



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RAT SEPSİS MODELİNDE *Punica granatum* EKSTRAKTININ
AKCİĞER VE BÖBREK ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYAL VE
ANTI-İNFLAMATUAR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Doktora Tezi)

Sena ŞAHİN AKTURA

**Danışman
Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI**

**RİZE
2025**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında, Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI danışmanlığında, Sena ŞAHİN AKTURA tarafından hazırlanan *Rat Sepsis Modelinde Punica granatum Ekstraktının Akciğer ve Böbrek Üzerindeki Antimikrobiyal ve Anti-inflamatuvar Etkilerinin Araştırılması* adlı bu tez çalışması, 21/05/2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliğiyle/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Ünvanı, Adı SOYADI	İmza
Başkan	: Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI	
Üye	: Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ	
Üye	: Prof. Dr. Levent TÜMKAYA	
Üye	: Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi İlkay BAHÇECİ	

ETİK BEYAN

Tıbbi Mikrobiyoloji Doktora Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Rat Sepsis Modelinde *Punica granatum* Ekstraktının Akciğer ve Böbrek Üzerindeki Antimikrobiyal ve Anti-inflamatuar Etkilerinin Araştırılması” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

21/05/2025

Sena ŞAHİN AKTURA

ÖN SÖZ

Sepsis, inflamasyon sonucu bağışıklık sisteminin kontrolsüz ve aşırı tepkisiyle ortaya çıkan ciddi bir klinik durumdur. 2050 yılına kadar mikrobiyal direnç kaynaklı ölümlerin, kanser kaynaklı ölümleri aşacağı öngörülmektedir. Bu durum, sepsis başta olmak üzere birçok enfeksiyon temelli hastalıkların etiyolojisi ve tedavisinde yenilikçi yaklaşımların gerekliliğini ortaya koymaktadır. Günümüzde sepsisin tedavisinde semptomatolojik yaklaşımlar ön planda olmakla birlikte, alternatif tıp uygulamaları da giderek daha fazla ilgi görmektedir. Zengin fenolik içeriği sayesinde *Punica granatum*, bu alanda yenilikçi ve etkili bir tedavi perspektifi sunan bitkisel kaynaklardan biri olarak öne çıkmaktadır.

Tez danışmanım olarak bana rehberlik eden Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI'ya, süreci yakından takip ederek desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Levent TÜMKAYA, Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE ve Dr. Öğr. Üyesi İlkay BAHÇECİ'ye, ilham verici bilimsel yaklaşımlarıyla katkı sunan Prof. Dr. Osman Birol ÖZGÜMÜŞ, Doç. Dr. Atilla TOPÇU ve Doç. Dr. Medeni ARPA'ya, yoğun akademik tempolarına rağmen desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU, Doç. Dr. Mehmet KIVRAK, Dr. Öğr. Üyesi Mehtap ATAĞ, Dr. Öğr. Üyesi Tuğba ÇELİK SAMANCI, Öğr. Gör. Dr. Sibel KARAKAŞ MATARACI ve Arş. Gör. Esra PINARBAŞ'a, ayrıca desteklerini her zaman hissettiğim oda arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her daim yanımda olup bana destek veren biricik babam Doç. Dr. Kazım ŞAHİN'e, bu çalışmanın hayata geçmesindeki katkıları ve gösterdiği fedakarlıklar için sonsuz şükranlarımı sunarım. Beni sevgiyle yetiştiren annem Mürsel ŞAHİN'e, varlıklarıyla hayatıma renk katan kız kardeşlerime, yaşadığım bütün zorlu süreçlerde sabırla bana güç veren sevgili eşim Behzat AKTURA'ya ve kıymetli oğlum Oğuz Selim AKTURA'ya teşekkür ederim.

“Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: TDK-2022-1407”
 (“This work was supported by the Research Fund of Recep Tayyip Erdogan University. Project Number: TDK-2022-1407”)

Sena ŞAHİN AKTURA
RİZE/2025

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
KISALTMALAR	IX
TABLolar LİSTESİ.....	XII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XIII
GİRİŞ.....	1
1. SEPSİS.....	4
1.1. Sepsis Tanımı ve Önemi.....	5
1.2. Sepsis Etiyolojisi.....	9
1.3. Sepsis Patofizyolojisi	11
1.3.1. Toll-benzeri Reseptörler (TLR).....	13
1.3.2. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB).....	15
1.4. Sepsis İmmünolojisi.....	16
1.4.1. Sepsiste Doğal Bağışıklık Sistemi.....	16
1.4.2. Sepsiste Kazanılmış Bağışıklık Sistemi.....	19
1.5. Sepsis ve Sitokinler	22
1.5.1. Tümör Nekroz Faktörü alfa (TNF-α).....	24
1.5.2. İnterlökin-10 (IL-10)	26
1.6. Sepsis ve Biyobelirteçler	28
1.7. Sepsiste Akciğerler.....	30
1.8. Sepsiste Böbrekler	33
1.9. Sepsis Tedavisi.....	34
2. PUNİCA GRANATUM	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	38
3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Reaktifler	39

3.3. Çalışmada Kullanılan Ticari Kitler	39
3.4. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar ve Antibiyotikler	40
3.5. <i>Punica granatum</i> Kabuk Ekstraksiyonunun (PGKE) Hazırlanması.....	41
3.6. Deney Hayvanlarının Temini, Barınması ve Bakımı	42
3.7. Çalışma Grupları ve Deneyin Yapılışı.....	42
3.8. Deneyin Sonlandırılması ve Numunelerin Toplanması	43
3.9. Biyokimyasal İşlemler.....	43
3.9.1. Serum C-Reaktif Protein (CRP), Kan Üre Azotu (BUN) ve Kreatinin (Cr) Seviyelerinin Belirlenmesi	43
3.9.2. Doku Homojenizasyonu.....	44
3.9.3. Doku Tiyobarbitürik Asit Türevleri (TBARS) Tayini	44
3.9.4. Doku Glutatyon (GSH) Tayini	45
3.9.5. Doku homojenatı TNF- α ve IL-10 Seviyelerinin Belirlenmesi	47
3.10. Antimikrobiyal Analizler.....	47
3.10.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi.....	47
3.10.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Analizi	48
3.11. Histopatolojik Analizler.....	48
3.11.1. Doku Takip ve Kesit Alma İşlemleri	48
3.11.2. Hematoksilen-Eozin (H&E) Boyama	49
3.12. İmmünohistokimyasal (IHC) Analiz	49
3.13. Semi-kantitatif Analiz	50
3.14. İstatistiksel Analiz	51
4. BULGULAR.....	52
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	52
4.1.1. Serum CRP, BUN ve Cr Seviyeleri	52
4.1.2. Doku Homojenatı TBARS Seviyeleri.....	53
4.1.3. Doku Homojenatı GSH Seviyeleri	54
4.1.4. Doku Homojenatı TNF- α ve IL-10 Seviyeleri	54
4.2. Antimikrobiyal Bulgular	56
4.2.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Test Sonuçları.....	56
4.2.2. MİK Analizi Sonuçları.....	59
4.3. Histopatolojik Bulgular	61

4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	65
4.4.1. Semikantitatif Bulgular.....	65
4.4.2. Anti-TLR4 Antikor Boyama Bulguları.....	66
4.4.3. Anti-NF-κB Antikor Boyama Bulguları.....	69
4.4.4. Anti-TNF-α Antikor Boyama Bulguları.....	72
5. TARTIŞMA.....	73
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	88
KAYNAKÇA	89
EKLER	124



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Türü : Doktora Tezi

Danışman : Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI

Hazırlayan : Sena ŞAHİN AKTURA

Yıl : 2025

Sayfa Sayısı : 124

ÖZET

RAT SEPSİS MODELİNDE *Punica granatum* EKSTRAKTININ AKCİĞER VE BÖBREK ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYAL VE ANTİ-İNFLAMATUAR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sepsis enfeksiyon sonucu bağışıklık sisteminin aşırı ve kontrolsüz aktivasyonu ile gelişen ciddi bir klinik tablodur. Aşırı salgılanan proinflamatuar mediyatörler sistemik vazodilatasyon ve damar geçirgenliğinde artışa neden olur. Mikrotrombüs oluşumu ile perfüzyon bozulur, kan akışı azalır ve doku oksijenlenmesi yetersiz hale gelir. Bu durum, başta akciğer ve böbrek olmak üzere organ disfonksiyonlarına yol açar. Hızlı tanı ve uygun antibiyotik tedavisi mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde azaltabilmektedir. Ancak, artan mikrobiyal direnç nedeniyle sepsis kaynaklı ölümlerin, 2050 yılına kadar kanser kaynaklı ölümleri aşacağı öngörülmektedir. Bu nedenle, bitki kökenli bileşiklerin antimikrobiyal potansiyelinin araştırılması önem kazanmıştır.

Çalışmanın amacı *Punica granatum* kabuk özütünün (PGKE), lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen akut akciğer ve böbrek hasarı üzerindeki antimikrobiyal ve anti-inflamatuar etkilerini değerlendirmektir.

36 adet erkek Sprague-Dawley rat kontrol, sepsis, PGKE100 (100 mg/mL) ve PGKE300 (300 mg/mL) gruplarına ayrıldı. Tedavi gruplarına 7 gün boyunca oral PGKE uygulandı, ardından tüm gruplara (kontrol hariç) 10 mg/kg LPS intraperitoneal olarak enjekte edildi. Serumda BUN, Cr, CRP ve doku örneklerinde TBARS, GSH, TLR4, NF-κB, TNF-α ve IL-10 düzeyleri analiz edildi. PGKE'nin *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları üzerindeki antibakteriyel etkinliği agar kuyucuk difüzyon yöntemi ve minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) yöntemi ile değerlendirildi.

Sepsis grubuyla karşılaştırıldığında, PGKE gruplarında BUN, Cr, CRP, TBARS ve GSH seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi. Sepsis grubundaki yüksek TLR4, TNF-α ve IL-10 seviyeleri ile NF-κB ekspresyonunun PGKE ile azaldığı, akciğer ve böbrek hasarına karşı doku koruyucu etki sağladığı belirtildi. Ayrıca, *A.baumannii* ve MRSA gibi dirençli patojenler üzerinde PGKE'nin düşük dozlarda dahi antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edildi.

PGKE'nin, akciğer ve böbrek doku hasarını anlamlı düzeyde azalttığı ve antibakteriyel etkinliği ile sepsis gibi enfeksiyon temelli tablolarda mevcut tedavilere destekleyici bir alternatif olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, *Punica granatum*, akciğer, böbrek, TNF-α.

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Medical Microbiology

Thesis Type : Doctoral Thesis

Supervisor : Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI

Author : Sena ŞAHİN AKTURA

Year : 2025

Pages : 124

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL AND ANTI- INFLAMMATORY EFFECTS OF *Punica granatum* EXTRACT ON LUNG AND KIDNEY IN RAT SEPSIS MODEL

Sepsis is a severe clinical condition caused by excessive and uncontrolled immune activation in response to infection. Overproduction of proinflammatory mediators leads to systemic vasodilation, increased vascular permeability, and microthrombus formation, resulting in impaired perfusion, reduced oxygen delivery, and organ dysfunction, especially in the lungs and kidneys. Early diagnosis and appropriate antibiotic therapy can significantly reduce morbidity and mortality. However, predicted that due to rising microbial resistance by 2050, sepsis-related deaths will surpass those caused by cancer. Therefore, investigating the antimicrobial potential of plant-derived compounds has gained importance.

This study aims to evaluate the antimicrobial and anti-inflammatory effects of *Punica granatum* peel extract (PGPE) on lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung and kidney injury.

36 male Sprague-Dawley rats were divided into control, sepsis, PGPE100 (100 mg/mL), and PGPE300 (300 mg/mL) groups. PGPE was administered orally for seven days to the treatment groups, and then, all groups (except the control) received an intraperitoneal injection of 10 mg/kg LPS. Serum BUN, Cr, CRP and tissue TBARS, GSH, TLR4, NF- κ B, TNF- α , and IL-10 levels were analyzed. The antibacterial activity of PGPE against *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was assessed with the agar well diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) methods.

Compared to the sepsis group, BUN, Cr, CRP, TBARS, and GSH levels were significantly decreased in the PGPE-treated groups. Elevated TLR4, TNF- α , and IL-10 levels, as well as NF- κ B expression observed in the sepsis group, were reduced by PGPE treatment, indicating a protective effect against lung and kidney tissue injury. Furthermore, PGPE demonstrated antimicrobial activity even at low doses, particularly against resistant pathogens such as *A.baumannii* and MRSA.

PGPE significantly reduced lung and kidney tissue damage and exhibited notable antibacterial activity, which may serve as a supportive therapeutic alternative in infection-related conditions such as sepsis.

Keywords: Sepsis, *Punica granatum*, lung, kidney, TNF- α .

KISALTMALAR

α	:	Alfa
ACCP	:	American College of Chest Physicians
AK	:	Amikasin
AM	:	Amfisilin
ATS	:	American Thoracic Society
aPTT	:	Activated Partial Thromboplastin Time
β	:	Beta
BUN	:	Kan Üre Azotu
CARS	:	Kompansatuar Anti-inflamatuar Yanıt Sendromu
CAZ	:	Seftazidim
CIP	:	Siprofloksasin
Cr	:	Kreatinin
CRP	:	C-Reaktif Protein
CXM	:	Sefuroksim sodyum
ÇLP	:	Çekal Ligasyon ve Perforasyon
DAMP	:	Damage-Associated Molecular Patterns
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	:	Ditiyobis-2-nitrobenzoik asit
dsRNA	:	Çift Zincirli Ribonükleik Asit
dk	:	dakika
E	:	Eritromisin
EA	:	Ellagik asit
ELISA	:	Enzime Bağlı İmmünosorban Yöntem
ESICM	:	European Society of Intensive Care Medicine
ET	:	Ellagitanin
g	:	Gram
GA	:	Gallagik asit
GSH	:	İndirgenmiş Glutasyon
H&E	:	Harris Hematoksilen ve Eozin G

IHC	:	İmmünohistokimyasal
IL	:	İnterlökin
INR	:	International Normalized Ratio
iNOS	:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
i.p.	:	İntraperitoneal
K	:	Kontrol
KDIGO	:	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KTR	:	Kalıp Tanıyıcı Reseptör
kg	:	Kilogram
LPS	:	Lipopolisakkarit
MARS	:	Miks Antagonist Cevap Sendromu
MDA	:	Malondialdehit
MEM	:	Meropenem
MHA	:	Mueller-Hinton Agar
MHB	:	Mueller-Hinton Broth
MRSA	:	Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
mg	:	Miligram
mL	:	Mililitre
MODS	:	Çoklu organ fonksiyon bozukluğu
NF-κB	:	Nükleer Faktör Kappa B
NK	:	Natural Killer
OAB	:	Ortalama Arteriyel Basıncı
P	:	Penisilin G
PAMP	:	Pathogen-Associated Molecular Pattern
PBS	:	Phosphate buffered saline
PGKE	:	<i>Punica granatum</i> Kabuk Ekstraktı
PL	:	Punikalin
pO ₂	:	Parsiyel oksijen basıncı
PRR	:	Pattern tanıyan reseptör
PUN	:	Punikalagin
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
rpm	:	Revolutions per Minute

SCCM	:	Society of Critical Care Medicine
SDS	:	Sodyum dodesilsülfat
SIRS	:	Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu
SIS	:	Surgical Infection Society
SKB	:	Sistolik kan basıncı
SOFA	:	Sequential Organ Failure Assessment
SSC	:	Surviving Sepsis Campaign
SSI	:	Surgical Site Infection
TBA	:	Tiyobarbitürik asit
TBARS	:	Tiyobarbitürik Asit Türevleri
TEC	:	Teikoplanin
TLR	:	Toll Benzeri Reseptör
TNF- α	:	Tümör Nekroz Faktörü alfa
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
TZP	:	Piperasilin / Tazobaktam
VA	:	Vankomisin

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. Sepsis tanımları	6
Tablo 2. Ağır sepsiste gelişen organ fonksiyon bozuklukları	8
Tablo 3. TLR ailesi ve ilişkili moleküler patternler.....	14
Tablo 4. Bazı proinflatuar ve anti-inflatuar sitokinler.....	24
Tablo 5. Kullanılan cihazlar, markaları ve katalog numaraları	38
Tablo 6. Kullanılan kimyasallar/reaktifler, markaları ve katalog numaraları	39
Tablo 7. Kullanılan kitler, üretici firmalar ve katalog numaraları	40
Tablo 8. Çalışmada kullanılan bakteriler	40
Tablo 9. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri ve katalog numaraları	40
Tablo 10. Akciğer Hasar Skorlaması (AHS)	50
Tablo 11. Tübüler Nekrozis Skorlaması (TNS)	50
Tablo 12. Böbrek Histopatolojik Hasar Skoru (BHHS).....	51
Tablo 13. İmmunohistokimyasal pozitivite derecelendirme	51
Tablo 14. TBARS Sonuçları.....	53
Tablo 15. GSH Sonuçları	54
Tablo 16. İnhibisyon zon çapları	57
Tablo 17. MİK sonuçları	60
Tablo 18. Akciğer Histopatolojik Hasar Skoru (AHS) sonuçları	61
Tablo 19. Alveolar duvar ve alveolar septum kalınlıkları.....	62
Tablo 20. Tübüler Nekroz Skoru (TNS) sonuçları	64
Tablo 21. Akciğer semikantitatif bulgu sonuçları	66
Tablo 22. Böbrek semikantitatif bulgu sonuçları	66

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Enfeksiyon, sepsis ve SIRS arasındaki ilişki.	7
Şekil 2. Sepsisin gelişim basamakları	9
Şekil 3. <i>P.granatum</i> Kabuk Ekstraktı (PGKE) hazırlama süreci	41
Şekil 4. Ratların bakımı ve <i>ad libitum</i> beslenmesi	42
Şekil 5. Akciğer MDA standart grafiği	45
Şekil 6. Böbrek MDA standart grafiği	45
Şekil 7. Akciğer GSH standart grafiği	46
Şekil 8. Böbrek GSH standart grafiği	46
Şekil 9. Renksiz olan substratın sitokinlerin konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak oluşturduğu renk değişimi	47
Şekil 10. C-Reaktif Protein (CRP) Seviyesi	52
Şekil 11. Kan Üre Azotu (BUN) Seviyesi	52
Şekil 12. Kreatinin (Cr) Seviyesi.....	53
Şekil 13. Akciğer TNF- α Seviyesi	55
Şekil 14. Böbrek TNF- α Seviyesi	55
Şekil 15. Akciğer IL-10 Seviyesi.....	56
Şekil 16. Böbrek IL-10 Seviyesi.....	56
Şekil 17. Agar kuyucuk difüzyon testi sonuçları	58
Şekil 18. H&E ile boyanmış akciğer dokusuna ait kesitlerin ölçüm parametreleri ...	62
Şekil 19. H&E ile boyanmış akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	63
Şekil 20. H&E ile boyanmış böbrek dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü.....	65
Şekil 21. TLR4 primer antikoru ile inkübe edilmiş akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü	67
Şekil 22. TLR4 primer antikoru ile inkübe edilmiş böbrek dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü	68
Şekil 23. NF- κ B/p65 primer antikoru ile inkübe edilmiş akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü	69

Şekil 24. NF- κ B/p65 primer antikoru ile inkübe edilmiş böbrek dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü	71
Şekil 25. TNF- α primer antikoru ile inkübe edilmiş akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü	72



GİRİŞ

Sepsis enfeksiyon sonucu ortaya çıkan ve bağışıklık sisteminin aşırı ve kontrolsüz aktivasyonu ile ilerleyen, doku hasarı, organ disfonksiyonu ve çoklu organ yetmezliği ile karakterize ciddi bir klinik tablodur (Caraballo & Jaimes, 2019). Sepsise bağlı azalmış kan akışı, organlarda perfüzyon yetersizliğine yol açarak fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. Akciğer (%21,5) ve böbrekler (%52,6), sepsis patogenezinde en sık hasar gören ve disfonksiyon gelişen organlardır (Rhee vd., 2020). Sepsis, yüksek mortalite ve morbidite oranları ile ilişkilidir. Koroner dışı yoğun bakım hastalarında en sık mortalite nedeni olarak öne çıkmaktadır (Halaçlı, 2021). Özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde bu oranlar daha da artış göstermektedir. Her yıl dünya genelinde yaklaşık 50 milyon kişi sepsis tanısı almakta ve 11 milyondan fazla ölüme yol açmaktadır. Bu vakaların %40'ından fazlasını 5 yaş altı çocuklar oluşturmaktadır (Rudd vd., 2020). Erken tanı ve uygun antibiyotik tedavisi ile sepsis kaynaklı ölümler ve komplikasyonlar önemli ölçüde azaltılabilir. Ancak, günümüzde antibiyotiklere karşı gelişen direnç, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde büyük bir sorun oluşturmaktadır. Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi, bu tedavi yaklaşımlarının etkinliğini sınırlandırmaktadır. Mikrobiyal direnç nedeniyle, 2050 yılına kadar sepsis kaynaklı ölümlerin kanser kaynaklı ölümleri aşacağı öngörülmektedir (O'Neill, 2016). Bu durum, bakteriyel enfeksiyonların yaygınlığı ve artan antibiyotik direnci karşısında, terapötik potansiyeli yüksek olan bitki kaynaklarının ve biyoaktif bileşenlerinin araştırılmasına olan ilgiyi artırmıştır (Dhara & Mandal, 2023). Dünya çapında yaygın olarak meyvesi için yetiştirilen *Punica granatum* (nar) antik çağlardan beri geleneksel tıp tedavisinde yerini almaktadır. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, *P.granatum*'un antioksidan, antidiyabetik, antidiyareik, antikanser, antibakteriyel ve antifungal olmak üzere çok sayıda farmakolojik özelliğe sahip olduğunu göstermektedir (Segar vd., 2023; Al-Zoreky vd., 2009; Qnais vd., 2007; Dahham vd., 2010; Marques vd., 2016; Mastrogiorganni vd., 2019). Bu sebeple, fenolik bileşikler açısından zengin olan *Punica granatum* kabuk ekstraktlarının (PGKE) lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen sepsis modelinde akciğer ve böbrek dokuları üzerindeki anti-inflamatuar

etkilerini ve antibiyotiklere direnç geliştirebilen çeşitli patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinliği incelenmiştir.

Çalışmada 36 adet erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı. Ratlar kontrol, sepsis, PGKE100 (100 mg/mL) ve PGKE300 (300 mg/mL) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Tedavi gruplarına 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla PGKE uygulanmış ve 7. günün sonunda kontrol grubu hariç tüm gruplara sepsisi indüklemek amacıyla 10 mg/kg LPS intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Bu çalışma, deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen PGKE uygulamaları, sepsis modeli oluşturma, biyokimya, histopatoloji, immünohistokimya analizleri ve çeşitli patojenler üzerinde PGKE'nin antibakteriyel etkinlik analizleri olmak üzere altı bölümden oluşmaktadır. PGKE'nin antibakteriyel aktivitesi agar kuyucuk difüzyon yöntemi ve minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) yöntemi ile yaygın patojenler üzerinde değerlendirilerek, özütün antimikrobiyal potansiyeli incelenmiştir.

Sepsisin neden olduğu oksidatif stres organ hasarının temel nedenlerinden biridir. Bu nedenle biyokimyasal analizlerde; PGKE'nin oksidatif stres düzeyini değerlendirmek amacıyla lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) düzeyleri ve antioksidan savunmayı değerlendirmek için İndirgenmiş Glutasyon (GSH) düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca, proinflamatuar sitokin olarak TNF- α ve anti-inflamatuar sitokin olarak IL-10 seviyeleri ELISA yöntemi ile incelenmiştir. PGKE'nin akciğer ve böbrek hasarı üzerindeki koruyucu etkileri histopatolojik olarak incelenmiş ve doku hasarı derecelendirilmeleri yapılmıştır. Elde edilen bulgular immünohistokimyasal olarak desteklenmiş, TLR4, NF- κ B ve TNF- α immün boyamalar yapılarak sağlıklı grup, hasta ve tedavi grupları arasındaki inflamasyon seviyelerindeki değişim gösterilmiştir.

Elde edilen bulgular, PGKE'nin antibakteriyel ve anti-inflamatuar özelliklerinin, sepsis tedavisinde tamamlayıcı bir yaklaşım olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışma, bitki kaynaklı bileşiklerin antimikrobiyal ve anti-inflamatuar potansiyelinin araştırılmasına katkı sağlamak ve gelecekteki klinik çalışmalar için önemli bir temel oluşturmaktadır. Buna karşılık, çalışmanın çeşitli sınırlılıkları da bulunmaktadır. Çalışmada LPS ile indüklenen sepsis modeli oluşturuldu ancak bu model klinik sepsis vakalarını tam olarak yansıtmayabilir.

Ayrıca, çalışma ratlar üzerinde gerçekleştirilmiş olup insan fizyolojisini doğrudan temsil etmemektedir. Sepsis hastalarında, enfeksiyon etkenleri ve bağışıklık yanıtı çok daha karmaşık bir süreç izlemektedir. Bu nedenle, elde edilen bulguların doğrulanabilmesi için klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, çalışmada *P.granatum* kabuk özütü toplam ekstrakt olarak uygulanmıştır. Bu durum, özüt içerisinde bulunan bileşenlerin olası sinerjistik veya antagonistik etkileşimlerini göz ardı etmektedir. Etkin maddenin belirlenmesi ve saflaştırılmış bileşiklerle yapılacak çalışmalar, özütün farmakolojik etkisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Bununla birlikte, özütün oral gavaj yöntemiyle uygulanması, gastrointestinal sistemde metabolize edilmesine neden olabilir. Bu durum, biyoyararlanımı ve etkinliğini etkileyebilir. Alternatif olarak, intravenöz (i.v.) veya intraperitoneal (i.p.) uygulama yöntemleri ile etkin maddenin doğrudan dolaşıma verilmesi, farmakokinetik ve farmakodinamik değerlendirmeler açısından daha uygun bir yaklaşım olabilir. Son olarak, PGKE'nin uzun dönem kullanım etkileri ve yan etkileri tam olarak değerlendirilmemiştir.

Deney hayvanlarına ilaç uygulama ve sepsis modeli oluşturma, Doç. Dr. Atilla TOPÇU, bakteriyolojik analizler Doç. Dr. Kazım ŞAHİN, biyokimyasal analizler Dr. Öğr. Üyesi Mehtap ATAĞ, Öğr. Gör. Dr. Sibel KARAKAŞ MATARACI ve Arş. Gör. Esra PINARBAŞ, histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler Prof. Dr. Levent TÜMKAYA ve Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE, verilerin işlenmesi ve akademik danışman / yazım işlemleri Prof. Dr. Zihni Açar YAZICI önderliğinde yapılmıştır.

1. SEPSİS

Sepsis terimi 2700 yıl önce yazılan Homeros'un şiirlerinde yer almaktadır. Yunanca "sepo" kelimesinden türemiş olup, "bozulma" veya "çürüme" anlamına gelmektedir. Bir hekim ve filozof olan Hipokrat, sepsisi vücutta potansiyel olarak meydana gelebilecek tehlikeli biyolojik bozulma olarak tanımlamış ve daha sonra Aristoteles, Plutarch ve Galen gibi bilim insanları da sepsis hakkında çeşitli teoriler öne sürmüştür (Singh & Evans, 2006).

Mikrop teorisinin altın çağı, Avusturya-Macaristanlı bilim insanı ve hekim Ignaz Philipp Semmelweis'in puerperal sepsis üzerine yaptığı gözlemlerle başlamıştır (Funk vd., 2009). Semmelweis, doğum sırasında ebelerden yardım alan kadınlarda %2 oranında lohusa sepsisi geliştiğini, bu oranın tıp öğrencilerinin yardım ettiği kadınlarda ise %16'ya yükseldiğini fark etmiştir. Lohusa sepsisine yakalanma olasılığını arttıran faktörün, öğrencilerin otopsi yapmaları ve ellerini yıkamadan doğum işlemlerine katılmaları olduğunu gözlemlemiştir. "Annelerin kurtarıcısı" olarak tanınan Semmelweis, otopsi, doğum ve doğum sonrası sepsis arasındaki ilişkiyi keşfederek doğum servislerinde el yıkama politikasını başlatmıştır. Semmelweis'in önderliğinde uygulanan antiseptik prosedürler, doğum sonrası sepsis oranını %3'ün altına indirmiştir (Funk vd., 2009). Puerperal septisemili hastaların kanında canlı bakterilerin varlığı, 1880 yılında ilk kez Louis Pasteur tarafından keşfedilmiştir (Pasteur, 1880). Bu keşiften 100 yıl sonrada, bilim insanları sepsisi hayvanlar üzerinde inceleyebilecekleri bir model geliştirmişlerdir (Wichterman vd., 1980).

Dünya genelinde 1990-2017 yılları arasında kaydedilen verilere göre 49 milyon sepsis vakası ve 11 milyon ölüm bildirilmiştir (Rudd vd., 2020). Sepsis, enfeksiyona yanıt olarak gelişen düzensiz ve aşırı konak yanıtı sonucu biyolojik, fizyolojik ve biyokimyasal anormalliklerle tanımlanan, hayati tehdit oluşturan bir organ disfonksiyonu durumudur. Son 10 yılda sepsis prevalansı iki kat artmış ve 2017 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından dünya çapında bir sağlık önceliği olarak ilan edilmiştir (Reinhart vd., 2017). Surviving Sepsis Campaign (SSC) (Sepsiste Hayatta Kalma Kampanyası) verilerine göre, sepsis mortalite oranları Avrupa'da %41, Amerika Birleşik Devletleri'nde %28,3 ve Avustralya ve

Yeni Zelanda’da %18-20 civarında olduğu bildirilmektedir (Kumar vd., 2011; Levy vd., 2012; Martin vd., 2003). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre, 2009-2019 yılları arasında gerçekleşen ölüm nedenleri arasında ilk sırada dolaşım sistemi hastalıkları yer almakta, bunu sırasıyla iyi ve kötü huylu tümörler ve solunum sistemi hastalıkları izlemektedir (Tepetaş vd., 2022). Ancak Türkiye’de sepsis ile ilgili toplum tabanlı epidemiyolojik çalışmalar yeterli düzeyde bulunmamaktadır.

Sepsis, enfeksiyon nedeniyle akciğer, böbrek, karaciğer, kardiyovasküler sistem, makro ve mikrodolaşım ile koagülasyon mekanizmasında bozulmalara neden olabilir ve organ disfonksiyonu ile mortaliteye yol açabilmektedir (Yazıcıoğlu Moçin, 2021). Özellikle yenidoğanlar ve 65 yaş üzeri bireylerde daha sık görülmekte, immünosupresif tedavi alan, cerrahi işlem geçiren, hiposplenik ve diyabetik bireylerde sepsise eğilim artmıştır (Rudd vd., 2020).

1.1. Sepsis Tanımı ve Önemi

Sepsis tanısı hastalığın doğru ve hızlı bir şekilde teşhis edilmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalar, hastaların erken tanımlanmasının ve zamanında müdahalenin mortalite oranlarını azaltmada en büyük etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Srzić vd., 2022). Karmaşık ve ciddi durumları tanımlamak, sınıflandırmak ve yönetmek için zaman içinde sepsis ile ilgili yeni terimler ve kriterler ortaya çıkmıştır. Enfeksiyon hastalıkları sayısında sürekli bir artış gözlemlense de tanı ve kriterlerdeki belirsizlikler nedeniyle sepsis vakalarının büyük bir çoğunluğu tespit edilememektedir. Bu sorunun giderilmesi amacıyla, sepsis tanısı ve tanı kriterleri son yirmi yılda birkaç kez güncellenmiştir.

