



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

DENEYSEL SEPSİS MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
AKUT AKCİĞER HASARI ÜZERİNE OMEGA-3
KULLANIMININ KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Ersin ÇELİK

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Pınar KARABACAK

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından
TTU-2024-9539 proje numarasıyla desteklenmiştir.

ISPARTA-2025

BEYAN

“Deneyisel Sepsis Modeli Oluşturulan Ratlarda Akut Akciğer Hasarı Üzerine Omega-3 Kullanımının Koruyucu Etkilerinin Araştırılması” adlı uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi SDÜ Tıp Fakóltesi Uzmanlık Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Hazırlayan

Dr. Ersin ÇELİK

Danışman

Doç. Dr. Pınar KARABACAK

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez sürecimin her aşamasında akademik rehberliği, bilgi ve birikimiyle yolumu aydınlatan; desteğiyle her zaman yanımda olduğunu hissettiren kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Pınar KARABACAK'a;

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, akademik gelişimime katkı sunan, desteklerini her daim hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Pakize KIRDEMİR, Prof. Dr. Berit GÖKÇE CEYLAN, Doç. Dr. Filiz ALKAYA SOLMAZ, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Soner ÖZCAN, Dr. Öğr. Üyesi Eyüp Sabri ÖZDEN, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet BİNDAL, Dr. Öğr. Üyesi Fahrettin KIRÇIÇEK ve Dr. Öğr. Üyesi Hacı Ömer OSMANLIOĞLU'na;

Deneysel sürecin yürütülmesinde başta Prof. Dr. Halil AŞÇI olmak üzere katkı sunan laboratuvar ekibine ve destekleriyle sürece katkı sağlayan tüm çalışma arkadaşlarıma;

Birlikte çalıştığımız süre boyunca destekleri, uyumları ve katkılarıyla süreci daha kolay ve anlamlı kılan tüm asistan arkadaşlarıma;

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan, sevgileri ve emekleriyle her zaman yanımda olan aileme;

Bu sürecin her anında yanımda olan, sabrı, sevgisi ve inancıyla bana güç veren; varlığıyla hayatımı güzelleştiren ve her şeyden öte, yoldaşım canım eşim Kübra'ya;

En içten saygı ve sevgilerimi sunar, teşekkür ederim.

Tez çalışmam Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından TTU-2024-9539 proje numarasıyla desteklenmiştir. Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi'ne desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Dr. Ersin ÇELİK

ISPARTA-2025

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BEYAN.....	i
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sepsis	3
2.1.1. Tanımlar	3
2.1.1.1. Sepsis-1 (1991).....	3
2.1.1.2. Sepsis 2 (2001).....	4
2.1.1.3. Sepsis-3 (2016).....	5
2.2. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı	7
2.2.1. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Tanımı	7
2.2.2. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Epidemiyolojisi	8
2.2.3. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Patogenezi	8
2.2.3.1. İnflamasyon.....	10
2.2.3.2. Oksidatif Stres	12
2.2.3.3. Akut Akciğer Hasarı ve Apoptoz İlişkisi	14
2.3. Sepsis ve Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Klinik Yönetimi	18
2.3.1. Sepsiste Beslenme Tedavisi	19
2.3.1.1. Sepsiste Enteral ve Parenteral Beslenme	20
2.4. Omega-3	21
2.5. Sepsis Oluşturmak için Kullanılan Hayvan Deneyi Modelleri.....	24
2.5.1. Lipopolisakkarit Enjeksiyonu Gibi Eksojen Toksinler ile Oluşturulan Sepsis Modelleri	24
2.5.2. Fekal Sepsis Modelleri.....	25
2.5.3. Eksojen Bakterinin Enjeksiyonu ile Oluşturulan Sepsis Modeli	26

3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
3.1. Deneysel Sepsis Modelinin Oluşturulması.....	28
3.2. Ana Çalışma.....	29
3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Uygulanışı.....	29
3.2.2. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler	32
3.2.2.1. Histopatolojik Yöntem	32
3.2.2.1.1. Doku Takibi	32
3.2.2.1.2. Hematoksilen-Eozin Boyama.....	33
3.2.2.1.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	34
3.2.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem	34
3.2.2.2.1. İmmunohistokimyasal Analiz	34
3.2.3. Biyokimyasal İncelemeler.....	35
3.2.3.1. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanması.....	35
3.2.3.2. Total Antioksidan Kapasite ve Total Antioksidan Kapasite Seviyelerinin Çalışma Prensibi.....	38
3.2.3.3. Oksidatif Stres İndeksi Hesaplanması.....	38
3.2.4. Genetik Analizler	39
3.2.4.1. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	39
3.2.4.1.1. RNA İzolasyonu.....	39
3.2.4.1.2. cDNA Sentezi	40
3.2.4.1.3. Primer Tasarımı ve Hazırlanması.....	41
3.2.4.1.4. Ekspresyon Seviyelerinin Ölçülmesi	42
3.3. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	44
4.1. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular	44
4.1.1. Akciğerin Histopatolojik İncelemeleri.....	44
4.1.2. İmmunohistokimyasal Bulgu Sonuçları.....	55
4.1.2.1. Kaspaz-3 Bulgu Sonuçları.....	55
4.1.2.2. TNF- α İmmunohistokimyasal Bulgu Sonuçları	59
4.1.2.3. HSP-70 İmmunohistokimyasal Bulgu Sonuçları	64
4.2. Biyokimyasal Analizlerin Sonuçları.....	71
4.3. Genetik Analizlerin Sonuçları	73
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	82

ÖZET.....	84
ABSTRACT	85
KAYNAKLAR	86
EKLER.....	93
Ek 1. Etik Kurul Onayı	93



KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat Derece
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
µm	: Mikrometre
µmol	: Mikromol
AAH	: Akut Akciğer Hasarı
ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ACCP/SCCM	: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference
ARDS	: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
Apaf-1	: Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör 1
aPTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
Bad	: Bcl-2 Associated Death Promoter (Bcl-2 İlişkili Ölüm Promotorü)
Bax	: Bcl-2-İlişkili X Proteinini
Bcl-2	: B-Hücreli Lenfoma 2
Bcl-XL	: B-hücreli Lenfoma-Extra Large
BH-3	: Bcl-2 Homology Region 3
Bid	: BH-3 Interacting Domain Death Agonist
Cas	: Kaspaz
CFU	: Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
CLP	: Cecal Ligation and Puncture (Çekal Ligasyon ve Ponksiyon)
CRP	: C-Reaktif Protein
CXCL10	: C-X-C Motif Chemokine Ligand 10
DAMP	: Hasarla İlişkili Moleküler Pattern
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit
DIC	: Dissemine İntravasküler Koagülopati
dk	: Dakika
dL	: Desilitre
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
FasL	: Fas Ligandı

FiO₂	: İspiratuar Oksijen Fraksiyonu
GKS	: Glaskow Koma Skalası
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HClO	: Hipokloröz Asit
Hg	: Civa
HSP-70	: Heat Shock Protein 70 (Isı Şok Proteini 70)
IFN- γ	: İnterferon-Gama
Ig	: İmmunoglobulin
IL	: İnterlökın
IL-1β	: İnterlökın-1 Beta
INR	: International Normalized Ratio (Uluslararası Normalleştirilmiş Oran)
ip	: İnteraperitoneal
JNK	: Jun N-terminal kinaz
L	: Litre
LPS	: Lipopolisakkarit
MAP	: Ortalama Arteriyel Basınç
MCT/LCT	: Orta Zincirli Trigliserit/ Uzun Zincirli Trigliserit
m²	: Metrekare
MEWS	: Modifiye Erken Uyarı Skoru
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mm³	: Milimetreküp
mmHg	: Milimetre Civa Basıncı
mmol	: Milimol
MPO	: Myeloperoksidaz
n-3	: Omega-3
n-6	: Omega-6
MODS	: Çoklu Organ Disfonksiyonu Sendromu
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NEWS	: Ulusal Erken Uyarı Skoru
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NOX	: NADPH Oksidaz
O₂⁻	: Süperoksit Anyonu
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
PAMP	: Patojen İlişkili Moleküler Patern
PaCO₂	: Parsiyel Arteriyel Karbondioksit Basıncı
PAF	: Trombosit Aktive Edici Faktör
PaO₂	: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı
PUFAs	: Polyunsaturated Fatty Acids (Çoklu Doymamış Yağ Asitleri)
PRR	: Patojen Tanıma Reseptörü
q-SOFA	: Quick-Sepsis Related Organ Failure Assessment (Hızlı Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirmesi)
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
ScvO₂	: Santral Venöz Oksijen Satürasyonu
SD	: Standart Sapma
SF	: Serum Fizyolojik
SIRS	: Systemic Inflammatory Response Score (Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu)
Sİ-AAH	: Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı
sn	: Saniye
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOFA	: Sequential Organ Failure Assessment (Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirmesi)
SSC	: Surviving Sepsis Campaign (Sepsisle Mücadele Kampanyası)
TAS	: Total Antioksidan Kapasite
TLR	: Toll-Like Reseptör
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü-Alfa
TOS	: Total Oksidan Kapasite
TPN	: Total Parenteral Nutrisyon
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Akut Akciğer Hasarında Normal Alveol ile Hasarlı Alveolün Karşılaştırması	9
Şekil 2.2. Sepsis Sırasında Bağışıklık Sisteminin Pro ve Antiinflamatuvar Yanıtındaki Değişiklikler	11
Şekil 2.3. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı-ROS İlişkisi	13
Şekil 2.4. TNF- α Üzerinden Mitokondriyal Stres ve Apoptoz Yolağının Tetiklenmesi	16
Şekil 2.5. Apoptozun Ekstrinsik ve İntrinsik Yolakları	17
Şekil 2.6. Omega-3 Yağ Asitleri Kimyasal Yapısı	22
Şekil 2.7. LPS'nin Sepsis Üzerine Etki Mekanizması	25
Şekil 4.1. Gruplar Arasında İmmunohistokimyasal Skor Karşılaştırılması Grafiği ..	71
Şekil 4.2. Gruplar Arasında Biyokimyasal Analizlerin Grafiği	73
Şekil 4.3. Gruplar Arasında Genetik Analizlerin Rölatif mRNA Ekspresyon Sonuçları Grafiği	75
Şekil 4.4. Gruplar Arasında Genetik Analizlerin Isı Haritası Grafiği	76

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1. Euro Type-4 Kafesler	27
Resim 3.2. LPS Tartılması.....	28
Resim 3.3. LPS'nin Uygulanışı	28
Resim 3.4. Omega-3 Uygulanması (ip)	29
Resim 3.5. Ketamin ve Xylazin Anestezi Uygulaması.....	30
Resim 3.6. Kanların Alınması ve Cerrahi Egzanguinasyon	31
Resim 3.7. Biyokimyasal ve Genetik İncelemeler için Eppendorflar	31
Resim 3.8. Ratın Akciğer Dokularında Yapılacak İncelemeler	32
Resim 3.9. Dokuların Tartılması	36
Resim 3.10. Dokuların Fosfat Tampon ile Seyreltilmesi	36
Resim 3.11. Dokuların Parçalanması.....	37
Resim 3.12. Sonikatör ile Homojenizasyon	37
Resim 3.13. Homojen Doku Örnekleri	38
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X10) ...	45
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X20) ...	46
Resim 4.3. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X40) ..	46
Resim 4.4. LPS grubuna ait akciğer dokusunda bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma, alveoler ve interstisyel inflamasyon, ödem, alveoler ve interstisyel hemoraji (HE, X10).	47
Resim 4.5. LPS grubuna ait akciğer dokusunda bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma, alveoler ve interstisyel inflamasyon, ödem, alveoler ve interstisyel hemoraji (HE, X20)	47
Resim 4.6. LPS grubuna ait akciğer dokusunda bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma (HE, X40).	48
Resim 4.7. LPS grubuna ait akciğer dokusunda ödem ve hyalin membran oluşumu (HE, X10).	48
Resim 4.8. LPS grubuna ait akciğer dokusunda ödem ve hyalin membran oluşumu (HE, X20).	49
Resim 4.9. LPS grubuna ait akciğer dokusunda ödem ve hyalin membran oluşumu (HE, X40).	49
Resim 4.10. LPS+Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunda bazı alanlarda hafif inflamasyon, alveoler alanlar ve bronşiol yapılarının ve epitellerinin hafif dejenerasyonu (HE, X10).	50

Resim 4.11. LPS+Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunda bazı alanlarda hafif inflamasyon, alveoler alanlar ve bronşiol yapılarının ve epitellerinin hafif dejenerasyonu (HE, X20).....	50
Resim 4.12. LPS+Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunda bazı alanlarda hafif inflamasyon, alveoler alanlar ve bronşiol yapılarının ve epitellerinin hafif dejenerasyonu (HE, X40).....	51
Resim 4.13. Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X10).....	51
Resim 4.14. Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X20).....	52
Resim 4.15. Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X40).....	52
Resim 4.16. Tüm gruplara ait akciğer kesitlerinin HE ile boyanmış görüntüsü.....	53
Resim 4.17. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20	55
Resim 4.18. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.	56
Resim 4.19. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.	56
Resim 4.20. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.	57
Resim 4.21. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.....	57
Resim 4.22. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.....	58
Resim 4.23. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.....	58
Resim 4.24. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.....	59
Resim 4.25. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20	60
Resim 4.26. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40	60
Resim 4.27. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.	61
Resim 4.28. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.	61
Resim 4.29. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.....	62

Resim 4.30. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.....	62
Resim 4.31. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.....	63
Resim 4.32. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.....	63
Resim 4.33. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20	64
Resim 4.34. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40	65
Resim 4.35. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.	65
Resim 4.36. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.	66
Resim 4.37. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.....	66
Resim 4.38. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.....	67
Resim 4.39. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.....	67
Resim 4.40. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.....	68
Resim 4.41. Tüm gruplara ait akciğer kesitlerinin Cas-3, HSP-70 ve TNF- α immunreaktivitelerine ait görüntüleri.	69

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. SIRS Kriterleri	3
Tablo 2.2. Sepsis 2 Tanımlama Kriterleri	4
Tablo 2.3. SOFA Skoru	6
Tablo 3.1. Doku Takibi Protokolü.....	33
Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü.....	33
Tablo 3.3. Revers Transkriptaz Reaksiyon Karışımının 20 µl Hacminde Hazırlanması	40
Tablo 3.4. Revers Transkriptaz Termal Döngü Protokolü	41
Tablo 3.5. Genler ve Genlere Ait Spesifik Primer Dizilimleri.....	42
Tablo 3.6. PCR Reaksiyon Karışımı	43
Tablo 3.7. Gerçek Zamanlı PCR Döngüsü.....	43
Tablo 4.1. Akciğer Hasarının Gruplar Arası Histolojik Skorları	44
Tablo 4.2. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında Histopatolojik İnceleme Skorlarının Karşılaştırması.....	54
Tablo 4.3. Akciğer Hasarının İmmunohistokimyasal Skor Tablosu	69
Tablo 4.4. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında İmmunohistokimyasal İnceleme Skorlarının Karşılaştırması	70
Tablo 4.5. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında TAS, TOS ve OSİ İnceleme Skorlarının Karşılaştırılması	72
Tablo 4.6. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında Genetik Ekspresyon İnceleme Skorlarının Karşılaştırması.....	73

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sepsis, enfeksiyona karşı vücut tarafından verilen düzensiz bir bağışıklık yanıtı nedeniyle gelişen, yüksek mortaliteye sahip ve giderek daha yaygın hale gelen bir klinik durumdur. Septik şok ise sıvıya dirençli hipotansiyon ve vazopressör tedavisi gerektiren doku hipoperfüzyonu olarak tanımlanır ve sepsisle kıyaslandığında daha ciddi bir durumdur (1).

Sepsisin neden olduğu çoklu organ disfonksiyonu sürecinde akciğer en erken etkilenen ve en duyarlı hedef organdır. Araştırmalar, sepsis hastalarının % 25-50'sinin akut akciğer hasarı (AAH) yaşadığını ve % 40'lık bir mortalite oranına sahip olduğunu göstermektedir. Sepsis ilişkili akut akciğer hasarı (Sİ-AAH) hastalarında akciğer iltihabı ve doku hasarı nedeniyle gaz değişim fonksiyonu zayıflamıştır. Patolojik süreçler arasında pulmoner vasküler endotel hasarı, alveoler yüzey geriliminin azalması, inflamatuvar faktör salınımı ve pulmoner interstisyel fibrozis bulunur (2).

Sepsis ilişkili akut akciğer hasarı enfeksiyona sekonder oluşan inflamasyon nedeniyle alveoler duvar hasarı sonucu akciğer fonksiyonlarında bozulmaya yol açan şiddetli bir klinik durumdur. Sİ-AAH hastalarının klinik belirtileri arasında solunum güçlüğü, hipoksemi, öksürük, ateş ve taşikardi bulunur. Şiddetli hastalarda şok ve çoklu organ yetmezliği görülebilir ve bu hayatı tehdit eden bir durumdur (3). Sİ-AAH, akut solunum sıkıntısı sendromundan (ARDS) farklıdır çünkü ARDS'ye birden fazla faktör neden olurken, Sİ-AAH'ye enfeksiyonlar neden olur (4).

Sepsis hastaları, özgün fizyolojik koşulları nedeniyle yeterli protein, enerji ve temel besinleri alabilmek için özel beslenme desteğine ihtiyaç duyar. Bu destek, iyileşme sürecini hızlandırır, inflamasyonu azaltır, sağkalım ve yaşam kalitesini artırır. Bu nedenle, kişiye özel ve kapsamlı beslenme stratejileri, sepsis yönetiminin ayrılmaz bir parçasıdır (5). Total parenteral nutrisyon (TPN), besinleri alamayan ve sindiremeyen hastalara günlük gerekli besin maddelerinin intravenöz olarak verilmesini sağlar. Enerji sağlamanın yanı sıra, lipid emülsiyonları sağlık için önemlidir ve vücudun de novo esansiyel yağ asitlerini sentezleyememesi nedeniyle TPN formülasyonlarında vazgeçilmez bir bileşendir. Ticari olarak mevcut birkaç

intravenöz lipid emülsiyonu arasında, Intralipid®; linoleik asit gibi omega-6 (n-6) çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeren soya fasulyesi yağı bazlı bir emülsiyonudur. Buna karşılık, Omegaven®; eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) içeren balık yağı bazlı bir omega-3 (n-3) lipid emülsiyonudur (6).

Omega-3 yağ asitleri, inflamasyonu azaltmak için çeşitli biyokimyasal yolları kullanır. Bu yağ asitleri, inflamasyonu bloke eden ve insülin duyarlılığını artıran G protein bağlı reseptörler aracılığıyla etki gösterir. Ayrıca inflamasyonun çözülmesine yardımcı olan maresinler, resolvinler ve protektinler gibi n-3 türevli maddeler de bu süreçte rol oynar (7). Omega-3 yağ asitleri, özellikle Omegaven® gibi intravenöz formülasyonlar, inflamasyonu azaltma potansiyeline sahip antiinflamatuvar özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu yağ asitleri, çeşitli klinik durumlarda inflamatuvar yanıtı hafifletmek ve klinik sonuçları iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Omega-3 yağ asitleri, inflamatuvar belirteçlerin seviyelerini düşürerek inflamasyonu azaltabilir. COVID-19 hastalarında yapılan bir çalışmada, Omegaven® ile takviye edilen parenteral beslenmenin, C-reaktif protein (CRP), interlökin-6 (IL-6) ve C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10) seviyelerini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Ayrıca daha yüksek dozda n-3 yağ asidi alan grupta yoğun bakım ve hastane kalış süresinin kısaldığı gözlemlenmiştir (8). Benzer şekilde şiddetli akut pankreatit hastalarında balık yağı içeren lipid emülsiyonunun inflamasyonu azalttığı ve klinik sonuçları iyileştirdiği gösterilmiştir (9).

Bu bilgiler ışığında, n-3 yağ asitleri, inflamasyonu azaltma ve çeşitli klinik durumlarda iyileşmeyi destekleme potansiyeline sahip güçlü antiinflamatuvar ajanlar olarak öne çıkmaktadır. Sepsis ve Sİ-AAH tedavisinde, güncel gelişmeler doğrultusunda mevcut tedavilere ek olarak yeni yaklaşımlar aranmaktadır. Omega-3 tedavisinin belirtilen potansiyeli nedeniyle lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan deneysel sepsis modelinde Sİ-AAH gelişimini önleme ve tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu yağ asitlerinin klinik uygulamaları ve mekanizmaları üzerine daha fazla araştırma gerekmektedir. Bu bağlamda Omega-3 uygulamasının sepsis ve Sİ-AAH tedavisinde etkili olup olmayacağını araştırmayı amaçlamaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

2.1.1. Tanımlar

2.1.1.1. Sepsis-1 (1991)

American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (ACCP/SCCM) tarafından 1991 yılında yapılan toplantıda Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS), sepsis, şiddetli sepsis, septik şok ve çoklu organ disfonksiyonu sendromu (MODS) terimleri, klinik pratiğe entegre edilmiş ve hasta yönetiminde yaygın olarak kullanılmıştır (10).

Enfeksiyon: Steril dokuda mikroorganizmaların bulunmasına karşı, konakta gelişen inflamatuvar yanıt olarak tanımlanır (10).

Bakteriyemi: Canlı bakterilerin kanda bulunması durumudur (10).

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS): Hastada aşağıda bulunan kriterlerden en az ikisinin bulunması olarak tanımlanmaktadır (Tablo 2.1) (10).

Tablo 2.1. SIRS Kriterleri (10)

Ateş	>38°C veya <36°C
Kalp tepe atımı	>90 atım/dk
Solunum	Solunum sayısı >20/dk veya PaCO ₂ <32 mmHg
Kan Sayımı	Lökosit Sayısı >12000 mm ³ ya da <4000 mm ³ veya >%10 bant form

°C: Santigrat Derece; dk: Dakika; PaCO₂: Parsiyel Arteriyel Karbondioksit Basıncı; mmHg: Milimetre Civa; mm³: Milimetreküp

Sepsis: Enfeksiyona bağlı olarak ortaya çıkan SIRS durumudur (10).

Şiddetli Sepsis: Organ disfonksiyonu, hipoperfüzyon veya hipotansiyonun eşlik ettiği sepsis. Hipoperfüzyon bulguları laktik asidoz, oligüri ve akut mental durum değişikliği gibi bulguları içerebilir (10).

Septik Şok: Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen devam eden hipotansiyon ve hipoperfüzyon bulgularının eşlik ettiği sepsis olarak tanımlanmaktadır (10).

Hipotansiyon: Sistolik kan basıncının 90 mmHg'nin altına düşmesi veya başlangıç değerine kıyasla 40 mmHg'den fazla azalması durumudur (10).

Çoklu Organ Disfonksiyonu Sendromu (MODS): Homeostazın sağlanamadığı ve birden fazla organ sisteminin işlevselliğinin bozulduğu durum olarak bilinir (10).

2.1.1.2. Sepsis 2 (2001)

2001 yılında düzenlenen Uluslararası Sepsis Tanımları Konferansı, sepsis ve ilgili durumların tanımlarını yeniden ele almıştır. SIRS kriterlerinin yeterince spesifik olmaması nedeniyle sepsis tanısını koymak için kullanılabilecek kriterler listesine 5 yeni başlık eklenmiştir (Tablo 2.2) (11).

Tablo 2.2. Sepsis 2 Tanımlama Kriterleri (11)

Genel Bulgular
• Vücut ısı >38,3°C veya <36 °C
• Kalp hızı >90/dk veya yaşa göre normal değer >2 SD üstü
• Takipne
• Mental değişiklik
• Hiperglisemi
Enflamatuvar Bulgular
• Lökositoz veya lökopeni (lökosit sayısı >12.000 μ L veya <4.000 μ L)
• Normal beyaz küre sayısı ile birlikte >%10 olgunlaşmamış nötrofil
• Plazma C-reaktif protein normal değer >2 SD üstü
• Plazma prokalsitonin normal değer >2 SD üstü
Hemodinamik Değişkenler
• Hipotansiyon
• ScvO ₂ >%70
• Kardiak indeks >3,5 L/dk/m ²
Organ Disfonksiyonları
• Arteriyel hipoksemi (PaO ₂ /FiO ₂ <300)

Tablo 2.2. Sepsis 2 Tanımlama Kriterleri (Devamı)

• Akut oligüri
• Kreatinin artışı (>0,5 mg/dL)
• Koagülasyon bozuklukları (INR >1,5 veya aPTT >60 sn)
• İleus
• Trombositopeni (<100.000/mm ³)
• Hiperbilirubinemi
Doku Perfüzyon Değişkenleri
• Hiperlaktatemi
• Kapiller dolum zamanında azalma

°C: Santigrat derece; SD: Standart Sapma; µL: Mikrolitre; ScvO₂: Santral Venöz Oksijen Satürasyonu; L/dk/m²: Litre/dakika/metrekare; dk: Dakika; PaO₂: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı; FiO₂: İnspiratuar Oksijen Fraksiyonu; mg/dL: Miligram/desilitre; INR: Uluslararası Normalleştirilmiş Oran; aPTT: Aktive Parsiyel Tromboplastin Süresi; sn: Saniye; mm³: Milimetreküp

2.1.1.3. Sepsis-3 (2016)

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu kriterlerinin enfeksiyona özgü olmaması ve sepsisin patofizyolojisini yansıtmakta yetersiz kalması nedeniyle artık bu kriterler sepsis tanısında temel bir araç olarak görülmekten vazgeçilmiştir. 2016 yılında, Sepsis-3 olarak bilinen yeni bir tanım geliştirilmiş ve bu tanım, organ disfonksiyonunu tanımlamak için Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirmesi (SOFA) skorunu kullanmaktadır (Tablo 2.3). Sepsis-3 tanımı, enfeksiyonla ilişkili organ disfonksiyonunu vurgulamakta ve SOFA skorunda 2 veya daha fazla puanlık bir artışla tanımlanmaktadır. Septik şok ise sepsise bağlı hipotansiyonun, sıvı resüsitasyonuna rağmen düzelmemesi ve sürekli vazopressör ihtiyacı ile birlikte serum laktat düzeylerinin ≥ 2 mmol/L olması olarak tanımlanmıştır. Bu durum, daha yüksek mortalite riskini işaret eder (12).

Tablo 2.3. SOFA Skoru (12)

Organ Sistemi	Parametre	0 Puan	1 Puan	2 Puan	3 Puan	4 Puan
Solunum	PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	≥400	<400	<300	<200	<100
Koagülasyon	Trombositler ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	≥150	<150	<100	<50	<20
Karaciğer	Bilirubin (mg/dL, $\mu\text{mol/L}$)	<1.2 (20)	1.2–1.9 (20–32)	2.0–5.9 (33–101)	6.0–11.9 (102–204)	≥12.0 (204)
Kardiyovasküler	MAP (mmHg) veya Vazopressör İhtiyacı ¹	MAP ≥70	MAP <70	Dopamin ≤5 veya Dobutamin (herhangi bir doz)	Dopamin >5–15 veya Epinefrin ≤0.1 veya Norepinefrin ≤0.1	Dopamin >15 veya Epinefrin >0.1 veya Norepinefrin >0.1
Santral Sinir Sistemi (GKS)	Glasgow Koma Skalası (GKS) ²	15	13–14	10–12	6–9	<6
Renal	Kreatinin (mg/dL, $\mu\text{mol/L}$) veya İdrar Çıkışı	<1.2 (110)	1.2–1.9 (110–170)	2.0–3.4 (171–299)	3.5–4.9 (300–440) veya <500 mL/gün	>5.0 (440) veya <200 mL/gün

¹ Katekolamin dozları en az 1 saat süreyle $\mu\text{g/kg/dk}$ olarak verilmiştir.

² Glasgow Koma Skalası skorları 3–15 arasında değişir; daha yüksek skorlar daha iyi nörolojik fonksiyonu gösterir.

PaO₂: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı; FiO₂: Inspiratuar Oksijen Fraksiyonu; mmHg: Milimetre cıva basıncı; μL : Mikrolitre; mg/dL: Miligram/desilitre; $\mu\text{mol/L}$: Mikromol/Litre; MAP: Ortalama Arteriyel Basıncı; GKS: Glasgow Koma Skalası; mL/gün: Mililitre/gün

Surviving Sepsis Campaign (SSC) tarafından 2021 yılında bir dizi yeni öneri ve güncelleme yapıldı. Sepsis ve Septik Şokun Yönetimine İlişkin Uluslararası Kılavuz'da SIRS, Ulusal Erken Uyarı Skoru (NEWS) veya Modifiye Erken Uyarı Skoru (MEWS) ile karşılaştırıldığında Hızlı Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirmesinin (q-SOFA) sepsis veya septik şoku değerlendirmede tek başına tarama aracı olarak kullanılmaması gerektiği görüşü bildirilmiştir (13).

2.2. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı

2.2.1. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Tanımı

Sepsis, patojenik mikroorganizmalara karşı konakçının verdiği düzensiz tepki nedeniyle ortaya çıkan çoklu organ disfonksiyonudur. Sepsise karşı bu akut sistemik inflamatuvar yanıt, bir dizi patolojik ve fizyolojik değişikliğe yol açabilir. Öncelikle solunum sistemi, özellikle akciğerler, tehlikeye giren ilk sistemdir ve potansiyel olarak Sİ-AAH'ye yol açabilir. AAH, akut inflamasyon, endotel bariyer bütünlüğünün bozulması ve alveoler epitel hasarı ile karakterizedir ve protein açısından zengin interstisyel ödem ve bağışıklık hücrelerinin alveoler boşluğa sızmasıyla sonuçlanır (14). Sİ-AAH'li hastalarda klinik olarak solunum güçlüğü, hipoksemi, öksürük, ateş ve taşikardi gibi belirtiler gözlenirken, ağır vakalarda şok ve çoklu organ disfonksiyonu ortaya çıkabilmektedir (15). AAH ile birlikte görülen şiddetli sepsis, mortal bir durum oluşturabilir. Sİ-AAH, primer olarak sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun enfeksiyon kaynaklı bir tetikleyicisi olan sepsis ile ilişkilidir. Buna karşın ARDS, yalnızca enfeksiyöz nedenlerle sınırlı olmayıp travma, aspirasyon, pankreatit, masif transfüzyon, inhalasyon hasarı ve diğer sistemik inflamatuvar süreçler gibi çeşitli etiyolojilere bağlı olarak gelişebilmektedir. Bu bağlamda ARDS, çok faktörlü bir patofizyolojik sürecin sonucu olarak gelişebilirken, Sİ-AAH'nin etiyopatogenezinde temel belirleyici faktör, doğrudan sepsis kaynaklı inflamatuvar yanıt olup, hastalığın ortaya çıkışında merkezi bir rol oynamaktadır (4).

2.2.2. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Epidemiyolojisi

Dünya genelinde her yıl yaklaşık 150.000-200.000 hasta Sİ-AAH nedeniyle hayatını kaybetmektedir (16). Sİ-AAH, yoğun bakım ünitelerinde mortalitenin başlıca nedenlerinden biri olarak öne çıkmaktadır. Sİ-AAH hastalarının mortalite oranlarının, sepsis dışı nedenlere bağlı akut akciğer hasarı görülen hastalara kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu bildirilmiş olup, her iki grup için 60 günlük mortalite oranları % 38,2 ve % 22,6 olarak saptanmıştır (17). Bunun yanı sıra, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, pulmoner hastalıklar ve karaciğer disfonksiyonu gibi altta yatan hastalıkları bulunan bireylerin Sİ-AAH'ye karşı daha savunmasız olduğu belirtilmektedir. Özellikle yaşlı hastalar ve bağışıklık fonksiyonu düşük bireylerde mortalite oranlarının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (18).

2.2.3. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Patogenezi

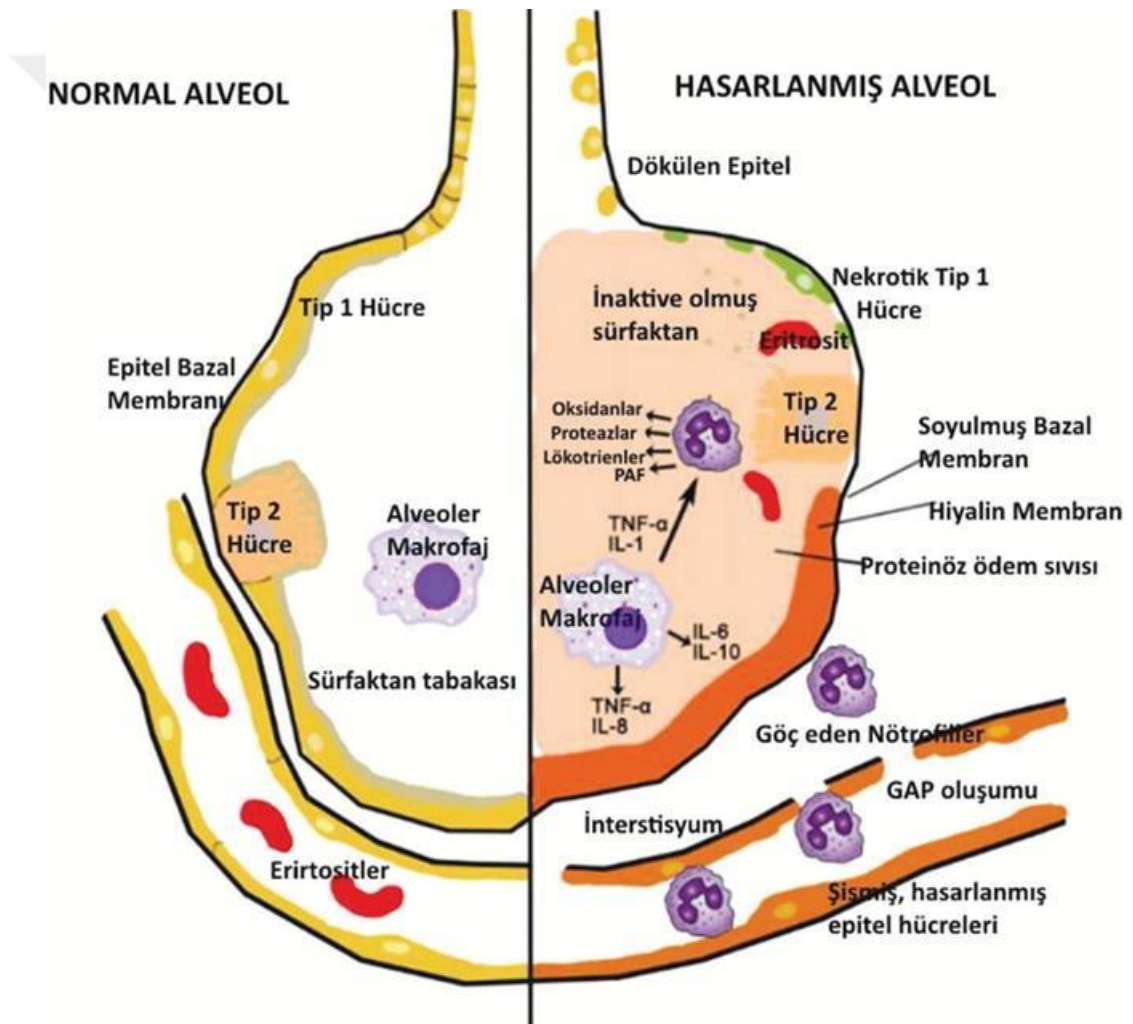
Sağlam akciğerde pek çok maddeye karşı seçici geçirgenlik endotel hücrelerindeki sıkı bağlantılar ile sağlanır. Alveoler epitel bariyeri, düz alveoler tip I hücreler ve kübik alveoler tip II hücrelerden oluşur. Alveoler tip II hücreleri, yüzey gerilimini azaltan, alveollerin açık kalmasını sağlayan ve gaz değişimini destekleyen yüzey aktif maddeler salgılar. Normal koşullarda, Alveoler tip I ve tip II hücreleri, iyon kanalları aracılığıyla havadan emilen fazla sıvıyı dışarı atabilir (19).

Akut solunum sıkıntısı sendromunda, pulmoner endotel hücrelerinin sıvı ve proteinlere karşı geçirgenliği artar, bu da pulmoner interstisyel ödemle sonuçlanır. Alveoler epitel bariyerinin bozulması, ödem sıvısının alveollere geçişini kolaylaştırır ve alveoler kılcal damarların sıvıya, proteinlere, nötrofillere ve eritrositlere geçirgenliğini artırır. Bu durum ARDS'nin tipik bir özelliği olarak karşımıza çıkar. Alveoler kılcal damar geçirgenliğindeki artış, ventilasyon-perfüzyon dengesizliğine ve alveoler ölü boşluk artışına yol açar; bu da klinik olarak ciddi hipoksemiye neden olur (20).

Sepsis ilişkili akut akciğer hasarında, patojenler epitel hücrelerini ve alveoler makrofajları hedef alarak doğuştan gelen bağışıklık yanıtını aktive eder. Bu süreç, nötrofiller ve monositlerin göçü ve agregasyonu ile tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 beta (IL-1 β) gibi inflamatuvar faktörlerin salınımıyla ilerler. Ayrıca

interlökin-6 (IL-6) salınımı alveoler kılcal bariyerin bütünlüğünü bozarak geçirgenliği artırır ve SI-AAH'nin gelişimine katkı sağlar (Şekil 2.1) (21).

Alveoler epitel hücrelerinin akciğer dokusu bariyerine sağladığı koruyucu etki nedeniyle, AAH'nin başlangıcı genellikle alveoler epitel hücrelerinin apoptozu ve alveoler duvar kılcal bariyerinin zarar görmesiyle ilişkilidir. Alveoler epitel hücrelerinin apoptoz mekanizmasının ve alveoler duvar kılcal bariyeri hasarının tedavisinde, solunum desteği, akciğer koruyucu ventilasyon, beslenme desteği, sıvı yönetimi, antioksidan ve anti-inflamatuvar ilaç kullanımı ile immünoterapiler yer alır (22).



