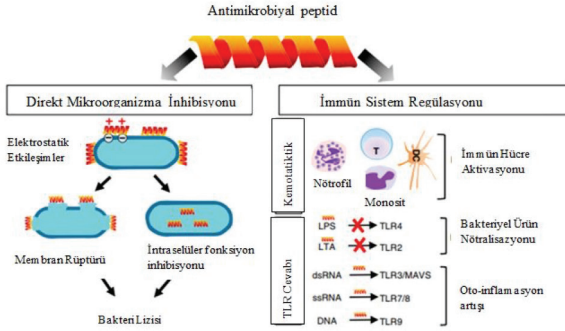
aynı zamanda hastalıklar sırasında ekspresyon düzeylerinin değişmesiyle de biyobelirteç özelliği gösterebilmektedir. AMP'ler doğal bağışıklığın bir parçası, kazanılmış bağışıklığın önemli bir destekleyicisi olarak bakteri, bitki, hayvan ve insan dahil birçok tür tarafından üretilen doğal peptidlerdir<sup>17</sup>. 12-50 aminoasitten oluşan bu küçük peptidler bakteri, virüs, mantar ve parazitlere karşı geniş spektrumlu mikrobiyosidal aktiviteye sahiptir<sup>18</sup>. Yapılarında bulunan lizin, arginin ve histidin aminoasitleri sayesinde genellikle pozitif yüklüdürler<sup>17</sup>. Aminoasit kompozisyonları ve sekonder yapılarına göre prolin bakımından zengin lineer proteinler,  $\alpha$ -heliks formundaki lineer proteinler ve sisten içeren tabaka proteinler olmak üzere 3 gruba ayrılırlar<sup>19</sup>.

Tablo 2: Literatürde sepsis ile ilişkili çalışılmış bazı biyobelirteçler

Biyobelirteç	Sentezlediği Yer	Fonksiyon
<b>Proinflamatuvar Sitokinler</b> TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6	Lenfosit ve lökositler	Nötrofil ve endotel hücre aktivasyonu Karaciğer stimülasyonu ile akut faz reaktan (Öm. CRP) sentezinde artış
<b>Anti-inflamatuvar Sitokinler</b> IL-10, TGF	Lenfosit ve lökositler	Pro-inflamatuvar sitokin supresyonu T hücre proliferasyonu supresyonu
<b>Kemokinler (IL-8)</b>	Lenfosit ve lökositler	İnflamatuvar hücre migrasyonu
<b>C-reaktif Protein (CRP)</b>	Karaciğer	Bakteri fosfolipit komponentine bağlanarak makrofaj aktivitesini kolaylaştırma Pro-inflamatuvar sitokin salınımı
<b>Prokalsitonin (PCT)</b>	Akciğer, karaciğer, bağırsak ve pankreas	Pro-inflamatuvar sitokin salınımı
<b>Pentraksin 3 (PTX)</b>	İnflamatuvar hücreler	Pro-inflamatuvar sitokin salınımı (CRP benzeri yapı ve fonksiyon)
<b>Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein (LBP)</b>	Karaciğer	LPS-LBP kompleksi TLR 2 ve 4 aktivasyonu ile inflamatuvar yanıt oluşumu
<b>Miyeloid Hücrelerden Salınan Tetikleyici Faktör-1 (TREM-1)</b>	Nötrofil, monosit, makrofaj	Pro-inflamatuvar mediyatör sentezi, antiinflamatuvar mediyatör inhibisyonu
<b>Çözünebilir Ürokinaz plazminojen aktivatörü reseptörü (suPAR)</b>	Lökosit	Hücrel adhezyon, hücre farklılaşması ve hücre çoğalması
<b>Yüksek Hareketli Grup-1 Protein (HMGP-1)</b>	Monosit, makrofaj ve nekrotik hücreler	Pro-inflamatuvar sitokin salınımı
<b>Makrofaj Migrasyon İnhibe Edici Faktör (MIF)</b>	İmmün ve non-immün sistem hücreleri	Makrofaj migrasyon inhibisyonu T hücre aktivasyonu, hücre proliferasyonu
<b>Adrenomedullin</b>	Böbrek sürenal medullası, akciğerler, SSS, vasiküler düz kas hücreleri	Vazodilatasyon Pro-inflamatuvar sitokin inhibisyonu Kompleman sistem aktivasyonu
<b>Natriüretik Peptidler (ANP ve BNP)</b>	Kardiyak miyositler	Natriürez, diürez, vazodilatasyon, renin-angiotensin-aldosteron sistemi ve sempatik sinir sisteminin inhibisyonu gibi organ disfonksiyonu
<b>Endotelin-1</b>	Endotel	Vazokonstriktör
<b>Neopterin</b>	Monosit ve makrofaj	Hücrel immün sistem aktivasyonu
<b>Presepsin (CD14)</b>	Nötrofil, monosit ve makrofaj	Sinyal iletim yolakları ve inflamatuvar kaskad aktivasyonu

