



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**SEPSİS OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
CURCUMİNİN AKCİĞER DOKUSUNDAKİ
ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİ**

EMEL AKTAŞ

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

MAYIS 2017



**SEPSİS OLUŞTURULMUŞ RATLARDA CURCUMİNİN AKCİĞER
DOKUSUNDAKİ ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİ**

Emel AKTAŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜŐ**

MAYIS 2017

Emel AKTAŞ tarafından hazırlanan “SEPSİS OLUŞTURULMUŞ RATLARDA CURCUMİNİN AKCİĞER DOKUSUNDAKİ ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUAR ETKİLERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç.Dr. Hilal YILDIRAN

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan: Yrd.Doç.Dr. Derya DİKMEN

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

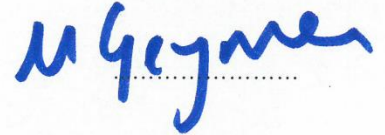
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Doç.Dr. Makbule GEZMEN KARADAĞ

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 08/05/2017

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Mustafa ASLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Emel AKTAŞ

08/05/2017

SEPSİS OLUŞTURULMUŞ RATLARDA CURCUMİNİN AKCİĞER DOKUSUNDAKİ ANTIÖKSİDAN VE ANTIİNFLAMATUAR ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Emel AKTAŞ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2017

ÖZET

Bu çalışmanın amacı sepsis oluşturulmuş ratlarda curcuminin akciğer dokusundaki antioksidan ve antiinflamatuvar etkisini belirlemektir. Çalışma için kullanılan 32 rat 4 gruba ayrılarak 1. gruptaki (kontrol grubu) ratlara anestezi sonrası yalnızca batin insizyonu steril koşullarda yapılmış ve batin kapatılmıştır. İkinci gruptaki (Cur grubu) ratlara anestezi sonrası yalnızca batin insizyonu steril koşullarda yapılmış ve batin kapatılmıştır. Bu gruba Cur cerrahi girişimden 3 gün önce başlanarak günde 100 mg/kg dozda, dimetilsülfoksit içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir. Üçüncü gruptaki (CLP grubu) ratlara anestezi sonrası, sepsis modeli oluşturmak amacıyla çekal ligasyon ve ponksiyon (CLP); steril koşullarda yapılmış ve batin kapatılmıştır. Dördüncü gruptaki (CLP+Cur grubu) ratlara anestezi sonrası, sepsis modeli oluşturmak amacıyla, steril koşullarda CLP yapılmış ve batin kapatılmıştır. Bu gruba da Cur cerrahi girişimden 3 gün önce başlanarak günde 100 mg/kg dozda, dimetilsülfoksit içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir. Tüm gruplardaki ratlar operasyonlardan 24 saat sonra anestezi sonrası batinları steril koşullarda açılıp kalpten kan aspire edilerek sakrifiye edilmiş ve akciğer dokuları alınmıştır. Biyokimyasal incelemeler için doku örnekleri homojenize edilerek ve spektrofotometrik yöntem ile malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), myeloperoksidaz (MPO), süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) değerleri ölçülmüş ve inflamasyonu değerlendirmek için immunohistokimyasal yöntemle iNOS boyaması yapılarak gruplar arasındaki histopatolojik farklılıklar değerlendirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda CLP+Cur grubunun akciğer MDA, MPO ve NO seviyelerinde curcumin verilmeyen CLP grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük olduğu görülürken ($p<0,05$), CLP+Cur grubunun SOD ve CAT seviyelerinde curcumin verilmeyen CLP grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışma sonunda elde edilen sonuçlar sepsisli ratlarda curcumin takviyesinin serbest radikal seviyesini azaltarak ve antioksidan enzim seviyelerini artırarak antioksidan etki ve iNOS seviyesini azaltarak da antiinflamatuvar etki gösterebileceğini ortaya koymuştur.

Bilim Kodu : 1007
Anahtar Kelimeler : Curcumin, sepsis, antiinflamatuvar, antioksidan, rat
Sayfa Adedi : 76
Danışman : Doç. Dr. Hilal YILDIRAN

ANTIOXIDANT AND ANTIINFLAMMATORY EFFECTS OF CURCUMIN ON LUNG TISSUE OF SEPSIS INDUCED RATS

(M. Sc. Thesis)

Emel AKTAŞ

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

May 2017

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the antioxidant and anti-inflammatory effect of curcumin on lung tissue of the sepsis induced rats. The 32 rats used for the study were divided into 4 groups and the rats in group 1 (control group) were subjected to abdominal incision after anesthesia under sterile conditions and abdomen was closed. On the rats in the second group (Cur group), only abdominal incision was conducted after anesthesia under sterile conditions and the abdomen was closed. Cur was administered to this group in a daily dose of 100 mg/kg via oral gavage, dissolved in dimethyl sulfoxide, starting 3 days prior to the operation. On the rats in the third group (CLP group), cecal ligation and puncture (CLP) were performed to induce the sepsis model after anesthesia under sterile conditions and the abdomen was closed. In the fourth group (CLP + Cur group), rats were anesthetized and CLP was conducted under sterile conditions and the abdomen was closed to induce the sepsis model. In this group, Cur was administered to this group in a daily dose of 100 mg/kg via oral gavage, dissolved in dimethyl sulfoxide, starting 3 days prior to the operation. All rats in all groups were sacrificed under anesthesia 24 hours after the operation by opening their abdomen under sterile conditions and blood aspiration from their hearts and then rat lung tissues were removed. Tissue specimens were homogenized for biochemical tests and malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), myeloperoxidase (MPO), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) values were measured with the spectrophotometric method and iNOS staining was conducted with immunohistochemical method to assess the histopathological differences between the groups. Analysis results demonstrated that MDA, MPO and NO levels of the CLP+Cur group was significantly lower when compared to the CLP group that did not receive curcumin ($p < 0.05$), while SOD and CAT levels of the CLP + Cur group was statistically significantly higher when compared to the CLP group that did not receive curcumin ($p < 0.05$). The study results may suggested that curcumin supplement in sepsis patients decreases free radical level and increasing antioxidant enzyme levels, demonstrating antiinflammatory properties, and demonstrates anti-inflammatory properties by decreasing the iNOS level.

Science Code : 1007
Key Words : Curcumin, sepsis, antiinflammatory, antioxidant, rat
Page Number : 76
Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Hilal YILDIRAN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve yüksek lisans eğitimim süresince hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen, her anlamda desteğini ve ilgisini hissettiğim, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım, değerli hocam Doç.Dr. Hilal Yıldırım'a,

Tez çalışmalarımın süreci içerisinde benden yardımlarını, desteğini ve bilgisini esirgemeyen değerli amcam Doç.Dr. Cevat Aktaş'a,

Zorlandığım her noktada elimden tutan, sabrına sabır katan sevgili dostlarım Arzu Kul Uçtu, Gökçe Yağmur Güneş, Pelin Ülker, Seda Göncü, Sevgi Hür, Ayşegül Özer, Büşra Daşdelen, Esra Sönmez Çetin, Gülşah Yanık, Keramettin Yılmaz, Merve Sayın Hotamış, Şehriban Duyar Özer, Yavuz Çetin, Binnur Yeşilçalı Yalav, Hande Vurşan ve Özge Kahriman Gündüz'e,

Hayatım boyunca insani yönünü ve akademik hayatındaki ahlakını ve başarısını örnek aldığım babama, ömrüm boyunca her konuda gösterdiği büyük fedakarlığı bu dönemde de eksik etmeyen anneme, aramızda mesafeler olmasına rağmen her daim desteklerini hissettiren kardeşlerime, sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Curcumin.....	3
2.1.1. Curcuminin kimyasal yapısı ve metabolizması.....	4
2.1.2. Curcuminin Sağlık Üzerindeki Etkileri.....	5
2.2. Sepsis.....	7
2.2.1. Sepsisin tanımı	7
2.2.2. Sepsisin epidemiyolojisi ve etiyolojisi.....	9
2.2.3. Sepsisin patofizyolojisi	11
2.2.4. Sepsisin tedavisi	14
2.2.5. Çekal ligasyon ve ponksiyon yöntemiyle sepsis modeli oluşturulması	17
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	18
2.3.1. Serbest radikaller.....	18
2.3.2. Sepsis ve oksidatif stres	20
2.3.3. Antioksidanlar	21
2.4. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)	24

	Sayfa
2.5. Akciğer Histolojisi	25
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanların Temini ve Bakımı	29
3.2. Araştırma Gruplarının Oluşturulması	29
3.3. Işık Mikroskopik İnceleme	31
3.4. İmmünohistokimyasal İnceleme	33
3.5. Biyokimyasal İnceleme	34
3.6. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	34
4. BULGULAR	35
4.1. İmmünohistokimyasal (iNOS) Bulgular	35
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	36
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	49
EKLER.....	63
EK-1. Etik kurul onayı.....	64
EK-2. Deney hayvanları uygulama ve etik kursu katılım sertifikası	65
EK-3. Tüm gruplara ait akciğer dokusunun histolojik görünümü	66
EK-4. Tüm gruplara ait akciğer dokusunda İNOS immünboyanması	68
EK-5. Biyokimyasal analizler.....	70
ÖZGEÇMİŞ	76

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Sepsis ve septik şokta proinflamatuvar aniinflamatuvar yanıtta katkıda bulunan yaygın moleküller	13
Çizelge 2.2. Solunum sisteminde bronş-bronşiyol tiplerinin yapısal karşılaştırılması...	27
Çizelge 4.1. Tüm gruplara ait iNOS pozitif hücre sayısı değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri	35
Çizelge 4.2. Tüm gruplara ait biyokimyasal verilerin ortalama ve standart sapma değerleri	37

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Curcuminin kimyasal yapısı	5
Şekil 2.2. Sepsiste vücudun enfeksiyona karşı yanıtı	8
Şekil 3.1. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda enflamasyon skorları	32
Şekil 3.2. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda ödem skorları.....	32
Şekil 3.3. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda alveolar duvar kalınlığı skorları	33
Şekil 4.1. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda iNOS pozitif hücre sayıları....	36
Şekil 4.2. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda MDA seviyeleri	37
Şekil 4.3. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda MPO seviyeleri.....	38
Şekil 4.4. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda NO seviyeleri	38
Şekil 4.5. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda SOD seviyeleri	39
Şekil 4.6. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda CAT seviyeleri	39

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Ratlarda Çekal Ligasyon ve Ponksiyon (CLP) yönteminin uygulanması	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

k/g	katal/ gram
mmol/ g	milimol/ gram
nmol/ g	nanomol/ gram
U/ g	ünite/ gram
U/ mg	ünite/ miligram

Kısaltmalar

Açıklamalar

ARDS	Akut Respiratuar Distres Sendromu
CAT	Katalaz
CLP	Çekal Ligasyon ve Ponksiyon
CRP	C-Reaktif Protein
Cur	Curcumin
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
eNOS	Endoteliyal Nitrik Oksit Sentaz
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehid
MPO	Myeloperoksidaz
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PBS	Phosphate-Buffer Saline / Fosfat Tamponlu Tuzlu Su
PKT	Prokalsitonin
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz

Kısaltmalar**Açıklamalar****TBARS**Thiobarbituric Acid Reactive Substances / Tiobarbitürik
Asit Reaktif Maddeler**TPN**

Total Parenteral Beslenme

YBÜ

Yoğun Bakım Ünitesi

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihi boyunca birçok hastalık bitkiler kullanılarak tedavi edilmeye çalışılmıştır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Deneme yanılma yoluyla elde edilen bu bilgiler, çağlar boyunca kullanım şekillerindeki bazı değişiklik ve gelişmelerle günümüze kadar ulaşmıştır (Cömert ve Dinç, 2014). Son zamanlarda doğal gıdalar ve besinsel biyoaktif bileşenlerden elde edilen antioksidan ve antiinflamatuvar ürünlere ve tüketimine olan ilgi giderek artmaktadır (Lu ve Yen, 2015).

Curcumin, zencefil ailesinin popüler bir üyesi olan zerdeçal baharatında bulunmaktadır. Köriye parlak sarı rengini vermekte ve binlerce yıldır Çin ve Hindistan'da bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Leitman, 2012). İnsanlarda curcumin kullanımının toksik olmamakla birlikte (Miquel, Bernd, Sempere, Alperi ve Ramirez, 2002), güvenli olduğu bilinmekte (Leitman, 2012) ve zerdeçal E100 kategorisinde bir katkı maddesi olarak sınıflandırılmaktadır (Trujillo, Chirino, Molina-Jijón, Andérica-Romero, Tapia ve Pedraza-Chaverri, 2013).

Curcuminin antimikrobiyal, antiviral, antifungal, antikanserojen ve yara iyileştirici gibi çeşitli farmakolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Jagetia ve Aggarwal, 2007). Bununla birlikte farklı dokularda radikal süpürücü, demir şelatlayıcı ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (Wang, Du, Jiang ve Xie, 2009). Antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri, curcuminin farmakolojik etkilerinin çoğunun temelini oluşturan iki önemli mekanizmadır (Sahebkar, Serban, Ursoniu ve Banach, 2015).

Önemli bir halk sağlığı problemi olan sepsis, her yıl milyonlarca insanı etkilemekte ve insidansı giderek artmaktadır (Wang, Wang, Zhu, Liu ve Wang, 2015). Bununla birlikte, koroner yoğun bakım ünitelerinde en sık görülen ölüm nedenlerinden biri olmaktadır. (Prucha, Bellingan ve Zazula, 2015). Sepsis, bir enfeksiyonun vücudun kendi dokularına ve organlarına hasar verdiğinde ortaya çıkan yanıtta kaynaklanan, morbidite ve mortaliteyle sonuçlanan, mikrobiyal patojenlere karşı konağın sistemik bir yanıtıdır (Fan, Miller, Lee ve Remick, 2016). Sepsis sendromu, inflamatuvar mediatörlerin salınımını tetikleyen ve konakta hücresel disfonksiyonu uyaran bakteriyel, fungal, viral ve paraziter enfeksiyonlardan kaynaklanabilmektedir (Sagy, Al-Qaqaa ve Kim, 2013).

Sepsiste; reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türlerinin aşırı sistemik üretimi, plazmada görülen sayısız proinflamatuvar mediatör varlığı ile tanımlanan hiperinflamatuvar durum, monositlerde, makrofajlarda, polimorfonükleer nötrofiller ve endotel hücrelerinde artmış adezyon moleküllerinin yanı sıra, reaktif olan lökositlerde, sitokinlerde ve kemokinlerde reseptör artışı, hem kemirgenlerde hem de insanlarda görülen ortak bulgulardır (Ward ve Bosmann, 2012).

Sepsis hastalarının tedavisi için gelişmiş tedavi stratejileri gereklidir (Wang, Wang, Zhu, Liu ve Wang, 2015). Curcumin ve analogları koruyucu etkilerinden dolayı sepsiste güncel terapiler için güçlü bir adaydır (Aqeel, Xiaoxuan, Rongqian, Weifeng, Mian, Maowen, Hank ve Ping, 2006). Farelerin curcumin ile ön işleme tabi tutulmasının karaciğer mikrovasküler inflamatuvar yanıtını ve endotoksin kaynaklı karaciğer kan akışını baskıladığının bulunması, curcuminin sepsis ve septik şok tedavisinde faydalı olabileceğini göstermektedir (Thiemermann ve William Harvey, 2006).

Bu çalışmanın amacı; çekal ligasyon ve ponksiyon (CLP) yöntemiyle sepsis oluşturulmuş ratlarda curcuminin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerini belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Curcumin

Bitkilerin tedavide kullanımları insanlık tarihiyle birlikte başlamıştır. Binlerce yıl önce insan, bitkilerin tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yaşayabilmek için ondan yararlanmıştır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Birçok hastalığın tedavisinde tıbbi (şifalı) bitkilerin kullanımı, dünyanın farklı bölgelerinden gelen halk hekimliğiyle ilişkilidir (Araújo ve Leon, 2001). Halk hekimliği uygulamalarına yaygın olarak rastlanan Anadolu'da halk ilaçları, uzun tecrübeler sonunda günümüze kadar gelmiş uygulamalardır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Şifalı bitkilerin kullanımı gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde yaygın olmakla birlikte, modern tıpta kullanılan pek çok ilaç da bitkilerden elde edilmektedir (Gur, Turgut Balık ve Gur, 2006; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusunun %80'inden fazlasının temel sağlık ihtiyaçları için geleneksel tıba güvendiğini ve bu tedavinin çoğunluğunun bitki özleri ya da aktif bileşenlerinin kullanımını gerektirdiğini tahmin etmektedir (Craig, 1999).

Aromatik bir baharat grubuna giren zerdeçal, ilk olarak depolama koşullarını, lezzeti ve gıda muhafazasını geliştirmek için köride bir gıda katkı maddesi olarak kullanılmıştır (Jayaprakasha, Jagan Mohan Rao ve Sakariah, 2005). Asya'da Milattan Önce ikinci bin yıllık dönemden beri kullanılmaktadır (Sharma, Gescher ve Steward, 2005). Ayurveda'da (Hint geleneksel tıbbi), zerdeçal; tıbbi özellikleri ve çeşitli endikasyonları nedeniyle topikal, oral ve solunum yolu gibi farklı yöntemlerle kullanılmıştır (Chainani-Wu, 2003). Zerdeçal kullanımı; çeşitli hastalıklar için tedavi edici bir ajan olarak etkili olduğu bulunduğundan bu yana, daha popüler bir hale gelmiştir (Akpola, Topçu Tarladaçalışır, Uz, Sarmaz Metin ve Kızılay, 2010).

Zingiberaceae familyasına ait olan zerdeçal (*Curcuma longa*) sarı çiçekli, çok yıllık otsu bir bitkidir (Emir Çoban ve Patır, 2010). Zerdeçal Çin, Hindistan, Endonezya, Jamaika ve Peru gibi dünyanın sıcak ve yağışlı bölgelerinde yetişmektedir (Jayaprakasha ve diğerleri, 2005). Kimyasal analizler zerdeçalın %6,3 protein, %5.1 yağ, %3,5 mineral, %69,4 karbonhidrat ve %13,1 oranında nem içerdiğini göstermiştir (Prasad, Gupta, Tyagi ve Aggarwal, 2014).

Piyasada parmak şeklinde (rizom) ve toz şeklinde bulunmaktadır (<http://www.zerdecal.org/zerdecal-curcuma-longa.php>, 2015).

Zerdeçalın geçmişi binlerce yıl öncesine dayansa da, aktif maddesi olan curcuminin kimyası hakkında bilgi edinilmesi geçtiğimiz yüzyıl içinde gerçekleşmiştir (Prasad ve diğerleri, 2014). Curcumin, safran anlamına gelen Arapça orijinli bir kelime olan Kourkoum'dan türemiş Latince bir isimdir (Waly, Ali ve Nemmar, 2013). Curcumin, Vogel ve Pelletier tarafından yaklaşık iki yüzyıl önce *C.longa* (zerdeçal) rizomlarından elde edilerek keşfedilmiş ve "sarı renk veren madde" olarak nitelendirilmiştir. Saf curcumin Vogel Jr tarafından 1842 yılında hazırlanmıştır. Curcumin üzerinde yapılan kapsamlı araştırmalar, bu maddenin modern çağda sağlığa faydalarını ortaya koymuştur; ve bu konuda halka açık çok sayıda yayınlanmış makaleler, ses kayıtları ve videolar mevcuttur (Prasad ve diğerleri, 2014).

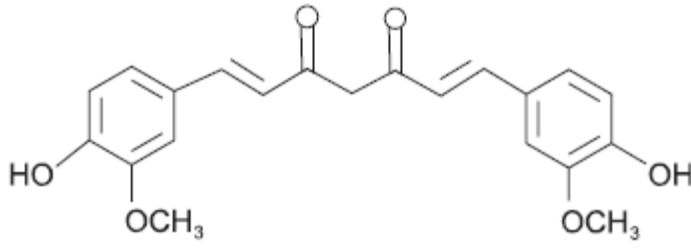
Curcumin, üzerinde yapılan tüm çalışmalara dayanarak FDA tarafından "genel olarak güvenilir" olarak onaylanmıştır (Goel, Jhurani ve Aggarwal, 2008). EFSA 2014 raporuna göre curcuminin ADI değeri 0-3 mg/kg olarak belirlenmiştir (European Food Safety Authority (EFSA), 2014). Bir silme tatlı kaşığı zerdeçal 3 gramdır; ortalama 30-90 mg curcumin içermektedir (<http://www.zerdecal.org/zerdecal-curcuma-longa.php>, 2015).

Curcumin olağan özelliklerinden ötürü; Amerika Birleşik Devletleri, Hindistan, Japonya, Kore, Tayland, Çin, Türkiye, Güney Afrika, Nepal ve Pakistan gibi ülkelerde kapsül, tablet, merhem, enerji içecekleri, sabun ve kozmetik gibi farklı formlarda pazarlanmaktadır (Prasad, Tyagi ve Aggarwal, 2014).

2.1.1. Curcuminin kimyasal yapısı ve metabolizması

Zerdeçalın sarı pigmentli kısmını esas olarak, curcumin I (veya curcumin, %77), curcumin II (demethoxycurcumin, %17), curcumin III (bisedemethoxycurcumin, %3) olmak üzere çeşitli curcuminoidler oluşturur (Goel ve Aggarwal, 2010).

Curcuminin formülü $C_{21}H_{20}O_6$ dır (Çoban ve Patır, 2010). Curcuminin kimyasal yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Akpola ve diğerleri, 2010).



Şekil 2.1. Curcuminin kimyasal yapısı (Akpolat ve diğerleri, 2010)

Curcumin suda, asidik ve nötral pH'da çözünmeyen fakat metanol, etanol, dimetilsülfoksit ve aseton, alkaliler, keton, asetik asit ve kloroform içinde çözünebilen (Prasad ve diğerleri, 2014; Araújo ve Leon, 2001), bir lipofilik polifenoldür (Jurenka, 2009). pH 3-7 olduğunda olağanüstü bir biçimde güçlü bir H atomu vericisi olarak çalışır ve pH 8'in üstünde olduğunda bir elektron vericisi olarak görev yapar (Jacob, Wu, Zhou ve Wang, 2007).

Curcumin kemirgenlerde oral doz uygulamasından sonra düşük sistemik bir biyoyararlılık sergilemekte ve bağırsakta metabolize olmaktadır (Jacob, Wu, Zhou ve Wang, 2007). Curcuminin düşük bir biyoyararlılık göstermesi zayıf emilimi, hızlı metabolize olması ve hızlı sistemik eliminasyonundan kaynaklanmaktadır (Aggarwal ve Harikumar, 2009). Ratlarda oral tüketimi sonucu, %75'inin dışkıyla ve çok az bir miktarının idrarla atıldığı gösterilmiştir. Farklı curcumin metbolitleri bio-hidrocurcumin ve tetrahidrocurcumine dönüştürülmekte ve daha sonra bu ürünler monoglukuronid konjugatlarına dönüştürülmektedir (Maheshwari, Singh, Gaddipati ve Srimal, 2006).

2.1.2. Curcuminin Sağlık Üzerindeki Etkileri

Curcuminin antioksidan etkileri

Curcumin, ROS süpürücü ve aynı zamanda antioksidan yanıtı indükleyici iki fonksiyonlu bir antioksidan özelliğe sahiptir (Daverey ve Agrawal, 2016). ROS ve nitrik oksit (NO) türleri temel olarak karsinogenezdır. Dolayısıyla serbest radikallerin nötralizasyonu, kanser gelişimini engelleyen temel stratejidir. İnflamatuvar yanıtı katılan biyokimyasal süreçleri tetikleyen karsinojenik serbest radikallerin inaktivasyonu, curcumin gibi antioksidanların temel kimyasal antikarsinojenik mekanizmasıdır (Barzegar, 2012). Bununla birlikte curcuminin; transformasyonu, tümör başlangıcını, tümör artmasını, invazyonu, anjiyogenez

ve metastazı bloke eden antikanser etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Hintliler arasında kolon kanseri insidansının düşük olması Hint yemeklerinde zerdeçal kullanımına bağlanmıştır (Jacob, Wu, Zhou ve Wang, 2007). Curcuminin antioksidan özellikleri, pleiotropik biyolojik aktivitelerinin altında yatan önemli bir tamamlayıcıdır. Curcuminin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve süperoksit anyonu ve hidroksil radikallerini etkili bir şekilde temizlediği bildirilmiştir (Motterlini, Foresti, Bassi ve Green, 2000). Lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılarak endotoksemi oluşturulmuş farelerle yapılan bir çalışmada, curcuminle tedavi edilenlerinde vasküler yanıt gelişmiştir. Endotoksemi sırasında hemodinamik ve vasküler yanıtta iyileşmelerin; aort kaynaklı süperoksit üretiminin azalması, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunun baskılanması ve glutatyon/glutatyon disülfid oranının korunarak üriner NO metabolitlerinin azalması sonucu oksidatif stresin hafiflemesiyle ilişkili olduğu saptanmıştır (Sompamit ve diğerleri, 2009).

