



# Nattokinaz Uygulamasının Sepsiste Kan Viskozitesi ve Sağ Kalıma Etkisi

## Effects of Nattokinase on Whole Blood Viscosity and Mortality

Melike Cengiz, Pınar Karadamar\*, Murat Yılmaz, Nesil Coşkunfırat, Ayhan Ramazanoğlu, Sabahat Özdem\*\*, Oğuz Kerim Başkurt\*, Herbert J Meiselman\*\*\*

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

\*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

\*\*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

\*\*\*Keck School of Medicine, Fizyoloji ve Biyofizik Departmanı, Los Angeles, ABD

### ÖZET

**Amaç:** Nattokinaz haşlanmış soya fasulyesinin *Basillus Subtilis* Natto kullanılarak fermente edilmesinden elde edilen potent fibrinolitik etkili bir serin proteazdır. Bu deneysel çalışmanın amacı, sepsis oluşturulmadan önceki 7 gün süresince intragastrik uygulanan Nattokinaz'ın (6mg/gun) sıçanlarda plazma fibrinojen düzeyleri, tam kan viskozitesi ve mortalite üzerine etkilerini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Yedi gün boyunca günde 2 kez gastrik lavaj yoluyla Nattokinaz ya da zeytinyağı verilen sıçanlarda çekal ligasyon ve delme yöntemi ile intraabdominal sepsis oluşturuldu. Plazma fibrinojen düzeyi ve tam kan viskozitesi ölçümleri ile süri analizi gerçekleştirildi.

**Bulgular:** En düşük kayma hızında analiz edilen kan viskozitesi ortalaması Nattokinaz çekal ligasyon delme grubunda daha küçük değere sahipti ( $p<0.05$ ). Ancak yüksek kayma hızlarında gruplar arası farklar önemli değildi. Nattokinaz ve çekal ligasyon delme uygulanan grup ile yalnızca çekal ligasyon delme uygulanan gruplar arasında süri oranları açısından fark bulunmadı.

**Sonuç:** Sepsis öncesi intragastrik nattokinaz uygulamasının plazma fibrinojen düzeyi ve düşük kayma hızları haric tam kan viskozitesi üzerine etkisi gösterilemedi. Nattokinaz sepsisli sıçanlarda süriyi değiştirmedi. (Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi 2011; 9: 85-9)

**Anahtar Kelimeler:** Nattokinaz, sepsis, fibrinojen, viskozite

### SUMMARY

**Objective:** Nattokinase is a serin protease having potent fibrinolytic effect derived from fermentation of boiled soy bean by the use of *Basillus Subtilis* Natto. The aim of this experimental study is to investigate the effects of intragastric Nattokinase (6 mg/day) administration for 7 days prior to formation of sepsis on plasma fibrinogen levels, whole blood viscosity and mortality in rats.

**Materials and Methods:** Intraabdominal sepsis were performed by cecal ligation and puncture in rats supplemented with nattokinase or olive oil for 7 days prior to sepsis formation. Plasma fibrinogen, whole blood viscosity analysis and survival analysis was performed after intraabdominal sepsis formation.

**Results:** Mean blood viscosity of rats was lower in Nattokinase and cecal ligation group at lowest shear rate ( $p<0.05$ ). However, the differences between groups were not significant at higher shear rates. No difference was found in survival rates and survival times of Nattokinase and cecal ligation and cecal ligation and puncture groups.

**Conclusion:** Our results were unable to show the effects of intragastric nattokinase supplementation prior to sepsis on plasma fibrinogen levels or whole blood viscosity, except low shear rate. Nattokinase did not altered survival in septic rats. (Journal of the Turkish Society Intensive Care 2011; 9: 85-9)

**Key Words:** Nattokinase, sepsis, fibrinogen, viscosity

## Giriş

Sepsis konakçının enfeksiyona yanıtı sonucu gelişen kompleks klinik bir sendromdur ve inflamasyonu tetikleyen enfeksiyonun doğrudan etkilemediği organ veya sistemlerde bile akut, geri döndürülebilir çoklu organ yetersizliklerine (MODS) neden olabilir. Sepsis sırasında koagülasyon ve anti-koagülasyon ve/veya fibrinolitik mekanizmalar arasındaki denge sıklıkla bozularak trombosit sayısında bir miktar azalma gibi klinik olarak belirsiz bir bulgudan, yaygın intravasküler koagülasyona (DİK) neden olabilecek ağır kanama bozukluklarına kadar değişebilen tablolar oluşturur. Fibrinin mikrodolaşım seviyesinde birikmesi çoklu-organ yetersizliği ve ölümle sonuçlanabilecek organ perfüzyon bozuklukları ve parankim hücreleri fonksiyon kayıplarına neden olabilir (1).