Şekil 2.1. Akut Akciğer Hasarında Normal Alveol ile Hasarlı Alveolün Karşılaştırması (23)

PAF: Trombosit Aktive Edici Faktör, TNF-α: Tümör Nekroz Faktör-Alfa, IL: İnterlökin

2.2.3.1. İnflamasyon

İnsan vücudundaki inflammatuar hücreler, inflammatuar reaksiyonlara neden olabilen proinflammatuar sitokinler ve inflammatuar reaksiyonlarla savaşabilen antiinflammatuar sitokinler dahil olmak üzere çeşitli sitokinler salgılar. Proinflammatuar sitokinler ve antiinflammatuar sitokinler arasındaki denge, iç ortamın stabilitesini korumada önemli bir rol oynar. Dengesizlik durumunda, kontrolsüz SIRS meydana gelir. SIRS başlangıcı, Sİ-AAH'nin patogeneğinde esastır (2). Sepsis sürecindeki proinflammatuar sitokinler ve inflammatuar mediatörler esas olarak TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, trombosit aktive edici faktör (PAF) ve fosfolipaz A2'yi içerir (24). Bunlar arasında TNF- α , sepsis ve Sİ-AAH'nin önemli bir tetikleyicisidir. IL-6 ve IL-8 gibi proinflammatuar faktörlerin üretimini indükler ve kritik bir sitokin olarak rol oynar (25).

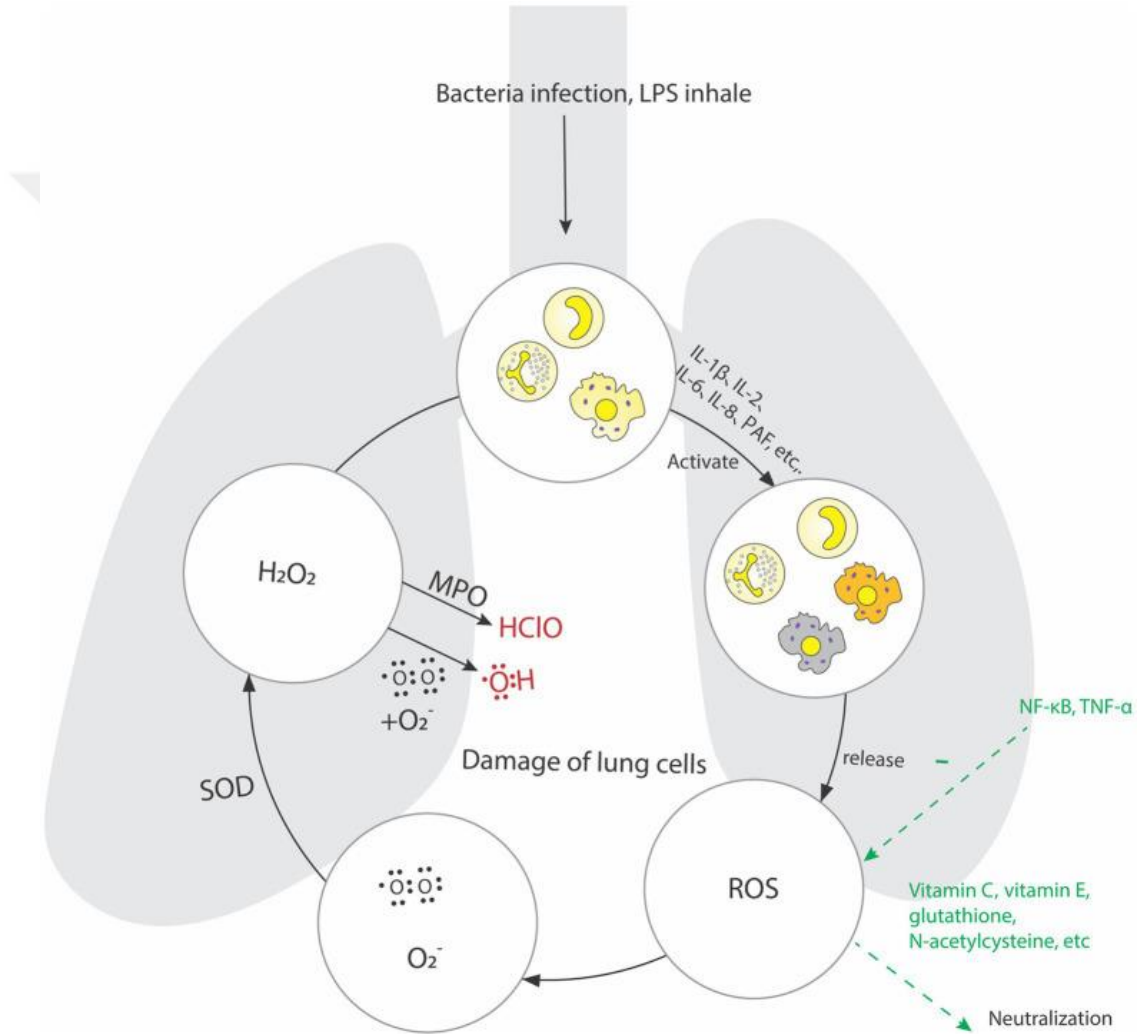
Sepsis ilişkili akut akciğer hasarının ilerlemesi sırasında, proinflammatuar ve antiinflammatuar tepkiler eş zamanlı olarak ortaya çıkar ve birbirleriyle iç içe geçer (Şekil 2.2) (26). Sİ-AAH'nin temel bileşenlerinden biri, endotel hücreleri ile çeşitli inflammatuar hücreler arasındaki etkileşimdir. Bu süreçte sitokinler ve inflammatuar faktörler, inflammatuar kaskadın önemli düzenleyicileri olarak rol oynar. Hücreler ve efektör moleküller arasındaki bu etkileşim, Sİ-AAH'deki birincil patofizyolojik değişiklik olarak durmaktadır. Sİ-AAH'de gözlemlenen inflamasyon hem ekzojen hem de endojen yollarla başlatılabilir. Ekzojen olarak LPS tarafından aktive edilen yollar, Toll-like reseptörleri (TLR) devreye sokarak inflammatuar yanıtı tetikler. LPS aracılı TLR-4 ve kaspaz-11 (veya insan kaspaz-4/5) kaskadı, proinflammatuar ve antiinflammatuar medyatörlerin üretimini artırabilir, piroptotik hücre ölümünü indükleyebilir ve bağışıklık disfonksiyonuna neden olabilir. Buna karşılık endojen yollar öncelikle, lokal inflammatuar hücreler veya ölmekte olan hücreler tarafından salınan ve hasarla ilişkili moleküler paternler (DAMP) olarak bilinen tehlike sinyali moleküllerini içerir. Bu DAMP'ler, IL-6, IL-10 ve IL-33 gibi çeşitli reseptörlere bağlanarak bağışıklık hücrelerinin toplanmasını ve aktivasyonunu sağlar (27).

2.2.3.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stresin Sİ-AAH'nin ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Normal fizyolojik koşullar altında reaktif oksijen türleri (ROS), hücre sinyalizasyonu, translasyon sonrası protein işlenmesi, konak savunması, gen ifadesi düzenlemesi ve hücre farklılaşması dahil olmak üzere çeşitli hücresel işlevler için gereklidir. Ancak aşırı ROS üretimi endotel disfonksiyonuna ve endotel hücre ölümüne neden olabilir. Pulmoner vasküler endotel hücrelerin disfonksiyonu ve ölümü, artan vasküler geçirgenliğe ve hatta vasküler yıkıma neden olabilir. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NOX) protein ailesi, ROS'un başlıca enzimatik kaynağıdır ve endotel hücrelerinde dört farklı NOX izoformu ifade edilmektedir. Bunlar NOX1, NOX2, NOX4 ve NOX5'tir. NOX'un aktivasyonu, süperoksit, hidroksil radikalleri ve peroksinitrit dahil olmak üzere ROS üreterek endotel hücre disfonksiyonuna yol açar (27).

Normal şartlar altında, vücut metabolik reaksiyonlar ve enzim katalizi sırasında sürekli olarak ROS üretir. Ancak mevcut enzim sistemleri sayesinde bu ROS'lar dengede tutulabilir ve temizlenebilir. Vücutta ROS'un aşırı üretimi veya bu türleri temizleyen enzimlerdeki azalma, lipid, protein ve nükleik asit metabolizmasını etkileyerek oksidasyon ve antioksidan sistemler arasında dengesizliğe yol açabilir ve hücresel hasara neden olabilir. Araştırmalar, aşırı ROS üretiminin AAH'ye neden olabileceğini, hücre hasarını artırabileceğini, pro-apoptotik sinyal yollarını aktive edebileceğini ve nihayetinde alveoler epitel ve endotel hücrelerinin ölümüne yol açabileceğini göstermiştir (29). Akciğer hasarının gelişimini takiben ödem, iskemi ve hipoksi, hücrelerde mitokondriyal disfonksiyona yol açarak yoğun miktarda ROS üretimine neden olabilir. Vücudun serbest radikalleri temizleme kapasitesi sınırlıdır. Akciğer dokusunda biriken yüksek miktarda ROS, pulmoner vasküler geçirgenliğin ve hücresel hasarın artmasına katkıda bulunur ve bu durum sonucunda pulmoner ödem ile akciğer hasarına yol açabilir (Şekil 2.3) (30). Güncel çalışmalar, oksidan madde birikiminin total oksidan kapasite (TOS), antioksidan savunma sisteminin total antioksidan kapasite (TAS) ve hücresel düzeyde oksidatif stres dengesizliğinin ise oksidatif stres indeksi (OSİ; TOS/TAS oranı) ile değerlendirildiğini ortaya koymaktadır. Oksidatif stresin, hücresel ve doku düzeyinde inflamatuvar süreçleri başlatan ve sürdüren önemli bir faktör olduğu iyi bilinmektedir. Artan TOS

seviyeleri, ROS ve reaktif azot türlerinin aşırı üretimine neden olarak lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı gibi hücresel bozulmalara yol açabilir. Buna karşılık antioksidan kapasitenin azalması (TAS düşüklüğü), hücresel savunma mekanizmalarının yetersizliğini göstererek inflamatuvar yanıtın şiddetlenmesine katkıda bulunabilir. Sonuç olarak TOS/TAS oranı ile hesaplanan OSI değerinin yükselmesi, inflamasyonun daha belirgin hale gelmesine ve bu sürecin doku hasarını artırmasına neden olabilir (31).



Şekil 2.3. Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı-ROS İlişkisi (2)

LPS: Lipopolisakkarit; H₂O₂: Hidrojen Peroksit; MPO: Myeloperoksidaz; HClO: Hipokloröz Asit; O₂⁻: Süperoksit Anyonu; ROS: Reaktif Oksijen Türleri; NF-κB: Nükleer Faktör Kappa B; TNF-α: Tümör Nekroz Faktörü-Alfa; IL: İnterlökin; PAF: Trombosit Aktive Edici Faktör; SOD: Süperoksit Dismutaz

2.2.3.3. Akut Akciğer Hasarı ve Apoptoz İlişkisi

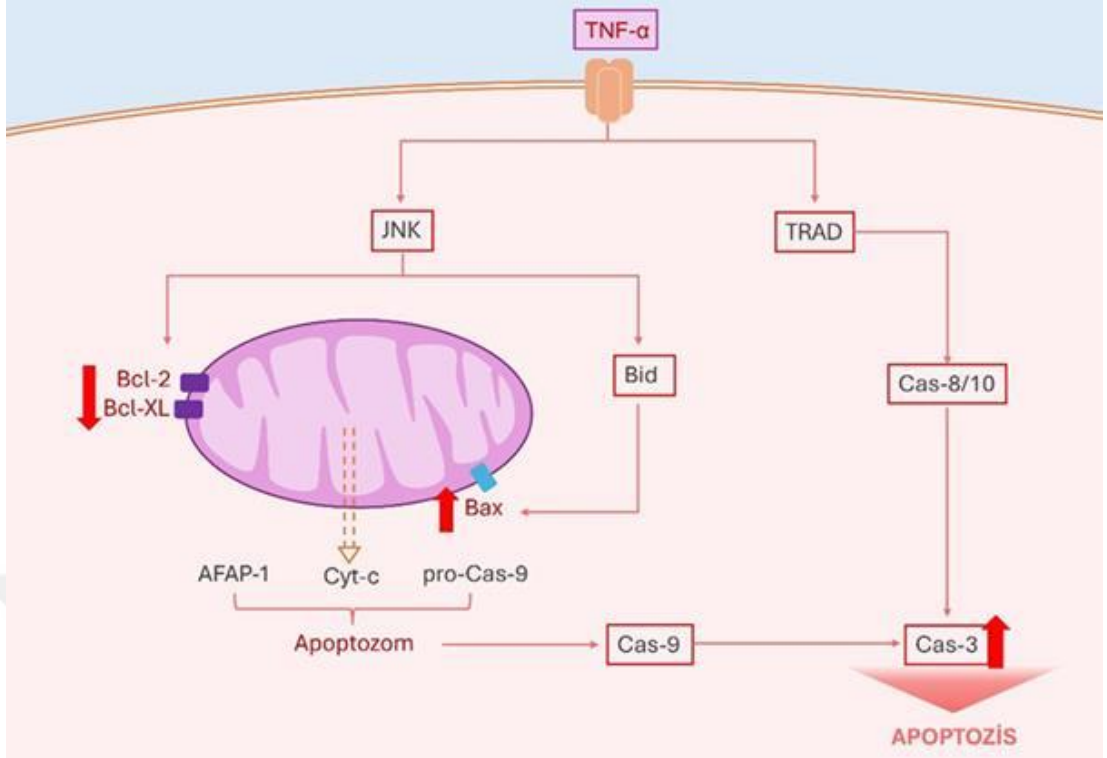
Apoptoz, belirli ölüm sinyali yollarının aktive olmasıyla dokudan hücrelerin kontrollü bir şekilde elimine edildiği programlanmış bir hücrel ölüm sürecidir. Bu ölüm sinyali yolları; reseptör-ligand etkileşimleri, ultraviyole ışık, redoks potansiyeli gibi çevresel faktörler ve genomda kodlanan içsel faktörlere yanıt olarak aktive olabilir. Apoptoz süreci, DNA'nın parçalanmasına, hücre hacminde küçülmeye ve apoptotik hücrelerin çevredeki fagositler tarafından temizlenmesine neden olur. Apoptozun uygunsuz şekilde aktive edilmesi veya inhibe edilmesi, istenmeyen hücrelerin hayatta kalmasına ya da gerekli hücrelerin erken ölmesine yol açarak çeşitli hastalıkların gelişimine zemin hazırlayabilir. Ayrıca, nötrofiller gibi apoptotik hücrelerin fagositozu, akciğer makrofajlarının aktivasyon fenotipinde değişikliklere neden olabilir. Apoptozun önemi, bu süreçte yer alan birçok basamağın terapötik müdahalelere açık olmasından kaynaklanmaktadır (32).

Apoptozun akut akciğer hasarı patogenezindeki rolünü açıklamak amacıyla nötrofilik ve epitelyal hipotez olmak üzere iki temel görüş öne sürülmüştür. Nötrofilik hipotez, nötrofil apoptozunun inflamasyonun çözülmesinde kritik bir rol oynadığını ve apoptotik nötrofillerin temizlenmesinin inhibisyonunun AAH üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğini savunur. Epitelyal hipotez ise AAH sırasında gözlemlenen epitel hasarının çözünür Fas ligandı (FasL) gibi mediyatörlere yanıt olarak alveoler epitel hücrelerinde gerçekleşen apoptozla ilişkili olduğunu öne sürer. Bu sürecin engellenmesinin, Sİ-AAH'nin önlenmesi veya tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmektedir. Bu iki hipotez birbirini dışlamamakta olup, her ikisi de AAH'nin patogenezinde önemli roller üstlenebilir (32).

Apoptoz, kaspaz (Cas) olarak bilinen enzimlerin aktivasyonu ile gerçekleşir. Bu süreç, proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki hassas dengenin korunmasına bağlıdır. Cas aktivasyonu, iki temel yolak üzerinden ilerler: mitokondriye bağlı intrinsik yolak ve ölüm reseptörü aracılı ekstrinsik yolak. Bu iki yolak, bazı durumlarda birbirleriyle kesişebilir de, genellikle farklı uyarıcılarla aktive olan, farklı moleküler mekanizmaları içeren ve çeşitli fizyolojik ya da patolojik süreçlerde farklı roller üstlenen ayrı apoptoz mekanizmalarıdır (33).

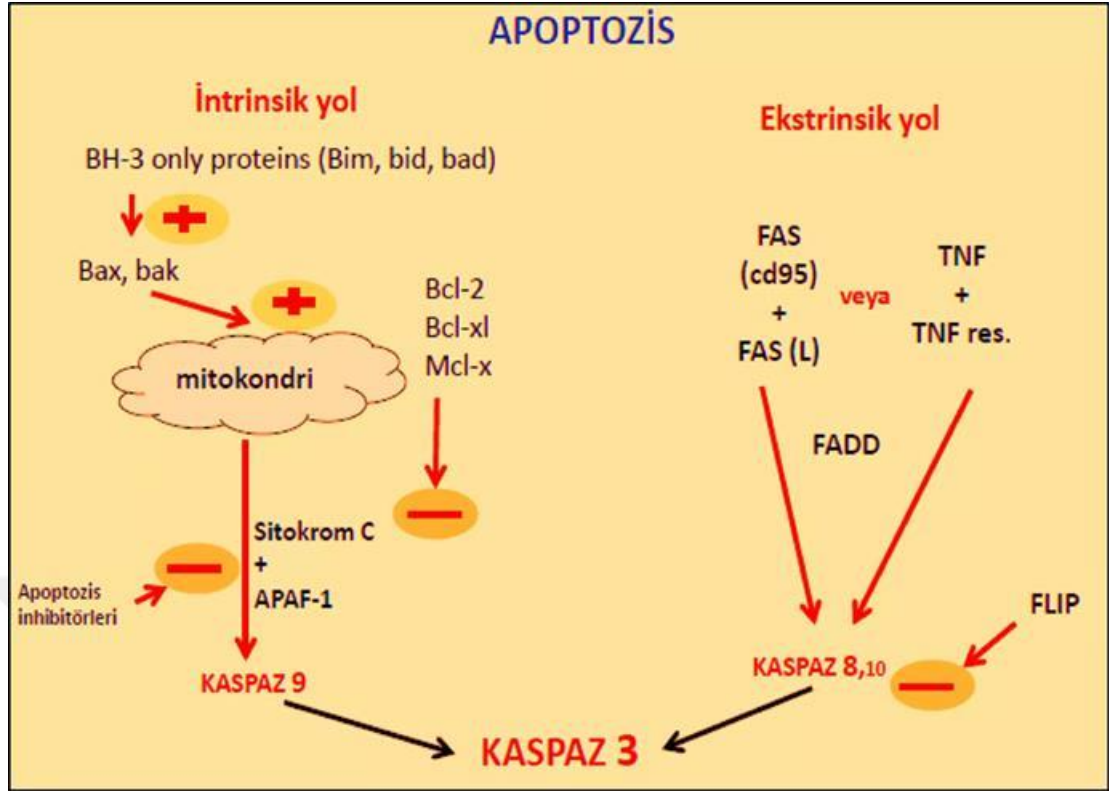
Apoptozun ölüm reseptörü aracılı ekstrinsik yolu, hücre yüzeyinde bulunan ve apoptoz sürecini başlatan ölüm reseptörleri ile başlar. Bu reseptörler genellikle TNF reseptör ailesine aittir. Tip 1 TNF reseptörü ve Fas, bu reseptörlerin prototip örnekleri arasında yer almaktadır. FasL, çoğunlukla aktive olmuş T lenfositlerin yüzeyinde bulunan bir membran proteinidir. T hücreleri, Fas reseptörü taşıyan hedef hücreleri tanıdığı anda, FasL ile Fas arasında çapraz bağlanmalar meydana gelir. Bu etkileşim, adaptör proteinlerin katılımıyla ölüm indükleyici bir kompleksin oluşmasına yol açar. Bu kompleks, Cas-8 enzimini aktive eder. Cas-8, birçok hücrede B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ailesinin pro-apoptotik üyesi olan BH3 interacting domain death agonist (Bid) proteinini hedef alarak parçalar ve böylece mitokondriyal (intrinsik) apoptoz yolunu aktive eder. Bu iki apoptoz yolunun eş zamanlı olarak çalışması, hücre için geri dönüşü olmayan bir ölüm sinyali oluşturur (34).

Apoptozun mitokondriyal (intrinsik) yolu, Bcl-2 ailesi proteinleri tarafından düzenlenir. Bu protein ailesi, hem pro-apoptotik (örneğin Bax ve Bid) hem de anti-apoptotik (örneğin Bcl-2 ve Bcl-XL) proteinleri içerir. Bu proteinler arasındaki denge, hücrenin apoptotik uyarılara karşı duyarlılığını belirler. DNA hasarı, oksidatif stres, büyüme faktörlerinin eksikliği, hipoksi ve UV ışını gibi çeşitli stres faktörleri apoptozu tetikleyebilir. Ayrıca TNF- α sinyal yolu da bu süreçte önemli bir rol oynar (Şekil 2.4) (34, 35). İnflamasyon sırasında salınan TNF- α , Jun N-terminal kinaz (JNK) adlı sinyal molekülünü fosforilasyon yoluyla aktive eder. Aktif JNK, Bcl-2 ailesine ait BH3 proteinlerini fosforile ederek Bcl-2 ve Bcl-XL gibi anti-apoptotik proteinlerin işlevini baskılar. Bunun yanı sıra JNK, Bid ve Bax üzerinden mitokondri iç zarından sitokrom C salınımını teşvik eder. Sitokrom C, apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (Apaf-1) ve Cas-9 ile birlikte apoptozom kompleksini oluşturur. Bu kompleks, Cas-9 aracılığıyla kaspaz kaskadını başlatarak Cas-3 aktivasyonunu sağlar. Cas-3'ün etkinleşmesiyle birlikte apoptoz, yani programlanmış hücre ölümü gerçekleşir (Şekil 2.5) (34, 36).



Şekil 2.4. TNF- α Üzerinden Mitokondriyal Stres ve Apoptoz Yolağının Tetiklenmesi (35)

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü-Alfa; TRAD: TNF Reseptörü İlişkili Ölüm Alanı; JNK: c-Jun N-terminal Kinaz; Bcl-2: B-Cell Lymphoma 2; Bcl-XL: B-Cell Lymphoma Extra Large; Bax: Bcl-2 Associated X Protein; Bid: BH3 Interacting Domain Death Agonist; Cyt-c: Sitokrom c; APAF-1: Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör 1; Cas: Kaspaz



Şekil 2.5. Apoptozun Ekstrinsik ve İntrinsik Yolakları (36)

BH-3: Bcl-2 Homology Region 3; Bim: Bcl - 2 ile Etkileşimli Hücre Ölümü Aracısı; Bid: BH3 Interacting Domain Death Agonist; Bad: Bcl-2 Associated Death Promoter; Bcl-2: B-Hücreli Lenfoma 2; Bax: Bcl-2-İlişkili X Proteinini; Bak: Bcl-2 İlişkili Ölümcül Protein; Bcl-xl: B-Hücreli Lenfoma-Extra Large; Mcl-x: Myeloid Hücreli Lösemi-X; APAF-1: Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör 1; TNF: Tümör Nekrozis Faktör; FAS (L): FAS Ligandı; FADD: FAS ile İlişkili Ölüm Alanı Protein; FLIP: FADD Benzeri İnhibitor Protein

Hücrel stres yanıtının önemli bir bileşeni olan Heat Shock Protein 70 (HSP-70), hücreleri çeşitli stres faktörlerine karşı korumada temel bir rol üstlenmektedir. HSP-70, proteinlerin doğru katlanmasını sağlamak, yanlış katlanmış proteinlerin birikimini önlemek ve hücrel homeostazı desteklemek gibi işlevlere sahiptir (37). AAH patogeneğinde, inflamatuvar yanıtın şiddetlenmesi ve oksidatif stresin artması sonucunda hücrel hasar meydana gelirken, HSP-70 ekspresyonunun artması, hücrel stresin azaltılmasında ve hasarlı hücrelerin korunmasında önemli bir adaptif mekanizma olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, HSP-70'in inflamatuvar yanıtı modüle ederek pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımını baskıladığı, hücre ölümünü önlediği ve apoptoz sürecini regüle ettiği bildirilmektedir. Bu bağlamda, HSP-70'in AAH'deki ekspresyonunun artması, akciğer dokusunun korunması ve inflamasyonun hafifletilmesinde kritik bir role sahip olabilir (38). Yapılan çalışmalarda, HSP-70'in

LPS ile oluşturulan sepsis modellerinde anlamlı düzeyde arttığı, bu artışın sistemik inflamatuvar yanıtın şiddeti ve hücrel stres düzeyi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Özellikle sepsise bağlı gelişen AAH gibi durumlarda, HSP-70 ekspresyonundaki artışın doku hasarının göstergelerinden biri olarak değerlendirilebileceği belirtilmektedir (38, 39).

2.3. Sepsis ve Sepsis İlişkili Akut Akciğer Hasarı Klinik Yönetimi

Antimikrobiyal tedavi, sepsis ve septik şok tedavisinin temel basamaklarından biridir. Sepsis tanısının konulmasının ardından uygun kültür örneklerinin toplanmasıyla birlikte hızlı ve ampirik antimikrobiyal tedavinin başlatılması, farmakolojik tedavi sürecinde kritik bir adımdır. Mikrobiyolojik örnekler, acil servise kabulde mümkün olan en kısa sürede değerlendirilmelidir. Bu örnekler, klinik değerlendirmeye göre uygun görülen diğer bölgelerden alınan kan, sıvı veya doku örneklerini (örneğin idrar veya beyin omurilik sıvısı) içermelidir. Özellikle septik şok vakalarında, her bir saatlik tedavi gecikmesi mortalitede anlamlı bir artışla ilişkilidir. Güncel kılavuzlar, sepsis şüphesinin yüksek olduğu ya da şok tespit edilen hastalarda, antimikrobiyal tedavinin derhal ve ideal olarak ilk saat içerisinde uygulanmasını önermektedir. Şok belirtileri bulunmayan ve sepsis riskinin düşük ile orta olduğu durumlarda ise enfeksiyon şüphesi devam ediyorsa, enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan nedenlerin değerlendirilmesinin ardından en geç 3 saat içinde antimikrobiyal tedavi uygulanması önerilmektedir (40).

Tedavinin ikinci basamağı sıvı resüsitasyonudur. Sepsiste, glikokaliks yapısının bozulmasına bağlı olarak şiddetli vazopleji gelişebilir ve bu durum distribütif şoka yol açabilir. Hemodinamik fonksiyonların etkili bir şekilde desteklenmesi, sepsis ve septik şok hastalarının hayatta kalması için hayati öneme sahiptir. Geçmişte, septik hastalarda 'ideal' tedavi yaklaşımı, yüksek hacimli sıvı resüsitasyonuna dayanıyordu. Ancak son yıllarda bu yaklaşım giderek daha fazla sorgulanmaktadır. Çünkü hemodinamik stabilizasyonun sağlanması, her zaman mikrosirkülasyon perfüzyonunun iyileşmesi ile sonuçlanmayabilir. Bu durumun temel nedenlerinden biri mikrovasküler disfonksiyondur; çünkü kardiyovasküler parametrelerin düzelmesi, mikrosirküler dolaşımda yeterli oksijen sunumunu garanti etmez. Ayrıca, glikokaliks yapısındaki bozulmalar ve endotel disfonksiyonu,

özellikle agresif sıvı tedavisi ve vazopresör kullanımı gibi müdahalelerle daha da kötüleşebilir. Bu nedenle günümüzde hastaya özgü, hedefe yönelik resüsitasyon stratejileri daha fazla önem kazanmaktadır. Septik hastalarda uygulanması gereken toplam sıvı miktarı hâlâ tartışmalı olmakla birlikte, SSC septik hastalarda ilk 3 saat içinde en az 30 mL/kg intravenöz (i.v.) kristaloid sıvı tedavisi uygulanmasını önermektedir (41).

İnotropik ilaçların kullanımı, septik şok tedavisinin temel basamaklarından birini oluşturur. Bu ciddi ve yaşamı tehdit eden durumun patogenezi, vazomotor tonusun kaybı ile ilişkili sistemik vazodilatasyon ve hipotansiyon gelişimiyle yakından ilişkilidir. Ortalama arter basıncının (MAP) 60-65 mmHg düzeyinin, artmış morbidite ve mortalite riski için bir eşik olarak kabul edilmesi nedeniyle, SSC 65 mmHg'lik bir MAP hedefini önermekte ve ilk tercih edilen vazopresör ajan olarak norepinefrini önermektedir. Vazopressin, septik şok tedavisinde ikinci basamak ilaç olarak değerlendirilmekte olup, SSC önerilerine göre hedef MAP seviyesine ulaşmak amacıyla norepinefrine ek olarak uygulanabilir. Epinefrin ise, septik şok tedavisinde üçüncü basamak ilaç olarak düşünülmeli ve kullanımı, norepinefrin ve vazopressin tedavisine rağmen yeterli MAP seviyelerinin sağlanamadığı vakalarla sınırlı olmalıdır (41).

Surviving Sepsis Campaign, 2021 yılında yayınladığı son güncellemesinde, sepsisin temel tedavilerinin yanı sıra birçok öneride bulunmuştur. Beslenme ile ilgili olarak, düşük öneri düzeyi ve çok düşük kanıt kalitesi vurgulanarak, enteral olarak beslenebilen sepsis veya septik şoklu yetişkin hastalarda, enteral beslenmenin erken dönemde (72 saat içinde) başlatılması önerilmektedir. Mevcut fizyolojik veriler göz önüne alındığında, erken beslenmenin olası faydaları ve görünür bir zararının bulunmaması nedeniyle, sepsis ve septik şoklu hastalarda beslenmeye erken başlanması yönünde zayıf bir öneride bulunulmuştur. Bununla birlikte, sepsis ve septik şoklu hastalarda beslenme stratejilerini değerlendiren daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (41).

2.3.1. Sepsiste Beslenme Tedavisi

Sepsiste beslenme tedavisi, kritik hastalardaki standart beslenme yaklaşımlarından farklı olup, oldukça zorlu bir süreçtir. Enfeksiyonun neden olduğu

düzensiz konak yanıtı, mitokondriyal işlevi bozarak metabolik kapasiteyi sınırlayabilen ilerleyici fizyolojik değişikliklere yol açabilir. Kalori ve protein hedeflerini karşılamak amacıyla enteral ve parenteral beslenme yöntemleri eş zamanlı olarak kullanılabilir. Beslenme yönetimi, beslenme yaklaşımını ve tedavisini optimize etmeye yönelik tüm müdahaleleri kapsar ve tüm septik hastalarda uygulanması gereken önemli bir süreçtir. Ancak zamanla, aşırı inflamasyon ve/veya immün baskılanmaya bağlı olarak gelişen derin hücresel metabolik bozukluklar ve organ disfonksiyonu, beslenme yönetimini zorlaştırabilir (42).

2.3.1.1. Sepsiste Enteral ve Parenteral Beslenme

Enteral beslenme, parenteral beslenmeye kıyasla daha düşük maliyetlidir ve teorik olarak en fizyolojik beslenme yöntemi olarak kabul edilir. Enteral beslenme, gastrointestinal kan akışını iyileştirir, bağırsak mukozal bütünlüğünü korur, enzimatik süreçleri uyarır ve sistemik bağışıklık yanıtını güçlendirir. Septik hastalarda enteral beslenmenin klinik faydaları arasında bakteriyel translokasyonun ve stres ülserlerinin önlenmesi yer alabilir. Ayrıca, santral venöz erişim gerektirmemesi ve parenteral beslenmenin istenmeyen etkilerinden (hiperglisemi, hiperlipidemi, yağlı karaciğer vb.) kaçınılabilmesi nedeniyle daha güvenli bir beslenme yöntemi olarak değerlendirilir. Bununla birlikte, enteral beslenmenin bazı olumsuzlukları da bulunmaktadır. Düzensiz emilim nedeniyle beslenme yetersizliği gelişebilir. Gastrik içeriğin pılordan geçişinde gecikme (örneğin yavaş gastrik boşalma, ileus vb.) aspirasyon riskini artırabilir. Ayrıca, kusma ve ishal gibi geçiş sorunları enteral beslenmeyi engelleyebilir ve bağırsak iskemisi, yaralanma veya obstrüksiyon durumlarında kontrendike olabilir. Özellikle septik şok hastalarında, hipoperfüze bağırsaklara aşırı sindirim yükü binmesi, bağırsak iskemisi riskini artırabilir (43).

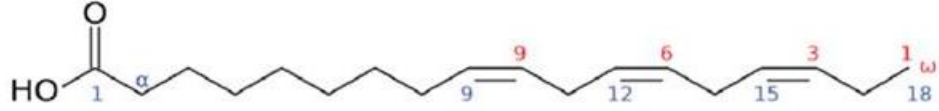
Yapılan bir randomize kontrollü çalışmada, septik şokun akut fazı sırasında tam enteral beslenmeden kaçınılması gerektiği bildirilmiştir. Bu dönemde, parenteral beslenme daha güvenli bir yaklaşım olarak değerlendirilebilir. Parenteral beslenmeye başlamak için en uygun zaman hâlâ tartışmalı olmakla birlikte, enteral beslenmenin 3 ile 7 gün içinde kalori hedeflerine ulaşamaması durumunda, yetersiz beslenme riski taşıyan hastalarda ek parenteral beslenme düşünülmelidir (44). Kontrolsüz şok,

kontROLSÜZ hipoksemi ve asidoz, Avrupa Yoğun Bakım Tıbbı Derneği'nin (ESICM) uygulama kılavuzunda erken enteral beslenme için kontrendikasyonlar arasında yer almaktadır (45).

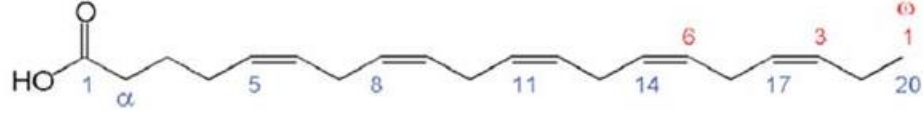
Sepsis gibi kritik hastalıklar sırasında, artan enerji ihtiyacını karşılamak ve bağışıklık sisteminin etkinliğini sürdürebilmek için metabolik süreçlerde belirgin değişiklikler meydana gelir. Bu süreçte, enerji üretimi ve gerekli substratların yönlendirilmesi sağlanırken, glukoneogenezde artış, insülin direncinin gelişimi ve katabolizmanın hızlanması gibi metabolik adaptasyonlar gözlemlenir. Bu değişiklikler, organizmanın hücresel enerji dengesini koruma ve homeostazı sürdürme çabasının bir parçasıdır. Ancak bu yanıtlar, özellikle kas, cilt, gastrointestinal dokular ve kemikler gibi dokularda protein kaybına neden olabilir. Beslenme desteği, negatif enerji ve protein dengesini telafi etmede önemli bir rol oynar. Kritik hastalarda lipitlerin uygulanması, beslenme desteğinin temel bileşenlerinden biridir. Lipitler, hepatositler, miyokard ve iskelet kası için primer enerji substratlarıdır; çünkü yağ asitlerinin kritik koşullarda kullanımı artar (46).

2.4. Omega-3

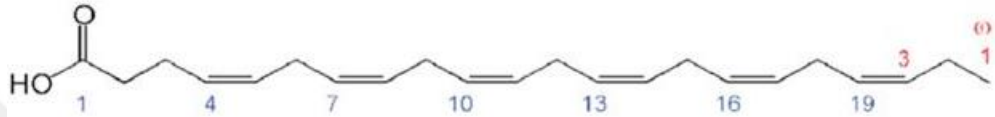
Omega-3 yağ asitleri, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) grubuna ait olup, kimyasal yapılarında ilk çift bağın metil ucundan itibaren üçüncü karbon atomunda bulunmasıyla tanımlanır. Bu yağ asitleri, hücre membranlarının yapısal bütünlüğünü koruma, inflamasyonun düzenlenmesi ve kardiyovasküler sağlığın desteklenmesi gibi önemli biyolojik işlevlere sahiptir. En önemli omega-3 yağ asitleri ise eikosapentaenoik asit (EPA; 20:5 n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA; 22:6 n-3) olarak kabul edilmektedir (Şekil 2.6) (47, 48).



a. α -linolenic acid (18:3, n-3; ALA)



b. Eicosapentaenoic acid (20:5, n-3; EPA)



c. Docosahexaenoic acid (22:6, n-3; DHA)

Şekil 2.6. Omega-3 Yağ Asitleri Kimyasal Yapısı (47)

α : Karboksil grubuna en yakın karbon atomu; ω : hidrokarbon zincirinin sonundaki metil grubunun karbon atomu

Septik hastalar, besin ihtiyaçlarının büyük bir kısmını parenteral yolla karşılamaktadır. Son yıllarda, parenteral beslenmenin yalnızca enerji ve temel yapı taşlarını sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda biyoaktif moleküller (örneğin yağ asitleri) de sağlayabileceğinin anlaşılmasıyla, lipid bileşenlerine olan ilgi artmıştır. Geleneksel olarak kullanılan lipid emülsiyonları, omega-6 yağ asidi olan linoleik asit açısından zengin soya fasulyesi yağına veya orta zincirli doymuş yağ asitleri açısından zengin bitkisel yağ ile soya fasulyesi yağının %50:50 oranındaki karışımına dayanır. Bu tür karışımlar genellikle orta zincirli ve uzun zincirli trigliseritlerin karışımını ifade eden MCT/LCT olarak adlandırılır. Son yıllarda, çok uzun zincirli omega-3 yağ asitleri içeren balık yağı da bazı lipid emülsiyonlarının bileşimine dahil edilmiştir. Bu uygulamanın temel dayanağı, omega-3 yağ asitlerinin inflamatuvar yanıtı düzenleyici etkileridir. Özellikle, aşırı veya dengesiz omega-6 yağ asidi alımının destekleyebileceği inflamatuvar süreçleri modüle ederek inflamasyonu azaltıcı bir mekanizma ile etki göstermeleri, bu bileşimlerin kullanımını destekleyen önemli faktörlerden biridir (49). Omega-6 yağ asidi açısından zengin bitkisel yağlarla karşılaştırıldığında, balık yağı deney hayvanlarında endotokseminin metabolik belirtilerini azaltmakta, plazma sitokin konsantrasyonlarını düşürmekte ve sağkalımı

iyileştirmektedir (50). Ancak yoğun bakım ünitesindeki (YBÜ) septik hastalarda balık yağı içeren lipid emülsiyonlarına ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Tappy ve arkadaşları (ark.), parenteral balık yağı uygulamasının iyi tolere edildiğini ve kritik hastalarda yalnızca sınırlı metabolik etkilere sahip olduğunu göstermiştir (51). Bununla birlikte, total parenteral beslenme gerektiren yoğun bakım hastalarında yapılan başka bir çalışmada, balık yağı kullanımının daha iyi karaciğer fonksiyonları ve iyileştirilmiş antioksidan durumu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (52). Soya yağı ve balık yağı karışımı alan septik hastalarda, yalnızca soya yağı alanlara kıyasla kültürde monositler tarafından TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve IL-10 üretiminde azalma gözlemlenmiş ve inflamasyonun azaldığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (53, 54). TPN, enteral beslenmeyi tolere edemeyen hastalarda yaşam kalitesini ve sağkalımı önemli ölçüde iyileştirmiştir. Ancak birçok tıbbi faydasına rağmen TPN, karaciğer steatozu, kolestaz ve fibrozis gibi çeşitli olumsuz sonuçlarla ilişkilendirilmektedir. TPN'de kullanılan lipid emülsiyonları, içeriklerinde bulunan n-3 ve n-6 yağ asitleri, fitosterol konsantrasyonu ve E vitamini düzeyleri açısından farklılık göstermektedir. Yaygın olarak kullanılan lipid emülsiyonları arasında Intralipid®, Omegaven® ve Smoflipid® bulunmaktadır. Intralipid®, omega-6 yağ asitleri açısından zengin lipidlerden oluşurken, Omegaven® omega-3 yağ asitlerinden, Smoflipid® ise her iki lipid türünü içeren bir emülsiyon olarak kullanılmaktadır. n-3 yağ asitlerinin, n-6 yağ asitlerinden türetilen proinflamatuvar eikosanoidlerin üretimini azaltarak ve n-3 yağ asitlerinden türetilen antiinflamatuvar eikosanoidlerin üretimini artırarak inflamasyonu modüle ettiği düşünülmektedir (55).