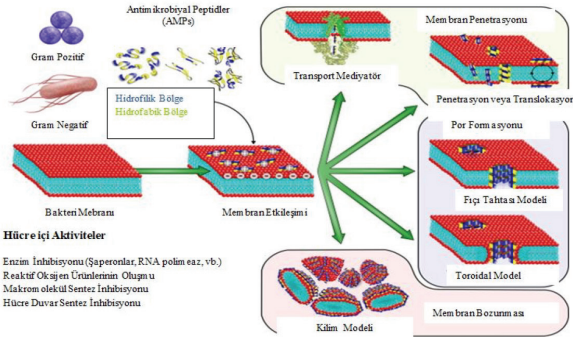
AMP'ler, mikrobiyosidal aktivitelerini bağışıklık sistemini düzenleyerek yada mikroorganizmaları direkt inhibe ederek gerçekleştirebilmektedir (Şekil 2). Bu peptidler, T hücrelerden salınan IFN- $\lambda$ , IL-6 ve IL-10; monositlerden salınan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  gibi sitokinlerin salınımını attırarak immün hücrelerin uyarılmasını sağlarken, iyileşme sürecini de hızlandırır. Sidal etkisi ise mikroorganizmanın

membran bütünlüğünü bozarak ya da çeşitli hücre içi hedef moleküllere bağlanması sonucu bunların yapı ve fonksiyonunu bozması ile gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda, mikrobiyosidal aktivitenin en sık permeabilite artışı ile gerçekleştiği görülmektedir.



Şekil 2. AMP'lerin etki mekanizması.

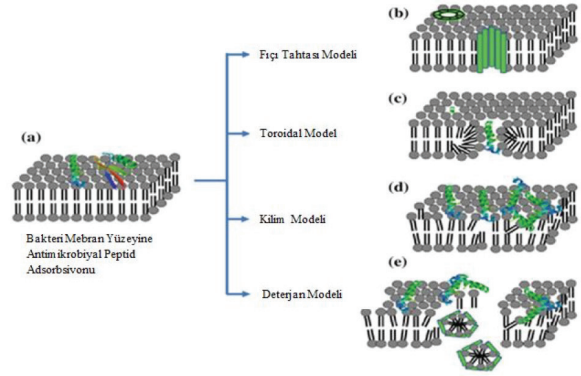
Bunun yanısıra peptid, iki fonksiyonla da aktivite gösterebilir. (Şekil 3) İnsanda üretilen önemli bazı antimikrobiyal peptidler ve sepsisteki rolleri Tablo 3'te sunulmuştur.



Şekil 3. AMP'lerin etki mekanizmaları

AMP'ler pozitif yükleri sayesinde, negatif yüklü bakteriyel hücre membranını kolayca etkileşebilmektedir. Gram negatif bakterilerde lipopolisakarit yapıya, Gram pozitif bakterilerde teikoik asite bağlanan peptidler, hücre duvarını aştıktan sonra hidrofobik etkileşimler ve membrana bağlı yeniden katlanma özelliği ile sidal aktivite gösterir. Membranla etkileşim birçok şekilde gerçekleşebilse de penetrasyon, por oluşumu ve membran yıkımı ile sonuçlanmaktadır. Şu ana kadar membranla etkileşimde birçok model tanımlanmıştır. Kilim modeli, miçel agregat mode-

li, membran incilmesi modeli, fiçı tahtası modeli ve toroidal model en sık gözlenen modellerdir (Şekil 4).