Nattokinaz, geleneksel Japon mutfağında sevilen, soya fasülyesinden pürifiye edilmiş fibrinolitik etkili bir serin proteazdır (2). Nattokinaz çapraz bağlanmış kollajeni doğrudan parçalamasının yanında doku plazminojen aktivatörü (tPA) üretimini arttırarak inaktif plazminojenin aktif form olan plazmine dönüşmesini sağlar (3). Bu etkilerinin yanı sıra, nattokinaz plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) inhibisyonu yoluyla plazminojenden plazmin oluşumunu hızlandırır (4). PAI-1 inhibisyonu enzimin aktif bölgesinde sınırlı bir proteoliz yaparak gerçekleştirir.

Fibrinolitik etkisine ek olarak Nattokinazın plazma çözünebilir fibrinojen düzeylerinde azalmaya neden olan güçlü fibrinojenolitik etkisinin bulunduğu bilinmektedir (5). Akut faz proteini olan fibrinojenin plazma konsantrasyonu sepsis sendromu süresince önemli artış göstermektedir (6). Fibrinojenin kan viskozitesini ve reolojik özelliklerini değiştirerek sepsis sırasında dolaşım bozuklukları arttırdığı bildirilmiştir (7,8). Bu nedenle, fibrinojenolitik etkisi nedeniyle Nattokinaz'ın sepsis sırasında gelişen fibrinojen artışı ve buna bağlı reolojik bozuklukları azaltabileceği düşünülebilir. Bu deneysel çalışmanın amacı, sıçanlarda çekal ligasyon ve delme metodu ile oluşturulan intraabdominal sepsis öncesi intragastrik Nattokinaz uygulamasının plazma fibrinojen düzeyi, tam kan viskozitesi ve sepsise bağlı mortalite üzerine etkilerini araştırmaktır.

## Gereç ve Yöntem

### Deney protokolü ve gruplar

Çalışmada 200-250 gram ağırlığında olan 50 yetişkin dişi sıçan kullanıldı. Deney protokolü Akdeniz Üniversitesi Hayvan Araştırma ve Kullanım Komitesi tarafından onaylandı ve hayvan bakımı Helsinki deklarasyonuna uygun olarak gerçekleştirildi. Plazma fibrinojen düzeyi ve tam kan viskozitesi analizleri (Deney 1) 30 sıçan, sürvi analizi (Deney 2) ise 20 sıçan kullanılarak yapıldı.

### Deney 1

Deney 1 her birinde 10 sıçan bulunan 3 grup oluşturularak yapıldı. Sıçanlar randomize edilerek oluşturulan gruplar:

### 1. Nattokinaz ve Çekal Ligasyon Delme Grubu (Nat+ÇLD)

Nat+ÇLD grubundaki sıçanlara 1 ml zeytinyağı içerisinde seyreltilmiş Nattokinaz (6 mg/gün), bölünmüş iki eşit dozda, 12 saat aralıklarla, gastrik gavaj yoluyla, 7 gün boyunca verildi. Son Nattokinaz gavajının ardından eter anestezisi altında orta hat laparotomi yapıldı. Çekum lokalize edildi ve 3/0 ipek ile intestinal pasaj korunacak şekilde bağlandı. Çekumun antimezenterik tarafı 18 G iğne yardımıyla zıncı ile delindi. Barsaklar ve bağlanmış çekum abdominal kaviteye tekrar yerleştirildi ve yara 3/0 ipek ile sütüre edildi. Dehidratasyonun engellenmesi için operasyon sonunda izotonik salin (2 ml/100g vücut ağırlığı) subkutan yolla enjekte edildi. Laparatomiden 18 saat sonra tekrar eter ile anestezisi indüksiyonu yapıldı. Kan örnekleri abdominal aortadan alınarak sıçanlar feda edildi ve kanlar her sıçan için iki test tüpünde toplandı. %3,2 sodyum sitrat içeren test tüpüne alınan kan örneği plazma fibrinojen düzeyi analizi, sodyum heparin içeren test tüpüne alınan kan örneği ise kan viskozite ölçümleri için kullanıldı.