Curcuminin antiinflamatuvar etkileri

Curcuminin antiinflamatuvar aktivitesi esas olarak makofajlarda NF- κ B, aktive protein-1, COX-2 ekspresyonu ve TREM-1'in transkripsiyonel aktivitesini inhibe ederek proinflamatuvar sitokin salınımını da inhibe etme kabiliyetine bağlıdır (Shukla ve diğerleri, 2014). Curcumin; degranülasyon, kalsiyum mobilizasyonu, hücre içi ROS oluşumu, hücre zarı lipid peroksidasyonu ve tirozin/treonin fosforilasyonu gibi bağ dokusu mast hücresi aktivasyonunu inhibe etmektedir. Curcuminin bu özelliği inflamatuvar hastalıkların iyileştirilmesi için bir potansiyel sağlamaktadır (Nishikawa, Tsutsumi ve Kitani, 2013). Kaur, Patro, Tikoo ve Sandhir (2015) kronik epilepsi modeli oluşturdukları ratlarla yaptıkları bir çalışmada, hippocamp ve kortekste artan pro-inflamatuvar sitokinlerin protein seviyelerinin (IL-1b, IL-6, TNF-a), curcumin tedavisiyle birlikte önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir.

Curcuminin diğer etkileri

Curcuminin antiproliferatif, antiinvaziv ve antianjiogenik bir ajan, kemoterapi ve radiorezistansın bir arabulucusu ve yara iyileşmesi, diyabet, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, kalp-damar hastalıkları, solunum hastalıkları ve artiritte tedavi edici bir madde olduğunu göstermiştir (Goel, Kunnumakkara ve Aggarwal, 2008). Bununla birlikte curcumin modern tıp uygulamalarında nöroprotektif, kardiyoprotektif, antiinflamatuvar,

antioksidan, antikarsinojenik, hipoglisemik ve lipid düşürücü olarak gösterilmiştir (Sompamit, Kukongviriyapan, Nakmareong, Pannangpetch ve Kukongviriyapan, 2009).

2.2. Sepsis

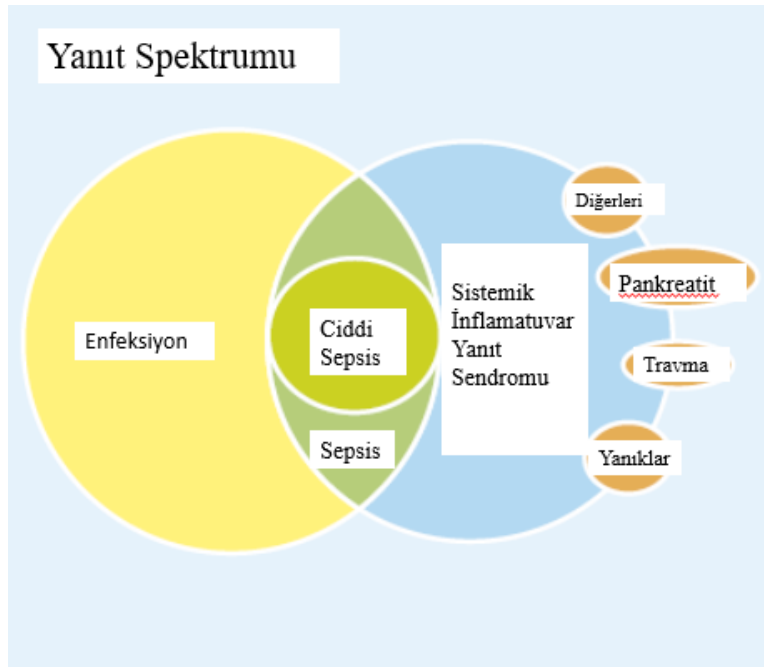
2.2.1. Sepsisin tanımı

Sepsis kelimesi 2700 yıl önce Yunanca’da “sipsi” (“bakteri varlığında hayvansal veya bitkisel organik maddenin ayrışması”) olarak kullanılmış ve sepsis tanımı günümüze gelene kadar çeşitli aşamalardan geçerek ilerlemiştir (Namas ve diğerleri, 2012). Geçmişte bakteriyemi, septisemi, sepsis, sepsis sendromu ve septik şok terimleri birbirleri yerine kullanılmıştır. Bu durum sepsis ve bununla ilgili bozukluklarda belirsiz bir anlayışa ve klinik çalışmaların yorumlanmasında karışıklıklara yol açmıştır (Matot ve Sprung, 2001). Sepsis sendromuna karmaşıklığı ve semptomların değişkenliğinden dolayı doğru, iyi kabul görmüş ve makul (uygun) bir tanım bulmada zorlanılmıştır. Klinik bir ortamda hekimler hastaları hastalığın evrelerine göre karakterize etmek ve tedaviye olası yanıtlarının yanı sıra risk ve prognozu belirlemek için kullanışlı bir sisteme gereksinim duymuşlardır (Hoesel ve Ward, 2004).

Amerika Göğüs Hekimliği Enstitüsü / Kritik Bakım Tedavi Derneği (American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine (ACCP / SCCM)) Konsensüs Konferansında 1992 yılında hazırlanan raporda ‘‘sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS)’’ terimi, ortak konuşma dilinde ortaya konulmuştur. Bu terim nedeni ne olursa olsun doğuştan gelen bağışıklık sisteminin sistemik aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan kompleks bulgular için bir referans sağlamıştır. Anlaşılabilir olması adına, SIRS dört değişken tarafından tanımlanmıştır: sıcaklık, kalp hızı, solunum hızı ve beyaz kan hücre sayısı. Ayrıca sepsisin konağın enfeksiyona olan inflamatuvar yanıtı olduğu fikri ortaya konulmuştur (Levy ve diğerleri, 2003; Vincent, Opal, Marshall ve Tracey, 2015). Sonraki yıllarda yeni tedavi yaklaşımlarına ilişkin çalışmaların doğrultusunda ciddi sepsis ve septik şok tedavi rehberleri güncellenmiştir (Kurt, 2006). Sepsis, tanı ve tedavisi konusunda uzman bir grup tarafından ağır sepsis ve septik şok tedavi sonuçlarını iyileştirmek amacıyla ilk olarak 2004 yılında, ikincisi 2008 yılında olmak üzere uluslararası bir kılavuz yayınlanmıştır. Son kılavuzda birtakım eklemeler ve değişiklikler yapılarak 2012 kılavuzu oluşturulmuştur (Surviving Sepsis Campaign) (Elay, Gündoğan ve Coşkun, 2014).

SIRS kavramı, sistemik inflamatuvar yanıtın çeşitli enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan durumlar tarafından tetiklenebildiği ölçüde geçerlidir. Sistemik inflamasyon belirtileri; yanık, pankreatit, ve diğer hastalık durumları olan hastalarda enfeksiyon yokluğunda meydana gelebilmektedir (Levy ve diğerleri, 2003). Ağır vakalarda SIRS genellikle sepsise doğru ilerlemektedir (Hoesel ve Ward, 2004).

Sepsis karmaşık bir klinik ve tedavi profili göstermektedir ve hastalar klinik temelli olarak sepsis, ciddi sepsis ve septik şok şeklinde sınıflandırılmakta ve bu terimler aynı hastalığın giderek daha da şiddetlenen aşamalarını temsil etmektedir (Coelho ve Martins, 2012; Huttunen ve Aittoniemi, 2011; 28 Tsokos, 2007). Değişen sepsis dereceleri, konağın, komplikasyonsuz ateş ve lökositosis ile refrakter hipotansiyon ve çoklu organ yetmezliği arasında değişen enfeksiyona olan yanıtıyla tanımlanmaktadır (Gantner ve Mason, 2015). En önemlisi, sepsisin kullanılan resmi tanımı hangisi olursa olsun, şiddetli enfeksiyona karşı vücudun sistemik yanıtını temsil etmektedir ve bu nedenle sepsis sadece ilişkili bir enfeksiyon varsa mevcut olabilmektedir (Vincent, 2009). Sepsis, vücudun enfeksiyona karşı tepkisinin bir parçasıdır ve genellikle klinik görünümü ve tanımı son derece karmaşıktır (Şekil 2.2) (Hochstadt, Meroz ve Landesberg, 2011; Fielden, 2007).



Şekil 2.2. Sepsiste vücudun enfeksiyona karşı yanıtı (Hochstadt, Meroz ve Landesberg, 2011; Fielden, 2007)

Sepsise zemin hazırlayan ve gelişmesini kolaylaştıran durumlar; immün sistemde eksiklik (immunsupresyon, notropeni, vb), kronik hastalıklar (diabet, siroz, renal yetmezlik, vb), major cerrahi, yabancı cisim varlığı (idrar kateteri, damar-içi kateter, ...), tıkalı bir oluşum (Renal taş, safra kesesi taşı, ileus, vb), steroid tedavisi, kemoterapi, daha önce antibiyotik kullanımı, yaş, yanık, travma, alkol ve madde bağımlılığı ve yenilerde cerrahi/invazif işlemler şeklindedir (Aygün, 2002; Büke, 2014).

Sepsis çok sayıda klinik belirtisi olan sistemik bir süreçtir. Sepsisin başlangıç belirtileri spesifik değildir ve halsizlik, taşikardi, takipne, ateş ve bazen hipotermiyi içermektedir. Diğer klinik bulgular; mental durum, hipotansiyon, solunumsal alkaloz, metabolik asidoz, akut akciğer hasarıyla birlikte hipoksemi, trombositopeni, tüketim koagülopatisi, proteinüri, akut tübüler nekrozis, intrahepatik kolestaz, yüksek transaminaz, hiperglisemi ve hipoglisemidir (Raghavan ve Marik, 2006). Bununla birlikte hastalar enfeksiyon alanına bağlı olarak klinik özellikler gösterebilmektedir. Örneğin; pnömoni nedeniyle öksürük, takipne ve balgam üretimi, idrar yolu enfeksiyonu nedeniyle böğür ağrısı ve dizüri ve karın içi enfeksiyonu nedeniyle karın ağrısı görülebilmektedir (Marik ve Varon, 2001).

Ağır sepsis, septik şok ve çoklu organ işlev bozukluğu arasındaki sınırlar klinik uygulamalarda net bir şekilde tanımlanmamıştır (Coelho ve Martins, 2012). Sepsis ve septik şok önemli bakım maliyetleriyle birlikte yoğun bakım ünitelerinde ölümün koroner arter hastalığı dışındaki önde gelen nedenlerindendir (Vachharajani, 2008). Hastalığın ileri aşamalarında hastaların giderek artan agresif tedavilerinden dolayı, hastane hastalarında sepsis insidans ve mortalitesi yüksek kalmaktadır (Matot ve Sprung, 2001). Sepsis ile ilişkili morbidite ve mortalitenin topluma ekonomik bir yük olduğu gerçeği unutulmamalıdır (Vachharajani, 2008).

2.2.2. Sepsisin epidemiyolojisi ve etiyolojisi

Ağır sepsisten her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde 200.000, Avrupa'da ise 150.000'den fazla kişinin öldüğü tahmin edilmektedir (Elay ve diğerleri, 2014). Sepsis insidansının yılda %1,5 artarak 2020 yılına kadar 1.110.000 olgudan daha fazla olacağı düşünülmektedir (Namas ve diğerleri, 2012). Bu tablo ülkemiz için de benzer şekilde olmakla birlikte sepsis,

bildirimi zorunlu hastalıklar arasında olmadığı için gerçek insidans tam olarak bilinmemektedir (Çöl ve Durdun, 2007).

Sepsis dünya çapında yoğun bakım ünitelerine kabul için en sık görülen nedenlerden biridir ve ağır sepsis ile hastaneye yatırılan hastaların yaklaşık yarısı başvuru sırasında YBÜ'ye kabul edilmektedir (Raghavan ve Marik, 2006; Gantner ve Mason, 2015). Yaşlanan nüfus, çoklu ilaca karşı dirençli mikroorganizmalar, invaziv tekniklerin popülerleşmesi (örneğin; mesane kateterleri, endotrakeal tüpler ve intravasküler kataterler gibi) ve cerrahi işlemlerin sayısının artması, yüksek sepsis insidansını açıklayabilecek faktörler arasındadır. Genetik varyasyon, alışılmadık bir yaşam tarzı, cinsiyet, ırk veya etnik grup sepsis riskini artırabilen diğer faktörlerdir (Coelho ve Martins, 2012; Angus ve Poll, 2013). Diğer yaş gruplarına göre bebeklerde ve yaşlılarda, kadınlara göre erkeklerde, ve beyazlara göre siyahlarda insidans daha yüksektir (Angus ve Poll, 2013). Sepsis hastalarında yaş mortalitenin bağımsız bir belirleyicisidir. Genç hastalarla kıyaslandığında yaşlı sepsis hastaları yatış sırasında daha erken bir zamanda ölmekte ve taburcu olduktan sonra daha fazla hemşirelik bakımına ve rehabilitasyona ihtiyaç duymaktadırlar (Iskander ve diğerleri, 2013). Yaşlı hastalarda sepsisin sıklıkla atipik ya da nonspesifik bir klinik tablo ile meydana çıkabileceği ve immün düşkün hastalara benzer şekilde silik seyirli ve gözden kaçıcı olabileceği unutulmamalıdır (Aygün, 2002; Kurt, 2006).

Sepsisten sorumlu baskın patojenler 1960 ve 1970'li yıllarda gram-negatif bakteriler iken, sonraki yıllarda gram-pozitif ve fırsatçı mantar patojenlerinden kaynaklanan sepsis insidansında ilerleyici bir artış görülmüştür. Karın, 1970 ile 1990 yılları arası enfeksiyonun temel kaynağı iken son yıllarda akciğer enfeksiyonları en yaygın enfeksiyon alanı haline gelmiştir ve bunu karın içi ve idrar yolu enfeksiyonları takip etmektedir (Marik ve Varon, 2001; Angus ve Poll, 2013). Ciddi sepsis hem toplum kökenli hem de sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlar sonucu meydana gelmektedir (Angus ve Poll, 2013). Hastane kaynaklı sepsislerde asıl belirleyici etmen o hastanenin hatta o birimin florasıdır (Aygün, 2002). Septisemi, her gruptaki mikroorganizmaların şiddetli sistemik enfeksiyonları ile birlikte görülebilmektedir (Özcan, Hasanoğlu ve Gülcüler, 1996). Sepsis ve septik şokla ilişkili en yaygın Gram-negatif bakteriler *Escherichia coli*, *Klebsilla* ve *Pseudomonas aeruginosa* iken; Gram-pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus* (metisiline dirençli *S.aureus*, MRSA dahil), *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pneumoniae* ve enterokoktur. Enfeksiyon epidemiyolojisi ve antibiyotik duyarlılıkları ülke içinde ve ülkeler arasında belirgin

farklılıklar gösterebilmektedir (Cohen, 2009). Gram-negatif bakterilerin hücre duvarındaki endotoksin, formil peptidler, ekzotoksinler, proteazlar sepsise yol açabilirler. Gram-pozitif bakterilerde ekzotoksinler, enterotoksinler, hemolizinler, peptidoglikanlar ve lipoteikoik asit yapıları immun sistemi uyarabilir (Aygün, 2002).

2.2.3. Sepsisin patofizyolojisi

Diğer hastalık durumlarını zorlaştıran insan sepsisi, konağın inflamatuvar yollarının genel bir aktivasyonu ve ekspresyonu ile ilişkilidir ancak sepsis patogenezinde rol oynayan hücresel ve moleküler olayların sırası ve ayrıntılı mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Tsokos, 2003). Proinflamasyondan immunosupresif bir duruma doğru olan ilerlemenin, sepsiste temel bir fizyolojik olay olduğu belirtilmiştir (Huttunen ve Aittoniemi, 2011).

Vücut mikrobik ajanlarla karşılaştığı zaman, homeostatik mekanizmalar konağa zarar vermeden yabancı maddenin vücuttan dışarı atılması için devreye girmektedir. Bu durum sıkı bir şekilde kontrol edilen ve düzenlenen pro ve antiinflamatuvar yolların aktivasyonunu içermektedir (Raghavan ve Marik, 2006). Herhangi bir hastanın yanıtı; yerel, bölgesel ve sistemik düzeyde farklı yanıtlarla birlikte, etken patojen (yük ve virulans) ve konağa (genetik özellikler ve eşlik eden hastalıklar) bağlıdır (Angus ve Poll, 2013). Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin yolları; koagülasyon-fibrinolitik sistem, lipid mediyatörleri, akut faz ve termo-şok proteinleri, nötrofil-endotelyal hücre ve hipotalamus-hipofiz-böbrek üstü aksı (HPA) aktivasyonu, immün ve immün olmayan hücre apoptozu, artmış NO (Daha önceleri endotel gevşetici faktör olarak bilinen NO molekülü, sepsiste potent vazodilatatördür, hücre içi ve hücreler arası ilişkide kullanılan bir mediatördür) üretimi ve oksidan-antioksidan yolakla yakından bağlantılıdır. Bu yollar negatif ve pozitif feedback döngüleriyle karmaşık bir şekilde bağlantılıdır (Özcan ve diğerleri, 1996; Marik ve Varon, 2001). Çoğu bireyde, vücut proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediatörler arasındaki dengeyi elde edebilmiş ve homeostasis onarılmıştır. Bazı hastalarda ise bu denge, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, çoklu organ fonksiyon bozukluğu, septik şok ve nihayetinde ölümle sonuçlanan aşırı bir proinflamatuvar yanıtla bozulmaktadır (Raghavan ve Marik, 2006). Koruyucu ve dokuya zarar veren yanıtlar arasındaki dengenin sağlanması için immün ve inflamatuvar sistemlerin sıkı bir şekilde düzenlenmesi çok önemlidir (Şekil 2) (Hoesel ve Ward, 2004).

Sepsisin başlaması sırasında immün sistem hem hücresel hem de hümoral savunma mekanizmalarını içerecek şekilde hiperaktif olmaktadır. Endotelyal ve epitel hücreler, aynı zamanda nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler proinflamatuvar medyatörler üretmektedirler (örn; tümör nekroz faktörü (TNF)-alfa, interlökin (IL)-6, IL-1 ve IL-8). Klinik bir ortamda, sepsisin erken hiperaktif aşaması genellikle, artmış kalp hızı, kardiyak output ve artmış sistemik vasküler direnç ile karakterize edilen “hiperdinamik faz” olarak adlandırılmaktadır (Hoesel ve Ward, 2004). Bu fazda katekolaminler, kortizol, büyüme hormonu, glukagon ve insülin gibi stres hormonlarının düzeyinde önemli artışlar meydana gelmektedir. Bu hormonal yanıt oksijen tüketimi ve protein katabolizmasını artırmaktadır (Awad, 2003).

Sepsisin daha sonraki aşamasında, erken aşamada uyarılan proinflamatuvar etkileri ortadan kaldırmak için, IL-10 ve IL-13 gibi antiinflamatuvar mediatörler üretilmektedir. Bu değişiklikler kardiyak output, düşük kalp hızı ve azalmış periferik vasküler dirençle karakterize edilen sepsisin hipodinamik fazı esnasında meydana gelmektedir (Hoesel ve Ward, 2004).

Sepsis ve septik şokta proinflamatuvar ve antiinflamatuvar yanıtta katkıda bulunduğu bilinen yaygın moleküller aşağıdaki Çizelge 2.1’de belirtilmiştir (Balk, 2004).

Çizelge 2.1. Sepsis ve septik şokta proinflamatuvar antiinflamatuvar yanıtta katkıda bulunan yaygın moleküller (Balk, 2004)

Proinflamatuvar Moleküller
Gram pozitif hücre duvarındaki endotoksinler ve ekzotoksinler Araşidonik asit metabolizması ürünleri Lökotrienler, prostaglandinler, prostasiklinler Sitokinler TNF, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 Polimorfonükleer lökositler, monositler ve makrofajlar, trombositler Histamin Hücrel adhezyon molekülleri Koagülasyon kaskadı Fibrinolitik yolak Trombosit aktive edici faktör Toksik oksijen metabolitleri ve diğer serbest radikaller Kinin-kallikrein sistem Katekolaminler Stres hormonları Kemokinler, makrofaj inhibitör faktörü, granülosit-makrofaj kolon uyarıcı faktör
Antiinflamatuvar Moleküller
IL-1 reseptör antagonisti, aIL-1ra, sTNFR, transforme edici büyüme faktörü- β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13 Prostaglandin E ₂ granülosit kolon uyarıcı faktör, antioksidanlar, interferon- γ , antitrombin
<i>TNF, tümör nekroz faktörü; IL, interlökin; aIL-1ra, interlökin 1 resptör antagonisti; sTNFR, çözünür tümör nekroz faktörü reseptörü</i>

Doku hasarının çoğu epitel hücrelerindeki bariyer fonksiyonunun sitokin kaynaklı olarak bozulmasıyla ortaya çıkmaktadır (Callaghan ve Redmond, 2006). Septik şoklu hastalarda yaralanmaya maruz kalabilecek önemli organlar kısa bir şekilde listelenmiştir:

- Akciğer : Akut akciğer hasarı, hipoksemi, ödem, yaygın alveolar hasar, akut akciğer hasarı, ARDS
- KVS : Şok , hiperlaktatemi, iskemi
- Böbrekler : Oligüri, böbrek yetmezliği, ödem, akut tübüler hasar
- Karaciğer : Koagülopati, sarılık, yağlanma, kolestaz,
- Beyin : Konfüzyon, ajitasyon, deliryum,
- Koagülasyon sistemi : Trombositopeni, koagülopati (Büke, 2014; Iskander ve diğerleri, 2013).

Aktive edilmiş immün sistem hücreleri tarafından aşırı miktarda üretilen serbest oksijen radikallerinin (SOR) neden olduğu oksidatif hasarın, sepsis patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu süreçte ve çoklu organ yetmezliği sendromuna gidişte en erken etkilenen organlar akciğerlerdir. Sepsisteki kötü prognozdan da çoğunlukla akciğer komplikasyonları sorumlu tutulmaktadır (Seydanoğlu ve diğerleri, 2010). Akciğer sepsiste birincil hedef organ olduğu için, hem klinik patoloji hem de adli patoloji alanında akciğerlerin sepsise karşı farklı hücresel yanıtlarının belirteçlerinin immünohistokimyasal tespitine odaklanılmıştır (Tsokos, 2007).

Başlatan olay ne olursa olsun, aktive edilmiş nötrofiller ve trombositler pulmoner kapitel endotele bağlanarak çeşitli toksik maddeleri serbest bırakmaktadır. Birden fazla inflamatuvar basamak aktive edilmekte ve yaygın endotelyal hücre hasarı ve artmış kapiller geçirgenlik, intersitisyel pulmoner ödem, mikrovasküler kanama, tromboz, yaygın fonksiyonel alveolar hacim kaybı, pulmoner uyumlulukta azalma ve derin bir hipoksemi ile sonuçlanmaktadır (Awad, 2003). Solunum yetmezliği septik şokun önemli bir komplikasyonudur. Olguların büyük bir bölümünde ARDS gelişimi görülür (Ural Gürkan ve Çobanlı, 1999).

Çeşitli hayvan modelleriyle sepsisli hastaların belirtileri ve laboratuvar bulguları taklit edilmektedir. İntravenöz LPS ya da canlı bakteri uygulanması, pnömoni indüksiyonu, çıkan kolon stent peritoniti ve CLP ile bir enfeksiyon yuvasının oluşturulması bu modellerdendir. (Iskander ve diğerleri, 2013).

CLP klinik septik şok tablosuna benzer polimikrobiyal bir model oluşturmakta ve hipermetabolik dönemi takiben hipodinamik/hipometabolik dönemleri göstermesi bakımından insanlardaki sepsis kliniğine çok benzemektedir (Seydanoğlu ve diğerleri, 2010).

2.2.4. Sepsisin tedavisi

Genel hatlarıyla bakıldığında sepsisin son derece silik bulgularla seyredebileceği vurgulanmakta, hastanelerde her türlü klinik bozuklukta sepsisin hatırlanması ve aktif bir tedavi uygulaması başlanması önerildiği görülmektedir (Aygün, 2006).

Sepsiste genellikle belirtiler sıklıkla atlanmakta, yoğun bakıma sevkte gecikilmekte ve kritik hastaların yönetimi kötü bir şekilde yapılmaktadır (Fielden, 2007). Ciddi sepsis ve septik şok yönetiminde zamana dayalı yeni yaklaşımlar ‘‘altın saat’’ ve ‘‘gümüş gün’’ olarak ifade edilmekte ve bu hastaların acil servisteki bakımlarının çok daha önemli olduğu vurgulanmaktadır (Nguyen ve diğerleri, 2006). Dikkatli bir anamnez ve muayene, olası enfeksiyon kaynaklarının belirlenmesinde etkili olmakta ve zamanında teşhis ve hastaların risk sınıflaması hasta sonuçlarını iyileştirmede son derece önem taşımaktadır (Fielden, 2007; Huttunen ve Aittoniemi, 2011).