Sepsise ilişkin ilk resmi tanım, 1992 yılında Chicago’da düzenlenen ve American College of Chest Physicians (ACCP) ile Society of Critical Care Medicine (SCCM) tarafından organize edilen bir toplantıda bilim insanlarının bir araya gelerek sepsis terminolojisini netleştirmesi ve çeşitli sınıflandırmalar oluşturmasıyla yapılmıştır. Sepsis-1 tanımına göre sepsis, enfeksiyona karşı gelişen sistemik bir yanıt olarak tanımlanmış ve Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) ile ilişkilendirilmiştir. Bunun yanı sıra, ilgili konsensüs raporunda sepsisin farklı aşamaları için evrensel tek tip tanımlar oluşturulmuş ve sepsis, ağır sepsis, septik şok gibi terimler tanımlanmıştır (Bone vd., 1992). SIRS, akut ancak spesifik olmayan

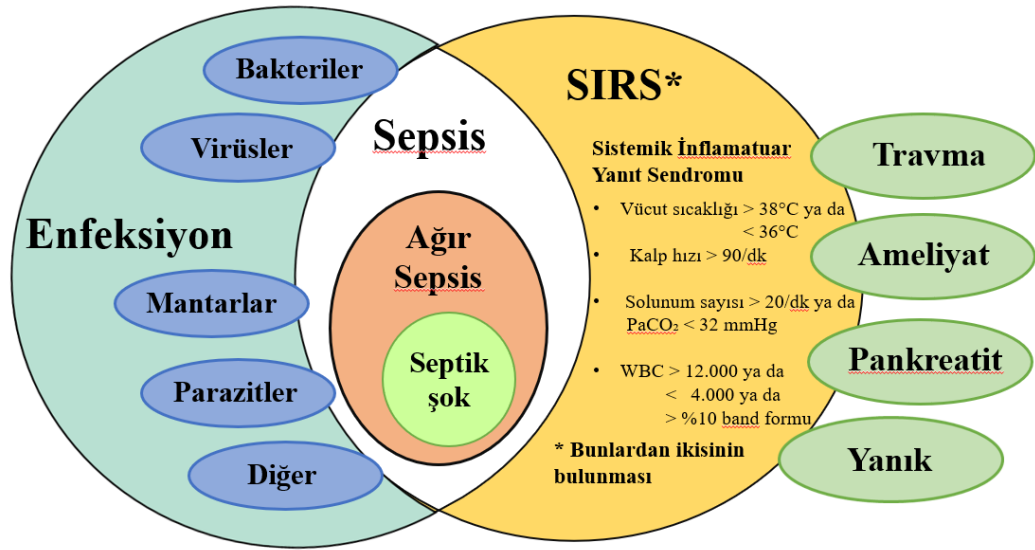
hastalık süreçlerinde ortaya çıkan ilk klinik belirtileri tanımlayan bir terimdir (Tablo 1). Enfeksiyona bağlı gelişen akut inflamatuvar yanıt, SIRS kriterlerine iyi bir örnek teşkil etmektedir.

Tablo 1. Sepsis tanımları (Özkanlar, 2011)

SIRS	Vücut sıcaklığı $>38^{\circ}\text{C}$ ya da $<36^{\circ}\text{C}$ Nabız $>90/\text{dk}$ Solunum sayısı $>20/\text{dk}$ ya da $\text{PaCO}_2 <32 \text{ mmHg}$ Lökosit sayısı $>12 \times 10^3/\mu\text{L}$ veya $<4 \times 10^3/\mu\text{L}$ Periferik yaymada $> \%10$ bant nötrofil oluşumu
Sepsis	İnfeksiyona sistemik yanıt ve eşlik eden iki ya da daha fazla SIRS kriteri
Ağır Sepsis	Sepsis, hipotansiyon, hipoperfüzyon, laktik asidoz, oligüri ve ani bilinç değişikliği gibi belirtilerle seyreden organ disfonksiyonu ile karakterizedir.
Septik Şok	Sepsis ile beraber yeterli sıvı desteğine rağmen gelişen hipotansiyon, perfüzyon bozukluğuna bağlı olarak laktik asidoz, oligüri ve ani bilinç değişikliği gelişen durumlarda oluşur.
Sepsise bağlı hipotansiyon	Hipotansiyon için başka nedenler dışlandığında Sistolik KB $<90 \text{ mmHg}$ ya da bazal değere göre $>40 \text{ mmHg}$ azalma
MODS	Akut olarak kötüleşen bir hastada homeostazı dışarıdan müdahalesiz koruyamayan bozulmuş organ fonksiyonu

SIRS: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu, MODS: Multipl Organ Disfonksiyonu Sendromu, KB: Kan Basıncı

SIRS kriterleri yalnızca sepsisle sınırlı değildir; lokalize veya genel enfeksiyon, travma, termal yaralanma gibi durumlarda da tetiklenebilir (Şekil 1). SIRS kriterlerinin spesifik olmaması, epidemiyolojik çalışmalarda sepsis insidansı ve mortalite oranlarının belirlenmesinde önemli tutarsızlıklara yol açmıştır (Srzic vd., 2022). Özellikle yenidoğanlar, ameliyat sonrası hastalar, travma, yanık, pankreatit, nötropeni veya organ transplantasyonu geçiren hastaların SIRS kriterlerini karşılaması çok olasıdır. Bu nedenle, SIRS'ın enfeksiyöz nedenlerini enfeksiyöz olmayan nedenlerden ayırmak için ek klinik ve laboratuvar değerlendirmeleri gereklidir (Tolba & Thickett, 2010).



Şekil 1. Enfeksiyon, sepsis ve SIRS arasındaki ilişki (Bone vd., 1992)

SIRS kriterlerinin sınırlamalarını ele almak amacıyla, 2001 yılında The Society of Critical Care Medicine (SCCM), The European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), The American College of Chest Physicians (ACCP), The American Thoracic Society (ATS) ve The Surgical Infection Society (SIS) tarafından Uluslararası Sepsis Tanımları Konferansı düzenlenmiştir. Bu konferansta, SIRS ve sepsis tanımları korunmuş, ancak ağır sepsis ve septik şok kriterleri güncellenmiş, cerrahi alan enfeksiyonlarının (SSI) sepsis gelişimindeki rolüne dikkat edilmiştir (Sepsis-2) (Levy vd., 2003).

Sepsis, konak immün sisteminin enfeksiyona karşı verdiği aşırı ve düzensiz yanıt nedeniyle ortaya çıkan kompleks bir sendrom olarak tanımlanmaktadır (Silva vd., 2008). Sepsise, şüpheli bir enfeksiyon varlığı ile birlikte SIRS kriterlerinden en az ikisinin bulunması ve enfeksiyonun klinik veya mikrobiyolojik kanıtlarına dayanarak tanı konulmaktadır (Srzić vd., 2022).

Ağır sepsis, kanda tespit edilen enfeksiyonla birlikte hipoperfüzyon veya hipotansiyon ile gelişen organ disfonksiyonu ile karakterizedir. Bu durumda başta akciğer, böbrek ve kardiyovasküler sistem olmak üzere karaciğer, nörolojik fonksiyonlar ve koagülasyon sistemi de etkilenebilir (Guidet vd., 2005) (Tablo 2).

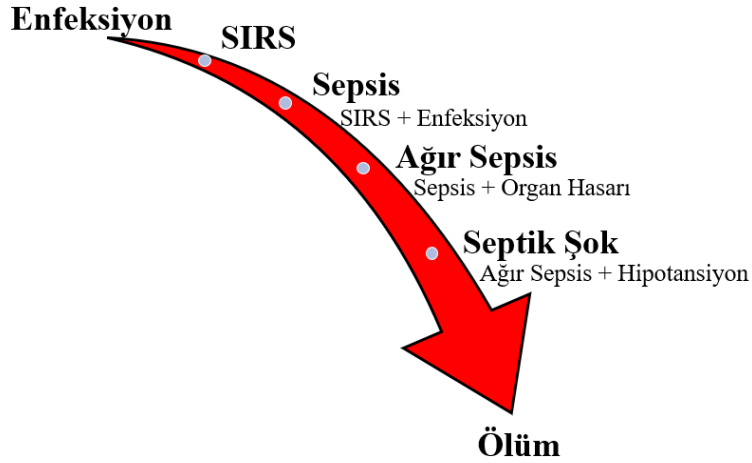
Tablo 2. Ağır sepsiste gelişen organ fonksiyon bozuklukları (Guidet vd., 2005)

Organ Fonksiyon Bozukluğu	Klinik Bulgular
Solunum	Hipoksi Akut Solunum Yetmezliği Mekanik Ventilasyon İhtiyacı Akut Akciğer Hasarı (ALI) Akut Solunum Yetmezliği Sendromu (ARDS)
Böbrek	Oligüri Akut Tübüler Nekroz
Kardiyovasküler	Hipotansiyon Vazopressor Ajan İhtiyacı Serum Laktat Düzeyi Artışı Baz Açığı Artışı
Karaciğer	İskemik Karaciğer Hasarı
Koagülasyon	Trombositopeni Dissemine İntravasküler Koagülasyon (DIC)
Nörolojik	Deliryum Septik Ensefalopati

Ağır sepsiste eklenen organ disfonksiyonu kriterleri şu şekildedir:

- Hipotansiyon; Sistolik kan basıncı (SKB) <90 mmHg veya ortalama arteriyel basınç (OAB) <65 mmHg veya laktat >2 mmol/L (ilk sıvı resüsitasyonu sonrasında).
- Koagülopati; International Normalized Ratio (INR) >1,5 veya aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) > 60 saniye.
- Karaciğer disfonksiyonu; Bilirubin >34 µmol/L.
- Böbrek disfonksiyonu; İdrar çıkışının 2 saat boyunca <0,5 mL/kg/saat olması veya serum kreatinin düzeyi >2 mg/dL.
- Trombositopeni; Trombosit sayısı <100 ×10⁹/L.
- Solunum yetmezliği; Oda havasında periferik oksijen satürasyonu (SpO₂) < %90.

Septik şok, sepsis ile birlikte görülen ve yeterli hacim resüsitasyonuna rağmen kalıcı arteriyel hipotansiyon ile karakterize akut dolaşım yetmezliği durumudur. Kısaca, ağır sepsisli hastalarda akut kardiyovasküler fonksiyon bozukluğunun gelişmesi olarak tanımlanmaktadır.



Şekil 2. Sepsisin gelişim basamakları

Tıp bilimindeki ilerlemeler ve hastalığın patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla birlikte sepsis kavramı zaman içinde önemli değişikliklere uğramıştır (Şekil 2). 2016 yılında SSCM ve ESICM tarafından gerçekleştirilen toplantıda elektronik sağlık kayıtları analiz edilerek Sepsis-3 tanımlamaları yapılmıştır. Bu tanımlamaya göre, sepsis inflamatuvar bir durumdan ziyade düzensiz bir konak yanıtı olarak ifade edilmiş ve inflamatuvar parametreler yerine organ işlev bozukluğunun saptanmasına odaklanılmıştır. Ayrıca, ağır sepsis terimi bu süreçte kaldırılmıştır (Singer vd., 2016).

Sepsis tanısı, enfeksiyona bağlı olarak SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) skorunda en az iki puanlık akut bir artış olarak belirlenmiştir. Septik şok kriterlerine SKB'nin 90 mmHg veya OAB'nin 65 mmHg'nin altında olması durumunda vazopresör tedavi gereksinimi dahil edilmiştir. Ayrıca, dirençli hipotansiyon ve serum laktat düzeyinin 2 mmol/L'nin üzerine çıkması kriterleri eklenmiştir (Sepsis-3) (Shankar Hari vd., 2016).

1.2. Sepsis Etiyolojisi

Sepsis, genellikle bakteriyemi ile ilişkilendirilmekle birlikte, daha nadir olarak fungemi, viremi veya parazitemi gibi diğer enfeksiyon etkenleri de sepsise neden olabilmektedir (Baykara vd., 2018). En sık enfeksiyon odakları arasında akciğer, idrar yolu, karın içi, cilt ve yumuşak doku, kemik ve eklemler yer almaktadır (Annane vd., 2003). İnvaziv prosedürler, tıbbi cihaz kullanımları ve antibiyotik

dirençli organizmalar, enfeksiyon riskini önemli ölçüde artırmaktadır. Özellikle kanser tedavisi gören hastalar, organ nakli alıcıları, AIDS hastaları gibi bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler ile yenidoğan ve yaşlı popülasyon, sepsis açısından yüksek risk grubunu oluşturmaktadır.

1980'lerden önce sepsis vakalarının yaklaşık yarısı Gram-negatif basiller tarafından oluşmaktaydı. Ancak zamanla bu eğilim değişmiş ve Gram-pozitif patojenler daha baskın hale gelmiştir. Bu dönemde, *Staphylococcus epidermidis* enfeksiyonlarının görülme oranı %6,5'ten %14,5'e yükselirken, *E.coli* enfeksiyonları %14,9'dan %6'ya düşmüştür. Ayrıca, *Candida* türleri ve *Enterococcus* türleri enfeksiyonlarında artış gözlenmiştir (Rangel-Frausto, 1999). Nozokomiyal bakteriyemilerin başlıca kaynakları arasında primer veya bilinmeyen kaynaklar, kateter ilişkili enfeksiyonlar, solunum yolu, genitoüriner sistem, gastrointestinal sistem ve cerrahi yaralar yer almaktadır. Her bir kaynağın oranı, hastane veya ünite türüne göre değişiklik göstermektedir. Genitoüriner enfeksiyonlar, sekonder bakteriyeminin en yaygın kaynağı olmakla birlikte, bazı hastanelerde kateter ilişkili enfeksiyonlar ön plandadır (Rangel-Frausto, 1999). 254 yoğun bakım ünitesinde yapılan bir prevalans çalışmasında, enfeksiyonların en sık nedeni *Enterobacteriaceae* olarak tespit edilmiş, bunu sırasıyla *P.aeruginosa*, *S.aureus*, koagülaz-negatif *Staphylococcus* ve *Candida* türleri izlemiştir (Rangel-Frausto, 1999).

2022 yılında yayınlanan Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı (USHİESA) raporuna göre, enfeksiyon oranları ve bakteriyel direnç oranları artış göstermiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2023). Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar (SHİE), özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) sepsis gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Akciğer odaklı sepsis, genellikle pnömoni kaynaklıdır. Türkiye genelinde özellikle ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) oranları özellikle Beyin Cerrahisi YBÜ (%8,9) ve İç Hastalıkları YBÜ (%6,4) birimlerinde oldukça yüksektir (T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2023). Ventilatör kullanımı, özellikle uzun süreli mekanik ventilasyon gerektiren hastalarda akciğer enfeksiyonlarına ve dolayısıyla sepsis riskine yol açabilmektedir.

Böbrek odaklı sepsis ise genellikle idrar yolu enfeksiyonları (İYE) veya kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonları (Kİ-İYE) kaynaklıdır. Üriner kateter

kullanımı ve idrar yolu enfeksiyonları böbrek odaklı sepsis riskini artıran faktörlerdir. Kİ-İYE oranları özellikle Nöroloji YBÜ (%1,7) ve Beyin Cerrahisi YBÜ (%1,5) gibi birimlerde yüksektir (T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2023). Üriner kateter kullanımı, idrar yolu enfeksiyonlarına ve böbrek enfeksiyonlarına yol açabilmekte, bu durum özellikle immün yetmezliği olan veya diyabet gibi kronik hastalıkları bulunan bireylerde sepsis riskini artırmaktadır.

Antimikrobiyal direnç, sepsis tedavisini zorlaştıran önemli bir faktördür. 2022 USHİESA raporuna göre, *A.baumannii* izolatlarında karbapenem ve kolistin direnci, *K.pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) üretimi, karbapenem ve kolistin direnci, *S.aureus* izolatlarında ise metisilin direnci (MRSA) yüksek oranlarda bildirilmiştir. *E.coli* suşlarında görülen ESBL üretimi ve karbapenem direnci, özellikle idrar yolu enfeksiyonları ve sepsis gibi klinik tabloların tedavisini zorlaştıran önemli faktörlerdir. Ayrıca *P.aeruginosa* izolatlarında karbapenem direnci, *Enterococcus faecalis*'de ise vankomisin direnci tedavi seçeneklerini sınırlayabilmektedir. Özellikle karbapenemler ve kolistin, çoklu ilaca dirençli Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla son seçenek antibiyotikler olarak değerlendirilmektedir. *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* izolatlarında bildirilen yüksek direnç oranları, sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar başta olmak üzere dirençli bakterilerin neden olduğu sepsis vakalarında tedavi başarısını önemli ölçüde kısıtlamaktadır.

1.3. Sepsis Patofizyolojisi

Sepsis, konak immün sisteminin enfeksiyona karşı verdiği düzensiz yanıt nedeniyle ortaya çıkan bir sendromdur. Enfeksiyon ve doku hasarına karşı konak savunmasını sağlayan hücreler, proteinler ve moleküller immün sistem olarak adlandırılmakta ve bu maddelerin hızla bölgeye ulaşmasını sağlayan fizyolojik yanıtla inflamasyon denilmektedir (Abbas vd., 2015). Bu süreçte yangı bölgesinde lokal kan akışı artar. Normal fizyolojik koşullarda, laminer kan akışı sırasında eritrositler damar lümeninin merkezi aksında yoğunlaşırken, lökositler daha periferik bölgede, trombositler ise damar duvarına en yakın konumda yer alır. Enfeksiyon veya doku hasarı geliştiğinde, inflamasyonu uyarıcı proinflamatuvar ajanlar damar geçirgenliğini ve endotel hücre yüzeyi yapışma molekülü ekspresyonunu artırır. Enfekte bölgede

lökositlerin daha kolay hareketini sağlamak amacıyla doku ödemi meydana gelir. Lökositler, damar lümeninden endotel hücrelerine doğru yaklaşır. Endotel hücreleri arasındaki mesafe açılarak damar geçirgenliği artar. Lökositler, pseudopodları ve salgıladıkları litik enzimler aracılığıyla dokulara geçiş yapar (diapedesis). Bu süreç, yangısal bölgeden orijin alan ve damar içine kadar yayılan kemokinler tarafından düzenlenir. Dolaşımdaki lökositlerin endotele bağlanmasını sağlayan kemokinler aktive olarak lökosit göçünü başlatır. Bunun sonucunda, nötrofillerin enfekte bölgeye kemotaksisi artar (Abbas vd., 2015). Sepsiste glikokaliks disfonksiyonunun artışı, endotel hasarını tetikler. Doku faktörü salınımı ve trombosit agregasyonu artarak endotelial kaçak ve doku ödeme neden olur. Perfüzyonun bozulması ise organ yetmezliği ile sonuçlanır.

Sepsis hastalarında mortaliteyi etkileyen kritik faktörlerden biri septik şok gelişimidir. Septik şokta vazopleji temel bir mekanizma olarak kabul edilmektedir (Gamcrldze vd., 2015). Sepsiste, PAMP'ler ve inflamatuvar sitokinlerin etkisiyle nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi indüklenmekte ve aşırı miktarda nitrik oksid (NO) sentezlenerek vazoplejiye neden olmaktadır (Lange vd., 2009). Ayrıca, prostasiklin (PGI₂) salınımındaki artış, endotel hücrelerindeki potasyum kanallarının artan aktivitesi, endotelin artışı ve vazopressin eksikliği de vazopleji gelişiminde rol oynamaktadır (Gamcrldze vd., 2015; Landry & Oliver, 2001). İnflamatuvar dengesizlik sonucu yüksek miktarda reaktif oksijen radikalleri (ROS) açığa çıkmakta ve bu radikaller, DNA, mitokondri, hücre proteinler ve lipidlerde hasara neden olmaktadır. Mitokondriler, Elektron Transfer Zinciri (ETZ) aracılığıyla ROS için önemli bir kaynak olup, aynı zamanda NO gibi serbest radikaller de üretmektedir. Sepsiste sitokinlerin etkisiyle iNOS (indüklenabilir Nitrik Oksid Sentaz) aktivitesi artmakta ve aşırı NO üretimi ETZ'nin işleyişini bozarak enerji üretimini azaltmakta, ROS seviyelerini artırmaktadır (Turrens, 2003). Normal koşullarda düşük düzeyde üretilen ROS, antioksidan sistem tarafından dengelenirken, yüksek ROS düzeyleri ETZ'yi inhibe ederek mitokondriyal hasarı ve apoptozu tetiklemektedir (Singer, 2014).

Doğal bağışıklığı uyaran ve patojenler üzerinde ortak bulunan moleküller patojen ilişkili moleküler örgüler (Pathogen Associated-Molecular Patterns;PAMPs) olarak adlandırılır. PAMP'lara örnek olarak memeli hücrelerinde bulunmayan, ancak

Gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan lipopolisakkarit (LPS) ve bazı virüslerin çift zincirli RNA'sı (dsRNA) verilebilir. Nekrotik hücrelerden salınan moleküller ise hasar ilişkili moleküler örgüler (Damage-Associated Molecular Patterns; DAMPs) olarak adlandırılır. DAMP'lara vücudun kendi doku ve hücrelerinin hasarlanması sonucu dolaşıma salınan serbest DNA, histonlar, ısı-şok proteinleri, mitokondriyal bileşenler, ATP gibi yapılar örnek verilebilir. Doğal bağışıklık reseptörleri olan örgü tanıyan reseptörler (Pattern Recognition Receptors; PRRs), PAMP ve DAMP yapılarını tanıyarak immün hücrelerde bir dizi aktivasyonu başlatır (Raymond vd., 2017). Çeşitli PRR tipleri mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır;

- TLRs (Toll-benzeri Reseptörler)
 - CLRs (Kalsiyum bağımlı Lektin Reseptörleri)
 - RLRs (Retinoik asit ile indüklenen gen-I benzeri Reseptörler)
 - NLRs (Nükleotid Bağlantılı Oligomerleşme Bölgesi benzeri Reseptörler)
- (Raymond vd., 2017; Lamkanfi, 2011)

1.3.1. Toll-benzeri Reseptörler (TLR)

Toll benzeri reseptör (TLR) molekülleri ilk defa 1985 yılında meyve sineklerinde (*Drosophila spp.*) keşfedilmiştir (Male vd., 2008). 1997 yılında Janeway ve çalışma arkadaşları, memeli hücresinde de benzer yapıların bulunduğunu saptamıştır. TLR'nin, makrofajların mikroorganizmaları tanınması ve bunu takiben sitokin salınımında önemli bir rol oynadığı ortaya konmuştur. PRR'ler arasında en çok çalışılan ve en iyi bilinen reseptörlerden biri TLR ailesidir ve tanıdığı mikrobiyal yapılara göre farklılık gösterirler (Tablo 3). Memeli hücrelerinde toplam 13 adet TLR tespit edilmiştir. Doğal immün sistemin hücresel bariyerini oluşturan monosit, makrofaj, nötrofil ve dentritik hücrelerin membranlarında mikroorganizma tanıma rol oynar (Osborne, 2002; Cohen, 2002; Shames & Kishiyama, 2006). Doğal immün sistemde PRR'ler genler tarafından kodlandığı için reseptör repertuarı kazanılmış immün sisteme kıyasla daha sınırlıdır. Ancak bu reseptörler, mikroorganizmaların evrimsel gelişim süresince iyi korunmuş moleküler kalıplarını tanıdıkları için tanıma kapasitesi oldukça geniştir. TLR, ekstrasellüler, transmembran ve

intrasisoplazmik yerleşim gösterirler (Osborne, 2002; Cohen, 2002; Shames & Kishiyama, 2006).

Tablo 3. TLR ailesi ve ilişkili moleküler patternler (Yaman, 2009; Anas vd., 2010)

TLR Ailesi	İlişkili moleküler patternler
TLR1	Multiple triačil lipopeptidler
TLR2	Peptidoglikan, Lipoteikoik asit
TLR3	Viral dsRNA
TLR4	Endotoksin (LPS; Lipopolisakkarit)
TLR5	Flagellin
TLR6	Mikoplazma multiple diačil lipopeptidler
TLR7, 8	Viral ssRNA
TLR9	Metillenmemiş CpG oligonükleotidler

Fagositler, dentritik hücreler ve epitelyal hücreler tarafından farklı kombinasyonlar halinde sentezlenen TLR'ler, geniş bir ligand özgüllüğü sağlarlar (Modlin vd., 1999). Bu reseptör repertuarı, yangısal uyarılarla değişiklik gösterebilir.

Toll, bir reseptör gibi davranan bir transmembran proteindir (Dinarello, 2000). TLR'nin sitoplazmik alanları IL-1 ve IL-18'inkilerle neredeyse aynıdır. Gen organizasyonu ve amino asit homolojisi, IL-1RI ve sitozolik Toll'un ortak bir atadan (Toll) türediğini ve benzer sinyalleri tetiklediğini göstermektedir (O'Neill, 2008). TLR'ler, enflamasyonu tetiklemek üzere programlanmış, germ hattı tarafından kodlanan bir öz-olmayan tanıma sistemini temsil eder (Akira, 2006). Ancak, endojen ligandların doku yaralanması ve belirli hastalık durumları sırasında TLR'leri tetikleyebileceği ve bunun enfeksiyon yokluğunda enflamasyonu teşvik etmek için hareket edebileceği yönünde bazı öneriler vardır (Karin vd., 2006).

Sepsis patogeneğinde, TLR'lerin, özellikle TLR2 ve TLR4'ün ekspresyonunda artış gözlenir. Bu artış, nükleer transkripsiyon faktörlerinin nükleusa translokasyonuna ve dolayısıyla proinflatuar yanıtın şiddetlenmesine neden olur. Bu durum, sepsisin karakteristik ve yaygın bir immün yanıtıdır (Male vd., 2008). TLR4, makrofaj aracılı inflammatuar yanıtta kritik bir rol oynar. Kanda bulunan LPS,

LPS bağlayıcı protein (LBP) ile bağlanarak makrofaj yüzeyindeki CD14'e tutunur. CD14, myeloid differentiation protein 2 (MD-2) ile kompleks oluşturur ve bu yapı TLR-4'ü aktive eder. CD14, MD-2 ve LBP, birlikte TLR-4'ün hücre yüzeyindeki işlevsel kompleksini oluşturur. Bu moleküllerden herhangi birinin eksik olduğu farelerde LPS'ye karşı immün yanıtın azaldığı gözlemlenmiştir (Yaman, 2009). LPS, TLR4'e bağlandığında, NF- κ B ve MAPK yollarını aktive ederek proinflatuar mediyatörleri kodlayan genlerin transkripsiyonuna yol açar (Chen vd., 2022).

1.3.2. Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B)

Çevresel stres faktörlerine maruz kalındığında, hücrelerde gen ifadesinde artış gözlemlenir. Bu süreçte, özellikle Rel/NF- κ B protein ailesi, en iyi bilinen ve en önemli düzenleyici faktörlerden biridir. NF- κ B ailesi, inflammatuar ve immün yanıtların kontrolünde kritik bir rol oynar. Bu protein ailesi, DNA'ya dimerler halinde bağlanabilen ve hücre içi lokalizasyonları ile aktiviteleri düzenlenen yapısal olarak ilişkili bir grup proteinden oluşur. NF- κ B ailesinin üyeleri genellikle DNA'ya bağlanabilen homodimerler veya heterodimerler oluşturma yeteneğine sahiptir (Legrand-Poels vd., 1998).

NF- κ B transkripsiyon faktörü kompleksinin nükleer ekspresyonu ve buna bağlı biyolojik aktivitesi, I κ B (inhibitör kappa B) adı verilen ankrin bakımından zengin inhibitör proteinler tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir. Bu inhibitör proteinler, NF- κ B kompleksini sitoplazmada tutarak nükleer translokasyonunu ve DNA'ya bağlanma yeteneğini engeller. Özellikle I κ B- α , NF- κ B'nin p50/RelA heterodimeri ile etkileşime girerek kompleksi sitoplazmada hapseder ve DNA bağlama aktivitesini inhibe eder (Legrand-Poels vd., 1998).

NF- κ B aktivasyonu, hücre dışı sinyallere yanıt olarak başlatılır. Bu sinyaller, genellikle ROS üretimi gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla iletilir. Bu sinyalleme sürecinde, I κ B- α proteini fosforilasyona uğrar ve ardından ubiquitinlenir. Ubikitinlenmiş I κ B- α , proteazom tarafından tanınır ve parçalanır. I κ B- α 'nın degradasyonu, NF- κ B kompleksinin serbest kalmasına ve nükleer lokalizasyon sinyallerinin açığa çıkmasına neden olur. Bu durum, NF- κ B'nin nükleusa translokasyonunu, DNA'ya bağlanmasını ve hedef genlerin transkripsiyonunu düzenlemesini sağlar. Bu mekanizma, hücrelerin çevresel stres faktörlerine karşı

uyum sağlamasında ve inflamatuvar ve immün yanıtların koordinasyonunda merkezi bir rol oynar. NF- B yolunun düzenlenmesindeki bozukluklar, çeşitli patolojik durumlarla ilişkilendirilmiştir (Legrand-Poels vd., 1998).

1.4. Sepsis İmmünolojisi

İmmün sistemin patojenik invazyonlara karşı koordineli ve düzenli tepkisine immün yanıt denir (Abbas vd., 2015). Enfeksiyonlara yol açan mikroorganizmalar tarafından başlatılan biyokimyasal değişiklikler, immün sistem tarafından algılanır ve çoğunlukla doğal immün yanıt aracılığıyla savunma mekanizmaları geliştirilir. Konak savunma mekanizması, ilk koruyucu engeli oluşturan doğal (innate) bağışıklık ve edinsel (adaptif) bağışıklık olmak üzere iki ana bileşenden oluşur. Sepsis sürecinde hem doğal hem de edinsel immünitede birlikte etkilenmektedir. Bu etkileşim, immün yanıtın düzenlenmesinde önemli bozukluklara yol açabilmektedir. Özellikle nötrofillerin kemotaksisi bozulabilmekte ve enfeksiyonların ortadan kaldırılmasında kritik rol oynayan ROS ile sitokin üretimi anlamlı düzeyde etkilenebilmektedir (Grailer vd., 2014).

1.4.1. Sepsiste Doğal Bağışıklık Sistemi

Doğal bağışıklık sistemi, doğuştan itibaren mevcut olup nonspesifik bir savunma sağlar. Bu nedenle "doğal" terimiyle ifade edilir. Nötrofiller, monositler/makrofajlar, dendritik hücreler, doğal  ld r c  (NK) hücreler ve kompleman kaskadı doğal bağışıklıkta önemli bir rol oynarlar (Yalın & Gürsoy, 2008). Nötrofiller, fagositoz ve bakterisidal etki uygulamak için enfeksiyon bölgesine göç eder (Kovach & Standiford, 2012); dendritik hücreler antijen sunumu sergiler (Pastille vd., 2010) ve NK hücreleri patojenin spesifik olmayan doğrudan öldürülmesini gerçekleştirir (Giamarellos-Bourboulis, 2014).

Doğal bağışıklık sisteminin ilk savunma hattını fiziksel bariyerlerden epitelyal hücreler oluşturur. Epitelyal hücreler dış ortamdan konağa giriş yapmaya çalışan mikroorganizmaların invazyonunu önlemeye yönelik, hücreler arasındaki sıkı bağlantılar (tight junctions) sayesinde etkili bir fiziksel ve kimyasal bariyer sağlar. Ayrıca, defensinler ve katelisinler gibi bakterisidal etkili antimikrobiyal peptitler üreterek konağu enfeksiyonlara karşı korur (Abbas vd., 2015). Deri ve mukozaların

epitel tabakasının yüzeylerinde antijen reseptörleri taşıyan ve intraepitelyal lenfositler (IELs) olarak adlandırılan T hücreleri bulunur. Bu hücreler, sınırlı çeşitlilikte olup belirli mikroorganizma yapılarının tanınmasında görev alır (Dağdeviren & Ünver Saraydın, 2020). Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda, bakteriyel hücre duvarında bulunan LPS endotel hücrelerini aktive ederek proinflamatuvar sitokin ve kemokin salınımını tetikler. LPS endotel hücrelerinde reseptör ağı aracılığıyla bağışıklık yanıtını başlatır. LPS reseptörü olan TLR4 aktivasyonu yoluyla etkili bir şekilde aktive eder. Bu olay sepsis gibi aşırı inflamatuvar durumların temelini oluşturur. LBP, kanda LPS'yi tanır ve bağlanır. LPS-LBP kompleksi, hücre yüzeyindeki CD14 reseptörüne bağlanır. CD14, LPS'yi TLR4-MD-2 kompleksine iletir. Bu kompleksin tetiklenmesiyle TLR4 aktive olur ve hücre içinde proinflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin salınımı olmak üzere sinyal yollarını başlatır (Yaman, 2009). Ayrıca endotel hücreleri, Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) I ve II, Toll benzeri reseptörler (TLR) 2 ve 4 ekspresyonu yaparak antijen sunan hücreler (ASH) gibi işlev görebilir (İnce vd., 2016).