### 2. Çekal Ligasyon ve Delme Grubu (ÇLD)

ÇLD grubundaki sıçanlara 1 ml saf zeytinyağı (vehikül), 12 saat aralıklarla, gastrik gavaj yoluyla, 7 gün boyunca verildi. Son Nattokinaz gavajının ardından laparotomi, çekal ligasyon ve delme uygulamaları ve kanların toplanması Nat+ÇLD grubunda anlatıldığı biçimde uygulandı.

### 3. Laparotomi grubu (Lap)

Lap grubundaki sıçanlara 1 ml saf zeytinyağı (vehikül), 12 saat aralıklarla, gastrik gavaj yoluyla, 7 gün boyunca verildi. Son Nattokinaz gavajının ardından eter anestezisi altında orta hat laparotomi yapıldı. Barsaklar nazikçe batından çıkartıldı ve tekrar abdominal kaviteye yerleştirildi. Yara 3/0 ipek ile sütüre edildi. Dehidratasyonun engellenmesi için operasyon sonunda izotonik salin (2 ml/100g vücut ağırlığı) subkutan yolla enjekte edildi. Kanların toplanması diğer gruplarla aynı biçimde yapıldı. Bu grup sham opere olarak çalışmaya alındı.

Tüm gruplarda sıçanlara post operatif analjezi amacıyla meperidin (20 mg/kg) subkutan uygulandı ve kan örnekleri plazma fibrinojen düzeyi ve tam kan viskozite analizleri için kullanıldı.

### Deney 2

Deney 2 her birinde 10 sıçan bulunan 2 grup oluşturularak yapıldı. Sıçanlar randomize edilerek oluşturulan gruplar:

### 1. Nattokinaz ve Çekal Ligasyon Delme Grubu (Nat+ÇLD)

Nat+ÇLD grubundaki sıçanlara 1 ml zeytinyağı içerisinde seyreltilmiş Nattokinaz (6 mg/gün), bölünmüş iki eşit dozda, 12 saat aralıklarla, gastrik gavaj yoluyla, 7 gün boyunca verildi. Son Nattokinaz gavajından sonra Deney 1 de Nat+ÇLD grubunda uygulandığı şekilde girişim uygulandı.

### 2. Çekal Ligasyon ve Delme Grubu (ÇLD)

ÇLD grubundaki sıçanlara 1 ml saf zeytinyağı (vehikül), 12 saat aralıklarla, gastrik gavaj yoluyla, 7 gün boyunca verildi. Son gavajdan 18 saat sonra laparotomi, çekal ligasyon ve delme, kanların toplanması Nat+ÇLD grubunda anlatıldığı biçimde uygulandı.

ÇLD işleminden sonra her iki gruptaki sıçanlara dehidratasyonun engellenmesi için izotonik salin (2 ml/100g vücut ağırlığı) ve post operatif analjezi amacıyla meperidin (20 mg/kg) subkutan yolla enjekte edildi. Sıçanlar operasyondan sonraki ilk 24 saat sürekli, 24-72 saatler arasında 4 saatte bir kez, 3-7 günler arasında ise 8 saatte bir kez gözlemlendi. Yaşam süreleri kaydedildi.

#### Plazma Fibrinojen Düzeyi Analizi

%3,2 sodyum sitrat ile antikoagülasyon uygulanmış kan örneklerinde plazma fibrinojen düzeyleri modifiye Clauss metodu ile analiz edildi (9).

#### Tam Kan Viskozitesi Analizi

Tam kan viskozitesi farklı kayma hızlarında Rheolog (Rheologics, Exton, PA) viskometre ile Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında ölçüldü. Bu viskometre in vivo koşulları taklit edecek şekilde biyolojik olarak geçimli olan bir madde ile kaplanmış, ısı kontrollü kapalı bir sistemde kanın analizini sağlar. Kan U şeklindeki kapiller içine alındıktan sonra bir sütun içerisinde toplanır. Ardından kanın yer çekimi doğrultusunda her iki kolonda dengelenmesine izin verilir. Kan akımı başlangıçta hızlıdır ancak her iki kolonda bulunan kan seviyesi birbirine yaklaşıncaya kadar geçen süre içerisinde giderek yavaşlar. Kan akımı sırasında sistem, belirlenmiş bir zaman dilimi içerisinde (3 dakika) iki kolondaki kanın yüksekliğini kaydeder.