Omega-3 kullanımının farklı moleküler etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış olsa da, özellikle Sİ-AAH'de apoptotik yollar aracılığıyla akciğer hasarına etkileri konusunda literatürde yeterli çalışma bulunmamaktadır. Omega-3'ün sistemik inflamasyonu geriletici etkileri bilinmekle birlikte, moleküler düzeydeki farklı özelliklerinin aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle Omega-3'ün süreçle bağlantılı olarak özellikle hücre ölümü üzerindeki detaylı etkilerini araştırmak, bu tezin temel hipotezini şekillendirmektedir.

2.5. Sepsis Oluşturmak için Kullanılan Hayvan Deneyi Modelleri

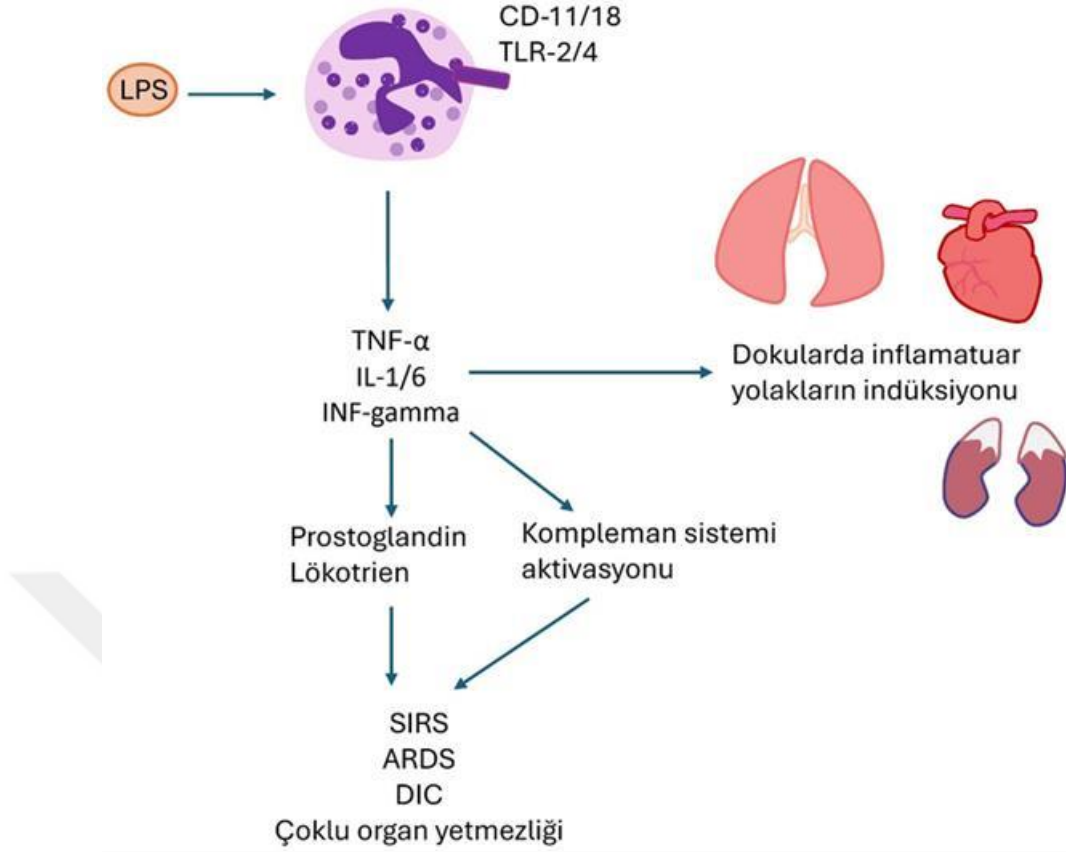
Sepsis oluşturmak amacıyla kullanılan hayvan modelleri, literatürde üç temel kategori altında sınıflandırılmaktadır:

1. LPS enjeksiyonu gibi eksojen toksinler ile oluşturulan sepsis modelleri
2. Fekal sepsis modelleri
3. Eksojen bakterinin enjeksiyonu ile oluşturulan sepsis modeli

Bu modellerin her biri, sepsis patogenezinin farklı yönlerini aydınlatmak ve potansiyel tedavi yaklaşımlarını değerlendirmek amacıyla deneysel araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (56).

2.5.1. Lipopolisakkarit Enjeksiyonu Gibi Eksojen Toksinler ile Oluşturulan Sepsis Modelleri

Gram-negatif bakteri hücre duvarının temel bileşeni olan endotoksin veya LPS, sepsis sürecini başlatmaktan sorumlu çeşitli hücre tiplerinden inflamatuvar mediatörlerin salınımını uyarır (Şekil 2.7). LPS, TLR-4 ifade eden hücrelere bağlanarak inflamatuvar bir yanıtı uyarır. Dolaşımdaki LPS, zar-bağlı ko-reseptör CD14 tarafından tanınan LPS bağlayıcı proteine (LBP) bağlanır. Bu, LPS'nin bir zar proteini olan miyeloid farklılaşma proteini-2'ye (MD-2) ve iki sinyalleme kaskadı aktive eden TLR-4'ün hücre dışı kısmına bağlanmasına izin verir. LPS, üreticilerden toz formunda temin edilmekte olup, deneysel model oluşturmak amacıyla suda çözülerek periton içine veya damar yoluyla uygulanır. Literatürdeki çalışmalarda, hayvan türü, kullanılan bakteri suşu ve sepsisin şiddetine bağlı olarak verilen LPS dozunun 0,5 mg/kg'dan 80-100 mg/kg'a kadar geniş bir aralıkta değiştiği bildirilmiştir (57-60).



Şekil 2.7. LPS'nin Sepsis Üzerine Etki Mekanizması (60)

LPS: Lipopolisakkarit; CD-11/18: Cluster of Differentiation 11/18; TLR-2/4: Toll-like Reseptör 2 ve 4; TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü Alfa; IL-1/6: İnterlökin-1 ve 6; INF-gamma: İnterferon-Gamma; SIRS: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu; ARDS: Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu; DIC: Dissemine İntravasküler Koagülopati

2.5.2. Fekal Sepsis Modelleri

İntraperitoneal sepsis modeli, insan sepsis patofizyolojisini en iyi yansıtan deneysel modellerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu amaçla yaygın olarak kullanılan üç temel model bulunmaktadır: Çekal Ligasyon ve Ponksiyon (CLP), Çekal Süspansiyon (CS) ve Kolon Asendan Stent Peritoniti (CASP) modelleri (61).

Çekal Ligasyon ve Ponksiyon modeli, günümüzde en sık tercih edilen ve literatürde 'altın standart' olarak kabul edilen sepsis modelidir. İnsan sepsisi ile gösterdiği benzerlikler nedeniyle yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bu benzerlikler arasında lökopeni, trombositopeni, hipotansiyon, proinflamatuvar sitokin düzeylerinde artış ve organ fonksiyon bozukluğunu yansıtan biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler yer almaktadır. CLP modeli, orta hat insizyonu ile gerçekleştirilen basit bir cerrahi girişimle oluşturulmaktadır (61).

Çekal Süspansiyon modeli ise bazı araştırmacılar tarafından tercih edilen bir diğer intraabdominal sepsis modelidir. Bu yöntemde, belirli miktarda çekal içerik periton boşluğuna inoküle edilmekte ve bu durum CLP modeline kıyasla daha güçlü ancak daha kısa süreli bir erken inflamatuvar yanıt ile sonuçlanmaktadır (61).

Kolon Asendan Stent Peritoniti modeli ise farelerde sepsis oluşturmak amacıyla geliştirilmiş daha yeni bir yöntemdir. Bu teknikte, orta hat laparotomisi sonrasında asendan kolon segmentine küçük bir stent yerleştirilerek, kolon içeriğinin periton boşluğuna sürekli olarak sızması sağlanır. Bu yöntem, devamlı dışkı kaçağı nedeniyle uzun süreli ve stabil bir peritonit modeli oluşturulmasına olanak tanımaktadır (61).

2.5.3. Eksojen Bakterinin Enjeksiyonu ile Oluşturulan Sepsis Modeli

Canlı bakterilerin peritoneal boşluğa veya damar yoluyla uygulanmasına dayanan bu sepsis modeli, deneysel çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. En sık tercih edilen bakteri türü *Escherichia coli* olup, uygulanan bakteri miktarı genellikle 6×10^5 ile $2,5 \times 10^{10}$ koloni oluşturan birim (CFU) arasında değişmektedir. Enjeksiyon sonrasında, 48 saat içinde hayvanlarda %50-90 arasında değişen mortalite oranları gözlemlenebilmektedir. Bu modelin önemli sınırlılıklarından biri, deney hayvanlarına genellikle aerobik ve anaerobik olmak üzere sınırlı sayıda bakteri suşunun uygulanmasıdır. Bu durum klinik pratikte daha yaygın olan polimikrobiyal sepsis tablosunun tam anlamıyla simüle edilememesine neden olabilmektedir. Ayrıca intravenöz veya peritoneal yolla canlı bakteri uygulanması sırasında, laboratuvar personeli ve araştırmacılar için kontaminasyon riski de dikkate alınmalıdır (62).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 01.08.2024 tarihli, 09 sayılı toplantısında incelenip 319 karar sayısıyla onaylanmıştır. Çalışmada kullanılan denek hayvanların temini ve bakımlarına ek olarak biyokimyasal, histopatolojik, immunohistokimyasal analizler, LPS temini ve genetik analizler 15.10.2024 tarihinde Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından TTU-2024-9539 proje numarası ile desteklenmiştir. Denek hayvanlar; Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları ve Tıp Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi.

Wistar-Albino cinsinde, 250-300 gram ağırlığındaki erişkin dişi ratlar, SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı tarafından temin edilmiş ve deney sürecinde bakımları bu kurumda sağlandı. Tüm ratların yeni ortamlarına alışabilmeleri için deney başlamadan bir hafta öncesinden başlanılarak 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü olan, iyi havalandırılmış, % 40-60 rölatif nem oranına ve 22-24 °C ortam sıcaklığına sahip odalarda, Euro type-4 kafeslerde barındırıldı (Resim 3.1). Ratların beslenme ihtiyaçları ad libitum ile SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarına uygun olarak yapıldı.



Resim 3.1. Euro Type-4 Kafesler

3.1. Deneysel Sepsis Modelinin Oluşturulması

Sepsis modeli oluşturmak için 5 mg/kg LPS'nin deneysel çalışmalarda 6 saat içerisinde dokularda hasar oluştuğuna dair literatürde yayınlar bulunmaktadır (63). Bu deneyde de sepsis oluşturmak için ratlara 5 mg/kg dozunda uygulanacak toz LPS (Lipopolysaccharide from Escherichia Coli 055: B5, Sigma, Cat #: L2880) rat başına maximum 1 ml olacak şekilde serum fizyolojik ile çözdürüldü ve intraperitoneal (ip) yolla uygulandı (Resim 3.2-3.3).



Resim 3.2. LPS Tartılması



Resim 3.3. LPS'nin Uygulanışı

3.2. Ana Çalışma

3.2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Uygulanışı

32 adet dişi Wistar Albino rat her birinde 8 adet rat bulunan 4 gruba randomize şekilde ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol): Benzer stres düzeyi oluşturmak adına bu grup hayvanlarına 3 gün boyunca günde bir kez 0.3-0.5 ml serum fizyolojik (SF) ip olarak uygulandı.

Grup 2 (Lipopolisakkarit/LPS): Üç gün boyunca günde bir kez 0.3-0.5 ml SF verilip üçüncü gün son SF uygulamasından 30 dk sonra tek doz 5 mg/kg LPS ip uygulandı.

Grup 3 (Lipopolisakkarit+Omega-3/LPS+O3): Üç gün boyunca günde bir kez 0.5 gr/kg ip Omegaven tedavisi uygulandı (Resim 3.4). Üçüncü gün son ilaç uygulamasından 30 dk sonra tek doz 5 mg/kg LPS ip uygulandı.

Grup 4 (Omega-3/O3): Üç gün boyunca günde bir kez 0.5 gr/kg ip Omegaven tedavisi uygulandı (Resim 3.4). Üçüncü gün son ilaç uygulamasından 30 dk sonra benzer stress düzeyi oluşturmak için tek sefer 0.3-0.5 ml SF ip uygulandı.

Tüm ip enjeksiyonlar, ratların sağ alt abdominal kadrana, yaklaşık 30–45°'lik açıyla yapılmış olup bu bölge, mesane ve abdominal organlara zarar vermemek adına güvenli enjeksiyon bölgesi olarak tercih edilmiştir.



Resim 3.4. Omega-3 Uygulanması (ip)

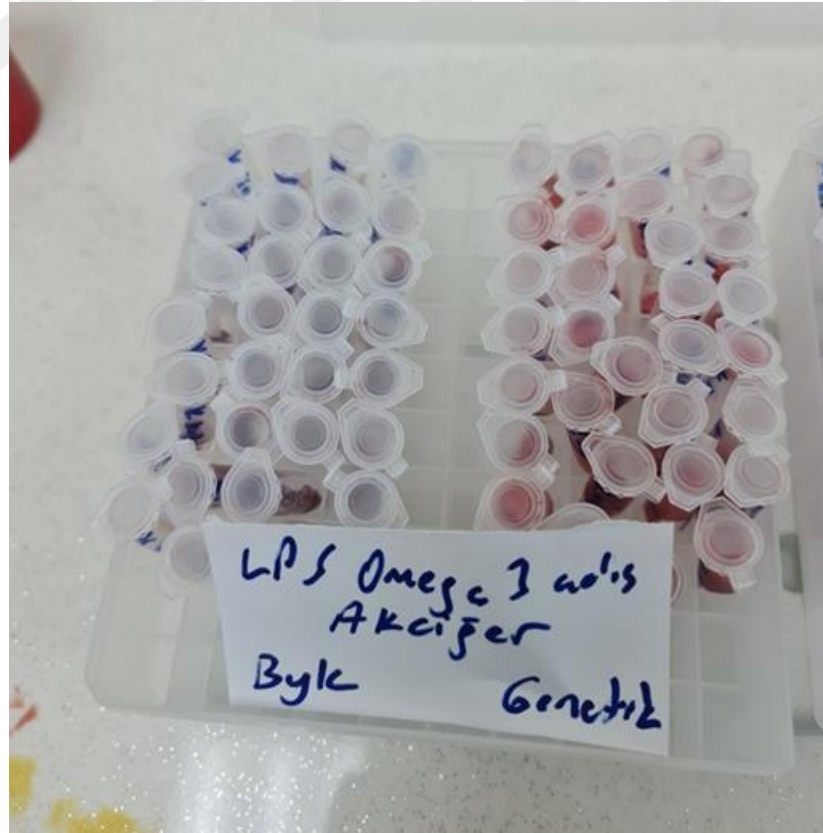
LPS uygulamasından 6 saat sonra bütün gruptaki ratlar Ketamin (80-100 mg/kg) ve Xylazin (8-10 mg/kg) anestezisi altında sakrifiye edildi (Resim 3.5). Abdominal insizyonu takiben Vena Cava İnfior'dan alınan kanlar ile cerrahi egzanguinasyon işlemi yapılarak sakrifikasyon gerçekleştirildi (Resim 3.6). Her bir hayvanın sağ akciğer dokuları histopatolojik olarak hematoxilen eozin boyama ve immünohistokimyasal olarak da inflamasyon göstergesi TNF- α , Cas-3, HSP-70 analizleri yapılmak üzere %10'luk formaldehit içerisinde muhafaza edildi. Sol akciğer dokularının yarısı TOS ve TAS oksidatif stres parametrelerine bakmak için eppendorflara alınarak -20°C'de buzdolabında saklandı. Diğer yarısı ise genetik analizler için Cyt-c, Bcl-2, Bax, Cas-9 ekspresyonlarına bakılmak üzere eppendorflara alınarak -80°C'de buzdolabında saklandı (Resim 3.7-3.8). Enjektör uçları ve keskin materyaller atık kaplarında, kalan dokular ise tıbbi atık poşetlerinde toplanarak imha edildi.



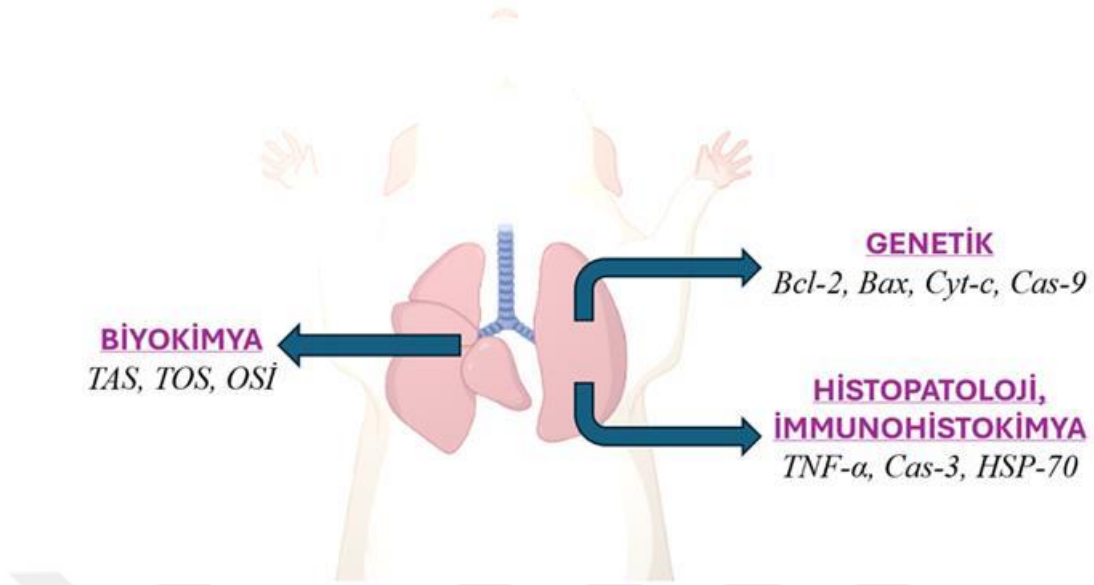
Resim 3.5. Ketamin ve Xylazin Anestezi Uygulaması



Resim 3.6. Kanların Alınması ve Cerrahi Egzanguinasyon



Resim 3.7. Biyokimyasal ve Genetik İncelemeler için Eppendorflar



Resim 3.8. Ratın Akciğer Dokularında Yapılacak İncelemeler

TAS: Total Antioksidan Kapasite, TOS: Total Oksidan Kapasite, OSI: Oksitadif Stres İndeksi, Bcl-2: B-Hücreli Lenfoma 2, Bax: Bcl-2-İlişkili X Proteini, Cyt-c: Sitokrom c, Cas-9: Kaspaz-9, TNF-α: Tümör Nekroz Faktörü-Alfa, Cas-3: Kaspaz-3, HSP-70: Heat Shock Protein 70

3.2.2. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler

3.2.2.1. Histopatolojik Yöntem

3.2.2.1.1. Doku Takibi

Akciğer doku örnekleri %10' luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonu ile tespit edildi. Fiksatorün uzaklaştırılabilmesi için dokular 6-8 saat akan su altında bırakılarak yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkamanın ardından dokular, rutin histolojik doku takip basamaklarından geçirildi ve dokular parafin içerisinde bloklandı. Bloklardan mikrotom ile 5 mikrometre (µm) kalınlığında kesitler alındı. Doku takibinde yapılan işlemler Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Doku Takibi Protokolü

Uygulama	Süre
%70'lik alkol	1 saat
%80'lik alkol	1 saat
%96'lık alkol	30 dk
%100' lik alkol	30 dk
Ksilol-alkol	30 dk
Ksilol-I	1 saat
Ksilol-II	1 saat
Parafin (60°C etüvde eriyen sert parafin)	4 saat
Blok gömme	

°C: Santigrat derece; dk: dakika

3.2.2.1.2. Hematoksilen-Eozin Boyama

Histokimyasal analizler için 5 µm kalınlığında kesilen örnekler, parafinin uzaklaştırılması için 3 saat süreyle 60°C'de bir etüvde bekletildi. Parafin uzaklaştırıldıktan sonra kesitler Tablo 3.2 protokolüne göre boyandı. Akciğer dokusunun genel histolojisinin görüntülenmesi için Hematoksilen-Eozin ile boyanarak incelendi.

Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

Uygulama	Süre
Ksilol	30 dk
Ksilol-alkol	10 dk
%100 alkol	5 dk
%96'lık alkol	5 dk
%80'lik alkol	5 dk
%70'lik alkol	5 dk
Distile su	1 dk
Hematoksilen	2 dk
Asit+Alkol	10 sn
Yıkama (akarsu)	10 dk
Eozin	2 dk
Distile su	5 dk
%70'lik alkol	2 dk
%80'lik alkol	2 dk
%96'lık alkol	2 dk
%100'luk alkol	2 dk
Ksilol	60 dk
Kapatma (Entellan)	

dk: dakika; sn: saniye

3.2.2.1.3. Histopatolojik Değerlendirme

Boyanan tüm preparatlar Eclipse E-600 Nikon, Japan fotomikroskopta ve görüntü analiz sistemi (NIS Elements Nikon, Japan) ile incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. Histopatolojik değişiklikler rastgele seçilen 20 alanda 10X büyütme ile değerlendirildi; ardından detaylı inceleme amacıyla 10X, 20X ve 40X büyütme objektifleri kullanılarak analizler gerçekleştirildi. Boyamanın değerlendirilmesinde alveoler ve interstisyel inflamasyon, ödem, alveoler ve interstisyel hemoraji, hyalin membran oluşumu, epitelde ayrılma ve bozulma gibi değişiklikler için Smith Skoru ve 0-4 arasında ölçek puanı kullanılmıştır (0 puan normal histolojik yapı ve hasar bulunmamasını, 1 puan minimal düzeyde (%25'ten az alanda), 2 puan hafif düzeyde (%25-50 arası alanda), 3 puan orta düzeyde (%50-75 arası alanda) ve 4 puan ise şiddetli düzeyde (alanın tamamında) hasar varlığını ifade etmektedir (25).

3.2.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

3.2.2.2.1. İmmunohistokimyasal Analiz

İmmunohistokimyasal yöntemle inceleme yapmak için parafin bloklardan histopatolojik inceleme için 3 seri kesitte kesitler polilizinli lamlara alındı. Parafin bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alındıktan sonra 45°C sıcaklıktaki etüvde bir gece boyunca tutularak kesitlerin lam üzerine daha iyi yapışması ve kuruması sağlandı. Daha sonra ksilolde 10 dk bekletildi ve azalan alkol serilerinden (%100-%96-%90-%80-%70) geçirilerek distile su içerisine alındı. İmmunohistokimyasal inceleme için Cas-3, TNF- α ve HSP-70 antikorları oda sıcaklığına alındı ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. TNF- α (sc-52746, Santa Cruz) antikoruna için 1:100 dilüsyon, Cas-3 (FNab01289, Fine Test) antikoruna için 1:200 dilüsyon ve HSP-70 (ab79852, Abcam) antikoruna için 1:200 dilüsyon yapıldı. Cas-3, TNF- α , HSP-70 ekspresyonlarının değerlendirilmesi için streptavidin-biyotin kompleks peroksidaz yöntemi kullanılarak boyandı. Kesitler sitrat tamponunda mikro dalгада orta seviyede 2x5 dk tutuldu (Ph:6). Daha sonra oda sıcaklığına alınarak soğutulması sağlandı. Soğuyan kesitler fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile 3x5 dk yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini yok etmek amacıyla H₂O₂' de (TA-060-HP, Lab Vision Corporation) 20 dk bekletildi. PBS ile 3x5 dk yıkandı. Ultra V Block (TA-

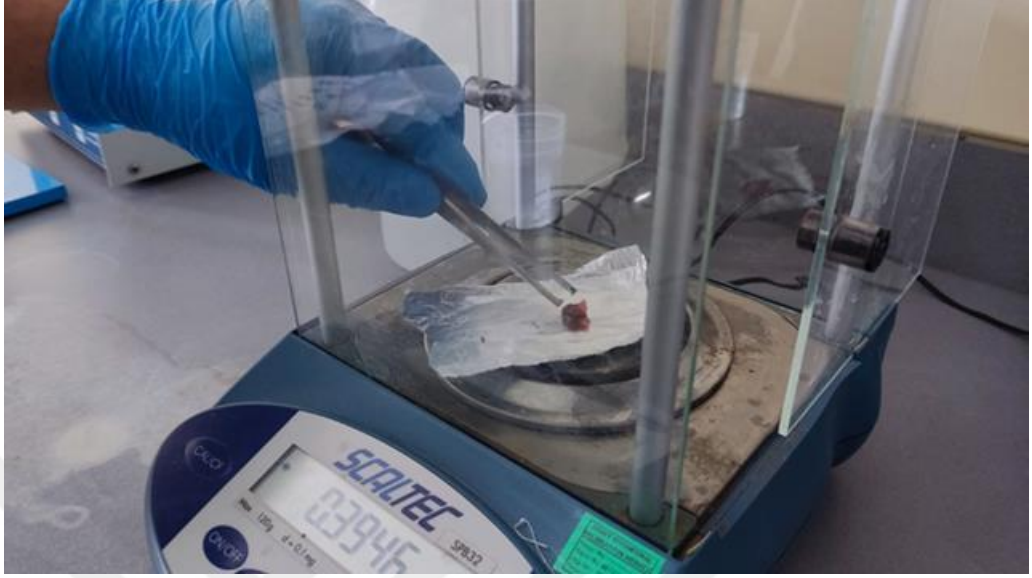
125-UB, Thermo Scientific) solüsyonu ile 5 dk muameleden sonra üzerine primer antikorlar; TNF- α , Cas-3 ve HSP-70 damlatıldı ve 60 dk. inkübe edildi. Kesitler tekrar PBS ile 3x5 dk yıkandı ve sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Poliyvalent TP-125-BN, Thermo Scientific) damlatılarak 30 dk bekletildi. Kesitler PBS ile 3x5 dk yıkandı ve Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz) (TS-125-HR, Thermo Scientific) ile 30 dk oda ısısında inkübe edildi. Kesitler PBS ile 3x5 dk yıkandı ve DAB (3,3'-diaminobenzidine) (TA-125 HD, Thermo Scientific) solüsyonundan sonra Harris hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular entellan ile kapatıldı. Tüm preparatlar Eclipse E-600 Nikon, Japan fotomikroskopta ve görüntü analiz sistemi (NIS Elements Nikon, Japan) ile rastgele seçilen 20 alanda 20X büyütme kullanılarak H-skor yöntemiyle değerlendirme yapıldı. Değerlendirmeyi desteklemek amacıyla ek olarak 20X ve 40X büyütme objektifleriyle detaylı incelemeler gerçekleştirildi. Ekspresyon seviyeleri semikantitatif (0, boyanma yok; 1+, zayıf boyanma; 2+, orta boyanma; 3+, kuvvetli boyanma) olarak değerlendirildi. Her bir kesit için H-Skor değeri, her bir yoğunluk sınıfına ait boyalı hücre yüzdesinin yoğunluk ile çarpılarak elde edilmiştir. H-Skor = $\sum i \times P_i$ olarak hesaplanmıştır (i; yoğunluk skoru, P_i ; hücre yüzdesi) (64, 65).

3.2.3. Biyokimyasal İncelemeler

3.2.3.1. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanması

Ratlardan alınan venöz kan örnekleri biyokimya tüplerine alındıktan sonra Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum numuneleri eppendorf tüplerine ayrılarak -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Ratların akciğer dokuları ise pH 7.4 olan fosfat tamponu ile dolu cam tüplere konuldu. Her bir doku tartılarak (Resim 3.9) fosfat tamponu ile 10 kat dilue edildi (Resim 3.10). Janke & Kunkel Ultraturrax T-25 (Almanya) marka doku parçalayıcı ile parçalandı (Resim 3.11). Daha sonra UW-2070 Bandelin Electronic (Almanya) marka sonikatör ile homojenizasyon tamamlandı (Resim 3.12). Homojen doku örnekleri (Resim 3.13), Eppendorf 5415-R (Almanya) santrifüj ile 10000 devir/dk, 10 dk.

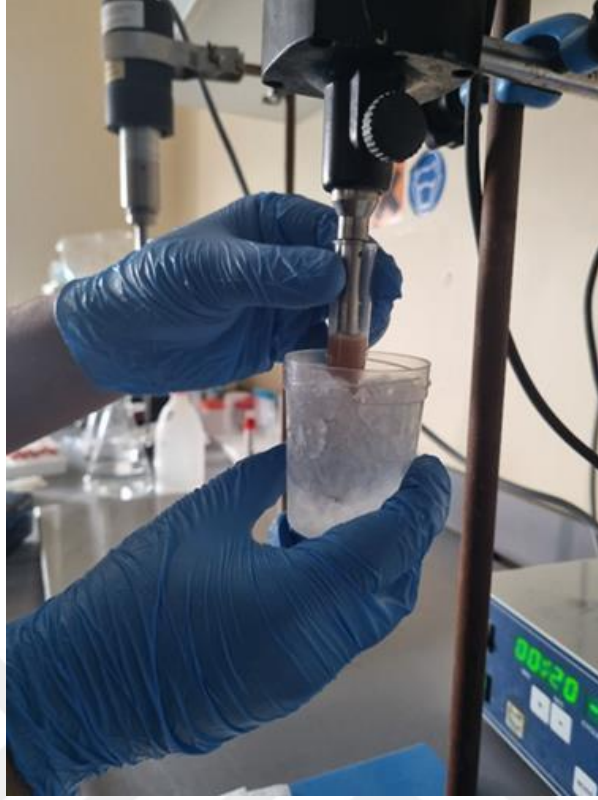
santrifüj edilerek ve süpernatantı alınarak eppendorf tüplerinde çalışma zamanına kadar saklandı.



Resim 3.9. Dokuların Tartılması



Resim 3.10. Dokuların Fosfat Tampon ile Seyreltilmesi



Resim 3.11. Dokuların Parçalanması



Resim 3.12. Sonikatör ile Homojenizasyon



Resim 3.13. Homojen Doku Örnekleri

3.2.3.2. Total Antioksidan Kapasite ve Total Antioksidan Kapasite Seviyelerinin Çalışma Prensibi

Örneklerdeki TAS düzeyleri, Rel Assay ticari kitler kullanılarak belirlendi. Ölçüm yöntemi, tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini indirgemesi ve renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması prensibine dayanmaktadır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu kullanıldı. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/gr protein olarak ifade edildi (66).

Örneklerdeki TOS düzeyleri, Rel Assay ticari kitler kullanılarak belirlendi. Bu ölçüm testi için, örnekteki oksidan moleküllerin miktarını belirlemek amacıyla moleküllerin ferroz iyonunu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan bir kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/gr protein olarak ifade edildi (67).

3.2.3.3. Oksidatif Stres İndeksi Hesaplanması

Örneklerden OSI hesaplanırken TAS değerleri 10 ile çarpılarak TOS ile birimler eşitlendi. Daha sonra aşağıdaki formül kullanılarak OSİ hesaplandı (68). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$OSI = [(TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L.}) / (TAS, \text{mmol trolox Equiv./L.})] \times 100$$

3.2.4. Genetik Analizler

3.2.4.1. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

3.2.4.1.1. RNA İzolasyonu

Elde edilen dokular DNaz/RNaz ve pirojen içermeyen önceden etiketli ependorf tüplerine konularak prosedür uygulanıncaya kadar -80°C de derin dondurucuya kaldırılmıştır. Çalışma gününde oda ısısına getirilen doku üzerine 1000 µL Geneall RiboExT^M solüsyonu (Seul/Kore) konularak sonikatörde düşük hızda homojenize edildi. RNA izolasyonu GeneAll Ribospin RNA izolasyon kiti (Seul/Kore) ile aşağıdaki protokole uygun olarak yapıldı.

1. Homojenize edilen örnekler oda ısısında 2 dk inkübe edildi ve üzerlerine 200 µL kloroform ilave edilerek 15 sn vortekslendi.
2. Süpernatanın üzerine %70 lik etanolden 1-1 hacimde olacak şekilde eklendi ve santrifüj edilmeden pipetajla karıştırıldı.
3. Karışım 12.000 g'de 15 dk santrifüj edildi. Bu adım sonunda üç faz oluştu:
Alt faz (Renkli)
Orta faz (İnce Beyaz Opak)
Üst faz (Renksiz Şeffaf)
4. En üst şeffaf faz (yaklaşık 450 µl) pipetle dikkatlice alınıp EzPure Filtresine (Sarı Renkli) aktarıldı. 10.000 g'de 30 sn santrifüjlendi.
5. Spin kolondan geçen sıvı boşaltıldı ve geri kalan Lizat+RBI karışımı da Mavi Renk Type W spin kolona tekrar aktarıldı.
6. 10.000 g'de 30 sn santrifüjlenip Spin kolondan geçen sıvı uzaklaştırıldı.
7. Spin Kolon üzerine 500 µl RBW ilave edilip, 10.000 g 'de 30 sn santrifüjlendi ve alta geçen sıvı atıldı.
8. Spin kolon üzerine 500 µl RBN ilave edilip, 10.000 g 'de 30 sn santrifüj sonrasında alta geçen sıvı atıldı.

9. Spin kolonda kalabilecek alkolün tamamının uzaklaşması için 11.000 g de 3 dk santrifüj edildi.
10. Spin kolon yeni 1,5mL lik DNaz/RNase ve pirojen içermeyen ependorf tüplere aktarıldı ve üzerine 30 µl RNAase-free su ilave edildi.
11. 2 dk oda sıcaklığında bekletilip 10.000 g'de 30 sn santrifüj edilerek RNA örnekleri elde edildi.

Elde edilen RNA örnekleri cDNA sentezinde kullanılmak üzere nanodrop cihazı ile miktar ve saflık tayini yapılmıştır. 260 ve 280 nm dalga boylarında elde edilen ölçümlerin birbirine oranı (260 nm / 280 nm) RNA saflığını göstermektedir. Saflığı 1,8-2,0 arasında olan RNA numularının miktar tayinleri cDNA sentezinde kullanılmak üzere not edilmiş, saflığı bu oranlar dışında olan örneklerin RNA'ları tekrar izole edilmiştir. İzole edilen her bir RNA örneğinin konsantrasyonu 1000 ng/µl'de standardize edilmiş ve cDNA sentez aşamasında kullanılmak üzere -80° C'ye kaldırılmıştır.

3.2.4.1.2. cDNA Sentezi

cDNA sentezi, A.B.T. TM cDNA Sentez Kit (Atlas Biyoteknoloji, Türkiye) protokolüne göre termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Her örnek için total reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde 0.2 ml'lik PCR tüplerine buz üzerinde aşağıdaki konsantrasyonlarda karışım hazırlanmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Revers Transkriptaz Reaksiyon Karışımının 20 µl Hacminde Hazırlanması

10X reaksiyon tamponu	2 µl
dNTP karışımı (2.5 mM)	1 µl
Random hekzamer (50 µM)	2 µl
Revers Transkriptaz (200 U/µl)	1 µl
RNase inhibitör	0.5 µl
RNase içermeyen su	3.5 µl
RNA örneği	10 µl

U: Ünite, µl: mikrolitre, µM: mikromolar

Hazırlanan karışım termal döngü cihazına (Thermo scientific/USA) yerleştirilmiş ve aşağıdaki kit protokolü kullanılmıştır (Tablo 3.4). Elde edilen cDNA'lar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 3.4. Revers Transkriptaz Termal Döngü Protokolü

RT basamakları	Sıcaklık °C	Süre	Siklus
1. Basamak	25	10 dk	1
2. Basamak	37	120 dk	1
3. Basamak	85	5 dk	1
4. Basamak	4	∞	1

°C: Santigrat Derece; dk: Dakika

3.2.4.1.3. Primer Tasarımı ve Hazırlanması

Primer tasarımları, NCBI internet sitesi kullanılarak spesifik Mesajcı Ribonükleik Asit (mRNA) dizilimlerinin saptanması ve olası primer dizilimlerinin denenmesi ile yapılmıştır. Ekspresyon aşamasında kullanılan genler ve spesifik primer dizilimleri Tablo 3.5'te verilmiştir.

Dizaynı yapılan primerler ticari olarak sentezlettilmiş, liyofilize olarak temin edilmiştir ve DNaz/RNaz ve pirojen içermeyen, ticari olarak satılan hazır steril su ile stok 100 μ M olacak şekilde sulandırılmıştır. Daha sonra stok primer solüsyonu kantitatif gerçek zamanlı PCR prosedüründe, kit üreticisi firmanın talimatlarına göre son hacimde 500 nM olacak şekilde tekrar sulandırılmıştır.