Sepsisin mevcut yönetimi; diğer fizyolojik organ destekleyici önlemlerle birlikte erken hemodinamik optimizasyon, antimikrobiyal maddelerin zamanında ve uygun kullanımı ve enfeksiyon kaynağının tedavi edilmesi ya da ortadan kaldırılmasını ve gerekirse hedefe yönelik hemodinamik, solunumsal ve metabolik desteği içermektedir (Raghavan ve Marik, 2006; Balk, 2004).

Sepsiste Hayatta Kalma Mücadelesi (Surviving Sepsis Campaign, SCC) Kılavuzu, septik şok tanısının 1 saati içerisinde erken yeterli geniş spektrumlu antibiyotik tedavisinin önemini vurgulamaktadır (Huttunen ve Aittoniemi, 2011). Öncelikle kan kültürleri antibiyotik tedavisi başlanmadan önce alınmalıdır (Cohen, 2009; Aygün, 2006). İkincisi laboratuvar ile iletişim sağlanmalı, özel etkenler yönünden inceleme gerekliliği mutlaka laboratuvara iletilmeli ve laboratuvar pozitif sonuçları en kısa sürede servise bildirilmelidir (Aygün, 2006).

Geniş spektrumlu ampirik (deneysel) antimikrobiyal tedavi, kan kültürleri de dahil olmak üzere kültür ve mikroskopi için örnekler alındıktan sonra ancak sonuçlar beklenmeden başlanmalıdır. Erken ampirik antibiyotik başlanmasının mortalitede anlamlı iyileşmeler sağladığı belirtilmiştir (Gantner ve Mason, 2015). Ampirik tedavi seçimi; şüphelenilen enfeksiyon alanı, enfeksiyonun meydana gelme şekli (örneğin; ev, bakım evi, hastane), tıbbi öykü ve yerel mikrobik antibiyotik duyarlılıklarının tespitine göre yapılmaktadır (Callaghan ve Redmond, 2006).

Sepsis tedavisinde yeni stratejiler; bakteriyel ürünlerin nötralizasyonu (LPS blokajı), istenmeyen pro-inflamatuvar yanıtların hedeflenmesi (diğerleri arasında TNF-alfa, IL-1, IL-6 ve tamamlayıcı faktörlerin blokajı), bağışıklık sisteminin onarılması için immünostimülan

ajanların eklenmesi (interferon (IFN)-gama, granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) uygulanması) ve pıhtılaşma sistemindeki anormalliklerin düzeltilmesi şeklindedir (Hoesel ve Ward, 2004). Septik şoklu bazı hastalarda kortikosteroidler ve septik çoklu organ yetmezliği olan hastalarda aktive edilmiş protein C gibi ilaçlar faydalı olabilmektedir (Annane, Bellissant ve Cavaillon, 2005; Weigand, Hörner, Bardenheuer ve Bouchon, 2004). Bununla birlikte son zamanlarda NO ve SOR'nin sepsisteki önemleri daha iyi belirlenmiş ve antioksidanların etkin bir tedavi seçeneği olabilecekleri üzerinde durulmuştur (Aygün, 2002).

Son 20 yılda, beslenme desteği kritik hastaların tedavisinde önemli bir bileşen olmuştur. Beslenme; hayati hücrelere substrat, antioksidan, vitamin ve mineral sağlayarak hastalığın iyileşmesine katkıda bulunmaktadır (Marik ve Varon, 2001). Ağır sepsisli hastaların fizyolojik desteğinde malnutrisyondan kaçınmak esastır (Awad, 2003). 5-7 günden fazla beslenemeyenler, uzun süredir günlük protein enerji ihtiyacından daha az beslenme öyküsü olanlar, olağan vücut ağırlığının %5-10'unu kaybedenler ve kronik hastalık öyküsü olan hastalar nutrisyonel bakımdan yüksek riskli grubu oluşturmaktadırlar (Karaböcüoğlu, 2007).

Ciddi sepsis ve septik şok tanısı konulduktan sonraki ilk 48 saat içerisinde, aç kalınması ya da sadece glikoz sağlanması yerine tolere edilebildiği kadar oral veya gerekirse enteral beslenmenin uygulanması önerilmektedir. Tanı sonrası ilk 7 gün içerisinde tek başına total parenteral beslenmeden (TPN) ziyade, intravenöz glikoz ve enteral beslenme veya enteral beslenmeyle birlikte parenteral beslenme önerilmektedir (Dellinger ve diğerleri, 2012). Gecikmiş enteral beslenmeyle kıyaslandığında erken enteral beslenme (hastaneye yatışın 36 saati içerisinde) komplikasyonları ve hastanede kalış süresini azaltmaktadır. Özelleştirilmiş bağışıklık artırıcı besin formülasyonları geliştirilmiş ve inflamasyon indekslerini azalttığı, hücre aracılı bağışıklığı geliştirdiği, organ yetmezliğini ve yoğun YBÜ komplikasyonlarını azalttığı, ve ventilatör (havalandırma) saatlerini ve YBÜ'nde geçirilen zamanı azalttığı gösterilmiştir (Marik ve Varon, 2001). Parenteral beslenmenin tehlikeleri enteral beslenmeyle kıyaslandığında (örneğin; bağışıklığın baskılanması, artmış enfeksiyonlar, artmış komplikasyonlar, bazı hasta alt gruplarında artmış mortalite) enteral beslenme kullanımı tercih edilmektedir (Marik ve Varon, 2001). Ancak enteral tedavi mümkün değilse, gerekli pozitif kalori ve azot dengesi sağlanarak parenteral destek kullanılmalıdır (Awad, 2003).

Sepsis hasta popülasyonunun heterojenitesinden dolayı, mevcut ve gelecekteki tedaviler hastanın bireysel özelliklerine uygun olmalıdır. Biyomarkerların ve genetik profilin rolü yine her şeye rağmen büyük olacaktır; çünkü proinflamatuvar ve antiinflamatuvar terapötik başarı, hangi hastaların gerekli tedaviler için uygun olduğunun belirlenmesine dayanmaktadır (Rilinger, Hussain ve McBride, 2014).

2.2.5. Çekal ligasyon ve ponksiyon yöntemiyle sepsis modeli oluşturulması

İnsan sepsisinin etiyolojisini araştırmak için araştırmacılar çeşitli hayvan modelleri geliştirmişlerdir. Sepsiste çok sayıda ve birbiri ile çakışan mekanizmalar olduğundan, araştırmacıların tutarlı ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edebilmeleri için şiddeti kontrol edilebilir bir sepsis modeli gerekmektedir (Toscano, Doina Ganeal ve Gameroi, 2011). Endotoksin izolasyonu ve canlı organizmaların intravenöz veya peritoneal infüzyonu ile birlikte intra-abdominal sepsis modelleri 1930'lu yıllarda çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Endotoksemi modellerinden bakteremiye odaklı bir geçiş 1960'lı yıllarda gerçekleşmiştir. Endotoksemi ve bakteriyemi modellerinin kullanımını takiben, iskemi ve bağırsak perforasyonunu içeren CLP gibi çeşitli modeller geliştirilmiştir (Mai, Khan, Liaw ve Fox-Robichaud, 2012).

Çekum ligasyonu, kalın ve ince bağırsağın kesiştiği yerde bulunan ileoçekal valfin aşağısında gerçekleştirilmekte ve böylece nekrotik dokuya inflamatuvar bir kaynak sağlanmaktadır. Devamında çekumda bir delik açılarak dışkı maddesinin steril periton boşluğuna akmasına izin verilmektedir (Dejager, Pinheiro, Dejonckheere ve Libert, 2011). Ligasyon yeri ve delinme tipi hastalık modelinin şiddetini belirlemektedir (Schabbauer, 2012). Yaklaşık olarak 16.saatte, CLP kaynaklı sepsis, hipoglisemi, hipoinsülinemi ve artmış laktat seviyeleri boyunca hipodinamik sirkülasyonla belirginleşmektedir. Periton boşluğu, asit ve birçok kültürlenebilir mikrop (örn; *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus*, *Bacteroides fragilis* vb.) içermektedir (Hubbard ve diğerleri, 2005).

CLP; sistemik inflamasyona yol açan karın içi enfeksiyonun doğal bir modelidir. Tekrarlanabilir ve titre edilebilirdir (Singer ve diğerleri, 2016). Cerrahi beceri gerektirmediğinden çok çeşitli laboratuvarlarda erişilebilir bir prosedürdür. Hazırlanması ucuz ve tekniği basittir (Hubbard ve diğerleri, 2005). CLP modeli insan sepsisinin en iyi

temsilcilerinden biridir ve sepsiste altın standart model olarak kabul edilmiştir (Dejager ve diğerleri, 2011).

Al-Saidya ve Ismail'in (2013) yaptıkları çalışmada; CLP'den 24 saat sonra akciğerlerde pulmoner amfizemle birlikte şiddetli inflamatuvar, böbreklerde ise glomerulonefrit gibi histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir.

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

2.3.1. Serbest radikaller

Kimyasal işlemler sırasında bir elektronun verilmesi oksidasyon (yükseltgenme), bir elektronun alınması ise redüksiyon (indirgenme) olarak adlandırılmaktadır (Goodyear-Bruch ve Pierce, 2002). Bu elektron kimyasal formüllerde genellikle bir nokta (.) ile gösterilmektedir (Örneğin O_2^- , OH^-) ve moleküler türlere oksitleyici ve/veya indirgeyici bir potansiyel kazandırmaktadır (Latha ve Babu, 2001). İndirgenme ve yükseltgenme, indirgenmiş molekülü diğer moleküllerle reaksiyona girebilecek kararsız bir hale getirmektedir. Bu indirgenmiş maddeler serbest radikaller olarak adlandırılmaktadır (Goodyear-Bruch ve Pierce, 2002). Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran, atomlar veya moleküllerdir ve reaktiflikleri, dönüş yönünün tersinde bir elektrona ulaşma isteğinden kaynaklanmaktadır (Berger, 2005; Deaton ve Marlin, 2003). Serbest radikallerin ömürleri çok kısadır ve diğer radikaller veya moleküllerle reaksiyona girdiğinde serbest radikallerden yeni radikaller oluşturulabilmektedir (Finaud, Lac ve Filaire, 2006).

Tüm aerobik organizmalar hücrel solunum ve normal metabolizma sırasında oksijen kullandıklarından, biyokimyasal hücrel reaksiyonlar ve mitokondriyal elektron taşıma zinciri ile serbest radikallerin üretilmesi kaçınılmazdır (Buonocore ve Groenendaal, 2007). Mitokondriyal solunum fonksiyonu yaş ilerledikçe azalmakta ve bu durum mitokondride ROS ve serbest radikal üretimini artırmaktadır (Sacca, Izzotti, Rossi ve Traverso, 2007). Ultraviyole ışınlar, radyasyon, sigara, kirleticiler, gıda katkı maddeleri, tarımla ilgili kimyasal madde kalıntıları, patojenler, stres ve aşırı fiziksel egzersiz serbest radikal oluşumuna katkıda bulunan faktörlerdir (Naito, Chang-il Lee, Kato, Nagai ve Yonei, 2010).

Serbest radikallerin potansiyel biyolojik hasara neden olan zararlı etkileri oksidatif stres ve nitrosatif stres olarak adlandırılmaktadır (Valko ve diğerleri, 2007). Normalde serbest radikal üretimi ve atımı arasında bir denge vardır. Oksidatif stres, aşırı miktarda oksidan bileşik oluşumu ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik sonucu oluşmaktadır (Buonocore ve Groenendaal, 2007; Bonetto ve diğerleri, 2009).

Oksijen merkezli reaktif türler ROS, nitrojen merkezli reaktif türler ise reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak adlandırılmaktadır (Scheibmeira ve diğerleri, 2005; Buonocore ve Groenendaal, 2007). ROS ve RNS normal hücrel metabolizma ürünleridir. Her ikisi de canlı sistemlerde zararlı veya yararlı olarak rol oynamaktadır (Buonocore ve Groenendaal, 2007). ROS ve RNS: 1) UV ışınları, X-ray ışınları ve gama ışınlarının ışınlanması sırasında oluşturulmaktadır, 2) metal katalizli reaksiyonların ürünleridir, 3) atmosferde kirletici maddeler olarak bulunmaktadır, 4) inflamasyon sırasında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilmektedir, 5) mitokondri ile katalize edilen elektron taşıma reaksiyonları ve diğer mekanizmaların yan ürünleridir (Valko, Rhodes, Moncola, Izakovic ve Mazura, 2006).

RNS; NO ve nitrojen dioksit ($\cdot\text{NO}_2$) gibi serbest radikaller ve peroksinitrit (ONOO^-), diazot monoksit (HNO_2) ve alkil peroksinitrat (RONOO) gibi non radikallerden oluşmaktadır (Johansen, Harris, Rychly ve Ergul, 2005).

NO; nörotransmisyon, kan basıncının düzenlenmesi, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve bağışıklığın düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır (Valko ve diğerleri, 2007). Bununla birlikte, $\cdot\text{NO}$ 'in ve $\cdot\text{NO}$ 'ten türetilen RNS nin anormal olarak üretimi; akut akciğer hastalığı, ateroskleroz ve septik şok gibi patolojik durumlarla ilişkili bulunmuştur (Eiserich, Patel ve O'Donnell, 1998). NO, hem sulu hem de lipid ortamda çözünebilir olduğu için sitoplazma ve plazma membranları boyunca yayılmaktadır (Valko ve diğerleri, 2006).

Oksijenden üretilen radikaller canlı sistemlerde üretilen radikal türlerinin en önemli sınıfını temsil etmektedir (Valko ve diğerleri, 2007). Aerobik organizmalarda oksijenin %90'ından fazlası mitokondri tarafından tüketilmektedir. Normal fizyolojik şartlar altında tüketilen oksijenin yaklaşık %1-5'i mitokondri tarafından ROS'ne dönüştürülmektedir (Sacca ve diğerleri, 2007). ROS; oluşum alanları, fizyolojik fonksiyonları, reaktiviteleri ve biyolojik yarı ömürleri açısından farklılık göstermektedir (Schulz, Lindenau, Seyfried ve Dichgans,

2000). Düşük konsantrasyonlarda ROS'un hücre içi sinyalizasyonda ve patojenlere karşı savunmada vazgeçilmez bir rolü vardır. Ancak yüksek miktarlardaki ROS; artrit, kanser, diyabet, ateroskleroz, iskemi, bağışıklıkta ve endokrin fonksiyonlarda sorunlar gibi hastalıklarda önemli bir rol oynamaktadır (Rajendran ve diğerleri, 2014).

ROS çeşitli uyaranlara karşı yanıt olarak bazı hücreler tarafından salgılanmakta ve hücre zarında lipid peroksidasyonu ile hücre yapısını ve işlevini bozmakta, nükleik asitlerin yıkımını gerçekleştirmekte ve nötrofillerin aktivasyonunu sağlamaktadır (Coleman, 2001). Ayrıca, lipid ve protein oksidasyonu; 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE), malondialdehid (MDA) ve glioksal gibi aracı molekülleri üretebilmekte ve bu moleküller lisin, arginin ve histidin gibi protein kalıntılarına saldırarak genellikle Advanced Glication End-Product (AGE) veya Advanced Lipoxidation End-Product (End) olarak ifade edilen kovalent modifikasyona neden olmaktadır (Andrades, Ritter, Moreira ve Dal-Pizzol, 2005).

2.3.2. Sepsis ve oksidatif stres

Serbest radikal hasarı belli başlı hastalıklara önemli katkıda bulunan bir faktör olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, günümüzde YBÜ'deki hastaların; ilaçlardan, organizmalardan ve diğer maddelerden kaynaklanan aşırı miktarda serbest radikale maruz kaldığına dair önemli kanıtlar mevcuttur (Scheibmeira ve diğerleri, 2005). Bununla birlikte, ciddi enfeksiyonlu hastalarda antioksidan kapasite kötüleşebilmekte ve serbest radikal hasarına bağlı metabolik ürünlerin yüksek seviyeleri gözlemlenmektedir (Kruiddienier ve Verspaget, 2002). Sepsis kaynaklı organ yetmezliği yoğun bakım ünitelerinde ölümün en önemli nedenidir ve aşırı bir inflamatuvar yanıt ve oksidatif stres ile karakterize edilmektedir (Lowes, Webster, Murphy ve Galley, 2013). Oksidatif stresin inflamasyon ve organ yetmezliği sürecinin önemli bir bileşeni olduğu ve özel bir ilgi gerektirdiği kabul edilmektedir (Coleman, 2001). Sepsis sırasında, aşırı bir serbest oksijen radikali üretimiyle birlikte doğal süpürücü mekanizmalarda bir zayıflık görülmekte ve bu da endotelium ve epitel gibi hücreleri etkileyerek, inflamatuvar doku hasarı, hücre hasarı ve çoklu organ yetmezliğinde rol oynamaktadır (Koksall, Sayilgan, Aydın, Öz ve Uzun, 2004; Fialkow, Wang ve Downey, 2007). Ayrıca, septik hastaların hücreleri ara ürün metabolizmasını sürdürememekte ve dolayısıyla hücre ölümüne neden olan ve hastanın hayatını tehdit eden bir enerji yetersizliği gelişmektedir (Garrabou ve diğerleri, 2012).

Sepsis hastalarında oksidatif stres tarafından başlatılan inflamatuvar yanıtların, transkripsiyonel aktivasyon için redoks yollarının (örneğin; nükleer faktör κ B (NF κ B)'nin artmış aktivasyonu ve sitokinler ve pentraxin-3 gibi inflamatuvar mediatörlerin dolaşımında artması) aktifleşmesi ile oluştuğu bildirilmiştir (Galley, 2011). Ayrıca, bir vazodilatör olan nitrik oksitin aşırı üretiminin septik şokta hipotansiyondan kısmen sorumlu olduğu düşünülmektedir ve bu hastalarda nitrik oksit sentaz (NOS) ve nitrit konsantrasyonları artmaktadır (Galley, Howdle, Walker ve Webster, 1997). Bunun yanı sıra, sepsisli hastalarda lipid peroksit, malondialdehit, tiobarbitürik asit reaktif maddeler (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) ve ksantin oksidaz aktivitesinde bir artış gözlenmiştir. Bunun aksine tokoferol, selenyum, A vitamini, β -karoten, likopen ve askorbik asit seviyelerinde azalma mevcuttur. Ayrıca ölen hastaların aksine hayatta kalan hastalarda plazma antioksidan potansiyel değerleri normal veya normal üstü değerlere ulaştığı gözlenmiştir. (Crimi ve diğerleri, 2006).

Sepsis sırasında ROS'un olası kaynakları şunlardır:

- 1) Mitokondriyal solunum zinciri,
- 2) Araşidonik asit metabolik kaskadı,
- 3) Proteaz aracılı enzim ksantin oksidaz,
- 4) Kompleman, bakteri, endotoksin, lizozomal enzimler vb. tarafından aktifleştirilmiş granülositler ve diğer fagositler,
- 5) Başta Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (NADPH) olmak üzere diğer oksidazlar (Victoria, Rochab ve De la Fuente, 2004).

2.3.3. Antioksidanlar

Oksijen radikallerinin yıkıcı potansiyelini önlemek için hücreler oksidatif hasarı önleyerek veya sınırlandırarak kendilerini savunma yeteneğine sahiptir. Bu hücre koruyucu mekanizmalar antioksidan savunma olarak bilinmektedir (Latha ve Babu, 2001). Dokular ve organlar farklı oranlarda metabolik aktiviteye ve oksijen tüketimine sahiptirler ve antioksidan seviyeleri de farklıdır (Limón-Pacheco ve Gonsébat, 2009). Karaciğer, kalp ve beyin gibi yüksek oksijen tüketimi oranlarına sahip dokular yapısal antioksidan enzimleri yüksek seviyede bulundurmaktadır (Bonetto ve diğerleri, 2009). Hücreler antioksidan

seviyelerini besin alımı ve/veya de nova sentezi yoluyla sürdürmek zorundadır (Roberts ve Sindhu, 2009).

Antioksidan sistemler serbest radikaller tarafından hasar görmüş lipidleri, proteinleri ve Deoksiribo nükleik asiti (DNA) onarır ve yeniden üretmektedirler. Bu sistemlerde fosfolipaz, proteaz, transferaz ve DNA onarıcı enzimler primerdir (Naito ve diğerleri, 2010). İn vivo ortamda antioksidanlar birbirleriyle, proteinlerle ve enzimlerle uyum içinde hareket etmekte ve antioksidanların farklı bölümlerde redoks reaksiyonlarına girmesi beklenmektedir (Stocker, 2016).

Vücudu sağlıklı tutma ve hastalıklardan korunma umuduyla, 21.yüzyılda antioksidan gıdalar ve besinsel antioksidan alımına olan talep artmıştır (Rajendran ve diğerleri, 2014). Diyetle alınan doğal antioksidanlar, antioksidan savunma sistemini güçlendiren en önemli unsurların başında gelmektedir. Doğal antioksidanlar, bitki veya hayvan dokularında bulunan maddelerdir (Öğüt, 2014). Besinsel antioksidanlar farklı mekanizmalarla ve farklı bölümlerde görev almaktadırlar ancak esas olarak serbest radikal süpürücüleridir : 1) doğrudan serbest radikalleri nötralize etmektedirler, 2) peroksit konsantrasyonlarını azaltmaktadırlar ve okside olmuş membranları onarmaktadırlar, 3) ROS üretimini azaltmak için demiri kırmaktadırlar, 4) lipid metabolizması, kısa zincirli yağ asitleri ve kolesterol esterleri aracılığıyla ROS'u nötralize etmektedirler (Berger, 2005).

Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olabilmektedirler. Eksojen antioksidanlar; vitaminler ve ilaç antioksidanları olarak sınıflandırılmaktadır. Endojen kaynaklı antioksidanlar ise enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6- fosfat dehidrojenaz (G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek gösterilmektedir (Yılmaz, 2010). Non-enzimatik antioksidanlar ise C ve E vitamini, β -karoten, metallotionin, poliamin, melatonin, NADPH, adenosin, sistein, homosistein, koenzim Q-10, ürat, ubikuinol, fitoöstrojenler, lipoik asit, flavonoidler, polifenoller, flavonoidler, taurin, seruloplazmin, hemoglobin, bilirubin, metionin, s-adenozil L-metionin, resveretrol, lökopen, nitroksidler, idebenonun, propofolun, selenyum ve manganezden oluşmaktadır (Sezer ve Keskin, 2014).

SOD ve CAT'ın ilk reaktif ürünler olan süperoksit radikal ve hidrojen peroksidi katalize edici etkileri nedeniyle teorik olarak antioksidan etkilerinin diğer antioksidanlara göre avantajlı olabileceği düşünülmektedir (Derviş, 2011).

Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD terimi; yapıları ve kofaktörleri açısından değişiklik gösteren Mn-SOD (mitokondride bulunur) ve Cu-Zn-SOD (sitozolda bulunur) un aralarında bulunduğu enzim proteinlerin oluşturduğu bir aile olarak karakterize edilmektedir (Rajendran ve diğerleri, 2014; Gate, Paul, Nguyen Ba, Tew ve Tapierol, 1999). İnsanlarda SOD; karaciğerde, böbrek üstü bezinde, böbrekte ve dalakta yüksek seviyelerde bulunmaktadır (Scheibmeira ve diğerleri, 2005).

Katalaz (CAT)

Karaciğer, böbrek ve kırmızı kan hücreleri vücutta kimyasal detoksa yardımcı olan CAT'a yüksek oranda sahiptir (Scheibmeira ve diğerleri, 2005). CAT, H_2O_2 'yi su ve moleküler oksijene dönüştüren tetramerik bir peroksidaz enzimdir ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$) (Roberts ve Sindhu, 2009).

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidazın kimyasal işlevi lipid hidroperoksitleri ilgili alkollere ve H_2O_2 'yi suya indirgemektir (Rajendran ve diğerleri, 2014). Glutasyon peroksidaz enziminin iki ana tipi saptanmıştır. Bunlardan biri aktif bölgesinde selenyum içeren selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz (Se-GPx)'dir. Selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST) ise daha çok organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde faaliyet göstermektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Glutasyon (GSH)

GSH hücrede; protein sentezi, aminoasit transferi, DNA sentezi ve genellikle hücresel detoksifikasyonda rol oynamaktadır. GSH, H_2O_2 'nin suya dönüştürülmesinde ve lipid

hidroperoksitlerin indirgenmesinde yer almaktadır ve GSH-Px enziminin yer aldığı metabolik reaksiyonlarda elektron vericidir (Gate ve diğerleri, 1999; Velioğlu, 2000).