Şekil 4. Membran etkileşim modelleri

Tablo 3: Önemli bazı antimikrobiyal peptidler ve sepsisteki rolleri

AMP	Sepsis Ünlleyici Mekanizma
Katolisidin	LPS'ye bağlanarak patojen nötralizasyonu Bakteri antijeninin CD14 hücrelere sunulmasının engellenmesi TNF-a salınımının baskılanarak makrofaj aktivasyonunun engellenmesi
Defensin	Derinin kommensal florasının invazyonunun engellenmesi Yarada kolonize olan <i>P.aeruginosa</i> 'nın kan dolaşımına geçişinin önlenmesi Mukoza bütünlüğünün korunması
Kalprotektin	Lökositlerin endotel ve ekstraselüler matrisle adezyonunun sağlanması Çinko şelatasyonu ile antimikrobiyal etkinlik
Hepsidin	Demir şelatasyonu ile antimikrobiyal etkinlik
Laktoferrin	Demir şelatasyonu ile antimikrobiyal etkinlik Bakteri LPS ve teikoik asidine bağlanarak membran geçirgenliğinin artırılması Serin proteaz aktivitesiyle bakteri antijeninin parçalanması
Bakterisidal	LPS'ye bağlanarak patojen nötralizasyonu
Geçirgenlik Arttırıcı Protein (BPI)	Bakteriyel membran geçirgenliğinin artırılması

Bunun dışında AMP'ler, sitoplazma membranına zarar vermeden, oluşturduğu porlar sayesinde hücre içine girip çeşitli hedef moleküllere bağlanarak da mikrobiyosidal aktivite gösterebilmektedir. Bu peptidler, hücre içinde çeşitli protein, enzim ve diğer makromoleküllerin inhibisyonu, genetik materyal degradasyonu, reaktif oksijen moleküllerinin sentezi gibi çeşitli mekanizmalarla mikrobiyal çoğalmayı inhibe edebilir. AMP'lerin mikrobiyosidal aktiviteleri, bu peptidlerin çeşitli enfeksiyon hastalıklarında terapötik amaçlı kullanılabilceğini akla getirmiştir. Bu nedenle günümüzde çeşitli klinik faz aşamaları olan birçok AMP bulunmaktadır. Mikrobiyosidal aktivitelerinin yanı-

sıra bu peptidlerin aktivitelerinin gereği olarak, enfeksiyon durumunda ekspresyon düzeylerinin artışı, terapötik özelliklerine ek olarak biyobelirteç özelliği de kazandırmaktadır. Bu bilgiler ışığında, bu peptidlerin biyobelirteç özelliği, halen çeşitli hastalıklar durumunda araştırılmakta olup, sepsis de bu hastalıklardan biridir.

Memeli gen ailesi içerisinde en çok çalışılan antimikrobiyal peptid grubunu katelisin ve defensinler oluşturmaktadır. Katelisinler, katelisin benzeri öncü proteinlerin C-terminal ucunun hidrolizi ile üretilirler. İnsanlardaki tek öncü protein 18 kDA ağırlığında olan insan katyonik antimikrobiyal peptidin (hCAP18) hidrolizi ile 37 aminoasitten oluşan ve ilk iki aminoasidi lösin olduğu için LL-37 olarak adlandırılan katelisinin aktif formu olmaktadır<sup>20</sup>. Geniş spektrumlu bakterisid aktivitesine ek olarak katelisinlerin lipopolisakkaritlere (LPS) direkt bağlanarak nötralize edici özellikleri sepsis progresyonunda oldukça önemlidir. Katelisinler bu yapıya bağlanarak LPS lerin reseptörü olan LPS bağlayıcı protein ile bağlanmasını engeller ve bakteri antijeninin CD14 hücrelere sunulmasını sağlar<sup>21-22</sup>. Ayrıca LPS tarafında stimüle edilen makrofajların TNF-a salınımını baskılayarak<sup>21</sup> sepsisin primer safhasındaki majör hücreler olan makrofajların aktivasyonunu engeller. Böylece Gram negatif bakterilerin neden olduğu sepsisin progresyonu bu peptidler tarafından azaltılabilir. Gram negatif sepsiste LPS'lerin dolaşıma geçmesi doku tromboplastin indüksiyonunu sağlayarak patogeneze katkı sağlamaktadır<sup>23</sup>. In vitro deneyler farklı LPS maruziyeti sonrası makrofajlardaki doku tromboplastin aktivitesinin 17 kat arttığını göstermiştir. Makrofajların, LPS ve katelisinler ile ko-inkübasyonunda ise doku faktörü aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir<sup>24</sup>.