Tablo 3.5. Genler ve Genlere Ait Spesifik Primer Dizilimleri

Gen	Spesifik Primer Dizilimi Forward (F)-Revers (R)	Ürün uzunluğu	Erişim Numarası
Bcl-2	F: CATCTCATGCCAAGGGGGAA R: TATCCCACTCGTAGCCCCCTC	284 bp	NM_016993.2
Bax	F. CACGTCTGCGGGGAGTCAC R: TAGAAAAGGGCAACCACCCG	419 bp	NM_017059.2
Cyt-c	F: TAAATATGAGGGTGTTCGC R: AAGAATAGTTCCGTCCTG	192 bp	NM_012839.2
Cas-9	F: AGCCAGATGCTGTCCCATAC R: CAGGAACCGCTCTTCTTGTC	148 bp	XM_039110693.1
β aktin (HouseKeeping)	F: CCCGCGAGTACAACCTTCTT R: AACACAGCCTGGATGGCTAC	481 bp	NM_031144.3

Bcl-2: B-Hücreli Lenfoma 2, Bax: Bcl-2-İlişkili X Proteini, Cyt-c: Sitokrom c, Cas-9: Kaspaz-9, bp: baz çifti

3.2.4.1.4. Ekspresyon Seviyelerinin Ölçülmesi

Ekspresyon seviyeleri A.B.T.TM cDNA Synthesis Kit with RNase (Atlas Biyoteknoloji/ Türkiye) kitleri kullanılarak Biorad CFX96 (California/USA) gerçek zamanlı PCR cihazında ölçülmüştür. cDNA sentezi yapılan örnekler çalışmadan 10 dakika önce +4°C'deki blok üzerine alınarak bir süre bekletilmiştir. Çalışmada β aktin geni housekeeping gen olarak kullanılmış ve normalizasyon için bu genin Ct değerleri kullanılmıştır. Cihazda 0.1 ml'lik pcr tüpleri kullanılmış reaksiyon son hacmi 20 µL olarak ayarlanmıştır. Reaksiyon karışımı üretici protokolüne göre aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (Tablo 3.6). Reaksiyonun cihaza yüklemeyi başlatmasını engellemek için prosedür buz üzerinde sürdürülmüştür.

Tablo 3.6. PCR Reaksiyon Karışımı

	Hacim	Final konsantrasyon
A.B.T.TM 2X qPCR SYBR- Green MasterMix (without ROX)	10 µl	1X
Forward Primer (10 µM)	1 µl	1 µM
Reverse Primer (10 µM)	1 µl	1 µM
cDNA	2 µl	2 µl
DNaz/RNaz içermeyen su	6 µl	6 µl

µl: mikrolitre, µM: mikromolar

Elde edilen reaksiyon karışımı kit üreticisinin protokolüne göre belirlenen termal döngü (Tablo 3.7) ile gerçek zamanlı qPCR cihazına yeleştirilmiş ve her bir örnek 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır.

Tablo 3.7. Gerçek Zamanlı PCR Döngüsü

PCR basamakları	Sıcaklık (°C)	Süre	Siklus
Başlangıç denaturasyonu	95	300 sn	1
Denaturasyon	95	15 sn	40
Primer bağlanması / Uzama	60-65	30 sn	
Melt-Curve Analizi	65-95	2-5 sn/basamak	1

°C: Santigrat derece, sn: Saniye

Elde edilen Ct değerleri ekspresyon seviyesinin değerlendirilmesi için her bir örnek ve grup için ayrı ayrı not edilmiştir. Normalize edilen örneklerin verilerine $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü uygulanmış ve elde edilen ham veriler kullanılacak olan istatistik çalışmasına uygun hale getirilmiştir.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bütün verilerin analizleri, GraphPad Prism 10 (GraphPad Software İnç.) programında yapıldı. Değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ SD olarak verildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmada One Way ANOVA testi kullanıldı. Gruplar arası anlamlılık saptandığı durumda, gruplar arası karşılaştırmalar için Bonferroni Düzeltme testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

4.1.1. Akciğerin Histopatolojik İncelemeleri

Gruplar arasındaki akciğer hasarına ait histolojik skorlar, "Gereç ve Yöntem" bölümünde tanımlanan Smith skarlama sistemine göre değerlendirilmiş olup, Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Kontrol ve Omega-3 gruplarına ait ratların akciğer dokusuna ait kesitlerde akciğer içi hava yollarının, alveol, bronşiol ve epitellerinin, akciğer interstisyumunun normal yapıda olduğu görülmüştür (Resim 4.1-4.3, Resim 4.13-4.15).

LPS grubunda ise bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma, alveoler ve interstisyel inflamasyon, ödem, alveoler ve interstisyel hemoraji, hyalin membran oluşumu gibi değişiklikler dikkat çeken bulgular olmuştur (Resim 4.4-4.9).

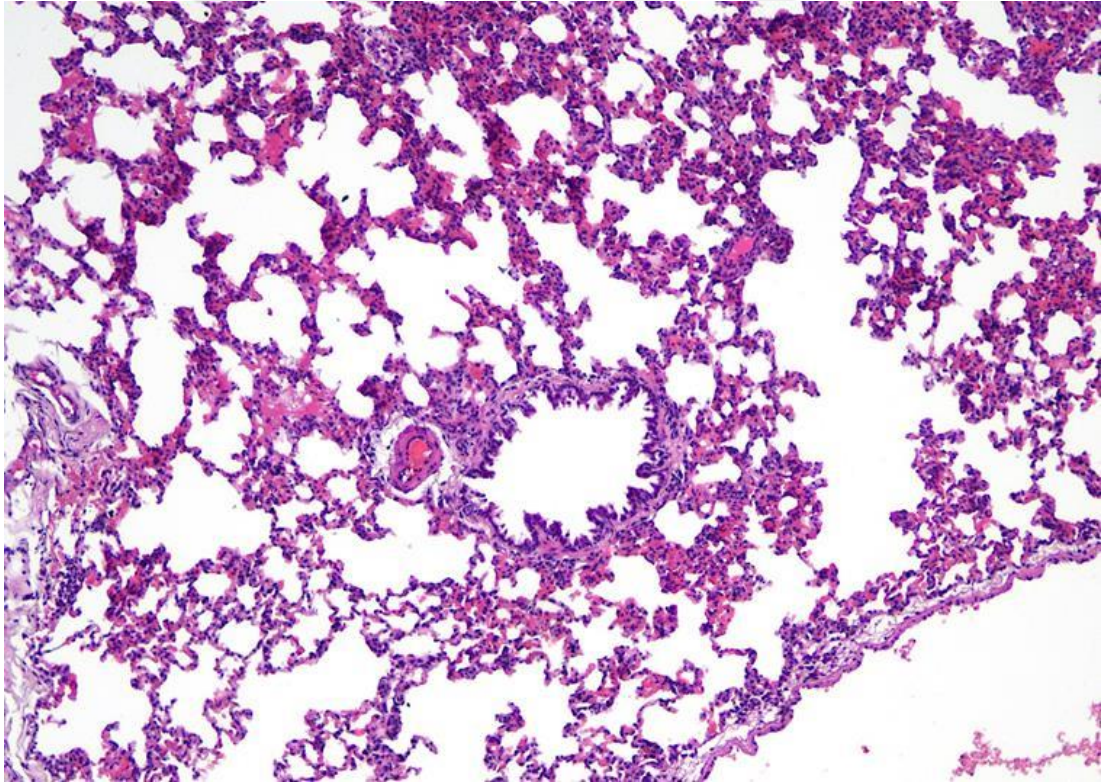
LPS+Omega-3 grubunda ise bazı alanlarda inflamasyonun devam ettiği görülsede LPS grubuyla karşılaştırıldığında büyük ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Özellikle LPS grubunda görülen hyalin membran oluşumu, hemoraji gibi değişiklikler LPS+Omega-3 grubunda gözlemlenmemiştir. Bunun yanı sıra LPS grubuyla karşılaştırıldığında alveoler alanlar ve bronşiol yapılarının ve epitellerinin büyük ölçüde normal görünümlü olması dikkat çekmiştir (Resim 4.10-4.12).

Tablo 4.1. Akciğer Hasarının Gruplar Arası Histolojik Skorları

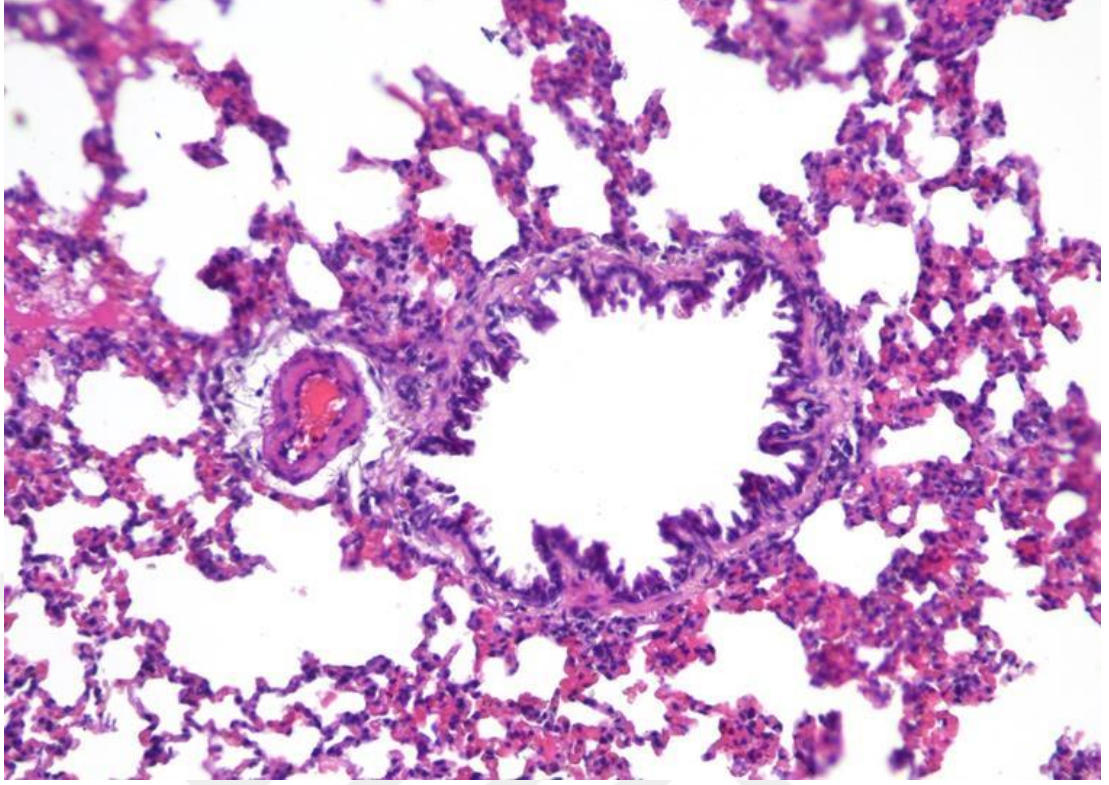
	KONTROL	LPS	LPS+OMEGA-3	OMEGA-3
Bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma	0	2	1	0
	0	2	1	0
	0	2	1	0
	0	1	2	0
	0	2	1	1
	0	2	2	0
	0	2	1	0
	0	2	1	0
Alveoler ve interstisyel inflamasyon	0	3	2	0
	0	3	1	0
	0	2	1	0
	0	2	1	0
	0	3	1	0
	0	3	2	0
	0	2	1	0
	0	3	2	0

Tablo 4.1. Akciğer Hasarının Gruplar Arası Histolojik Skorları (Devamı)

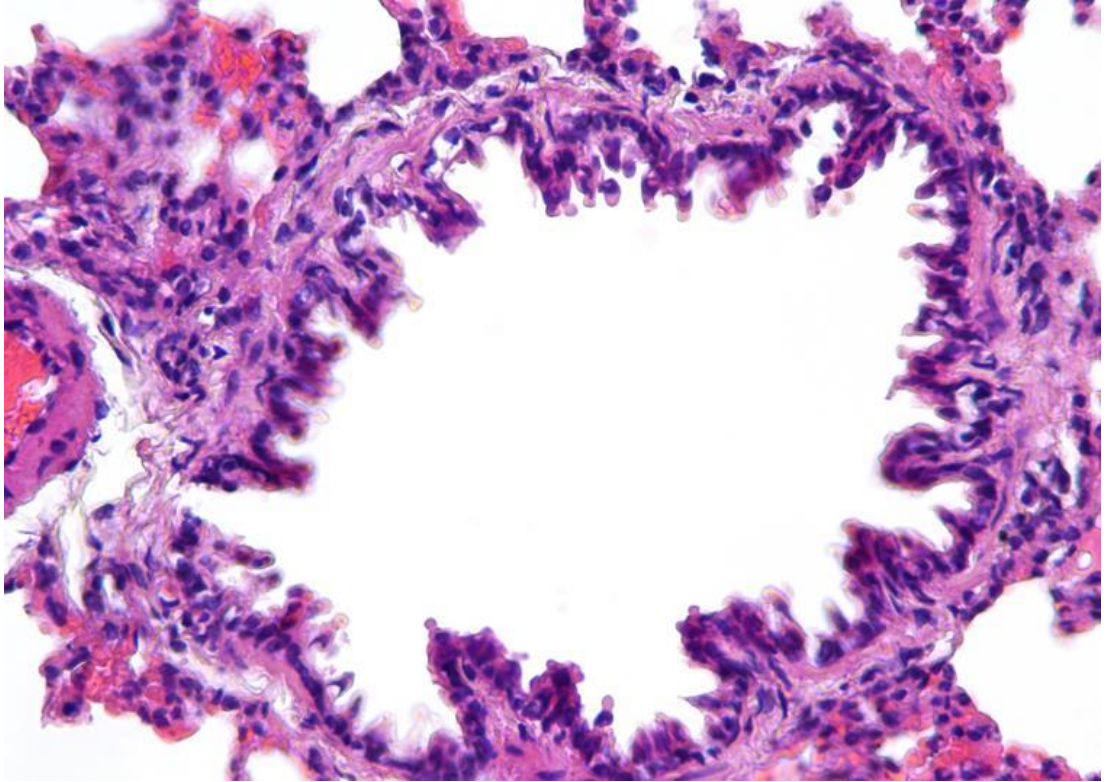
	KONTROL	LPS	LPS+OMEGA-3	OMEGA-3
Alveoler ve interstisyel hemoraji	1	2	1	0
	0	2	0	0
	0	2	0	0
	0	3	1	0
	1	2	1	0
	0	2	0	0
	0	2	0	0
	0	3	0	0
Hyalin membran oluşumu	0	2	0	0
	0	2	0	0
	0	3	1	0
	0	3	1	0
	0	2	0	0
	0	3	0	0
	0	2	0	0
	0	2	1	0



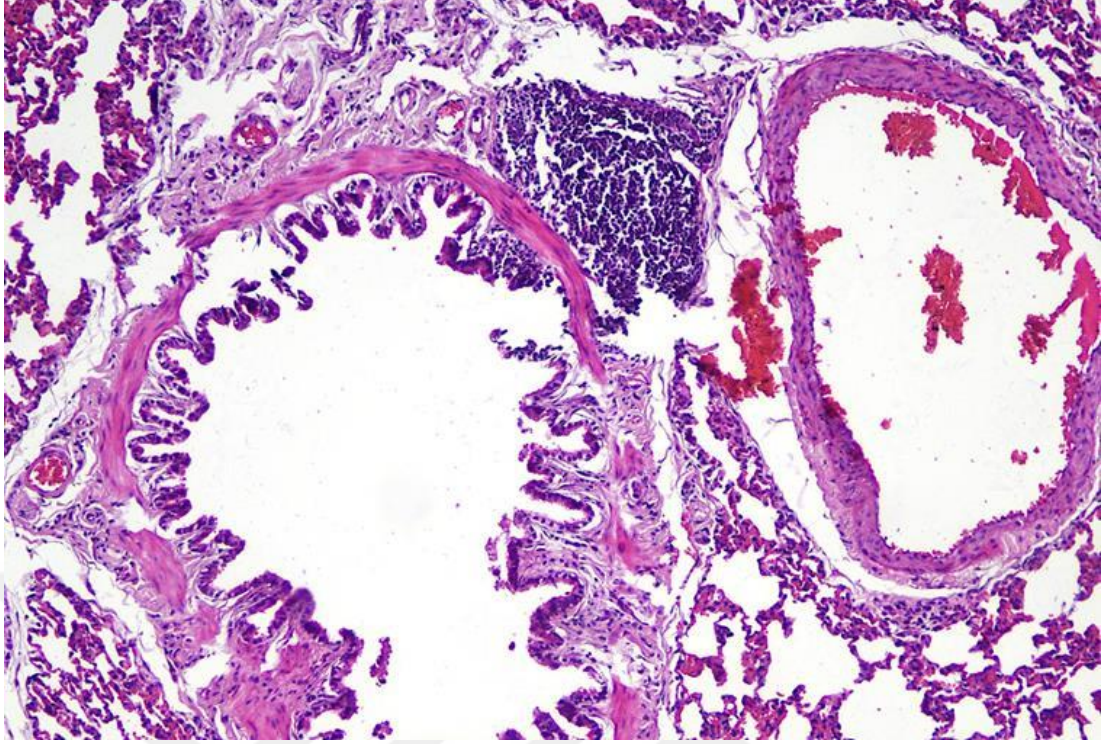
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X10)



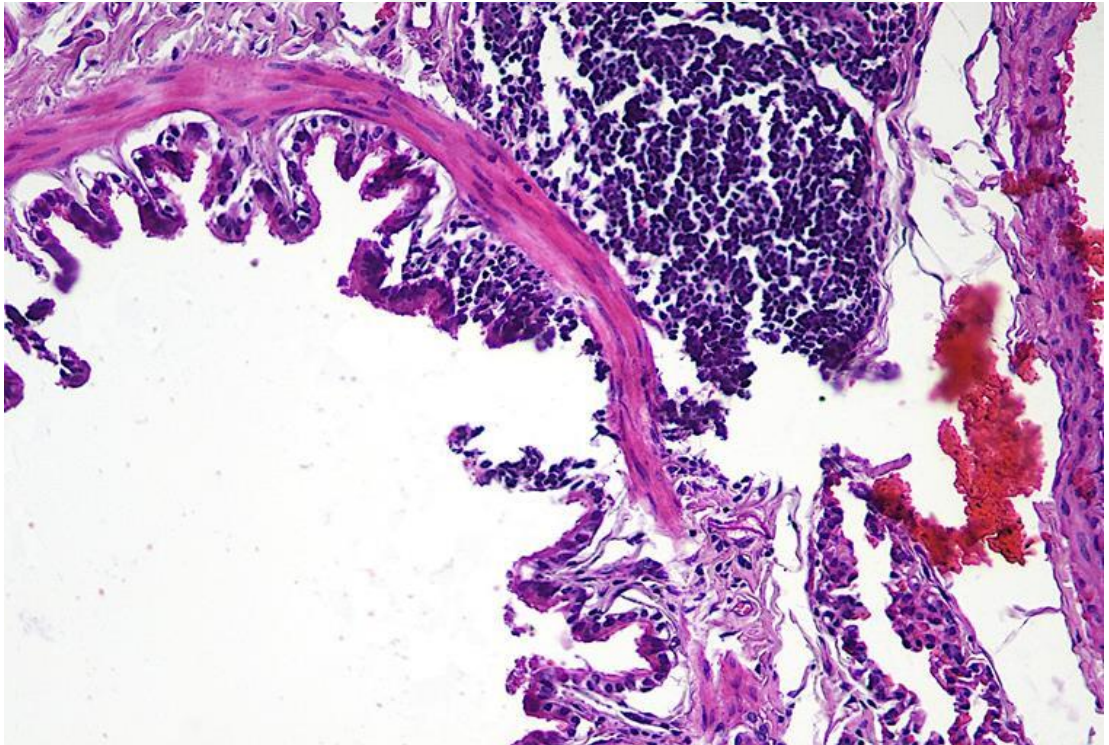
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X20)



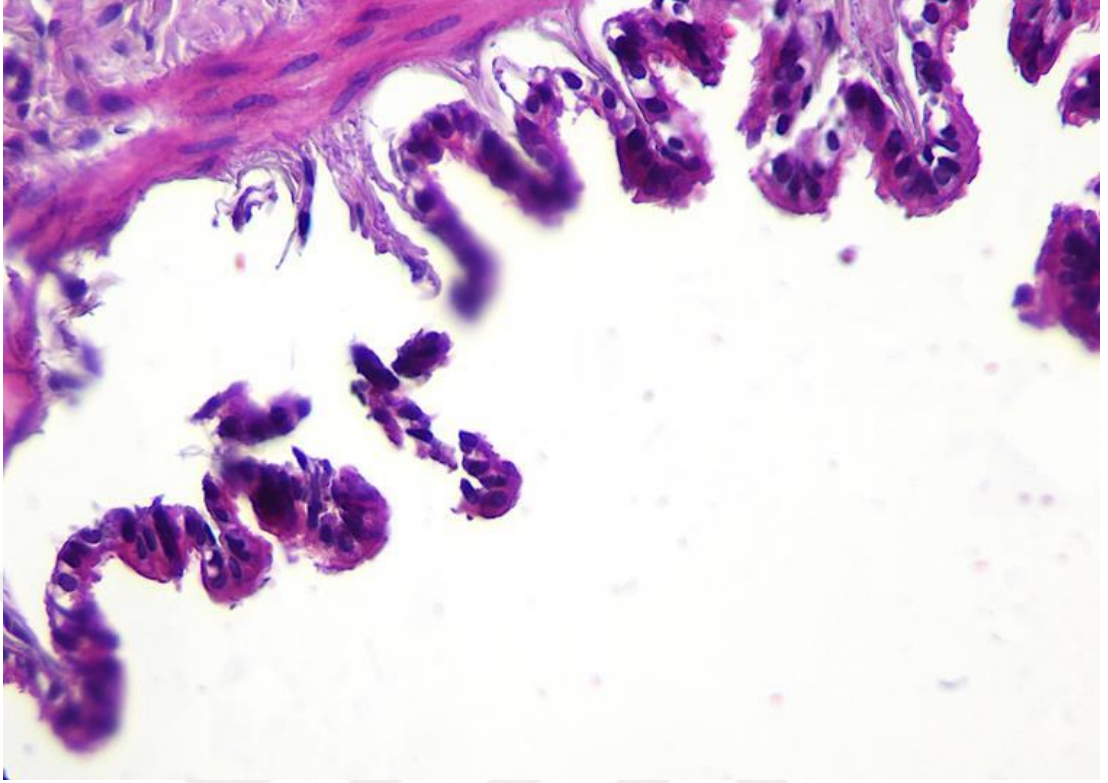
Resim 4.3. Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X40).



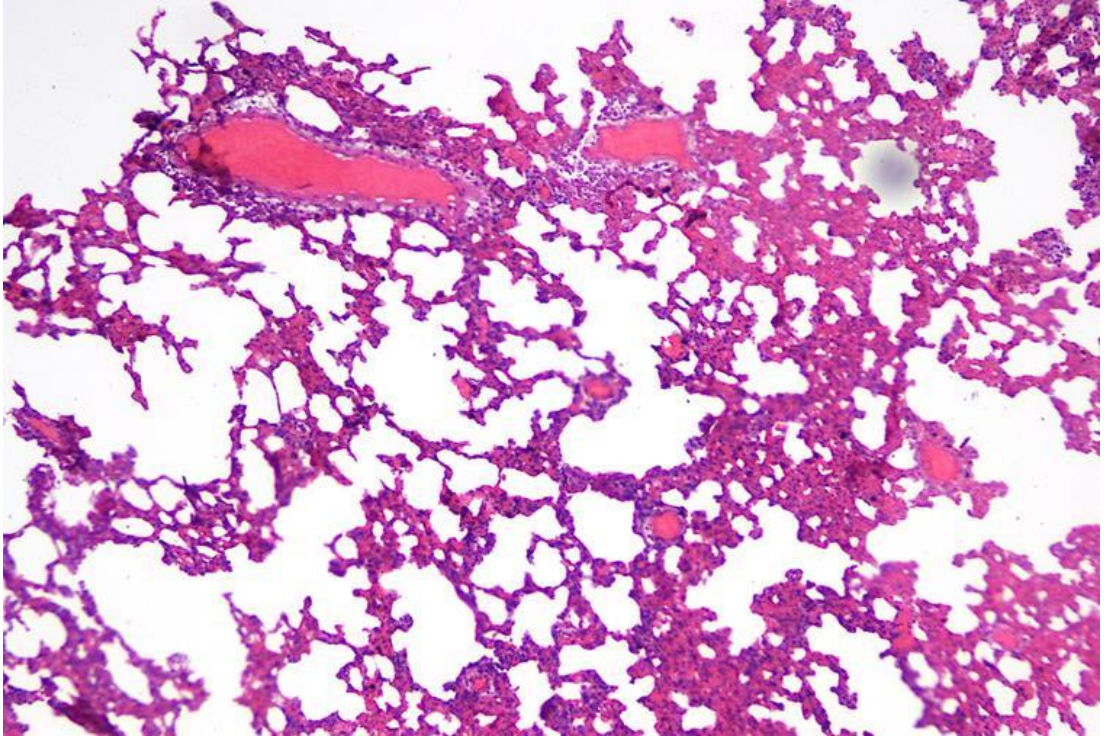
Resim 4.4. LPS grubuna ait akciğer dokusunda bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma, alveoler ve interstisyel inflamasyon, ödem, alveoler ve interstisyel hemoraji (HE, X10).



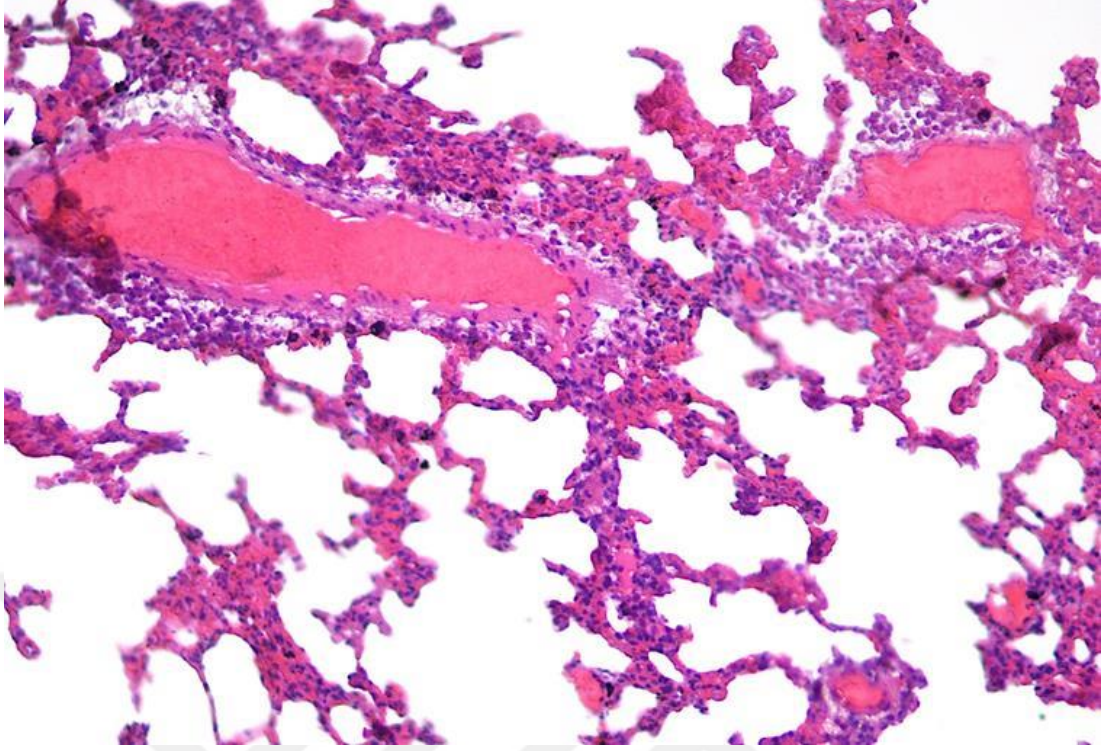
Resim 4.5. LPS grubuna ait akciğer dokusunda bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma, alveoler ve interstisyel inflamasyon, ödem, alveoler ve interstisyel hemoraji (HE, X20)



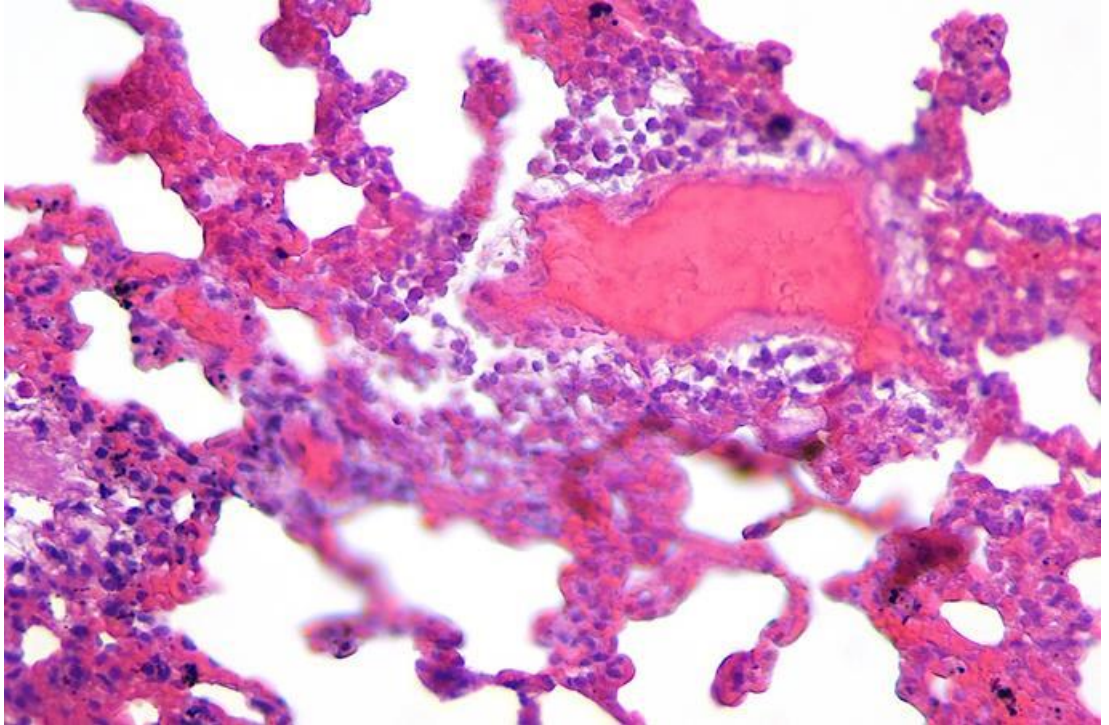
Resim 4.6. LPS grubuna ait akciğer dokusunda bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma (HE, X40).



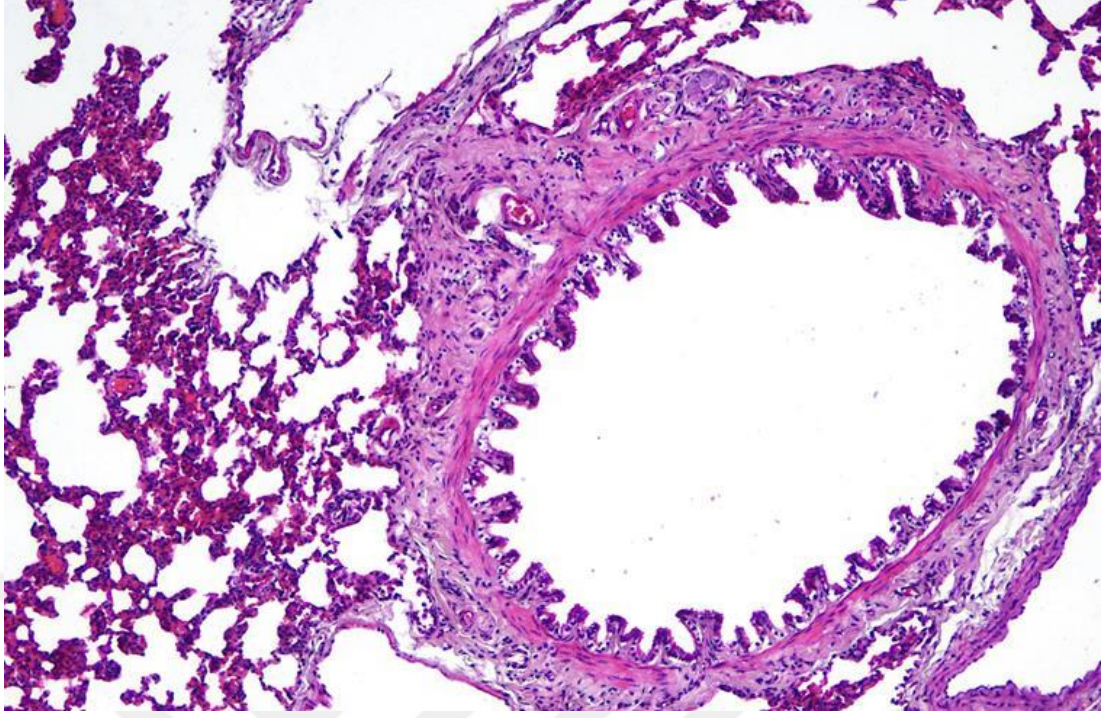
Resim 4.7. LPS grubuna ait akciğer dokusunda ödem ve hyalin membran oluşumu (HE, X10).



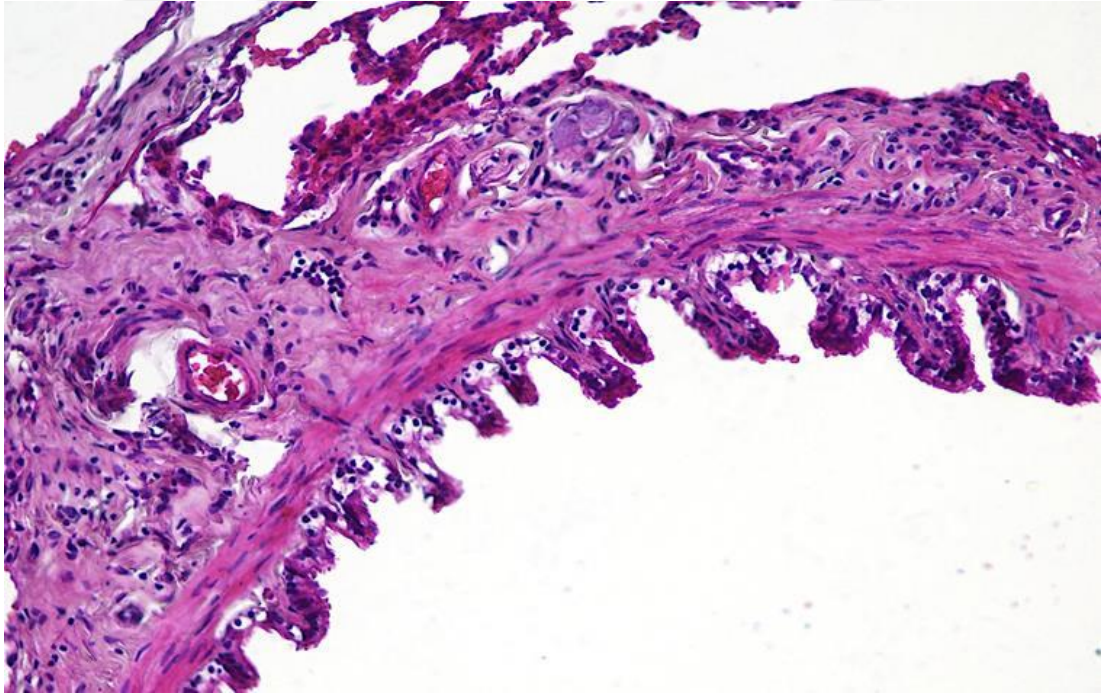
Resim 4.8. LPS grubuna ait akciğer dokusunda ödem ve hyalin membran oluşumu (HE, X20).



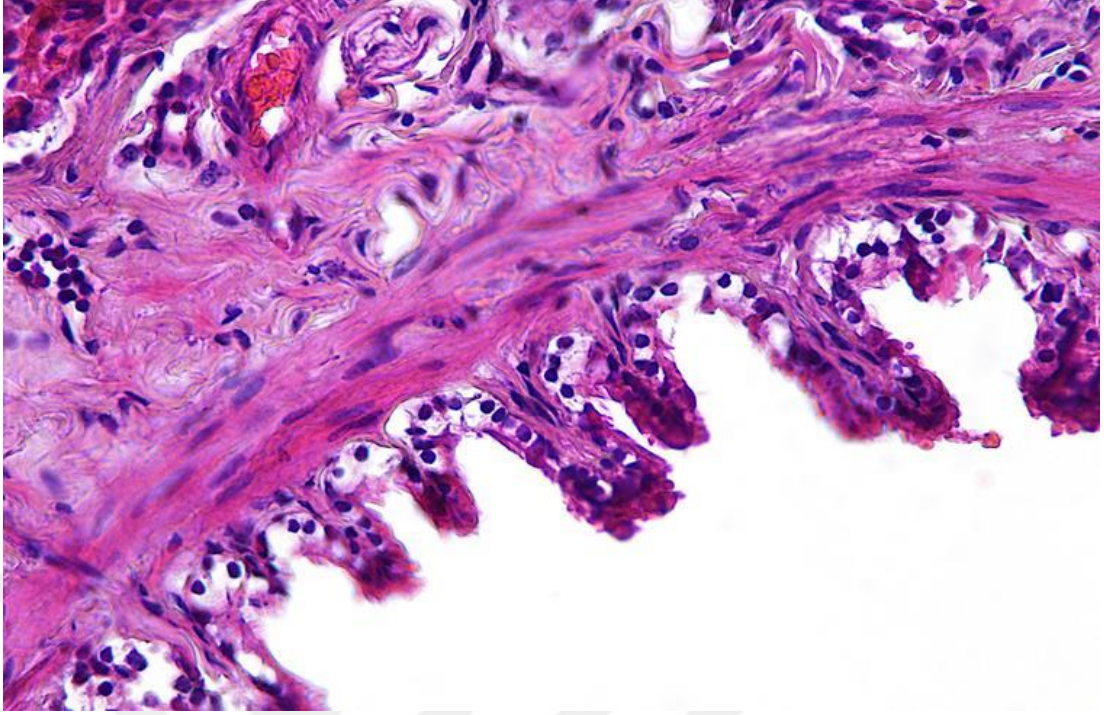
Resim 4.9. LPS grubuna ait akciğer dokusunda ödem ve hyalin membran oluşumu (HE, X40).