Nötrofiller, polimorf nükleer lökositler (PNL) olarak adlandırılan ve akut inflamasyonda baskın rol oynayan immün hücrelerdir. Doğal bağışıklık elemanlarından (Nathan, 2006). Enfeksiyona karşı bağışıklık yanıtının ilk aşamasında yer alarak, damar dışındaki doku hasarı bölgelerine hızla ulaşır ve fagositoz yoluyla hücre kalıntıların temizlenmesini başlatırlar (Kovach & Standiford, 2012). Ayrıca, antimikrobiyal proteinleri hücre dışına salgılayarak mikroorganizmaların yok edilmesinde önemli bir rol oynarlar (Czaikoski vd., 2016). Ancak, nötrofillerin dokulardaki yaşam süreleri sınırlıdır ve görevini tamamladıklarında apoptoz ile sonlanırlar (Abbas vd., 2015). Nötrofiller, kandaki en fazla bulunan lökosit türü olup, enfeksiyon durumunda kemik iliğinde nötrofil üretimleri artar. Normalde sayıları 4.000-10.000 hücre/mL düzeyinden bulunan nötrofil sayısı, enfeksiyon varlığında 20.000 hücre/mL'ye kadar yükselebilir. Sepsis durumunda, kemik iliğinden immatür (olgunlaşmamış) nötrofillerin salınımı artar ve bu hücrelerin apoptoz süreçleri gecikir. Bu kontrolsüz nötrofil artışı, inflamasyonun uzamasına ve bağışıklık sisteminde disfonksiyon gelişimine yol açar. Sonuç olarak,

sepsise neden olan patojenden bağımsız olarak, hastane kaynaklı sekonder enfeksiyon gelişme riski artar (Delano vd., 2011).

Dolaşımdaki fagositik hücrelerden bir diğeri monositlerdir. Kandaki yoğunlukları nötrofillerden düşük sayıda olup mililitrede 500 ile 1000 arasında değişmektedir (Abbas vd., 2015). Monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler patojenleri fagosite ederler. Damar dışı dokulara göç ettiklerinde ASH fonksiyonu olan makrofaj ve dendritik hücrelere farklılaşırlar. Makrofajlar, yangıyı stimüle eden sitokinlerin üretimi, fagositoz, doku onarımı ve nekrotik dokuların temizlenmesi gibi immün yanıtın önemli süreçlerinde görev alırlar. Sepsisin erken evresinde, makrofajlar çok sayıda proinflatuar faktör ve kemokin salgılayarak inflamatuar yanıtı şiddetlendirirler (Lauvau vd., 2015; Hamidzadeh vd., 2017).

Sepsisin geç evresinde makrofajların aşırı apoptozu bağışıklık disfonksiyonuna ve organ hasarına yol açar (Winkler vd., 2017; Wang & Deng, 2008). Sepsis sürecinde görev alan bağışıklık hücreleri arasında, makrofajlar hem yaygın bulunmaları hem de immün yanıtın düzenlenmesinde ve inflamasyonun kontrolünde oynadıkları merkezi rol nedeniyle öne çıkar (Qiu, 2019). Makrofajlar, erken evrede patojenlerin tanınması ve ortadan kaldırılmasında aktifken, geç evrede immün sistemin kontrolsüz baskılanmasına katkıda bulunabilirler. Bu nedenle, sepsis tedavisinde makrofajların işlevsel durumunu izlemek ve gerektiğinde bağışıklık yanıtını yeniden dengelemek, hastalığın seyrini değiştirebilecek kritik bir müdahale alanıdır.

Doğal bağışıklık sistemi hücrelerden bir diğeri de doğal öldürücü (NK) hücrelerdir. NK hücreleri lenfositler sınıfına dahildir ve periferik lenfoid organlardaki lenfosit popülasyonunun yaklaşık %10'unu oluştururlar (Abbas vd., 2015). NK hücreleri, enfekte hücreleri veya tümör hücrelerini MHC I Moleküllerinin Eksikliği ile tanır. Sağlıklı hücreler, yüzeylerinde MHC sınıf I (Major Histocompatibility Complex class I) molekülleri taşır. NK hücreleri, bu MHC I moleküllerini tanıyan inhibitör reseptörlere sahiptir. Enfekte veya tümörleşmiş hücreler MHC I molekülü taşımazlar ve NK hücresi o hücreyi hedef alır. Enfekte hücreler tarafından aktive edilen NK hücreleri, sitoplazmik perforinleri ile granüllerini hedef hücrelerle yönlü olarak boşaltır. Bu granüllerde bulunan proteazlar, enfekte hücrelerin içine girerek apoptozu başlatan enzimleri aktive eder ve enfekte hücrelerin ölümüne neden olur

(Abbas vd., 2015). Ayrıca, aktif NK hücreleri makrofajların etkinliğini artıran interferon-gamma (IFN- γ) salgılar. IFN- γ , immün sistemi düzenleyen ve bağışıklık yanıtını modüle eden önemli bir sitokindir. NK hücrelerinin sepsisteki rolü net değildir. NK hücre disfonksiyonunun sepsis nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu belirsizdir. NK hücrelerinin aşırı aktivasyonu, sepsis kontrolünde etkili bir mekanizma olabileceği gibi, patolojik durumların bir sonucu da olabilir (Gül vd., 2017; Kumar, 2019). Sepsisin geç evrelerinde, T ve NK hücrelerinin apoptozda artış ve sayısında azalma gözlenir. Bu durum, IFN- γ üretiminde azalmaya ve sekonder enfeksiyonlara yol açabilir (Otto vd., 2011; Hotchkiss vd., 2013). NK hücrelerinin sepsisteki rolü, PAMP'ları tanıyan TLR'ler ve NCR'ler (Natural Cytotoxicity Receptors; doğal sitotoksik reseptörleri) aracılığıyla karmaşık bir hal alır (Souza-Fonseca-Guimaraes vd., 2012; Athie-Morales vd., 2008; Chalifour vd., 2004). Enfekte ya da hücrel stres altındaki hücreler, yüzeylerinde doğal sitotoksik reseptör ligandlarını eksprese eder. NK hücreleri, bu ligandları yüzeylerinde bulunan aktivatör reseptörler olan NCR'ler aracılığıyla tanır ve anormal hücreleri hedef alarak sitotoksik yanıt oluşturur. TLR-4, Gram-negatif bakterilerdeki LPS'yi tanır ve NK hücrelerinde düşük seviyelerde eksprese edilir. LPS ile aktive edilen NK hücreleri, IFN- γ üretir (Kanevskiy vd., 2013).

1.4.2. Sepsiste Kazanılmış Bağışıklık Sistemi

Kazanılmış immünite, adaptif, edinsel veya özgül immünite olarak adlandırılır. Edinsel immünite hücreleri B ve T lenfositlerinden oluşur. Patojene karşı savunmayı sağlamak için lenfositlerin çoğalması ve farklılaşması gereklidir (Abbas vd., 2015). Bu nedenle edinsel immünite, yavaş gelişmekle birlikte, antijen reseptör fonksiyonuna sahip lenfositler aracılığıyla özgüllük gösterir. Bellek hücreleri sayesinde aynı veya benzer ajanlarla tekrar karşılaşıldığında daha yoğun bir immün yanıt oluşur (Yalçın & Gürsoy, 2008). Lenfositler, antijen reseptörü fonksiyonları aracılığıyla hem mikroorganizmaların ürettiği patojenik maddeleri hem de enfeksiyona yol açmayan ajanları tanıyabilirler (Abbas vd., 2015). Edinsel immün sistemin temel mekanizması, lenfosit aktivasyonu, antikör ve efektör hücre üretimi ve uyaran organizmanın eliminasyonunu içerir (Abbas vd., 2015).

Edinsel immünite, hümmoral ve hümmesal immüniteden oluşur. B lenfositler hümmoral bağışıklığı düzenler ve antikor üretebilen tek hücre grubudur. Protein, polisakkarit, lipid ve nükleik asit gibi çeşitli makromolekülleri tanırlar. T lenfositler ise hümmesal immüniteden sorumlu olup, sadece konak hümmelerinin özel peptit sunum molekülleeri aracılığıyla gösterdiği protein antijenlerin peptid parçacıklarını tanırlar. $CD4^+$ T hümmelerleeri (Th; yardımcı T hümmelerleeri) ve $CD8^+$ T hümmelerleeri (Tc; sitotoksik T hümmelerleeri) olarak iki alt gruba ayrılır. Th hümmelerleeri B hümmere farklılaşmasından, antikor üretiminden, sitotoksik T hümmere aktivasyonundan ve monosit stimölasyonundan sorumludur. Aktive $CD4^+$ T lenfositler tarafından salgılanan sitokinler, B hümmelerleerinin büyüme ve farklılaşma süreçlerini düzenleyerek, yüksek afiniteli antikor üreten plazma hümmelerleerinin oluşumunu destekler (Yalçın & Gürsoy, 2008). Tc hümmelerleeri ise hümmere içi patojenleri barındıran konak hümmelerleerini yok ederler (Abbas vd., 2015).

Sepsiste doğal immünitenin antijen sunumu ve sitokinsel uyarımıyla ile lenfositler aktive olur. Antijen uyarımı ile ASH'ler üzerinde bulunan MHC II molekülleerinin hümmere yüzeyindeki ekspresyonu artar. Böylece $CD4^+$ lenfositler uyarana ve çevresindeki sitokinelere göre Th1, Th2, Th3, Th9, Th17, Th22 ve T foliküler helper (Tfh) kutuplaşmalar gösterebilir (Gutcher & Becher, 2007). Düzenleyici T lenfositler (Treg; Regölaturar T lenfositleri) gibi özelleşmiş Th hümmelerleeri aşırı immün yanıtı kontrol altına alarak konak hasarını önler (Gutcher & Becher, 2007). Treg hümmelerleeri inatçı uyarılarda antijene özgü olarak aşırı çoğalmalarını önler. Çoğalmış olan hümmelerleerin de normalde patojenin eliminasyonundan sonra sistemden apoptotik olarak uzaklaşmalarına yardımcı olur. Sepsiste Treg diğler T lenfositleri baskılayarak konağın zarar görmemesi için aşırı inflamasyonu engeller. Bazı durumlarda da Treg hümmelerleerinin kendisi apoptoza dirençli hale gelir ve diğler T lenfositlerin disregölasyonuna yol açarak uzamış enfeksiyonların gelişmesine neden olabilir (Wu vd., 2013).

Sepsisin önemli komplikasyonlarından lenfosit apoptozundaki artışa bağlı gelişen lenfopenidir. Lenfopeni, sepsis sonrası ilk yıl içinde viral reaktivasyon, hastaneye yeniden başvuru oranlarında artış, artmış antibiyotik kullanımı, sağlık harcamalarında artma ve mortalite ile ilişkilendirilmektedir (Benjamim vd., 2005; Hotchkiss vd., 2013; Boomer vd., 2011). İmmün hümmere sayısının azalması veya hümmelerleerin işlevlerini yerine getirememesi immünsüpresyon gelişimine neden

olmaktadır. Bu apoptoz, dalak, timüs ve lenf nodları gibi lenfoid dokularda belirgin şekilde küçülme olarak gözlenmekte ve sepsisteki immünsüpresyonun esas göstergelerindendir (Chang vd., 2007). Sepsisin geç evresinde uzun süreli uyarım vücut hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini aktive ederek adreanal bezlerden kortizol salgılanır. Kortizol, hücre içine girdikten sonra glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak nükleusa taşınır ve burada proinflamatuvar genlerin transkripsiyonunu baskılayarak immun yanıtın düzenlenmesinde rol oynar. Gözlemlenen immünsüpresyon sonucu bağışıklık hücrelerinde işlev bozukluğu meydana gelir ve enfeksiyonlara açık bir durum oluşur. Lenfosit yorgunluğu olarak adlandırılan bu durum lenfositlerin patojenleri ortadan kaldırma ve sitokin salgılama yeteneklerinde azalmayla karakterizedir. Yorgun hücreler, inhibitör hücre yüzey reseptörlerini up-regüle eder. Bu reseptörlerden en bilinenleri CD152 ile programlı hücre ölümü 1 (PD-1; Programmed Cell Death Protein 1)'dir. PD-1 uyarılması, T hücre yanıtını baskılar (Jin vd., 2011). Sepsisle ilişkili immünsüpresyon gelişiminde Treg hücrelerinin de katkısı bulunmaktadır. Sepsisli hastalarda artan Treg hücreleri, efektör T hücrelerinin, monositlerin ve makrofajların fonksiyonlarını baskılamaktadır (Scumpia vd., 2007). Sepsisin geç evresinde gözlemlenen immünsüpresyon, konağın sekonder enfeksiyonlara karşı duyarlı hale gelmesine ve mortalitenin artmasına neden olur (Halaçlı, 2021). Bunun nedeni çok sayıda bağışıklık hücresinin apoptoza uğraması ve makrofajların T hücrelerinin apoptozunu hızlandırarak bağışıklık fonksiyonunun bozulmasına katkıda bulunması olabilir (Luan vd., 2014). Ayrıca, makrofajların fenotipik değişiklikleri, antijen sunumunun azalması ve anti-inflamatuvar faktörlerin salgılanmasının artması yoluyla makrofaj deaktivasyonu ve endotoksin toleransı gelişmesi bir diğer neden olabilir (Lee & Zeldin, 2015; Kumar, 2018).

Septik şokta B hücre sayısında belirgin bir düşüş gözlenmekte ve bu durum mortalite ile ilişkilendirilmektedir. Bu azalmanın temel nedenleri olarak T hücre desteğinin yetersizliği, mitokondriyal apoptozun artışı, MHC II ekspresyonunda azalma ve IL-10 salınımindaki artış gösterilmiştir (Monserrat vd., 2013). T lenfosit uyarımındaki eksiklik, B hücrelerinin olgunlaşmasını ve fonksiyonel aktivitelerini bozarak özellikle hafıza B hücre popülasyonunda kayba neden olmaktadır. Bu durum, sepsis sonrası iyileşen hastalarda uzun dönemde sekonder enfeksiyonlara

karşı artan yatkınlıkla sonuçlanmaktadır (Sjaastad vd., 2018). Ayrıca, ileri yaştaki sepsis hastalarında immünoglobulin M (IgM) üretiminin azalması, fırsatçı patojenlere karşı savunma mekanizmalarının zayıflamasına ve enfeksiyon riskinin artmasına neden olabilmektedir (Rauch vd., 2012).

1.5. Sepsis ve Sitokinler

Sitokin çağının başlangıcı, genellikle 1960'ların sonlarında lenfosit kaynaklı aracı moleküllerin veya "lenfokinlerin" tanımlanmasıyla ilişkilendirilse de, 1951 yılında sinir büyüme faktörü (NGF) ve 1955 yılında interferonların keşfi ile bu alanlardaki temellerin çok daha eski tarihlere dayandığını göstermektedir (Dumonde vd., 1969; David, 1966; Levi-Montalcini & Hamburger, 1953). Farklı zamanlarda keşfedilen farklı alanlardaki bu polipeptit düzenleyici faktörlerin (immünoloji (interlökinler), virolojinin (interferonlar), hematolojinin (koloni uyarıcı faktörler (CSF)) ve hücre biyolojisinin (peptit büyüme faktörleri)) hepsi genel olarak "sitokin" terimi altında sınıflandırılmıştır (Cohen vd., 1974).

Sitokinler, moleküler ağırlıkları 8 ile 40 kDa arasında değişen, küçük ve yapısal olmayan proteinlerdir. Başlangıçta lenfokinler ve monokinler olarak adlandırılan bu moleküllerin, neredeyse tüm çekirdekli hücreler tarafından sentezlenebildiği ve bu hücreler tarafından yanıt verilebildiği anlaşıldıktan sonra, "sitokin" terimi daha kapsayıcı ve uygun bulunmuştur (Dinarello, 2000). Yunanca kytos "boşluk, hücre" ve kines "hareket" kelimenin birleşmesiyle hücre hareketi veya hücreler arası iletişimi ifade eder (Kaur & Ghorai, 2022). Sitokinler, enfeksiyon veya patolojik durumlara karşı konak savunma yanıtlarında kritik rol oynarlar. Hücre proliferasyonu ve farklılaşmayı hem uyarıcı hem de inhibe edici şekilde düzenleme kapasitesine sahiptirler. Sıklıkla hormonlara benzetilirler ancak iki molekül grubu arasında belirgin farklar bulunmaktadır. Hormonlar genellikle özelleşmiş dokular tarafından sürekli olarak ifade edilirken, sitokinler neredeyse tüm hücre tipleri tarafından üretilebilir ve pikomolar/nanomolar düzeylerinde salgılanırlar (Dinarello, 2000). Ayrıca, hormonlar homeostatik kontrol mekanizmalarına yanıt olarak salgılanırken, sitokinler patojenik veya zararlı uyarılar tarafından özel olarak tetiklenmedikçe üretilmezler. Kısaca, sitokinler genellikle sağlıklı bireylerde üretilmeyen ve stres koşullarına yanıt olarak ortaya çıkan gen ürünleri kaskatıdır.

Ultraviyole ışık, ısı şoku, hiperozmolarite veya yabancı yüzeylere yapışma gibi hücrel stres faktörleri, sitokin gen ekspresyonunu uyarabilir. Bu süreçte, mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'ler) gibi transkripsiyon faktörlerini fosforile eden sinyal yolları aktive olur. Sonuç olarak, sitokinler strese yanıt olarak üretilirken, hormonlar homeostazın sürdürülmesi için rutin olarak salgılanmaktadır (Dinarello, 2000).

Sitokinler, biyolojik aktivitelerine göre proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler olmak üzere iki ana gruba ayrılır (Özkanlar, 2011) (Tablo 4). İnflamatuvar süreçleri başlatan veya destekleyen sitokinler proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırken, bu süreçleri baskılayan veya inflamasyonun şiddetini azaltan sitokinler anti-inflamatuvar sitokinler olarak sınıflandırılır.

Sepsis homeostazı ciddi şekilde etkileyen bir durumdur. Enfeksiyon veya enfeksiyon dışı nedenlerle gelişen aşırı ve yıkıcı sistemik yanıt; Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) proinflamatuvar sitokinlerin sistemik etkisiyle karakterizedir. Akut Faz Yanıtı (AFY) vücudun bu tür inflamatuvar süreçlere karşı verdiği erken sistemik cevaptır. Genellikle SIRS ile birlikte gözlenir, bu süreçte proinflamatuvar sitokin düzeyleri artar ve karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezi gerçekleşir. Ancak inflamatuvar yanıtın şiddetli ya da uzun süreli olması durumunda, dengeyi sağlamak için akut faz yanıtını baskılayan anti-inflamatuvar yanıt; Kompansatuvar Anti-inflamatuvar Cevap Sendromu (CARS) devreye girer. CARS SIRS'ı takip eden veya bağımsız olarak gelişen bir süreç olup, aşırı inflamasyonu kontrol altına almak amacıyla anti-inflamatuvar sitokinlerin salınımıyla karakterizedir. Bu yanıt, proinflamatuvar sitokinlerin salınımı baskılanır ve otofaji mekanizmaları aracılığıyla hücrel hasarı sınırlamayı hedefler (Gilroy & Vallance, 2005). PAMP ve DAMP'ların lizozomal degradasyonla ortadan kaldırılması inflamasyonu azaltır (Rittirsch vd., 2008). Ancak CARS'ın aşırı veya yanlış zamanlanmış aktivasyonu, konak organizmayı fırsatçı patojenlere karşı savunmasız hale getirerek sekonder enfeksiyon riskini artırabilir. Bu durum, Miks Antagonist Cevap Sendromu (MARS) olarak adlandırılan ve doğal immünitenin disfonksiyonu ile kazanılmış immünitenin baskılanmasıyla karakterize organ yetmezliği ve ölüm ile sonuçlanabilen karmaşık bir klinik tablodur (Munford & Pugin, 2001).

Proinflammatuar sitokinlerin üretimi, inflamasyon sırasında up-regüle edilen küçük mediatör moleküllerin sentezini kodlayan genlerin aktivasyonuna bağlıdır. Bu genler arasında tip II fosfolipaz A2 (PLA2), siklooksijenaz-2 (COX-2) ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) bulunur. Bu genler, trombosit aktive edici faktör (PAF), lökotrienler, prostanooidler ve NO sentezini artıran enzimleri kodlar. Proinflammatuar etki gösteren bir diğer gen grubu ise, lökositlerin dolaşımdan dokulara geçişini kolaylaştıran küçük peptitler olan kemokinlerdir (Dinarello, 2000). Proinflammatuar sitokinlerin blokajı ya da eliminasyonunun bazı hayvan modellerinde sepsise karşı koruyucu etkiler sağladığı gösterilmiştir (Wiersinga vd., 2014).

Tablo 4. Bazı proinflammatuar ve anti-inflamatuar sitokinler (Özkanlar, 2011)

Proinflammatuar Sitokinler	Anti-inflamatuar Sitokinler	Çift Etkili Sitokin
IL-1	IL-4	IL-6
IL-8	IL-10	
IL-12	IL-13	
IL-17	TGF- β	
TNF- α		
IFN- γ		

1.5.1. Tümör Nekroz Faktörü alfa (TNF- α)

Sepsis patogeneğinde en önemli proinflammatuar sitokinler TNF- α , IL-1 β , IL-12 ve IL-18 olarak kabul edilir (Wiersinga vd., 2014). TNF- α , iki yüzeyel hücre reseptörü üzerinden etkilerini gösterir: TNF R1 (p55) ve TNF R2 (p75). TNF p55 reseptörüne bağlanınca bir adaptör protein sayesinde kaspaz aktivasyonunun yanı sıra transkripsiyon faktör aktivasyonu olur. Apoptoz ve inflammatuar yanıtların başlatılmasına yol açabilir (Dinarello, 2000).

TNF R2 (p75) reseptörü ise NF- κ B ve Activator Protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikler (Uygur Külcü, 2009). Her iki reseptör de ligand bağlandığında homotrimer yapılar oluşturur, ancak aktivasyon sonrası hücresel yanıt reseptörün türüne göre değiştiğinden farklı kinazların alınmasına yol açar (Dinarello, 2000). TNFR1'e bağlanmayı takiben, hücrede iki ana kompleks formasyonu meydana gelir. İlk oluşan Kompleks I, TNFR1 ile ilişkili ölüm domeni (TRADD), reseptör etkileşimli protein kinaz 1 (RIPK1), TNF reseptör ilişkili faktör 2 (TRAF2) ve hücresel inhibitör apoptoz proteinleri (cIAP1/2) gibi adaptor

proteinleri içerir. Bu kompleks, NF- κ B ve aktivasyon proteini-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek hücre sağkalımını destekleyen ve proinflamatuvar yanıtı artıran genlerin ekspresyonunu uyarır (Micheau & Tschopp, 2003). Buna karşın, NF- κ B aktivasyonu başarısız olduğunda veya inhibe edildiğinde, alternatif olarak Kompleks II oluşur. Bu kompleks, Fas ile ilişkili ölüm domeni (FADD) ve kaspaz-8 gibi ölüm sinyal moleküllerinin rekrutmanı ile karakterizedir. Bu yapı, hücre içi ölüm sinyallerinin baskın gelmesiyle apoptozun başlamasına yol açar (Aggarwal, 2003). TNF- α , inflamasyonun birincil mediatörüdür (Strieter vd., 1993). TNF- α , başlıca mononükleer fagositler tarafından üretilen 17 kDa boyutunda bir proteindir ve hedef hücreler üzerinde çok yönlü etkilere sahiptir (Chapman vd., 1987). TNF- α , endotoksin tarafından hızla indüklenebildiği, infüzyon sonrası sepsis benzeri bir duruma neden olduğu, diğer mediatörlerin üretimini aktive edebildiği ve klinik sepsisli hastalarda yükseldiği için sepsiste merkezi bir mediatör olarak kabul edilmektedir.

TNF- α , apoptozu indükleyebilen bir sitokin olup, aşırı üretimi ateş, inflamasyon, doku yıkımı ve bazı durumlarda şok ve ölüme yol açabilir. Sinerjik olarak IL-1 ile birlikte inflamatuvar mediatörlerin kaskadını başlatır. Adhezyon molekülleri (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin), sitokinler ve kemokinler (IL-6, IL-8, MCP-1), akut faz proteinleri (CRP, serum amyloid A), iNOS, COX-2 ve matris metalloproteinazlar (MMP'ler) gibi çeşitli gen ürünlerinin ekspresyonunu tetikler. Bu gen ürünleri, inflamasyonu, hücre göçünü ve doku hasarını tetikler ve sepsis gibi sistemik inflamatuvar yanıt sendromlarında aşırı üretimleri ciddi doku hasarına yol açar (Dinarello, 2000). TNF- α , inflamatuvar yanıtı koordine etmede ve sitokin kaskadını aktive etmede önemli bir role sahiptir. TNF- α , sepsisli birçok hastanın plazmasında tespit edilebilir ve bu maddelerin konsantrasyonları genellikle hastalığın şiddetini yansıtır. Yapılan çalışmalar, TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-2 gibi sitokinlerin seviyelerinin sepsis veya diğer şok nedenlerine sahip hastalarda, farklı hastalıklara sahip hastalara kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir (Endo vd., 1994). Meningokoksemi nedeniyle ölen 11 hastanın 10'unda yüksek serum TNF- α konsantrasyonları olduğunu, buna karşılık hayatta kalan 68 hastanın yalnızca 8'inde benzer yükselmeler olduğunu bildirilmiştir (Waage vd., 1987). Sepsis hastalarında plazma sitokin ve endotoksin düzeylerinin hayatta kalma ile ilişkisi incelendiğinde,

TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve LPS düzeylerinin sepsis olmayan yoğun bakım hastalarına kıyasla yüksek olduğu ve hasta sağkalımı ile korelasyon gösterdiği ancak TNF- α konsantrasyonunun mortaliteyi bağımsız olarak öngörmediği bildirilmiştir (Casey vd., 1993).

In vitro çalışmalarda, TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi diğer sitokinlerin güçlü bir indükleyicisidir. *E.coli* enjekte edilen babunlarda, TNF- α antikorları ile tedavi, IL-1, IL-6 ve IL-8 üretimini azaltmanın yanı sıra morbidite ve mortaliteyi de düşürmüştür (Taylor vd., 2011). LPS enjeksiyonuyla indüklenen insan ve hayvan sepsis modellerinde, TNF- α üretimi hızla aktive olur ve plazmada tespit edilebilir. Sağlıklı gönüllülere *E.coli* endotoksin infüzyonunun TNF- α düzeyini önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Michie vd., 1988). Endotoksin infüzyonundan 60-90 dakika sonra TNF- α konsantrasyonları önemli derecede artmıştır (Calvano vd., 2005). Rekombinant TNF- α 'nın ileri evre kanser hastalarına infüzyonu, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ile sonuçlanmış ve ateş, hemodinamik bozukluklar, lökopeni, karaciğer enzimlerinde yükselme ve koagülopati gibi belirtilere neden olmuştur (Chapman vd., 1987; Selby vd., 1987).

1.5.2. İnterlökin-10 (IL-10)

Anti-inflamatuvar sitokinler, vücudun pro-inflamatuvar sitokinlerin neden olduğu ciddi doku hasarı ve inflamatuvar süreçlerden korunmasında kritik bir rol oynar. Ancak, bu sitokinlerin aşırı üretimi, konakçı bağışıklık sisteminin baskılanmasına ve hatta ölümcül sonuçlara yol açabilmektedir (Wang vd., 2006). Bu bağlamda, IL-10 immün sistemin düzenlenmesinde merkezi rol oynayan ve çeşitli immün hücrelerce salgılanan pleotropik bir sitokin olarak öne çıkmaktadır. Granülositler, dendritik hücreler, makrofajlar, B hücre ve T hücreleri gibi farklı hücre tipleri tarafından üretilen IL-10, immünomodülatör ve anti-inflamatuvar etkileriyle bilinmektedir (Peng vd., 2021; Dinarello, 2000).

IL-10, bağışıklık sisteminin ısrarlı ve uzun süreli uyarımlarında Th1 hücreleri ve monositler tarafından sitokin üretiminde immün baskılayıcıdır. Özellikle hücre aracılı immün yanıtlar üzerinde güçlü bir düzenleyici etkiye sahiptir (Oppenheim, 2001). Bu sitokin, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini dolaylı olarak baskılayarak, inflamatuvar süreçlerin kontrol altına alınmasına katkıda bulunur. Ayrıca, otoimmün

bozuklukların patofizyolojisinde de önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (El-Ali vd., 2021; Dai vd., 2020; Shao vd., 2020). IL-10'un immünomodulator etkileri, bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonunu önleyerek, homeostazın korunmasına yardımcı olur. Bununla birlikte, Epstein Barr Virüsü (EBV) gibi patojenler, IL-10'un homologlarını üreterek konakçı immün yanıtını baskılayabilir ve hedef hücrelerin proliferasyonunu teşvik edebilir (Oppenheim, 2001).

IL-10, başta Th1, Th2 ve CD8+ T hücreleri olmak üzere, B hücreleri ve monositler tarafından da üretilir (Oppenheim, 2001). Bu çeşitlilik, IL-10'un immün sistemin farklı bileşenleri üzerindeki etkilerini anlamayı önemli kılmaktadır. Özellikle sepsis patogeneğinde IL-10'un rolü, bu sitokinin immün sistem üzerindeki geniş kapsamlı etkilerini ortaya koymaktadır. Sepsis sırasında, IL-10 T hücrelerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe ederken, aktive olmuş monositler tarafından salınan pro-inflamatuvar faktörlerin de baskılanmasına katkıda bulunur (Mao vd., 2016). Bu süreçte, IL-10, inflamatuvar yanıt sırasında salınan proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler gibi mediatörlerin düzenlenmesinde, ayrıca inflamatuvar süreçte görev alan polimorfonükleer lökositlerin aktivitesinin kontrolünde kritik bir rol oynar.

IL-10'un immün yanıt üzerindeki etkileri oldukça kapsamlıdır. Antijen sunan hücrelerdeki CD40, CD80/CD86 ve MHC II gibi anahtar sinyal reseptörlerinin aşağı regülasyonu, Mac-1 ekspresyonunun azaltılması ve nötrofil oksidatif patlamasının inhibisyonu, IL-10'un immün baskılayıcı etkilerine örnek olarak verilebilir (Kasten vd., 2010). Ayrıca, IL-10, T hücre proliferasyonunu ve IL-2, IL-6 ve IFN- γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ederken, düzenleyici T hücrelerinde FoxP3 ekspresyonunu sürdürerek immün toleransın korunmasına katkıda bulunur. Bununla birlikte, NK hücre fonksiyonlarının inhibisyonu da IL-10'un immünomodulator etkileri arasında yer alır.

Sepsis hastalarında, aşırı sitokin üretimi ciddi klinik sonuçlara yol açabilir. IL-10, bu aşırı sitokin üretiminin olumsuz etkilerini hafifleterek, sepsis patogeneğinde koruyucu bir rol oynayabilir (Kasten vd., 2010). Bu nedenle, IL-10'un sepsis gibi kritik durumlarda immün sistemin dengelenmesindeki rolü, klinik açıdan büyük önem taşımaktadır.