Defensinler, yapısında bulunan disülfid bağlarının bağlanma şekillerine göre  $\alpha$ - defensinler,  $\beta$ -defensinler, ve  $\theta$ -defensinler olarak 3 gruba ayrılırlar. İnsanda sadece  $\alpha$  ve  $\beta$ -defensinler bulunurken  $\theta$ -defensinler primatlarda bulunmakta<sup>25,26</sup> ve nötrofil, makrofajlar, intestinal Paneth hücreleri, epitel hücreleri, mukozal epitel hücreleri ve ke-

ratinosit gibi birçok hücre tarafından sentezlenmektedir 27 İnsan nötrofil peptid (HNP)<sup>1-3</sup> ve insan beta-defensin (HBD1-3), insanlarda bulunan önemli defensinlerden bazılarıdır. Yapılan çalışmalarda bu peptidlerin derinin kommensal florasının invazyonunu<sup>28</sup> ve yarada kolonize olmuş *Pseudomonas aeruginosa*'nın kan dolaşımına geçişini engellediği 29 ayrıca paneth hücreleri tarafından sentezlenerek mukozayı koruduğu gösterilmiştir<sup>30</sup>.

Kalprotektin, kalsiyum ve çinko bağlama özelliği ile heterokompleks yapıda bulunan önemli bir antimikrobiyal peptiddir. Monosit hücre membranı ve nötrofil sitoplazmasında bulunan peptid, konağın patojen ile karşılaşmasından hemen sonra salınarak<sup>31,32</sup> inflamasyon süresince lökositlerin endotel ve ekstraselüler matrikse adezyonunu sağlar<sup>33</sup>. Ayrıca konak savunmasındaki önemli bir mekanizma olan çinko şelatasyonu ile antimikrobiyal etkinlik gösterir. Yapılan çalışmalarda, 50-250  $\mu\text{g/ml}$ 'lik kalprotektin konsantrasyonlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*'i; 4-32  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonları ile *Candida albicans*'ı inhibe ettiği bulunmuştur<sup>34</sup>.

Hepsidin, hepatositler tarafından sentezlenen, demir metabolizmasının ana hormonal düzenleyicisi, antimikrobiyal peptid ve aynı zamanda akut faz reaktanı olarak görev yapmaktadır. İnflamatuar ve enfeksiyöz durumlarda<sup>35,36</sup> hepsidin sentezi artarak demir emilimini sağlayan ve hepsidin için reseptör görevi olan ferroportine bağlanır. Bağlanma sonucu ferroportin esansiyel element olan demir emilimini gerçekleştiremez ve bu proses ile hepsidin antimikrobiyal etkinlik göstermiş olur<sup>37,38</sup> Birçok fare çalışması sepsiste hepsidin bu koruyucu etkisini destekler sonuçlar sunmuştur. Hepsidin eksikliği olan fareler kontrol grubuna kıyasla letal doz lipopolisakkarit maruziyetinin 24 saat sonrasında yüksek ölüm oranı göstermiştir<sup>38</sup>.

Laktoferrin, transferrin ailesi içinde yer alıp demir taşınmasında görevli bir glikoproteindir. İlk olarak inek sütünden izole edildiği için laktoferrin olarak adlandırılan

protein süt dışında gözyaşı, salya, tükürük, burun salgısı, glandüler hücreler, seminal vasiküller, nötrofil granülleri ve eklem sıvısında da bulunmaktadır. İnflamasyon ve enfeksiyon durumlarında nötrofillerin aktivasyonu ile ekspresyonu artan laktoferrin, antimikrobiyal aktivitesini bakteriyostatik ve bakteriyosidal olarak gerçekleştirebilir. Demir şelatasyonu ile bakteriyostatik özellik gösterirken; bakterilerin lipopolisakkarit ve teikoik asit yapılarına bağlanarak membran geçirgenliğini arttırması ve serin proteaz aktivitesi ile bakteri antijenlerini parçalaması ile bakteriyosidal özellik gösterir<sup>39</sup>.

Bakterisidal/geçirgenlik artırıcı protein (BPI), Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki lipopolisakkarit tabakasına yüksek afinite gösteren ve lökositlerin granüllerinde depolanan bir antimikrobiyal peptiddir. Bu peptid anti-enfektif özelliğini lipopolisakkarit nötralizasyonu ve bakteriyel membranların permeabilizasyonu ile göstermektedir. Yapılan çalışmalar sonucu BPI'nin bu mekanizmalarla Gram-negatif enfeksiyonlar sırasında salınan endotoksinlerin neden olduğu lokal inflamatuvar yanıt ve sistemik toksisiteyi azaltabileceği gösterilmiştir<sup>20</sup>.