2.4. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)

Bilinen en küçük sinyal molekülü olan NO, memeli hücrelerinden, üç NOS'dan oluşan bir enzim ailesi tarafından sentezlenmektedir (Förstermann ve Sessa, 2012; Michel and Feron, 1997). NO'nun canlı organizmalar üzerinde zıt rolleri vardır. Nöronal sistemdeki nörotransmitterlere benzer biyolojik bir aracı olarak hareket etmektedir, vasküler sistemlerde kan tonunu düzenlemektedir ve bağışıklık sisteminde önemli bir konak savunma efektörüdür. Diğer taraftan serbest bir oksijen radikali olup ($\text{NO}^\cdot$) patolojik süreçlerde, özellikle de inflamatuvar hastalıklarda sitotoksik bir ajan olarak görev yapabilmektedir (Aktan, 2004).

Memelilerde nöronal (nNOS), endotelial (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere 3 farklı NOS izoformu tanımlanmıştır. Bu enzimler; farklı lokalizasyonu, katalitik özelliği ve inhibitör duyarlılığı olan farklı genlerin ürünüdür. NOS; NO, süperoksit anyonu (O_2^-) veya peroksinitrit üretebilmektedir. Enzim L-arginini (L-Arg) L-sitrülin ve NO'ya dönüştürmektedir (Soskic ve diğerleri, 2011). NO sentezinde kullanılan tek fizyolojik azot vericisi arginin olduğu için, bu aminoasidin metabolizması, sepsis sırasında NO sentezinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Morris ve Billiar, 1994).

nNOS, merkezi ve periferik nöronlarda ve diğer bazı hücre tiplerinde yapısal olarak eksprese edilmektedir. eNOS, çoğunlukla endotel hücrelerinde eksprese edilmektedir. iNOS, LPS, sitokinler veya diğer ajanlara yanıt olarak birçok hücre tipinde eksprese edilebilmektedir (Förstermann ve Sessa, 2012). iNOS, yapısal olarak aktif izoformların aksine, Ca^{2+} den bağımsız olarak işlevlerini yerine getirmektedir. İnsan iNOS'u ve kemirgen iNOS'u yaklaşık %80 oranında benzerlik göstermektedir (Lechner, Lirk ve Rieder, 2005).

iNOS ekspresyonunu uyaran spesifik faktörler hücre tipleri arasında farklılık göstermesine rağmen, bugüne kadar tarif edilen hemen hemen tüm ajanlar; mikroplar, mikrobiyal ürünler veya inflamatuvar sitokinlerdir ve ajanlar arasında sıklıkla güçlü bir sinerji vardır (Morris ve Billiar, 1994). iNOS'un uyarılması, büyük miktarlarda NO'nun gecikmeli ve uzun süreli salınmasına neden olmaktadır (Cernadas, 1998). Uyarıldıktan sonra, iNOS, enzim

parçalanana kadar sürekli NO üretmektedir. Anormal iNOS uyarılması, astım, artrit, multipl skleroz, kolit, sedef hastalığı, nörodejeneratif hastalıklar, tümör gelişimi, transplant reddi veya septik şok gibi hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadır (Kleinert, Pautz, Linker ve Schwarz, 2004). NO sentezinin uyarılmasının, sepsis ve inflamasyona verilen konak yanıtının bir parçası olduğu belirtilmiştir. Uyarılan NO, miktar, süre ve sentezin anatomik bölgesine bağlı olarak, sepsis ve inflamasyon sırasında zararlı veya faydalı olabilecek çeşitli etkilere sahip olabilmektedir (Morris ve Billiar, 1994).

Hem enfeksiyon hem de inflamasyonda, iNOS doğrudan efektör olarak ve efektörlerin düzenleyicisi gibi davranmaktadır (Nathan, 1997). Dolayısıyla iNOS'un inhibisyonu, inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yararlı olabilmektedir (Aktan, 2004).

2.5. Akciğer Histolojisi

Solunum sistemi; iletili ve solunumun gerçekleştiği kısımları içerir. İletici kısmın bazı büyük parçaları akciğer dışı iken, daha küçük olanlar akciğer içidir (Gartner ve Hiatt, 2009:235-236).

Akciğerler konik şekilli, kaide kısmı diyaframa oturan ve uç kısmı köprücük kemiğinin 2.5 cm altına kadar yaklaşan iki parçadan oluşmaktadırlar. Sağ akciğer soldakinden daha büyük ve daha ağırdır. Primer bronş, kan damarları, sinirler ve lenfatik damarların akciğere girdiği nokta **hilum** olarak adlandırılmaktadır. Sağ akciğer üç lobdan, sol akciğer ise iki lobdan oluşmaktadır (Öber ve Turgay İzzetoğlu, 2006: 208-210).

Her akciğerde havanın iletiliği yolların oluşturduğu bir bronkus ağacı ile, kan ve hava arasında gaz alışverişinin yapıldığı ve bronkus ağacının son dalları çevresinde yerleşik bir solunum alanı bulunmaktadır (Erdoğan, Görgün, Hatipoğlu ve Ilgaz, 2007: 57-66). Trakea, hilumdan akciğerlere giren iki adet birincil bronşa ayrılmaktadır. Birincil bronşlar akciğere girdikten sonra aşağı ve dışa doğru inerek sağ akciğerde üç, sol akciğerde iki bronşa ayrılmaktadır. Bunların her biri bir akciğer lobunu donatmaktadır. Bu lobar bronşlar defalarca dallanarak daha küçük bronşları oluşturmaktadırlar. Bunların sonlandırıcı dallarına bronşiyol denmektedir (Junqueira ve Carnerio, 2009: 345-359). Bronşiyollerr ortalama 12 kez dallandıktan sonra, akciğer içi hava iletim yollarının son dalları olan terminal

bronşiyollere ayrılmaktadırlar. Her terminal bronşiyol bir, iki ya da daha fazla respiratuvar bronşiyol ile devam etmektedir (Erdoğan ve diğerleri, 2007: 57-66).

Terminal bronşiyollerde epitel tek katlı ya da kübik kinosilyalıdır. Epitelde silyalı silyasız iki tip hücre ayırt edilmektedir. Çap daraldıkça goblet hücreleri kaybolmaktadır. Silyalı hücreler çoğunluktadır (Erdoğan ve diğerleri, 2007: 57-66). Respiratuvar kısım, terminal bronşiyollerin dalları olan respiratuvar bronşiyoller ile başlamaktadır (Gartner ve Hiatt, 2009:235-236). Respiratuvar bronşiyoller 0.5-1 mm çapında çok kısa borulardır. Çapı genişçe olanlarda epitel tek sıralı kübiktir. Silyalı ve silyası hücreler vardır. Çap daraldıkça silyalı hücreler kaybolmaktadır. Hücrelerin çoğunluğunu Clara hücreleri oluşturmaktadır (Erdoğan ve diğerleri, 2007: 57-66). Respiratuvar bronşiyoller alveol denilen ince duvarlarında gaz değişimi gerçekleşen dışarı uzanan ceplere sahip olmaları dışında terminal bronşiyollere benzemektedirler. Respiratuvar bronşiyoller alveol kanallarına, onlar da alveol keseleri denilen, her bir kesenin birçok alveolden oluştuğu geniş alanlara açılmaktadırlar. Alveol keselerinin ve alveollerin epiteli iki tür hücreden oluşmaktadır (Gartner ve Hiatt, 2009:235-236). Alveol duvarının havayla karşılaşan yüzeyinin büyük bir kısmı, tip I alveoler hücre diye adlandırılan düz epitel hücrelerin oluşturduğu sürekli bir hücre tabakası ile döşenmiştir. Bu hücreler arasında yerleşmiş daha kalın ve deterjan benzeri bir madde, sürfaktan üreten özelleşmiş hücreler vardır ve tip II alveoler hücreler olarak adlandırılmaktadır (Widmaier, Raff ve Strang, 2010: 478-480).

Toz hücreleri de denen alveol makrofajları alveoller arası bölmenin iç tarafında bulunmakta ve çoğu kez alveol yüzeyinde görülmektedir (Junqueira ve Carnerio, 2009: 345-359). Bu hücreler monositlerden köken almakta ve akciğere kan yoluyla gelmektedirler. Burada olgunlaşıp tümüyle etkili temizleyici hücreler olmaktadır (Gartner ve Hiatt, 2009:235-236).

Solunum sisteminde bronş-bronşiyol tiplerinin yapısal karşılaştırılması Çizelge 2.2’de gösterilmiştir (Öber ve Turgay İzzetoğlu, 2006: 208-210).

Çizelge 2.2. Solunum sisteminde bronş-bronşiyol tiplerinin yapısal karşılaştırılması (Öber ve Turgay İzzetoğlu, 2006: 208-210)

	Epitel	Goblet hücreleri	Kıkırdak	Bezler	Düz kas	Alveoller
Büyük bronşlar	Yalancı çok tabakalı, silli	Var	Var	Var	Biri sağda biri solda olmak üzere grup halinde	Yok
Küçük bronşlar	Yalancı çok tabakalı, silli	Birkaç tane	Az	Birkaç tane		Yok
Bronşiyoller	Yalancı çok tabakalı, silli, silindirik	Oldukça seyrek	Yok	Yok	Var	Yok
Terminal bronşiyol	Basit silli silindirik	Yok	Yok	Yok	Var	Yok
Solunum bronşiyölü	Basit kübik	Yok	Yok	Yok	Var	Var
Alveolar kanal	Basit kübik	Yok	Yok	Yok	Birkaç fibril halinde	Artma potansiyelli

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışma 20.03.2016 - 24.03.2016 tarihleri arasında, 32 adet Wistar Albino rat üzerinde CLP yöntemi ile oluşturulan sepsis modelinde, akciğer dokusunda oluşacak hasara karşı curcuminin antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin araştırılması amacıyla Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Yapılan bu çalışma için Namık Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 03.03.2016 tarih ve 2016/03 toplantı sayısı ile onay alınmıştır (EK-1). Araştırmacı da Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Sertifikasını almıştır (EK-2). Çalışmanın bütçesi araştırmacı tarafından sağlanmıştır.

3.1. Deneyde Kullanılan Hayvanların Temini ve Bakımı

Çalışmada 2,5-3 aylık, 250-300 gr ağırlığında, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip 32 adet erkek Wistar Albino rat, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Merkezinden sağlanmıştır. Bütün hayvanlar ısı kontrollü bir odada (20-24 C, %45-50 nem), paslanmaz çelik kafesler içerisinde, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık bir siklusa muhafaza edilmiştir. Hayvanların standart pellet yem diyetine ve musluk suyuna erişimleri ad libitum olarak sağlanmıştır.

3.2. Araştırma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada her grupta 8 adet olacak şekilde toplam 32 adet erişkin erkek rat kullanılmıştır. Çalışma gruplarındaki hayvan sayısı deneysel olarak oluşturulan sepsis çalışmalarında kullanılan denek sayılarına dayandırılarak belirlenmiştir (Liu, Yang, Liu, Sui ve Li, 2016; Zhong ve arkadaşları, 2016; Xiao, Yang, Sun ve Sun, 2012). Ratlar; kontrol, Curcumin (Cur), CLP ve CLP + Cur olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol ve CLP grubuna curcumin verilmemiştir. Cur ve CLP + Cur grubuna cerrahi girişimden 3 gün önce başlanarak, 3 gün boyunca günde tek doz olacak şekilde, 100mg/kg dozda curcumin 0,5 ml dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir. Çalışmada kullanılan curcumin dozu ve uygulanma süresi literatür taraması yapılarak belirlenmiştir (Guzel, Kanter, Guzel, Yucel, Erboga, 2013; Yucel, Kanter, Pergel, Erboga, Guzel, 2011;

Kanter, Aktas ve Erboga, 2013). Çalışma sırasında CLP grubunda 1 adet hayvan kaybı yaşanmış ve yerine 1 adet hayvan eklenerek ve CLP işlemi uygulanarak gruptaki hayvan sayısı diğer gruplarla eşit olacak şekilde 8'e tamamlanmıştır.



Resim 3.1. Ratlarda CLP yönteminin uygulanması

1. Grup (Kontrol) (n=8): Bu gruptaki ratlara anestezi sonrası yalnızca batın insizyonu steril koşullarda yapılmış ve batın kapatılmıştır.

2. Grup (Cur) (n=8): Bu gruptaki ratlara anestezi sonrası yalnızca batın insizyonu steril koşullarda yapılmış ve batın kapatılmıştır. Bu gruba Curcumin (Cur) cerrahi girişimden 3 gün önce başlanarak günde 100 mg/kg dozda, dimetilsükfoksit içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

3. Grup (CLP) (n=8): Bu gruptaki ratlara anestezi sonrası, sepsis modeli oluşturmak amacıyla CLP; steril koşullarda yapılmış ve batın kapatılmıştır.

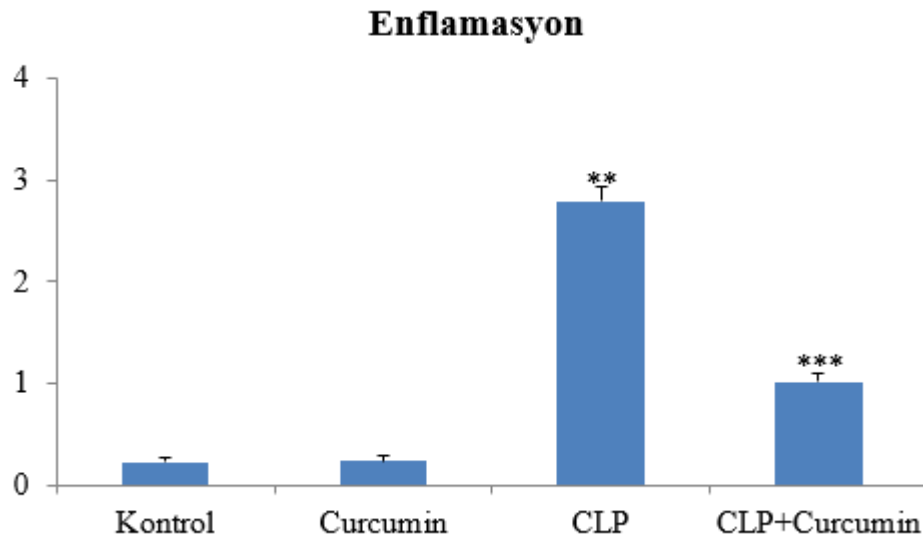
4. Grup (CLP+Cur) (n=8): Bu gruptaki ratlara anestezi sonrası, sepsis modeli oluşturmak amacıyla, steril koşullarda CLP yapılmış ve batın kapatılmıştır. Bu gruba Curcumin (Cur) cerrahi girişimden (sepsis oluşturulmadan) 3 gün önce başlanarak günde 100 mg/kg dozda, dimetilsükfoksit içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

Tüm gruplardaki ratlar cerrahi operasyonlardan 24 saat sonra anestezi sonrası batınları steril koşullarda açılıp kalpten kan aspire edilerek sakrifiye edilmiş ve akciğer dokuları alınmıştır.

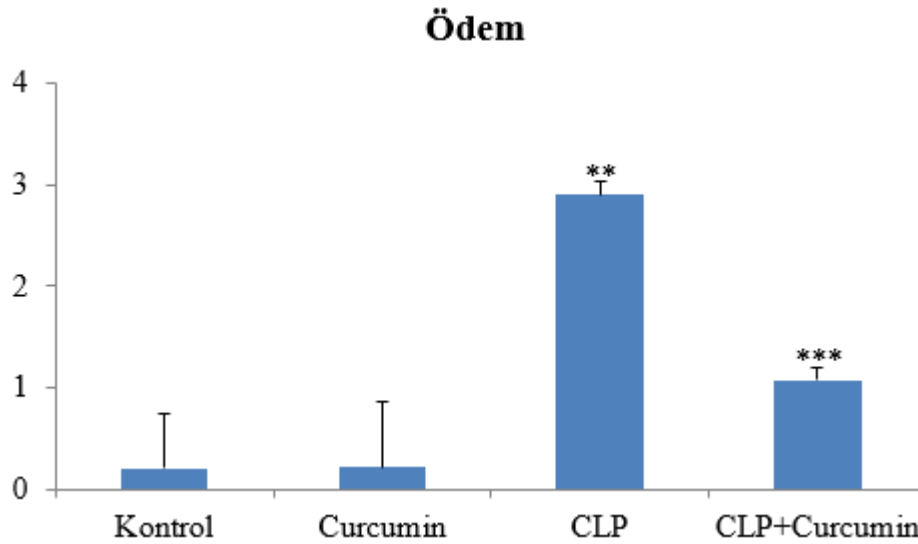
3.3. Işık Mikroskopik İnceleme

Işık mikroskopik incelemeler için akciğer dokuları, Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarında işlemlendirilmiştir. Bu amaçla akciğer dokuları Bouin fiksatoründe 4 gün fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçilmiştir. Dokular 2 gün %70'lik alkolde yıkanarak, dehidratasyon işlemine geçilmiştir. Dokular artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) 1'er saat tutulmuştur. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dk toluol ile muamele edilmiştir. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 1 gece tutulmuştur. Bir sonraki gün akciğer dokuları yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak, bloklanmıştır. Bu bloklardan mikrotom kullanılarak 5 µm (mikrometre) kalınlığındaki kesitler alınmıştır. Akciğer dokusunun genel özelliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler Hematoksilen+Eozin (H+E) ile boyanmıştır. Histopatolojik incelemede akciğer hasarı derecesi Murakami ve diğerlerinin (2002) tekniğine göre değerlendirilmiştir. Her kesitte akciğer parankimasından seçilen 10 alanda alveolar duvar kalınlığı, enflamasyon ve ödem incelenerek 0-4 arası (0: hasar yok ve normal görünüm, 1: hafif hasar, 2: orta hasar, 3: güçlü hasar, 4: yoğun hasar) skora atılmıştır. Elde edilen skorlar sonucunda her gruba ait ortalama değerler elde edilmiştir.

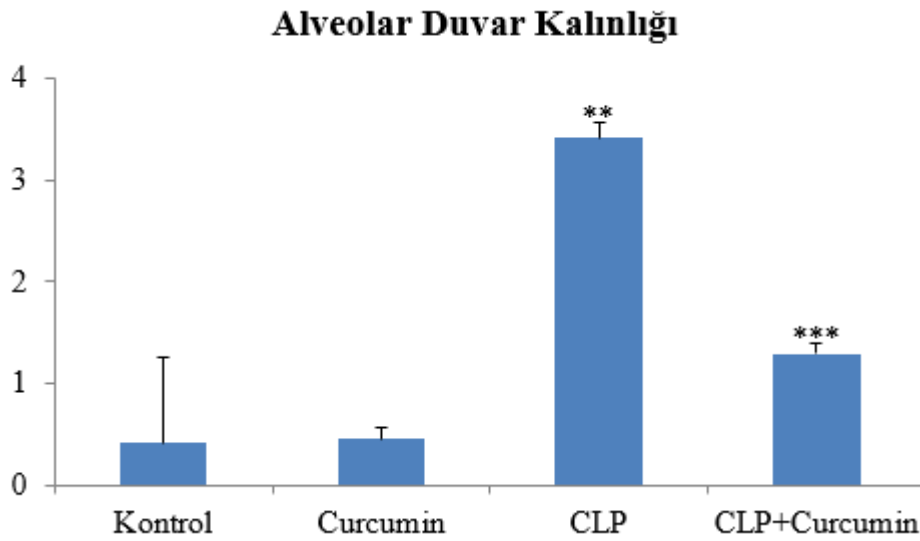
Çalışmamızda kontrol ve curcumin gruplarının H+E boyalı kesitleri incelendiğinde bronş, bronşiol, alveol ve interstisyel alanın normal yapıda olduğu gözlenmiştir. CLP grubunun H+E boyalı kesitleri incelendiğinde ise kontrol ve curcumin gruplarına göre yaygın akciğer hasarı görülmüştür. Alveolar septal kalınlaşma ile birlikte akciğer interstisyumunda hemoraji ve ödem gözlenmiştir. Ayrıca bronş ve bronşiol epitellerinde deskuamasyon ile birlikte hem bronş ve bronşiol çevrelerinde hem de interstisyel alanda enflamatuar hücre infiltrasyonu izlenmiştir. CLP+Curcumin grubunda ise CLP grubuna göre hem alveolar alan hem de interstisyel alanda daha az hasar görülmüştür (EK-3). Ayrıca akciğer hasarına ait enflamatuar hücre infiltrasyonu, ödem ve alveolar septal kalınlaşma skorlarının CLP grubunda kontrol ve curcumin gruplarına göre oldukça yüksek olduğu, CLP + Curcumin grubunda ise CLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.1, 3.2, 3.3).



Şekil 3.1. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda enflamasyon skorları (**p < 0.001; Kontrol ve Curcumin gruplarına göre, ***p < 0.001; Kontrol, Cur ve CLP gruplarına göre)



Şekil 3.2. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda ödem skorları (**p < 0.001; Kontrol ve Cur gruplarına göre, ***p < 0.001; Kontrol, Cur ve CLP gruplarına göre)



Şekil 3.3. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda alveolar duvar kalınlığı skorları (** $p < 0.001$; Kontrol ve Cur gruplarına göre, *** $p < 0.001$; Kontrol, Curcumin ve CLP gruplarına göre)

3.4. İmmünohistokimyasal İnceleme

İmmünohistokimyasal inceleme için akciğer dokusundan 5 μ m kalınlığında kesitler alınmış ve deparafinizasyon işlemini takiben kesitler suya indirilmiştir. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dk kaynatılmıştır. Oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler Phosphate-Buffer Saline (PBS) solüsyonu ile yıkanmıştır. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidad aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Häen 24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) ile 20 dk muamele edilmiştir. Distile su içinde çalkalanarak kesitler Fosfat Buffer Solusyonu (PBS; pH 7.6) ile yıkanmıştır. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulanmıştır. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edilmiştir. Kullanılan antikor, polyclonal anti-indüklenbilir nitrik oksit sentaz antikor (iNOS) (Cat. # RB-1605-P, Neomarkers, ABD) dur. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutulmuştur. Üç kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidad solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulanmıştır. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk 3-amino 9 etil karbazol (AEC) kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapılmıştır. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapılmıştır. Akarsuda

5 dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatılmış ve ışık mikroskobunda değerlendirmeye alınmıştır. Işık mikroskobunda (Olympus CX41-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekilmiştir. Tüm gruplar arasındaki iNOS immunreaktivitelerinin yoğunluğu Kanter ve diğerlerinin (2015) metoduna göre semikantitatif olarak saptanmıştır. Her kesitte rastgele seçilmiş beş alanda büyük büyütme altında (X400) pozitif hücrelerin sayımı yapılmıştır. Elde edilen veriler ortalama iNOS pozitif hücre sayıları olarak belirlenmiştir.

3.5. Biyokimyasal İnceleme

Dokular hemen soğuk izotonik su ile yıkanmış ve alüminyum folyoya sarılıp -85°C derin dondurucuda biyokimyasal testlerin yapılacağı zamana kadar saklanmıştır. Elde edilen homojenatlar 3220 rpm / 30 dakika +6 °C soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiştir. Ayrılan süpernatantlardan Malondialdehit (MDA) (Hammouda ve diğerleri, 1995), Myeloperoksidaz (MPO) (Wei, 1991), Nitrik oksit (NO) (Cortas ve Wakid, 1990), Süperoksit dismutaz (SOD) (Sun ve diğerleri, 1988; Durak ve diğerleri, 1993), Katalaz (CAT) (Aebi, 1974) ve protein tayinleri (Lowry ve diğerleri., 1951) yapılmıştır (EK-5).

3.6. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Verilerin analizleri için ‘’ PASW® Statistics 18 for Windows’’ (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) istatistiksel yazılım paketi kullanılmıştır. Bulgular ortalama±standart sapma (SS) olarak verilmiştir. Dört grup arasında ölçülen parametrelerdeki farklar Kruskal-Wallis nonparametrik testi ile analiz edilmiştir. Anlamli değerler sağlayan gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U-testi ile değerlendirilmiştir. Bütün değerlendirmeler için p değerinin 0.05’den küçük olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İmmunohistokimyasal (iNOS) Bulgular

Çalışmamızda; kontrol ve curcumin grubundaki ratların akciğer kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; alveolar ve interstisyel alanda çok az sayıda iNOS pozitif hücreler görülmüştür. CLP grubunda ise alveolar ve interstisyel alandaki iNOS pozitif hücrelerin sayısının oldukça yüksek olduğu ve iNOS pozitif hücrelerin bazı alanlarda kümeler meydana getirdiği gözlenmiştir. CLP+Curcumin grubunda ise CLP grubuna göre iNOS pozitif hücrelerin sayısı belirgin olarak düşük görülmüştür ($p<0,05$). Kontrol ve Curcumin grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Ek-4), (Şekil 4.1), (Çizelge 4.1).