Akım hızı (kolonlardaki kanın yüksekliğindeki değişim hızı ile belirlenir) kapiller tüp boyunca düşen basınç ile doğrudan orantılıdır ve akım hızından yola çıkarak kayma hızı ile viskozite matematiksel olarak sisteme irtibatlı bir bilgisayar yardımıyla hesaplanır (10). Tam kan viskozitesi ölçümleri 37°C sıcaklıkta, 1 – 1000 sn-1 kayma hızı aralığında ölçüldü.

#### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizde Graphpad Prism (3.cü sürüm) kullanıldı. Plazma fibrinojen düzeyleri ortalama  $\pm$  standart hata olarak değerlendirildi. Gruplar arası tam kan viskozitesi farklarının araştırılmasında varyans analizi, farklı kayma hızlarında kan viskozitesi değışikliklerinin karşılaştırılmasında

ise tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Gruplar arası farkların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Neuman-Keuls post hoc testi kullanıldı. Nat+ÇLD ile ÇLD grupları arasında sürvi analizi Kaplan Meier testi ile yapıldı.

## Sonuçlar

ÇLD işlemi sonrası fekal peritonit-sepsisemi oluşumu çekal ödem ve nekroz, masif intraperitoneal sıvı (asit) gözlenmesi ile doğrulandı. Nat+ÇLD ve ÇLD gruplarında abdominal aortadan alınabilen maksimum kan miktarlarının ortalaması (4,0 ml), Lap grubunda alınabilen kan ortalamasından (10,5 ml) daha düşüktü. Bu bulgunun sepsise bağlı vasküler permeabilite artışına bağlı olduğu düşünüldü.

Plazma fibrinojen düzeyi ölçümleri ortalaması Lap grubunda  $218,6 \pm 72,6$  mg/dl, ÇLD grubunda  $239,2 \pm 22,3$  mg/dl ve Nat+ÇLD grubunda  $212,5 \pm 49,9$  mg/dl bulundu. Nat+ÇLD grubunda ortalama fibrinojen düzeyi daha düşük bulunmakla birlikte fark istatistiksel olarak önemli değildi ( $p > 0,05$ ).

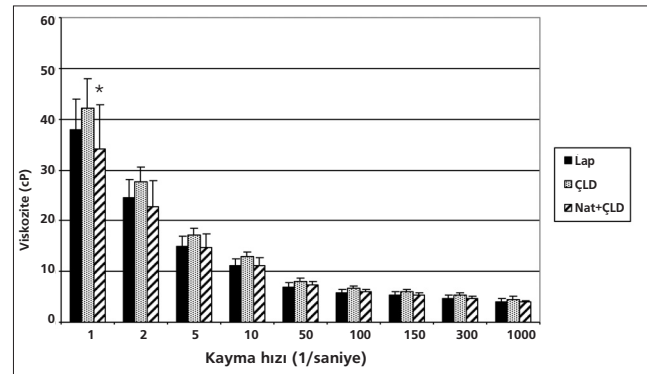
RheologTM ile farklı kayma hızlarında (1-100/saniye) yapılan tam kan viskozitesi ölçümlerine ait grafik Şekil 1' de gösterilmiştir. Nat+ÇLD grubunda yer alan sıçanların tam kan viskozitesi düşük kayma hızında (1 /saniye) ÇLD grubuna göre daha düşüktü ( $p < 0,05$ ). Diğer kayma hızlarında grupların tam kan viskozitesi ortalamaları arasında önemli fark bulunamadı.

Çalışmada Nat+ÇLD ile ÇLD gruplarına dahil olan 20 sıçanın ÇLD operasyonu sonrası 196 saat süresince ölüm sıklığı ve hayatta kalma süreleri değerlendirildi (Tablo 1).