AMP'ler, uzun yıllar önce keşfedilmiş ve diğer hastalıklarda olduğu gibi sepsiste biyobelirteç özelliği, in vitro ve in vivo değerlendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada sepsis hastalarında IL-6, IL-10, prokalsitonin ve C-reaktif protein gibi inflamasyon belirteçlerinin yanı sıra a-defensin ve laktoferrin düzeylerinin de artış gösterdiği fakat katelisin düzeylerinin kontrol hastaları ile benzer olduğu, ayrıca artış gösteren a-defensin ve laktoferinin düzeylerinin IL-6, prokalsitonin ve C-reaktif protein ile korelasyon göstermezken IL-10 ile korele olduğu bulunmuştur<sup>40</sup>. Benzer bir çalışmada nötropenik sepsis hastalarında a-defensin ve laktoferrin düzeyleri kontrol grubuna kıyasla azalmış bulunurken non nötropenik sepsis hastalarında ise iki peptidin de plazma düzeylerinde artış görülmüştür<sup>41</sup>. Diğer bir çalışmada sepsisin dahil olduğu ve olmadığı iki kritik hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre katelisin ve D vitamini düzeyleri düşük bulunurken iki kritik hasta

grubunun katelisin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır<sup>42</sup>. Başka bir çalışmada plazma hBD2 seviyeleri benzer şekilde kritik fakat sepsis olmayan hasta, kritik hasta, sepsisli hasta ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülmüş ve sonuç olarak hBD2 düzeyleri; sepsisli kritik hastalarda sepsis olmayan kritik hasta ve kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur<sup>43</sup>. Benzer şekilde kalprotektin düzeyleri sepsisli yenidoğan hastalarda, sepsis olmayan hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur<sup>44</sup>. Yeşilbaş ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada ise sepsis ve septik şoka sahip çocuklarda, sepsis dışındaki hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubunda WBC, IL-6, CRP, PCT gibi biyobelirteç düzeylerinin yanı sıra hepsidin düzeylerinin de daha yüksek olduğunu bulunmuştur<sup>45</sup>. Yine plazma ve nötrofil yüzeyindeki BPI seviyelerinin incelendiği bir çalışmada kontrol grubuna oranla sepsis hastalarında bu oran daha yüksek bulunmuştur<sup>46</sup>. Yapılan bu çalışmalara rağmen AMP'lerin, sepsiste biyobelirteç olarak kullanımının sonuçlarını doğru değerlendirmek için eldeki kanıtlar yeterli değildir. Bununla birlikte, en çok çalışılan AMP'lerden olan plazma defensin düzeyini irdeleyen birkaç gözlemsel çalışmada, septisemi olan hastalarda plazma defensin konsantrasyonlarının yükseldiği kesin olarak gösterilmiştir. Septik hastalar arasında, defensinin plazma düzeyi, sağlıklı kontrollere göre 4000 kat, menenjitli hastalardan 186 kat daha fazladır. İnsan b-defensin-2'nin gösterdiği bu korelasyon, preterm yenidoğanlarda da gözlenmiştir. Ancak bir çok çalışmada çoklu travma ve şiddetli sepsisin erken döneminde gözlenen plazma AMP'lerinin seviyesindeki net artış, hastalık ilerledikçe sürdürülebilir olmayabilir. Bu da AMP'lerin ideal biyobelirteç olmasının önündeki engellerden biridir<sup>47</sup>.