1.6. Sepsis ve Biyobelirteçler

Sepsis, yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahip ciddi bir klinik durumdur (Angus vd., 2001). Bu nedenle sepsis tanısının hızla konulması ve erken tedavi, sağkalım açısından kritik önem taşımaktadır. Tedavinin ilk saati "altın saat" olarak adlandırılmakta olup, bu dönemde enfeksiyon odağının tespiti ve etken mikroorganizmanın saptanması gerekmektedir. Sepsis tanısı, klinik değerlendirmelerle birlikte lökosit sayımı, inflamatuvar belirteçler ve kan kültürü sonuçlarına dayanarak konulmaktadır. Ancak kan kültürü sonuçlarının uzun sürede elde edilmesi ve duyarlılığının düşük olması, patojen tespitini zorlaştırmaktadır (Singer vd., 2016). Tanı sürecinin hızlandırılması ve tedavinin doğru yönlendirilmesi amacıyla çeşitli biyobelirteçler üzerinde çalışmalar yürütülmektedir. Sepsis klinik özellikler, enfeksiyon odağı, sorumlu patojen, organ disfonksiyonunun ortaya çıkış şekli ve altta yatan hastalıklara göre farklılık gösterebilmektedir. Bununla birlikte, sepsiste heterojen bir hasta grubunun olması ve patogeneizde farklı biyolojik yollardan orjinlenmesi nedeniyle, henüz yeterli tanısal doğruluk sağlayan bir biyobelirteç geliştirilememiştir.

Sepsis patogenezinin anlaşılması ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde biyobelirteçler önemli bir rol oynamaktadır. Ancak sepsis biyobelirteçlerinin değerlendirilmesinde çeşitlilik gözlenmektedir (Er & Ortaç Ersoy, 2021). Sepsis tanısında kullanılan biyobelirteçlerin yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması ve inflamasyon, organ disfonksiyonu ile şokun enfeksiyon kaynaklı olup olmadığını ayırt edebilmesi gerekmektedir (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Biyobelirteçler, sepsise özgü olmamakla birlikte, sepsis hastalarında diğer hastalara veya sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı düzeyde değişim gösterebilmektedir (Er & Ortaç Ersoy, 2021). Literatürde sepsiste en fazla çalışılan biyobelirteçler C-reaktif protein (CRP), prokalsitonin (PCT), interlökin-6 (IL-6), presepsin ve CD64'tür (Pierrakos vd., 2020).

CRP, 1930 yılında keşfedilmiş ve akut faz reaktanı olarak tanımlanmıştır. Enfeksiyon veya inflamasyon gibi durumların erken bir göstergesi olarak uzun yıllardır klinik pratikte kullanılmaktadır (Clyne & Olshaker, 1999). Hepatositler tarafından sentezlenen ve yaklaşık 118.000 dalton moleküler ağırlığa sahip olan bu pentamerik protein, enfeksiyon veya doku hasarı gibi inflamatuvar uyaranlara yanıt

olarak üretilir. CRP üretimi, IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinler tarafından uyarılır (Clyne & Olshaker, 1999).

Sağlıklı bireylerde CRP düzeyleri genellikle 10 mg/L'nin altındayken, inflammatuar veya enfeksiyöz durumlarda hızla yükselir. İnflamatuar uyarının başlamasından sonraki ilk 6-8 saat içinde artmaya başlar ve yaklaşık 48 saat içinde 350-400 mg/L pik değerlerine ulaşabilir (Clyne & Olshaker, 1999).

CRP, inflammatuar süreçlerde birçok biyolojik işlev üstlenir. Lesitin, lizolesitin ve sfingomiyelin gibi fosfolipitlere, ayrıca bakteri, parazit ve mantarların hücre duvarında bulunan polisakkarit ve peptidoglikanlara kalsiyum bağımlı şekilde bağlanır (Clyne & Olshaker, 1999). Bu bağlanma patojenlerin tanınması ve eliminasyonunda önemli bir rol oynar. Ayrıca CRP, C1qrs'e bağlanarak komplemanın klasik yolunu aktive eder ve fagositik hücrelerin fonksiyonlarını modüle eder (Clyne & Olshaker, 1999).

Sepsis hastalarında serum CRP düzeyleri belirgin şekilde artar ve etkili tedaviyle birlikte düşüş eğilimi gösterir. Tedavi sürecindeki dinamik değişim, özellikle antibiyotik başlanmasından sonraki ilk 48 saatte, tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesine yardımcı olabilir (Povoa vd., 2011). Ancak, CRP düzeylerinin sepsis dışı inflammatuar durumlarda da yükselebilmesi, bu biyobelirtecin sepsis tanısında tek başına kullanımını sınırlandırmaktadır (Simon vd., 2008; Luzzani vd., 2003; Park vd., 2014). CRP, yaygın şekilde kullanılan bir belirteç olmasına rağmen özgüllüğünün düşük olması ve inflammatuar yanıtı geç yansıtması nedeniyle sınırlı tanısal değere sahiptir (Lijmer vd., 1999). Bu nedenle, sepsis tanısında CRP'nin diğer biyobelirteçlerle birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir. Prokalsitonin (PCT), presepsin ve interlökinler gibi belirteçlerin CRP ile kombinasyonu, tanısal doğruluğun artması, antibiyotik tedavisinin yönlendirilmesi ve tedavi süresinin kısaltılmasında önemli bir rol oynayabilir (Jamsa vd., 2018; Liu vd., 2015; Wacker vd., 2013; de Jong vd., 2016). Ventilatör ilişkili pnömoni (VAP) tanısında yedi farklı biyobelirtecin kombinasyonu kullanılarak %89 doğruluk oranına ulaşılmıştır (Grover vd., 2014). Bu tür kombinasyonlar, tek bir biyobelirtecin sınırlamalarını aşarak daha kapsamlı bir klinik değerlendirme sağlar.

1.7. Sepsiste Akciğerler

Sepsisin komplikasyonlarından biri organ disfonksiyonu gelişmesidir. Akciğerler sıklıkla etkilenen organlardan biri olup, şiddetli sepsis hastalarında akut akciğer hasarı (ALI) ve daha şiddetli gelişen akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) en sık izlenen organ disfonksiyonudur. Türkiye’de sepsisle ilişkili enfeksiyon odağının %71,6 oranıyla en sık solunum sistemi olduğu ve en sık izole edilen patojenin %33,7 oranıyla *Acinetobacter spp.* olduğu belirlenmiştir (Baykara vd., 2018). ALI ve ARDS, akciğerlerde hücresel ve sıvısal infiltrasyonun yanı sıra proteinlerin ve eritrositlerin vasküler sızıntısına yol açar. Histopatolojik olarak nötrofilik alveolit, alveolar epitel ve endotelde hasar, hiyalin membran oluşumu ve mikrovasküler trombus ile karakterizedir (Matute-Bello vd., 2008). Akciğer kapillerlerindeki geçirgenliğin artması akciğer interstisyel boşluklarında proteinden zengin ödem sıvısının birikmesine yol açar ve sepsisin indüklediği alveolokapiller membran disfonksiyonu, interstisyel ödem sıvısının alveollere dolmasına neden olur. Sepsis ilişkili akciğer hasarında yaygın bir interstisyel ve alveolar ödem gelişir. Ekstravasküler akciğer sıvısında belirgin bir artış, alveolar epitelin alveolar sıvıyı aktif olarak temizleme yeteneğindeki bozulma ile ilişkili olup, endotelyal ve epitel geçirgenliğindeki artışa bağlıdır (Matthay & Wiener-Kronish, 1990; Schuster & Marklin, 1986; Ware & Matthay, 2001). Kapiller endotel nispeten korunmuşken, alveolo-kapiller membranın epitelinde, sıklıkla hiyalin membranlarla kaplı lokal yıkım ve Tip II epitel hücrelerinde artış görülür. İlerleyen evrelerde epitel yapısında kübik transformasyon ve interstisyumda fibrotik değişiklikler baskındır (Bachofen & Weibel, 1977).

Sepsisin klinik tablosu, patojenin giriş noktası ve mikroorganizmanın türüne bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterebilmektedir. Kan dolaşımına karışan antijenler, başlıca dalak tarafından uzaklaştırılırken, cilt yoluyla giren antijenler ise afferent lenfatik kanallar ve bölgesel lenf nodları aracılığıyla lokal inflamatuvar yanıtı tetikleyebilmektedir (Yalçın & Gürsoy, 2008). Akciğer gibi mukozal yüzeylere sahip organlar söz konusu olduğunda, mukozal antikor üretimi ile immün yanıt başlatılır. Aktive olan lenfositler, daha sonra lenfoid organlara taşınarak sistemik immün yanıtın güçlendirilmesine katkıda bulunur (Shames & Kishiyama, 2006; Dinarello, 1999). Bu süreç, sepsis patogenezinde hem lokal hem de sistemik immün yanıtların

koordinasyonunu vurgulamaktadır. Aşırı proinflatuar yanıt, alveoler makrofajlar ve dolaşımdaki nötrofillerin akciğer parankimine göçünü tetikler. Bu bağlamda nötrofiller, sitotoksik medyatörler, reaktif oksijen türleri (ROS), inflammatuar sitokinler ve patojenlere karşı savunma mekanizması olarak görev yapan nötrofil ekstraselüler tuzakları (NET'ler) salgılayarak doku bütünlüğünü tehdit eder. Alveoler epitelin Tip II pnömositlerinde belirgin hasara yol açmakta, alveol-kapiller bariyerin bütünlüğünü bozarak pulmoner mikrovasküler geçirgenlikte artışa neden olmaktadır. Bunun sonucunda gelişen pulmoner ödem, gaz değişimini engelleyerek hipoksemiye ve solunum yetmezliğine zemin hazırlar. Ayrıca, nötrofillerden ve makrofajlardan salınan oksidanlar ile proteolitik enzimler yalnızca akciğerde değil, sistemik düzeyde de çoklu organ disfonksiyonuna katkıda bulunabilir (Butt vd., 2016).

Patogenezinde, alveollerde gaz değişiminin gerçekleştiği bölgede hava-sıvı arayüzünü koruyan ince yapıdaki alveolo-kapiller membranın bütünlüğünün bozulması önemli bir rol oynamaktadır (Thompson vd., 2017). Sepsis durumunda, akciğerler doğrudan solunum yolu enfeksiyonu ile etkilenebileceği gibi, akciğer enfeksiyonu olmaksızın da etkilenebilmektedir. Sepsisin neden olduğu hasar, pnömoniye bağlı ALI/ARDS'de alveolo-kapiller membranın epitel tabakasından başlarken, ekstrapulmoner kaynaklı sepsiste hasar endotel tabakasından başlamaktadır (Englert vd., 2019). Sepsis patogenezinde proinflatuar sitokinlerin salınımı, nötrofiller, monositler ve endotel hücre aktivasyonu, nöroendokrin reflekslerin katılımı ve kompleman, pıhtılaşma ve fibrinolitik sistemlerin aktivasyonu gibi kompleks bir immün yanıt rol oynamaktadır (Vincent & Abraham, 2006). Kan damarlarının iç yüzeyini kaplayan endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan glikokaliks yapısının bozulmasına, kapiller permeabilite artışına, mikrovasküler disfonksiyona ve sonuç olarak çoklu organ yetmezliğine yol açmaktadır. Akciğerlerde alveoler denüdasyon, bazal membran yıkımı ve alveoler sıvının temizlenme mekanizmasının bozulması solunum yetmezliğine neden olur (Fink & Evans, 2002). Gram negatif bakterilerin yapısında bulunan LPS bakteriyel sepsis ile ilişkili endotel hücre hasarının patogenezinde rol oynamaktadır. Makrofajlar, monositler, dendritik hücreler başta olmak üzere doğal bağışıklık hücrelerinde bulunan Toll Like Reseptörler (TLR4) ve inflammasom proteinleri (NLRP3; NOD-Like Receptor Protein 3), LPS yapısını tanıyarak en önemli hücre içi sinyal iletim

yollarından biri olan NF- κ B sinyal yolunu aktive eder (Wang vd., 2007). Bunun sonucunda NF- κ B çekirdeğe geçer ve proinflamatuvar sitokin ve kemokin genlerinin transkripsiyonu sonucu mRNA sentezlenir. mRNA'lar ribozomlarda proteinlere (sitokinlere) çevrilir. Üretilen sitokinler hücre dışına ekzositoz yoluyla salınarak çevredeki diğer hücreleri etkiler ve inflamasyonu başlatır (Mogensen, 2009). Artan proinflamatuvar yanıt, nötrofil infiltrasyonuna ve alveolo-kapiller membran bütünlüğünü bozarak alveolar ödem ve sürfaktan kaybına yol açar (Englert vd., 2019). Nötrofil aktivasyonu, pulmoner kapillerlerde dar lümen nedeniyle damar içinde mikrovasküler tıkanmalara yol açabilir (Wagner & Roth, 2000). Dolaşımdaki nötrofiller, artmış oksidatif aktivite ve hücre içi transkripsiyon faktörü NF- κ B ekspresyonunun artışı gösterir (Martins vd., 2003). Nötrofiller, patojen temizliğine yardımcı olurlar ancak gecikmiş nötrofil apoptozu ve uzamış nötrofil yanıtı, ALI/ARDS dahil olmak üzere artmış organ hasarı ve azalmış sağkalım ile ilişkilidir (Kangelaris vd., 2015). Sepsiste nötrofil apoptozunun inhibe olması, sistemik enflamasyon, sistemik enfeksiyon, şiddetli sepsis ve çoklu organ yetmezliği riski olan hastalarda gözlemlenir (Martins vd., 2003).

Sepsiste endotel yapısının bozulması, fibrin birikimi, vasküler tıkanma ve dokularda oksijenasyonu engelleyen eksüdaların gelişimi ilk gelişen fizyopatolojik değişikliklerdir. Şiddetli inflamatuvar yanıt, oksidatif stres ve proteolitik enzimlerin neden olduğu glikokaliks harabiyeti, kapiller sızıntıya, hızlandırılmış inflamasyona, trombosit agregasyonuna, pıhtılaşmaya ve vasküler tonus kaybına yol açmaktadır (Becker vd., 2010). Patojen reseptörlerinin tanınması ve proinflamatuvar sitokin salınımı ile başlayan inflamasyon, HMGB-1'in (High Mobility Group Box-1) PRR ailesi tarafından tanınmasıyla güçlendirilir ve inflamasyon daha da şiddetlenerek hücre ve doku hasarını artırır (Hotchkiss vd., 2016). Enfeksiyon sonrası zarar görmüş proteinlerin ve organellerin otofaji ile temizlenmesi, hücresel bağışıklık yanıtını düzenler. Otofaji proteinlerinden yoksun farelerle oluşturulan sepsis modelinde IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin ve mortalite oranlarının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Lee vd., 2017).

1.8. Sepsiste Böbrekler

Sepsiste organ yetmezliğine ilerleyen süreçte, bir patojen veya patojen ürünlerine karşı gelişen kontrolsüz immün yanıt, diğer bir ifadeyle 'sitokin fırtınası', önemli bir rol oynamaktadır. Aşırı inflamatuvar yanıt, endotelial hasara ve doku perfüzyonunun bozulmasına neden olarak organ hasarı ile sonuçlanmaktadır (Fajgenbaum & June, 2020). Organ yetmezliğinin önlenmesi ve gelişen yetmezliğin olumsuz sonuçlarının giderilmesi, hasta sağ kalım oranlarını artırmada kritik öneme sahiptir. Yapılan çalışmalar, mortalitenin en önemli nedeninin organ yetmezliği olduğunu göstermektedir (Halaçlı, 2021). Bu nedenle, konsensus toplantılarında sepsis tanımında organ disfonksiyonu vurgusu ön plana çıkarılmıştır. Sepsiste endotelial bariyerin bozulması, kapiller kaçak, vazomotor tonus kaybı ve mikrovasküler trombus oluşumu gibi patofizyolojik süreçleri tetikleyerek organ perfüzyonunda bozulmaya neden olabilir. Bu süreç, çoklu organ yetmezliği (MODS) ve mortalite ile sonuçlanabilir (Colbert & Schmidt, 2016). Endotel hücre hasarının erken dönemde tespit edilmesi, organ disfonksiyonu ve mortalitenin önlenmesi açısından kritik önem taşır. Akut böbrek hasarı (ABH), önemli morbidite ve mortalite ile ilişkili oldukça heterojen mekanizmalar sonucu ortaya çıkan karmaşık bir sendromdur (Pannu vd., 2013; Wu vd., 2011). ABH, hastaneye yatan hastaların %10-15'inde ve YBÜ hastalarının %50'sinde görülmektedir (Al-Jaghbeer vd., 2018; Hoste vd., 2015). Bu durum, özellikle kritik hastalarda böbrek fonksiyonlarının hızla bozulabildiğini ve ciddi sonuçlar doğurabileceğini göstermektedir.

ABH, glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalma ile karakterizedir. ABH tanısı ve evrelendirilmesinde Böbrek Hastalığı Küresel Sonuçları İyileştirme (KDIGO) 2012 kriterleri kullanılmaktadır. Bu kılavuz, serum kreatinin düzeyi, GFR ve idrar çıkışı gibi parametrelere dayanarak ABH'yi evrelemektedir (Khwaja, 2012). Böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan parametreler kan üre azotu (BUN) ve serum kreatinin (Cr) düzeyleridir. Üre, protein yıkımı sonucu karaciğerde sentezlenir ve böbrekler tarafından atılır. BUN, kan üre miktarının yaklaşık yarısını temsil eder ve normal değeri 5–20 mg/dl veya 1.8–7.1 mmol üre/litre'dir. Protein alımı, endojen protein katabolizması, hidrasyon durumu, hepatik üre sentezi ve renal üre atılımı gibi normal varyasyonlardan dolayı bu aralık oldukça geniştir (Hosten, 1990). Kreatinin ise kas metabolizmasının son ürünüdür ve serum

düzeyi esas olarak kas kütesine bağlıdır. Kas metabolizmasının tek ürünü olması nedeniyle kreatinin, BUN'a kıyasla böbrek fonksiyonunu daha doğru yansıtır (Baum vd., 1975). Normal serum kreatinin düzeyleri erkeklerde 0.6–1.2 mg/dl, kadınlarda 0.5–1.1 mg/dl arasında değişir (Hosten, 1990). Genellikle BUN/serum kreatinin oranı 10:1'dir.

ABH tedavisinde, böbrek replasman tedavisi gibi yöntemlerde önemli ilerlemeler kaydedilmiş olsada, hastaların uzun vadeli sonuçlarında belirgin bir iyileşme sağlanamamıştır (Grams & Rabb, 2012; Druml, 2014). Bu durum, ABH'nin erken evrelerde tespit edilmesi ve ilerlemesinin önlenmesi için yeni stratejilere olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. Özellikle, ABH'nin ortaya çıkmasına neden olan veya ilerlemesini hızlandıran altta yatan klinik hastalıklar ve risk faktörleri arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması, bu alanda atılacak önemli bir adım olarak görülmektedir (Malhotra & Siew, 2017; Charlton vd., 2014).

Sepsisli hastalarda ABH insidansı oldukça yüksektir (Peerapornratana vd., 2019). Avrupa ülkelerindeki kritik hastaların kaydedildiği çok merkezli bir prospektif kohort çalışmada, ABH insidansı %54 olarak bildirilmiştir (Vincent vd., 2006). Benzer şekilde, çok merkezli bir retrospektif kohort çalışmada bu oran %47,1 olarak bulunmuştur (Xu vd., 2015). Bu veriler, yaklaşık her iki ila üç septik hastadan birinde ABH geliştiğini göstermekte ve sepsis ilişkili ABH'nin küresel olarak 6-11 milyon vakayı kapsadığını düşündürmektedir (Peerapornratana vd., 2019; Kellum vd., 2016). Sepsis, ABH hastalarında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olduğundan patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve erken tanı ile tedavi stratejilerinin geliştirilmesi hem mortalite hem de morbiditeyi azaltma açısından kritik öneme sahiptir (Hosten, 1990; Baum vd., 1975; Selby vd., 2012).

1.9. Sepsis Tedavisi

Sepsiste popülasyonlar arası farklılıklar göstermekle birlikte mortalite oranı %10-40 arasında değişmektedir (Singer vd., 2016). Sepsise bağlı mortalite azalmış olsa da yaşlı popülasyonun artması nedeniyle sepsis insidansı yükselmektedir (Rudd vd., 2020). Sepsiste acil müdahaleler kritik öneme sahip olup, multidisipliner yaklaşım gerektirmektedir. Hemodinamik stabilizasyonun sağlanması, doku perfüzyonunun korunması, etiyolojik etkene yönelik ampirik antibiyotik tedavisi,

enfeksiyon kaynağının kontrolü ve destek tedavileri sepsis yönetiminin temel unsurlarıdır. Hasta öyküsü, fizik muayenesi, mikrobiyolojik analizler ve görüntüleme çalışmaları eş zamanlı olarak gerçekleştirilmelidir (Hancı, 2021). İlk saat içinde tamamlanması önerilen tetkikler arasında tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, koagülasyon parametreleri, D-dimer, serum laktat düzeyi, en az iki ayrı bölgeden alınan aerob ve anaerob kan kültürleri, idrar analizi, enfeksiyon kaynağına yönelik mikrobiyolojik örnekler ve arter kan gazı analizi yer almaktadır. Akut faz reaktanları (CRP) hastanın durumunun takibi ve ampirik antibiyotik tedavisinin deskalasyonu için önemlidir.

Sepsis tedavisinde yapılan çoğu tedavi destekleyici olmakla birlikte, enfeksiyon bölgesinin hızlıca belirlenmesi ve antibiyotik ile tedavisi birincil müdahaledir. Ampirik olarak hastanın anamnezi, laboratuvar bulguları ve görüntüleme sonuçları ile şüphelenilen veya tanımlanan kaynağına yönelik antibiyotik başlanmalıdır. Bununla birlikte şüpheli veya tanımlanamayan kaynağına yönelik ileri tanısal testler gerekli olabilir. Sepsis veya septik şok tanısı sonrası, kan kültürlerin alınmasını takiben ilk 1 saat içinde uygun geniş spektrumlu antibiyotikler uygulanmalıdır. Tedavideki gecikme mortalite artışı ile ilişkilidir (Hancı, 2021). Antibiyotik seçimi; hastanın öyküsü, komorbiditeleri, immün durumu, enfeksiyon kaynağı ve lokal direnç paternine göre yapılmalıdır. Sepsiste Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler, mantar ve virüsleri kapsayacak geniş spektrumlu tedavi tercih edilirken, septik şokta farklı gruplardan en az iki ilacı içeren kombinasyon tedavisi uygulanmalıdır (Hancı, 2021). *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia* ve *Streptococcus pneumonia* en sık izole edilen mikroorganizmalar olup risk faktörleri bu patojenlere göre değerlendirilmelidir (Savage vd., 2016). Sepsis hastalarında vasküler geçirgenlik artışı ve sıvı replasmanı nedeniyle antibiyotik dağılım hacmi artar. Beta-laktam antibiyotikler sıklıkla kullanılır ve uzatılmış infüzyon ile plazma konsantrasyonunun yüksek tutulması sağlanabilir. Ancak bu yöntemin mortalite üzerindeki etkileri net değildir (Dulhunty vd., 2015; Kondo vd., 2020).

2. *Punica granatum*

Punica granatum, *Lythraceae* (eski adıyla *Punicaceae*) familyasına ait olup, halk arasında nar olarak bilinmektedir (Choi vd., 2011). Kuzey Hindistan'dan İran'a uzanan geniş bir coğrafyayı kapsayan endemik bir dağılıma sahiptir (Lansky & Newman, 2007). Narın adaptif doğası, onun farklı coğrafi bölgelerde yetiştirilmesine olanak tanımaktadır. Günümüzde Amerika'nın güneybatı bölgelerinde, Kaliforniya, Meksika, Arizona ve Afrika'da da yaygın olarak yetiştirilmektedir (Jurenka, 2008). Narın meyveleri taze olarak veya meyve suyu olarak, reçel, sirke ve şarap gibi işlenmiş formlarda kullanılmaktadır (Gu vd., 2004). Ayrıca, nar kabuğu atıkları selüloz açısından zengin bir yapıya sahip olduğu için geviş getiren hayvanlarda yem olarak değerlendirilebilmektedir (Mphahlele vd., 2016). Güney Afrika Nar Endüstrisi (SAPI), *P.granatum*'un insanlık tarafından kullanılan en eski bitkilerinden biri olduğunu ve tarih boyunca geleneksel tıpta tedavi amaçlı kullanıldığını vurgulamaktadır (Pienaar & Barends-Jones, 2021). Bitkinin tohumları, kökleri, gövdesi, yaprakları, çiçekleri ve meyve kabukları gibi hemen hemen tüm parçaları çeşitli amaçlar için kullanılmıştır (Pienaar & Barends-Jones, 2021).

P.granatum içerdiği çeşitli biyoaktif bileşikler sayesinde zengin besinsel değere ve terapötik özelliklere sahip önemli bir bitkidir (Chandra vd., 2010). Fenolik bileşikler, tanenler, antosiyaninler, flavonoidler, organik asitler ve terpenoidler gibi yüksek miktarda biyoaktif bileşikler içermektedir (Ko vd., 2021). Nar kabuğu punikalagin (PUN), punikalin (PL), gallagik asit (GA), ellagik asit (EA) ve ellagik asit glikozitleri gibi ellagitanninler (ET) açısından zengindir (Cerdea vd., 2003). *P.granatum*'un antikanser, anti-inflamatuar, anti-ülser, diüretik, kardiyο-koruyucu, antidiyareik, antioksidan ve anti-diyabetik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Mphahlele vd., 2016; Melgarejo-Sanchez vd., 2021; Modaeinama vd., 2016; Sun vd., 2019; Adiga vd., 2010). Geleneksel tıpta nar çiçekleri kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve obezite gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır (Wang vd., 2018). Ayrıca, *Salmonella enteritidis* ve *S.kentucky* gibi bağırsak enfeksiyonlarına neden olan bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlik göstermiştir (Wafa vd., 2017). Nar yaprakları ise kolesterol ve diyabetik nefropati tedavisinde kullanılmıştır (Wang vd., 2018; Mestry vd., 2017). Antimikrobiyal, anti-inflamatuar

ve anti-kolinesteraz özellikleri olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Bekir vd., 2013; Trabelsi vd., 2020). Nar tohumları, bitkinin en çok araştırılan kısımlarından biridir. Meyvenin iç kısmında yer alan tohumlar, kırmızı renkli arillerle kaplı olup, her meyvede yüzlerce adet tohum bulunur (Guerrero-Solano vd., 2020). Tohumların antimikrobiyal, antikanserojen ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiş olup, geleneksel tıpta düşüklerin önlenmesi ve üriner disfonksiyon tedavisinde kullanıldığı belirtilmektedir (Wong vd., 2021; Wafa vd., 2017; Moga vd., 2021; Setiadhi vd., 2017; Lydia vd., 2020). *P.granatum* meyvesinin önemli bir bölümü kabuklardan oluşmakta ve toplam kütesinin yaklaşık %43'ünü kabuklar teşkil etmektedir (Ko vd., 2021). Bu kabuklar, ince zar yapılarıyla bölünmüş arilleri koruma işlevi görmektedir. Nar kabuğu, alkaloidler, antosiyaninler, antosiyanidinler, tanenler, flavonoidler, fenolik bileşikler, proantosiyanidinler, steroller, terpenler ve ksantonoidler de dahil olmak üzere 48'den fazla biyoaktif bileşik içermektedir (Guerrero-Solano vd., 2020; Wang vd., 2018; Wong vd., 2021; Wu & Tian, 2017; Zeghad vd., 2019). Geleneksel tıpta nar kabuğu, sindirim sistemi rahatsızlıklarının yanı sıra iltihaplanma, burun kanaması, boğaz ağrısı, ülser ve sıtma gibi çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde kullanılmıştır (Karimi vd., 2017; Wang vd., 2018; Wong vd., 2021). Yüksek antioksidan içeriği sayesinde modern tıpta da dikkat çeken nar kabuğu, anti-proliferatif, anti-inflamatuar ve anti-kanserojenik özellikler sergilemektedir (Wong vd., 2021; Lydia vd., 2020; Islam vd., 2021). Ayrıca, ribonükleik asit (RNA) replikasyonunu inhibe etme yeteneği sayesinde ülser tedavisinde potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilmektedir (Karimi vd., 2017).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Deney Hayvanları Ünitesi ve Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümünde yer alan Histoloji ve Embriyoloji, Tıbbi Biyokimya ve Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dallarına ait laboratuvarlarda gerçekleştirildi. RTEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı tarafından 25.02.2022 tarihli 2022/05 nolu karar ile onay alındı (Ek 1). Tez çalışması RTEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP, Rize, Türkiye) tarafından Doktora Tez Projesi olarak TDK-2022-1407 numaralı proje kodu ile desteklendi. Deneylerde kullanılan ve laboratuvarımızda mevcut olan malzemeler haricindeki tüm sarf malzemeler, kimyasallar ve kitler proje bütçesinden temin edildi.

3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Yapılan deneylerde kullanılan cihazlar, cihazların markaları ve katalog numaraları ile Tablo 5’de sunulmuştur.

Tablo 5. Kullanılan cihazlar, markaları ve katalog numaraları

Cihaz Adı	Markası	Katalog numarası
-80 Derin dondurucu	Newbrunswick Scientific U570	U9270-0000
Biyogüvenlik kabini	Scanlaf Mars Safety Class 2	CAB2004 D2-0
Buz makinesi	ScotsmanAF80	1.301.02.04.03.01
Buzdolabı	Bosch	KDL-40B-03NE/05
Çalkalamalı inkübatör	IKA 4000i	0003510001
Distile su cihazı	GFL	2104
Doku boyama cihazı	Leica, Multistainer Bath Array	ST5020
Doku gömme cihazı	Leica	EG1150H / EG1150C
Doku takip cihazı	Thermo Scientific, Shandon	Citadel 2000
Etüv	Ecocell	MC-000201
Evaporatör cihazı	LabTech	EV311 / VP30
Hassas Terazı	Acculab	ATL-224-I
Homojenizatör	Wisetis	HG-15A
İnkübatör	WiseCube	DH.WIG03050
Manyetik karıştırıcı	WiseStir	DH.WMH03020
Mikroplaka okuyucu	Thermo Multiscan Go	51119300
Mikroplaka yıkayıcı	Bioteck	ELx50
Mikrotom cihazı	Leica	RM2255
Otoklav	WiseClave	WACS-2060
Otomatik pipetler	Rainin	C511335
Soğutmalı santrifüj	Hettich Rotina 380R	1706
Vorteks	Velp Scientifica ZX3	F202A0176

3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar ve Reaktifler

Yapılan deneylerde kullanılan kimyasallar ve reaktifler markaları ve katalog numaraları ile birlikte Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6. Kullanılan kimyasallar/reaktifler, markaları ve katalog numaraları

Kimyasal Adı	Markası	Katalog numarası
Etil alkol	IsoLab/MERCK	100983
Mueller Hinton agar	Himedia	M173-500G
Mueller Hinton broth	Himedia	M391-500G
Serum fizyolojik	Biofleks	23.10.2000-195/81
Lipopolysaccharides from <i>Escherichia coli</i> O55:B5	Sigma-Aldrich	L2637
TLR-4 primer antikor	Antibodies.com	a14637
NF-κB/p65 primer antikor	Abcam	ab16502
TNF-α primer antikor	Abcam	ab220210
HRP sekonder antikor	Abcam	ab205718
Ketamin hidroklorür	VEM İlaç	4183002
Rompun	Bayer	KV031UG
Formaldehit	Sigma-Aldrich	252549
Pikrik Asit	Sigma-Aldrich	197378
Ksilol	MERCK	108298
Parafin	MERCK	8002-74-2
2-Tiyobarbitürik asit (TBA)	MERCK	T5500
Triklorasetik asit (TCA)	MERCK	T6399
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	Sigma-Aldrich	8.22050
DAB kromojen	Dako	GV82511-2
Di sodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	HIMEDIA	GRM1416
Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)	Sigma	322123
Asetik asit (CH ₃ COOH)	MERCK	1.60305
Redükte glutatyon (GSH)	Sigma-Aldrich	G4251
Sodyum Klorür (NaCl)	MERCK	71387
Harris Hematoksilen	MERCK	HHS32
Eozin-G	MERCK	E4009

3.3. Çalışmada Kullanılan Ticari Kitler

Çalışmada kullanılan ELISA kitleri, kitlerin üretici firmaları ve katalog numaraları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Kullanılan kitler, üretici firmalar ve katalog numaraları

Kit Adı	Üretici firma	Katalog numarası
TNF- α	BT LAB	E0764Ra
IL-10	BT LAB	E0108Ra
Mouse and Rabbit Spesific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit	Abcam	ab64264

3.4. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar ve Antibiyotikler

Çalışmada kullanılan bakteriler Tablo 8’de, antibiyotikler ise Tablo 9’da sunulmuştur.