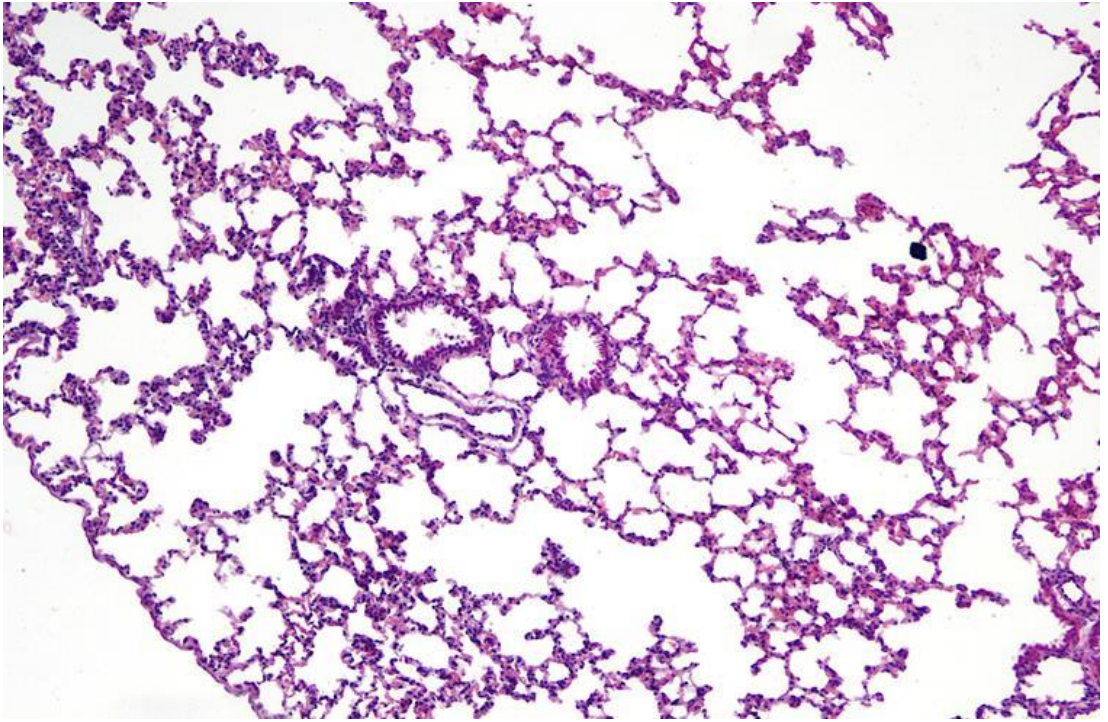
Resim 4.10. LPS+Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunda bazı alanlarda hafif inflamasyon, alveoler alanlar ve bronşiol yapılarının ve epitellerinin hafif dejenerasyonu (HE, X10).



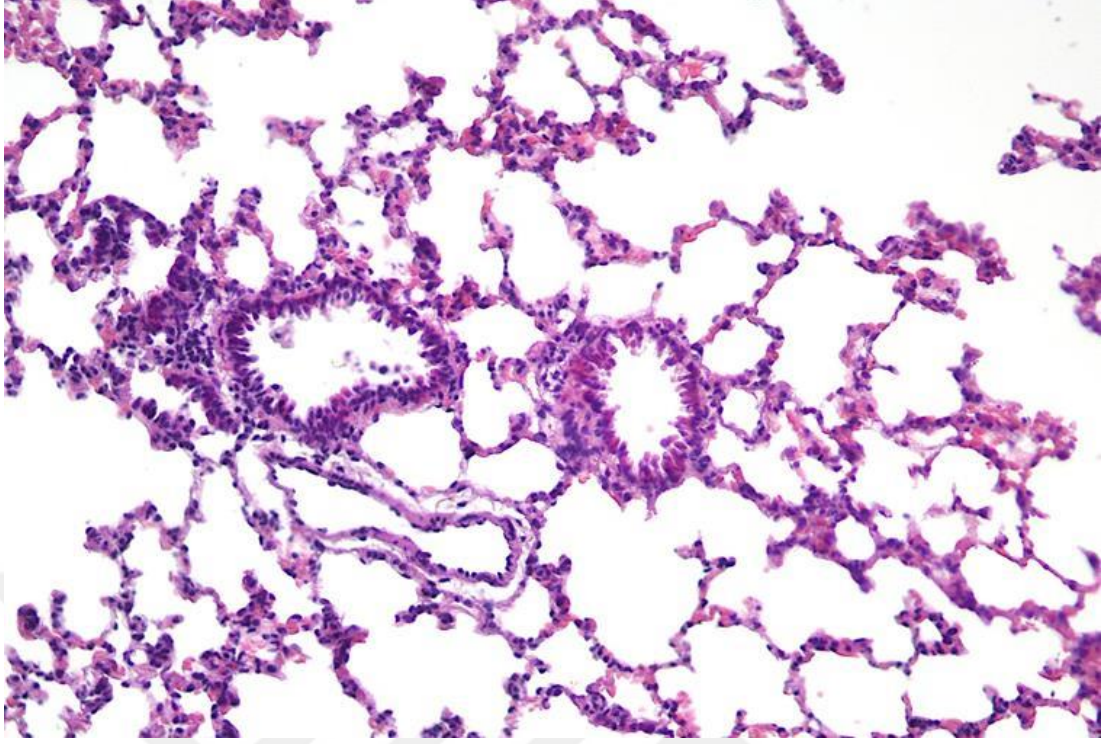
Resim 4.11. LPS+Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunda bazı alanlarda hafif inflamasyon, alveoler alanlar ve bronşiol yapılarının ve epitellerinin hafif dejenerasyonu (HE, X20).



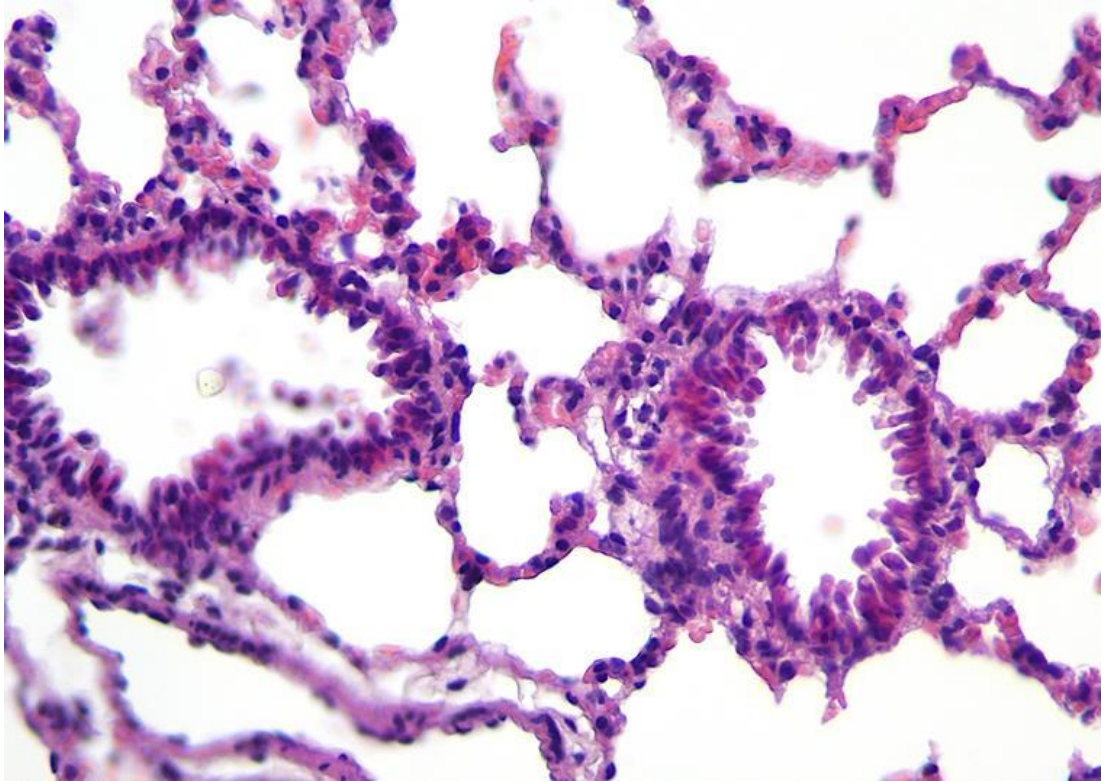
Resim 4.12. LPS+Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunda bazı alanlarda hafif inflamasyon, alveoler alanlar ve bronşiol yapılarının ve epitellerinin hafif dejenerasyonu (HE, X40).



Resim 4.13. Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X10).

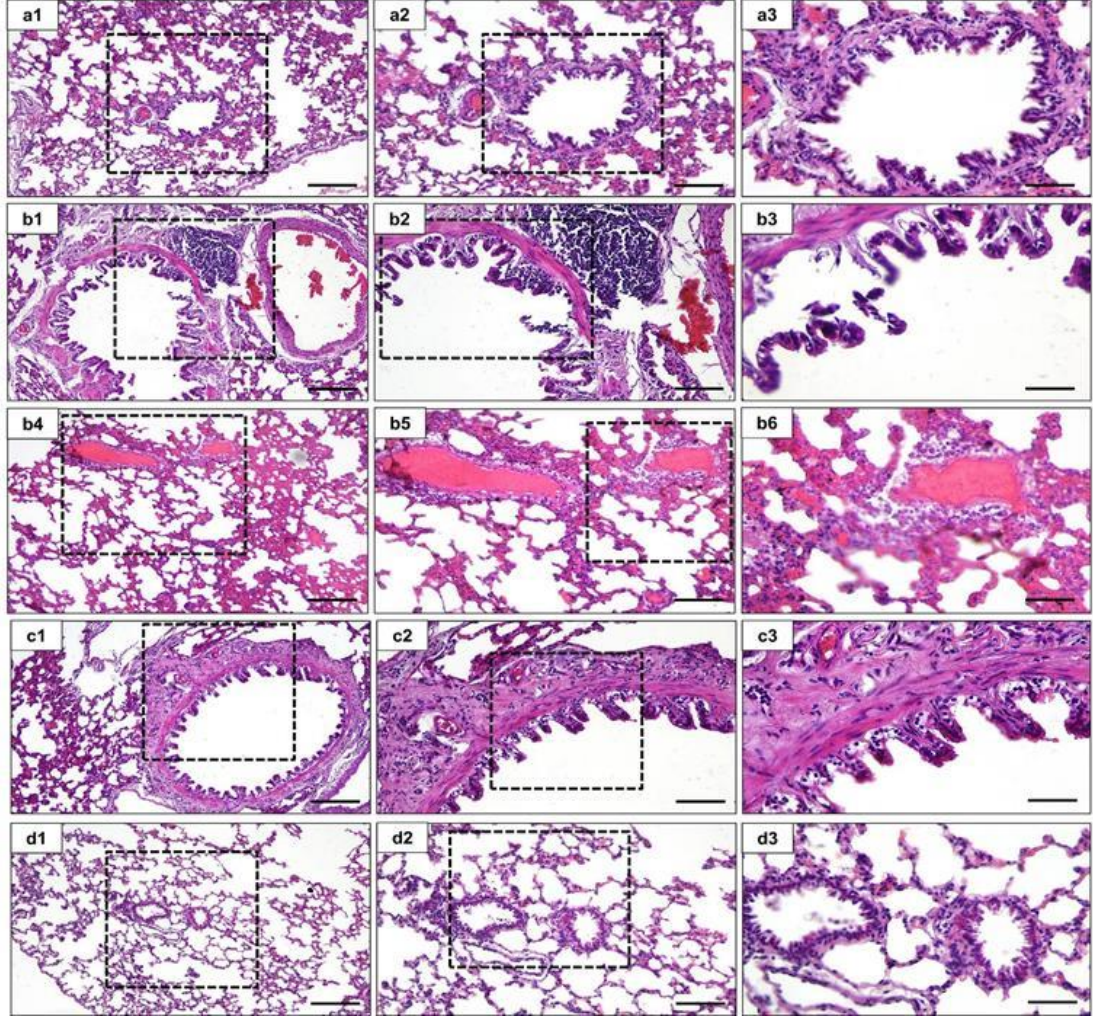


Resim 4.14. Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X20).



Resim 4.15. Omega-3 grubuna ait akciğer dokusunun normal görüntüsü (HE, X40).

Tüm grupların akciğer doku kesitlerine uygulanan HE boyaması ile elde edilen mikroskopik görüntüler, 10X, 20X ve 40X büyütmelemlerle Resim 4.16’da sunulmuştur.



Resim 4.16. Tüm gruplara ait akciğer kesitlerinin HE ile boyanmış görüntüsü. **a1, b1, b4, c1, d1** (x10; scale bar, 200 µm); **a2, b2, b5, c2, d2** (x20; scale bar, 100 µm), **a3, b3, b6, c3, d3** (x40; scale bar, 50 µm). **a:**Kontrol grubu, **b:**LPS grubu, **c:**LPS+Omega-3 grubu, **d:**Omega-3 grubu

Gruplarda gözlenen histopatolojik değişiklikler gereç ve yöntem bölümünde anlatıldığı şekilde skorlanmış olup; grupların ortalama değerleri standart sapmalarıyla birlikte akciğer dokuları için Tablo 4.2’de gösterilmiş ve gruplar arası karşılaştırmalar “p” değerleri ile birlikte verilmiştir.

Tablo 4.2. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında Histopatolojik İnceleme Skorlarının Karşılaştırması

	Bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma	Alveoler ve interstisyel inflamasyon	Alveoler ve interstisyel hemoraji	Hyalin membran oluşumu
	Skorları			
Kontrol	0,000± 0,000	0,000± 0,000	0,2500± 0,4629	0,000± 0,000
LPS	1,875± 0,3536	2,625± 0,5175	2,250± 0,4629	2,375± 0,5175
LPS + O3	1,250± 0,4629	1,375± 0,5175	0,3750± 0,5175	0,3750± 0,5175
O3	0,1250± 0,3536	0,000± 0,000	0,000± 0,000	0,000± 0,000
	p değeri			
Kontrol / LPS	<0.001***	<0.001***	<0.001***	<0.001***
Kontrol / LPS+O3	<0.001***	<0.001***	>0.999	0.299
Kontrol / O3	>0.999	>0.999	>0.999	>0.999
LPS / LPS+O3	0.06	<0.001***	<0.001***	<0.001***
LPS / O3	<0.001***	<0.001***	<0.001***	<0.001***
LPS + O3 / O3	<0.001***	<0.001***	0.498	0.299

*: istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p<0.05), **: p<0.01, ***: p<0.001

Akciğer dokularının histopatolojik incelemesinde bronşiol epitelinde ayrılma ve bozulma, alveoler ve interstisyel inflamasyon, alveoler ve interstisyel hemoraji, hyalin membran oluşumu skorları değerlendirilmiştir.

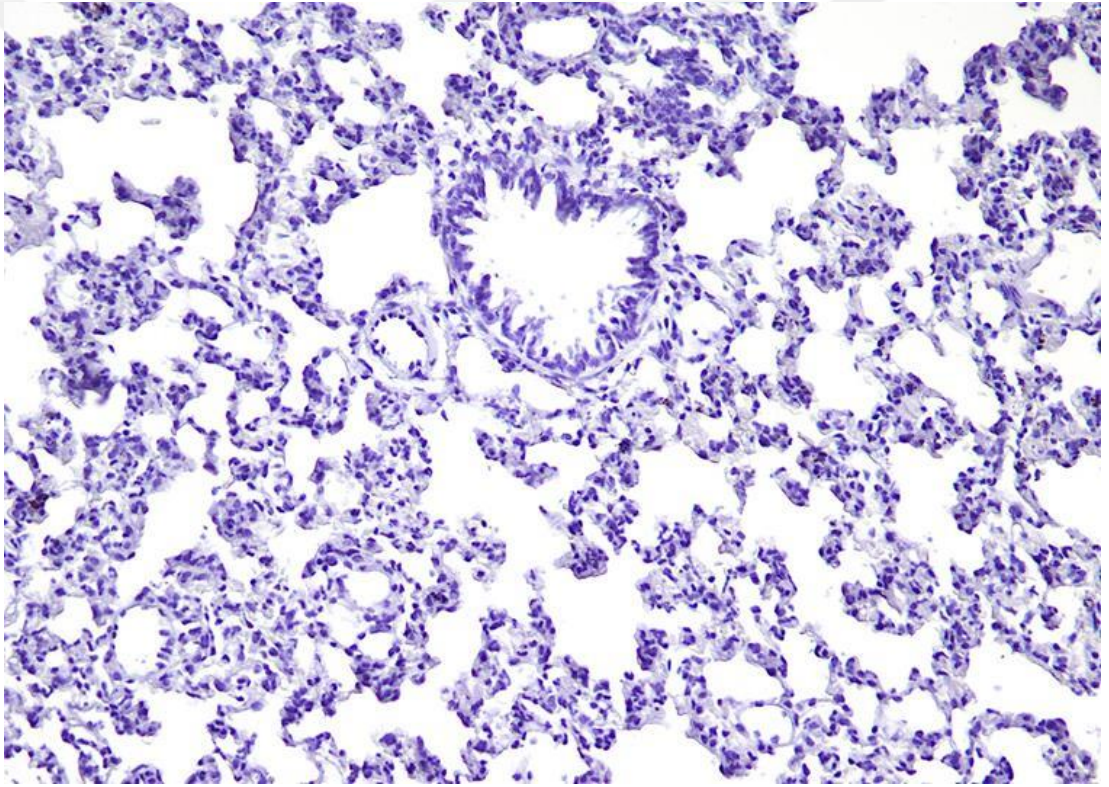
LPS grubunun skorları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (**p<0.001**). LPS grubu ile tedavi grupları kıyaslandığında; LPS + Omega-3 grubunda bronşiol epitel hasarında anlamlı olmasa da azalma (**p=0.06**), diğer tüm parametrelerde ise anlamlı azalma bulunmuştur (**p<0.001**).

Sonuç olarak, Omega-3 tedavisinin özellikle inflamasyon, hemoraji ve hyalin membran oluşumu üzerinde belirgin iyileştirici etkiler sağladığı, bronşiol epitel hasarında ise anlamlı bir iyileşme eğilimi olduğu gözlenmiştir.

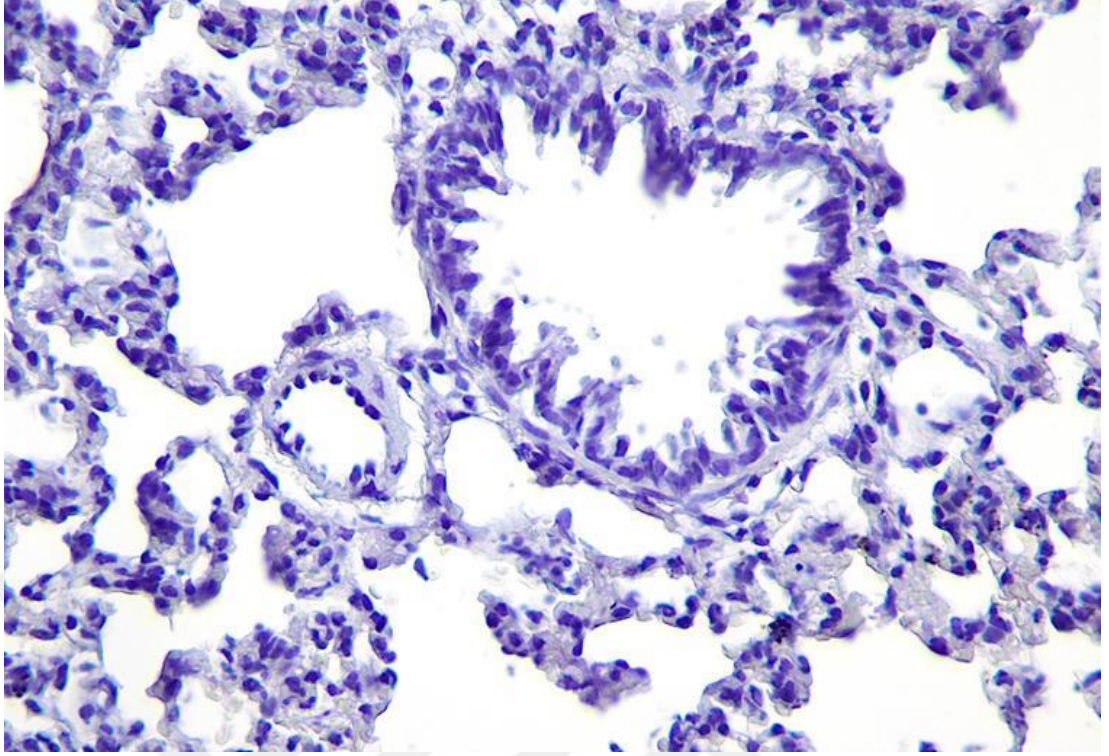
4.1.2. İmmunohistokimyasal Bulgu Sonuçları

4.1.2.1. Kaspaz-3 Bulgu Sonuçları

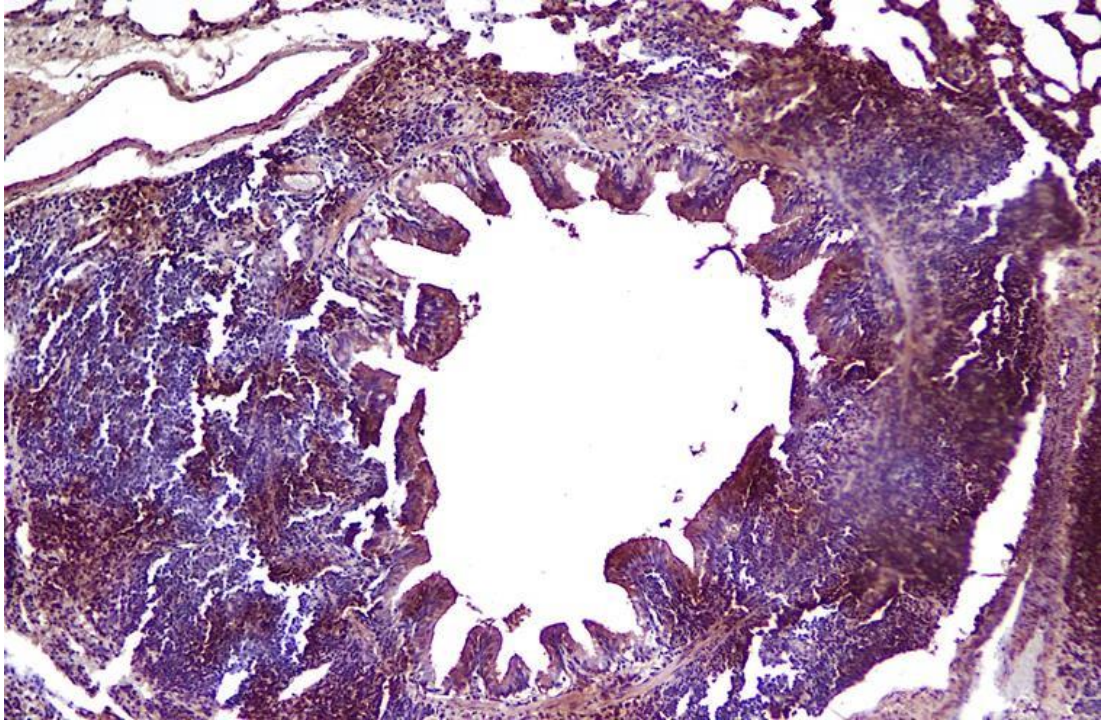
Gruplara göre Cas-3 ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubunda negatif ekspresyon olduğu görülmüştür (Resim 4.17-4.18). LPS grubunda ise alveol ve bronşiollede Cas-3 ekspresyonu belirgin şekilde artmış olup +3 şiddetindedir (Resim 4.19-4.20). LPS+Omega-3 grubunda Cas-3 ekspresyonu artmış olup +2 şiddetinde olması dikkat çekmiştir (Resim 4.21-4.22). Omega-3 grubunda ise Cas-3 ekspresyonunun kontrol grubuna benzer şekilde negatif olduğu belirlenmiştir (Resim 4.23–4.24).



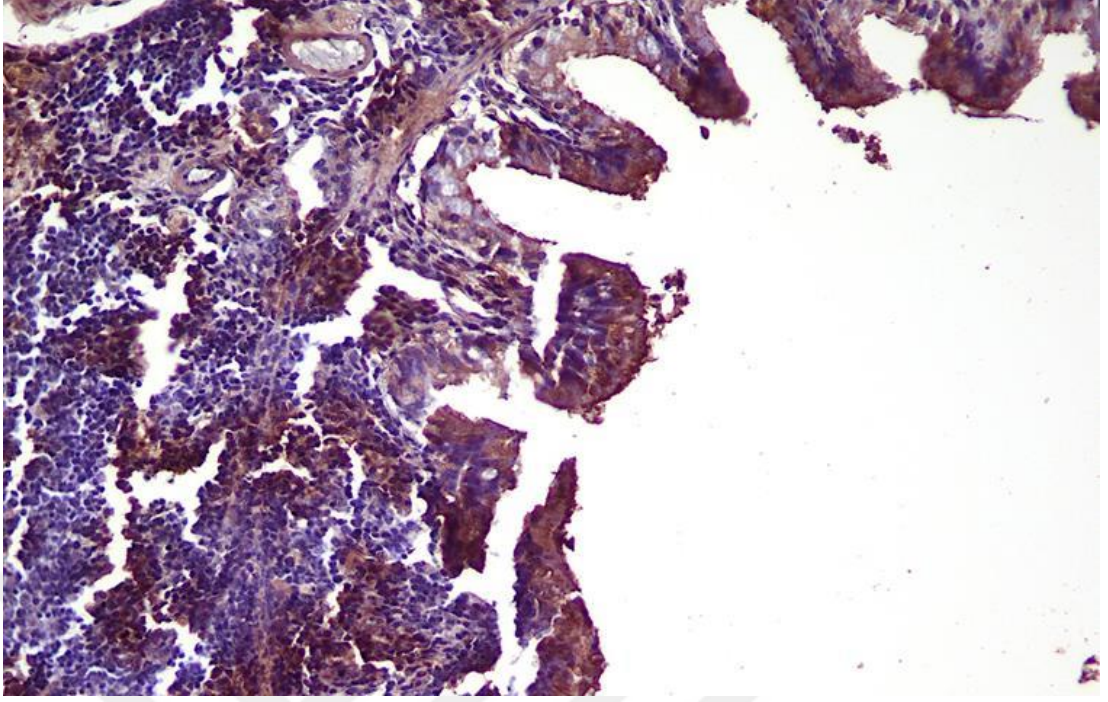
Resim 4.17. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20



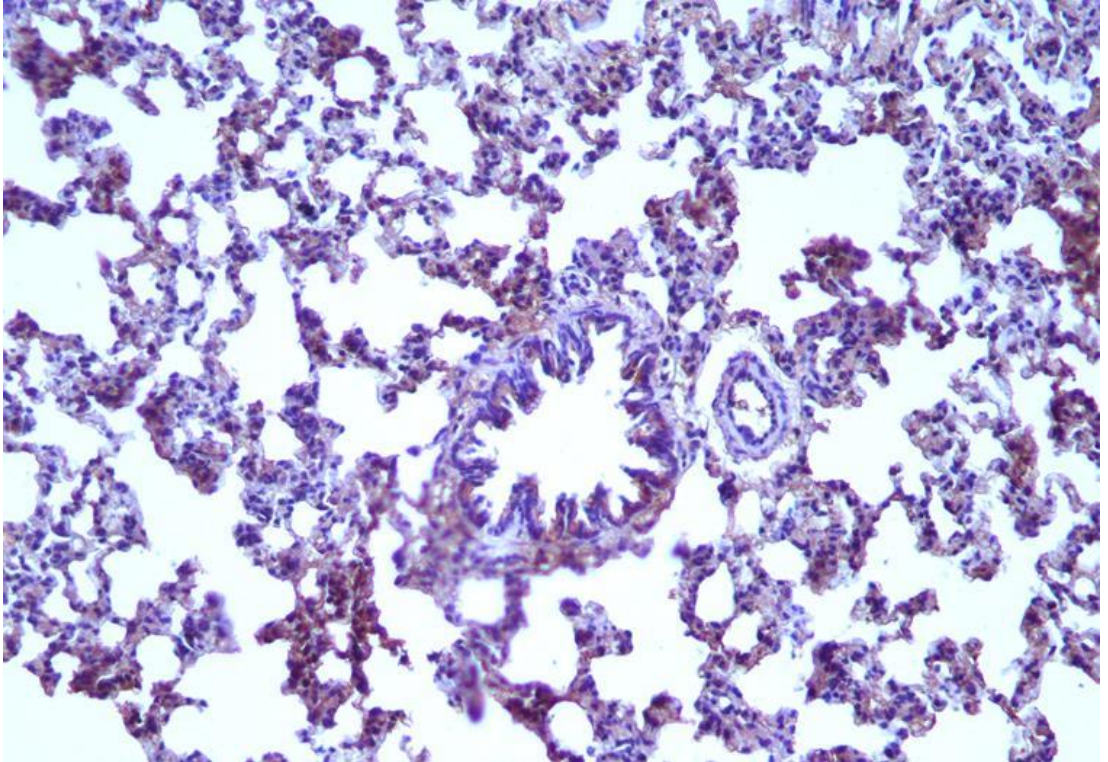
Resim 4.18. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.



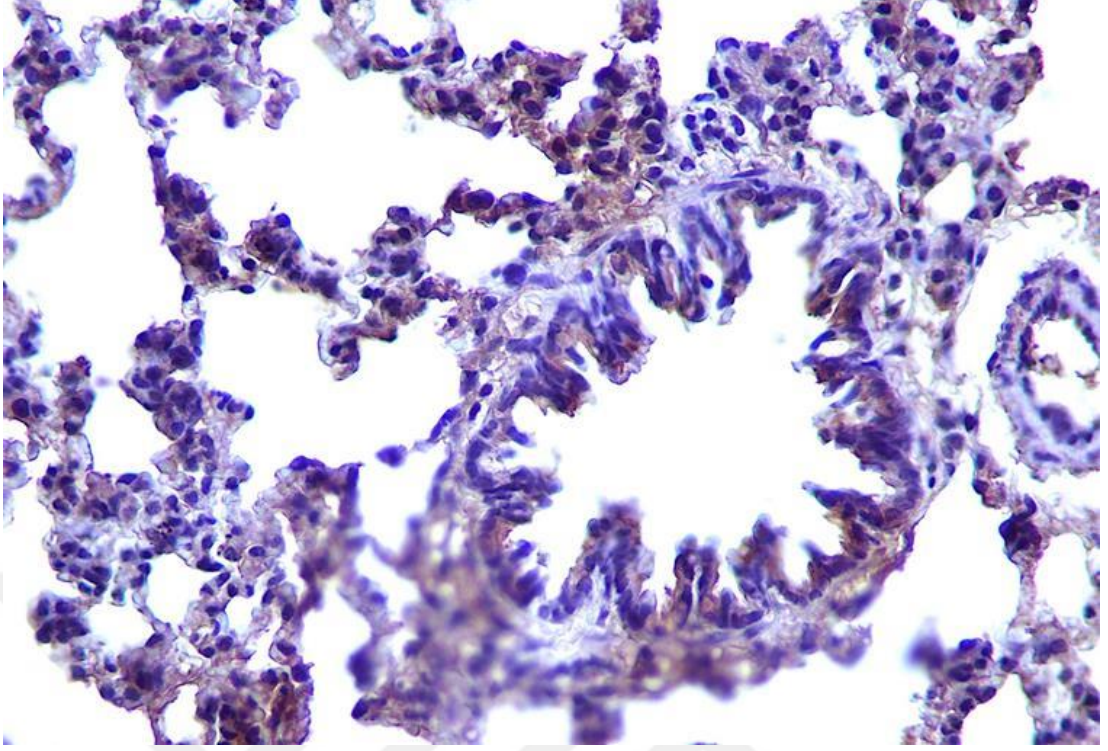
Resim 4.19. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



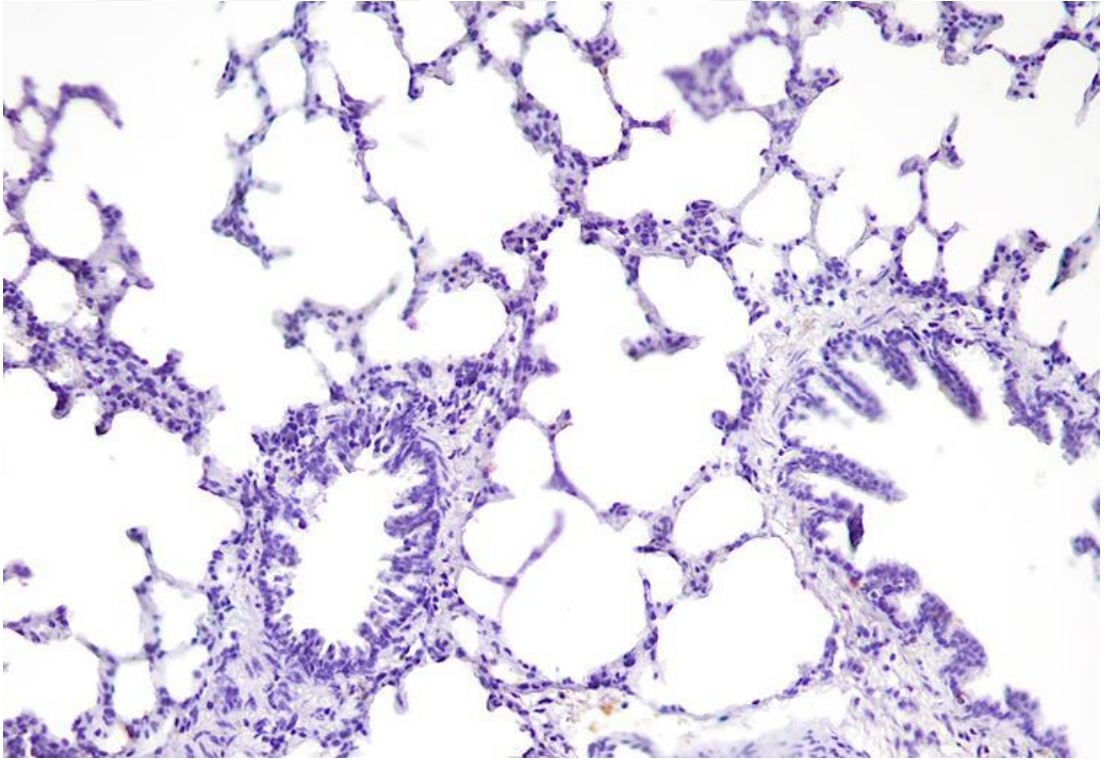
Resim 4.20. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.



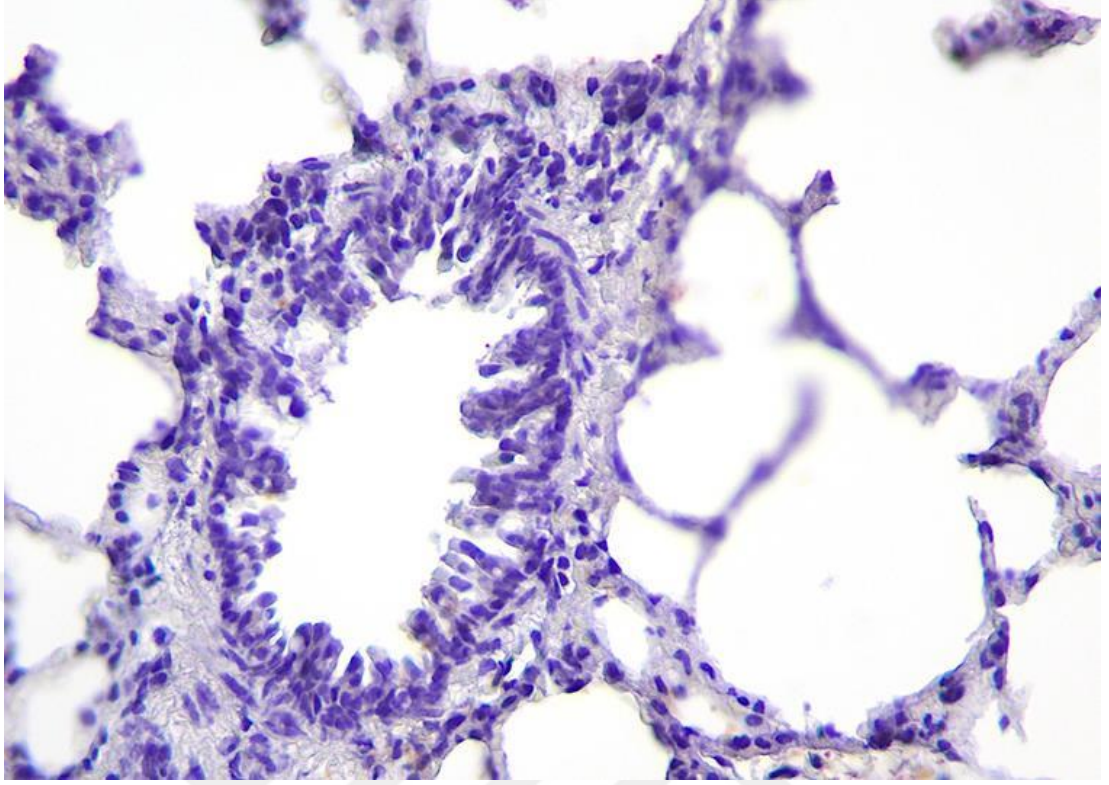
Resim 4.21. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



Resim 4.22. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.