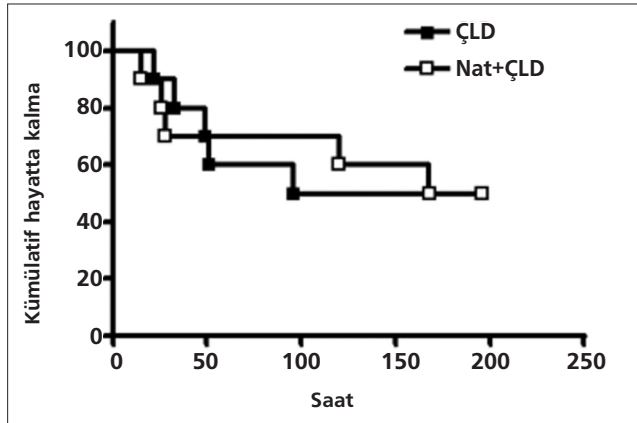
Nat+ÇLD grubundaki sıçanların gözlem süresinin sonunda hayatta kalma oranı %50 ve ortalama hayatta kalma süresi  $133,7 \pm 24,0$  saat olarak belirlendi. ÇLD grubundaki sıçanların ise hayatta kalma oranı gözlem süresinin sonunda Nat+ÇLD grubu ile benzer (%50) olmakla birlikte ortalama hayatta kalma süreleri  $123,1 \pm 23,7$  saat bulundu. Yapılan Kaplan Meier sürvi analizi sonucunda iki grup arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur (Şekil 2).

**Tablo 1. Sürvi analizi yapılan gruplar, ölüm sıklığı ve sıçanların ölüm saatleri göstermektedir**

| Gruplar                   | Nat+ÇLD (n=10) | ÇLD (n=10) |
|---------------------------|----------------|------------|
| Gözlem Süresi             | 196 saat       | 196 saat   |
| Ölüm sıçan sayısı         | 5              | 5          |
| <b>Ölüm Zamanı (saat)</b> |                |            |
| 1. sıçan                  | 15             | 22         |
| 2. sıçan                  | 28             | 33         |
| 3. sıçan                  | 26             | 49         |
| 4. sıçan                  | 120            | 51         |
| 5. sıçan                  | 168            | 96         |



**Şekil 1.** Lap, ÇLD ve Nat+ÇLD gruplarının 1 - 1000 s-1 aralığındaki kayma hızlarında ortalama kan viskozitesi değışimleri karşılaştırılmıştır. \* $p < 0,05$  Nat+ÇLD ve ÇLD grupları arasındaki kan viskozite farkını göstermektedir



**Şekil 2.** Nat+ÇLD ve ÇLD gruplarında fekal intraabdominal sepsis sonrası sürvi analizi için Kaplan Meier testi kullanıldı. Gruplar arasında önemli fark bulunamadı ( $p < 0,05$ )

## Tartışma

Sepsis hastane ve yoğun bakım tedavilerinin gelişmesi ile birlikte sıklığı artan, mortalitesi %28-50 arasında değişen bir sendromdur (11). Patofizyolojisinde intravasküler fibrin birikmesi önemli rol oynar. Mikrovasküler tromboz hasarlanmış dokunun tamir edilmesini ve sistemik dolaşımdaki bakterilerin dokulara difüzyonunun kısıtlanmasını hedefleyen bir savunma mekanizmasıdır. Ancak yaşlı ve aşırı mikrotrombüs oluşması şiddetli doku iskemisi ve buna bağlı organ yetersizliklerine neden olur (12).

Bu çalışmada, Nattokinazın intragastrik yolla verilmesine intraabdominal sepsis oluşturulmasından 7 gün önce başlandı ve plazma fibrinojen düzeyi, tam kan viskozitesi ve sepsise bağlı mortalite üzerine etkileri araştırıldı. Akut faz reaktanı olan fibrinojen inflamasyonun eşlik ettiği durumlarda artar. ÇLD grubundaki sıçanların ortalama fibrinojen düzeyi Lap grubunda daha yüksek bulundu ve Nat+ÇLD grubundaki sıçanların ortalama fibrinojen düzeyleri diğer iki gruptan daha düşüktü. Ancak fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Diğer bir deyişle, sepsisin çok beş gün klinik bulguları gözlenmesine rağmen ÇLD grubu ve Lap grubu arasında önemli bir fark olmadı. Bu bulgu, ÇLD yöntemi kullanılmış sıçan sepsis modeli ile yapılan başka bir çalışma ile uyumludur (13). Bu çalışmada Laure ve ark. laparatomiden 12 saat sonra ÇLD ve sham gruplarının fibrinojen düzeyi ortalamaları arasında fark bulunmadığını ancak 24 saat sonra ÇLD grubundaki sıçanların fibrinojen düzeyinde önemli artış olması ile farkın anlaşılabildiğini bildirdiler. Bizim çalışmamızda ÇLD uygulamasından 18 saat sonra fibrinojen düzeyi ölçümü için kan alındı. Sıçanlar feda edildiğinden fibrinojen düzeyi ölçümleri tekrarlanamadı ve bu nedenle plazma fibrinojen düzeyinin seyri izlenemedi.