Tablo 8. Çalışmada kullanılan bakteriler

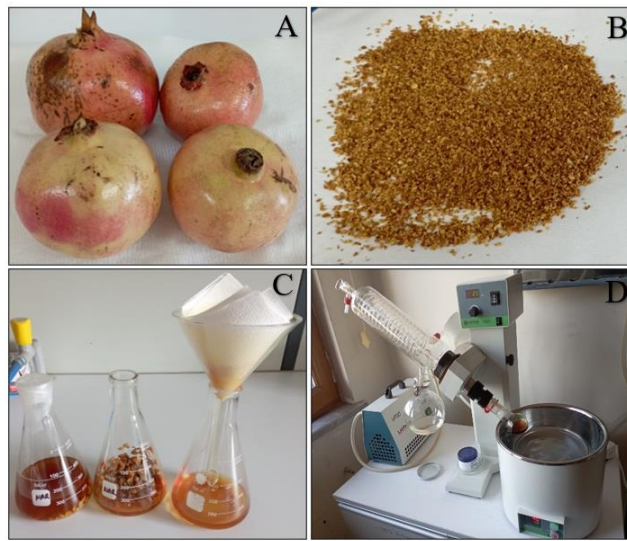
Bakteri Adı	Kaynak
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Klinik orjinli suş
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
MRSA	Klinik orjinli suş
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

Tablo 9. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri ve katalog numaraları

Antibiyotik	Kısaltma	Grup	Katalog numarası
Amikasin	AK	Aminoglikozid	CT0107B
Amfisilin	AM	Beta-Laktam (Aminopenisilin)	CT0003B
Eritromisin	E	Makrolid	CT0020B
Meropenem	MEM	Beta-Laktam (Karbapenem)	CT0774B
Penisilin G	P	Beta-Laktam	CT0043B
Piperasilin /Tazobaktam	TZP	Penisilin+Beta-Laktamaz İnhibitörü	CT0725B
Seftazidim	CAZ	Beta-Laktam (3. kuşak Sefalosporin)	CT0412B
Sefuroksim sodyum	CXM	Beta-Laktam (2. kuşak Sefalosporin)	CT0406B
Siprofloksasin	CIP	Fluorokinolon	CT1615B
Teikoplanin	TEC	Glikopeptid	CT0647B
Vankomisin	VA	Glikopeptid	CT0058B

3.5. *Punica granatum* Kabuk Ekstraksiyonunun (PGKE) Hazırlanması

Çalışmada kullanılan narlar (*Punica granatum* L.) Adıyaman halk pazarından temin edilmiştir. Meyvelerin yüzeylerinde bulunabilecek pestisit kalıntılarını uzaklaştırmak amacıyla, öncelikle musluk suyu ile yıkanmış ve ardından bir saat boyunca saf suda bekletilmiştir. Daha sonra kabuklar soyularak küçük parçalar halinde doğranmış ve 40°C sıcaklıkta 4-5 gün süreyle etüvde kurutulmuştur. Kurutulmuş ve öğütülmüş kabuk tozundan 15-20 g tartılarak bir erlene alınmış ve üzerine yaklaşık 100 mL ethanol-su karışımı (80:20, v/v) eklenmiştir. Ekstraksiyon sürecinde erlenin ağzı parafilm ile kapatılarak oda sıcaklığında ve 150 rpm hızında manyetik karıştırıcıda 72 saat boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda elde edilen özüt, katı partiküllerden arındırılmak üzere Whatman No. 1 filtre kâğıdı kullanılarak süzülmüştür. Çözücünün uzaklaştırılması için süzülen özüt, evaporatör cihazında 40°C sıcaklık, 15 rpm dönme hızı ve orta basınç altında konsantre edilmiştir. Bu işlem sırasında çözücü olarak kullanılan ethanol uzaklaştırılmıştır. Ekstraksiyona ilişkin genel süreç Şekil 3'te görselleştirilmiştir. İşlem öncesinde daraları alınan balon jojeler ethanolün uzaklaştırılmasının ardından tekrar tartılarak net ekstrakt ağırlıkları kaydedilmiştir. Elde edilen özüt stokları distile su kullanılarak 100 mg/mL ve 300 mg/mL konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiler ileri analizlerde kullanılmak üzere saklanmıştır.



Şekil 3. *P. granatum* Kabuk Ekstraktı (PGKE) hazırlama süreci;
A. Bitki materyalinin hazırlanması **B.** Öğütülmüş ve kurutulmuş kabuk
C. Filtrasyon işlemi **D.** Evaporasyon işlemi

3.6. Deney Hayvanlarının Temini, Barınması ve Bakımı

Deney çalışması kapsamında kullanılan deney hayvanlarının bakım, beslenme ve barınma işlemleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. 8 haftalık ve ağırlıkları 300 (± 20) g olan 36 adet Sprague-Dawley ırkı erkek rat temin edildi. Hayvanların yaşam alanlarındaki fiziksel koşulların optimal seviyelerde tutulması, merkezin veteriner hekimi ve teknisyenlerinin gözetiminde sağlanmıştır. Ratlar standart çevre koşullarında (12 saat aydınlık/karanlık döngüsü, 22 (± 3)°C sıcaklık ve %55 (± 5) nem) tutulmuş; standart pellet yem ve musluk suyuna erişimleri ile *ad libitum* olarak beslenmiştir (Şekil 4). Deney hayvanlarının su ve yem erişimi cerrahi işleminden 12 saat öncesine kadar sürdürülmüştür.



Şekil 4. Ratların bakımı ve *ad libitum* beslenmesi

3.7. Çalışmada Grupları ve Deneyin Yapılışı

Çalışmada, her grupta 9 adet rat olacak şekilde rastgele 4 farklı grup oluşturulmuştur (n=9).

Grup 1: Kontrol Grubu (K); Bu gruptaki ratlara 7 gün boyunca oral gavaj yoluyla sadece serum fizyolojik (SF: %0,9 NaCl solüsyonu) uygulanmıştır.

Grup 2: Sepsis Grubu (S); Bu gruptaki ratlara 7. günün sonunda, yalnızca 10 mg/kg LPS (Lipopolysaccharides from *E.coli* O55:B5 Sigma-Aldrich, Cambridge, MA, USA) intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edilmiştir.

Grup 3: Düşük Doz P.granatum Kabuk Ekstraktı Grubu (PGKE100); Bu gruba 7 gün boyunca 100 mg/mL dozunda PGKE oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.

7. günün sonunda, son PGKE dozu verildikten yarım saat sonra, 10 mg/kg dozunda LPS i.p. olarak enjekte edilmiştir.

Grup 4: Yüksek Doz P.granatum Kabuk Ekstraktı Grubu (PGKE300); Gavaj ile 7 gün boyunca 300 mg/mL PGKE verilmiş, 7. günün sonunda son doz gavajlar yapıldıktan yarım saat sonra 10 mg/kg LPS i.p. olarak enjekte edilmiştir.

3.8. Deneyin Sonlandırılması ve Numunelerin Toplanması

Deney protokolü tamamlandıktan 16-20 saat sonra hayvanların genel durumu değerlendirildi. Bu değerlendirme kapsamında ratların hareketliliği, vücut sıcaklığı ve tüy düzensizliği gibi parametreler gözlemlendi. PGKE100 ve PGKE300 gruplarında mortalite (ölüm) tespit edildi. 9 olan n sayısı, Grup 2 ve Grup 3'te 8 olarak kaydedildi (n=8).

Deneyin sonunda anestezi uygulaması için, hayvanlara i.p. yolla 100 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg rompun enjekte edildi. Anestezi sonrasında, intrakardiyak kan örnekleri ile akciğer ve böbrek dokuları alındı. Elde edilen dokular, histolojik incelemeler için %10 nötral tamponlu formaldehit solüsyonunda fikse edildi ve rutin histolojik doku takip protokolü uygulanarak parafin bloklara gömüldü (Topal Suzan, 2020).

3.9. Biyokimyasal İşlemler

Biyokimyasal analizler RTEÜ Tıp Fakültesi ile Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.9.1. Serum C-Reaktif Protein (CRP), Kan Üre Azotu (BUN) ve Kreatinin (Cr) Seviyelerinin Belirlenmesi

İntrakardiyak kan örnekleri serum ayırıcı jel içeren kan tüplerine (Vacusera, 235305) alınmıştır. Örnekler, 4°C'de 3500 rpm'de 15 dk süreyle santrifüj edilerek örneklerin serum kısımları ayrılmıştır. Elde edilen serumlar steril, RNase/DNase içermeyen ependorf tüplerine transfer edilmiştir. Böbrek fonksiyon testleri ve CRP tayinleri biyokimya analiz cihazı (Beckman Coulter, AU680, Brea, CA, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.9.2. Doku Homojenizasyonu

Doku homojenizasyonu sürecinde hücrelerin osmotik dengesinin korunması ve pH stabilitesinin sağlanması amacıyla potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4) ve %0,9'luk NaCl kullanılarak 0,01 M konsantrasyona ve pH 7,4 değerine sahip 1 L'lik fosfat tampon çözeltisi hazırlanmıştır. Doku örnekleri soğuk ortamda tartılmış ve her 0,1 gram dokuya karşılık 1 mL tampon olacak şekilde tampon eklenmiştir. Homojenizasyon işlemi, cihazın aşırı ısınmasının protein denatürasyonuna yol açmasını önlemek amacıyla soğuk ortamda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen homojenatlar 4°C'de 3000 g/15 santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar toplandı ve bu süpernatantlar üzerinde tiyobarbitürik asit reaktif substans (TBARS) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) tayinleri yapıldı (Rojas vd., 2012).

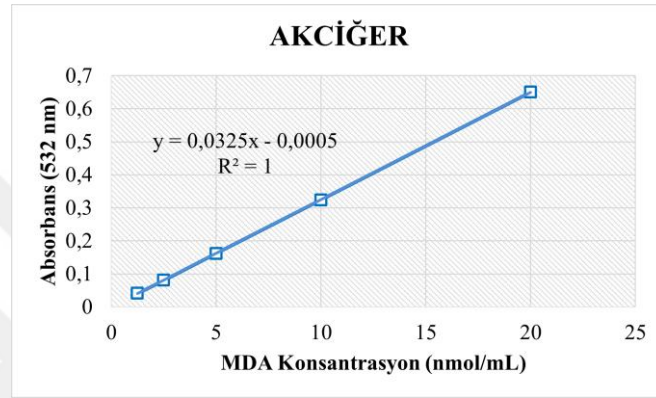
3.9.3. Doku Tiyobarbitürik Asit Türevleri (TBARS) Tayini

TBARS tayini, lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehit (MDA)'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile ısıtılması sonucu oluşan pembe renkli aldehitlerin ölçülmesine dayanan bir yöntemdir. MDA, lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteçidir. Bu kapsamda her bir örnek için sırasıyla;

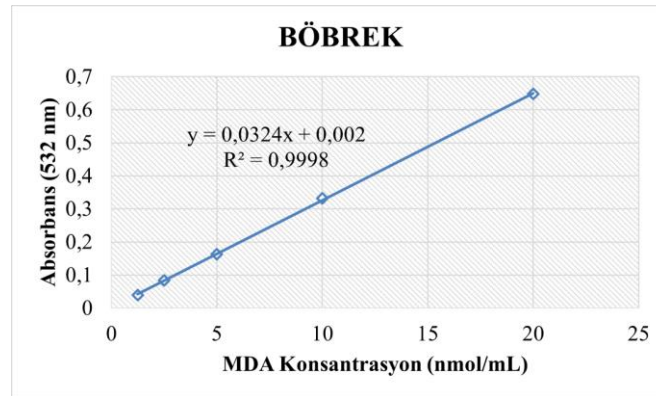
- 200 µL doku süpernatantı,
- 375 µL %20'lik asetik asit (pH 3,5),
- 375 µL %0,8'lik taze hazırlanmış TBA,
- 50 µL %8,1 sodyum dodesilsülfat (SDS) ependorflara eklenmiş ve vortekslenmiştir (Ohkawa vd., 1979). Hazırlanan karışımlar, reaksiyonun gerçekleşmesi için 100°C çalkalamalı sıcak su banyosunda 1 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda 4°C'de 4000 g/15 dk santrifüj edilmiştir.

Standart eğrinin oluşturulması amacıyla, standart çözelti olarak 1,1,3,3-tetrametoksipropan (TMP) kullanılmıştır. Bunun için 82,5 µL TMP, 50 mL 0,01 M hidroklorik asit (HCl) ile karıştırılarak bir çözelti hazırlanmış ve 50°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu stok çözeltiden sırasıyla 20, 10, 5, 2.5 ve 1.25 nmol/mL konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır.

Örnekler, standart ve kör olmak üzere üç tekrarlı olacak şekilde mikropipetle pipetlendi ve absorbans değerleri 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Akciğer ve böbrek dokuları için MDA standart grafikleri oluşturulmuş (Şekil 5 ve Şekil 6) ve TBARS konsantrasyonu nmol/g doku cinsinden hesaplanarak Tablo 14’te sunulmuştur. Standart grafiklerindeki veri noktalarına ait hata çubukları (standart sapmalar), absorbans değerlerine kıyasla oldukça küçük olduğu için görsel olarak belirgin değildir.



Şekil 5. Akciğer MDA standart grafiği



Şekil 6. Böbrek MDA standart grafiği

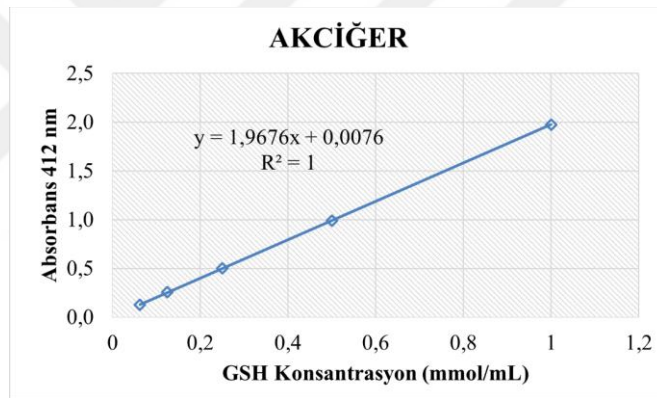
3.9.4. Doku Glutasyon (GSH) Tayini

İndirgenmiş Glutasyon (GSH) tayini, vücutta meydana gelen oksidatif stres sonucunda dokuda artan serbest sülfidril (-SH) gruplarının Ellmann ayracı (5,5'-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit), DTNB) ile reaksiyona girerek sarı bir bileşik (2-

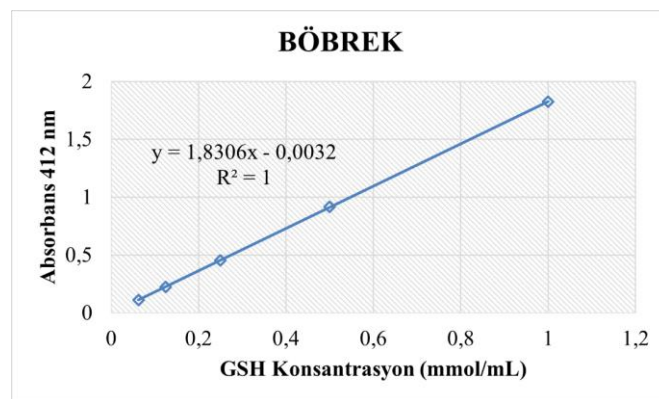
nitro-5-tiyobenzoat, TNB) oluşturması esasına dayanan bir yöntemdir (Ellmann, 1959). Bu analiz kapsamında her örnek sırasıyla;

- 50 µL doku süpernatantı,
- 200 µL fosfat tamponu (Na₂HPO₄),
- 50 µL Ellmann ayıracı (DTNB) pipetlenip, vortekslenmiştir. Ellmann ayıracı,

4 mg DTNB'nin %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. Standart grafikleri 62,5 µM-1000 µM aralığında hazırlanan standart çözeltiler kullanılarak oluşturulmuştur (şekil 7 ve şekil 8). Absorbans değerleri 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar Tablo 15'te µmol/g doku birimi cinsinden ifade edilmiştir. Grafikte yer alan veri noktalarının hata payları (standart sapma), absorbans değerlerine oranla çok düşük olduğundan, hata çubukları görsel olarak eklenememektedir.



şekil 7. Akciğer GSH standart grafiği



şekil 8. Böbrek GSH standart grafiği

3.9.5. Doku homojenatı TNF- α ve IL-10 Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku homojenatı TNF- α ve IL-10 seviyeleri ticari olarak satılan Rat TNF- α enzim bağlantılı immünosorbent assay (ELISA) kiti (BT-LAB, Katalog no: E0764Ra) ve Rat IL-10 ELISA kiti (BT LAB, Katalog no: E0108Ra) ile üretici firma önerileri doğrultusunda ölçüldü (Şekil 9). 450 nm’de spektrofotometrik okuma yapıldı, veriler oluşturulan standart grafik aracılığıyla ng/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 9. Renksiz olan substratın sitokinlerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak oluşturduğu renk değişimi

3.10. Antimikrobiyal Analizler

Antimikrobiyal analizler RTEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.10.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi Denev ve arkadaşları tarafından açıklanan protokole göre uygulanmıştır (Denev vd., 2014). Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için bakteri kültürleri Mueller-Hinton Agar (MHA) üzerine ekilmiş ve 18-24 saat boyunca 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Logaritmik üreme fazına ulaşan saf kültürler elde edilmiştir. Kültürlerden, Fosfat Tamponlu Salin (PBS) kullanılarak 0,5 McFarland standardına karşılık gelen, 5×10^5 CFU/mL hücre içeren bakteri stok solüsyonları hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonları MHA üzerine pamuklu eküvyon kullanılarak yayma ekim yöntemiyle inoküle edilmiştir. Ardından, alev sterilizasyonu sağlanmış çubuklarla 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Her bir kuyucuğa, 50 μ L çeşitli konsantrasyonlarda PGKE (200 mg/mL) uygulanmıştır. Negatif kontrol olarak

50 µL enjeksiyonluk steril su, pozitif kontrol olarak ise Tablo 9’da belirtilen antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Agarın test edilen ekstraksiyonları absorbe etmesi beklendikten sonra, petri kapları ters çevrilerek 37°C’de, 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Deney sonunda inhibisyon zon çapları ölçülmüş ve not edilmiştir. Antimikrobiyal etkinlik değerlendirmesinde zon çapları <6 mm ise etkisiz, 6-14 mm arasında ise orta düzeyde etkili, ≥15 mm ise yüksek aktivite gösterdiği kabul edilmiştir (Balouiri vd., 2016).

3.10.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Analizi

Agar kuyucuk diffüzyon yöntemi ile yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenen özütlerin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenmiştir. Mikroorganizmalar, Mueller-Hinton Broth (MHB) ortamına ekilerek 37°C’de, 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra bakteri yoğunluğu, 0,5 McFarland standardına uygun olacak şekilde PBS ile ayarlanmıştır. Deneysel prosedür kapsamında, U tabanlı tüplerde her bir tüpe öncelikle 100 µL MHB besiyeri (Murray vd., 2009; CLSI, 2006), ardından 100 µL 500 mg/mL PGKE ekstraksiyon çözeltisi eklenmiştir. Negatif kontrol olarak 100 µL steril MHB besiyeri kontrol tüpüne eklenmiştir. İlk kuyucuktan itibaren 1/2 oranında seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Son olarak, test edilecek bakteriler, ilgili kuyucuklara 5×10^5 CFU/mL konsantrasyonunda eklenmiştir. Sterilite kontrolü amacıyla on birinci kuyucuk, bakteri eklenmeksizin bırakılmıştır. Üreme kontrolü için on ikinci kuyucuğa özüt eklenmemiştir. Hazırlanan tüpler, 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.11. Histopatolojik Analizler

3.11.1. Doku Takip ve Kesit Alma İşlemleri

Tüm histopatolojik ve immünohistokimyasal analizler, RTEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Ratlardan elde edilen akciğer ve böbrek dokuları 1.5 cm³ hacminde trimlenmiş ve %10’luk nötral formalin solüsyonunda 36 saat boyunca fikse edilmiştir. Fiksasyondan sonra doku takip cihazı kullanılarak sırasıyla artan alkol serilerinden

geçirilerek dehidrate edilmiştir. Dehidrate edilen böbrek dokularının şeffaflaştırılması, ksilol serilerinde gerçekleştirilmiştir (Topal Suzan, 2020). Bloklama cihazı kullanılarak doku gömme kasetleri yardımıyla önce yumuşak parafin ve sonra sert parafin ile bloklanmıştır. Elde edilen parafin bloklardan, Rotary mikrotom yardımıyla 30 µm'lik kesitlerle doku trimlenmiş, sonrasında 4-5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler 37°C'ye ayarlanmış benmari içerisinde su yüzeyine yerleştirilerek, doku kırışıklıklarının giderilmesi sağlanmıştır.

3.11.2. Hematoksilen-Eozin (H&E) Boyama

Lama alınan doku kesitlerinin 56°C'de olan etüvde parafini eritildi. Daha sonra Harris Hematoksilen ve Eosin G ile boyama cihazında zembil ile doku boyama cihazına yerleştirilerek boyama işlemi gerçekleştirilmiştir. Boyanan kesitler dijital kamera ataçmanlı DP74 ışık mikroskobu kullanılarak histopatolojik olarak değerlendirilmiş ve mikroskopik görüntüleri kaydedilmiştir.

3.12. İmmünohistokimyasal (IHC) Analiz

IHC boyama için Mouse and Rabbit Spesific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit (ab64264, Abcam, USA) kullanıldı. Enflamasyon yollarının incelenmesi amacıyla, Anti-TLR4 (Rabbit polyclonal, Antibodies.com, a14637), Anti-NF-κB/p65 (Rabbit polyclonal, Abcam, ab16502) ve Anti-TNF-α (Rabbit polyclonal, Abcam, ab220210) primer antikorları ve uygun bir sekonder antikor (Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP), Abcam, ab205718) kullanılmıştır.

Akciğer ve böbrek dokularına ait kesitlerin dehidratasyon işleminin ardından üretici firma protokollerine uygun olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) ile endojen peroksidaz blokajına tabi tutulmuştur. Doku kesitleri ayrı ayrı TLR4, NF-κB/p65 ve TNF-α primer antikorlarla 1 saat süreyle inkübe edilmiş, ardından uygun sekonder antikorlarla 1 saat daha inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Antikor inkübasyon sürecinin ardından DAB kromojen (Diaminobenzidin tetrahidroklorür) ile immünreaksiyon görselleştirilmiş ve Harris hematoksilen ile karşı boyama işlemi uygulanmıştır.

3.13. Semi-kantitatif Analiz

H&E boyaması ile elde edilen doku kesitleri, histopatolojik değerlendirme amacıyla incelenmiştir. Semi-kantitatif analiz alveolar ve intersitisyel nötrofil birikimi, pulmoner membranlar haylin birikimi, alveolar debris birikimi ve alveolar septal duvar kalınlığı başlıkları altında histopatolojik hasar tespitinde dokulara Matute-Bello ve arkadaşları tarafından önerilen sınıflandırmaya göre Akciğer Hasar Skoru (AHS) hesaplanmıştır (Tablo 10) (Matute-Bello vd., 2011). Böbrek dokularında Tübüler Nekrozis Skorlaması (TNS), Sung ve arkadaşlarının yöntemi modifiye edilerek hesaplanmıştır (Tablo 11) (Sung vd., 2008). Kesitlerde rastgele seçilen 35 (akciğer) ve 25 (böbrek) farklı alan körleme yöntemi ile iki histopatolog tarafından değerlendirilmiştir.

İmmünohistokimyasal analizler kapsamında, doku kesitleri TLR4, NF- κ B/p65 ve TNF- α ile inkübe edilmiştir. Hasar skorlama kriterleri Tablo 10, 11, 12 ve 13'te sunulmuştur.

Tablo 10. Akciğer Hasar Skorlaması (AHS) (Matute-Bello vd., 2011)

Bulgular	Skor Puanı			
	0	1	2	3
Enflamasyon	$\leq 5\%$	<5-25%	<26-50%	$\geq 50\%$
Arteriyal hiyalin membran oluşumu	$\leq 5\%$	<5-25%	<26-50%	$\geq 50\%$
Alveolar duvar kalınlığı (Tedavi Grubu/Kontrol Grubu)	<X2	$\geq X2$	<X3	$\geq X4$

Tablo 11. Tübüler Nekrozis Skorlaması (TNS) (Sung vd., 2008)

Bulgular	Skor Puanı				
	0	1	2	3	4
Proksimal tübüllerde fırçamsı kenar yapısının bozulması	yok	$\leq \%10$	$\%10-25$	$\%26-75$	$\geq \%75$
Lümeninde sıvı birikimi	yok	$\leq \%10$	$\%10-25$	$\%26-75$	$\geq \%75$
Tübüler epitel hücre bağlantılarının kaybı	yok	$\leq \%10$	$\%10-25$	$\%26-75$	$\geq \%75$

Tablo 12. Böbrek Histopatolojik Hasar Skoru (BHHS)

Bulgular	Skor Puanı			
	0	1	2	3
TNS	yok	≤ % 10	%10-25	%26-75
Hemoraj	yok	≤ % 10	%10-25	%26-75
Atipik Renal Korpüskülü	yok	≤ % 10	%10-25	%26-75

Tablo 13. İmmünohistokimyasal pozitivite derecelendirme

Skor puanı	Yüzde
0	Yok (<% 5)
1	Hafif (% 5-25)
2	Orta (% 26-50)
3	Şiddetli (>% 51)

3.14. İstatistiksel Analiz

Histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal analizlerden elde edilen veriler, SPSS 18.0 (IBM Corp., Chicago, IL, ABD) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi, Q-Q plot, Skewness-Kurtosis ve Levene testi ile analiz edildi.

Biyokimyasal analizlerden elde edilen parametrik veriler, ortalama ± standart sapma olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar, One-Way ANOVA ve ardından Tukey HSD testi ile değerlendirildi.

Histokimyasal ve immünohistokimyasal analizlerden elde edilen non-parametrik veriler, medyan ve %25-%75 interkuartil aralığı şeklinde hesaplandı. Gruplar arasındaki farklılıklar sırasıyla Kruskal-Wallis testi ve Dunn testi ile analiz edildi. $p \leq 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

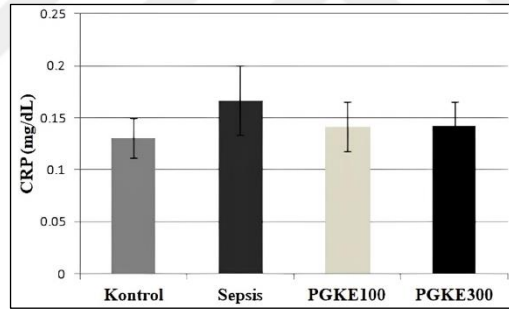
4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

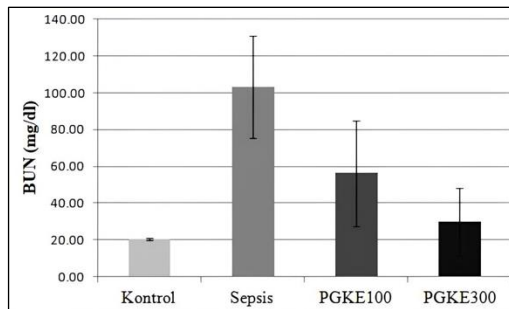
4.1.1. Serum CRP, BUN ve Cr Seviyeleri

İnflamasyon şiddeti CRP analizi ile belirlenmiş ve CRP seviyeleri Sepsis grubunda $0,17 \pm 0,03$ mg/dL, Kontrol grubunda ise $0,13 \pm 0,02$ mg/dL olarak ölçülmüştür. PGKE tedavisi, Sepsis grubuna kıyasla CRP seviyelerinde anlamlı bir azalma sağlamıştır ($p<0.01$) (Şekil 10).

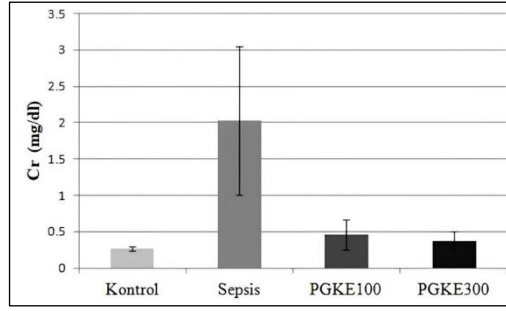
Böbrek fonksiyon hasarının değerlendirilmesinde BUN ve Cr düzeyleri analiz edilmiş ve tüm biyobelirteç seviyelerinin Kontrol grubuna kıyasla Sepsis grubunda yükseliş gösterdiği ve PGKE gruplarında düşüş sergilediği gözlemlenmiştir. PGKE100, PGKE300 ve Sepsis grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 11 ve 12).



Şekil 10. C-Reaktif Protein (CRP) Seviyesi (mg/dL)



Şekil 11. Kan Üre Azotu (BUN) Seviyesi (mg/dL)



Şekil 12. Kreatinin (Cr) Seviyesi (mg/dL)

4.1.2. Doku Homojenati TBARS Seviyeleri

Çalışmamızda akciğer dokusu TBARS seviyeleri kontrol grubunda 75 ± 8 nmol/g doku olarak ölçülürken, sepsis grubunda seviyenin 90 ± 7 nmol/g dokuya yükseldiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, PGKE tedavi gruplarında TBARS seviyelerinin sırasıyla 84 ± 10 nmol/g doku ve 84 ± 11 nmol/g dokuya düştüğü gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p < 0.05$, Tablo 14).

Böbrek dokusunda, kontrol grubundaki 115 ± 13 nmol/g doku olan TBARS seviyesi, sepsis grubunda anlamlı bir artış göstererek 223 ± 51 nmol/g dokuya ulaşmıştır ($p \leq 0.001$). Ancak, PGKE100 ve PGKE300 tedavi gruplarında TBARS seviyelerinin sırasıyla 147 ± 35 nmol/g doku ve 146 ± 17 nmol/g dokuya gerilediği tespit edilmiştir. Sepsis ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p \leq 0.001$, Tablo 14), ancak PGKE100 ve PGKE300 tedavi grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo 14. TBARS Sonuçları (nmol/g doku)

Gruplar	Akciğer	Böbrek
Kontrol	$75 \pm 8^{a*}$	115 ± 13
Sepsis	90 ± 7	$223 \pm 51^{b**}$
PGKE100	84 ± 10	147 ± 35
PGKE300	84 ± 11	146 ± 17

*: $p < 0.05$, **: $p \leq 0.001$

a : Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı

b : Sepsis grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı

One-Way ANOVA/Tukey HSD

4.1.3. Doku Homojenatı GSH Seviyeleri

Çalışmamızda akciğer dokusunun kontrol grubundaki GSH seviyesi $9,32 \pm 1,97$ $\mu\text{mol/g}$ dokunun sepsis grubunda $11,64 \pm 1,49$ $\mu\text{mol/g}$ dokuya yükseldiği gözlenmiştir. PGKE100 ve PGKE300 gruplarında ise GSH seviyeleri sırasıyla $10,94 \pm 2,34$ $\mu\text{mol/g}$ doku ve $10,78 \pm 2,20$ $\mu\text{mol/g}$ doku olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.05$, Tablo 15).

Böbrek dokusunun kontrol grubundaki $7,93 \pm 0,85$ $\mu\text{mol/g}$ doku olan GSH seviyesi, sepsis grubunda anlamlı bir artış göstererek $10,63 \pm 2,47$ $\mu\text{mol/g}$ dokuya yükselmiştir ($p < 0.05$). Bununla birlikte, PGKE100 ve PGKE300 tedavi gruplarında GSH seviyeleri sırasıyla $8,70 \pm 1,04$ $\mu\text{mol/g}$ doku ve $8,85 \pm 1,69$ $\mu\text{mol/g}$ doku olarak tespit edilmiştir. Sepsis grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0.05$), PGKE100, PGKE300 ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Sonuçlar Tablo 15'de detaylı olarak sunulmuştur.