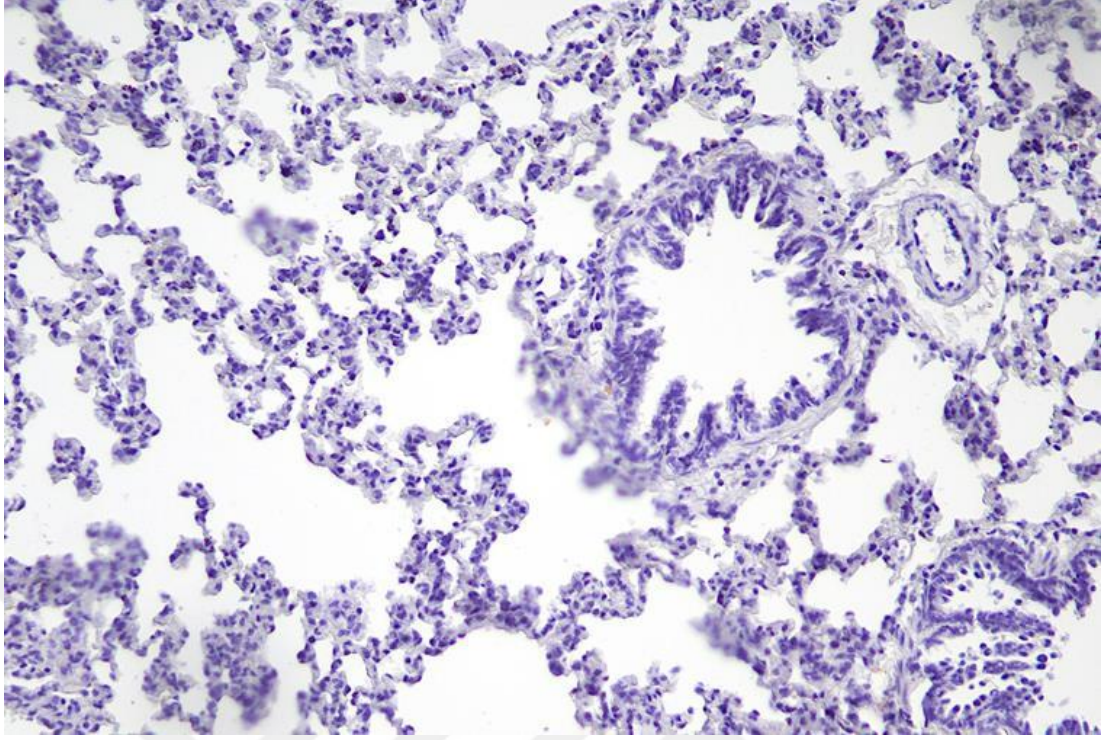
Resim 4.23. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



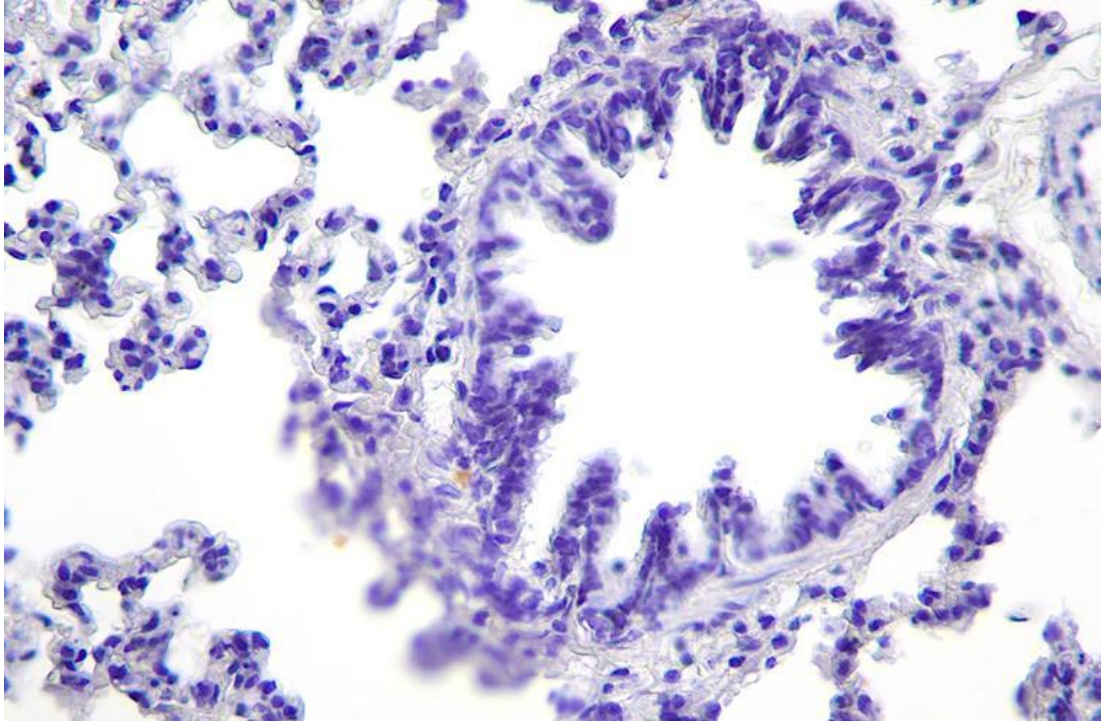
Resim 4.24. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.

4.1.2.2. TNF- α İmmünohistokimyasal Bulgu Sonuçları

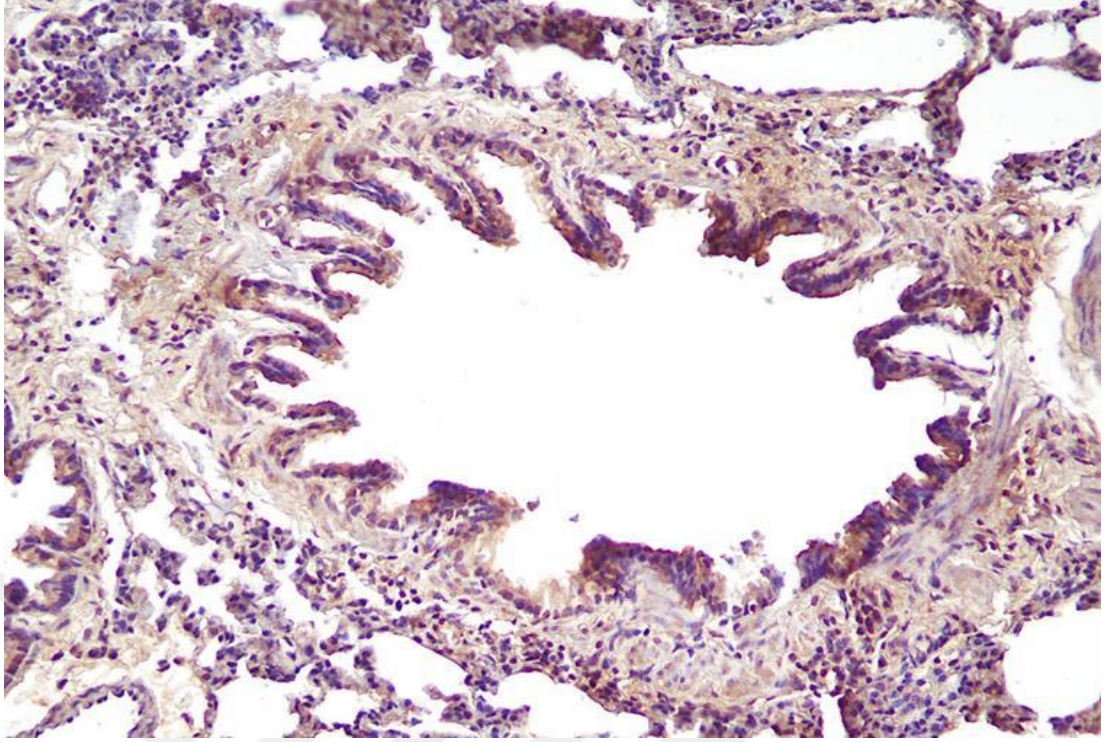
Gruplara göre TNF- α ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubunda negatif ekspresyon olduğu görülmüştür (Resim 4.25-4.26). LPS grubunda ise alveol ve bronşiollerde TNF- α ekspresyonu artmıştır ve +3 şiddetindedir (Resim 4.27-4.28). LPS+Omega-3 grubunda TNF- α ekspresyonun +2 şiddetinde olması dikkat çekmiştir (Resim 4.29-4.30). Omega-3 grubunda ise negatif ekspresyon gözlemlenmiştir (Resim 4.31-4.32).



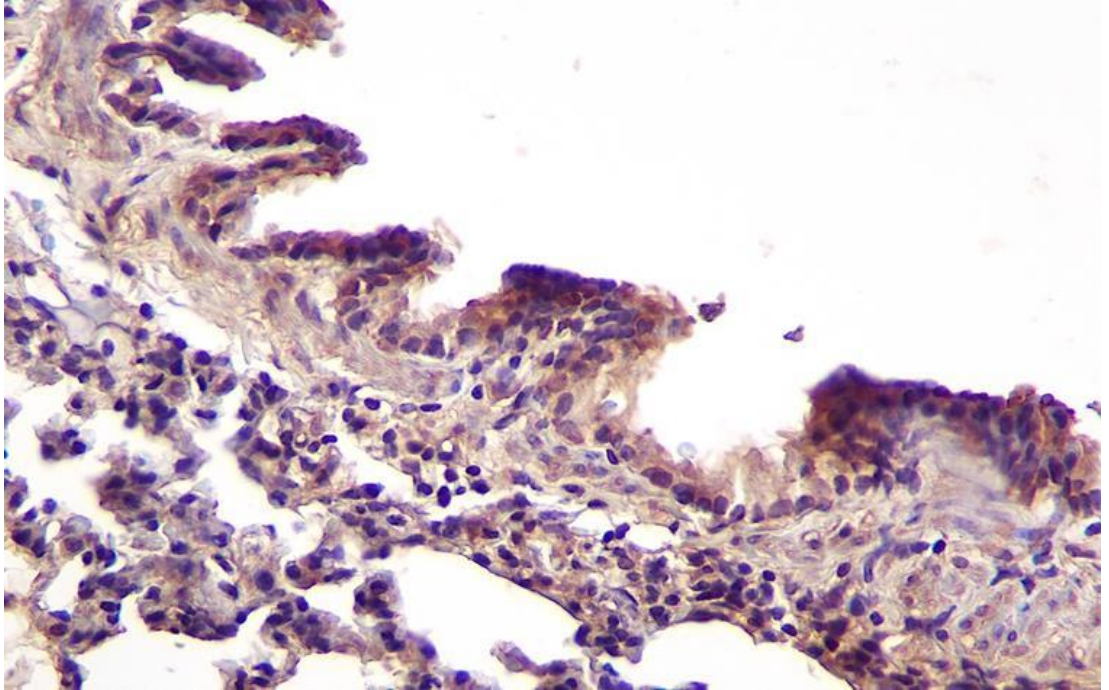
Resim 4.25. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20



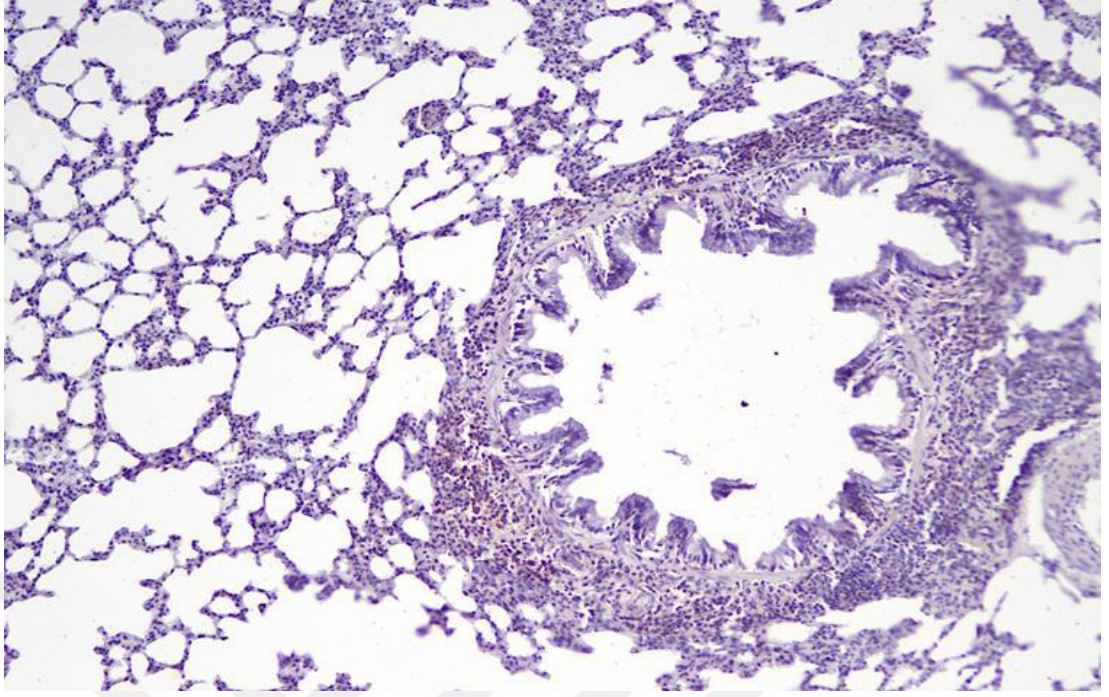
Resim 4.26. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40



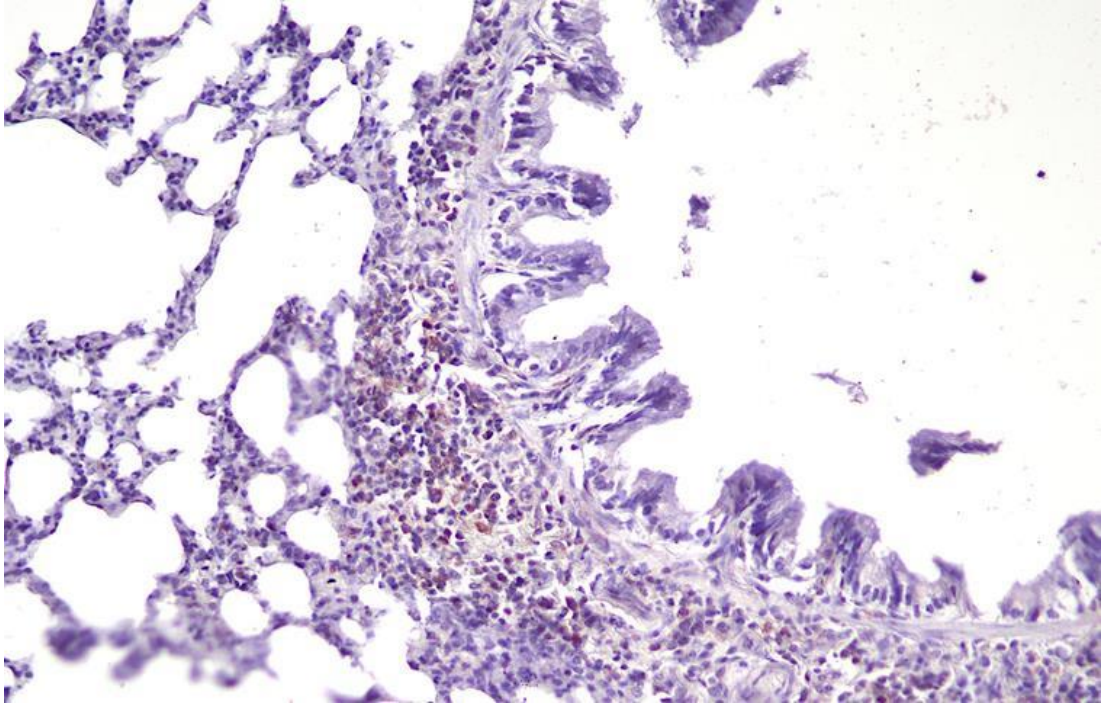
Resim 4.27. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



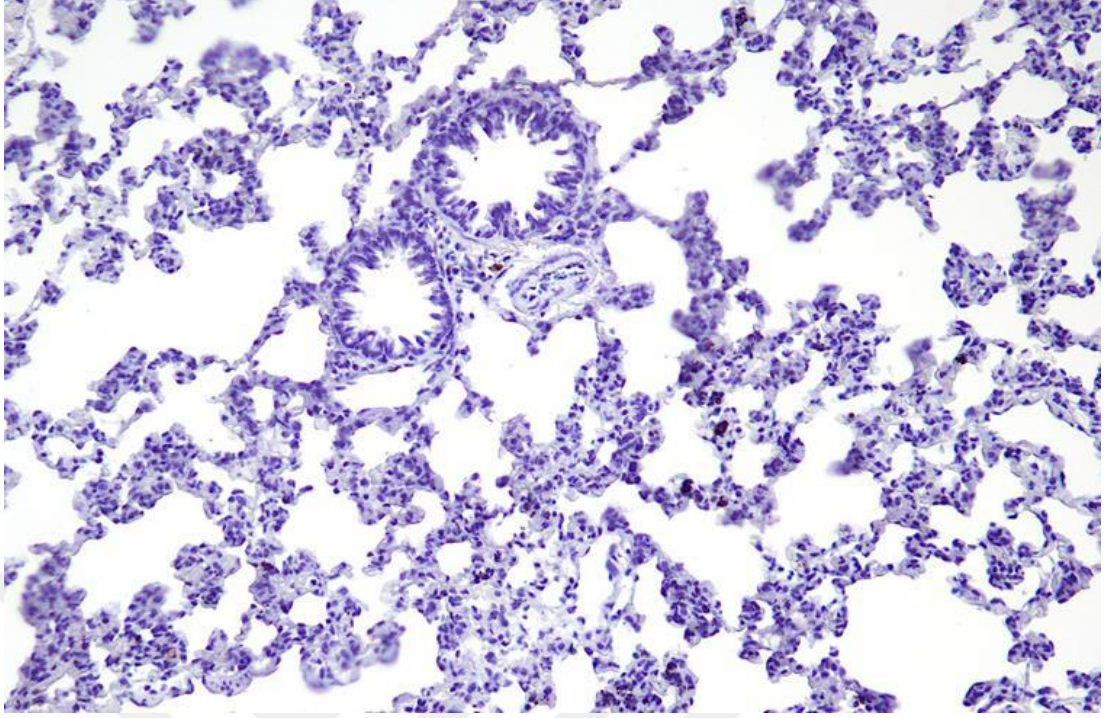
Resim 4.28. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.



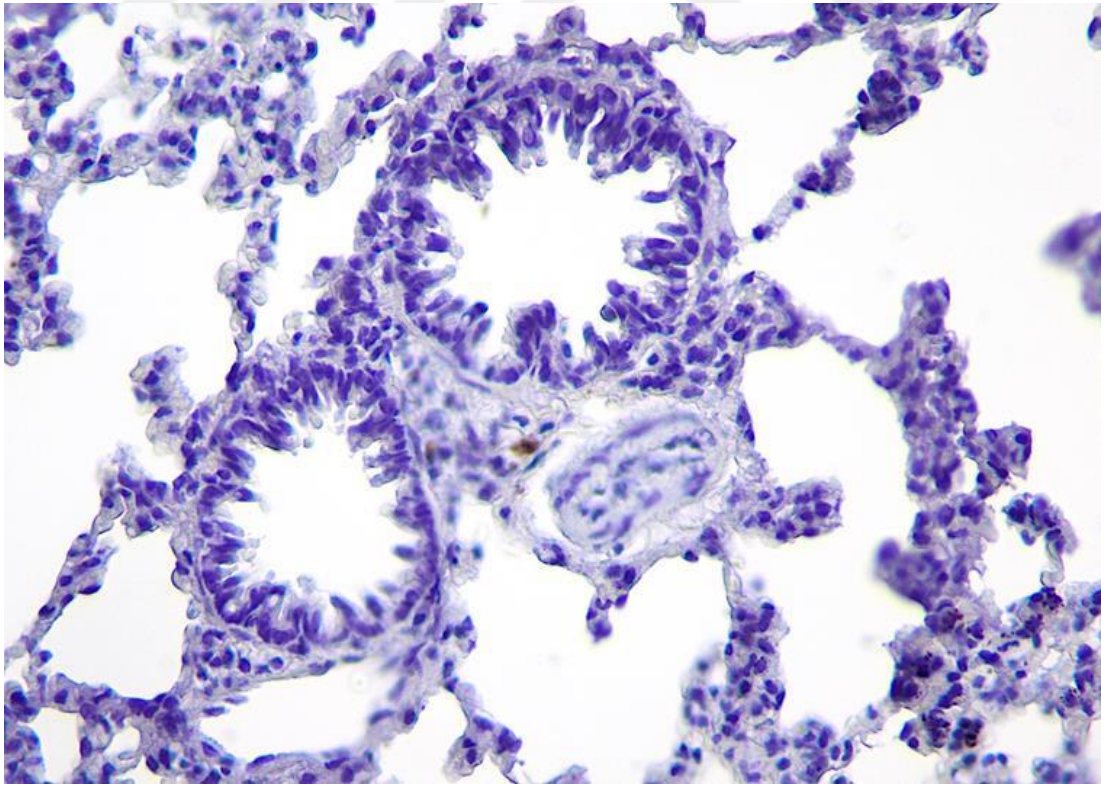
Resim 4.29. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



Resim 4.30. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.



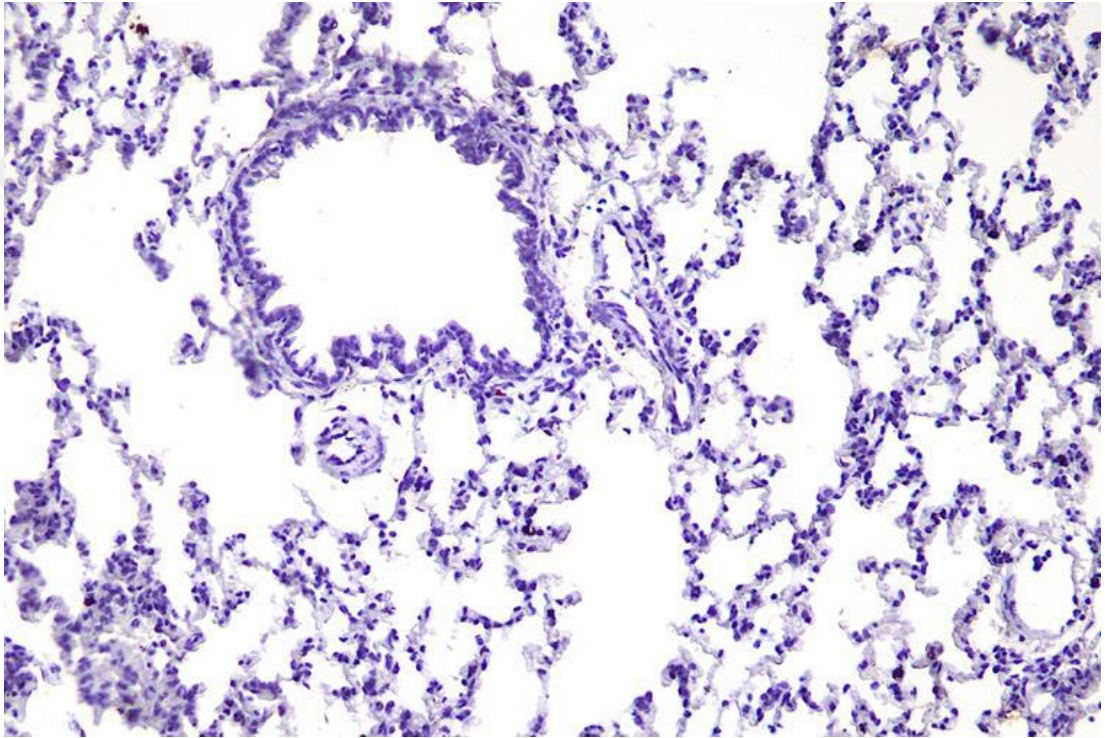
Resim 4.31. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



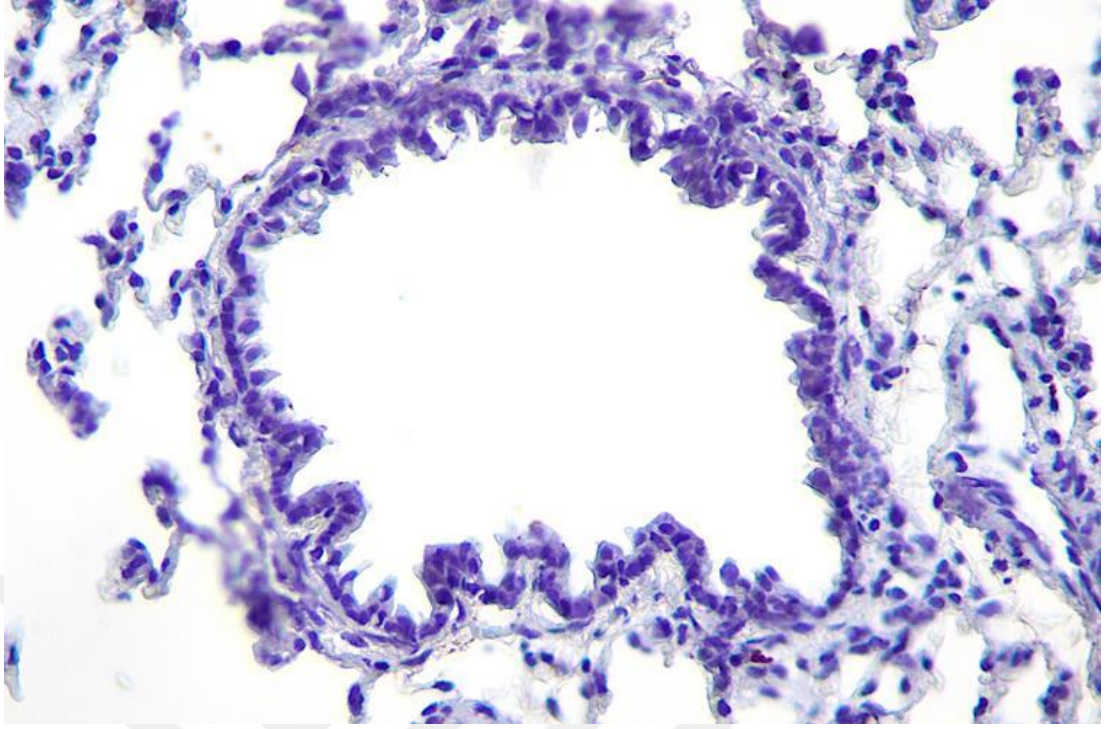
Resim 4.32. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.

4.1.2.3. HSP-70 İmmuonohistokimyasal Bulgu Sonuçları

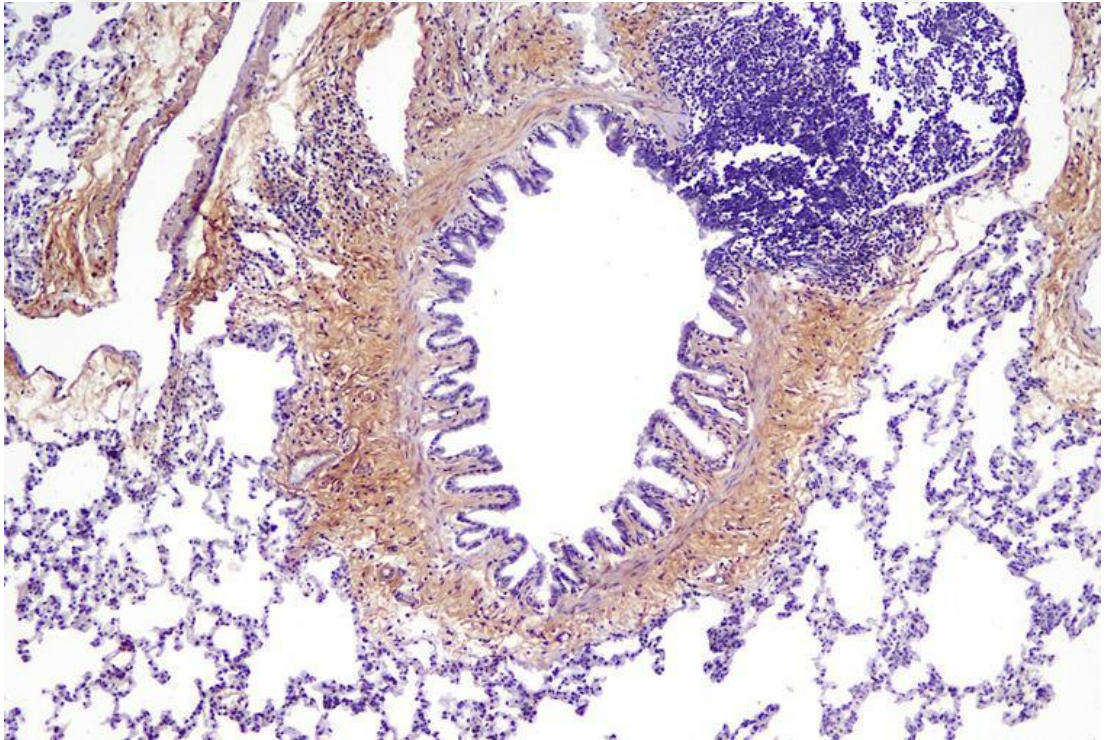
Gruplara göre HSP-70 ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubunda negatif ekspresyon olduğu görülmüştür (Resim 4.33-4.34). LPS grubunda ise alveol ve bronşiollerde HSP-70 ekspresyonu artmıştır ve +3 şiddetindedir (Resim 4.35-4.36). LPS+Omega-3 grubunda HSP-70 ekspresyonun +2 şiddetinde olması dikkat çekmiştir (Resim 4.37-4.38). Omega-3 grubunda ise kontrol grubuna benzer şekilde negatif ekspresyon gözlemlenmiştir (4.39-4.40)



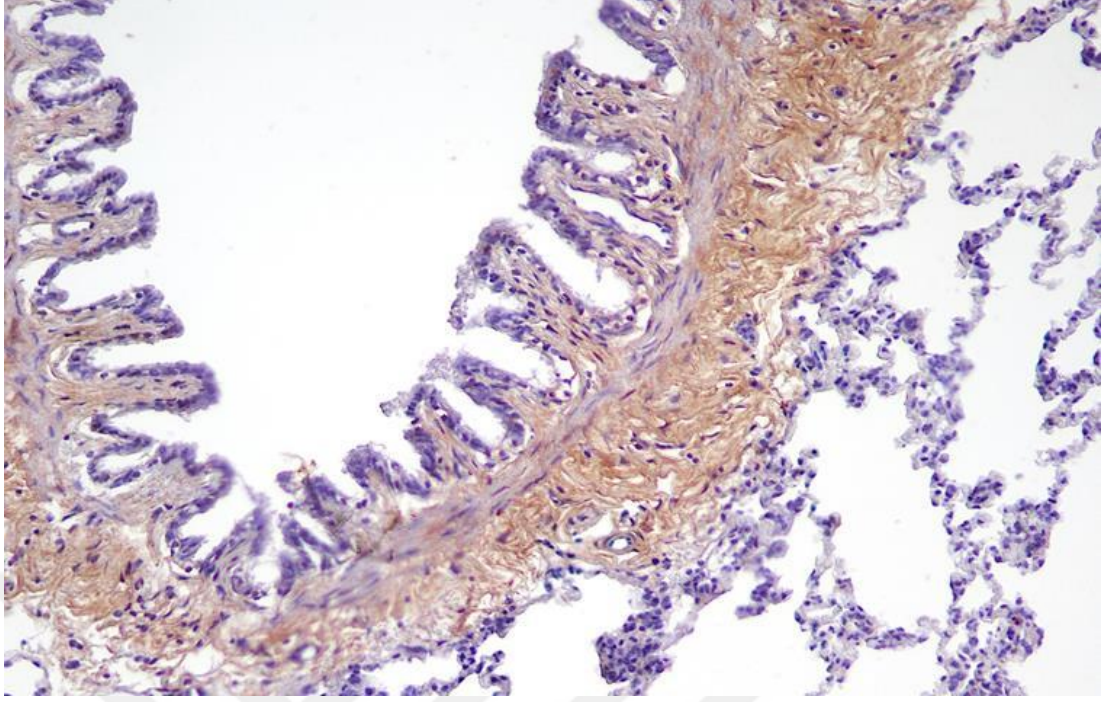
Resim 4.33. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20



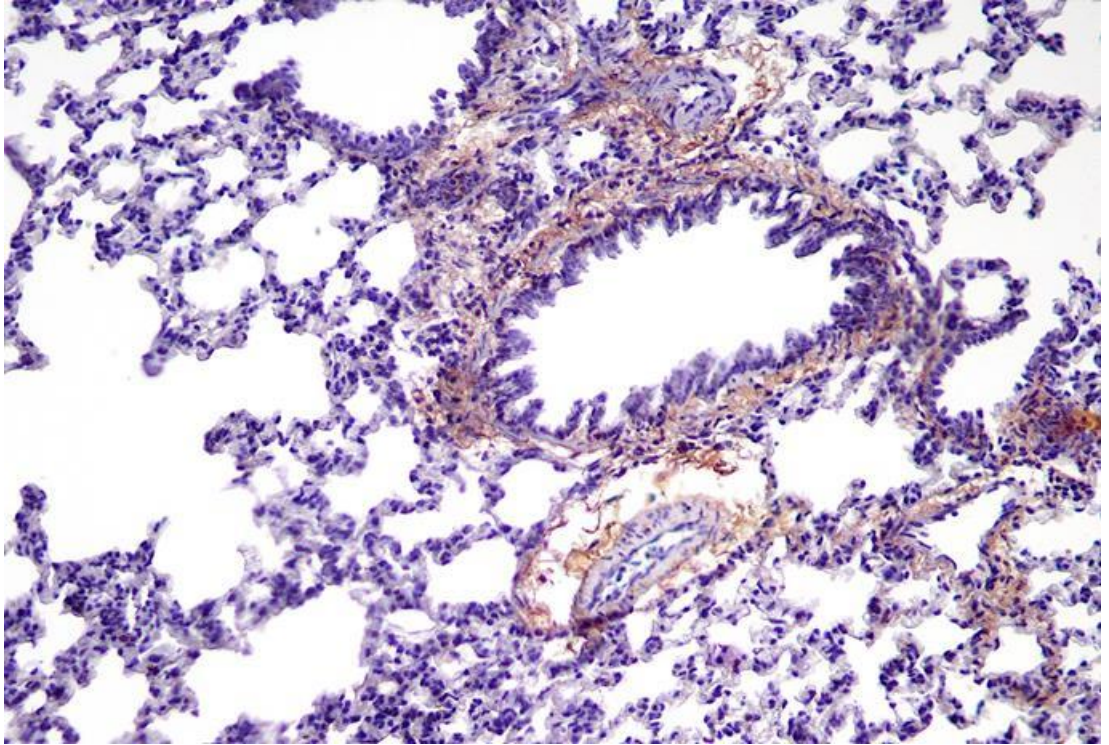
Resim 4.34. Kontrol grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40



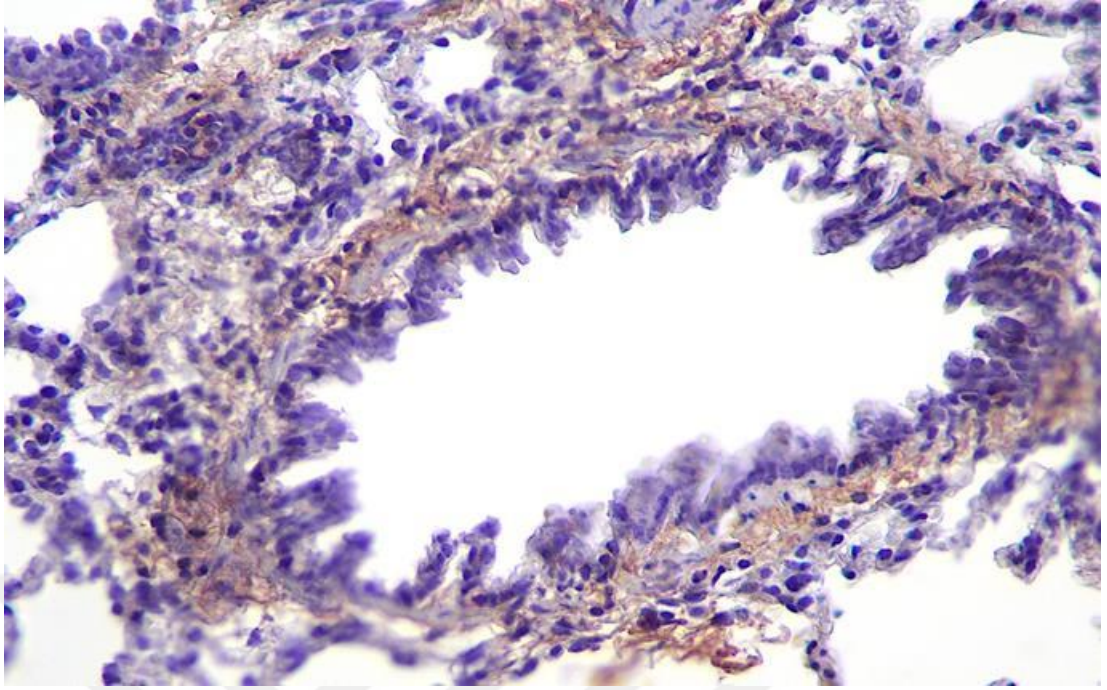
Resim 4.35. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



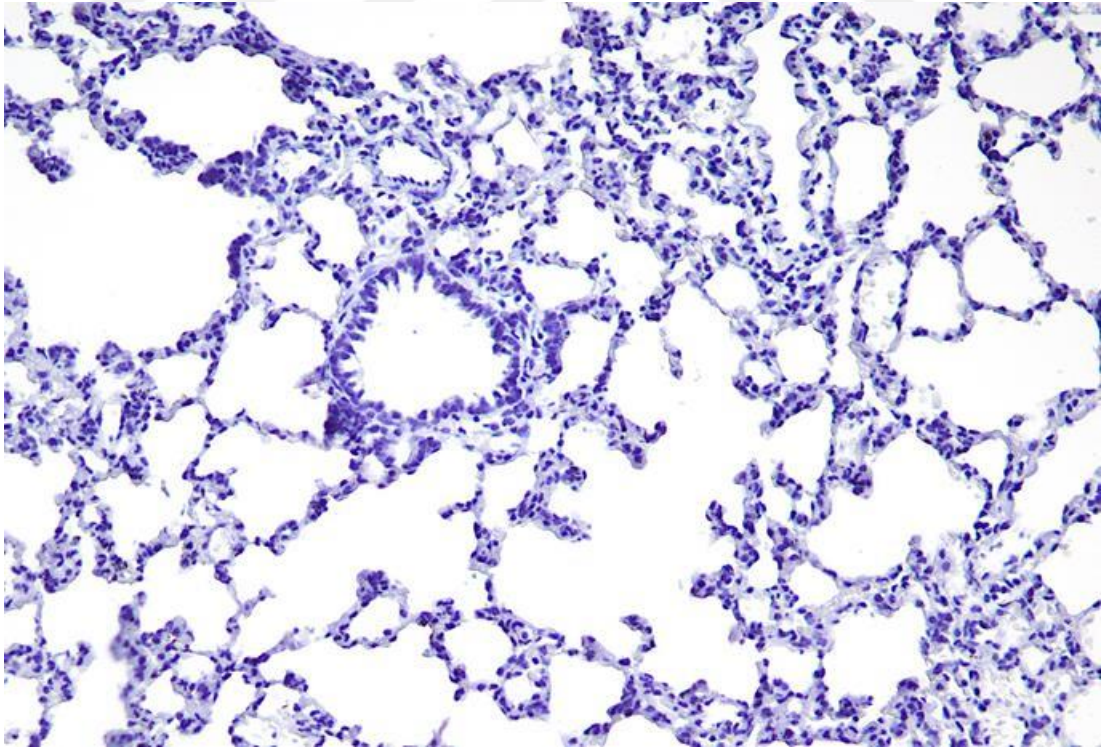
Resim 4.36. LPS grubuna ait rat akciğerinde belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.