Sonuç olarak yapılan araştırmalar ile birlikte antimikrobiyal peptitler, sepsisin tanı ve tedavisi için ilgi odağı haline gelmiştir. Sepsis ile sentezi artan antimikrobiyal peptidler tanıda biyobelirteç olarak umut vaat etse de hala yüksek hasta popülasyonu ve metodolojik özellikleri benzer septik hastalarla yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Kaynaklar

1. Fleischmann C, Schera A, Neill KJ, Tsaganos H, Schlattmann P, Angus DC, et al. On behalf of the International Forum of Acute Care Trialists Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. *J Respir Crit Care Med*, 2016; 193(3): 259-272
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA*, 2016; 315(8): 801-810.
3. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 2016; 315(8):775-787.
4. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood*, 2003; 101:3765.
5. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, 1992; 101(6): 1644-1655.
6. Churpek MM, Zadravec FJ, Winslow C, Howell MD, Edelson DP. Incidence and prognostic value of the systemic inflammatory response syndrome and organ dysfunctions in ward 57 patients. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2015; 192(8): 958-964.
7. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, & Bellomo R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe Sepsis. *New England Journal of Medicine*, 2015; 372(17): 1629-1638.
8. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. sccm/esicm/accp/ats/sis international sepsis definitions conference. *Intensive care medicine*, 2003; 29(4):530-538.
9. Ayşe Ünal Eşiyok. Sepsis Tamsında Moleküler Yöntemlerin Konvansiyonel Yöntemler İle Karşılaştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2016
10. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*, 2008; 36: 296-327.
11. Peters RP, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandembroucke-Grauls CM. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *Lancet Infect Dis*, 2004; 4: 751-60.
12. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, Clementi M. The era of molecular and other non-culture-based methods in diagnosis of sepsis. *Clin Microbiol Rev*, 2010; 23: 235-51.
13. Vincent JL, Moreno R, Takala J, WillattsS, Mendona A, BruiningH, Reinhart CK, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. *Intensive Care Med*, 1996; 22: 707-710
14. Reinhart K. Diagnosis of sepsis. Novel and conventional parameters. *Minerva Anestesiol*, 2001; 67: 675-82.
15. Mitaka C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clin Chim Acta* 2005; 351, 17-29.
16. Carrol ED, Thomson AP, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Int J Antimicrob Agents*, 2002; 20: 1-9.
17. Carnicelli V, Lizzi AR, Ponzi A, Amicosante G, Bozzi A and Di Giulio A. Interaction between antimicrobial peptides (AMPs) and their primary target, the biomembranes. In: *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. FORMATEX*, 2013; pp. 1123-1134.
18. Lehrer RI, Ganz T. Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defence. *J Surg Res*, 1999; 11: 23-7.
19. Brogden KA, Ackermann M, McCray PB, Tack BF. Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2003; 22: 465-478.
20. Martin L, Meegern A, Doemming S, Schuerholz T. Antimicrobial peptides in human sepsis. *Frontiers in Immunology Rev*, 2015; 00404.
21. Nagaoka I, Hirota S, Niyonsaba F et al. Cathelicidin family of antibacterial peptides CAP18 and CAP11 inhibit the expression of TNF- $\alpha$  by blocking the binding of LPS to CD14(+) cells. *J. Immunol*, 2001; 167: 3329.
22. Rosenfeld Y, Papo N, Shai Y. Endotoxin (lipopolysaccharide) neutralization by innate immunity host-defense peptides. Peptide properties and plausible modes of action. *J. Biol. Chem*, 2006; 281: 1636.
23. Landsem A, Fure H, Christiansen D, Nielsen EW, Osterud B, Mollnes TE, Brekke OL: The key roles of complement and tissue factor in *Escherichia coli*-induced coagulation in human whole blood. *Clin Exp Immunol*, 2015; 182(1): 81-89.
24. Hirata M, Shimomura Y, Yoshida M, Wright SC, Larrick JW. Endotoxin-binding synthetic peptides with endotoxin-neutralizing, antibacterial and anticoagulant activities. *Prog Clin Biol Res*, 1994; 388: 147-159.
25. Zadañpanah A, Gallo RL. Antimicrobial Peptides. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2005; 52: 381-390.