Kan viskozitesi fibrinojen ve diğer plazma proteinlerinin artışı dışında deformabilitenin azalması, eritrosit agregasyonunun artması ve sepsisin hipodinamik fazında

eritrositlerde rulo formasyonu oluşturması ile de yükselebilir (7). Çalışmamızda, yalnızca 1/sn kayma hızında yapılan ölçümlerde Nat+ÇLD ve ÇLD gruplarının kan viskoziteleri arasında önemli fark bulduk. Daha önce yapılmış olan bir in vitro çalışmada, Nattokinaz ile oluşan kan viskozitesi değişikliklerinin düşük kayma hızlarında fazla, yüksek kayma hızlarında ise ihmal edilebilecek düzeyde olduğu bildirilmiştir (5). In vivo ortamda gerçekleştirilmiş çalışmamız Nattokinazın fibrinolitik etkilerinin sınırlanmakta yetersiz kalmakla birlikte, Nattokinaza bağlı kan viskozitesi değişikliklerinin incelendiği in vivo çalışmayı desteklemiştir.

ÇLD ve Nat+ÇLD gruplarının sürvi oranları benzerdi ve sıçanların yaşam süreleri arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktu. Nattokinazın doğrudan veya PAI-1 inhibisyonu yaparak aktivite ettiği fibrinolitik/fibrinojenolitik iyileştirici etkisini göstermede yetersiz kalan bu sonuç iki şekilde yorumlanabilir. İlk olarak, uygulanan Nattokinaz dozu ve uygulama süresi enzimin klinik etkilerinin ortaya çıkması için yetersiz olabilir. İkinci ihtimal ise sürvi analizinin yapıldığı sıçan sayısının gerçek sonuçları göstermede yetersiz kalmasıdır. Sepsis, tüm organ ve sistemleri etkileyen bir sendromdur. Sepsise bağlı MODS gelişiminde en önemli patoloji DİK olsa da akut dönemde mortalitenin en önemli nedenleri intravasküler sıvı şifti, katekolaminlere duyarlılık ve distribütif şoktur. Bu nedenle, denek sayısının artırılması Nattokinazın sepsise bağlı mortalite üzerine gerçek etkinliğini gösterebilir.

Sepsis; yoğun bakım hastaları, bağışıklık sistemi bozukluğu olanlar ve benzeri yüksek risk gruplarında görülme sıklığı fazla olan bir durumdur. Sepsis tedavisi erken tanı, antibiyoterapi, sıvı replasmanı, vazoaktif ve pozitif inotrop medikasyon, mekanik ventilasyon ve temel yoğun bakım tedavilerini içermektedir (14). Sepsise bağlı DİK ve buna bağlı multiorgan yetersizliği tedavisinde rekombinant aktif protein C (drotrecogin alfa) uygulanması önerilmiştir (15). Ancak bu tedavi etkinliğindeki şüpheler nedeniyle kullanımdan kaldırılmıştır. Fibrinolitik/fibrinojenolitik etkisi mevcut olan, oral beslenme solüsyonları ile verilebilen, kanama komplikasyonu olmayan, yan etkisi bulunmayan, sepsis açısından risk gruplarında rutin beslenmede kullanılabilen, düşük maliyetli bir ajan olan Nattokinaz sepsise bağlı DİK tedavisinde yeni ufuklar açabilir. Nattokinazın sepsise bağlı DİK tedavisi veya önlenmesindeki yararlılığının aydınlatılabilmesi için başka in vivo ve in vitro çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## Kaynaklar

1. Balk RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. Crit Care Clin 2000;16:179-92.
2. Sumi H, Hamada H, Tsushima H, Mihara H, Muraki H. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet. Experientia 1987;43:1110-1.