Tablo 15. GSH Sonuçları ($\mu\text{mol/g}$ doku)

Gruplar	Akciğer	Böbrek
Kontrol	$9,32 \pm 1,97^{\text{a}}$	$7,93 \pm 0,85$
Sepsis	$11,64 \pm 1,49$	$10,63 \pm 2,47^{\text{b}}$
PGKE100	$10,94 \pm 2,34$	$8,70 \pm 1,04$
PGKE300	$10,78 \pm 2,20$	$8,85 \pm 1,69$

*: $p < 0.05$, **: $p \leq 0.05$

a : Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı

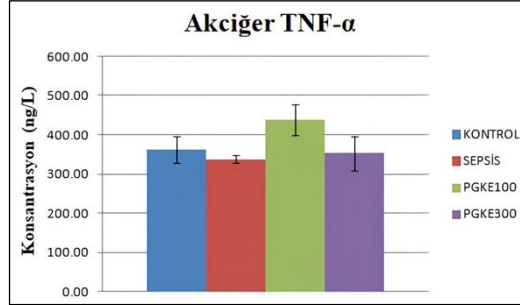
b : Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı

One-Way ANOVA/Tukey HSD

4.1.4. Doku Homojenatı TNF- α ve IL-10 Seviyeleri

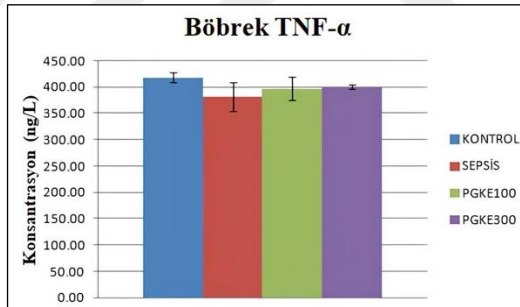
Akciğer doku homojenatı TNF- α düzeylerine bakıldığında; kontrol grubu ile sepsis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiş olup, her iki gruptaki TNF- α seviyeleri yüksek bulunmuştur ($p > 0.05$). Bununla birlikte, PGKE100 grubunda TNF- α seviyesi, kontrol grubuna kıyasla belirgin bir şekilde artış göstermiştir. PGKE300 grubunda ise TNF- α düzeyi, sepsis grubuyla benzer

seviyelerde ölçülmüştür. Kontrol, sepsis, PGKE100 grubu ve PGKE300 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 13).



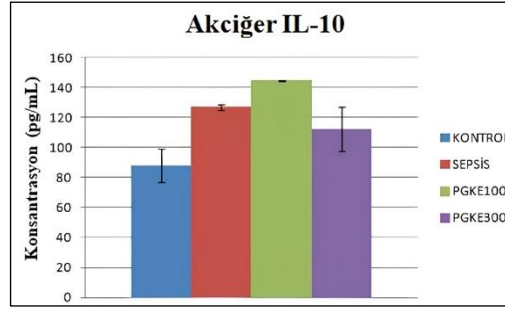
Şekil 13. Akciğer TNF- α Seviyesi (ng/L)

Böbrek doku homojenizatlarında gerçekleştirilen TNF- α analizlerinde kontrol, sepsis, PGKE100 ve PGKE300 grupları arasında belirgin bir fark gözlemlenmemiş olup, tüm gruplarda TNF- α düzeyleri benzer seviyelerde kalmıştır. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 14).



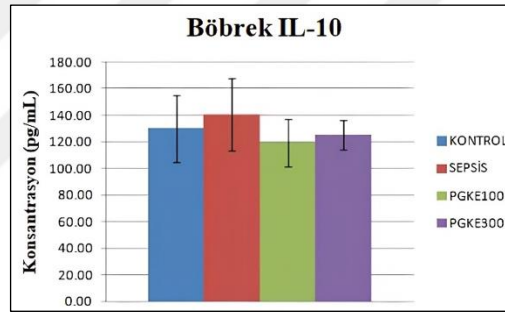
Şekil 14. Böbrek TNF- α Seviyesi (ng/L)

Akciğer dokusunda yapılan IL-10 düzeyleri analizlerinde, en yüksek IL-10 seviyeleri PGKE100 grubunda, en düşük seviyeler ise kontrol grubunda tespit edilmiştir. Ancak, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 15).



Şekil 15. Akciğer IL-10 Seviyesi (pg/mL)

Böbrek IL-10 düzeyleri, en düşük PGKE100 ve PGKE300 gruplarında, en yüksek sepsis grubunda gözlemlense de gruplar arasında belirgin fark bulunmamaktadır. Gruplar arasında IL-10 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 16).



Şekil 16. Böbrek IL-10 Seviyesi (pg/mL)

4.2. Antimikrobiyal Bulgular

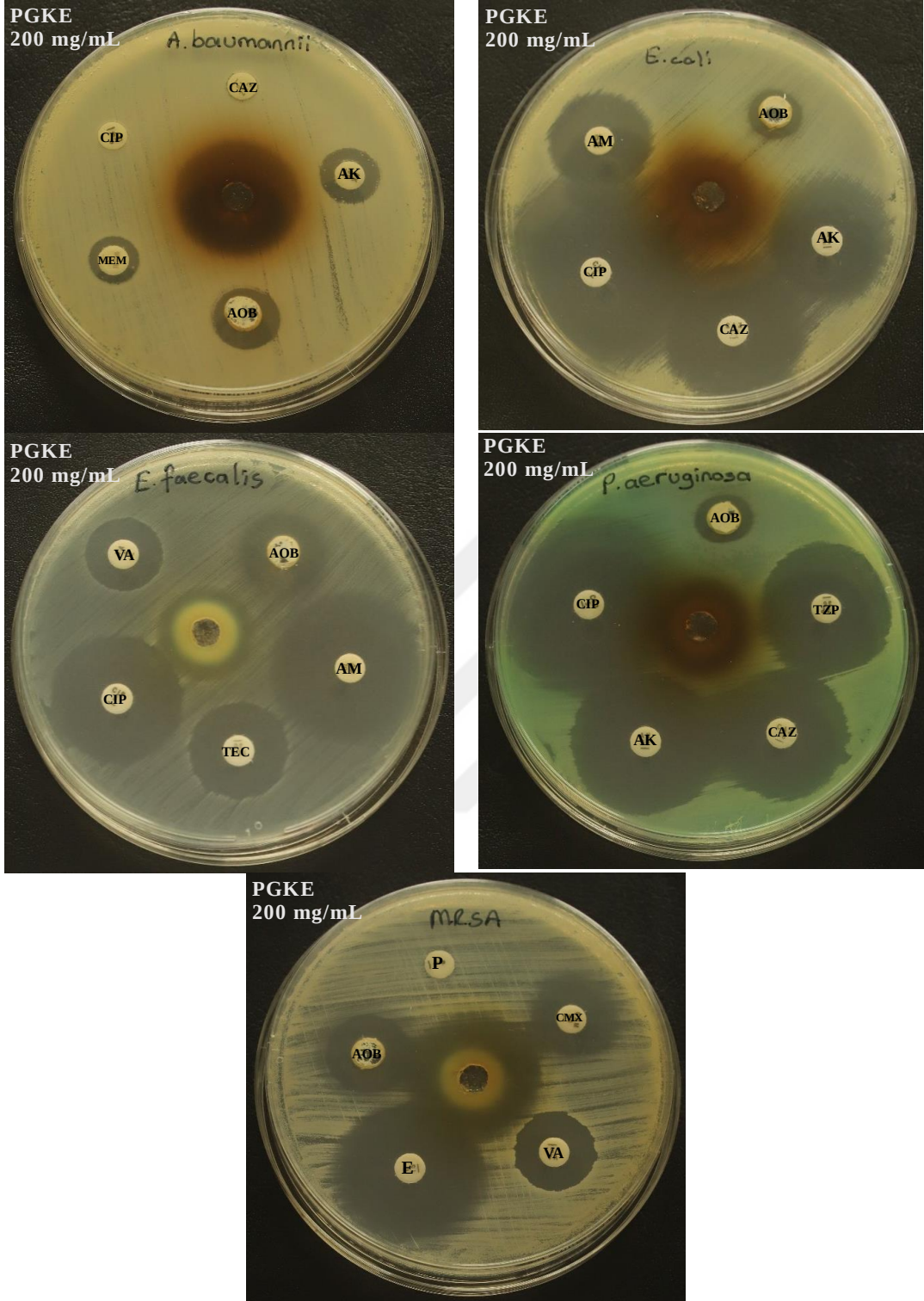
4.2.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Test Sonuçları

P.granatum kabuk ethanol ekstraktı merkezdeki kuyucuğa 200 mg/mL konsantrasyonda eklenerek antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında, test edilen patojenlere karşı standart antibiyotikler pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Elde edilen bulgular, PGKE'nın hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli rol oynayan *A.baumannii* ve MRSA gibi patojenlere karşı yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite sergilediğini ortaya koymuştur. PGKE'nın oluşturduğu inhibisyon zon çapları detaylı olarak Tablo 16 ve Şekil 17'de sunulmuştur.

Tablo 16. İnhibisyon zon çapları (mm)

Antibiyotik adı	Bakteri adı				
	<i>A.baumannii</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	MRSA
AK (30 µg)	12±0,47	27±0,47	VY	30±0,47	VY
AM (10 µg)	VY	21±0,47	32±0,47	VY	VY
E (15 µg)	VY	VY	VY	VY	32±0,47
MEM (10 µg)	10±0,47	VY	VY	VY	VY
P (1 µg)	VY	VY	VY	VY	-
TZP (30 µg)	VY	VY	VY	28±0,47	VY
CAZ (10 µg)	-	30±0,47	VY	26±0,47	VY
CXM (30 µg)	VY	VY	VY	VY	19±0,47
CIP (5 µg)	-	43±0,47	26±0,47	40±0,47	VY
TEC (30 µg)	VY	VY	20±0,47	VY	VY
VA (5 µg)	VY	VY	15±0,47	VY	17±0,47
PGKE (200 mg/mL)	27±0,81	21±0,5	20±0,81	20±1,41	26±0,47

VY: Veri Yok, -: Etkisiz, PGKE: *Punica granatum* Kabuk Ekstraktı



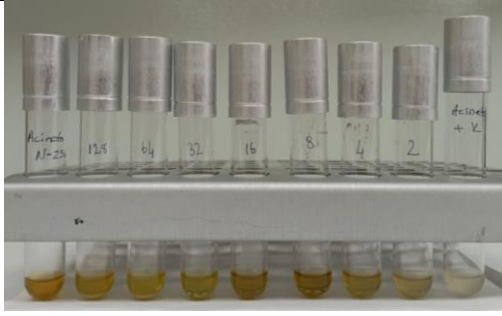
Şekil 17. Agar kuyucuk difüzyon testi sonuçları
AOB; Antibiyotik olmayan bileşik

4.2.2. MİK Analizi Sonuçları

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite testinde, tüm patojen bakterilerin 15 mm'nin üzerinde inhibisyon zonu çapı göstermesi nedeniyle, bütün bakterilerin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri belirlenmiştir. Test sonuçları, *E.coli*'nin MİK değeri 32 µg/mL, *E.faecalis* ve *P.aeruginosa*'nın MİK değerleri 16 µg/mL, *A.baumannii* 'nin MİK değeri 8 µg/mL olduğu belirlenmiş olup, en düşük değeri 4 µg/mL ile MRSA'nın oluşturduğu gözlemlenmiştir (Tablo 17).



Tablo 17. MİK Sonuçları (256–2 µg/mL)

Bakteri adı	MİK değeri (µg/mL)	
<i>A.baumannii</i>	8	
<i>E.coli</i>	32	
<i>E.faecalis</i>	16	
MRSA	4	
<i>P.aeruginosa</i>	16	

4.3. Histopatolojik Bulgular

Akciğer doku kesitlerinin Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyama parametreleri Şekil 18’de verilmiş olup, kontrol grubuna ait dokularda respiratuvar bronşiollelerin histolojik olarak normal yapıda olduğu, Tip I (ince ok) ve Tip II (ince ok) pnömositlerin morfolojik bütünlüğünü koruduğu gözlemlenmiştir. Herhangi bir inflamatuvar reaksiyon veya histopatolojik anomali saptanmamıştır (Şekil 19A-B, Tablo 18; AHS: 0 (0-0)). Buna karşın sepsis grubuna ait doku kesitlerinde belirgin interstisyel inflamasyonun yanı sıra alveolar septal duvar kalınlığında (spiral ok) artış saptanmıştır. Ayrıca, alveolar septal duvar boyunca damar yapılarında yaygın hiyalin membran formları izlenmiştir (Şekil 19C-D, Tablo 18; AHS: 7(7-7)). PGKE100 ve 300 uygulama gruplarında alveolar septal duvar kalınlığı, inflamasyon ve hiyalin membran oluşumlarında azalma kaydedilmiştir (Şekil 19E-F, Tablo 18; AHS: 2(2-3)). Bununla birlikte, respiratuvar bronşiollelerde Tip I ve Tip II pnömositlerin normal morfolojisini koruduğu saptanmıştır (Şekil 19G-H, Tablo 18; AHS: 2(1-2,5)).

Tablo 18. Akciğer Histopatolojik Hasar Skoru (AHS) Sonuçları (medyan (%25-%75 çeyrekler arası aralık))

Grup	Enflamasyon	Hiyalin membran oluşumu	Alveolar septum kalınlığı	AHS
Kontrol	0(0-0)	0(0-0)	1(1-1)	0(0-0)
Sepsis	2(2-3) ^a	2(2-2) ^a	3(2.5-3) ^a	7(7-7) ^a
PGKE100	1(1-1) ^{a,b}	0(0-1) ^b	1(1-2) ^{a,b}	2(2-3) ^{a,b}
PGKE300	1(1-1) ^{a,b}	0(0-0.5) ^b	1.5(1-2) ^{a,b}	2(1-2.5) ^{a,b}

^a $p=0.001$ Kontrol grubuna kıyasla,

^b $p=0.001$ Sepsis grubuna kıyasla,

Kruskal Wallis -Tamhane’s T2 test

Alveolar duvar ve alveolar septal kalınlıkları Tablo 19’da verilmiş olup, kontrol grubunda alveolar duvar kalınlığı medyan 6.38 μm olarak belirlenmiştir. Sepsis grubunda ise alveolar duvar kalınlığında anlamlı bir artış gözlemlenmiş olup, medyan 29.63 μm olarak tespit edilmiştir ($p=0.001$, kontrol grubuna kıyasla). Tedavi uygulanan PGKE100 ve PGKE300 gruplarında ise bu kalınlık sırasıyla 12.95 μm ve 10.66 μm olarak ölçülmüş; her iki grup da sepsis grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0.001$).

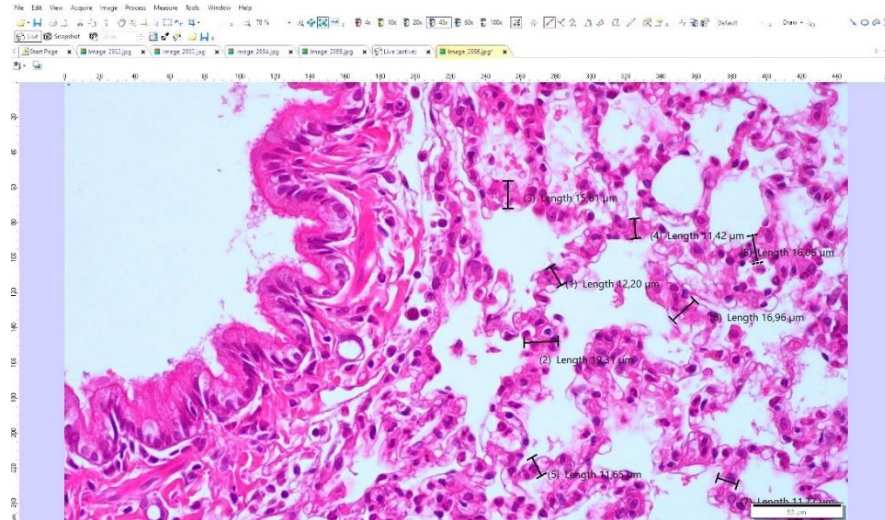
Alveolar septum kalınlığı açısından değerlendirildiğinde, sepsis grubunda kontrol grubuna göre yaklaşık 4,6 kat artış olduğu görülmüştür. Tedavi gruplarından PGKE100 ve PGKE300’de bu oran sırasıyla 2,02 ve 1,67 olarak bulunmuş ve sepsis grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır.

Tablo 19. Alveolar duvar ve alveolar septum kalınlıkları (medyan ve%25-%75 çeyrekler arası aralıklar ile birlikte)

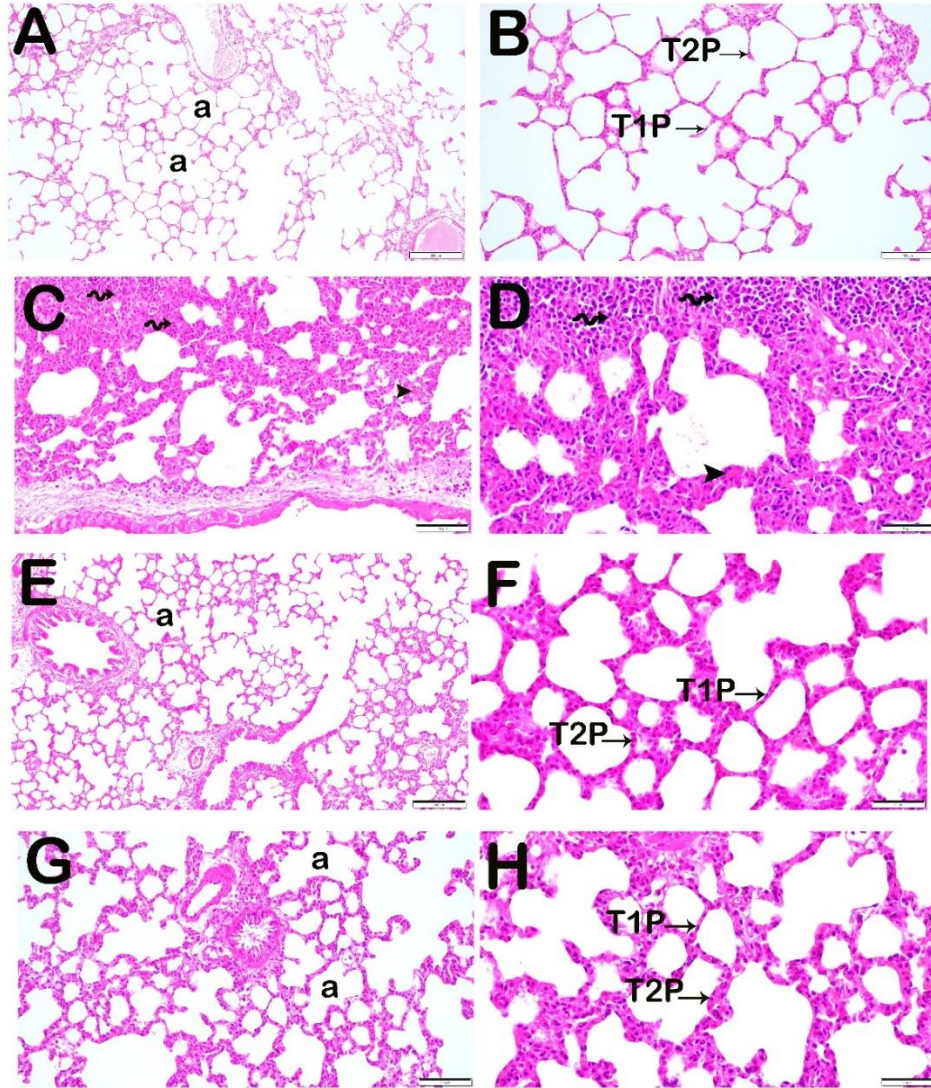
Grup	Alveolar duvar kalınlığı (µm) (medyan+standart sapma)	Alveolar septum kalınlığı (Tedavi Grubu/Kontrol Grubu)	Alveolar septum kalınlığı (Matute-Bello vd., 2011)
Kontrol	6.38(6.28-7.35)	1.00	1 (<X2)
Sepsis	29.63(22.21-34.50)	4.644	3 (≥X4)
PGKE100	12.95(11.77-16.06)	2.02	1 (>X2)
PGKE300	10.66(9.66-12.20)	1.67	0 (<X2)

^ap=0.001 Kontrol grubuna kıyasla,

^bp=0.001 Sepsis grubuna kıyasla,
Kruskal Wallis -Tamhane’s T2 test



Şekil 18. H&E ile boyanmış akciğer dokusuna ait kesitlerin ölçüm parametreleri



Şekil 19. H&E ile boyanmış akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü. Alveol (a), Tip I pnömosit (T1P) veya Tip II pnömositler (T2P)
A(x10)-B(x40): Kontrol grubu. **C(x20)-D(x40):** Sepsis grubu. **E(x10)-F(x40):** PGKE100 grubu. **G(x20)-H(x40):** PGKE300 grubu.

Böbrek dokusu kesitlerinde kontrol grubuna ait dokularda, renal tübüller ve renal korpüsküllerin (RC) normal histolojik yapısını koruduğu gözlemlenmiştir. Proksimal tübüllerde (p) fırçamsı kenar yapısının (spiral ok) belirgin olduğu, glomerulus ve Bowman kapsülünden oluşan renal korpüsküllerin ve distal tübüllerin (d) morfolojik olarak normal olduğu izlenmiştir (Şekil 20A-B, Tablo 20; TNS: 0(0-0,5). Bunun aksine, sepsis grubuna ait böbrek dokusu kesitlerinde, renal tübül epitel hücrelerinde yaygın vakuolizasyon ile birlikte proksimal tübül epitel hücrelerinde fırçamsı kenar (ok başı) yapılarında kayıplar gözlenmiştir. Ayrıca, renal

tübüllerde belirgin debris birikimi saptanmıştır (Şekil 20C-D, Tablo 20; TNS: 7,5(5-8)). PGKE100 grubunda, proksimal ve distal tübüllerdeki vakuolizasyonun ve nekrotik epitel hücrelerinin varlığının azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, renal tübüllerdeki debris birikiminde azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, proksimal tübül epitel hücrelerinde fırçamsı kenar yapılarının tipik morfolojisini koruduğu izlenmiştir (Şekil 20E-F, Tablo 20; TNS: 1,5(0,5-2)). Benzer olarak, PGKE300 tedavi grubuna ait böbrek dokusu kesitlerinde doku hasarının azaldığı, ayrıca proksimal tübüllerdeki epitel hücrelerinin histolojik olarak tipik yapısını koruduğu izlenmiştir (Şekil 20G-H, Tablo 20; TNS:1(0,5-1)).

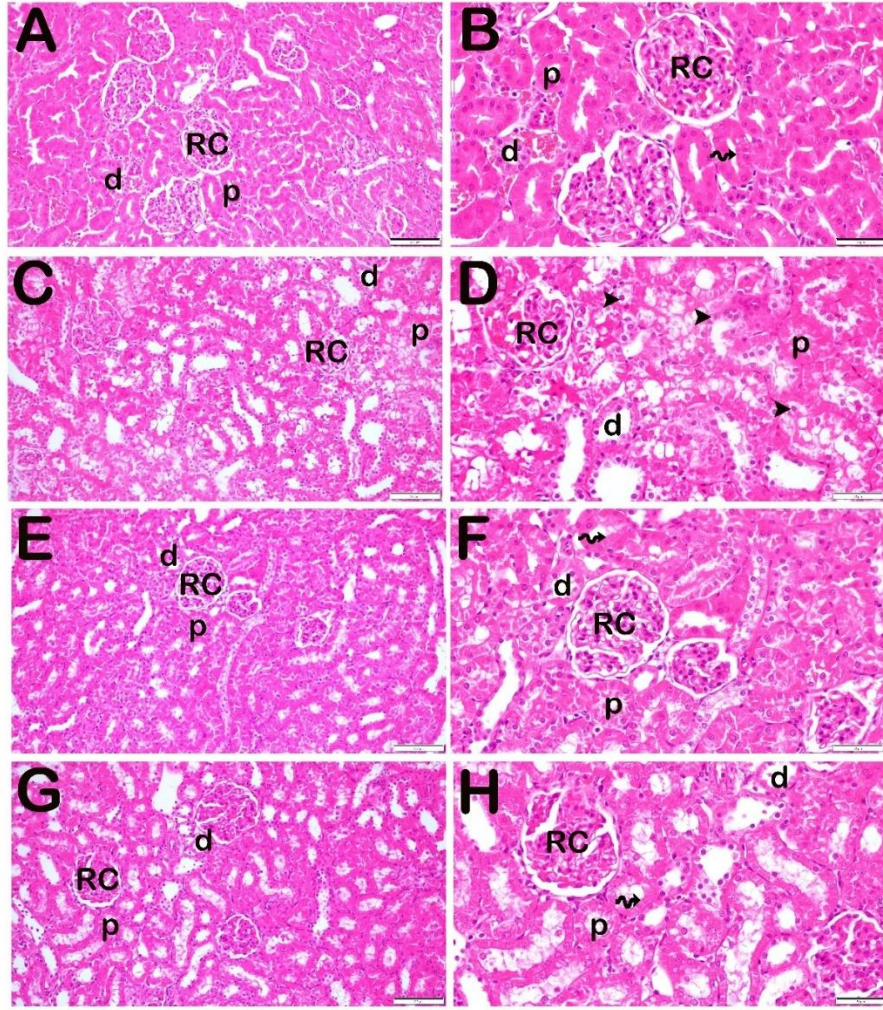
Tablo 20. Tübüler Nekroz Skoru (TNS) Sonuçları (medyan (%25-%75 çeyrekler arası aralık))

Grup	Fırçamsı kenar hasar skoru	Lüminal Döküntü Birikimi Skoru	Tübüler Epitel Hücre Kaybı Skoru	TNS
Kontrol	0(0-0.5)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0.5)
Sepsis	2.5(2-3) ^a	2(1-2) ^a	3(2-3) ^a	7.5(5-8) ^a
PGKE100	1(0-1) ^b	0(0-0.5) ^b	0.5(0-0.5) ^b	1.5(0.5-2) ^{a,b}
PGKE300	0.5(0-0.5) ^b	0(0-.5) ^b	0(0-0.5) ^b	1(0.5-1) ^{a,b}

^ap=0.001 Kontrol grubuna kıyasla,

^bp=0.001 Sepsis grubuna kıyasla,

Kruskal Wallis - Dunn testi



Şekil 20. H&E ile boyanmış böbrek dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik ekran görüntüsü. Renal korpüskül (RC), proksimal tübül (p), distal tübül (d). **A(x20)-B(x40):** Kontrol grubu. **C(x20)-D(x40):** Sepsis grubu. **E(x20)-F(x40):** PGKE100 tedavi grubu. **G(x20)-H(x40):** PGKE300 tedavi grubu.

4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.4.1. Semikantitatif Bulgular

İmmünohistokimyasal boyanan akciğer ve böbrek dokuları immünohistokimyasal pozitivite derecelendirme metodu kullanılarak skorlanmıştır. Akciğer dokusu IHC pozitivite skorları Tablo 21, böbrek dokusu IHC pozitivite skorları Tablo 22’de verilmiştir. Anti-TLR4, anti-NF- κ B/p65 ve anti-TNF- α boyama sonucunda gruplar arasında istatistiksel anlamlılıklar bulunmaktadır.

Her iki dokuda da sepsis grubunda kontrol grubuna kıyasla TLR4, NF- κ B/p65 ve TNF- α seviyeleri anlamlı şekilde artmıştır ($p < 0.05$). PGKE100 ve PGKE300

gruplarının sepsis grubuna kıyasla inflamasyonu anlamlı şekilde azalttığı belirtilmektedir ($p<0.05$). PGKE100 ve PGKE300 grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, bu gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 21. Akciğer semikantitatif bulgu sonuçları

Grup	TLR4 Pozitivite skoru	NF- κ B/p65 Pozitivite skoru	TNF- α Pozitivite skoru
Kontrol	0 (0-0)	0(0-0)	0(0-0)
Sepsis	2 (2-3) ^a	2(2-3) ^a	3(2-3) ^a
PGKE100	0(0-1) ^c	0(0-1) ^{a,c,d}	0(0-0.5) ^{b,e}
PGKE300	0(0-1) ^b	0(0-1) ^c	0(0-0) ^b

^a $p=0.001$ Kontrol grubuna kıyasla,

^b $p=0.005$ Kontrol grubuna kıyasla,

^c $p=0.001$ Sepsis grubuna kıyasla,

^d $p=0.005$ Sepsis grubuna kıyasla,

^e $p=0.009$ Sepsis grubuna kıyasla,

Kruskal Wallis-Tamhane T2

Tablo 22. Böbrek semikantitatif bulgu sonuçları

Grup	TLR4 Pozitivite skoru	NF- κ B/p65 Pozitivite skoru
Kontrol	0(0-0,5)	0(0-0)
Sepsis	2(1-2) ^a	3(2-3) ^a
PGKE100	0,5(0-0,5) ^b	0(0-1) ^b
PGKE300	0,5(0-0,5) ^b	0(0-0,5) ^b

^a $p=0.001$ Kontrol grubuna kıyasla,

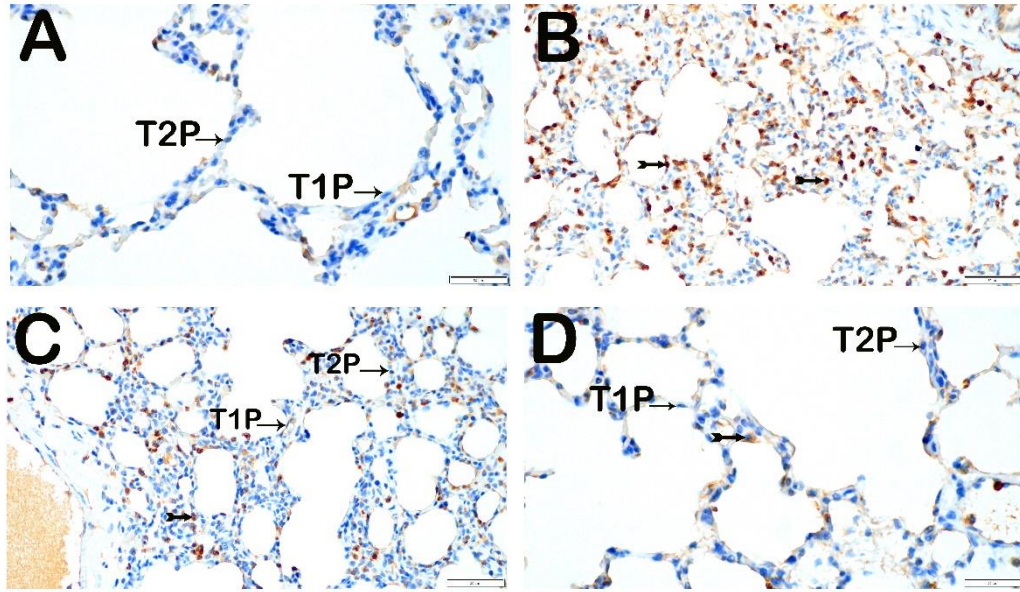
^b $p=0.005$ Kontrol grubuna kıyasla,

Kruskal Wallis/Dunn Testi

4.4.2. Anti-TLR4 Antikor Boyama Bulguları

Kontrol grubuna ait akciğer dokusu kesitlerinde, respiratuvar bronşiollelerin normal histolojik morfolojinin korunduğu ve Tip I ve Tip II pnömositlerin immün-negatif olduğu gözlemlenmiştir. Herhangi bir TLR4 pozitif hücre varlığı saptanmamıştır (Şekil 21A, Tablo 21; TLR4 Pozitiflik Skoru: 0(0-0)). Bunun aksine, sepsis grubuna ait akciğer dokusu kesitlerinde, alveolar-septal duvar yapılarında yoğun TLR4 pozitifliği gösteren çok sayıda hücrenin varlığı dikkat çekmiştir. TLR4 ekspresyonunun belirgin bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 21B, Tablo 21; TLR4 Pozitiflik Skoru: 2(2-3)). PGKE100 grubunda, TLR4 immün-pozitif hücrelerin

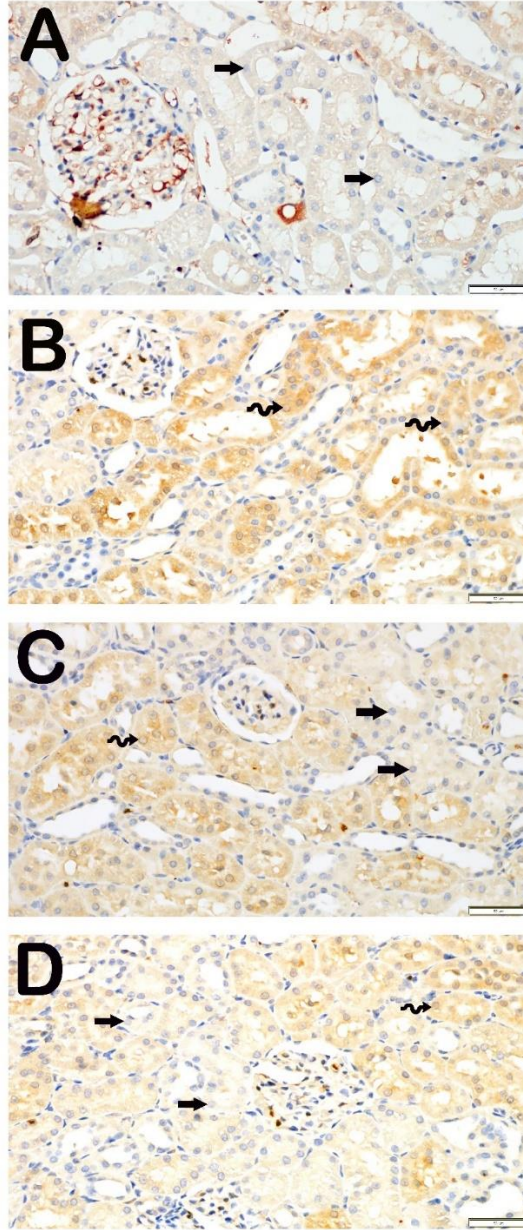
sayısında belirgin bir azalma tespit edilmiştir (Şekil 21C, Tablo 21; TLR4 Pozitiflik Skoru: 0(0-1)). Benzer şekilde, PGKE300 uygulama grubundaki kesitlerde TLR4 immün-pozitifliği gösteren hücrelerin sayısında belirgin bir azalma olduğu, buna ek olarak Tip I ve Tip II pnömositlerin histolojik olarak korunduğu gözlemlenmiştir (Şekil 21D, Tablo 21; TLR4 Pozitiflik Skoru: 0(0-1)).