26. Wang G, Li X, Wang Z. The updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Res*, 2009; 37: 933-937.
27. Yang D, Biragyn A, Hoover DM, Lubkowski J, Oppenheim JJ. Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense. *Annu Rev Immunol*, 2004; 22: 181-215.
28. Koten B, Becker K, Podschun R, van Eijff C, Meyer-Hoffert U, Harder J, Glaser R. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* bacteremia strains to different skin-derived antimicrobial proteins. *Arch Dermatol Res*, 2012; 304(8): 633-637.
29. Takahashi H, Tsuda Y, Takeuchi D, Kobayashi M, Herndon DN, Suzuki F: Influence of systemic inflammatory response syndrome on host resistance against bacterial infections. *Crit Care Med*, 2004; 32(9): 1879-1885.
30. Vandembroucke RE, Vanlaere I, Van Hauwermeiren F, Van Wonerghem E, Wilson C, Libert C: Pro-inflammatory effects of matrix metalloproteinase 7 in acute inflammation. *Mucosal Immunol*, 2014;7(3): 579-88.
31. Fagerhol MK, Dale I, Andersson T, "Release and quantitation of a leucocyte derived protein (L1)." *Scandinavian Journal of Haematology*, 1980; 24(5):393-398.
32. Zwaldlo G, Bruggen J, Gerhards G, Schlegel R, Sorg C, "Two calcium-binding proteins associated with specific stages of myeloid cell differentiation are expressed by subsets of macrophages in inflammatory tissues." *Clinical and Experimental Immunology*, 1988; 72(3): 510-515.
33. P C Ng, "Diagnostic markers of infection in neonates," *Archives of Disease in Childhood*. 2004; 89 (3): 229-235.
34. Nisapakulorn K, Ross Kf, Herzberg Mc. Calprotectin expression inhibits bacterial binding to mucosal epithelial cells. *Infect Immun*, 2001; 69: 3692-3696.
35. Arcezes J, Jung G, Gabayan V, Valore E, Ruchala P, Gulig PA, Ganz T, et al. Hepcidin-induced hypoferrremia is a critical host defense mechanism against the siderophilic bacterium *Vibrio vulnificus*. *Cell Host Microbe*, 2015; 17: 47-57.
36. Rodriguez R, Jung CL, Gabayan V, Deng JC, Ganz T, Nemeth E, Bulut Y. Hepcidin induction by pathogens and pathogenderived molecules is strongly dependent on interleukin-6. *Infect Immun*, 2014; 82: 745-752.
37. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*, 2003; 102: 783- 788.
38. Michels K, Nemeth E, Ganz T, Mehrad B. Hepcidin and host defense against infectious diseases. *PLoS Pathog*, 2015; 11: e1004998.
39. Yıldırım Z, Tokatlı M, Öncül N, Yıldırım M. Laktoferrinin Biyolojik Aktivitesi. 2011; 9(6): 52-63
40. Berkestedt I, Herwald H, Ljunggren L, Nelson A, Bodelsson M. Elevated Plasma Levels of Antimicrobial Polypeptides in Patients with Severe Sepsis. *the Journal of innate immunity*, 2010; 2: 478-482
41. Neal JT, Joseph AC, Lesley AD, Howell S, Phillip H. Plasma concentrations of defensins and lactoferrin in children with severe sepsis. *Pediatr Infect Dis J*, 2002; 21(1): 34-8.
42. Jeng L, Yamshchikov AV, Judd SE, Blumberg HM, Martin GS, Ziegler TR, Tangpricha V. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis *Journal of Translational Medicine*, 2009; 7: 28
43. Book M, Chen Q, Lehmann LE, Klaschik S, Weber S, Schewe J, et al. Inducibility of the endogenous antibiotic peptide  $\beta$ -defensin 2 is impaired in patients with severe sepsis. *Critical Care*, 2007; 11(1): 19.
44. Terrin G, Passariello A, Manguso F, Salvia G, Rapacciuolo L, Messina F, et al. Serum Calprotectin: An Antimicrobial Peptide as a New Marker For the Diagnosis of Sepsis in Very Low Birth Weight Newborns. *Clin Dev Immunol*, 2011; 291085
45. Yeşilbaş O, Şevketoğlu E, Duramaz Bb, Kılıtr Hs, Gedikbaşı A, Petmezci Mt, Baydemir C. Role of hepcidin in the diagnosis of sepsis and septic shock in children Turkish. *Journal of Medical Sciences*, 2018; 48: 517-524
46. Calvano SE, Thompson WA, Marra MN, Coyle SM, de Riesthal HF, Trousdale RK, et al. Changes in polymorphonuclear leukocyte surface and plasm bactericidal/permeability-increasing protein and plasma lipopolysaccharide binding protein during endotoxemia or sepsis. *Arch Surg*, 1994; 129, 220-6.
47. Ho J, Zhang L, Liu X, Wong SH, Wang MHT, Lau BWM, Ngai SPC, et al. Pathological role and diagnostic value of endogenous host defense peptides in adult and neonatal sepsis: a systematic review. *Shock*, 2017; 47: 673-679.