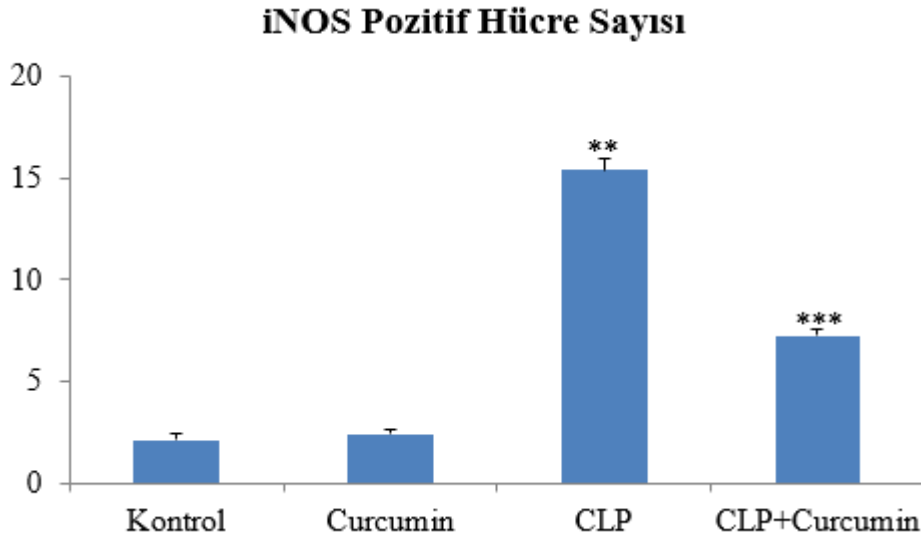
Çizelge 4.1. Tüm gruplara ait iNOS pozitif hücre sayısı değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	iNOS Pozitif Hücre Sayısı $\bar{X} \pm SD$
Kontrol (n=8)	2,1 $\pm$ 0,32071
Cur (n=8)	2,4 $\pm$ 0,21381
CLP (n=8)	15,4 $\pm$ 0,5757 ^a
CLP + Cur (n=8)	7,225 $\pm$ 0,31053 ^b

iNOS; İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

^a $p < 0,001$ kontrol ve cur gruplarına göre.

^b $p < 0,001$ kontrol, cur ve CLP gruplarına göre.



Şekil 4.1. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda iNOS pozitif hücre sayıları (** p < 0.001; Kontrol ve Curcumin gruplarına göre, *** p < 0.001; Kontrol, Curcumin ve CLP gruplarına göre)

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Yapılan bu çalışmada kontrol, Curcumin, CLP ve CLP+Curcumin grubundaki ratların akciğer dokularında MDA, MPO, NO, SOD ve CAT incelendiğinde; akciğer MDA (p<0,05, p<0,01), MPO (p<0,001, p<0,001) ve NO (p<0,001, p<0,001) seviyelerinde kontrol ve curcumin gruplarına oranla CLP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olduğu bulunmuştur (Şekil 4.2, 4.3, 4.4). CLP+Curcumin grubunun MDA (p<0,05), MPO (p<0,001) ve NO (p<0,001) seviyelerinde curcumin verilmeyen CLP grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük olduğu görülmüştür. Kontrol ve Curcumin grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.2).

SOD (p<0,001, p<0,01) ve CAT (p<0,001, p<0,001) seviyeleri değerlendirildiğinde ise kontrol ve curcumin gruplarına oranla CLP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük olduğu bulunmuştur (Şekil 4.5, 4.6). CLP+Curcumin grubunun SOD (p<0,05) ve CAT (p<0,05) seviyeleri curcumin verilmeyen CLP grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olduğu görülmüştür. Kontrol ve Curcumin grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Tüm gruplara ait biyokimyasal verilerin ortalama ve standart sapma değerleri

Biyokimyasal Bulgular	Gruplar (n=32)			
	Kontrol (n=8) $\bar{X} \pm SD$	Cur (n=8) $\bar{X} \pm SD$	CLP (n=8) $\bar{X} \pm SD$	CLP+Cur (n=8) $\bar{X} \pm SD$
MDA (nmol/g protein)	2.6±0.41	2.43±0.82	3.64±0.86 ^{ac}	2.7±0.36 ^e
MPO (U/g protein)	0.0098±0.00164	0.012±0.0311	0.0311±0.00481 ^{bd}	0.0197±0.00425 ^f
NO (mmol/g protein)	75.5±16.05	98.17±28.26	190.05±31.87 ^{bd}	116.53±10.45 ^f
SOD (U/mg protein)	0.48±0.09	0.45±0.07	0.29±0.07 ^{bc}	0.41±0.07 ^e
CAT (k/g protein)	12.18±3.52	12.7±2.53	5.1±1.51 ^{bd}	8.8±1.22 ^e

MDA; Malondialdehid, MPO; Myeloperoksidaz, NO; Nitrik Oksit, SOD; Süperoksitdismutaz, CAT; Katalaz.

^ap < 0,05 kontrol grubuna göre.

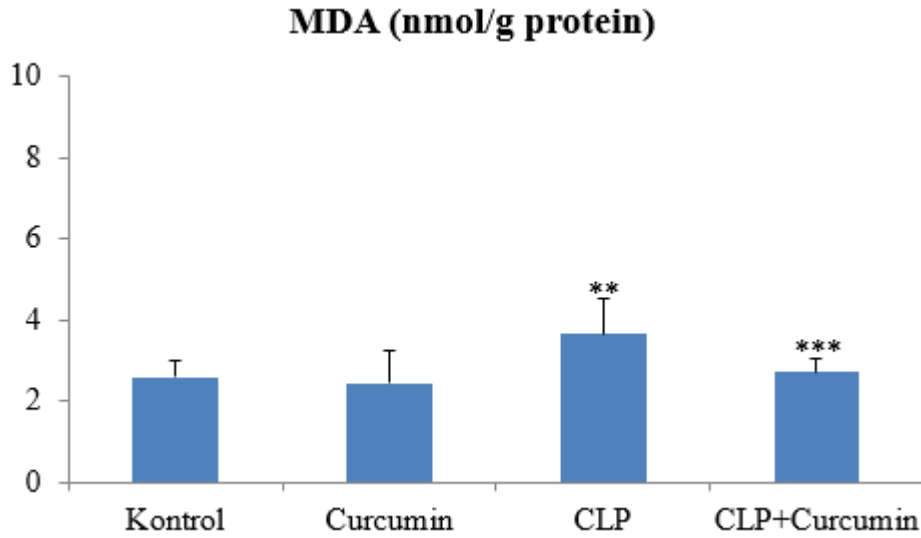
^bp < 0,001 kontrol grubuna göre.

^cp < 0,01 cur grubuna göre.

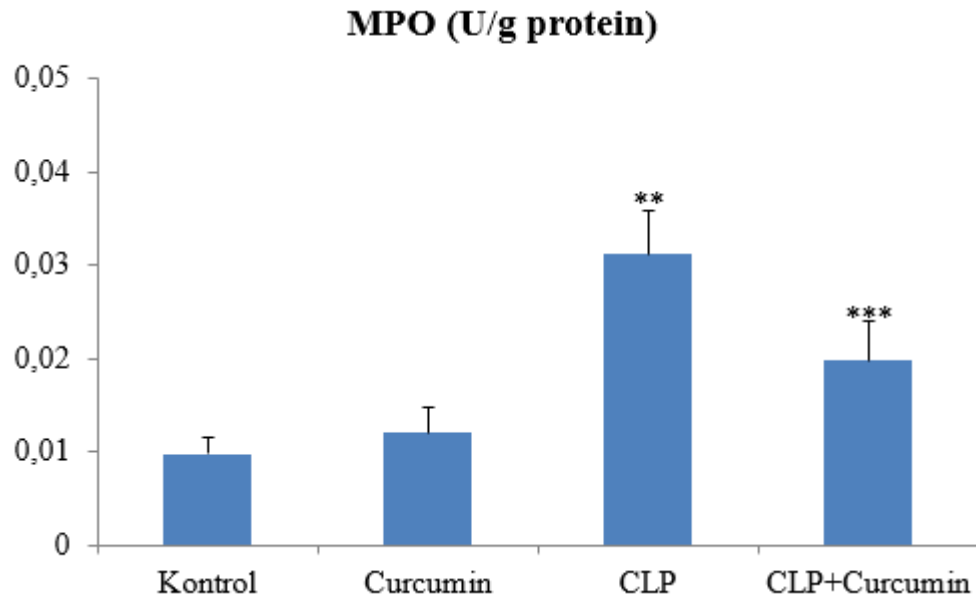
^dp < 0,001 cur grubuna göre.

^ep < 0,05 CLP grubuna göre.

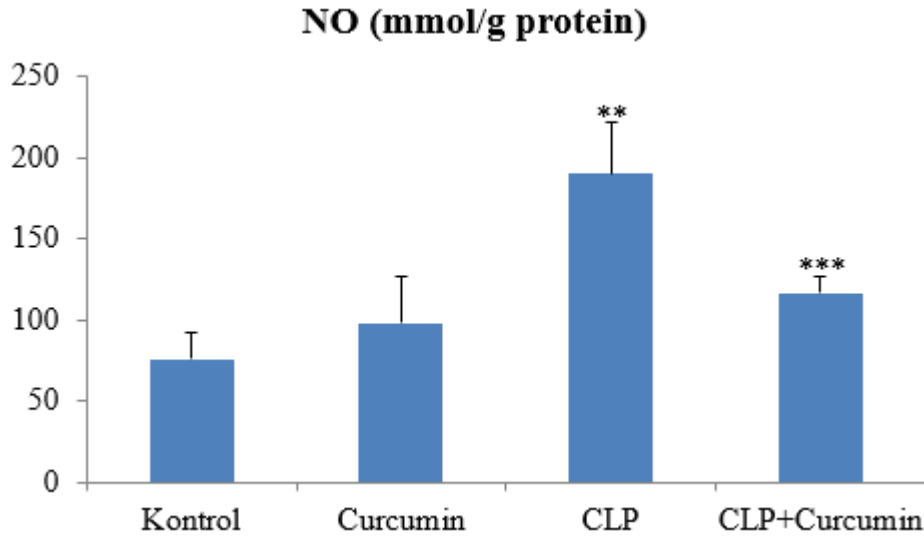
^fp < 0,001 CLP grubuna göre.



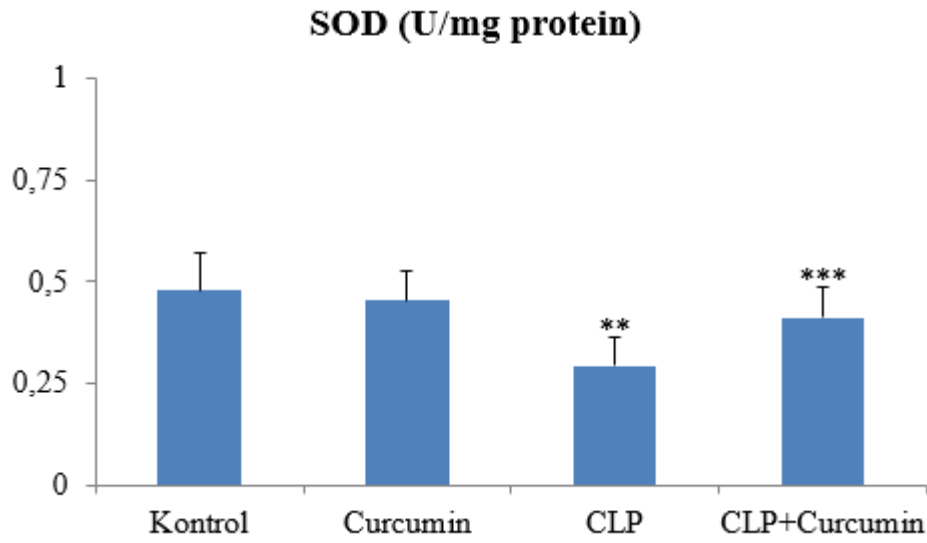
Şekil 4.2. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda MDA seviyeleri (**p < 0.05; Kontrol grubuna göre, **p < 0.01; Curcumin grubuna göre, ***p < 0.05; CLP grubuna göre, ****p > 0.05; Kontrol ve Curcumin gruplarına göre)



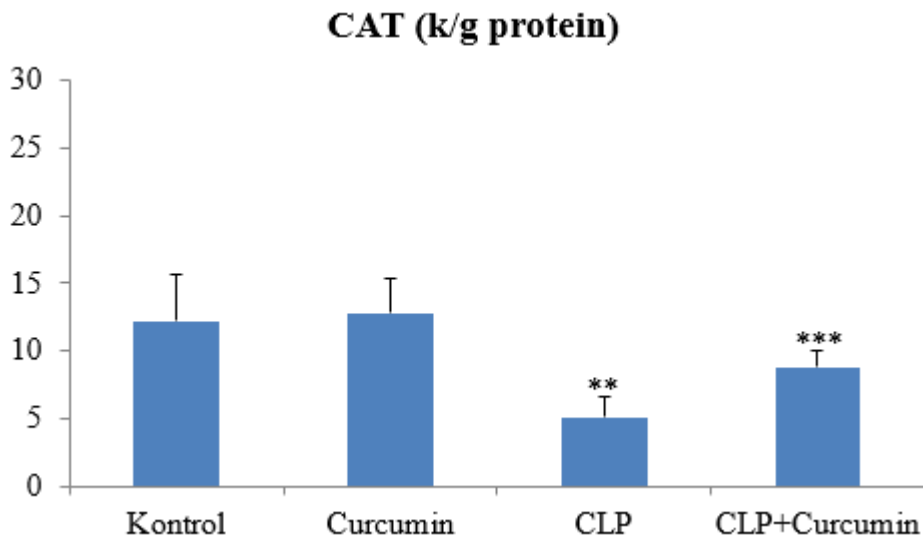
Şekil 4.3. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda MPO seviyeleri (**p < 0.001; Kontrol grubuna göre, **p < 0.001; Cur grubuna göre, ***p < 0.001; CLP grubuna göre, ***p > 0.001; Kontrol grubuna göre, ***p > 0.01; Cur grubuna göre)



Şekil 4.4. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda NO seviyeleri (**p < 0.001; Kontrol ve Cur gruplarına göre, ***p < 0.001; CLP grubuna göre, ***p < 0.01; Kontrol grubuna göre, ***p > 0.05; Cur grubuna göre)



Şekil 4.5. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda SOD seviyeleri (**p < 0.001; Kontrol grubuna göre, **p < 0.01; Cur grubuna göre, ***p < 0.05; CLP grubuna göre, *** p > 0.05; Kontrol ve Cur gruplarına göre)



Şekil 4.6. Kontrol ve deney grupları akciğer dokusunda CAT seviyeleri (p < 0.001; Kontrol ve Cur gruplarına göre, ***p < 0.05; CLP grubuna göre, ***p < 0.05; Kontrol ve Cur gruplarına göre)

5. TARTIŞMA

Sepsis, bir ya da daha çok organla bağlantılı olan enfeksiyona karşı bir sistemik inflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır (Vachharajani, 2008). Bakteriyal, fungal veya viral organizma kaynaklı enfeksiyonlar sepsisin en sık görülen nedenleridir ve en sık görülen yerler akciğerler, karın içi ve üriner sistemdir (Hoesel ve Ward, 2004). Sepsis hastalarının bağışıklık sistemi ciddi bir şekilde tehlikeydedir ve baskılanmış durumdadır (Weigand ve diğerleri, 2004). Sepsis insidans ve mortalite oranlarının endişe verici bir şekilde her yıl arttığı beyan edilmektedir (Coelho ve Martins, 2012). Sepsisli hastaların yönetimi büyük ölçüde enfeksiyon kaynağının tedavi edilmesi veya yok edilmesine, uygun antimikrobiyal ajanların kullanılmasına, hemodinamik ve diğer destekleyici önlemlerin alınmasına dayanmaktadır (Marik ve Varon, 2001).

Son zamanlarda, sağlıkla ilgili amaçlar için doğal gıdalardan veya besinsel biyoaktif bileşenlerden elde edilen antioksidan ve antiinflamatuvar ürün tüketiminde ve bunlara olan ilgede giderek olumlu bir artış gözlenmektedir (Lu ve Yen, 2015). Curcumin zerdeçal baharatından elde edilen, Hint mutfağında köri tozunda yaygın olarak kullanılan sarı renkli bir maddedir. Curcuminin potansiyel olarak antioksidan ve antiinflamatuvar bir ajan olduğu düşünülmekte ve 4000 yıldan fazla bir süredir Asya tıbbında yaraların, tümörlerin ve inflamatuvar durumların tedavisinde kullanılmaktadır (Jain, Rains ve Jones, 2006; Seehofer ve diğerleri, 2010). Curcuminin reaktif türlerle direkt olarak reaksiyona girmesi ve çeşitli sitoprotektif ve antioksidan proteinlerin artışı sağlaması nedeniyle iki fonksiyonlu bir antioksidan olduğu bildirilmiştir (Trujillo ve diğerleri, 2015). Curcuminin antioksidan etkilerinin hücresel iltihaplanmanın hafifletilmesinde merkezi bir rol oynadığı kabul edilmektedir (Lu ve Yen, 2015).

Bu bilgiler doğrultusunda planlanan bu çalışmada sepsis oluşturulmuş ratlarda curcuminin akciğer dokusundaki antioksidan ve antiinflamatuvar etkisini belirlemek amaçlanmıştır. Akciğer MDA ($p<0,05$, $p<0,01$), MPO ($p<0,001$, $p<0,001$) ve NO ($p<0,001$, $p<0,001$) seviyelerinde kontrol ve curcumin gruplarına oranla CLP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olduğu gözlenmiştir. CLP+Curcumin grubunun MDA ($p<0,05$), MPO ($p<0,001$) ve NO ($p<0,001$) seviyelerinde curcumin verilmeyen CLP grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük olduğu görülmüştür (Şekil 4.2, 4.3, 4.4). Bununla birlikte SOD ($p<0,001$, $p<0,01$) ve CAT ($p<0,001$, $p<0,001$) seviyeleri

değerlendirildiğinde kontrol ve curcumin gruplarına oranla CLP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük olduğu gözlenmiştir. CLP+Curcumin grubunun SOD ($p<0,05$) ve CAT ($p<0,05$) seviyeleri curcumin verilmeyen CLP grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olduğu görülmüştür (Şekil 4.5, 4.6).

Curcuminin, ratlarda sepsis ile uyarılmış akut akciğer yaralanmasına karşı etkisinin incelendiği bir çalışmada, ratlar; sham, CLP, CLP+ taşıyıcı solüsyon, CLP+ 50 mg/kg Cur (Low Dose Cur (L-Cur)) ve CLP+ 200 mg/kg Cur (High Dose Cur (H-Cur)) olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır ($n=20$). Cur, cerrahi girişimden 2 ve 12 saat sonra intraperitoneal olarak uygulanmıştır. CLP ile sepsis oluşturulmuş grupta MDA ve MPO aktivitesinde artış gözlenirken, L-Cur ve H-Cur gruplarında CLP grubuna kıyasla MDA ve MPO seviyeleri anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$ ve $p<0,01$). Bununla birlikte CLP ile birlikte SOD aktivitesi azalırken, iki curcumin tedavi grubunda da azalan aktivitede anlamlı düzeyde bir düzelme gözlenmiştir ($p<0,05$ ve $p<0,01$) (Xiao, Yang, Sun ve Sun, 2012). Elde edilen sonuçlar çalışmamız ile paralellik göstermektedir. Bununla birlikte curcuminin farklı uygulama şekilleri olan intraperitoneal ve oral uygulamalarda ortalama olarak benzer doz kullanımının benzer sonuçlar verdiği dikkat çekmektedir (Yılmaz Savcun ve diğerleri, 2015; Yang, Wu, Li ve You, 2013; Ahmida, 2012; Alghasham, Salem ve Meki, 2013; Farombi ve Ekor, 2006).

Yapılan başka bir çalışmada Wistar Albino ratlarda sepsis kaynaklı kronik akciğer hasarına karşı curcuminin etkisi incelenmiştir. Gruplar; sham, CLP, CLP+Cur (50 mg/kg) ve CLP+Cur (100 mg/kg) şeklinde oluşturulmuştur ($n=6$). Curcumin 45 gün boyunca oral yolla verilmiştir. Çalışma sonucunda; CLP grubunda MPO enzim aktivitesi önemli ölçüde artarken, curcumin tedavisi, MPO enzim aktivitesini %26,32 (50 mg/kg cur) ve %63,16 (100 mg/kg cur) oranında azaltmıştır ($p<0,05$). MDA içeriği, akciğer dokusundaki lipid peroksidasyon düzeyini belirtmektedir. CLP grubunda MDA içeriği önemli ölçüde artarken, curcumin tedavisi ile birlikte lipid peroksidasyonu 50 mg/kg ve 100 mg/kg gruplarında sırasıyla %25 ve %39,28 oranında azalmıştır ($p<0,05$). Bununla birlikte CLP grubunda SOD aktivitesi önemli ölçüde azalırken, curcumin tedavisi ile birlikte SOD aktivitesi 50 mg/kg ve 100 mg/kg gruplarında sırasıyla %34,48 ve %110 oranında artmıştır ($p<0,05$) (Liu, Yang, Liu, Sui ve Li, 2016). Zhong ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada, farelerde liposakkarit uygulaması ile sepsis ve karaciğer yetmezliği oluşturmuşlardır. Kontrol, LPS, LPS+Cur (20 mg/kg), LPS+Cur (40 mg/kg) ve LPS+Cur (80 mg/kg) şeklinde 5 grup ($n=10$)

oluşturulmuştur. Curcumin LPS uygulamasından önceki 4 hafta boyunca oral yolla verilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; LPS grubunda kontrol grubuna göre SOD ($p<0,001$) ve CAT ($p<0,05$) aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Curcumin 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarda SOD aktivitesini $p<0,001$ ile iyileştirmiştir. CAT aktivitesinde ise 40 mg/kg ($p<0,05$) ve 80 mg/kg ($p<0,01$) dozlarda iyileşme görülmüştür. Bununla birlikte LPS ile uyarılmış farelerde NO seviyesi yükselirken, 40 mg/kg ($p<0,01$) ve 80 mg/kg ($p<0,001$) gruplarında anlamlı düzeyde bir azalma olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda curcuminin doza bağımlı etkisi incelenirken, yapılan bu çalışmada tek doz curcumin uygulaması yapılmıştır.

Safra tıkanıklığı olan ratların karaciğer ve böbreklerinde curcuminin oksidatif stres parametrelerine karşı koruyucu etkisinin incelendiği bir araştırmada, ratlar; sham, safra kanalı ligasyonu (BDL) ve safra kanalı ligasyonu + cur (BDL + Cur, 50 mg/kg/gün) olmak üzere 3 gruba ($n=8$) ayrılmıştır. Curcumin, cerrahi sonrası 14 gün boyunca intragastrik yolla uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; hepatik ve renal MDA ve NO seviyeleri sham grubuna kıyasla BDL grubunda önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak MDA seviyesi BDL+ Cur grubunda BDL grubuna göre anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca hepatik ve renal SOD ve CAT enzim aktiviteleri BDL grubunda sham grubuna kıyasla önemli ölçüde düşük bulunurken ($p<0,05$), BDL+ Cur grubunda BDL grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Tokaç ve diğerleri, 2013). Alghasham, Salem ve Meki'nin 2013 yılında yaptıkları çalışmada, kadmiyum (Cd) eklenmiş suyun ratlarda oksidatif durum parametrelerine olan etkisi ve curcuminin koruyucu etkisi incelemiştir. Gruplar ($n=10$); kontrol, Cur (50mg/kg), Cd ve Cd+Cur (50 mg/kg) şeklinde oluşturulmuş ve curcumin 6 hafta boyunca oral yolla verilmiştir. Cd grubunda kontrol gruplarına kıyasla plazma SOD ve CAT aktivitelerinde önemli bir azalma gözlenirken, MDA seviyesinde azalma olduğu belirlenmiştir. Cd+ Cur grubunda ise Cur grubuna göre SOD ve CAT seviyelerinde anlamlı bir yükseklik ($p<0,05$) ve MDA seviyesinde anlamlı bir düşüklük ($p<0,05$) bulunmuştur. Çalışmalarda, yapılan bu çalışmada kullanılan curcumine (100 mg/kg) kıyasla daha düşük dozda curcumin (50 mg/kg) kullanılmasına rağmen benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum düşük doz kullanılmasına rağmen curcuminin daha uzun sürelerde uygulanması ile ilişkilendirilebilir.

Rat miyokardında izoprenalin kaynaklı miyokard iskemisine karşı curcuminin koruyucu etkisini araştırmak üzere tasarlanan bir çalışmada, hayvanlar; Salin Kontrol, Cur Kontrol,

izoprenalin (ISO), Cur (15 mg/kg)+ ISO (pre-tedavi (PRT)), Cur (15 mg/kg)+ ISO+ Cur (15 mg/kg) (pre- ve post tedavi (PPT)) ve ISO+ Cur (15 mg/kg) (post-tedavi (POT)) olmak üzere 6 gruba (n=6) ayrılmıştır. Curcumin ISO uygulamasından 30 dk önce (PRT), 30 dk sonra (POT) veya 30 dk önce 30 dk sonra (PPT) oral yolla verilmiştir. Kalp dokusundaki SOD ve CAT aktivitesi kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %52 ve %30 oranında azalmıştır. PPT bu enzimlerin aktivitelerini sırasıyla %90 ve %35 oranında artırmıştır. Diğer taraftan PRT ve POT gruplarında enzimatik antioksidan enzim seviyelerinde anlamlı bir artış görülmemiştir (Manikandan ve diğerleri, 2004). Çalışmamızda 100 mg/kg curcuminin pre tedavisi ile birlikte anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmada ise 15 mg/kg curcuminin pre tedavisi ile anlamlı bir sonuç elde edilmezken pre ve post tedavisi anlamlı sonuçlar vermiştir. Yapılan bu çalışmayla kıyaslandığında daha düşük dozda curcumin uygulanmasına rağmen pre tedavinin yanında post tedavinin de yapılmasının anlamlı sonuç elde edilmesinde etkili olduğu düşünülebilir.