Şekil 21. TLR4 primer antikoru ile inkübe edilmiş akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü. Tip I pnömosit (T1P) veya Tip II pnömosit (T2P). TLR4 pozitif hücre (kuyruklu ok). **A(x40):** Kontrol grubu. **B(x20):** Sepsis grubu. **C(x20):** PGKE100 grubu. **D(x40):** PGKE300 grubu

Böbreklerde kontrol grubuna ait kesitlerde kortekste yaygın olarak normal yapıda renal tübül epitel hücreleri gözlemlenmiştir. TLR4 immün-pozitifliği saptanmamıştır (Şekil 22A, Tablo 22; TLR4 Pozitiflik Skoru: 0(0-0,5)). Bunun aksine, sepsis grubunda yoğun TLR4 pozitifliği gösteren apoptotik renal tübül epitel hücrelerinin yaygın olarak bulunduğu gözlemlenmiştir (Şekil 22B, Tablo 22; $p=0.001$, TLR4 Pozitiflik Skoru: 2(1-2)). PGKE100 grubunda, böbrek dokusundaki apoptotik renal tübül epitel hücrelerinde TLR4 immün-pozitifliği gösteren hücre sayısının, sepsis grubuna kıyasla belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 22C, Tablo 22; $p=0.001$, TLR4 Pozitiflik Skoru: 0,5(0-0,5)). Benzer olarak, PGKE300 grubunda, böbrek korteksinde apoptotik renal tübül epitel hücrelerinde TLR4 immün-pozitifliği gösteren hücre sayısında, sepsis grubuna kıyasla belirgin bir

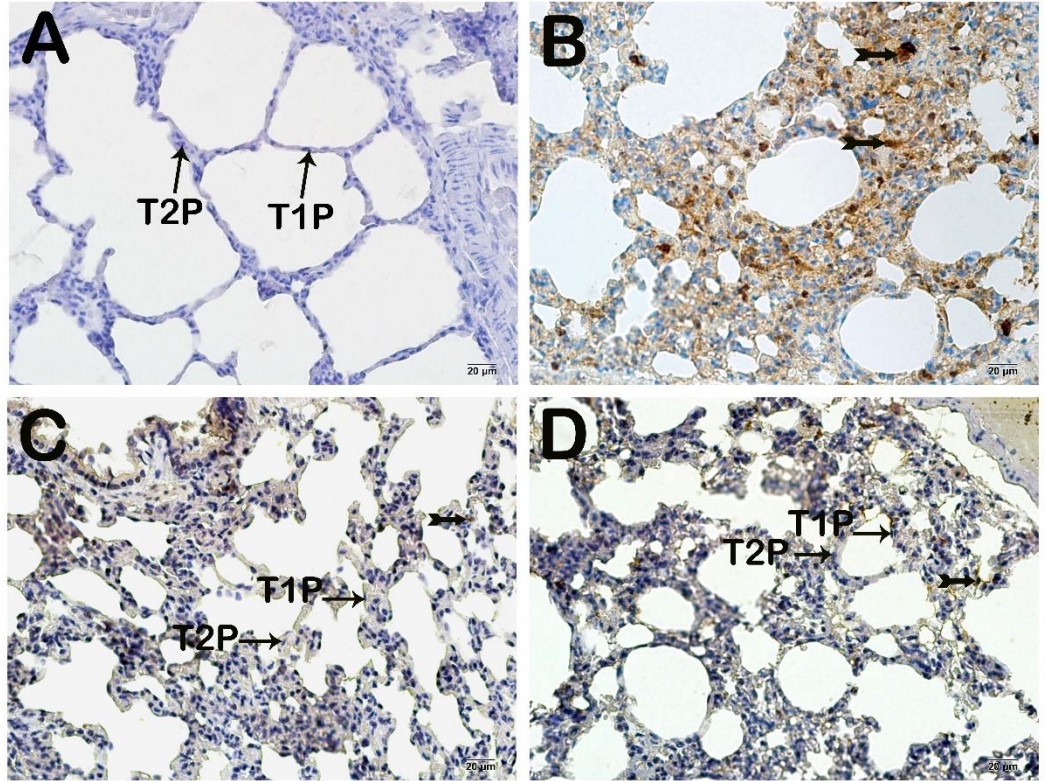
azalma olduğu saptanmıştır (şekil 22D, Tablo22; $p=0.001$, TLR4 Pozitiflik Skoru: 0,5(0-0,5)).



şekil 22. TLR4 primer antikoruu ile inkübe edilmiş böbrek dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü. Renal tüböl epitel hücresi (ok). Apoptotik renal epitel hücresi (kıvrık ok). **A(x40):** Kontrol grubu. **B(x40)** Sepsis grubu. **C(x40):** PGKE100 tedavi grubu. **D(x40):** PGKE300 tedavi grubu

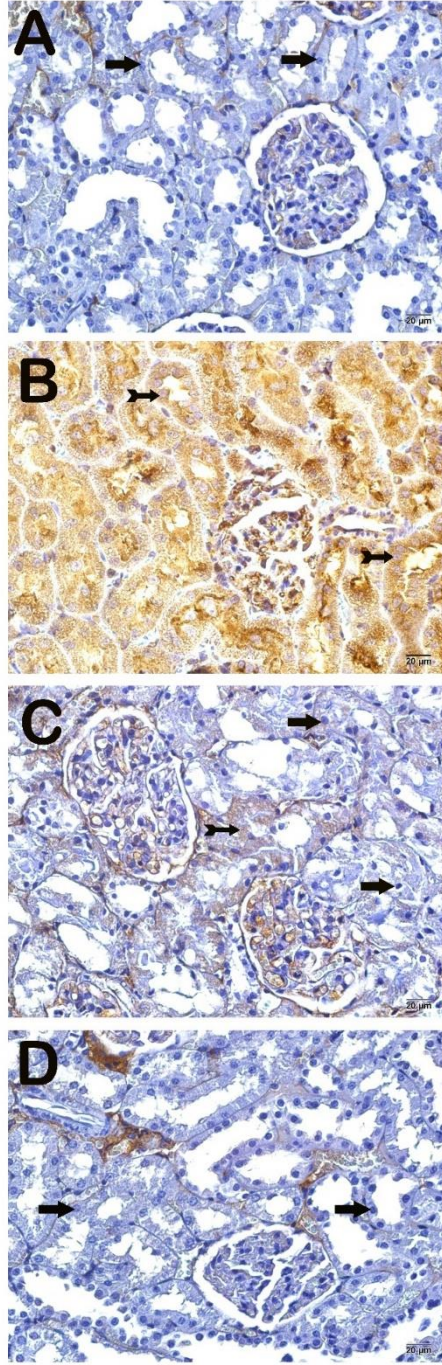
4.4.3. Anti-NF-κB Antikor Boyama Bulguları

Akciğer dokusu kontrol grubunda, alveolar-septal duvarlarında normal yapıdaki Tip I ve Tip II pnömositlerin NF-κB/p65 primer antikoruna bakımından immün-negatif olduğu izlenmektedir (Şekil 23A, Tablo 21, NF-κB/p65 pozitiflik skoru: 0(0-0)). Aksine, sepsis grubunda alveolar-septal duvar yapılarındaki hücrelerde, yoğun NF-κB/p65 pozitifliği gösteren çok sayıda hücre gözlemlenmiştir (Şekil 23B, Tablo 21, NF-κB/p65 pozitiflik skoru: 2(2-3)). PGKE100 tedavi grubunda, alveolar-septal duvarlarda, immün-pozitif hücre sayısında azalma gözlemlenmiş, bunun yanında yaygın olarak NF-κB/p65 negatif tipik yapıdaki Tip I pnömosit ve Tip II pnömositler gözlemlenmiştir (Şekil 23C, Tablo 21, NF-κB/p65 pozitiflik skoru: 0(0-1)). PGKE300 grubunda NF-κB/p65 primer antikoruna bakımından immün-pozitif hücre sayısının azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 23D, Tablo 21, NF-κB/p65 pozitiflik skoru: 0(0-1)).



Şekil 23. NF-κB/p65 primer antikoruna ile inkübe edilmiş akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü. Tip I pnömosit (T1P) veya Tip II pnömosit (T2P). NF-κB/p65 pozitif hücre (kuyruklu ok). **A(x40):** Kontrol grubu. **B(x40):** Sepsis grubu. **C(x40):** PGKE100 tedavi grubu. **D(x40):** PGKE300 tedavi grubu.

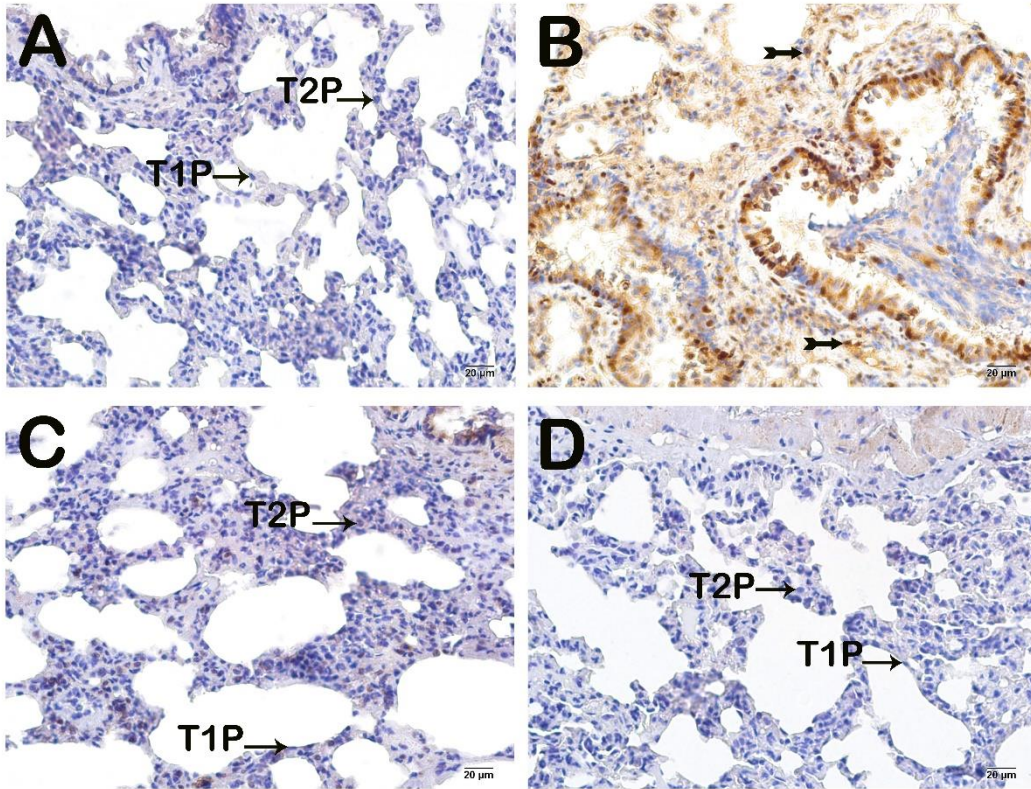
Kontrol grubunda böbrek korteksinde, yaygın olarak normal yapıdaki renal tübül epiteli izlenmektedir (Şekil 24A, Tablo 22, $p=0.001$, NF- κ B/p65 Pozitiflik Skoru: 0(0-0)). Bunun aksine, sepsis grubuna ait böbrek dokusu kesitlerinde, yoğun NF- κ B/p65 pozitifliği gösteren renal epitel hücrelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 24B, Tablo 22, $p=0.001$, NF- κ B/p65 Pozitiflik Skoru: 3(2-3)). Aksine, PGKE100 grubunda, böbrek korteksinde renal tübül epitel hücrelerinde NF- κ B/p65 pozitifliği gösteren hücrelerin sayısında azalma olduğu, bu azalmanın sepsis grubuna kıyasla gözlendiği saptanmıştır (Şekil 24C, Tablo 22, $p=0.001$, NF- κ B/p65 Pozitiflik Skoru: 0(0-1)). Benzer olarak, PGKE300 uygulama grubunda böbrek dokusundaki proksimal ve distal epitel hücrelerinde yoğun immün-pozitivite gösteren hücrelerin sayısında sepsis grubuna kıyasla azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 24D, Tablo 22, $p=0.001$, NF- κ B/p65 Pozitiflik Skoru: 0(0-0,5)).



Şekil 24. NF- κ B/p65 primer antikoru ile inkübe edilmiş böbrek dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü. Renal tübül epitel hücresi (ok). Apoptotik renal epitel hücresi (kuyruklu ok). **A(x40):** Kontrol grubu. **B(x40)** Sepsis grubu. **C(x40):** PGKE100 tedavi grubu. **D(x40):** PGKE300 tedavi grubu.

4.4.4. Anti-TNF- α Antikor Boyama Bulguları

Akciğer dokusu kontrol grubunda alveolar-septal duvarlarında normal yapıdaki TNF- α primer antikoru bakımından negatif Tip I pnömosit ve Tip II pnömositler izlenmektedir (Şekil 25A, Tablo 21, TNF- α pozitiflik skoru: 0(0-0)). Aksine, sepsis grubunda Tip I ve Tip II pnömositlerde yoğun TNF- α pozitifliği gözlenmiştir (Şekil 25B, Tablo 21, TNF- α pozitiflik skoru: 3(2-3)). PGKE100 tedavi grubunda, alveolar septal duvar yapılarında, yoğun immün-pozitiflik gösteren hücrelerin sayıca azalmış olduğu gözlemlenmektedir (Şekil 25C, Tablo 21, TNF- α pozitiflik skoru: 0(0-0,5)). Benzer şekilde, PGKE300 grubunda immün-pozitiflik gösteren hücrelerin sayıca azalmış olduğu ve yaygın olarak immün-negatif Tip I pnömosit ve Tip II pnömositlerinde olduğu izlenmektedir (Şekil 25D, Tablo 21, TNF- α pozitiflik skoru: 0(0-0)).



Şekil 25. TNF- α primer antikoru ile inkübe edilmiş akciğer dokusu kesitlerinde temsili ışık mikroskopik görüntüsü. Tip I pnömosit (T1P). Tip II pnömosit (T2P). TNF- α pozitif hücre (kuyruklu ok). **A(x40):** Kontrol grubu. **B(x40)** Sepsis grubu. **C(x40):** PGKE100 tedavi grubu. **D(x40):** PGKE300 tedavi grubu.

5. TARTIŞMA

Doğal kaynaklardan elde edilen ekstraktların terapötik potansiyellerinin araştırılması, insanlık tarihinin en eski tıbbi uygulamalarından biri olup modern ilaç keşfi süreçlerinin temel taşlarını oluşturmaktadır. Etnofarmakoloji, geleneksel olarak kullanılan ve biyolojik olarak aktif maddelerin mutlidisipliner bir yaklaşımla değerlendirilmesini amaçlayan bir araştırma alanıdır (Süntar, 2020). Halk hekimliğinde kullanılan bitki materyallerinin botanik tanımlanması, fitokimyasal bileşenlerinin ayrıştırılması ve farmakolojik etkilerinin ortaya konması gibi farmakognozi temelli çalışmalar, yeni ve etkili tedavi ajanlarının geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır. Günümüzde, farmasötik ürünlerde bulunan pek çok aktif bileşen, kökenini etnomedikal uygulamalardan almaktadır (Süntar, 2020). Antibiyotiklerin keşfiyle başlayan "altın çağ" da elde edilen kısa vadeli başarılar, günümüzde artan antimikrobiyal direnç nedeniyle özellikle sepsis gibi yüksek morbidite ve mortaliteye sahip kompleks vakalarda yerini ciddi bir tehdide bırakmıştır (Angus vd., 2001; CDC, 2019). Sepsisle mücadelede etkili bir tedavinin bulunmaması ve antimikrobiyal dirençteki küresel artış, doğal kaynakların terapötik potansiyelini yeniden gündeme getirmiştir.

Bu bağlamda, *Punica granatum* (nar) sahip olduğu farmasötik özellikler nedeniyle antik dönemlerden bu yana geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. *P.granatum*'un içerdiği 48'den fazla biyoaktif bileşik, bitkinin terapötik etkilerinden sorumlu temel bileşenler olarak değerlendirilmektedir. Flavonoidler, tanenler ve alkaloidler gibi çeşitli biyoaktif bileşikler sayesinde geniş bir terapötik potansiyele sahip doğal bir ajan olarak öne çıkmaktadır (Al-Zoreky, 2009; Marques vd., 2016; Sharma vd., 2017; Mastrogiorganni vd., 2019; Ge vd., 2021; Govindappa vd., 2021; Ko vd., 2021; Segar vd., 2023). Flavonoidlerin anti-kanser ve kardiyoprotektif aktiviteleri artırdığı bildirilmiştir (Adiga vd., 2010). Ayrıca, nar güçlü bir antioksidan, anti-inflamatuar ve sitoprotektif ajan olarak değerlendirilmektedir. Bu özellikler, kanser, viral enfeksiyonlar, inflammatuar hastalıklar, diyabet, sıtma, karaciğer fibrozu, romatizmal rahatsızlıklar, böbrek ve gastrointestinal sistem hastalıkları, dermatolojik, fungal ve bakteriyel enfeksiyonlar gibi çok çeşitli patolojik durumlardaki potansiyel terapötik rolünü desteklemektedir

(Eghbali vd., 2021; Maphetu vd., 2022; Alsubhi vd., 2022; Kachkoul vd., 2023; Segar vd., 2023; Singh vd., 2023).

P.granatum'un çeşitli parçalarıyla yapılan çalışmada kabuk özütünün önemli ölçüde biyoaktif bileşik içerdiği ortaya konmuştur. Çiçek, sap, yaprak ve çekirdek özütlerine kıyasla kabuk en yüksek proantosiyanidin ve fenolik/flavonoid içeriğine sahip olup, hidroksil radikali temizleme testlerinde güçlü antioksidan aktiviteler sergilemiştir (Rummun vd. 2013). Ayrıca, Yenil ve arkadaşları kuru kabuk özütünün taze kabuk özütünden daha fazla fenolik bileşiğe sahip olduğunu, taze kabuktaki fazla suyun antioksidan verimini olumsuz yönde etkilediğini bildirilmiştir (Yenil vd., 2023). Kurutulmuş *P.granatum* posasında ana fenolik bileşik olarak punikalagin tespit edilmiş olup, aseton, su ve metanol ile elde edilen özütlerin fenolik içeriği karşılaştırıldığında en yüksek oranın aseton ekstraktında, ardından sırasıyla su ve metanol ekstraktlarında bulunduğu belirlenmiştir (Alsubhi vd., 2022). Benzer şekilde, sulu aseton özütünün en aktif özüt olduğu ve antioksidan olarak en yüksek radikal temizleme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Jacob vd., 2018). Bunun aksine, çeşitli çözücülerin kullanıldığı başka bir çalışmada etanol ve sulu *P.granatum* kabuk ekstraktlarının daha fazla aktif bileşik içerdiği, aseton ekstraktında ise sınırlı sayıda fitokonstitüentin bulunduğu bildirilmiştir (Mayasankaravalli vd., 2020). Guo ve arkadaşları 28 farklı *P.granatum* çeşidini inceledikleri çalışmada kabuk, aril (meyve) ve çekirdek fraksiyonlarında en yüksek antioksidan aktivitenin kabuk kısmında bulunduğu tespit edilmiştir (Guo vd., 2003). *P.granatum* kabuk ve aril özütlerinin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada kabuğun meyve özütüne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. 100 ve 200 µg/mL *P.granatum* kabuk ekstraktının MDA düzeylerinde sırasıyla %39,81 ve %52,58'lik inhibisyon sağlarken, aynı konsantrasyonlardaki meyve özütleri %17,32 ve %23,4 ile daha düşük inhibisyon oranları göstermiştir (Benchagra vd., 2021). Bu durum, antioksidan kapasitenin toplam fenolik içerik miktarıyla ilişkili olduğunu; fenolik içeriğin ise ekstraksiyon için kullanılan çözücünün polaritesine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

P.granatum'un terapötik etkileri, bünyesinde bulunan fenolik bileşiklerin biyoaktif özellikleriyle yakından ilişkilidir. Punikalin (PL) ve Punikalagin (PUN)

izomerleri, ellagik asit (EA) türevleri ve antosiyaninler *P.granatum*'un baskın fenolik bileşikleridir (Zivkovic vd., 2021). Bu bileşikler güçlü antioksidan kapasitesi sayesinde lipit peroksidasyon süreçlerini inhibe eder (Gil vd., 2000; Noda vd., 2002; Ruan vd., 2022). *P.granatum*'un içeriğinde bulunan yüksek orandaki fenolik bileşikler, serbest oksijen radikallerini nötralize ederek oksidatif stresi azaltmaktadırlar (Cerdea vd., 2003; Bachoual vd., 2011; Srivastava vd., 2014; Kazemi vd., 2016). Antioksidan özellik serbest radikal temizleme yeteneği, lipit peroksidasyonunu inhibe eden yüksek polifenol içeriği ve oksidatif hasarı azaltmada rol oynayan süperoksit dismutaz (SOD) gibi endojen savunma mekanizmalarının aktivasyonu yoluyla gerçekleşmektedir (Dschietzig vd., 2001; Segar vd., 2023). *P.granatum* nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) yollarını aktive ederek antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirir. Nrf2, SOD, katalaz (CAT) ve glutatyon-S-transferaz (GST) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hasarı azaltır (Souza Basso vd., 2021; Xu vd., 2019).

TBARS lipit peroksidasyonunun biyokimyasal belirteçlerinden biri olan MDA başta olmak üzere, lipit oksidasyon ürünlerinin konsantrasyonunu kantitatif olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır (Marques vd., 2016; Khan vd., 2017). Hücresel düzeyde oksidan/antioksidan seviyelerindeki dengesizlik TBARS seviyelerini artırarak organ hasarına neden olabilir (Tsikas, 2017). TBARS düzeylerindeki azalma ise biyolojik sistemlerde oksidatif stres kaynaklı lipit peroksidasyonunun inhibisyonuna işaret etmektedir (Benchagra vd., 2021). Bu çalışmada hem akciğer hem de böbrek dokularındaki sepsis grubunda kontrol grubuna kıyasla TBARS seviyelerinde önemli bir artış olduğunu gözlemlenmiştir. Sepsis modeli oluşturulmadan önce profilaktik olarak uygulanan PGKE (100 ve 300 mg/mL), sepsis grubuna kıyasla TBARS seviyelerini düşürdü. Araştırmalar, *P.granatum*'un sepsis kaynaklı akciğer hasarında TBARS seviyelerini azalttığını göstermiştir (Mandić-Kovačević vd., 2023; Zago vd., 2020; Shaheen & Elkholy, 2024; Bouasla vd., 2021). Ayrıca, oksidatif stresle oluşan karaciğer hasarı üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmada PGKE'nin antioksidan durumu iyileştirdiği ve inflamasyon belirteçlerini azalttığı bulunmuştur (El-Demerdash vd., 2023). Benchagra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *P.granatum* kabuk ekstraktı

uygulanan gruplarda, TBARS seviyelerinin doza bağımlı olarak azaldığı ve kontrol grubu TBARS seviyesinin altına düştüğü gözlemlenmiştir (Benchagra vd., 2021). Bu bulgular, *P.granatum*'un antioksidan kapasitesinin indüklenmiş oksidatif stresi baskılamasının yanı sıra bazal metabolik aktivite sırasında oluşan endojen oksidatif hasarı ve hücre kültürü koşullarından kaynaklanan lipid peroksidasyonunu da anlamlı düzeyde azaltabildiğini göstermektedir.

GSH seviyelerinin azalması, artan hasarla ilişkilidir; bu durum GSH'ın antioksidan etkinliğini azaltarak oksidatif stresle ilişkili doku hasarına yol açar (Holvoet vd., 2004). GSH düzeylerinin yükselmesi ise hücresel hasara karşı koruyucu bir mekanizma görevi görür. Bu çalışmada, sepsis grubu kontrol grubuna kıyasla GSH seviyelerinde önemli bir artış gösterdi. Sonuçlar, LPS'nin oksidatif strese neden olduğunu ve GSH seviyelerinin antioksidan yanıtı artırma eğiliminde olduğunu göstermektedir. PGKE tedavi grupları kontrol grubuna benzer GSH seviyeleri gösterdi ve bu PGKE'nin sepsis kaynaklı hasarı hafifletebileceğini düşündürmektedir. Sepsis ilişkili oksidatif stres üzerine yapılan birçok çalışma, TBARS ve GSH seviyelerinin dokularda yükseldiğini ve *P.granatum* takviyelerinin lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Doostan vd., 2017; Althunibat vd., 2010; Zeng vd., 2022). Antioksidan savunma mekanizmalarını SOD, CAT, GSH ve GST gibi enzimler aracılığıyla güçlendirmiştir (Govindappa vd., 2021; Ko vd., 2021). Murthy ve arkadaşlarının çalışmasında, ratların PGKE ile ön tedavisi lipid peroksidasyonunu %54 oranında azaltmıştır (Murthy vd., 2002). Ek olarak, Shafik ve arkadaşları, *P.granatum*'un antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri sayesinde karaciğer hasarını önemli ölçüde iyileştirdiğini vurguladılar (Shafik & El Batsh, 2016). Diyabetik rat modelinde süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, GSH seviyeleri ve MDA seviyeleri ile sitokin ekspresyonu (TNF- α ve IL-1 β) dahil olmak üzere oksidatif stres belirteçlerini etkili bir şekilde düzenlediğini bulmuştur (Uğan vd., 2020). Nar kabuğu ile zenginleştirilmiş diyetin süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırdığı ve indirgenmiş glutatyon seviyelerini yükselttiği gözlemlenmiştir (Hamed & Abdel-Tawwab, 2021). Oksidatif stres ve testis hasarı üzerine yapılan bir çalışmada proflaktik *P.granatum* meyve posası ekstresi uygulamasının TBARS ve hidrojen peroksit seviyelerini anlamlı derecede

düşürdüğü, aynı zamanda GSH içeriği ile antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir (El-Demerdash vd., 2023).