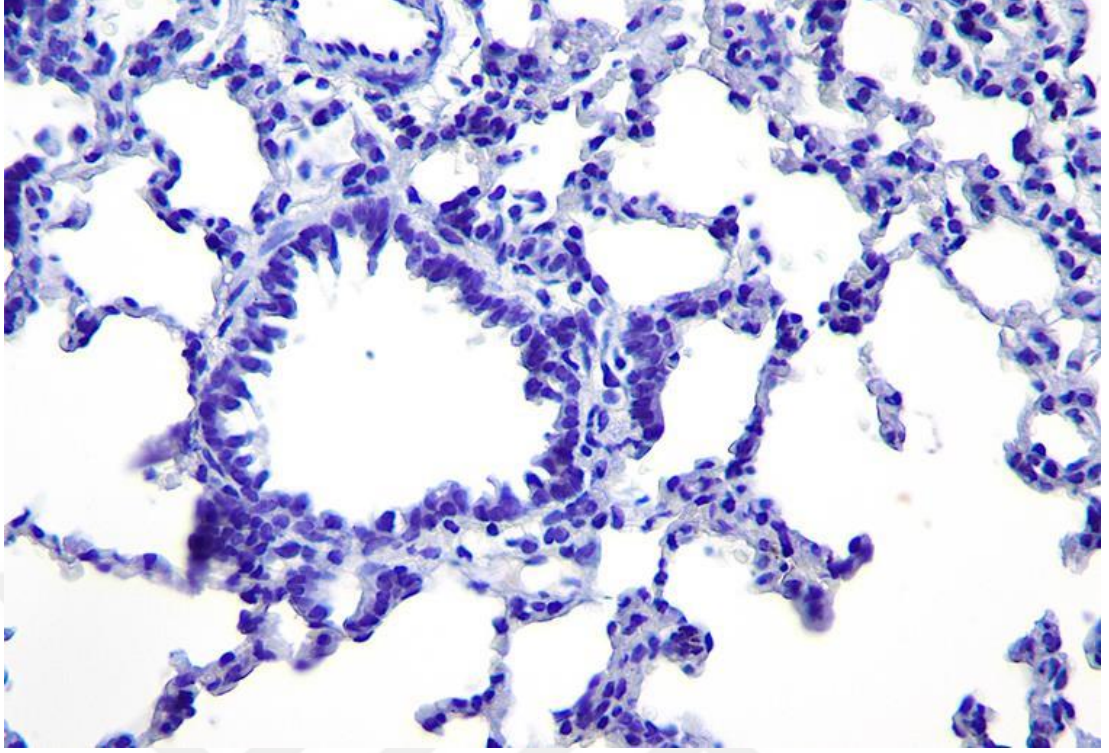
Resim 4.37. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



Resim 4.38. LPS+Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40

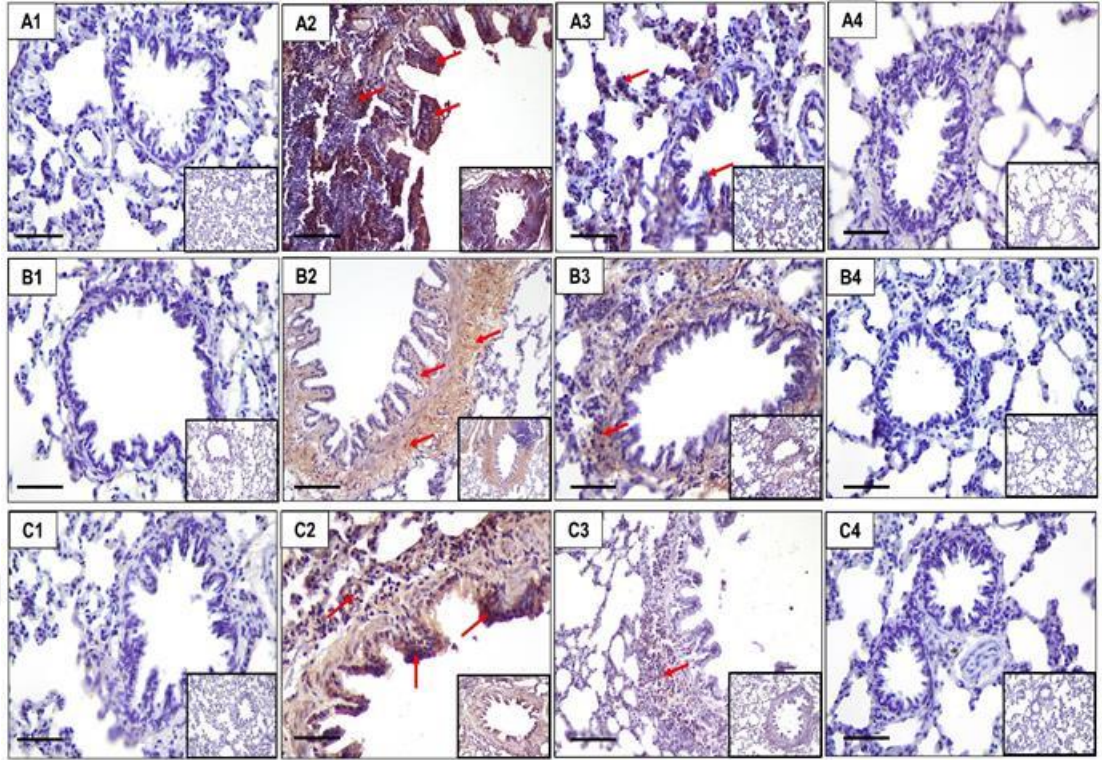


Resim 4.39. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X20.



Resim 4.40. Omega-3 grubuna ait rat akciğerinde negatif ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40.

Tüm gruplara ait akciğer doku kesitlerinde Cas-3, HSP-70 ve TNF- α immünreaktivitelerine yönelik 40X büyütmede elde edilen mikroskopik görüntüler Resim 4.41’de sunulmuştur.



Resim 4.41. Tüm gruplara ait akciğer kesitlerinin Cas-3, HSP-70 ve TNF- α immunreaktivitelerine ait görüntüleri. A1-A4: Cas-3, B1-B4: HSP-70, C1-C4: TNF- α (x40; scale bar, 50 μ m). Kırmızı ok: Cas-3, HSP-70 ve TNF- α pozitif immunreaktiviteyi göstermektedir.

Gruplar arasındaki akciğer hasarına ait immünohistokimyasal skorlamalar, "Gereç ve Yöntem" bölümünde tanımlanan H-skor yöntemi esas alınarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.3'te sunulmuştur.

Tablo 4.3. Akciğer Hasarının İmmünohistokimyasal Skor Tablosu

	KONTROL	LPS	LPS+Omega-3	Omega-3
Cas-3	0	+3	+1	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
TNF- α	0	+2	+1	0
	0	+2	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+1	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0

Tablo 4.3. Akciğer Hasarının İmmunohistokimyasal Skor Tablosu (Devamı)

	KONTROL	LPS	LPS+Omega-3	Omega-3
HSP-70	0	+2	+2	0
	+1	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+2	+2	+1
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0

Gruplarda gözlenen akciğer dokularına ait immunohistokimyasal değişiklikler gereç ve yöntem bölümünde anlatıldığı şekilde skorlanmış olup; grupların ortalama değerleri standart sapmaları ile birlikte akciğer dokuları için Tablo 4.4’te gösterilmiş ve gruplar arası karşılaştırmalar “p” değerleri ile birlikte verilmiştir.

Tablo 4.4. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında İmmunohistokimyasal İnceleme Skorlarının Karşılaştırması

	Cas-3	TNF- α	HSP-70
	Skorlar		
Kontrol	0,000± 0,000	0,000± 0,000	0,1250± 0,3536
LPS	3,000± 0,000	2,750± 0,4629	2,750± 0,4629
LPS + O3	1,875± 0,3536	0,1750± 0,4629	2,000± 0,000
O3	0,000± 0,000	0,000± 0,000	0,1250± 0,3536
	Cas-3	TNF- α	HSP-70
	p değeri		
Kontrol / LPS	<0.001***	<0.001***	<0.001***
Kontrol / LPS+O3	<0.001***	<0.001***	<0.001***
Kontrol / O3	>0.999	>0.999	>0.999
LPS / LPS+O3	<0.001***	<0.001***	<0.001***
LPS / O3	<0.001***	<0.001***	<0.001***
LPS + O3 / O3	<0.001***	<0.001***	<0.001***

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü-Alfa, Cas-3: Kaspaz-3, HSP-70: Heat Shock Protein 70

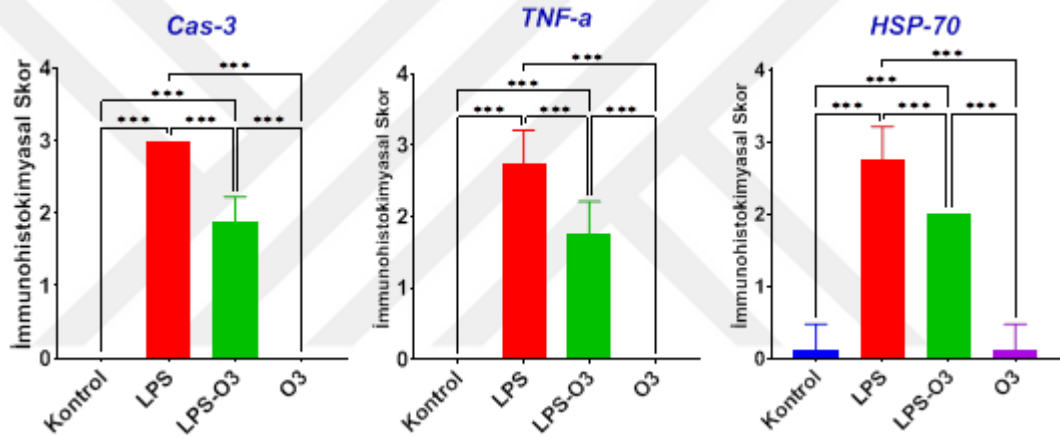
*: istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p<0.05), **: p<0.01, ***: p<0.001

Akciğer dokularında yapılan immünohistokimyasal incelemede Cas-3, TNF- α ve HSP-70 ekspresyonları değerlendirilmiştir.

LPS grubunun tüm parametrelerde skorları kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). LPS grubu ile tedavi grupları kıyaslandığında; **LPS + Omega-3** grubunda tüm parametrelerde anlamlı azalma gözlenmiştir ($p<0.001$). Bu durum, Omega-3'ün apoptoz (Cas-3), inflamasyon (TNF- α) ve stres yanıtı (HSP-70) üzerinde iyileştirici etkiler sağladığını göstermektedir.

Sonuç olarak, Omega-3 tedavisinin sepsis modelinde inflamasyon, apoptoz ve hücrel stres üzerinde anlamlı düzeyde iyileştirici etkiler sağladığı ve bu etkinin özellikle LPS ile oluşturulan hasara karşı belirgin olduğu değerlendirilmiştir.

Gruplar arasında elde edilen immünohistokimyasal skorların karşılaştırmalı dağılımı, grafiksel olarak Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Gruplar Arasında İmmünohistokimyasal Skor Karşılaştırılması Grafiği

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü-Alfa, Cas-3: Kaspaz-3, HSP-70: Heat Shock Protein 70

*: istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0.05$), **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

4.2. Biyokimyasal Analizlerin Sonuçları

Akciğer dokularında incelenen TAS, TOS ve OSI incelemelerinin gruplardaki ortalama değerleri $\pm$ SD ve gruplar arası karşılaştırılması “p” değerleriyle birlikte Tablo 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.5. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında TAS, TOS ve OSI İncelemele Skorlarının Karşılaştırılması

	TAS (mmolTroloxEq/gr protein)	TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ Eq/gr protein)	OSİ (Arbitrary Units)
	Skorlar		
Kontrol	1,706± 0,2013	75,78± 9,394	4,476± 0,6201
LPS	1,558± 0,09588	88,28± 8,643	5,674± 0,5327
LPS + O3	1,630± 0,07578	77,49± 6,672	4,759± 0,3924
O3	1,726± 0,1398	75,01± 7,077	4,378± 0,6076
	p değeri		
Kontrol / LPS	0.231	0.025*	<0.001***
Kontrol / LPS+O3	>0.999	>0.999	>0.999
Kontrol / O3	>0.999	>0.999	>0.999
LPS / LPS+O3	>0.999	0.072	0.014*
LPS / O3	0.121	0.016*	<0.001***
LPS + O3 / O3	>0.999	>0.999	>0.999

TAS: Total antioksidan kapasite, TOS: Total oksidan kapasite, OSI: Oksidatif Stres İndeksi

*: istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p<0.05), **: p<0.01, ***: p<0.001

Akciğer dokularında yapılan biyokimyasal analizde TAS, TOS ve OSI değerleri değerlendirilmiştir.

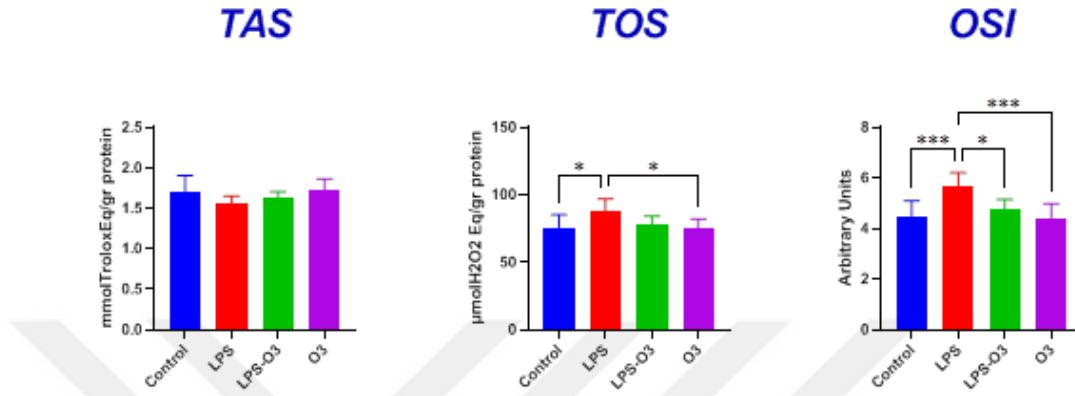
LPS grubunun TOS ve OSI değerleri, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (**p<0.05**). TAS değeri ise kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen anlamlı fark izlenmemiştir (**p>0.05**).

LPS grubu ile LPS + Omega-3 grubu kıyaslandığında, OSI değerinde anlamlı azalma gözlenmiştir (**p<0.05**), TOS değerinde ise anlamlı olmasa da azalma eğilimi olduğu görülmüştür (**p=0.072**). TAS değeri ise iki grup arasında anlamlı fark göstermemiştir (**p>0.05**).

Sonuç olarak, Omega-3 tedavisinin sepsis modelinde özellikle oksidatif stres indeksini azaltmada etkili olduğu, TOS üzerinde ise anlamlılığa yakın bir azalma eğilimi gösterdiği gözlenmiştir. TAS değeri ise gruplar arasında anlamlı farklılık

göstermemiştir. Bu bulgular, Omega-3'ün sepsis modelinde oksidatif stres üzerindeki iyileştirici etkisini desteklemektedir.

Gruplar arasında elde edilen biyokimyasal analiz sonuçlarına ait grafiksel gösterim Şekil 4.2’de sunulmuştur.



Şekil 4.2. Gruplar Arasında Biyokimyasal Analizlerin Grafiği

TAS: Total antioksidan kapasite, TOS: Total oksidan kapasite, OSI: Oksidatif Stres İndeksi

*: istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p<0.05), **: p<0.01, ***: p<0.001

4.3. Genetik Analizlerin Sonuçları

Genetik ekspresyonların gruplardaki ortalama değerleri $\pm$ SD ve gruplar arası karşılaştırılması Tablo 4.6’de verilmiştir.

Tablo 4.6. Akciğer Dokularının Gruplar Arasında Genetik Ekspresyon İnceleme Skorlarının Karşılaştırması

	Bcl-2	Bax	Cyt-c	Cas-9
Skorlar				
Kontrol	1,051 $\pm$ 0,3566	1,028 $\pm$ 0,2525	1,068 $\pm$ 0,3548	1,0250 $\pm$ 0,23422
LPS	0,3388 $\pm$ 0,09598	2,971 $\pm$ 0,2697	3,166 $\pm$ 0,4147	2,3913 $\pm$ 0,31330
LPS + O3	0,8225 $\pm$ 0,1402	1,198 $\pm$ 0,1964	1,305 $\pm$ 0,2365	1,1500 $\pm$ 0,21494
O3	0,9438 $\pm$ 0,1720	0,9788 $\pm$ 0,1707	1,040 $\pm$ 0,2489	1,0075 $\pm$ 0,16985
p değeri				
Kontrol / LPS	<0.001***	<0.001***	<0.001***	<0.001***
Kontrol / LPS+O3	0.256	0.861	0.911	>0.999
Kontrol / O3	>0.999	>0.999	>0.999	>0.999
LPS / LPS+O3	<0.001***	<0.001***	<0.001***	<0.001***
LPS / O3	<0.001***	<0.001***	<0.001***	<0.001***
LPS + O3 / O3	>0.999	0.378	0.668	>0.999

*: istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p<0.05), **: p<0.01, ***: p<0.001

Genetik incelemede **Bcl-2, Bax, Cyt-c ve Cas-9** ekspresyonları değerlendirilmiştir.

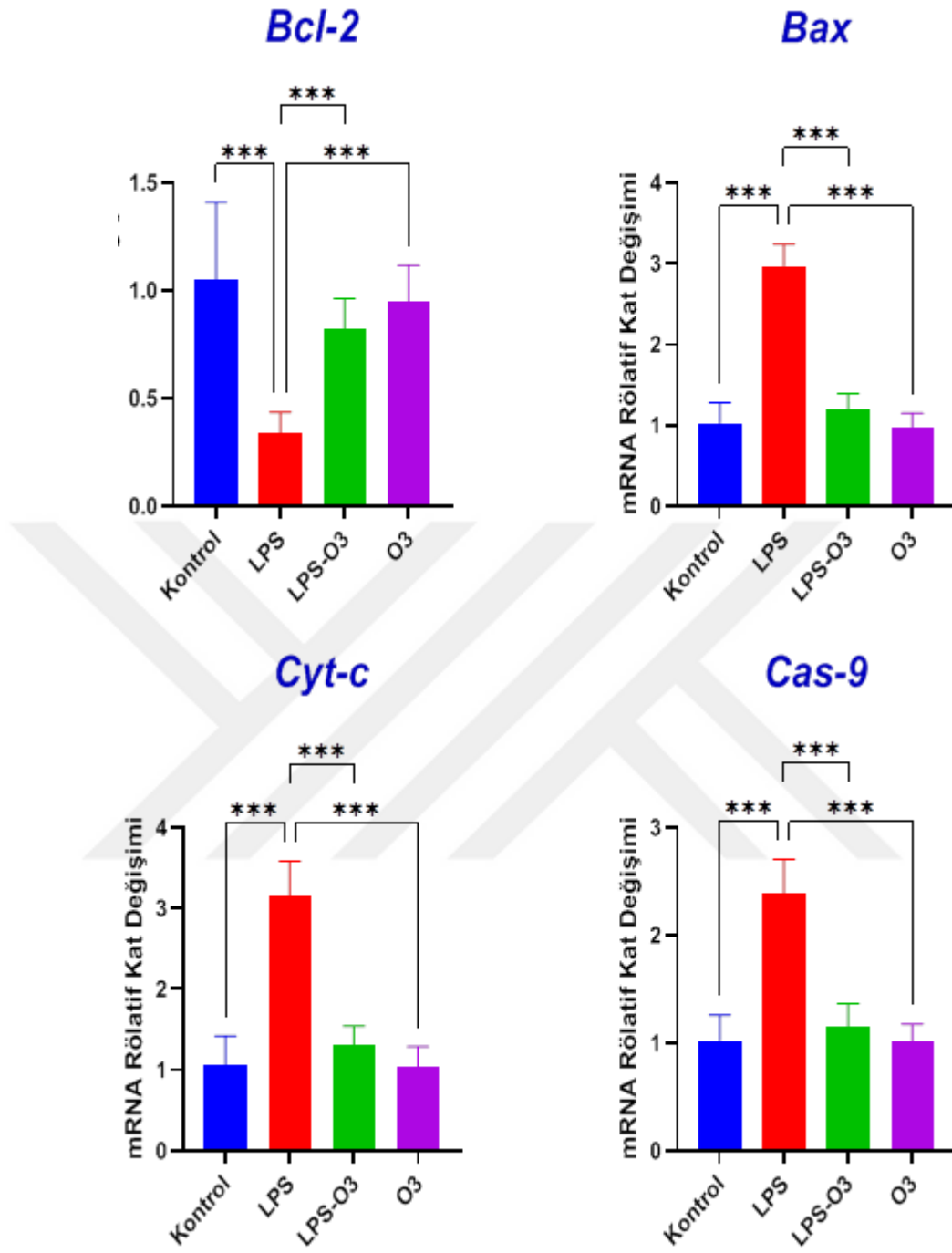
LPS grubunun tüm gen ekspresyonları, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde farklılık göstermiştir. LPS grubunda apoptoz inhibitörü Bcl-2 düzeyleri anlamlı şekilde düşük (**p<0.001**), apoptoz göstergesi olan Bax, Cyt-c ve Cas-9 düzeyleri ise anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (**p<0.001**). Bu bulgular, LPS'nin apoptozu artırıcı etkisini göstermektedir.

Kontrol grubu ile LPS + Omega-3 grubu kıyaslandığında, dört gen ekspresyonunda da anlamlı fark izlenmemiştir (**p>0.05**). Bu durum, Omega-3'ün LPS kaynaklı genetik değişimleri baskılayıcı etkisini ortaya koymaktadır.

LPS grubu ile LPS + Omega-3 grubu kıyaslandığında ise tüm parametrelerde anlamlı azalma gözlenmiştir (**p<0.001**). Bu sonuç, Omega-3'ün apoptoz süreçlerini düzenleyici ve hücre hasarı azaltıcı etkisini göstermektedir.

Sonuç olarak, Omega-3 tedavisi, LPS ile indüklenen apoptoz sürecini anlamlı şekilde baskılamış ve genetik düzeyde hücre koruma sağlamıştır. Özellikle Bax, Cyt-c ve Cas-9 ekspresyonlarındaki anlamlı düşüş, Omega-3'ün apoptoz üzerindeki koruyucu etkisini desteklemektedir.

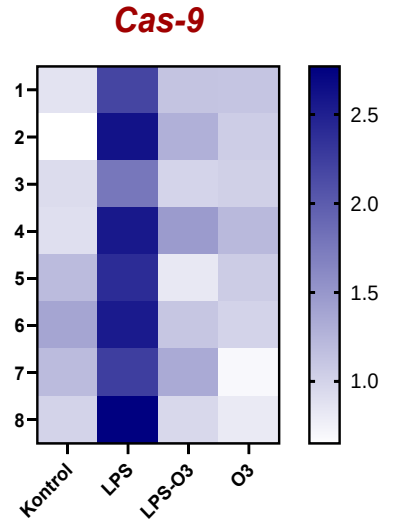
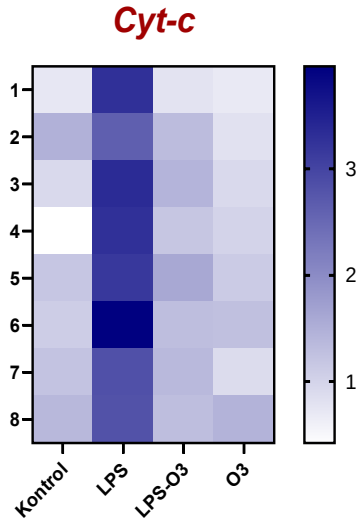
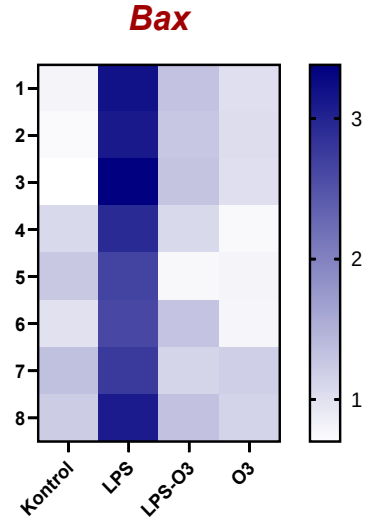
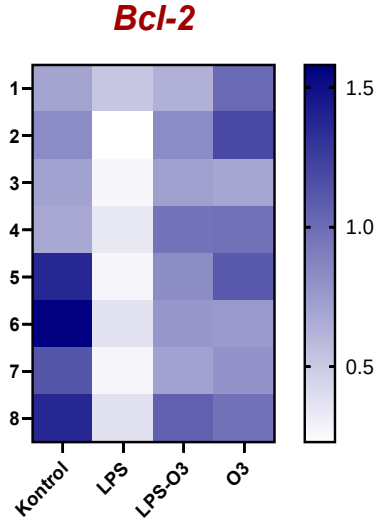
Gruplar arasında yapılan genetik analizlere ait rölatif mRNA ekspresyon düzeylerinin grafiksel gösterimi Şekil 4.3'te, bu verilere ilişkin ısı haritası ise Şekil 4.4'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. Gruplar Arasında Genetik Analizlerin Rölaf mRNA Ekspresyon Sonuçları Grafiği

Bcl-2: B-Hücreli Lenfoma 2, Bax: Bcl-2-İlişkili X Proteinini, Cyt-c: Sitokrom c, Cas-9: Kaspaz-9

*: istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$), **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$



Şekil 4.4. Gruplar Arasında Genetik Analizlerin Isı Haritası Grafiği

Bcl-2: B-Hücreli Lenfoma 2, Bax: Bcl-2-İlişkili X Proteinini, Cyt-c: Sitokrom c, Cas-9: Kaspaz-9
Renk yoğunluğu, her bir genin ekspresyon seviyesini temsil etmektedir (koyu renk: yüksek ekspresyon, açık renk: düşük ekspresyon)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, lipopolisakkarit ile oluşturulan sepsis modelinde, LPS uygulamasından önce ve üç gün boyunca parenteral olarak verilen omega-3'ün Sİ-AAH'yi azalttığını ve hatta geriye döndürdüğünü histopatolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve genetik incelemelerle ortaya koyduk. Bulgularımız, omega-3'ün inflamatuvar yanıtı modüle ederek oksidatif stresi azalttığını, apoptoz mekanizmalarını düzenlediğini ve akciğer dokusunda koruyucu mekanizmaları aktive ettiğini göstermektedir.

Literatürde, omega-3 yağ asitlerinin kardiyovasküler, metabolik, inflamatuvar ve solunum yolu hastalıkları gibi birçok patolojide koruyucu ve terapötik etkilerini değerlendiren pek çok çalışma bulunmaktadır (69-75). Yine bazı çalışmalarda omega-3 yağ asitlerinin, sepsis sırasında gelişen inflamatuvar yanıtı baskılayarak organ hasarını önlediği ve bu yolla klinik seyrinde olumlu etkiler sağladığı gösterilmiştir (76, 77). Literatürde omega-3 uygulamasının Sİ-AAH üzerindeki etkilerini gösteren çalışmalar sınırlıdır. Bu doğrultuda, çalışmamızda deneysel sepsis modeli oluşturulan ratlarda, Omega-3 yağ asidi uygulamasının sistemik inflamatuvar yanıt ve buna bağlı gelişen AAH üzerindeki potansiyel koruyucu etkilerini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmamız, hem biyokimyasal (TAS, TOS, OSI) hem de immünohistokimyasal (Cas-3, TNF- α , HSP-70) düzeyde inflamasyon ve hücre hasarını değerlendirmekte; ayrıca gen ekspresyon düzeyinde (Bcl-2, Bax, Cas-9, Cyt-c) apoptozis ile ilişkili belirteçleri analiz ederek, Omega-3'ün Sİ-AAH patofizyolojisindeki rolünü çok yönlü olarak ortaya koymayı hedeflemektedir. Bu kapsamda, literatürde sınırlı sayıda yer alan ve Omega-3'ün Sİ-AAH üzerine etkilerini deneysel olarak çoklu parametrelerle inceleyen çalışmalara katkı sunması açısından araştırmamızın özgünlük taşıdığını düşünmekteyiz.

Sepsis ilişkili akut akciğer hasarında, alveolo-kapiller bariyer bütünlüğünde bozulma, alveoler ve interstisyel alanda nötrofil infiltrasyonu, ödem, proteinöz eksüda ve hiyalin membran formasyonu temel histopatolojik bulgulardır. Ayrıca mikrovasküler tromboz, endotel ve epitel hücre hasarı ile apoptoz, nekroptoz ve piroptoz gibi inflamatuvar hücre ölümü biçimleri gözlenir (78).

Post-mortem sepsis tanısına yönelik yapılan kapsamlı bir literatür incelemesinde, morfolojik bulguların tanısallık değeri ele alınmış; sepsise bağlı olarak birçok organ düzeyinde çeşitli makroskobik ve histopatolojik değişikliklerin ortaya çıkabileceği belirtilmiştir (79). Sepsisin organ disfonksiyonuna dair histopatolojik değişikliklerini böbrek, beyin ve karaciğer düzeyinde inceleyen bir çalışmada; böbrekte apoptoz, interstisyel inflamasyon ve tromboz; beyinde mikroapseler, iskemik değişiklikler ve beyaz cevher kanamaları; karaciğerde ise steatoz, kolanjiyolit, intrahepatik kolestaz ve hepatosit apoptozu gibi çeşitli patolojik bulgulara rastlanmıştır (80). CLP ile oluşturulan deneysel bir sepsis modelinde, Calycosin'in septik ratların akciğer dokusu üzerindeki antiinflamatuvar ve antioksidatif etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, histopatolojik incelemelerde alveoler yapının bozulduğu, belirgin inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveoler duvar kalınlaşması, kapiller konjesyon ve hemoraji bulgularının yanı sıra ödemin ve apoptozun arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada Calycosin uygulamasının, bu patolojik bulguları doz bağımlı şekilde azalttığı, alveoler hasarı ve apoptozu sınırladığı gösterilmiştir (81). Li ve ark. tarafından yapılan çalışmada, PM2.5 ile indüklenen akciğer hasarında omega-3 tedavisinin alveoler duvar kalınlaşması, ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak akciğer dokusunun yapısal bütünlüğünü koruduğu gösterilmiştir (82). Benzer şekilde, bu çalışmada LPS ile indüklenen sepsis modeli oluşturulan ratlarda, kontrol grubuna kıyasla belirgin alveoler yapı kaybı, alveoler duvar kalınlaşması, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve interstisyel ödem izlendi ($p < 0.001$). Omega-3 tedavisi uygulanan grupta ise bu patolojik bulguların belirgin şekilde azaldığı, alveoler yapının daha iyi korunduğu ve inflamasyonun hafiflediği gözlemlendi. Bu bulgular, omega-3'ün sepsis ilişkili akciğer hasarında histopatolojik düzeyde doku bütünlüğünü koruyucu ve inflamasyonu baskılayıcı etkilerini desteklemektedir.

TNF- α , sepsis sırasında makrofajlar tarafından üretilen ve pro-inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını tetikleyen önemli bir moleküldür. Bu, enfeksiyon bölgelerine makrofajların infiltrasyonunu artırarak inflamatuvar yanıtı güçlendirir (83). Sepsis sırasında TNF- α seviyeleri önemli ölçüde artar. Bu artış, sepsisle ilişkili sistemik inflamatuvar yanıtın bir parçasıdır ve TNF- α 'nın dolaşımdaki seviyeleri sepsis sırasında büyük ölçüde yükselir (84). Gharamti ve ark. tarafından yapılan bir

meta-analiz çalışmasında, sepsis hastalarında TNF- α düzeylerinin artmış olduğu ve bu artışın 28 günlük mortalite ile anlamlı şekilde ilişkili bulunduğu bildirilmiştir (85). Wallaey ve ark. tarafından yapılan deneysel çalışmada da, TNF- α 'nın özellikle Paneth hücreleri üzerinde bağırsağın antimikrobiyal savunma sistemini baskılayarak bakteriyel translokasyonu ve polimikrobiyal sepsisi tetiklediği gösterilmiştir (86). Aydın ve ark. tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, sepsis modelinde TNF- α düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı; TNF- α inhibitörü olan etanercept uygulamasının bu artışı baskıladığı ve dokudaki histopatolojik hasarı azalttığı gösterilmiştir (87). Chen ve ark. tarafından yapılan deneysel bir çalışmada, omega-3 yağ asitleriyle ön tedavi edilen septik farelerde TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir (88). Sun ve ark. omega-3 yağ asidi türevi olan Maresin 1'in, sepsise bağlı akut böbrek hasarında TNF- α düzeylerini anlamlı şekilde azalttığını ve bu yolla inflamatuvar yanıtı baskıladığını bildirmiştir (89). Çalışmamızda da literatürdeki çalışmalara benzer şekilde, LPS uygulanması sonrasında TNF- α ekspresyonunun belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir ($p<0.001$). Bu artış, sepsis modelinde pro-inflamatuvar yanıtın aktifleştiğini ve TNF- α 'nın merkezi bir rol oynadığını göstermektedir. Omega-3 uygulaması sonrası, tedavi grubunda TNF- α düzeylerinin anlamlı şekilde baskılandığı saptanmıştır ($p<0.001$). Bu bulgular, uygulanan tedavinin inflamatuvar yanıtı azaltmada etkili olduğunu göstermektedir.

Sepsis modellerinde LPS uygulaması proinflamatuvar sitokinlerin salımını ve hücrel stres yanıtını başlatır. Bu süreçte artan oksidatif ve inflamatuvar stres, HSP-70 gibi stres proteinlerinin ekspresyonunu önemli ölçüde artırır (90). Çalışmamızda da LPS uygulamasını takiben HSP-70 düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiş, bu durum LPS aracılı inflamatuvar stresin göstergesi olarak değerlendirilmiştir ($p<0.001$).

Omega-3 yağ asitlerinin HSP-70 ekspresyonu üzerindeki etkisi ise değişkenlik gösterebilir. Ancak son yıllarda yapılan bazı deneysel çalışmalar, omega-3'ün inflamasyonu baskılamasıyla birlikte HSP-70 düzeylerini de azalttığını göstermektedir. Ferraz ve ark. diyabetik ratlarda omega-3 desteğinin HSP-70 ekspresyonunu düşürdüğünü göstermiştir (91). Tullberg ve ark. omega-3'ün hücre stresini azaltarak HSP-70 üretimini baskıladığını bildirmiştir (92). Benzer şekilde Ayaz ve ark. hepatotoksik stres altında omega-3'ün HSP-70 düzeylerini azaltıcı

etkilerini göstermiştir (93). Bu doğrultuda çalışmamızda da LPS ile oluşturulan sepsis modeli sonrası artan HSP-70 ekspresyonunun, omega-3 tedavisiyle birlikte anlamlı düzeyde baskılandığı gözlemlenmiştir ($p<0.001$). Bu bulgular, omega-3'ün sepsis ilişkili hücresel stres yanıtını hafifleterek HSP-70 ekspresyonunu dolaylı yoldan modüle ettiğini göstermektedir. Bulgularımız, literatürdeki güncel deneysel verilerle uyumlu olup, omega-3'ün sadece inflamasyonun değil, aynı zamanda stres proteinlerinin regülasyonunda da önemli bir role sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Sepsis, aşırı sitokin salınımı ve reaktif oksijen türleriyle artan oksidatif stresin eşlik ettiği bir süreçtir. Bu nedenle TAS, TOS ve OSI gibi parametreler, sepsis gibi inflamatuvar süreçlerde oksidatif dengenin değerlendirilmesinde önemli biyokimyasal belirteçler olarak kabul edilmektedir. Literatürde, LPS ile indüklenen sepsiste TOS ve OSI düzeylerinin arttığı, TAS seviyesinin ise azaldığı bildirilmiştir (94). TOS ve TAS değerlerinin ayrı ayrı değerlendirilmesinden, bu iki parametrenin oranı olan OSI'nin oksidatif stres ile diğer değişkenler arasındaki ilişkiyi göstermede daha anlamlı ve doğru sonuçlar verdiği kabul edilmektedir (31). Arıturk ve ark. omega-3 uygulamasının deneysel inflamatuvar modelde TAS seviyelerini artırıp oksidatif stres belirteçlerini düşürdüğünü göstermiştir (95). Çalışmamızda kontrol grubu ile kıyaslandığında LPS grubundaki TAS değerlerindeki azalma anlamlı değilken, TOS ve OSI değerlerindeki artış anlamlıydı ($p<0.05$). LPS grubuna kıyasla tedavi grubunda TAS düzeyi artmış, TOS düzeyi azalmış ancak her iki değişiklik de istatistiksel olarak anlamlı değildi. Buna karşın OSI düzeyinde anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Bu sonuçlar, omega-3 yağ asitlerinin sepsisle ilişkili oksidatif stres üzerine koruyucu etkiler gösterebileceğini desteklemektedir.

Apoptoz, sepsis sırasında organ hasarının gelişiminde önemli rol oynayan programlı hücre ölüm mekanizmasıdır. Mitokondriyal (intrinsik) yolda bu süreç, Bax/Bcl-2 dengesinin bozulmasıyla başlar; Bax'ın mitokondri membran geçirgenliğini artırması sonucu Cyt-c salınır. Cyt-c, Apaf-1 ve prokaspaz-9 ile birleşerek apoptosom kompleksini oluşturur ve Cas-9'u aktif hale getirir. Bu kaskadın son aşamasında Cas-3, DNA fragmantasyonuna neden olan yürütücü enzim olarak görev yapar (96, 97). LPS ile oluşturulan sepsis modellerinde yapılan çalışmalarda Bax, Cyt-c, Cas-9 ve Cas-3 düzeylerinde belirgin artış, Bcl-2 ekspresyonunda ise azalma rapor edilmiştir (98, 99).