Başka bir çalışmada ise bağırsak iskemi/reperfüzyonu (I/R) ile uyarılarak akut akciğer hasarı oluşturulmuş ve ratlar; sham, I/R ve I/R+ Cur (100 mg/kg) olmak üzere 3 gruba (n=10) ayrılmıştır. Curcumin I/R'dan 3 gün önce başlanarak gastrik gavaj yoluyla verilmiştir. I/R ile azalmış olan akciğer doku SOD seviyesinin curcumin tedavisi ile birlikte anlamlı ölçüde arttığı ($p<0,01$) ve artmış olan MDA seviyesinin anlamlı ölçüde azaldığı ($p<0,01$) belirtilmiştir (Guzel, Kanter, Guzel, Yucel, ve Erboga, 2012). Çalışmanın sonucu bu çalışma ile benzer niteliktedir.

Bağırsak iskemi reperfüzyon hasarıyla uyarılan akciğer lezyonu üzerine curcuminin antiinflamatuvar ve antioksidan etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, gruplar (n=6); sham, I/R, I/R+ Cur (1 mg/kg) ve I/R+ Cur (5 mg/kg) şeklinde oluşturulmuştur. Curcumin sol femoral venden, cerrahi oklüzyondan 50 dk sonra uygulanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre; sham grubuna kıyasla I/R grubunda SOD seviyesi anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,01$). SOD seviyesi I/R grubuna kıyasla 1 mg/kg grubunda ($p<0,01$) ve 5 mg/kg grubunda ($p<0,05$) anlamlı ölçüde daha yüksek bulunmuştur. 1 mg/kg ve 5 mg/kg grupları arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte I/R grubunda artmış olan MPO seviyesi, 5 mg/kg grubunda anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$). 1 mg/kg ve 5 mg/kg grupları arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Fan ve diğerleri, 2015). Çalışmamız ile kıyaslandığında kullanılan curcumin miktarları arasında büyük bir farkın olması curcuminin uygulanma şeklinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Oral yolla daha

yüksek miktarlarda curcumin kullanılırken ven uygulamasında kullanılan curcumin miktarının çok daha az olması curcuminin biyoyararlılığının düşük olması ile açıklanabilir.

iNOS, inflamasyon ile uyarılan, birçok hücre tipinde eksprese edilen ve NO üretimini katalize eden bir enzimdir (Ying Chan, Huang, Fenton ve Fong, 1998). NO sentezinde hız sınırlayıcı bir enzim olan iNOS, inflamatuvar hastalıklarla yakından ilişkilidir (Zhang, Yang, Zhao, An, 2015).

Camacho-Barquero ve arkadaşları 2007'de yaptıkları çalışmada, ratlarda trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) uygulaması ile deneysel kronik ülseratif modeli oluşturmuşlardır. Gruplar (n=8-14); sham, TNBS, TNBS+ Cur (50 mg/kg) ve TNBS+Cur (100 mg/kg) şeklindedir. Curcumin TNBS'den 24 saat sonra başlanarak 2 hafta boyunca oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Kolonun TNBS'ye maruz kalması iNOS'un kuvvetli ekspresyonuna neden olurken, curcumin ile tedavi edilen gruplarda TNBS kontrol grubuna göre iNOS ekspresyonu anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0,001$). Yapılan bir başka çalışmada balık yağı+ etanol (FE) diyeti uygulamasıyla ratlarda alkolik karaciğer hastalığı (ALD) oluşturulmuştur. Çalışma grupları (n=6); balık yağı+ etanol (FE), balık yağı+ dekstrozu (FD), FE+ Cur (75 mg/kg) ve FD+ Cur (75 mg/kg) şeklinde oluşturulmuştur. Curcumin intragastrik infüzyon ile birlikte 4 hafta boyunca uygulanmıştır. FE ile beslenen ratlarda iNOS uyarılması ile de karakterize olan karaciğer yağlanması, nekroz ve inflamasyon gelişmiştir. Yapılan RT-PCR analizine göre iNOS sadece FE grubunda tespit edilmiş ve tedavi gruplarında gözlenmemiştir (Nanji ve diğerleri, 2003).

Yapılan bu çalışmada ise; kontrol ve curcumin grubundaki ratların akciğer kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; alveolar ve interstisyel alanda çok az sayıda iNOS pozitif hücreler görülmüştür. CLP grubunda ise alveolar ve interstisyel alandaki iNOS pozitif hücrelerin sayısının oldukça yüksek olduğu ve iNOS pozitif hücrelerin bazı alanlarda kümeler meydana getirdiği gözlenmiştir. CLP+Curcumin grubunda ise CLP grubuna göre iNOS pozitif hücrelerin sayısı belirgin olarak düşük görülmüştür ($p<0,001$) (Şekil 4.1). Bulgular yapılan araştırmalarda elde edilen sonuçları destekler niteliktedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın elde edilen sonuçları aşağıda özetlenmiştir;

1. Kontrol ve curcumin grubunda akciğer kesitlerindeki alveolar ve interstisyel alanda çok az sayıda iNOS pozitif hücreler görülmüştür.
2. CLP grubunda alveolar ve interstisyel alandaki iNOS pozitif hücrelerin sayısının oldukça yüksek olduğu ve iNOS pozitif hücrelerin bazı alanlarda kümeler meydana getirdiği gözlenmiştir.
3. CLP+Curcumin grubunda CLP grubuna göre iNOS pozitif hücrelerin sayısı belirgin olarak düşük görülmüştür ($p<0,05$).
4. Akciğer MDA ($p<0,05$, $p<0,01$), MPO ($p<0,001$, $p<0,001$) ve NO ($p<0,001$, $p<0,001$) seviyelerinde kontrol ve curcumin gruplarına oranla CLP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olduğu bulunmuştur.
5. CLP+Curcumin grubunun MDA ($p<0,05$), MPO ($p<0,001$) ve NO ($p<0,001$) seviyelerinde curcumin verilmeyen CLP grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük olduğu görülmüştür.
6. SOD ($p<0,001$, $p<0,01$) ve CAT ($p<0,001$, $p<0,001$) seviyeleri değerlendirildiğinde kontrol ve curcumin gruplarına oranla CLP grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklük olduğu bulunmuştur.
7. CLP+Curcumin grubunun SOD ($p<0,05$) ve CAT ($p<0,05$) seviyeleri curcumin verilmeyen CLP grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olduğu görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar, sepsis modeli oluşturulmuş ratlarda curcumin takviyesinin akciğer dokusunda serbest radikal seviyesini azaltarak ve antioksidan enzim seviyelerini artırarak antioksidan bir özellik sergilerken, iNOS enzim ekspresyonunu baskılayarak antiinflamatuvar bir özellik sergilediğini göstermiştir. Bu çalışmanın verileri

ışığında curcuminin sepsis yönetiminde etkili ve güvenilir bir hastalık önleyici ve tedavi edici bir ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aebi, H. (1974). *Catalase In: Bergmeyer U, ed. Methods of enzymatic analysis*. New York: London Academic Press, 673-677.
- Aggarwal, B. B., Harikumar, K. B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(1), 40-59.
- Ahmida, M. H. S. Protective role of curcumin in nephrotoxic oxidative damage induced by vancomycin in rats. (2012). *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64, 149-153.
- Akpolat, M., Topçu Tarladaçalışır Y., Uz, Y.H., Sapmaz Metin, M. ve Kızılay, G. (2010). Kanser tedavisinde curcuminin yeri. *Yeni Tıp Dergisi*, 27, 142-147.
- Aktan, F. (2004). iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sciences*, 75, 639-653.
- Alghasham, A., Salem, T.A. and Meki, A.R.M. (2013). Effect of cadmium-polluted water on plasma levels of tumor necrosis factor- α , interleukin-6 and oxidative status biomarkers in rats: Protective effect of curcumin. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 160-164.
- Al-Saidya, A. M. and Ismail, H. K. (2013). Histopathological Study of Sepsis Experimentally Induced by Cecal Ligation and Puncture in Rats. *Bas.j.vet.Res.*, 12(2), 35-46.
- Anand, V., Gulati, M., Rastogi, P., Dixit, J., Khan, M. A. and Lal, N. (2012). 'Curcumin'a therapeutic approach: A review. *Spatula DD-Peer Reviewed Journal on Complementary Medicine and Drug Discovery*, 2(2), 117-125.
- Andrades, M., Ritter, C., Moreira, J. C. F. and Dal-Pizzol, F. (2005). Oxidative parameters differences during non-lethal and lethal sepsis development. *Journal of Surgical Research*, 125, 68-72.
- Angus, D. C., Poll, T. (2013). Severe sepsis and septic shock. *The New England Journal of Medicine*, 369(9), 840-851.
- Annane, D., Bellissant, E. and Cavaillon, J. M. (2005). Septic shock. *Lancet*, 365, 63-78.
- Aqeel, S., Xiaoxuan, C., Rongqian, W., Weifeng, D., Mian, Z., Maowen, H., Hank, S. H. and Ping, W. (2006). The anti-inflammatory effect of curcumin in an experimental model of sepsis is mediated by up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Critical Care Medicine*, 34(7), 1874-1882.
- Araujo, C. A. C., Leon, L. L. (2001). Biological activities of *Curcuma longa* L. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(5), 723-728.
- Awad, S. S. (2003). State-of-the-art therapy for severe sepsis and multisystem organ dysfunction. *The American Journal of Surgery*, 186(5A), 23-30.

- Aydemir, B. ve Karadağ Sarı, E. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(2), 56-60.
- Aygün, G. (2002). *Sepsis ve septik şok*. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyumunda sunuldu, İstanbul.
- Aygün, G. (2006). *Sepsis tanısı*. Güncel Bilgiler Işığında Sepsis Sempozyumunda sunuldu, İstanbul.
- Balk, R. A. (2004). Optimum treatment of severe sepsis and septic shock: evidence in support of the recommendations. *Dis Mon*, 50,163-213.
- Barzegar, A. (2012). The role of electron-transfer and H-atom donation on the superb antioxidant activity and free radical reaction of curcumin. *Food Chemistry*, 135(3), 1369-1376..
- Berger, M. M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24, 172-183.
- Bonetto, A., Penna, F., Muscaritoli, M., Minero, V. G., Fanelli, F. R., Baccino, F. M. and Costelli, P. (2009). Are antioxidants useful for treating skeletal muscle atrophy? *Free Radical Biology & Medicine*, 47, 906-916.
- Buonocore, G., Groenendaal, F. (2007). Anti-oxidant strategies. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 12, 287-295.
- Büke, Ç. (2014, 11-13 Nisan). *Sepsiste tanımlar olgulara klinik yaklaşım ve antimikrobiyal tedavi*. Acilde Enfeksiyon Hastalıklarına Yaklaşım Sempozyumunda sunuldu, İzmir.
- Callaghan, A. O., Redmond, H. P. (2006). Treatment of sepsis: Current status of clinical immunotherapy. *Surgeon*, 4(6), 355-361.
- Camacho-Barquero, L., Villegas, I., Sánchez-Calvo, J.M., Talero, E., Sánchez-Fidalgo, S., Motilva, V. and Lastra, C.A. (2007). Curcumin, a Curcuma longa constituent, acts on MAPK p38 pathway modulating COX-2 and iNOS expression in chronic experimental colitis. *International Immunopharmacology*, 7, 333-342.
- Cernadas, M. R., de Miguel, L. S., García-Durán, M., González-Fernández, F., Millás, I., Montón, M., Rodrigo, J., Rico, L., Fernandez, P., Frutos, T., Guerra, J., Caramelo, C., Casado, S. and Lopez-Farre, A. and Rodríguez-Feo, J. A. (1998). Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats. *Circulation Research*, 83(3), 279-286.
- Chainani-Wu. (2003). Safety and Anti-Inflammatory Activity of Curcumin: A Component of Tumeric (Curcuma longa). *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9(1), 161-168.
- Cheng, A.L., Hsu, C.H., Lin, J.K., Hsu, M.M., Ho, Y.F., Shen, T.S., Ko, J.Y., Lin, J.T., Lin, B.R., Wu, M.S., Yu, H.S., Jee, S.H., Chen, G.S., Chen, T.M., Chen, C.A., Lai, M.K., Pu, Y.S., Pan, M.H., Wang, Y.J., Tsai, C.C., Hsieh, C.Y. (2001). Phase I Clinical Trial of Curcumin, a Chemopreventive Agent, in Patients with High-risk or Pre-malignant Lesions. *Anticancer Research*, 21, 2895-2900.

- Coelho, F. R., Martins, J. O. (2012). Diagnostic methods in sepsis: the need of speed. *Rev Assoc Med Bras*, 58(4), 498-504.
- Cohen, J. (2009). Sepsis. *Medicine*, 37(10), 562-565.
- Coleman, N. A. (2001). Antioxidants in critical care medicine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 183-188.
- Cortas, N. K., Wakid, N. W. (1990). Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clinical Chemistry*, 36(8), 1440-1443.
- Cömert, M., Dinç, H. (2014). Şifalı Bitkilerin Gençler Tarafından Bilinirliği. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 2(3), 23-27.
- Craig, W. J. (1999). Health-promoting properties of common herbs. *American Society for Clinical Nutrition*, 70, 491-499.
- Crimi, E., Sica, V., Williams-Ignarro, S., Zhang, H., Slutsky, A. S., Ignarro, L. J. and Napoli, C. (2006). The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radical Biology & Medicine*, 40, 398-406.
- Çöl, R., Durdun, Z. (2007). Sepsis, lökositler, sitokinler ve disemine intravasküler koagülasyon. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 23(1), 97-106.
- Daverey, A., Agrawal, S. K. (2016). Curcumin alleviates oxidative stress and mitochondrial dysfunction in astrocytes. *Neuroscience*, 333, 92-103.
- Deaton, C. M., Marlin, D. J. (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(3), 278-291.
- Dejager, L., Pinheiro, I., Dejonckheere, E. and Libert, C. (2011). Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends in Microbiology*, 19(4), 198-208.
- Dellinger, R.P., Levy, M. M., Rhodes, A., Annane, D., Gerlach, H., Opal, S. M., Sevransky, J. E., Sprung, C. L., Douglas, I. S., Jaeschke, R., Osborn, T. M., Nunnally, M. E., Townsend, S. R., Reinhart, K., Kleinpell, R. M., Angus, D. C., Deutschman, C. S., Machado, F. R., Rubenfeld, G. D., Webb, S. A., Beale, R. J., Louis Vincent, J. and Moreno, R. (2012). International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. *Critical Care Medicine*, 41(2), 580-637.
- Derviş, E. (2011). Oral Antioksidanlar. *Dermatoz*, 2(1), 263-267.
- Durak, I., Yurtaslan, Z., Canbolat, O. and Akyol, O. (1993). A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clinica Chimica Acta*, 214, 103-104.
- Eiserich, J. P., Patel, R. P. and O'Donnell, V. B. (1998). Pathophysiology of nitric oxide and related species: Free radical reactions and modification of biomolecules. *Molecular Aspects of Medicine*, 19, 221-357.

- Elay, G., Gündoğan, K., ve Coşkun, R. (2014). Sepsis yönetiminde ne değişti? *Yoğun Bakım Dergisi*, 5, 11-21.
- Emir Çoban, Ö., Patır, B. (2010). Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(2), 7-19.
- Erdoğan, D., Görgün, M., Hatipoğlu M. T. ve Ilgaz, C. (2007). *Özel histoloji*. (İkinci Baskı). Türkiye: Hatiboğlu Yayınevi, 57-66.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2014). Refined exposure assessment for curcumin (E 100). *EFSA Journal*, 12(10), 3876.
- Fan, S. L., Miller, N. S., Lee, J. and Remick, D. G. (2016). Diagnosing sepsis – The role of laboratory medicine. *Clinica Chimica Acta*, 460, 203-210.
- Fan, Z., Yao, J., Li, Y., Hu, X., Shao, H. and Tian, X. (2015). Anti-inflammatory and antioxidant effects of curcumin on acute lung injury in a rodent model of intestinal ischemia reperfusion by inhibiting the pathway of NF-Kb. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(4), 3451-3459.
- Farombi, E. O., and Ekor, M. (2006). Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1443-1448.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
- Fialkow, L., Wang, Y., Downey, G. P. (2007). Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radical Biology & Medicine*, 42,153-164.
- Fielden, J. M. (2007). Sepsis. *The Foundation Years*, 3(2), 76-78.
- Finaud, J., Lac, G. and Filaire, E. (2006). Oxidative Stress Relationship with Exercise and Training. *Sports Medicine*, 36(4), 328-358.
- Förstermann, U., Sessa, W.C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33, 829–837.
- Galley, H. F. (2011). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *British Journal of Anaesthesia*, 107(1), 57-64.
- Galley, H. F., Howdle, P. D., Walker, B. E. and Webster, N. R. (1997). The Effects of Intravenous Antioxidants in Patients with Septic Shock. *Free Radical Biology & Medicine*, 23(5), 768-774.
- Gantner, D. and Mason, C. (2015). Management of severe sepsis. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 16(12), 593-597.
- Garrabou, G., More'n, C., Lopez, S., Tobias, E., Cardellach, F., Miro, O. and Casademont, J. (2012). The effects of sepsis on mitochondria. *The Journal of Infectious Diseases*, 205, 392-400.

- Gartner, L. P. and Hiatt, J. L. (2009). *Renkli Histoloji Atlası* (4. Baskı). (Çev. A. Dağdeviren, F. S. Müftüoğlu, ve G. Karabay). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 235-236.
- Gate, J., Paul, J., Nguyen Ba, G., Tew, K. D. and Tapierol, H. (1999). Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed & Pharmacother*, 53, 169-80.
- Goel, A., Aggarwal, B.B. (2010). Curcumin, the golden spice from Indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs. *Nutrition and Cancer*, 62(7), 919–930.
- Goel, A., Jhurani, S. and Aggarwal, B. B. (2008). Multi-targeted therapy by curcumin: how spicy is it? *Molecular Nutrition & Food Research*, 52, 1010-1030.
- Goel, A., Kunnumakkara A.B. and Aggarwal, B.B. (2008). Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. *Biochemical Pharmacology*, 75, 787-809.
- Goodyear-Bruch, C. and Pierce, J. D. (2002) Oxidative stress in critically ill patients. *American Journal of Critical Care*, 11, 543-551.
- Gur, S., Turgut Balık, D. and Gur, N. (2006). Antimicrobial activities and some fatty acids of turmeric, ginger root and linseed used in the treatment of infectious diseases. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2(4), 439-442.
- Güzel, A., Kanter, M., Aksu, B., Başaran U.N., Yalçın, Ö., Güzel, A., Uzun, H., Konukoğlu, D. and Karasalihoğlu, S. (2009). Preventive effects of curcumin on different aspiration material-induced lung injury in rats. *Pediatric Surgery International*, 25, 83-92.
- Güzel, A., Kanter, M., Güzel, A., Yücel, A. F. and Erboğa, M. (2012). Protective effect of curcumin on acute lung injury induced by intestinal ischaemia/reperfusion. *Toxicology and Industrial Health*, 29(7), 633-642.
- Hammouda, A. el-R., Khalil, M.M. and Salem, A. (1995). Lipid peroxidation products in pleural fluid for separation of transudates and exudates. *Clinical Chemistry*, 41, 1314-1315.
- Hochstadt, A., Meroz, Y. and Landesberg, G. (2011). Myocardial dysfunction in severe sepsis and septic shock: more questions than answers? *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 25(3), 526-535.
- Hoesel, L. M. and Ward, P. A. (2004). Mechanisms of inflammatory response syndrome in sepsis. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms Immunological diseases*, 1(3), 345-350.
- Hubbard, W. J., Choudhry, M., Schwacha, M. G., Kerby, J. D., Rue III, L. W., Bland, K. I. and Chaudry, I. H. (2005). Cecal Ligation and Puncture. *Shock*, 24(1), 52-57.
- Huttunen, R. and Aittoniemi, J. (2011). New concepts in the pathogenesis, diagnosis and treatment of bacteremia and sepsis. *Journal of Infection*, 63, 407-419.

- Ireson, C.R., Jones, D.J.L., Orr, S., Coughtrie, M.W.H., Boocock, D.J., Williams, M.L., Farmer, P.B., Steward, W.P. and Gescher, A.J. (2002). Metabolism of the Cancer Chemopreventive Agent Curcumin in Human and Rat Intestine. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 11, 105-111.
- Iskander, K. N., Osuchowski, M. F., Stearns-Kurosawa, D. J., Kurosawa, S., Stepien, D., Valentine, C. and Remick, D., G. (2013). Sepsis: Multiple Abnormalities, Heterogeneous Responses, and Evolving Understanding. *Physiological Reviews*, 93, 1247-1288.
- İnternet: Zerdeçal (Curcuma Longa). (2015). *Zerdeçal nedir?* URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.zerdecal.org%2Fzerdecal-curcuma-longa.php&date=2017-03-12>, Son Erişim Tarihi: 17.12.2015.
- Jacob, A., Wu, R., Zhou, M. and Wang, P. (2007). Mechanism of the Anti-inflammatory Effect of Curcumin: PPAR- γ Activation. *PPAR Research*, 2007, 1-5.
- Jagetia, G. C. and Aggarwal, B. B. (2007). “Spicing Up” of the Immune System by Curcumin. *Journal of Clinical Immunology*, 27(1), 19-35.
- Jain, S. K., Rains, J. and Jones, K. (2006). Effect of curcumin on protein glycosylation, lipid peroxidation, and oxygen radical generation in human red blood cells exposed to high glucose levels. *Free Radical Biology & Medicine*, 41, 92-96.
- Jayaprakasha, G.K., Jagan Mohan Rao L., Sakariah, K.K. (2005). Chemistry and biological activities of C. Longa. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 533-548.
- Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J. and Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology*, 4(5), 1-11.
- Junqueira, L. C. and Carnerio, J. (2009). *Temel Histoloji text & atlas*. (Çev. S. Solakoğlu, ve Y. Aytekin). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 345-359.
- Jurenka, J.S. (2009). Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of Curcuma longa: A Review of Preclinical and Clinical Research. *Alternative Medicine Review*, 14(2), 141-153.
- Kanter, M., Aktas, C., Erboga, M. (2013). Curcumin attenuates testicular damage, apoptotic germ cell death, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Nutr Food Res.*, 57(9), 1578-1585.
- Kanter, M., Şahin, S.H., Başaran, U.N., Ayvaz, S., Aksu, B., Erboğa, M., Çolak, A. (2015). The effect of methylene blue treatment on aspiration pneumonia. *Journal of Surgical Research*, 193(2), 909-919.
- Karaböcüoğlu, M. (2007). yenidoğan sonrası çocuklarda sepsis tanı ve yönetimi. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi*, 5, 86-90.
- Karabulut, H., ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(1), 65-76.

- Kaur, H., Patro, I., Tikoo, K., Sandhir, R. (2015). Curcumin attenuates inflammatory response and cognitive deficits in experimental model of chronic epilepsy. *Neurochemistry International*, 89, 40-50.
- Kleinert, H., Pautz, A., Linker, K. and Schwarz, P.M. (2004). Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *European Journal of Pharmacology*, 500, 255-266.
- Koksal, G. M., Sayilgan, C., Aydin, S., Oz, H. and Uzun, H. (2004). Correlation of plasma and tissue oxidative stresses in intra-abdominal sepsis. *Journal of Surgical Research*, 122, 180-183.
- Kruiddienier, L. and Verspaget, H. W. (2002). Review article: Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous? *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 16, 1997-2015.
- Kumari, A., Tyagi, N., Dash, D. and Singh R. (2015). Intranasal curcumin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Inflammation*, 38(3), 1103-1112.
- Kurt, C. (2006). *Sepsis ile ilişkili tanımlar, epidemiyoloji, insidans ve klinik*. Güncel Bilgiler Işığında Sepsis Sempozyumunda sunuldu, İstanbul.
- Lao, C.D., Ruffin, M.T., Normolle, D., Heath, D.D., Murray, S.I., Bailey, J.M., Boggs, M.E., Crowell, J., Rock, C.L. and Brenner, D.E. (2006). Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6(10), 1-4.
- Latha, B., Babu, M. (2001). The involvement of free radicals in burn injury: A review. *Burns*, 27, 309–317.
- Lechner, M., Lirk, P. and Rieder, J. (2005). Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in tumor biology: The two sides of the same coin. *Seminars in Cancer Biology*, 15, 2779-2289.
- Leitman, I. M. (2012). Curcumin for the prevention of acute lung injury in sepsis: Is it more than the flavor of the month? *Journal of Surgical Research*, 176, 5-7.
- Levy, M. M., Fink, M. P., Marshall, J. C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., Cohen, J., Opal, S. M., Vincent, J. L. and Ramsay, G. (2003). 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Medicine*, 29, 530–538.
- Limón-Pacheco, J., Gonsébat, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*, 674, 137-147.
- Liu, Y.F., Yang, C.W., Liu, H., Sui, S.G. and Li, X.D. (2016). Efficacy and therapeutic potential of curcumin against sepsis induced chronic lung injury in male albino rats. *Journal of Nutrition, Health & Aging*, 1-7.
- Lowes, D. A., Webster, N. R., Murphy, M. P. and Galley, H. F. (2013). Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. *British Journal of Anaesthesia*, 110(3), 472-480.

- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Lu, C. C., Yen, G. C. (2015). Antioxidative and anti-inflammatory activity offunctional foods. *Current Opinion in Food Science*, 2, 1-8.
- Maheshwari, R. K., Singh, A. K., Gaddipati, J. and Srimal, R. C. (2006). Multiple biological activities of curcumin: A short review. *Life Sciences*, 78, 2081-2087.
- Mai, S., Khan, M., Liaw, P. and Fox-Robichaud, A. (2012). *Experimental Sepsis Models*. Azevedo, L. (Ed.) Critical Care and Emergency Medicine "Sepsis - An Ongoing and Significant Challenge", Chapter 2.
- Malinski, T., Taha, Z. (1992). Nitric oxide release from a single cell measured in situ by a porphyrinic-based microsensor. *Nature*, 358, 676-678.
- Manikandan, P., Sumitra, M., Aishwarya, S., Manoharb, B.M., Lokanadamc, B. and Puvanakrishnan, R. (2004). Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36, 1967-1980
- Marik, P. E. and Varon, J. (2001). Sepsis: State of the art. *Disease-a Month*, 47(10), 465-532.
- Matot, I. and Sprung, C. (2001). Definition of sepsis. *Intensive Care Medicine*, 27(1), 3-9.
- Michel, T. and Feron, O. (1997). Perspective series: Nitric oxide and nitric oxide synthases nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *Journal of Clinical Investigation*, 100(9), 2146–2152.
- Miquel, J., Bernd, A., Sempere J. M., Diaz-Alperi, J. and Ramirez, A. (2002). The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 34, 37-46.
- Moon, D.O., Kim, M.O., Lee, H.J., Choi, Y.H., Park, Y.M., Heo, M.S. and Kim, G.Y. (2008). Curcumin attenuates ovalbumin-induced airway inflammation by regulating nitric oxide. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 375, 275-279.
- Morris, S.M. and Billiar, T.R. (1994). New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.*, 29, 829-839.
- Motterlini, R., Foresti, R., Bassi, R. and Green, C. J. (2000). Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 28(8), 1303-1312.
- Mueller, A.R., Platz, K.P., Langrehr, J.M., Hoffman, R.A., Nussler, A.K., Nalesnik, M., Billiar, T.R. and Schraut, W.H. (1994). The effects of administration of nitric oxide inhibitors during small bowel preservation and reperfusion. *Transplantation*, 58, 1309-1316.

- Murakami, K., McGuire, R., Cox, R.A., Jodoin, J.M., Bjertnaes, L.J., Katahira, J., Traber, L.D., Schmalstieg, F.C., Hawkins, H.K., Herndon, D.N., Traber, D.L. (2002). Heparin nebulization attenuates acute lung injury in sepsis following smoke inhalation in sheep. *Shock*, 18(3), 236-241.
- Naito, Y., Chang-il Lee, M., Kato, Y., Nagai, R. and Yonei, Y. (2010). Oxidative stress markers. *Anti-Aging Medicine*, 7(5), 36-44.
- Namas, R., Zamora, R., Namas, R., An, G., Doyle, J., Dick, T. E., Jacono, F. J., Androulakis, I. P., Nieman, G. F., Chang, S., Billiar, T. B., Kellum, J. A., Angus, D. C. and Vodovotz, Y. (2012). Sepsis: Something old, something new, and a systems view. *Journal of Critical Care*, 27, 314.e1–314.e11.
- Nanji, A.A., Jokelainen, K., Tipoe, G.L., Rahemtulla, A., Thomas, P. and Dannenberg, A.J. (2003). Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF- κ B-dependent genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 284, 321-327.
- Nathan, C. (1997). Perspectives series: Nitric oxide and nitric oxide synthases inducible nitric oxide synthase: What difference does it make? *Journal of Clinical Investigation*, 100(10), 2417-2423.
- Nguyen, H. B., Rivers, E. P., Abrahamian, F.M., Moran, G. J., Abraham, E., Trzeciak, S., Huang, D. T., Osborn, T., Stevens, D. and Talan, D. A. (2006). Severe sepsis and septic shock: review of the literature and emergency department management guidelines. *Annals of Emergency Medicine*, 48(1), 28-54.
- Nishikaw, H., Tsutsumi, J. and Kitani, S. (2013). Anti-inflammatory and anti-oxidative effect of curcumin in connective tissue type mast cell. *Journal of Functional Foods*, 5, 763 -772.
- Öber, A., Turgay İzzetoğlu, G. (2006). *Histoloji* (Birinci Baskı). Türkiye: Nobel Yayın Dağıtım, 208-210.
- Öğüt, S. (2014). Doğal antioksidanların önemi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 25-30.
- Özcan, C., Hasanoğlu, A. ve Gülcüler, M. (1996). Sepsis ve inflamasyon mediatörleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 3(4), 374-381.
- Prasad, S., Gupta, S.C., Tyagi, A.K. and Aggarwal, B.B. (2014). Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. *Biotechnology Advances*, 32, 1053-1064.
- Prasad, S., Tyagi, A.K. and Aggarwal, B.B. (2014). Recent Developments in Delivery, Bioavailability, Absorption and Metabolism of Curcumin: the Golden Pigment from Golden Spice. *Cancer Research and Treatment*, 46(1), 2-18.
- Prucha, M., Bellingan, G. and Zazula, R. (2015). Sepsis biomarkers. *Clinica Chimica Acta*, 440, 97-103.

- Raghavan, M. and Marik, P. E. (2006). Management of sepsis during the early “Golden Hours”. *The Journal of Emergency Medicine*, 31(2), 185-199.
- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J., Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*, 436,332-347.
- Rilinger, J. F., Hussain, E. and McBride, M. E. (2014). Adjunctive therapies in sepsis. 15(2), 204-213.
- Roberts, C. K. and Sindhu, K. K. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 84, 705-712.
- Sacca, S. C., Izzotti, A., Rossi, P. and Traverso, C. (2007). Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress. *Experimental Eye Research*, 84, 389-399.
- Sagy, M., Al-Qaqaa, Y. and Kim, P. (2013). Definitions and pathophysiology of sepsis. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*, 43, 260-263.
- Sahebkar, A., Serban, M. C., Ursoniu, S. and Banach, M. (2015). Effect of curcuminoids on oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Functional Foods*, 18, 898-909.
- Schabbauer, G. (2012). Polymicrobial sepsis models: CLP versus CASP. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 9(1), 17-21.
- Scheibmeira, H. D., Christensena, K., Whitakera, S. H., Jegaethesana, J., Clancyb, R. and Pierce, J. D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21, 24-28.
- Schulz, J. B., Lindenau, J., Seyfried, J. and Dichgans, J. (2000). Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *European Journal of Biochemistry*, 267, 4904-4911.
- Seehofer, D., Schirmeier, A., Bengmark, S., Ria Cho, S.Y., Koch, M., Lederer, A., Rayes, N., Menger, M.D., Neuhaus, P. and Nussler, A.K. (2010). Curcumin Attenuates Oxidative Stress and Inflammatory Response in the Early Phase after Partial Hepatectomy with Simultaneous Intraabdominal Infection in Rats. *Journal of Surgical Research*, 159, 497-502.
- Seydanoğlu, A., Gül, M., Erdem, S., Cander, B., Ayan, M., Toy, H., Bircan, M. ve Girişgin, S. (2010). Deneyisel sepsis modelinde oksidan-antioksidan sistem ve akciğer histopatolojisi üzerine oktreotid'in doza bağımlı etkileri. *Selçuk Üniversitesi Tıp Dergisi*, 26(3), 90-94.
- Sezer, K., Keskin, M. (2014). Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 28(1), 49-56.
- Sharma, R.A., Euden, S.A., Platton, S.L., Cooke, D.N., Shafayat, A., Hewitt, H.R., Marczylo, T.H., Morgan, B., Hemingway, D., Plummer, S.M., Pirmohamed, M., Gescher, A.J. and Steward, W.P. (2004). Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. *Clinical Cancer Research*, 10, 6847-6854.

- Sharma, R.A., Gescher, A.J., Steward, W.P. (2005). Curcumin: The story so far. *European Journal of Cancer*, 41, 1955-1968.
- Shukla, P., Rao, G. M., Pandey, G., Sharma, S., Mittapelly, N., Shegokar, R. and Mishra, P. R. (2014). Therapeutic interventions in sepsis: current and anticipated pharmacological agents. *British Journal of Pharmacology*, 171, 5011-5031.
- Singer, B. H., Newstead, M. W., Zeng, X., Cooke, C. L., Thompson, R. C., Singer, K., Ghantasala, R., Parent, J. M., Murphy, G. G., Iwashyna, T. J. and Standiford, T. J. (2016). Cecal ligation and puncture results in long- term central nervous system myeloid inflammation. *PLoS One*, 11(2), 1-21.
- Sompamit, K., Kukongviriyapan, U., Nakmareong, S., Pannangpetch, P. and Kukongviriyapan, V. (2009). Curcumin improves vascular function and alleviates oxidative stress in non-lethal lipopolysaccharide-induced endotoxaemia in mice. *European Journal of Pharmacology*, 616, 192-199.
- Soskic, S.S., Dobutovic, B.D., Sudar, E.M., Obradovic, M.M., Nikolic, D.M., Djordjevic, J.D., Radak, D.J., Mikhailidis, D.P. and Esma R. Isenovic. (2011). Regulation of inducible nitric oxide synthase (inos) and its potential role in insulin resistance, diabetes and heart failure. *The Open Cardiovascular Medicine Journal*, 5, 153-163.
- Stocker, R. (2016). Antioxidant defenses in human blood plasma and extra-cellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 595, 136-139.
- Sun, Y., Oberley, L.W. and Ying, L. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34, 497-500.
- Thiemermann, C. and William Harvey, W. (2006). The spice of life: Curcumin reduces the mortality associated with experimental sepsis. *Critical Care Medicine*, 34(7), 2009-2011.
- Tokaç, M., Taner, G., Aydın, S., Özkardeş, A.B., Dündar, H.Z., Taşlıpınar, M.Y., Arıkök, A.T., Kılıç, M., Başaran, A.A. and Başaran, N. (2013). Protective effects of curcumin against oxidative stress parameters and DNA damage in the livers and kidneys of rats with biliary obstruction. *Food and Chemical Toxicology*, 61, 28-35.
- Toscano, M. G., Doina Ganeal, D. and Gameroi A. M. (2011). Cecal ligation puncture procedure. *Journal of Visualized Experiments*, 51(e2860), 1-5.
- Trujillo, J., Chirino, Y. I., Molina-Jijón, E., Andérica-Romero, A. C., Tapia, E., Pedraza-Chaverri, J. (2015). Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings. *Redox Biology*, 448-456.
- Tsokos, M. (2003). Immunohistochemical detection of sepsis-induced lung injury in human autopsy material. *Legal Medicine*, 5, 73-86.
- Tsokos, M. (2007). Postmortem diagnosis of sepsis. *Forensic Science International*, 165, 155-164.
- Ural Gürkan, Ö., ve Çobanlı, B. (1999). Sepsis ve septik şok. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 52(1), 41-44.

- Vachharajani, V. (2008). Influence of obesity on sepsis. *Pathophysiology*, 15, 123–134.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M. T. D., Mazura, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncola, J., Izakovic, M. and Mazura, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160,1-40.
- Velioğlu, S. (2000). Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. *Gıda*, 25(3), 167-176.
- Victora, V. M., Rochab, M. and De la Fuente, M. (2004). Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *International Immunopharmacology*, 4, 327-347.
- Vincent, J. L. (2009). Definition of sepsis and non-infectious SIRS. *Sepsis and Non-infectious Systemic Inflammation*.
- Vincent, J. L., Opal, S. M., Marshall, J. C. and Tracey, K. J. (2015). Sepsis definitions: time for change. *Lancet*, 381(9868), 774–775.
- Waly, M. I., Ali, B. H. and Nemmar, A. (2013). Acute effects of diesel exhaust particles and cisplatin on oxidative stress. *Toxicology in Vitro*, 27, 2299-2304.
- Wang, G. J., Wang, H., Zhu, R., Liu, Q., Fei, J. and Wang, S. (2015). Anti-inflammatory activity of curcumin-loaded solid lipid nanoparticles in IL-1b transgenic mice subjected to the lipopolysaccharide-induced sepsis. *Biomaterials*, 53, 475-483.
- Wang, J., Du, X. X., Jiang, H. and Xie, J. X. (2009). Curcumin attenuates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity by anti-oxidation and nuclear factor-kappaB modulation in MES23.5 cells. *Biochemical Pharmacology*, 78, 178-183.
- Ward, P. A. and Bosmann, M. (2012). A historical perspective on sepsis. *The American Journal of Pathology*, 181(1), 2-7.
- Wei, H. and Frenkel, K. (1991). In vivo formation of oxidized DNA bases in tumor promoter-treated mouse skin. *Cancer Research*, 51, 4443-4449.
- Weigand, M. A., Hörner, C., Bardenheuer, H. J. and Bouchon, A. (2004). The systemic inflammatory response syndrome. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 18(3), 455-475.
- Widmaier, E. P., Raff, H. and Strang, K. T. (2010). *Vander insan fizyolojisi* (10. Baskı). (Çev. S. Demirgören). İzmir: İzmir Güven Kitabevi, (Eserin orijinali 1970'de yayınlandı). 478-480.
- Xiao, X., Yang, M., Sun, D. and Sun, S. (2012). Curcumin Protects Against Sepsis-Induced Acute Lung Injury in Rats. *Journal of Surgical Research*, 176, 31-39.
- Xu, L., Li, Z. and Guo, F. (2013). Curcumin improves expression of ghrelin through attenuating oxidative stress in gastric tissues of streptozotocin-induced diabetic gastroparesis rats. *European Journal of Pharmacology*, 718, 219-225.

- Yang, C., Wu, K., Li, S. H., and You, Q. (2013). Protective effect of curcumin against cardiac dysfunction in sepsis rats. *Pharmaceutical Biology*, 51(4), 482-487.
- Yılmaz Savcun, G., Özkan, E., Dulundu, E., Topaloğlu, Ü., Şehirli, A.Ö., Tok, O.E., Ercan, F., ve Şener, G. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin against hepatorenal oxidative injury in an experimental sepsis model in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Dergisi*, 19(6), 507-515.
- Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(2), 143-153.
- Yucel, A.F., Kanter, M., Pergel, A., Erboga, M., Guzel, A. (2011). The role of curcumin on intestinal oxidative stress, cell proliferation and apoptosis after ischemia/reperfusion injury in rats. *J Mol Histol.*, 42(6), 579-587.
- Ying Chan, M.M., Huang, H.I., Fenton, M.R. and Fong, D. (1998). In vivo inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with anti-inflammatory properties. *Biochemical Pharmacology*, 55, 1955-1962.
- Zhang, F., Yang, F., Zhao, H. and An, Y. (2015). Curcumin alleviates lung injury in diabetic rats by inhibiting nuclear factor- κ B pathway. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 42, 956-963.
- Zhong, W., Qian, K., Xiong, J., Ma, K., Wang, A. and Zou, Y. (2016). Curcumin alleviates lipopolysaccharide induced sepsis and liver failure by suppression of oxidative stress-related inflammation via PI3K/AKT and NF- κ B related signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 302-313.

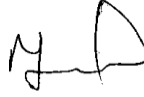
EKLER

EK-1. Etik kurul onayı

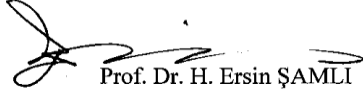
T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Toplam Karar Sayısı
03.03.2016	2016/03	7

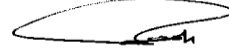
KARAR 6: Proje yürütücülüğünü Doç. Dr. Hilal YILDIRAN'ın yaptığı; Prof. Dr. Ahmet GÜREL, Doç. Dr. Cevat AKTAŞ, Yrd. Doç. Dr. Mustafa ERBOĞA, Araş. Gör. Emel AKTAŞ'ın ortak çalışmaları olan "Sepsis oluşturulmuş ratlarda curcuminin akciğer dokusundaki antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri" konu başlıklı çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda incelenmiş, yapılan inceleme sonucunda çalışma, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.



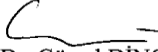
Başkan
 Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL
 Rektör Yardımcısı



Prof. Dr. H. Ersin ŞAMLI
 Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi



Prof. Dr. Sezen ARAT
 Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi



Prof. Dr. Gürsel DİNÇ
 Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi



Prof. Dr. Servet KILIÇ
 Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi

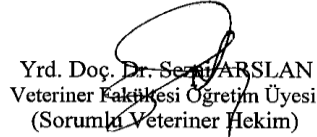
Doç. Dr. Cevat AKTAŞ
 Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
 (KATILMADI)

Yrd. Doç. Dr. Nadim YILMAZER
 Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Dilek MUZ
 Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Murat BEYAZYÜZ
 Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
 (KATILMADI)



Yrd. Doç. Dr. Serap ARSLAN
 Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi
 (Sorumlu Veteriner Hekim)

Mesut KOÇ
 Ziraat Mühendisi
 (KATILMADI)

Halil YAZGI
 Avukat
 (KATILMADI)

EK-2. Deney hayvanları uygulama ve etik kursu katılım sertifikası



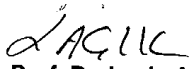
**XVIII. DENEY HAYVANLARI
UYGULAMA VE ETİK KURSU
19-27 EKİM 2015**

KATILIM SERTİFİKASI

Sayın, Emel AKTAŞ

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı ile Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi tarafından, 19-27 Ekim 2015 tarihleri arasında düzenlenen "*Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kurs XVIII*" e katılarak, Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

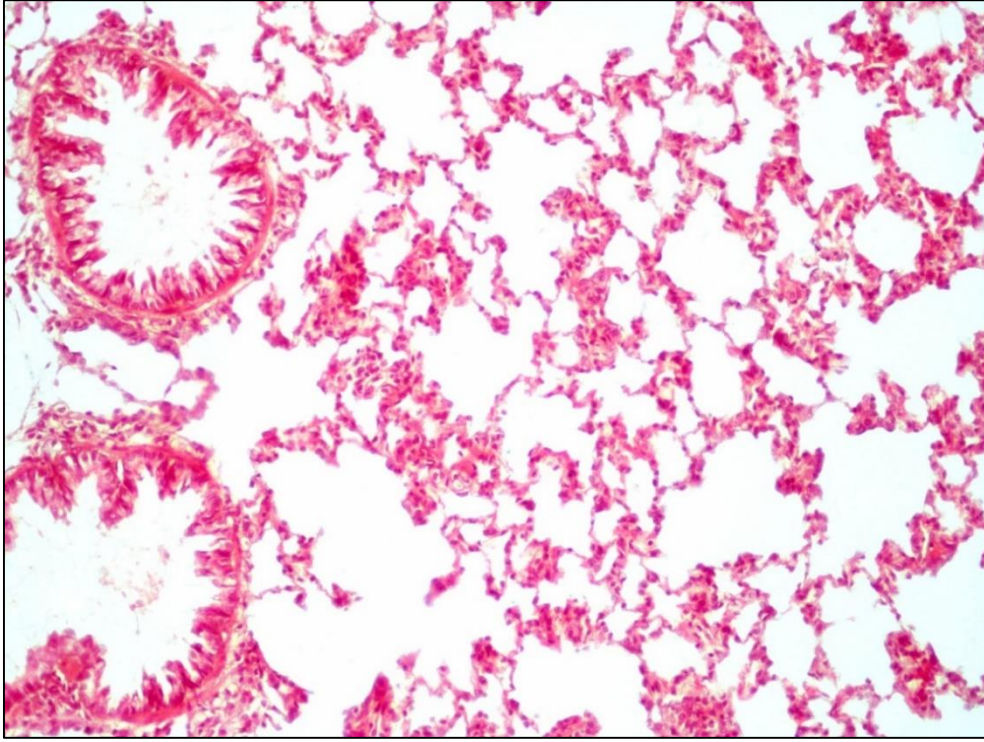

Prof. Dr. Süleyman BÜYÜKBERBER
REKTÖR


Prof. Dr. Leyla AÇIK
ETİK KURUL BAŞKANI

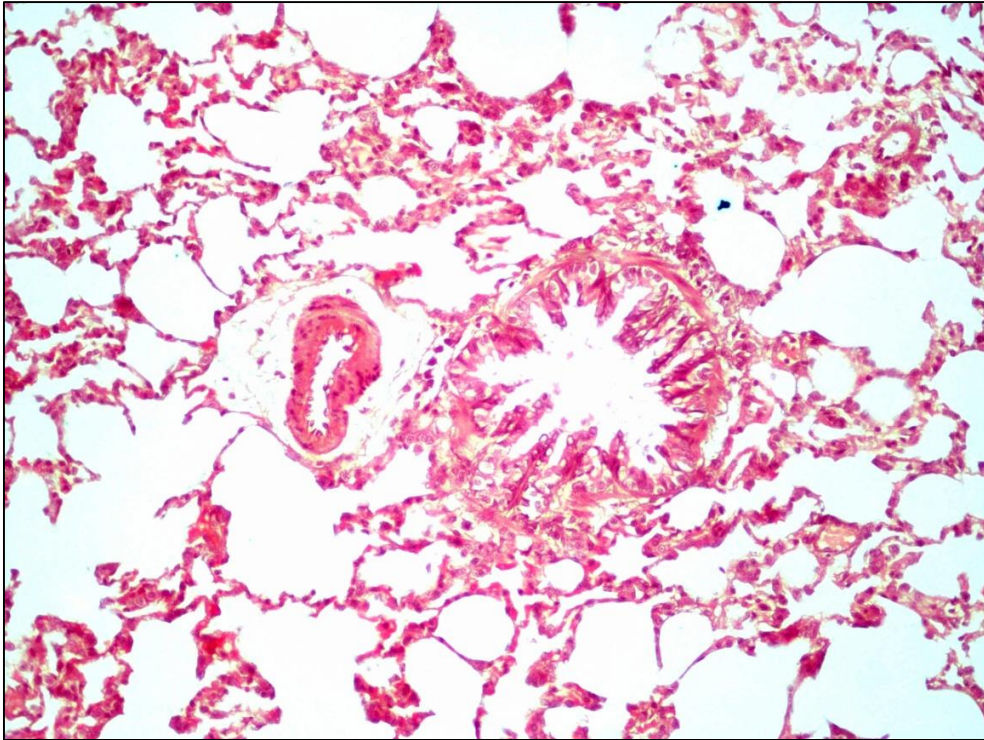

Doç. Dr. Turgay TEKİNAY
MERKEZ MÜDÜRÜ

2015/18-55
Sertifika no:

EK-3. Tüm gruplara ait akciğer dokusunun histolojik görünümü

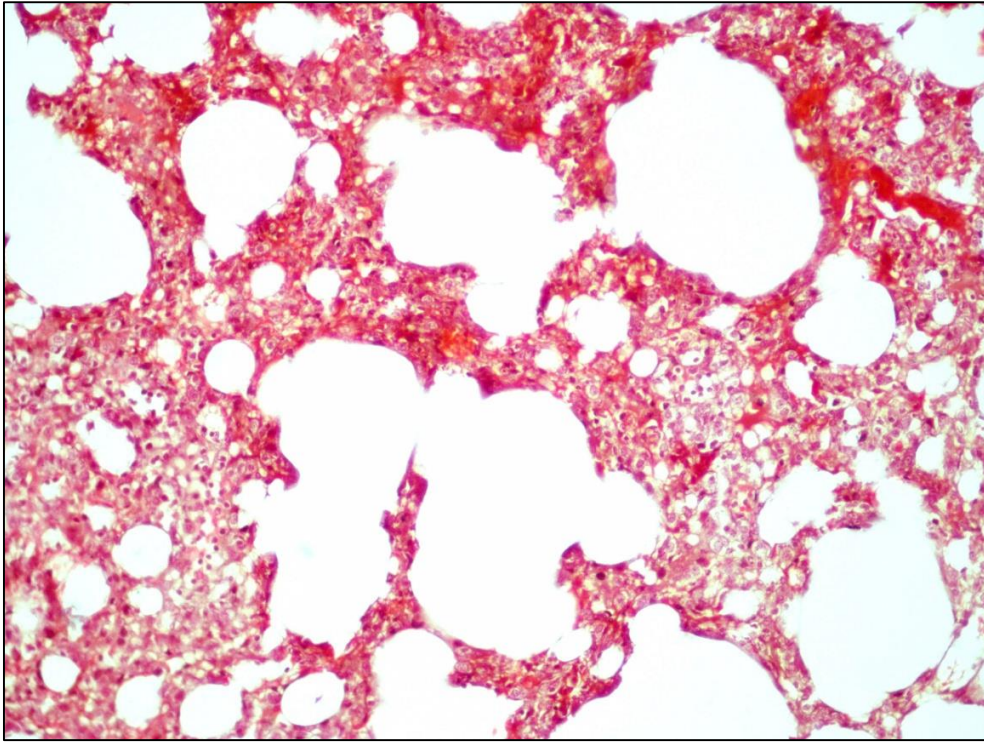


Resim 1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun histolojik görünümü. H+E, X200