3. Fujita M, Hong K, Ito Y, Fujii R, Kariya K, Nishimuro S. Thrombolytic effect of nattokinase on a chemically induced thrombosis model in rat. *Biol Pharm Bull* 1995;18:1387-91.
4. Urano T, Ihara H, Umemura K, Suzuki Y, Oike M, Akita S, et al. The Profibrinolytic Enzyme Subtilisin NAT Purified from *Bacillus subtilis* Cleaves and Inactivates Plasminogen Activator Inhibitor type 1. *J Biol Chem* 2001;276:24690-6.
5. Pais E, Alexy T, Holsworth RE Jr, Meiselman HJ. Meiselman, Effects of nattokinase, on red blood cell aggregation and whole blood viscosity. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;35:139-42.
6. Collins PW, Macchiavello LI, Lewis SJ, Macartney NJ, Saayman AG, Luddington R, et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *Br J Haematol* 2006;135:220-7.
7. Piagnerelli M, Boudjeltia KZ, Vanhaeverbeek M, Vincent JL. Red blood cell rheology in sepsis. *Intensive Care Med* 2003;29:1052-61.
8. Baskurt OK, Gelmont D, Meiselman HJ. Red blood cell deformability in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:421-7.
9. CLAUSS A. [Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen]. *Acta Haematol* 1957;17:237-46.
10. Alexy T, Wenby RB, Pais E, Goldstein LJ, Hogenauer W, Meiselman HJ. An automated tube-type blood viscometer: Validation studies. *Biorheology* 2003;42:237-47.
11. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1103-10.
12. Dixon B. The role of microvascular thrombosis in sepsis. *Anaesth Intensive Care* 2004;32:619-29.
13. Laudes J, Chu JC, Sikranth S, Huber-Lang M, Guo RF, Riedemann N, et al. Sikranth, anti-C5a Ameliorates Coagulation/Fibrinolytic Protein Changes in a Rat Model of sepsis. *Am J Pathol* 2002;160:1867-75.
14. Fovars E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001;345:1368-77.
15. Dhainaut JF, Laterre PF, Janes JM, Bernard GR, Artigas A, Bakker J, et al. Drotrecogin alfa (activated) in the treatment of severe sepsis patients with multipl organ dysfunction: data from the propress trial. *Intensive Care Med* 2003;29:894-903.

### **Geri çekme notu:**

"Yazışmalardan sorumlu ve birinci isim yazar olan (Melike Cengiz) ve derginin yayın kurulu, Aralık 2011 tarihli Nattokinaz Uyulmasının Sepsiste Kan Vizkozitesi ve Sağ Kalıma Etkisi başlıklı orijinal makaleyi geri çekmeyi istemektedir. Bu karar, bu yazı için kıdemli yazarlardan biri olan Oğuz Kerim Baştürk tarafından sağlanan ve yazının diğer yazarları tarafından da doğrulanan bilgiye dayanmaktadır. Bu bilgiye göre, bu yazının yazar listesi makaleyi hazırlamak konusunda yazarların katkılarını doğru bir şekilde yansıtmamaktadır. Yazışmalardan sorumlu yazar yazının tamamen geri çekilmesini talep etmektedir ve yazının yayınlanmasından dolayı ortaya çıkabilecek herhangi bir olumsuz sonuç için Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisinin hakem, editör ve okuyucularından özür dilemektedir."

### **Retraction notice:**

"The corresponding and the first author (Melike Cengiz) and the journal wish to retract the December 2011 original article entitled *Effects of Nattokinase on Whole Blood Viscosity and Mortality*. This decision was based on the information provided by Oğuz Kerim Baştürk, one of the senior authors of this manuscript, which is now confirmed by the other authors of the manuscript. Based on this information the list of authors of this manuscript does not represent the actual contribution of the authors to the preparation of the paper. The corresponding author requests retraction of the paper in its entirety and apologizes to the reviewers, editors, and readers of *Journal of the Turkish Society of Intensive Care* for any adverse consequences that may have resulted from the paper's publication."