Omega-3 yağ asitlerinin apoptoz süreci üzerindeki düzenleyici etkisi son yıllarda yoğun biçimde araştırılmıştır. Chen ve ark. LPS ile indüklenen inflamatuvar deneysel modelde omega-3 desteği ile Bax ve Cas-3 düzeylerinin azaldığını, Bcl-2 ekspresyonunun ise arttığını göstermiştir (100). Odetayo ve ark. tamoksifen ile toksisite oluşturulan rat modelinde omega-3 desteğinin Cyt-c salınımını ve Cas-3 aktivitesini anlamlı şekilde baskıladığını; böylece apoptoza karşı koruyucu bir etki sağladığını bildirmiştir (101). Wójcik ve ark. in vitro hücre kültürü modelinde omega-3 yağ asitlerinin mitokondriyal apoptoz yolunu inhibe ettiğini ve bu etkiyle birlikte Cas-3 aktivitesini baskılayarak hücre hayatta kalımını desteklediğini göstermiştir (102). Duailibe ve ark. LPS ile sepsis modeli oluşturulan ratlarda omega-3 uygulanmasıyla birlikte Bcl-2 ekspresyonunun arttığını; Cas-3 ve Cas-9 düzeylerinin ise anlamlı şekilde azaldığını bildirmiştir (103). Çalışmamızda da litetatürle uyumlu olarak LPS uygulanan grupta, apoptotik süreci yansıtan parametrelerde belirgin değişiklikler gözlenmiştir. Cas-3 düzeyinin immünohistokimyasal analizlerde anlamlı şekilde arttığı ($p<0.001$), ayrıca Bax, Cas-9, Cyt-c ve Bcl-2 gibi genlerle ilişkili belirteçlerin gen ekspresyon düzeylerinde de önemli farklılıklar olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Bu bağlamda, pro-apoptotik Bax, cas-9 ve Cyt-c ekspresyonlarının anlamlı şekilde arttığı, anti-apoptotik Bcl-2 ekspresyonunun ise anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar, sepsisin intrinsik (mitokondriyal) apoptoz yolunu aktive ederek akciğer dokusunda hücre ölümünü artırdığını göstermektedir. Omega-3 tedavisi uygulanan grupta ise Cas-3'ün immünohistokimyasal düzeydeki ifadesinde ve genetik düzeyde değerlendirilen Bax, Cas-9, Cyt-c ve Bcl-2 gibi apoptotik belirteçlerde anlamlı bir iyileşme gözlenmiştir ($p<0.001$). Pro-apoptotik Bax, Cas-9 ve Cyt-c ekspresyonları azalırken; anti-apoptotik Bcl-2 ekspresyonu artmıştır. Bu bulgular, omega-3'ün intrinsik apoptoz yolunu baskılayarak sepsise bağlı akciğer hasarını azaltmada koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, LPS ile oluşturulan deneysel sepsis modelinde, parenteral yolla uygulanan Omega-3 yağ asitlerinin, akciğer dokusunda meydana gelen sistemik inflamatuvar yanıt ve akut akciğer hasarı üzerindeki etkileri histopatolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve genetik düzeyde kapsamlı olarak değerlendirilmiştir. Bu yönüyle çalışma, akut akciğer hasarının patofizyolojik süreçlerini çok boyutlu ele alarak, Omega-3'ün sepsisle ilişkili doku hasarları üzerindeki potansiyel koruyucu rolünü ortaya koymayı amaçlamıştır.

Histopatolojik incelemelerde, LPS verilen ratlarda alveoler yapı bozulması, inflamasyon, ödem, hemoraji ve hyalin membran oluşumu gözlenmiştir. Bu bulgular, sepsisin akciğer dokusunda ciddi hasar oluşturduğunu göstermektedir. Omega-3 verilen grupta ise bu bulguların daha hafif olduğu, akciğer yapısının daha iyi korunduğu görülmüştür. Bu durum, Omega-3'ün akciğer dokusunu koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

İmmünohistokimyasal incelemelerde, LPS grubunda TNF- α , HSP-70 ve Cas-3 düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu durum, inflamasyon, hücresel stres ve apoptozun arttığını göstermektedir. Omega-3 verilen grupta bu belirteçlerin düzeyleri azalmış, Omega-3'ün bu süreçleri baskılayabileceği anlaşılmıştır.

Biyokimyasal incelemelerde, LPS grubunda TOS ve OSI düzeyleri artmış, TAS düzeyi azalmıştır. Omega-3 verilen grupta OSI düzeyinde anlamlı düşüş, TOS ve TAS düzeylerinde ise iyileşme eğilimi izlenmiştir. Bu bulgular, Omega-3'ün oksidatif dengeyi olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir.

Genetik incelemelerde, LPS grubunda proapoptotik Bax, Cas-9 ve Cyt-c düzeyleri artarken, antiapoptotik Bcl-2 düzeyi azalmıştır. Omega-3 tedavisiyle bu değişiklikler tersine dönmüş, apoptoz belirteçleri azalmış, Bcl-2 düzeyleri artmıştır. Bu sonuçlar, Omega-3'ün hücre ölümünü azaltıcı etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular doğrultusunda, araştırma hipotezimiz desteklenmiştir. Omega-3'ün, LPS ile oluşturulan deneysel sepsis modelinde gelişen akut akciğer hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu

gösterilmiştir. Omega-3 tedavisinin, inflamasyon, oksidatif stres ve apoptoz gibi temel patofizyolojik mekanizmaları modüle ederek, sepsise bağlı akciğer hasarında dokusal bütünlüğü korumaya yönelik etkili bir biyolojik ajan olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada kısa süreli Omega-3 uygulamasının etkileri değerlendirilmiştir. İleriki çalışmalarda farklı doz ve sürelerle sahip protokollerle doz–yanıt ilişkisi, uzun dönem etkiler ve tedavi sonrası geç dönem sonuçlar da araştırılabilir.

Sepsise bağlı organ hasarları sadece akciğerle sınırlı kalmamakta; böbrek, karaciğer, kalp ve beyin gibi diğer organları da etkilemektedir. Bu bağlamda Omega-3'ün farklı doku ve sistemler üzerindeki etkilerinin inceleneceği geniş ölçekli deneysel çalışmalar, tedavi potansiyelinin genel geçerliliğini ortaya koymak açısından önemlidir.

ÖZET

Deneysel Sepsis Modeli Oluşturulan Ratlarda Akut Akciğer Hasarı Üzerine Omega-3 Kullanımının Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Sepsis, konağın enfeksiyona karşı gelişen düzensiz yanıtı sonucunda ortaya çıkan ve çoklu organ disfonksiyonu ile seyreden, yaşamı tehdit eden bir klinik tablodur. Sepsise bağlı akut akciğer hasarı (AAH), yoğun bakım yatış süresinde uzama, morbidite ve mortalite oranlarında artış ile ilişkilidir. Sepsise bağlı gelişen akciğer hasarının önlenmesine yönelik yeni tedavi yaklaşımları önem kazanmakta olup, bu çalışmada Omega-3 yağ asitlerinin AAH üzerindeki potansiyel koruyucu etkileri araştırılmıştır.

Bu amaçla, toplam 32 adet dişi Wistar Albino rat rastgele dört gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna üç gün boyunca intraperitoneal (i.p.) olarak serum fizyolojik (SF) uygulanmıştır. LPS grubuna üç gün boyunca SF verilmiş, ardından üçüncü gün sonunda 5 mg/kg dozunda LPS i.p. uygulanmıştır. LPS+Omega-3 (LPS+O3) grubuna üç gün süreyle 0,5 g/kg dozunda i.p. Omega-3 uygulanmış ve üçüncü gün sonunda LPS verilmiştir. Omega-3 (O3) grubuna ise üç gün boyunca Omega-3 uygulanmış, üçüncü gün sonunda SF enjeksiyonu yapılmıştır. LPS uygulamasından 6 saat sonra tüm gruplardaki ratlar sakrifiye edilmiştir. Uygulamalar sonrası elde edilen akciğer dokuları, histopatolojik olarak alveoler yapı bütünlüğü; immünohistokimyasal olarak TNF- α , HSP-70 ve Cas-3 ekspresyonu; biyokimyasal olarak total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI); genetik düzeyde ise Bax, Bcl-2, Cas-9 ve Cyt-c gen ekspresyonları yönünden analiz edilmiştir.

LPS uygulanan grupta, histopatolojik düzeyde doku bütünlüğünde bozulma; immünohistokimyasal olarak inflamasyon ve hücre ölümü belirteçlerinde artış; biyokimyasal olarak artmış TOS ve OSI ile azalmış TAS değerleri; genetik düzeyde ise artmış Bax, Cas-9, Cyt-c ekspresyonları ile birlikte azalmış Bcl-2 düzeyleri saptanmıştır. LPS+Omega-3 grubunda ise bu patolojik parametrelerde anlamlı iyileşmeler gözlenmiştir.

Elde edilen bulgular doğrultusunda, Omega-3 yağ asitlerinin sepsise bağlı akut akciğer hasarında koruyucu etki gösterdiği ve bu etkinin inflamasyon, oksidatif stres ve apoptoz mekanizmalarını modüle etme yoluyla ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Akut Akciğer Hasarı, Apoptoz, Lipopolisakkarit, Omega-3, Sepsis

ABSTRACT

Investigation of the Protective Effects of Omega-3 on Acute Lung Injury in Rats with an Experimental Sepsis Model

Sepsis is a life-threatening clinical condition that arises from the host's dysregulated response to infection and is characterized by multiple organ dysfunction. Acute lung injury (ALI) associated with sepsis is linked to prolonged intensive care unit stays and increased rates of morbidity and mortality. As new therapeutic approaches to prevent sepsis-induced lung injury gain importance, this study aimed to investigate the potential protective effects of omega-3 fatty acids on ALI.

For this purpose, a total of 32 female Wistar Albino rats were randomly divided into four groups. The control group received intraperitoneal (i.p.) physiological saline (SF) once daily for three days. The LPS group received SF for three days, followed by a single i.p. dose of 5 mg/kg lipopolysaccharide (LPS) on the third day. The LPS+Omega-3 (LPS+O3) group received 0.5 g/kg i.p. Omega-3 for three days, followed by LPS administration on the third day. The Omega-3 (O3) group was given Omega-3 for three days and SF on the third day. All animals were sacrificed six hours after LPS administration. Lung tissues were evaluated histopathologically for alveolar structure; immunohistochemically for TNF- α , HSP-70 and Cas-3 expression; biochemically for total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), and oxidative stress index (OSI); and genetically for Bax, Bcl-2, Cas-9 and Cyt-c gene expression levels.

In the LPS group, disruption of tissue integrity, increased inflammatory and apoptotic markers, elevated TOS and OSI levels, and decreased TAS and Bcl-2 expression levels were observed. In contrast, significant improvements in these pathological parameters were found in the LPS+Omega-3 group.

Based on the findings, omega-3 fatty acids demonstrated a protective effect against sepsis-induced acute lung injury by modulating inflammation, oxidative stress, and apoptotic mechanisms.

Keywords: Acute Lung Injury, Apoptosis, Lipopolysaccharide, Omega-3, Sepsis

KAYNAKLAR

1. Karabacak P, Toğay VA, Aşçı Çelik D. Lymphocyte DNA damage in sepsis and septic-shock intensive-care patients: damage is greater in non-intubated patients. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2022; 879–880: 503516. doi:10.1016/j.mrgentox.2022.503516.
2. Sun B, Lei M, Zhang J, Kang H, Liu H, Zhou F. Acute lung injury caused by sepsis: how does it happen? *Front Med*. 2023; 10: 1289194. doi:10.3389/fmed.2023.1289194.
3. Bouadma L, Mekontso-Dessap A, Burdet C, Merdji H, Poissy J, Dupuis C, et al. High-dose dexamethasone and oxygen support strategies in intensive care unit patients with severe COVID-19 acute hypoxemic respiratory failure: the COVIDICUS randomized clinical trial. *JAMA Intern Med*. 2022; 182(9): 906–916. doi:10.1001/jamainternmed.2022.2168.
4. Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome. *Lancet*. 2021; 398(10300): 622–637. doi:10.1016/S0140-6736(21)00439-6.
5. Cha J-K, Kim H-S, Kim E-J, Lee E-S, Lee J-H, Song I-A. Effect of early nutritional support on clinical outcomes of critically ill patients with sepsis and septic shock: a single-center retrospective study. *Nutrients*. 2022; 14(11): 2318. doi:10.3390/nu14112318.
6. Gueguen E, Morsy Y, Scharl M, Krämer SD, Zaugg M, Hersberger M, et al. Endothelial barrier disruption by lipid emulsions containing a high amount of n3 fatty acids (Omegaven) but not n6 fatty acids (Intralipid). *Cells*. 2022; 11(14): 2202. doi:10.3390/cells11142202.
7. da Silva Batista E, Nakandakari SCBR, da Silva ASR, Pauli JR, de Moura LP, Ropelle ER, et al. Omega-3 pleiad: the multipoint anti-inflammatory strategy. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2024; 64(14): 4817–4832. doi:10.1080/10408398.2022.2146044.
8. Berlana D, Albertos R, Barquin R, Pau-Parra A, Díez-Poch M, López-Martínez R, et al. Impact of omega-3 fatty acid supplementation in parenteral nutrition on inflammatory markers and clinical outcomes in critically ill COVID-19 patients: a randomized controlled trial. *Nutrients*. 2024; 16(18): 3046. doi:10.3390/nu16183046.
9. Al-Leswas D, Eltweri AM, Chung W-Y, Arshad A, Stephenson JA, Al-Ta'an O, et al. Intravenous omega-3 fatty acids are associated with better clinical outcome and less inflammation in patients with predicted severe acute pancreatitis: a randomised double blind controlled trial. *Clin Nutr*. 2020; 39(9): 2711–2719. doi:10.1016/j.clnu.2018.04.003.
10. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*. 1992; 101(6): 1644–1655. doi:10.1378/chest.101.6.1644.
11. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Crit Care Med*. 2003; 31(4): 1250–1256. doi:10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B.
12. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8): 801–810. doi:10.1001/jama.2016.0287.
13. Prescott HC, Ostermann M. What is new and different in the 2021 Surviving Sepsis Campaign guidelines. *Med Klin Intensivmed Notfmed*. 2023; 118(Suppl 2): 75–79. doi:10.1007/s00063-023-01028-5.
14. Xu Y, Xin J, Sun Y, Wang X, Sun L, Zhao F, et al. Mechanisms of sepsis-induced acute lung injury and advancements of natural small molecules in its treatment. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024; 17(4): 472. doi:10.3390/ph17040472.
15. Qiao Q, Liu X, Yang T, Cui K, Kong L, Yang C, et al. Nanomedicine for acute respiratory distress syndrome: the latest application, targeting strategy, and rational design. *Acta Pharm Sin B*. 2021; 11(10): 3060–3091. doi:10.1016/j.apsb.2021.04.023.

16. Zhou X, Liao Y. Gut-lung crosstalk in sepsis-induced acute lung injury. *Front Microbiol.* 2021; 12: 779620. doi:10.3389/fmicb.2021.779620.
17. Yoo JW, Ju S, Lee SJ, Cho YJ, Lee JD, Kim HC. Red cell distribution width/albumin ratio is associated with 60-day mortality in patients with acute respiratory distress syndrome. *Infect Dis (Lond).* 2020; 52(4): 266–270. doi:10.1080/23744235.2020.1717599.
18. Jin Z, Li M-Y, Tang L, Zou Y, Chen K. Protective effect of ulinastatin on acute lung injury in diabetic sepsis rats. *Int Immunopharmacol.* 2022; 108: 108908. doi:10.1016/j.intimp.2022.108908.
19. Zhang J, Yan W, Dong Y, Luo X, Miao H, Maimajuma T, et al. Early identification and diagnosis, pathophysiology, and treatment of sepsis-related acute lung injury: a narrative review. *J Thorac Dis.* 2024; 16(8): 5457–5476. doi:10.21037/jtd-24-1191.
20. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2019; 5(1): 18. doi:10.1038/s41572-019-0069-0.
21. Luyt C-E, Bouadma L, Conway Morris A, Dhanani JA, Kollef M, Lipman J, et al. Pulmonary infections complicating ARDS. *Intensive Care Med.* 2020; 46(12): 2168–2183. doi:10.1007/s00134-020-06292-z.
22. Lin M, Stewart MT, Zefi S, Mateti KV, Gauthier A, Sharma B, et al. Dual effects of supplemental oxygen on pulmonary infection, inflammatory lung injury, and neuromodulation in aging and COVID-19. *Free Radic Biol Med.* 2022; 190: 247–263. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2022.08.004.
23. Yılmaz R. Pediatrik akut respiratuar distres sendromu: tanım ve etiyopatogenezi. In: Yener N, editör. *Pediatrik Akut Respiratuar Distres Sendromu*. 1. baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2022. s. 1–9.
24. Nie YJ, Wu SH, Xuan YH, Yan G. Role of IL-17 family cytokines in the progression of IPF from inflammation to fibrosis. *Mil Med Res.* 2022; 9: 21. doi:10.1186/s40779-022-00382-3.
25. Li X, Jamal M, Guo P, Jin Z, Zheng F, Song X, et al. Irisin alleviates pulmonary epithelial barrier dysfunction in sepsis-induced acute lung injury via activation of AMPK/SIRT1 pathways. *Biomed Pharmacother.* 2019; 118: 109363. doi:10.1016/j.biopha.2019.109363.
26. Jarczack D, Kluge S, Nierhaus A. Sepsis—pathophysiology and therapeutic concepts. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8: 628302. doi:10.3389/fmed.2021.628302.
27. Qiao X, Yin J, Zheng Z, Li L, Feng X. Endothelial cell dynamics in sepsis-induced acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and therapeutic implications. *Cell Commun Signal.* 2024; 22: 241. doi:10.1186/s12964-024-01620-y.
28. Moriyama K, Nishida O. Targeting cytokines, pathogen-associated molecular patterns, and damage-associated molecular patterns in sepsis via blood purification. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(16): 8882. doi:10.3390/ijms22168882.
29. Guo RF, Ward PA. Role of oxidants in lung injury during sepsis. *Antioxid Redox Signal.* 2007; 9(11): 1991–2002. doi:10.1089/ars.2007.1785.
30. Guo Y, Qu Y, Yu J, Song L, Chen S, Qin Z, et al. A chitosan-vitamin C based injectable hydrogel improves cell survival under oxidative stress. *Int J Biol Macromol.* 2022; 202: 102–111. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.01.030.
31. Miliaraki M, Briassoulis P, Ilia S, Michalakakou K, Karakonstantakis T, Polonifi A, et al. Oxidant/antioxidant status is impaired in sepsis and is related to anti-apoptotic, inflammatory, and innate immunity alterations. *Antioxidants (Basel).* 2022; 11(2): 231. doi:10.3390/antiox11020231.
32. Matute-Bello G, Martin TR. Science review: apoptosis in acute lung injury. *Crit Care.* 2003; 7(5): 355–358. doi:10.1186/cc1861.

33. Vigneswara V, Ahmed Z. The role of caspase-2 in regulating cell fate. *Cells*. 2020; 9(5): 1259. doi:10.3390/cells9051259.
34. Hussar P. Apoptosis regulators Bcl-2 and caspase-3. *Encyclopedia*. 2022; 2(4): 1624–1636. doi:10.3390/encyclopedia2040111.
35. Vringer E, Tait SWG. Mitochondria and cell death-associated inflammation. *Cell Death Differ*. 2023; 30: 304–312. doi:10.1038/s41418-022-01094-w.
36. Zimmermann KC, Green DR. How cells die: apoptosis pathways. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 108(4 Suppl): S99–S103. doi:10.1067/mai.2001.117819.
37. Pei Q, Ni W, Yuan Y, Yuan J, Zhang X, Yao M. HSP70 ameliorates septic lung injury via inhibition of apoptosis by interacting with KANK2. *Biomolecules*. 2022; 12(3): 410. doi:10.3390/biom12030410.
38. Cho JY, Kim SJ, Woo CG, Kwon SK, Choe KH, Kim EG, Shin YM. Altered lung heat shock protein-70 expression and severity of sepsis-induced acute lung injury in a chronic kidney disease rat model. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(6): 5641. doi:10.3390/ijms24065641.
39. Vulczak A, Rocha Catalão CH, de Freitas LAP, Alves Rocha MJ. HSP-target of therapeutic agents in sepsis treatment. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(17): 4255. doi:10.3390/ijms20174255.
40. Guarino M, Perna B, Cesaro AE, Maritati M, Spampinato MD, Contini C, De Giorgio R. 2023 update on sepsis and septic shock in adult patients: management in the emergency department. *J Clin Med*. 2023; 12(9): 3188. doi:10.3390/jcm12093188.
41. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med*. 2021; 47(11): 1181–1247. doi:10.1007/s00134-021-06506-y.
42. De Waele E, Malbrain MLNG, Spapen H. Nutrition in sepsis: a bench-to-bedside review. *Nutrients*. 2020; 12(2): 395. doi:10.3390/nu12020395.
43. S Seres DS, Valcarcel M, Guillaume A. Advantages of enteral nutrition over parenteral nutrition. *Ther Adv Gastroenterol*. 2013; 6(2): 157–167. doi:10.1177/1756283X12467564.
44. Singer P, Blaser AR, Berger MM, Alhazzani W, Calder PC, Casaer MP, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. *Clin Nutr*. 2019; 38(1): 48–79. doi:10.1016/j.clnu.2018.08.037.
45. Reintam Blaser A, Starkopf J, Alhazzani W, Berger MM, Casaer MP, Deane AM, et al. Early enteral nutrition in critically ill patients: ESICM clinical practice guidelines. *Intensive Care Med*. 2017; 43(3): 380–398. doi:10.1007/s00134-016-4665-0.
46. Tota A, Serra A, Raoul P, Gasbarrini A, Rinninella E, Mele MC. Lipid-Enriched Parenteral Nutrition and Bloodstream Infections in Hospitalized Patients: Is It a Real Concern? *Medicina*. 2022;58(7):885.
47. Khan M, Rahman M, Zaman S, Jahangir T, Razu M. Omega-3 polyunsaturated fatty acids from algae. *Recent Adv Microalgal Biotechnol*. 2015:43-45.
48. Calder PC. Omega-3: the good oil. *Nutr Bull*. 2017; 42(1): 13–19. doi:10.1111/nbu.12261.
49. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2018; 132: 41–48. doi:10.1016/j.plefa.2018.03.004.
50. Barbosa VM, Miles EA, Calhau C, Lafuente E, Calder PC. Effects of a fish oil containing lipid emulsion on plasma phospholipid fatty acids, inflammatory markers, and clinical outcomes in septic patients: a randomized, controlled clinical trial. *Crit Care*. 2010; 14(1): R5. doi:10.1186/cc8844.
51. Tappy L, Berger MM, Schwarz JM, Schneiter P, Kim S, Revely JP, Chioléro R. Metabolic effects of parenteral nutrition enriched with n-3 polyunsaturated fatty acids in critically ill patients. *Clin Nutr*. 2006; 25(4): 588–595. doi:10.1016/j.clnu.2006.03.008.

52. Antébi H, Mansoor O, Ferrier C, Tétégan M, Morvan C, Rangaraj J, Alcindor LG. Liver function and plasma antioxidant status in intensive care unit patients requiring total parenteral nutrition: comparison of 2 fat emulsions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2004; 28(3): 142–148. doi:10.1177/0148607104028003142.
53. Mayer K, Gokorsch S, Fegbeutel C, Hattar K, Rosseau S, Walmrath D, Seeger W, Grimminger F. Parenteral nutrition with fish oil modulates cytokine response in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167(10): 1321–1328. doi:10.1164/rccm.200207-674OC.
54. Mayer K, Fegbeutel C, Hattar K, Sibelius U, Krämer HJ, Heuer KU, Temmesfeld-Wollbrück B, Gokorsch S, Grimminger F, Seeger W. Omega-3 vs. omega-6 lipid emulsions exert differential influence on neutrophils in septic shock patients: impact on plasma fatty acids and lipid mediator generation. *Intensive Care Med.* 2003;29(9):1472–1481. doi:10.1007/s00134-003-1900-2.
55. Ferrucci-Da Silva C, Zhan L, Shen J, Kong B, Campbell MJ, Memon N, Hegyi T, Lu L, Guo GL. Effects of total parenteral nutrition on drug metabolism gene expression in mice. *Acta Pharm Sin B.* 2020;10(1):153–158. doi:10.1016/j.apsb.2019.10.012.
56. Erkeyman B. Sepsis oluşturmak için kullanılan deneysel hayvan modelleri. *Atatürk Üniv Vet Bilim Derg.* 2020;15(2):181–186. doi:10.17094/ataunivbd.690314.
57. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P. Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock.* 2008;30(Suppl 1):53–59. doi:10.1097/SHK.0b013e318181a343.
58. Köse D, Cadirci E, Halici Z, Sirin B, Dincer B. The investigation of possible roles of central 5-HT₇ receptors in antipyretic effect mechanism of paracetamol in LPS-induced hyperthermia model of mice. *Inflammopharmacology.* 2019;27(6):1169–1178. doi:10.1007/s10787-019-00617-1.
59. Brooks D, Barr LC, Wiscombe S, McAuley DF, Simpson AJ, Rostron AJ. Human lipopolysaccharide models provide mechanistic and therapeutic insights into systemic and pulmonary inflammation. *Eur Respir J.* 2020;56(1):1901298. doi:10.1183/13993003.01298-2019.
60. Gabarin RS, Li M, Zimmer PA, Marshall JC, Li Y, Zhang H. Intracellular and extracellular lipopolysaccharide signaling in sepsis: avenues for novel therapeutic strategies. *J Innate Immun.* 2021;13(6):323–332. doi:10.1159/000515740.
61. Cai L, Rodgers E, Schoenmann N, Raju RP. Advances in rodent experimental models of sepsis. *Int J Mol Sci.* 2023;24(11):9578. doi:10.3390/ijms24119578.
62. Popov D, Pavlov G. Sepsis models in experimental animals. *Trakia J Sci.* 2013;11(1):13–23. doi:10.15547/tjs.2013.01.004.
63. Cao C, Gao T, Cheng M, Xi F, Zhao C, Yu W. Mild hypothermia ameliorates muscle wasting in septic rats associated with hypothalamic AMPK-induced autophagy and neuropeptides. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;490(3):882–888. doi:10.1016/j.bbrc.2017.06.135.
64. Nana FA, Lamberts V, Hoton D, Stanciu CP, Lecocq M, Carlier FM, Duplaquet F, Pirard L, Pilette C, Bihin B, Ocak S. Restin protein expression in non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer.* 2023;14(23):2302–2309. doi:10.1111/1759-7714.15019.
65. Remmele W, Schicketanz KH. Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptor content in human breast cancer. Computer-assisted image analysis (QIC score) vs. subjective grading (IRS). *Pathol Res Pract.* 1993;189(8):862–866. doi:10.1016/S0344-0338(11)81095-2.
66. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103–1111. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008.
67. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277–285. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015.

68. İlhan İ, Asci H, Tepebaşı MY, İmeci OB, Sevik MA, Nurlu Temel E, Özmen Ö. Selenium exerts protective effects on inflammatory cardiovascular damage: molecular aspects via SIRT1/p53 and Cyt-c/Cas-3 pathways. *Mol Biol Rep.* 2023;50(2):1627–1637. doi:10.1007/s11033-022-08192-5.
69. Innes JK, Calder PC. Marine omega-3 (n-3) fatty acids for cardiovascular health: an update for 2020. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1362. doi:10.3390/ijms21041362.
70. Ajabnoor SM, Thorpe G, Abdelhamid A, Hooper L. Long-term effects of increasing omega-3, omega-6 and total polyunsaturated fats on inflammatory bowel disease and markers of inflammation: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Nutr.* 2021;60(5):2293–2316. doi:10.1007/s00394-020-02413-y.
71. Djuricic I, Calder PC. Beneficial outcomes of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on human health: an update for 2021. *Nutrients.* 2021;13(7):2421. doi:10.3390/nu13072421.
72. Khan SU, Lone AN, Khan MS, Virani SS, Blumenthal RS, Nasir K, et al. Effect of omega-3 fatty acids on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine.* 2021;38:100997. doi:10.1016/j.eclinm.2021.100997.
73. Yu H, Su X, Lei T, Zhang C, Zhang M, Wang Y, et al. Effect of omega-3 fatty acids on chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2021;16:2677–2686. doi:10.2147/COPD.S331154.
74. Jiang H, Wang L, Wang D, Yan N, Li C, Wu M, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid biomarkers and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, cancer, and mortality. *Clin Nutr.* 2022;41(8):1798–1807. doi:10.1016/j.clnu.2022.06.034.
75. Hong K, Hun M, Wu F, Mao J, Wang Y, Zhu J, et al. Association between omega-3 fatty acids and autoimmune disease: evidence from the umbrella review and Mendelian randomization analysis. *Autoimmun Rev.* 2024;23(11):103651. doi:10.1016/j.autrev.2024.103651.
76. Abd El Rhaman A, Attallah HA, Taha MM, Salutan WE. The effect of omega-3 as diet-enhanced immunity on sepsis outcome in critically ill patients. *Menoufia Med J.* 2022;35(2):Article 55. doi:10.4103/mmj.mmj_272_21.
77. Velasque MJS, Branchini G, Catarina AV, Bettoni L, Fernandes RS, Da Silva AF, et al. Fish oil - omega-3 exerts protective effect in oxidative stress and liver dysfunctions resulting from experimental sepsis. *J Clin Exp Hepatol.* 2023;13(1):64–74. doi:10.1016/j.jceh.2022.07.001.
78. Englert JA, Bobba C, Baron RM. Integrating molecular pathogenesis and clinical translation in sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. *JCI Insight.* 2019;4(2):e124061. doi:10.1172/jci.insight.124061.
79. Stassi C, Mondello C, Baldino G, Ventura Spagnolo E. Post-mortem investigations for the diagnosis of sepsis: a review of literature. *Diagnostics (Basel).* 2020;10(10):849. doi:10.3390/diagnostics10100849.
80. Garofalo AM, Lorente-Ros M, Goncalvez G, Carriedo D, Ballén-Barragán A, Villar-Fernández A, et al. Histopathological changes of organ dysfunction in sepsis. *Intensive Care Med Exp.* 2019;7(Suppl 1):45. doi:10.1186/s40635-019-0236-3.
81. Chen G, Hou Y, Li X, Pan R, Zhao D. Sepsis-induced acute lung injury in young rats is relieved by calycosin through inactivating the HMGB1/MyD88/NF-κB pathway and NLRP3 inflammasome. *Int Immunopharmacol.* 2021;96:107623. doi:10.1016/j.intimp.2021.107623.
82. Li J, Mao M, Li J, Chen Z, Ji Y, Kong J, et al. Oral administration of omega-3 fatty acids attenuates lung injury caused by PM2.5 respiratory inhalation simply and feasibly in vivo. *Int J Mol Sci.* 2022;23(10):5323. doi:10.3390/ijms23105323.
83. Lee J, Son W, Hong J, Song Y, Yang C-S, Kim Y-H. Down-regulation of TNF-α via macrophage-targeted RNAi system for the treatment of acute inflammatory sepsis. *J Control Release.* 2021;336:344–353. doi:10.1016/j.jconrel.2021.06.022.

84. Georgescu AM, Banescu C, Azamfirei R, Hutanu A, Moldovan V, Badea I, et al. Evaluation of TNF- α genetic polymorphisms as predictors for sepsis susceptibility and progression. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):221. doi:10.1186/s12879-020-4910-6.
85. Gharamti A, Samara O, Monzon A, Vargas Barahona L, Scherger S, DeSanto K, et al. Cytokine levels in sepsis and TNF α association with mortality but not sepsis severity or infection source: a systematic review and meta-analysis. *Open Forum Infect Dis.* 2021;8(Suppl 1):592. doi:10.1093/ofid/ofab466.1197.
86. Wallaey C, Garcia-Gonzalez N, Timmermans S, Vandewalle J, Vanderhaeghen T, De Beul S, et al. Paneth cell TNF signaling induces gut bacterial translocation and sepsis. *Cell Host Microbe.* 2024;32(10):1725–1743.e7. doi:10.1016/j.chom.2024.08.007.
87. Aydın E, Yıldırım Y, Yılmaz Aydın F, Bahadır MV, Kaplan İ, Kadiroğlu B, et al. Evaluation of the effect of intraperitoneal etanercept administration on oxidative stress and inflammation indicators in the kidney and blood of experimental sepsis-induced rats. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2020;53:e20200016. doi:10.1590/0037-8682-0016-2020.
88. Chen ZS, Yu MM, Wang K, Meng XL, Liu YC, Shou ST, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit cardiomyocyte apoptosis and attenuate sepsis-induced cardiomyopathy. *Nutrition.* 2023;106:111886. doi:10.1016/j.nut.2022.111886.
89. Sun S, Wang J, Wang J, Wang F, Yao S, Xia H. Maresin 1 mitigates sepsis-associated acute kidney injury in mice via inhibition of the NF- κ B/STAT3/MAPK pathways. *Front Pharmacol.* 2019;10:1323. doi:10.3389/fphar.2019.01323.
90. Makhoba XH. Two sides of the same coin: heat shock proteins as biomarkers and therapeutic targets for some complex diseases. *Front Mol Biosci.* 2025;12:1491227. doi:10.3389/fmolb.2025.1491227.
91. Ferraz RC, Foss-Freitas MC, Vidal TR, Griffio TN, Gonçalves NB, Jordao Jr AA, Foss MC. Alpha-linolenic acid supplementation is associated with changes in inflammatory markers and endoplasmic reticulum stress in diabetic rats. *J Food Process Technol.* 2018;9(3):1000711. doi:10.4172/2157-7110.1000711.
92. Tullberg C, Vegarud G, Undeland I, Scheers N. Effects of marine oils, digested with human fluids, on cellular viability and stress protein expression in human intestinal Caco-2 cells. *Nutrients.* 2017;9(11):1213. doi:10.3390/nu9111213.
93. Ayaz NO. Protective mechanisms of omega-3 fatty acids against hepatotoxic impact of cadmium exposure in rats. *Pharmacophore.* 2017;8(5):25–34.
94. Tilekli MM, Yılmaz AK, Yasul Y, Çon N, Mercan S, Tek N. Influence of diet and exercise on leukocyte telomere length, markers of oxidative stress and inflammation in rats. *Exp Mol Pathol.* 2024;140:104947. doi:10.1016/j.yexmp.2024.104947.
95. Arslan Ariturk L, Cilingir S, Kolgazi M, Elmas M, Arbak S, Yapislar H. Docosahexaenoic acid (DHA) alleviates inflammation and damage induced by experimental colitis. *Eur J Nutr.* 2024;63(7):2801-2813. doi:10.1007/s00394-024-03468-x.
96. Fan H, Le JW, Zhu JH. Protective effect of N-acetylcysteine pretreatment on acute kidney injury in septic rats. *J Surg Res.* 2020;254:125-134. doi:10.1016/j.jss.2020.04.017.
97. Nežić L, Škrbić R, Amidžić L, Gajanin R, Milovanović Z, Nepovimova E, et al. Protective effects of simvastatin on endotoxin-induced acute kidney injury through activation of tubular epithelial cells' survival and hindering cytochrome C-mediated apoptosis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):7236. doi:10.3390/ijms21197236.
98. Zhang L, Yao J, Wang X, Li H, Liu T, Zhao W. Poly (ADP-ribose) synthetase inhibitor has a heart protective effect in a rat model of experimental sepsis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(9):9824-9835.
99. Meng XL, Yu MM, Liu YC, Gao YL, Chen XS, Shou ST, et al. Rutin inhibits cardiac apoptosis and prevents sepsis-induced cardiomyopathy. *Front Physiol.* 2022;13:834077. doi:10.3389/fphys.2022.834077.

100. Chen X, Chen C, Fan S, Wu S, Yang F, Fang Z, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid attenuates the inflammatory response by modulating microglia polarization through SIRT1-mediated deacetylation of the HMGB1/NF- κ B pathway following experimental traumatic brain injury. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):116. doi:10.1186/s12974-018-1151-3.
101. Odetayo AF, Akhigbe RE, Hamed MA, Balogun ME, Oluwole DT, Olayaki LA. Omega-3 fatty acids abrogates oxido-inflammatory and mitochondrial dysfunction-associated apoptotic responses in testis of tamoxifen-treated rats. *Front Nutr*. 2024;11:1443895. doi:10.3389/fnut.2024.1443895.
102. Wójcik P, Žarković N, Gęgotek A, Skrzydlewska E. Involvement of metabolic lipid mediators in the regulation of apoptosis. *Biomolecules*. 2020;10(3):402. doi:10.3390/biom10030402.
103. Duailibe JBB, Viau CM, Saffi J, Fernandes SA, Porawski M. Protective effect of long-chain polyunsaturated fatty acids on hepatorenal syndrome in rats. *World J Nephrol*. 2024;13(3):95627. doi:10.5527/wjn.v13.i3.95627



EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KARAR

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
01.08.2024	09	319

SDÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 01.08.2024 tarihinde saat-10:00'da toplanarak aşağıdaki kararlar alınmıştır:

Karar:319

Proje Yürütücüsü: Dr. Öğr. Üyesi Pınar KARABACAK (Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.) Yürütüçülüğünde,

Yardımcı Araştırmacılar: Doç.Dr.Pınar KARABACAK, Ar. Gör. Dr.Ersin ÇELİK, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet BİNDAL, Dr Öğr. Üyesi Mustafa Soner ÖZCAN, Doç.Dr İltis İlhan, Doç.Dr Muhammet Yusuf TEPEBAŞI, Arş. Gör. Melih ARLIOĞLU ve Prof Dr. Halil AŞCI'nın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı **"DENEYSEL SEPSİS MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA AKUT AKCİĞER HASARI ÜZERİNE OMEGA 3 KULLANIMININ KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI"** başlıklı SDÜ bilimsel araştırma projesi etik kurulumuzca oy birliği ile **UYGUNLUĞUNA** karar verilmiştir.

Prof. Dr. Kanat GÜLLE Başkan	Prof. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Duygu KUMBUL ÜYE
Doç.Dr. Müge ÇINA ÜYE	Prof. Dr. Ömer ÇETİK ÜYE	Dr.Öğr. Üyesi Mustafa Soner ÖZCAN ÜYE
KATILMADI Dr. Öğr. Üyesi Gülşah USTA SOFU ÜYE	KATILMADI Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Yusuf TEPEBAŞI ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Mesut ERGAN ÜYE
Öğr. Gör. Dr. İbrahim ONARAN (HÜDAL Sorumlu Veteriner Hekimi) ÜYE	Vet. Hekim Ayşegül AVŞAR SIVİL ÜYE	Nursan BECHREN SIVİL ÜYE