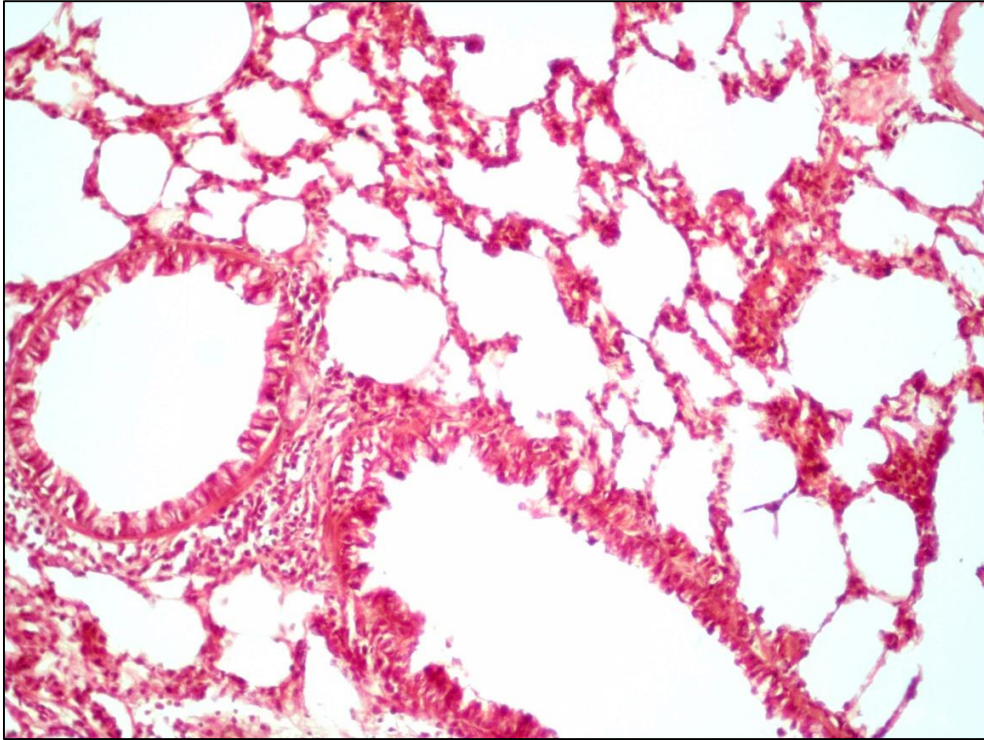


Resim 2. Curcumin grubuna ait akciğer dokusunun histolojik görünümü. H+E, X200

EK-3. (devam) Tüm gruplara ait akciğer dokusunun histolojik görünümü

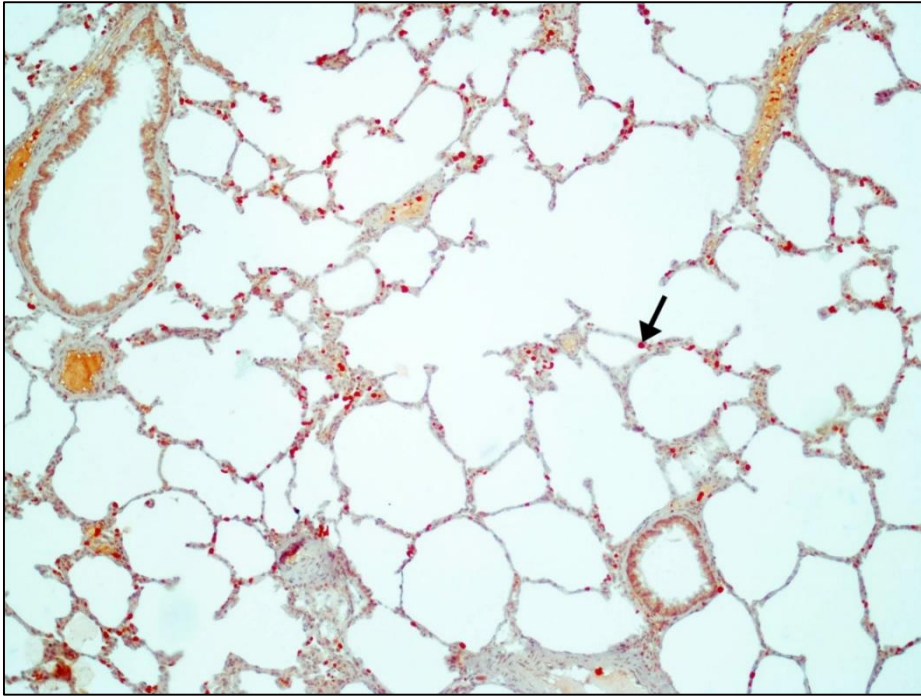


Resim 3. CLP grubuna ait akciğer dokusunun histolojik görünümü. H+E, X200

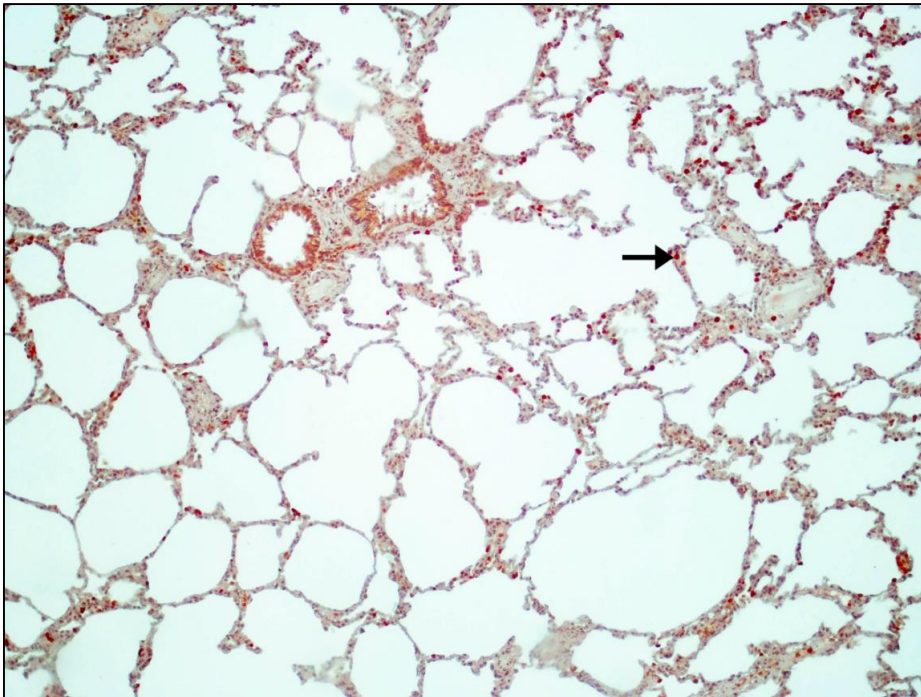


Resim 4. CLP+Curcumin grubuna ait akciğer dokusunun histolojik görünümü. H+E, X200

EK-4. Tüm gruplara ait akciğer dokusunda İNOS immünboyanması

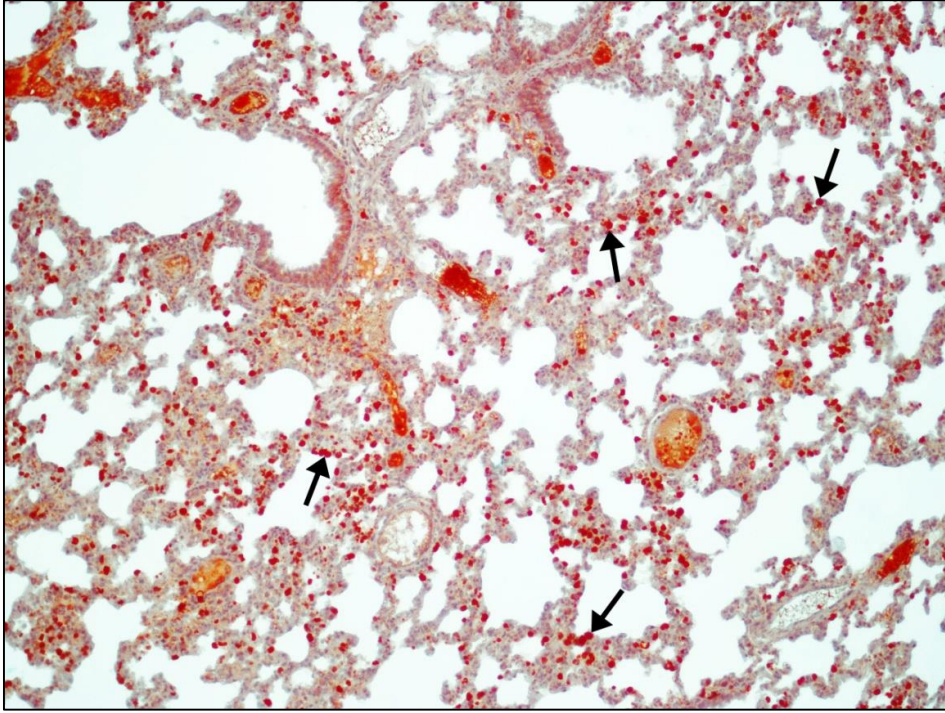


Resim 1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunda iNOS immünboyanması. Ok: iNOS Pozitif hücreler. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X100

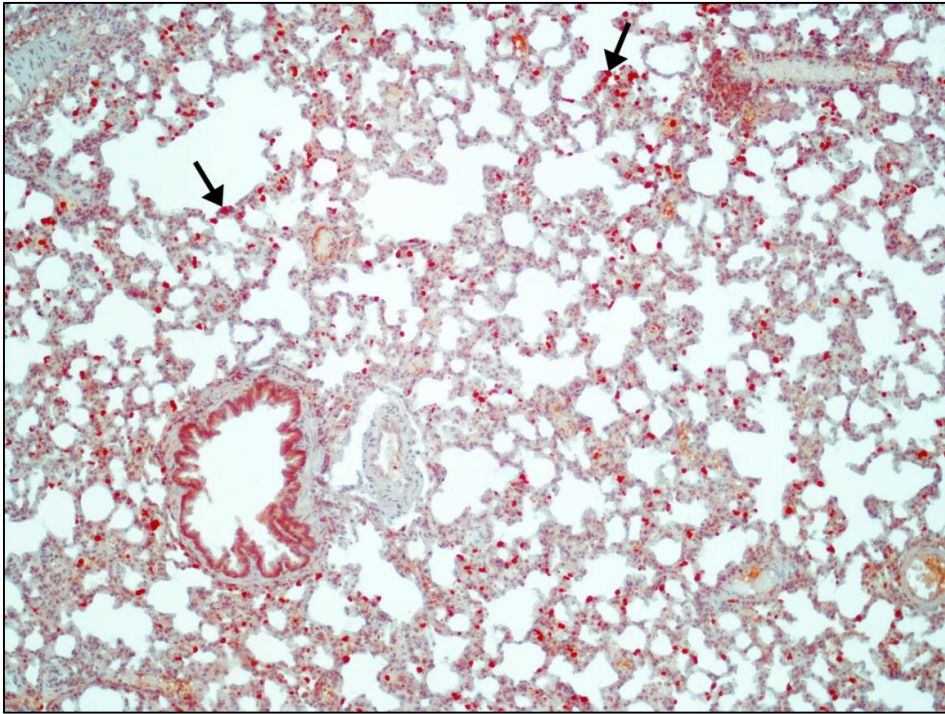


Resim 2. Curcumin grubuna ait akciğer dokusunda iNOS immünboyanması. Ok: iNOS Pozitif Hücreler. İmmünoperoksidaz, Hematoksilen Zıt Boyaması, X100

EK-4. (devam) Tüm gruplara ait akciğer dokusunda İNOS immünboyanması



Resim 3. CLP grubuna ait akciğer dokusunda iNOS immünboyanması. Ok: iNOS Pozitif Hücreler. İmmünoperoksidaz, Hematoksilen Zıt Boyaması, X100



Resim 4. CLP+Curcumin grubuna ait akciğer dokusunda iNOS immünboyanması. Ok: iNOS Pozitif Hücreler. İmmünoperoksidaz, Hematoksilen Zıt Boyaması, X100

EK-5. Biyokimyasal analizler

Süperoksit dismutaz enziminin aktivite tayini

SOD (EC 1.15.1.1) aktivitesi; Sun ve arkadaşlarının metoduna (Sun, Oberley ve Ying, 1988) ve Durak ve arkadaşlarının tariflediği modifikasyona (Durak, Yurtaslanı, Canbolat ve Akyol, 1993) göre tayin metodu: ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitro blue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanmaktadır. Oluşan süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot -}$) ortamdaki NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturmaktadır. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbands vermektedir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır. Enzim bulunmayan (Kör) değer ile enzim bulunan numune absorbands değerleri hesaba katılmaktadır. Hesaplama:

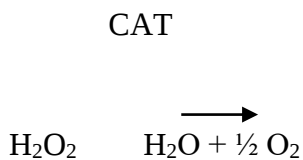
$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = (\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{num}}) / \text{Abs}_{\text{kör}} \times 100$$

Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar doku için; U/mg protein, eritrosit için; U/gr Hb, plazma için; U/mL olarak ifade edilmektedir (Sun, Oberley ve Ying, 1988; Durak, Yurtaslanı, Canbolat ve Akyol, 1993).

Katalaz (CAT) enziminin aktivite tayini

Metodun prensibi

CAT (EC 1.11.1.6) aktivitesi Aebi'nin metoduna göre çalışılmıştır (Aebi, 1974). Hidrojen peroksit (H_2O_2) 240 nm'de maksimum absorbands vermektedir. Deney ortamına ilâve edilen H_2O_2 , CAT tarafından su ve oksijene parçalanmakta, bu ise kendini ultraviyole spektrumda absorbands azalması şeklinde göstermektedir. Absorbandaki bu azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır. Reaksiyon şu şekildedir:



EK-5. (devam) Biyokimyasal analizler

Kullanılan reaktifler

- [Fosfat tamponu (pH 7, 50 mM) (bkz shf 2)]

- [H₂O₂ çözeltisi] : Absorbansı 0.500 nm'ye tampon ile ayarlanmış olan H₂O₂'li fosfat tamponu olup; yaklaşık 300 mL pH 7, 50 mM olan fosfat tamponu renkli kaba (plastik, cam olabilir) aktarılmaktadır. Spektrofotometre fosfat tamponuna göre sıfırlanıp renkli kabdaki tampona 10-20 µL hacimlerle H₂O₂ ilâve edilmektedir. Optik Dansite (OD) 0.500 nm oluncaya kadar devam edilmekte ve aralarda karıştırılmaktadır.

Deneyin yapılışı

Fosfat tamponuna göre 240 nm dalga boyunda fosfat tamponuna göre sıfırlanan köre karşı H₂O₂ çözeltisinin absorbansı 0.500'e ayarlanmıştır.

	Kör (mL)	Numune (mL)
Fosfat Tamponu	2.99	-
H ₂ O ₂ çözeltisi	0.01	2.99
Süpernatan	-	0.01

Numune ilâvesi ile quartz küvetin ağzı bekletilmeden kapatılmakta ve hemen küvet alt-üst edilip absorbans okunmaktadır. Absorbans azalması her 15 sn'de bir defa olmak üzere 5 dakika süre ile kaydedilmektedir (Aktivite hızlı ilerliyorsa 10 sn'de bir kayıt yapılmaktadır. Lineer azalma tespit edilirse okuma bitirilebilmektedir). Hesaplama 1 dakikalık lineer absorbans azalmasının en yüksek (OD₁) ve en düşük (OD₂) değerleri esas alınır.

Hesaplama

$$K = \{[2.3 \times \log (OD_1/ OD_2)] / \Delta t \text{ (sn)}\}$$

$$K/\text{mg protein} = k / [(\text{mg/mL protein}) \times 1000]$$

(Aebi, 1974).

EK-5. (devam) Biyokimyasal analizler

Myeloperoksidaz (MPO) enziminin aktivite tayini

Prensibi

MPO (EC 1.11.1.7) enziminin aktivitesi MPO aracılı H_2O_2 ile yapılan oksidasyon için substrat olarak 4-aminoantipyrine/phenol solusyonu kullanılarak yapılmıştır. $IU / L = [(\Delta Abs / \Delta t) / H_2O_2 \text{ extinc.}] \times 3 / 0.2$

1 enzim ünitesi; 25°C’de 1 dakika 1 μmol H_2O_2 ’yi harcayan enzim olarak ifade edilmektedir.

Reaktifler

Homojenizasyon için

- [%0.5’lik Hexadeyltrimethylammonium Bromide] (HDTMAB, $C_{19}H_{42}NBr$ W=364.5) :

125 mg HDTMAB al $\rightarrow$ 25 mL 50 mM pH 6 potasyum fosfat tamponu içinde çözölmektedir. Doku homojenizasyonu yapılmaktadır. (Bir sabun olup dokular bu solüsyon içerisinde homojenize edilmelidir. Membran yapıları parçalayıcıdır.)

- Solüsyon 1: [25 mM 4-aminoantipyrine (4-AAP, W= 203.25 g/mol)-%2 phenol solüsyonu]:

127 mg 4-AAP al $\rightarrow$ 25 mL deiyonize suda çözölmektedir. Üzerine 0.5 gr % 2 phenol ilâve edilmektedir.

[150 numune için; (1.016 gr 4-AAP / 200 ml distile su) + 4 gr phenol]

- Solüsyon 2: [1.7 mM % 30’luk H_2O_2]: 17 μL % 30’luk H_2O_2 alınır, 100 mL distile suya pipetlenmektedir. (150 numune için; 39 μL % 30’luk H_2O_2 / 225 mL distile su)

EK-5. (devam) Biyokimyasal analizler

Deneyin yapılışı

%0.5'lik HDTMAB ile homojenize edilen dokular 3220 rpm/45 dakika +4°C'de santrifüj edilmiştir (ekstrakt süpernatanı).

	Numune
Solüsyon 1	1.3 mL
Solüsyon 2	1.5 mL
Vortekslenir, 3 dakika beklenir.	
Homojenat süpernatanı	0.2 mL

Küvet alt-üst edilerek beklenmeden 510 nm'de 5 dakika boyunca absorbands artışı kaydedilmektedir (20-80. saniyeler kayıt için uygun). Lineer aktivite artışının gözlemlendiği absorbands değerleri hesaba katılmaktadır.

Hesaplama

$$\ddot{U} / L = [\Delta OD / \Delta t (\text{dakika})] \times (3/0.2)] \times F$$

1 enzim Ünitesi (Ü); 25 °C'de 1 dakikada 1µmol H₂O₂'yi harcayan enzim miktarıdır. (Wei ve Frenkel, 1991).

Malondialdehid (MDA) miktarının UV spektro ile tayini

Deneyin prensibi

EDTA'lı kan örneklerinden;

Kullanılan reaktifler

% 10'luk triklorasetik asit (TCA): 10 gr TCA al → 1000 mL distile suya tamamlanmaktadır.

% 0.675'lik tiobarbitürik asit (TBA) 0.675 gr TBA al → 1000 mL distile suya tamamlanmaktadır.

EK-5. (devam) Biyokimyasal analizler

Deneyin yapılışı

1 deney tüpüne (vidalı kapaklı, 10 mL olan) 2.5 mL % 10'luk triklorasetik asit (TCA), üzerine 0.5 mL numune (plazma, homojenat, eritrosit pelletinin 5 kat dilüe olan) ilâve edilerek 3-5 sn. vortekslenmektedir.

10 mL'lik vidalı-kap cam tüp	Kör tüpü	Numune tüpü
% 10'luk TCA (mL)	2.5	2.5
Numune (mL) (plazma, homojenat, 5 kat dilüe eritrosit)	-	0.5
Distile su (mL)	0.5	-

3-5 sn vortekslenir. Tüpün ağzı kapatılarak 90 °C'de 15 dakika inkübe edilir. Soğuk çeşme suyu ile soğutulur. 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edilmektedir (süpernatant).

10 mL'lik vidalı-kap cam tüp	Kör tüpü	Numune tüpü
Süpernatant (mL)	2	2
% 0.675'lik TBA (mL)	1	1

Vortekslenir. Tüpün ağzı kapatılarak 90 °C'de 15 dakika tekrar inkübe edilmektedir. Soğuk çeşme suyu ile soğutulmaktadır. 532 nm'de köre karşı okunmaktadır.

Hesaplama: TBA-MDA kompleksinin ekstinksiyon katsayısından ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) yararlanılarak nmol / mL cinsinden MDA değerleri hesaplanmaktadır (Hammouda, Khalil ve Salem, 1995).

EK-5. (devam) Biyokimyasal analizler

Nitrik oksit (NO) miktarının tayini

Vücutta endojen olarak üretilen nitrik oksitin doku ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, pek çok çalışmada nitrit ve nitrat olarak ifade edilmiştir (Lit NO₁). Çünkü nitrik oksit, üretildiği bölgede saniyeler içinde okside olarak önce nitrite (NO₂⁻) daha sonra da nitrata (NO₃⁻) dönüşmektedir. Bununla beraber proteinden zengin homojenat, serum ve plazma gibi solüsyonlarda spesifik olmayan reaksiyonlar meydana gelebileceğinden, Griess reaksiyonu ile ölçümlerde belli bazı sıkıntılar yaşanmaktadır. Bu açıdan biz nonspesifik reaksiyonların önüne geçebilmek için homojenatları önce deproteinize edip daha sonra nitrit ve nitrat konsantrasyonlarını ölçtük. Zor olmakla birlikte *in vivo* olarak direkt NO ölçümü de mümkündür. Bu amaçla NO propları geliştirilmiştir ama bunların *in vitro/ex vivo* şartlarda çalışılması mümkün değildir (Lit NO₂).

Dokuda nitrit ve nitrat miktarı deproteinizasyondan sonra Griess reaksiyonu ile belirlenmektedir (Lit NO₃). Total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu modifiye kadmiyum redüksiyon metodu ile değerlendirilmiştir. pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granülleri deproteinize numune (homojenat, serum, eritrosit) süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyon sonunda nitrat redüksiyonu sağlanmıştır. Üretilen nitrit; sülfanilamid ve buna bağlı N-naphthylethylene diamin (NNDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin 545 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile belirlenmiştir. Sonuçta elde edilen nitrit konsantrasyonu ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat miktarı belirlenmiştir. (Mueller ve diğerleri, 1994; Malinski ve Taha, 1992; Cortas ve Wakid, 1990).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AKTAŞ, Emel
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 06/08/1990 Eskişehir
 Medeni hali : Bekâr
 Telefon : 0 530 609 00 26
 e-posta : emelaktas@karabuk.edu.tr



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Beslenme ve Diyetetik Bölümü	Devam ediyor
Lisans	Trakya Üniversitesi /Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2013
Lise	Karabük 75. Yıl Anadolu Lisesi	2008

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2013- devam ediyor	Karabük Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yayınlar

- Aktaş, A., Yıldırım, H. (2016, Aralık). *Sepsis oluşturulmuş ratlarda curcuminin akciğer dokusundaki antioksidan etkisi*. 1.Ulusal İnsan Mikrobiyotası ve Sağlığımıza Etkileri Kongresi, Sözlü Bildiri, Ankara, Türkiye.
- Aktaş, A., Yıldırım, H. (2017, Mayıs). *Sepsis Oluşturulmuş Ratlarda Curcuminin Akciğer Dokusundaki Olası Koruyucu Etkileri*. 1. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongresi, Sözlü Bildiri, Ankara, Türkiye.
- Aktaş, A., Yıldırım, H. (2017, Mayıs). *Curcuminin Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkileri*. 1. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongresi, Poster Bildiri, Ankara, Türkiye.
- Tokuç, B., Aktaş E., Yanık, G. ve Yiğit, M. (2013). *Sağlık Bilimleri Fakültesi Öğrencilerinin Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Konusunda Bilgi ve Tutumları*. 16.Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, Poster Bildirisi, Antalya, Türkiye.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