Sepsis, patojenlere karşı gelişen proinflatuar yanıtlar ile aşırı inflamasyonu kontrol altına almayı hedefleyen anti-inflatuar mekanizmalar arasındaki homeostatik dengenin bozulması sonucu ortaya çıkan patolojik bir durum olarak tanımlanmaktadır (Anas vd., 2010). Sepsisle ilişkili hasarın ana nedeni, inflamatuvar sitokinlerin tetiklenmesi ve yoğun amplifikasyonudur. Gram negatif bakterilerin dış zarında bulunan LPS, TLR4 reseptörüne bağlanarak TLR4'ü aktive eder. TLR4 aktivasyonu hücre içindeki NF- κ B yolağını uyararak TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu başlatır (Poltorak vd., 1998; Dschietzig vd., 2001; Santos vd., 2012). NF- κ B, inflamasyon ve kanserle ilişkili bir transkripsiyon faktörüdür. NF- κ B'nin aktivasyonu, Siklooksijenaz-2 (COX-2) ve iNOS gibi enzimlerin ekspresyonunu artırarak inflamasyon patogeneğinde kritik rol oynar. Proinflatuar sitokinlerin salınımını ve aktivitesini düzenleyerek sepsiste önemli bir rol oynar (Bouchard vd., 2015; Zhang vd., 2021). TLR4 ve TNF- α düzeylerinin sepsiste arttığı ve hastalığın şiddetiyle pozitif korelasyon gösterdiği bilinmektedir (Jordakieva vd., 2021). Veriler, artan TLR4, NF- κ B ve TNF- α düzeylerinin sepsisi şiddetlendirdiğini, PGKE'nin sepsise karşı bir savunma mekanizması oluşturduğunu göstermektedir (Kumar, 2020; Jordakieva vd., 2021). Ancak, NF- κ B'nin aşırı uyarılması, kontrolsüz inflamasyona ve çoklu organ disfonksiyonuna yol açan vasküler endotel hücre ve doku hasarına neden olur (Zhang & Dong, 2019; Anas vd., 2010). TLR-4, NF- κ B ve TNF- α birbirleriyle ilişkilidir ve sepsis patogeneğinde prognozu değerlendirmede kritik bir öneme sahiptir. Bu çalışmada, hem akciğer hem de böbrek dokularının kontrol grupları TLR4'ün minimal ekspresyonu ile düşük bazal aktivite göstermiştir. Sepsis gruplarındaki artmış TLR4 ekspresyonu ise LPS maruziyetine bağlı olarak dokuda aktive olmuş bir inflamatuvar yanıt geliştiğini göstermektedir. PGKE100 ve PGKE300 gruplarında, azalmış TLR4 seviyeleri, PGKE tedavisinin TLR4 sinyallemesini modüle ettiğini ve muhtemelen inflamatuvar kaskatın aktivasyonunu azalttığını düşündürmektedir. Tedavi gruplarında TLR4 skorlarının kontrol grubu seviyelerine yaklaşması, PGKE'nin TLR4 aracılı inflamatuvar yanıtları baskıladığını göstermektedir. PGKE'nin anti-inflatuar etkisinin dozdan bağımsız bir şekilde gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, sepsis gruplarında güçlü bir NF- κ B

aktivasyonu belirlendi. PGKE gruplarında ise azalmış immünpotizite gözlemlendi. PGKE muhtemelen TLR4 tarafından başlatılan sinyalleme kaskatını önleyerek NF- κ B aktivasyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmiştir. Özellikle PGKE300 grubunda NF- κ B aktivitesinin neredeyse tamamen baskılanması, proinflamatuvar genlerin transkripsiyonunu sınırladığı için *P.granatum* kabuğu özütünün doza bağlı bir anti-inflamatuvar etkisi olduğunu düşündürmektedir. TNF- α seviyeleri, sepsis gruplarında yüksek düzeyde immünpozitivite tespit edilirken, PGKE uygulanan gruplarda bu immünpotizitenin azalarak kontrol grubu seviyelerine yaklaştığı gözlemlenmiştir. PGKE sepsis ilişkili akut akciğer ve akut böbrek hasarında uyarılan ve inflamatuvar yanıtı yönlendiren TLR4, NF- κ B ve TNF- α gibi temel molekülerin seviyelerini azaltarak anti-inflamatuvar etkinlik göstermiştir. *P.granatum*'da bulunan aktif bileşikler NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu ve I kappa B kinaz (IKK) kompleksi tarafından fosforilasyonunu engelleyerek COX-2 ve iNOS ekspresyonunu baskılamıştır (Khan vd., 2012). Ayrıca, NF- κ B ve Nrf2 sinyal yollarını düzenleyerek inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimini azaltmıştır (Husain vd., 2018). Nar suyunun karaciğer fibrozisine karşı potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanımını değerlendiren çalışmada, NF- κ B seviyelerini anlamlı düzeyde azalttığı gösterilmiştir. Bu koruyucu etkinin içerdiği polifenolik bileşiklerin güçlü antioksidan özellikleri ile Nrf2/NF- κ B sinyal yolları üzerindeki modülatör etkisi sayesinde oksidatif stresi azaltması ve inflamasyonu baskılaması yoluyla ortaya çıktığı belirtilmiştir (Husain vd., 2018). Sepsis ilişkili akut böbrek hasarında artmış TLR4/NF- κ B seviyeleri gösterilmiştir (Batoool vd., 2018; Bouasla vd., 2021; Medeiros vd., 2015; Bouchard vd., 2015). Artmış oksidatif stres proinflamatuvar sitokin üretiminde artışa yol açar. İnflamasyon kontrol altına alınmazsa doku hasarı kaçınılmazdır. Cerda ve arkadaşları *P.granatum*'un aktif bileşiklerinin adipokine yolunu güçlendirerek oksidatif stresi azalttığını ve NF- κ B aktivasyonu ve fosfodiesteraz 4 ekspresyonlarını aşağı düzenlediğini göstermiştir (Cerda vd., 2003). TNF- α , şiddetli sepsiste görülen organ disfonksiyonlarına neden olabilmektedir. Yüksek TNF- α seviyesine sahip ARDS hastalarının hayatta kalma oranları daha düşüktür (Butt vd., 2016). Yapılan çalışmalarda, TNF- α infüzyonu pulmoner hipertansiyon, hipoksemi, akciğer kompliyansında azalma ve pulmoner mikrovasküler geçirgenlikte artışa neden olmuştur (Johnson vd., 1989; Wheeler vd.,

1990). Çalışmalar, NF-κB inhibisyonunun akciğer hasarlı ratlarda TNF-α seviyelerini ve inflamatuvar hasarı azalttığını göstermiştir; bulgular sonuçlarımızla tutarlıdır (Jarrar vd., 2002; Scheiermann vd., 2011). TLR-4 ve NF-κB seviyeleri tedavi edilen gruplarda önemli ölçüde daha düşüktü. LPS, PGKE tarafından dengelenen TNF-α seviyelerinin yükselmesine neden oldu. Bu, *P.granatum*'un NF-κB aktivasyonunu inhibe edebileceğini ve TNF-α seviyelerini azaltabileceğini yansıtır (Zeng vd., 2022; Rodrigues Pinheiro vd., 2018). Uğan ve arkadaşları, nar kabuğunun TNF-α üretimini engellediğini ve nötrofil göçünü azalttığını bildirmiştir (Uğan vd., 2020).

IL-10 güçlü bir anti-inflamatuvar sitokin olup, bağışıklık yanıtını düzenlemede ve aşırı enflamasyonu baskılamada kritik bir rol oynar. Bulgular, dokulardaki IL-10 düzeylerinde gözlemlenen değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ve tedavi grupları arasında belirgin bir fark bulunmadığını göstermektedir. PGKE uygulamasının veya sepsis indüksiyonunun IL-10 üretimi üzerinde akut dönemde belirgin bir etki oluşturmamış olması, IL-10'un geç fazda salınan bir sitokin olmasından ve çalışmada kullanılan zaman aralığının bu sitokinin optimal ekspresyonunu gözlemlemek için yetersiz kalmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmalar *P. granatum* takviyesinin IL-10 seviyelerini artırarak anti-inflamatuvar etki gösterdiğini desteklemektedir (Pinheiro vd., 2019; Bai vd., 2021; Zeng vd., 2022).

Sepsiste, enfeksiyon ajanına karşı gelişen kontrolsüz immün yanıt, 'sitokin fırtınası' olarak adlandırılmakta ve baskın inflamatuvar yanıt, endotelial hasara yol açarak doku perfüzyonunun bozulmasına ve organ hasarına neden olmaktadır (Fajgenbaum & June, 2020). Akciğerler sepsisten ilk etkilenen organlardan biridir (Zhang vd., 2021; de Oliveira vd., 2013). Sepsisle ilişkili akut akciğer hasarı (ALI), pnömoni kaynaklı akut akciğer hasarından daha şiddetli ve ölümcüldür (Moreira vd., 2017; Alsubhi vd., 2022). Sepsis, enfeksiyona karşı gelişen düzensiz konak yanıtı sonucu oluşan organ disfonksiyonu durumudur. Bu süreçte, ALI ve akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) mortaliteyi doğrudan etkileyen kritik komplikasyonlar arasında yer almaktadır. Sepsisle ilişkili ALI/ARDS'nin yüksek mortalite oranlarıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (Zhou vd., 2023). ALI'da histopatolojik süreç, akut/erken (eksüdatif) evrede alveoler boşluklarda ödem, alveoler kanama, pnömosit ve endotel hücre nekrozu ile birlikte belirgin hyalin membran oluşumu ile

karakterizedir. Epitele yoğun nötrofil infiltrasyonu, alveollerde ve hiyalin membranlarda eksüda birikimi ve alveol kılcal membran bütünlüğünün kaybı sonucu oluşan doku hasarı ile karakterizedir (Li vd., 2022). Bu sürecin, lökositler ve makrofajlardan TNF- α gibi sitokinlerin salınımındaki artış nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir (Moreira vd., 2017; Uğan vd., 2020). Takiben organize/proliferatif evrede, hyalin membranlar organize olurken alveol boşluklarında granülasyon dokusu ve reaktif Tip II pnömosit proliferasyonu izlenir. Geç iyileşme/fibrotik evrede ise organize granülasyon dokusunun alveoler septalara entegre olması, yoğun kollajen birikimi ve alveol duvarlarında hiyalinizasyon ile belirgin fibrozis izlenir (Butt vd., 2016).

Sepsis karmaşık ve çok faktörlü bir mekanizmaya sahiptir. Bu nedenle, doku hasarı ve organ yetmezliğine sürükleyen sürecin altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamaktadır. Ancak sitokinlerin aşırı artışı ve mikrovasküler yapının bozulması sonucu oluşan şiddetli inflamasyon ve oksidatif stresin doku ve organları büyük ölçüde etkilediği görülmektedir (Bittencourt-Mernak vd., 2017). Aşırı proinflamatuvar sitokin salınımı kontrolsüz sistemik inflamasyona, patolojik değişikliklere ve organ disfonksiyonuna yol açar (Moreira vd., 2017; Zhou & Liao, 2021). Bu nedenle, inflamasyonun baskılanması ve oksidatif stresin azaltılması sepsis kaynaklı organ hasarını önlemek için birincil hedef olmalıdır (Singh vd., 2023; Saadat vd., 2022). *P.granatum* astım, akciğer kanseri, interstisyel pulmoner fibrozis ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi solunum yolu hastalıklarında terapötik bir ajan olarak kullanılmıştır (Shaikh & Bhandary, 2021). Bu çalışma, sepsis grubunda akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde gözlemlediğimiz alveolar ve interstisyel alanlardaki inflamasyona eşlik eden alveolar septum kalınlığındaki ve hiyalin membranlardaki artış, sepsis modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğunu göstermektedir. PGKE uygulanan gruplarda alveolar ve interstisyel inflamasyonun anlamlı şekilde azaldığı, alveolar septum kalınlığının kontrol grubuyla benzer olduğu ve hiyalin membranların gözlenmediğini göstermiştir. Bu bulgular, PGKE'nin sitokin seviyelerini baskılayarak LPS kaynaklı sepsis ilişkili akciğer hasarında anti-inflamatuvar etki oluşturduğunu göstermiştir. Sonuçlar diyabetik ratlarda LPS kaynaklı akciğer hasarı oluşturulan bir çalışmanın sonuçlarıyla tutarlıdır (Uğan vd., 2020). Düşük doz PGKE (PGKE100) ile yüksek

doz PGKE (PGKE300) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Sepsis gruplarındaki alveolar boşluklarda ödem ve hiyalin membran oluşumu ve alveolar epitel ve endotel yapılarında çalışmalara benzer şekilde kapsamlı hasar gözlemlendi (Zhou vd., 2023; Khan vd., 2017). Buna karşılık, PGKE, akciğer dokularındaki inflamasyonda bir azalma gösterdi (Husari vd., 2014). *P.granatum*'un ventilatörle ilişkili akciğer hasarında alveoler içi inflamasyonu ve serbest oksijen radikallerini azalttığına gösterilmesi, sepsis nedeniyle oluşan akciğer hasarına karşı da koruma sağlayacağını düşündürmektedir (Fu vd., 2011; Jones vd., 2004). Sepsisle ilişkili ALI patogenezi incelemek amacıyla geliştirilen farklı modellerin karşılaştırıldığı araştırmada, sistemik inflamasyonun önemli belirteçleri olan serum IL-6, TNF- α ve hs-CRP düzeylerinde belirgin artış gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, histopatolojik incelemeler alveolokapiller membran bütünlüğünün bozulduğunu, nötrofil infiltrasyonu ve interstisyel ödem gibi karakteristik bulgular göstermiştir (Zhou vd., 2023). Bu bulgular, sepsisle ilişkili ALI/ARDS patogenezinde sistemik inflamasyonun ve akciğer dokusundaki yapısal değişikliklerin kritik rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bachoual ve arkadaşları, trake içi LPS enjeksiyonu ile akciğer inflamasyonu oluşturulan fare modelinde, 200 mg/kg *P.granatum* kabuğu sulu ekstraktı uygulanan grupta, inflamatuvar yanıtın bir göstergesi olan bronkoalveoler lavaj sıvısındaki proteinin konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir (Bachoual vd., 2011).

Sepsis, yoğun bakım ünitelerinde sık karşılaşılan ve akut böbrek hasarının (ABH) majör etyolojik faktörlerinden biri olarak kabul edilen bir durumdur. Epidemiyolojik veriler, tüm ABH vakalarının yaklaşık %45-70'inin sepsis ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Bagshaw vd., 2007). ABH gelişen olgularda, böbrek fonksiyon bozukluğunun biyokimyasal belirteçleri olan serum kreatinin ve üre düzeylerinde karakteristik artış gözlenmektedir. Bagshaw ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çok merkezli, prospektif kohort çalışmada, septik ABH gelişen hastalarda enfeksiyon odaklarının dağılımı sistematik olarak analiz edilmiştir. Çalışma sonuçları, olguların %30'unda sepsisin primer enfeksiyon odağının torasik kaynaklı olduğunu ortaya koymuştur (Bagshaw vd., 2007). Bu bulgular, pulmoner enfeksiyonların sepsis patogenezindeki kritik rolünü ve bunun renal disfonksiyon üzerindeki sistemik etkilerini desteklemektedir. İdrar yolu, şiddetli sepsis/septik

şokta akut böbrek hasarının gelişebileceği birincil enfeksiyon bölgelerinden biridir (Medeiros vd., 2015). Kohort çalışmaları, akut böbrek hasarı olan hastaların yarısında sepsis geliştiğini tanımlamıştır (Bagshaw vd., 2007). Septik akut böbrek hasarı hastalarının daha yüksek ölüm oranlarına sahip olduğunu bildirmiştir (Bouchard vd., 2015). Hızlı tedavi, hastane kökenli enfeksiyonlara karşı önleyici tedbirler ve profilaktik antibiyotik uygulaması, ölüm ve morbiditeyi azaltabilir. BUN ve Cr seviyeleri rutinde sıklıkla kullanılan böbrek fonksiyonunu yansıtır. Bu çalışmada, sepsis grubunda yüksek BUN ve Cr seviyeleri ile seyreden akut böbrek hasarı gözlemlenmiştir. Sonuçlar LPS maruziyeti ile bozulmuş böbrek fonksiyonlarını göstermektedir. PGKE grupları, özellikle yüksek dozlarda hem kreatinin hem de BUN seviyelerinde önemli iyileşmelerle sonuçlanan doza bağlı bir etki oluşturmuştur. Çalışmalar *P. granatum* takviyesinin yüksek seviyedeki böbrek fonksiyon parametrelerini azaltarak nefroprotektif etki gösterdiğini desteklemektedir (Fouad vd., 2016; Aladaileh vd., 2021; Bouasla vd., 2021). Histopatolojik olarak, vakuolizasyon, nekroz ve döküntü birikiminin olmaması böbreklerin sağlıklı ve işlevsel durumunu yansıtır. Bu çalışmada, kontrol grubu normal renal korpüsküller, glomerüller ve proksimal ve distal tübüller gözlendi. Sepsis grubu ise renal korpüsküllerin ve tübüler epitel hücrelerinin sitoplazmasında yaygın vakuolizasyon dahil olmak üzere ciddi histopatolojik değişiklikler gösterdi. Ek olarak, proksimal tübüler epitel hücrelerinde fırça kenar yapılarının çarpıcı bir şekilde kaybolması emilimde önemli bir rol olduğunu ve önemli işlevsel bozukluğa işaret eder. Bulgular, LPS'nin renal dokularda yoğun inflamatuvar yanıtları ve oksidatif stresi tetiklediğini göstermektedir. PGKE100 grubu hem proksimal hem de distal tübüllerde vakuolizasyonda önemli bir azalma göstererek hücresel hasarın kısmen onarıldığını göstermektedir. Nekrotik epitel hücreleri ve hücre birikimi hala mevcut olsada sepsis grubuyla karşılaştırıldığında daha az belirgindi ve bu da PGKE100'ün LPS kaynaklı hasara karşı kısmen koruma sağladığını gösteriyordu. Proksimal tübüllerdeki fırça kenar yapıları normal yapıda olup, PGKE100'ün hasara rağmen tübüler epitelin bazı işlevsel yönlerini koruduğunu göstermektedir. PGKE300 grubunda tübüler lümenlerdeki döküntü birikiminin minimum olduğu ve proksimal tübül epitel hücrelerinin tipik fırça kenar yapıları sergilediği ve böbrek yapısının ve işlevinin neredeyse tamamen korunduğu saptanmıştır. *P. granatum*'un oksidatif hasara karşı

potansiyel koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada nar suyu ile tedavi edilen gruplarda üre, kreatinin ve ürik asit düzeylerinde anlamlı düşüşler saptanmış ve bu değerler fizyolojik sınırlara yaklaşmıştır. Ayrıca, MDA düzeyleri azaltılmış ya da normalleştirilmiş, buna karşılık GSH seviyeleri artmıştır. Histopatolojik değerlendirmelerde ise, tedavi gruplarındaki böbrek dokularında inflamatuvar infiltrasyonun vaka grubuna göre daha az belirgin olduğu ve hücresel bütünlüğün korunduğu tespit edilmiştir (Bouasla vd., 2021). Nar tohumu ve kabuğu ekstraktlarının ratlarda MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma ve glutatyon peroksidaz seviyelerinde belirgin bir artış saptanmıştır (Doostan vd., 2017). Bu bulgular, mevcut çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olup, *P.granatum*'un oksidatif hasarı azalttığını, böbrek fonksiyon parametrelerinde iyileşmeye yol açtığını ve böbrek dokusu üzerinde koruyucu etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Fouad ve arkadaşları *P.granatum* fenolik bileşiklerinin CCl₄, Cisplatin, Diazinon, HgCl₂, Gentamicin ve Methotrexate gibi toksik ajanların neden olduğu böbrek hasarına karşı nefroprotektif etkilerini in vivo değerlendirmişlerdir. LPS ile oluşturulan böbrek hasarı modelinde serum kreatinin, gelatinazla ilişkili lipokalin (NGAL), IL-18, IL-6, TNF- α , MDA, nitrik oksit (NO), indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitelerinde anlamlı azalma gözlenmiştir. Aynı zamanda total antioksidan düzeyinin arttığı ve LPS toksisitesine bağlı olarak artan Bax/Bcl-2 oranı ile kaspaz 3, 8 ve 9 seviyelerini azalttığı belirtilmiştir (Fouad vd., 2016).

CRP karaciğer tarafından üretilen bir akut faz reaktandır ve inflamatuvar hastalıkları tespit etmek için en sık kullanılan belirteçtir. Artan CRP düzeyi, inflamasyonun şiddetinin ve yoğunluğunun bir göstergesi olabilir. Zhou ve arkadaşları sepsis modellerini (çekal ligasyon-ponksiyon ve LPS) karşılaştırdığı bir çalışmada, sepsis indüksiyonundan 24 saat ve 48 saat sonra CRP seviyelerinin her grupta anlamlı derecede arttığını bildirmiştir. Bu nedenle, CRP düzeylerindeki artışı yüksek hassasiyetli bir sepsis belirteci olarak tanımlamışlardır (Zhou vd., 2023). Ancak, CRP'nin birçok inflamatuvar durumda yükselmesi nedeniyle spesifitesi sınırlıdır; dolayısıyla sepsise özgü bir belirteç olarak değerlendirilmemelidir (Lijmer vd., 1999). Bu çalışmada, CRP seviyeleri LPS enjeksiyonundan 16-20 saat sonra önemli ölçüde artmıştır. Ancak, PGKE uygulanan gruplarda dozdan bağımsız olarak CRP seviyelerinde azalma saptanmıştır. Çalışmalar, nar takviyesinin CRP

düzeylerinde önemli bir azaltıcı etki oluşturduğu gösterilmiştir (Mirahmad vd., 2023; Jazinaki vd., 2024). Ayrıca, PGKE'nin sepsiste nefroprotektif bir etkiye sahip olduğu ve CRP seviyelerindeki azalmanın bir sonucu olarak böbrek fonksiyon parametrelerini azalttığı gösterilmiştir (Makled vd., 2021; Hosseini vd., 2023).

Sepsis patogeneğinde, yüksek bakteri veya bakteriyel komponentlerin varlığı proinflatuar protein kaskadının güçlü bir şekilde aktivasyonuna yol açmaktadır. Gelişen hiperinflatuar yanıt sistemik düzeyde doku hasarına neden olduğu deneysel hayvan modelleri kullanılarak yapılan çalışmalarla da desteklenmektedir (Anas vd., 2010). USHIESA (Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı) 2022 Özet Raporu, Türkiye'deki sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların (HAI) yaygınlığını, türlerini ve antimikrobiyal direnç oranlarını detaylı bir şekilde analiz eden kapsamlı bir çalışmadır. USHIESA 2022 raporundaki veriler, özellikle akciğer ve böbrek odaklı sepsis riskini artıran faktörleri ortaya koymaktadır. Ventilator ilişkili pnömoni (VİP), kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonları (Kİ-İYE) ve antimikrobiyal direnç, sepsis gelişimi için önemli risk faktörleridir. Dirençli bakteriler özellikle yoğun bakım ünitelerinde pnömoni ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olur ve mortalite riskini artırır. Santral kateter ve ventilator ilişkili enfeksiyonlar sepsis açısından yüksek riskli grup olan yenidoğanlarda yüksek olduğu bildirilmiştir. *Acinetobacter baumannii* yoğun bakım ünitelerinde ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. %92,18 oranında yüksek karbapenem direncine ve %12,52 oranında kolistin direncine sahiptir. Kolistin direnci sınırlı tedavi seçeneklerine sahip ciddi enfeksiyonların tedavi başarısı için oldukça endişe vericidir. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) cerrahi alan enfeksiyonları ve kateter ilişkili enfeksiyonlar ile ilişkili olup, %49,92 oranında yüksek dirence sahip bir bakteridir (T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2023). *E.coli* suşları idrar yolu enfeksiyonları ve sepsis ile ilişkili olup ESBL üretiminde %59,24 ve karbapenem direncinde %17,14 direnç oranına sahiptir. *P.aeruginosa* ventilator ilişkili pnömoni ve nozokomiyal enfeksiyonlarda önemli bir patojen olup, karbapenem direnci %67,60'dır (T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2023). *E.faecalis*'de vankomisin direnci %4,39 ile nispeten düşüktür. Sepsiste antibiyotik tedavisi etkisiz kalabilmektedir çünkü günümüzde birçok mikroorganizma antimikrobiyallere direnç kazanmıştır. Hastalık Kontrol ve Önleme

Merkezleri'nin (CDC) 2019 Antibiyotik Direnci Tehditleri Raporuna göre, %50 oranında geniş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) üreten *Enterobacteriaceae*'nin neden olduğu enfeksiyon sayısı artmıştır (CDC, 2019). Karbapenem dirençli *Acinetobacter* ve Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (CRE), acil tehditler olarak listelenen Gram negatif bakterilerdir. ESBL üreten *Enterobacteriaceae* ve çoklu ilaca dirençli *P.aeruginosa* ciddi tehditler olarak listelenmiştir (CDC, 2019). Antimikrobiyal direnç sorunu, araştırmacıları tedavi sonuçlarını iyileştirebilecek yeni ilaçlar aramak için doğal ürünleri araştırmaya yöneltmiştir. Bu çalışmada, agar kuyucuk difüzyon analizinden elde edilen inhibisyon zonu çapları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) yönergelerine göre değerlendirildi (CLSI, 2020). *A.baumannii*, CAZ, CIP, AM ve MEM'e dirençli (R) olarak sınıflandırılmıştır. Buna karşılık, PGKE (200 mg/mL) test edilen rutin antibiyotiklerden önemli ölçüde daha büyük inhibisyon oluşturmuştur (27 mm). *A.baumannii*, test edilen antibiyotiklerle karşılaştırıldığında PGKE'ye duyarlı (S) olarak sınıflandırılabilir. *E.coli*'nin CAZ, CIP, AK ve AM'ye duyarlı (S) olduğu bulundu. PGKE'nin oluşturduğu inhibisyon zon çapı AM'nin (21 mm) oluşturduğu zon çapına yakın olup, *E.coli*'ye karşı orta düzeyde (I) antibakteriyel aktivite göstermiştir. *P. aeruginosa*'nın CAZ, CIP, AM ve TZP'ye duyarlı (S) olduğu bulunmuştur. PGKE'nin inhibisyon zon çapı (20 mm), TZP (≥ 21 mm) ve CIP (≥ 25 mm) için duyarlılık aralığının altına düşmektedir, ancak hala orta düzeyde (I) aralığın üst sınırındadır. PGKE, CIP, CAZ ve AM'den daha az etkili olmasına rağmen *E.coli* ve *P.aeruginosa*'ya karşı orta düzeyde antibakteriyel aktivite göstermektedir. Bunun aksine, PGKE, *A.baumannii*'de çalışmada kullanılan standart antibiyotiklerle karşılaştırıldığında daha yüksek etki göstermiştir. Santos ve diğerleri, bakteri suşları üzerinde standart antibiyotiklerden daha yüksek/eşit derecede etki olduğunu bildirmiş ve 9–38 mm inhibisyon bölgeleri elde etmiştir. *P.granatum*'un kabuk özleri, *Shigella*, *Salmonella* türleri ve *E.coli*'yi önemli ölçüde inhibe etmiştir (Santos vd., 2012). *P.granatum* kabuk özütünün antimikrobiyal özellik gösterdiği ve biyofilm oluşumunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Alsubhi vd., 2022; Saadat vd., 2022). PGKE anti-biyofilm oluşum özellikleri ve biyo-uyumluluk özellikleri ile öne çıkmaktadır. Bu özellikler, *P.granatum*'un tıbbi malzeme ve implant gibi alanlarda kullanılma potansiyelini de artırmaktadır (Govindappa vd., 2021). PGKE sahip olduğu fenolik

bileşikler, özellikle *E.coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve *Vibrio cholerae* gibi enterik patojenlerde antibakteriyel aktivitelere sahiptirler (Cerde vd., 2003; Pai vd., 2011; Taguri vd., 2004). Fenolik bileşikler bağırsak florasına, özellikle de enterik patojenlere karşı antimikrobiyal etkinlik göstermiştir (Wu vd., 2019; Santos vd., 2012; Zhang & Dong, 2019). Mikrobiyal hücre zarı proteinleri veya protein sülfidril gruplarıyla reaksiyona girerek zar proteini çökmesi ve enzimlerin inhibisyonu nedeniyle bakteriyel ölüme neden olurlar (Jarrar vd., 2002). Glikoziltransferaz, peptidoglikanın biyosentezinde kullanılan bir enzimdir (Scheiermann vd., 2011). Glikoziltransferazların inhibisyonu, *Staphylococcus aureus* ve hemorajik *E.coli*'ye karşı yaygın olarak etkili olan hücre lizisine yol açar (Jarrar vd., 2002).

MİK yöntemi antimikrobiyal aktivitenin gücü hakkında kantitatif veriler elde eder ve mikroorganizmaların büyümesini inhibe etmek için gereken konsantrasyonun kesin bir ölçümünü verir. Bu çalışmada PGKE bakteriyel aktiviteyi önemli ölçüde etkileyerek doza bağlı bir etki göstermiştir. *A.baumannii*, *E.coli*, *E.faecalis*, MRSA ve *P.aeruginosa* ölçülebilir MİK değerleri vermiştir (Tablo 17). *P.aeruginosa*'ya karşı yapılan değerlendirmelerde, PGKE'nin 16 µg/mL konsantrasyonda belirlenen MİK değeri, Piperasilin/Tazobaktam (TZP) için tanımlanan hassasiyet kırılma noktasına benzerlik göstermiştir. Bu durum, PGKE'nin söz konusu konsantrasyonda *P.aeruginosa*'ya karşı potansiyel bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu düşündürmektedir. PGKE *E.coli*'ye karşı sınırlı antimikrobiyal aktivite sergilemiş olup, bu direnç paternleri CAZ, CIP, AK ve AM gibi yaygın kullanılan antibiyotiklerin MİK kırılma noktalarıyla paralellik arz etmektedir. Bulgular, *E.coli*'nin bu antibiyotiklere karşı sahip olduğu direnç mekanizmalarının PGKE'nin etkinliğini de olumsuz etkileyebileceğine gösterebilmektedir. PGKE MRSA ve *A.baumannii* üzerinde ise dikkate değer bir antibakteriyel etkinlik göstermiştir. *A.baumannii*'nin MEM ve AK'ne duyarlılığı ile karşılaştırıldığında PGKE, potansiyel tedavi seçeneği olabilir. Yapılan çalışmalar, *P.granatum* kabuğundan izole edilen fenolik bileşiklerin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin büyümesini inhibe edici özelliği olduğunu bildirilmiştir. *P.aeruginosa* 0,60 µg/mL, *S.epidermis* 0,60 µg/mL, *E.coli* 64,53 µg/mL ve *E.faecalis* 22,09 µg/mL MİK değerleri ile etkili antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Gosset-Erard vd., 2021; Mohamad Sukri vd., 2019). Test edilen üç Gram-negatif bakteriden ikisine ve on üç Gram-pozitif

bakteriden onuna karşı antibakteriyel aktivite gözlemlenmiş olup, MİK değerleri *E.coli* için 1,2 µg/ml, *P.aeruginosa*, *S.aureus* ve *E.faecalis* için ise 0,60 µg/ml olarak saptanmıştır (Gosset-Erard vd., 2021). Kuru ve taze nar kabuklarından etanol ve metanol kullanılarak elde edilen özütlerin antibakteriyel etkinliği incelendiği başka bir çalışmada, *E.coli*'ye karşı aynı MİK 62,5 µg/mL ve Minimal Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK) 250 µg/mL değerlerini gösterdiği, *P.aeruginosa* için MİK 62,5 µg/mL ve MBK 125 µg/mL ve Metisilin-Drençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) için ise MİK 31,25 µg/mL ve MBK 250 µg/mL olduğu belirlenmiştir (Güner & Aşkun, 2023). Taze nar kabuğu metanol özütü, diğer özütlere kıyasla daha düşük bir MBC değeri ile en belirgin antibakteriyel aktiviteyi sergilemiştir. Gıdaların raf ömrünü arttırma potansiyelini inceleyen bir çalışmada, özütün süt ürünlerine eklenerek gıda kaynaklı ve çoklu ilaca dirençli patojenlere karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada *P.aeruginosa* 29 mm ve *E.coli* 30 mm inhibisyon zon çapı oluştururken *S.aureus* (35 mm) en duyarlı bakteri olarak değerlendirilmiştir. Gram negatif bakterilerin, dış membran yapıları nedeniyle genellikle Gram pozitif bakterilere kıyasla daha düşük inhibisyon zonu çaplarına sahip oldukları ifade edilmiştir (Alsubhi vd., 2022). *P.granatum* posa ekstraktının *E.coli* ve *P.aeruginosa*, *Clostridium sp.* ve *S.aureus* patojenleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon etkisi gösterdiği, buna karşın probiyotik bakterilerden *Bifidobacterium* türleri ve *Lactobacillus-Enterococcus* grubu üzerinde nötral etki gösterdiği, hatta *B.breve* ve *B.infantis*'in gelişimini anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Antibakteriyel etkinin *P.granatum*'da yüksek miktarda bulunan polifenolik bileşiklerin yapısal özellikleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Bialonska vd., 2010).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Punica granatum (nar), içerdği çok yönlü biyoaktif bileşenler sayesinde anti-inflamatuar ve antibakteriyel etkiler göstererek sepsis kaynaklı doku hasarını azaltma potansiyeline sahip doğal bir terapötik ajan olarak öne çıkmaktadır. Özellikle akut akciğer ve akut böbrek hasarına karşı koruyucu etkileri, *P.granatum* Kabuk ekstraktının (PGKE) sepsis gibi sistemik inflamatuvar hastalıkların yönetiminde alternatif tıpta değerlendirilebilecek bir seçenek olduğunu göstermektedir.

P.granatum'un geleneksel kullanımını modern tıba entegre edebilmek için standardize ekstraksiyon yöntemlerinin oluşturulması, farmakokinetik profillerinin belirlenmesi ve insanlarda yapılacak randomize kontrollü çalışmaların artırılması gerekmektedir. Ayrıca, nar ekstraktlarının kombine tedavi protokollerinde ve yeni ilaç geliştirme süreçlerinde değerlendirilebilmesi için ileri düzey araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yaklaşım, *P.granatum*'un alternatif tıp uygulamalarında bilimsel temelli bir yer edinmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. ve Pillai, S. (2015). *Temel immünoloji: İmmün sistemin işlevleri ve bozuklukları* (4. baskı, Y. Camcıoğlu & G. Deniz, Çevirmenler). Güneş Tıp Kitabevleri.
- Adiga, S., Trivedi, P., Ravichandra, V., Deb, D. ve Mehta, F. (2010). Effect of Punica granatum peel extract on learning and memory in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(9), 687–690. ss. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60166-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60166-6)
- Aggarwal, B. B. (2003). Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nature Reviews Immunology*, 3(9), 745–756. <https://doi.org/10.1038/nri1184>
- Akira, S. (2006). From innate immunity to immunological memory, TLR signaling. In *From Innate Immunity to Immunological Memory* (pp. 1–16). Springer. ss. https://doi.org/10.1007/3-540-32636-7_1
- Aladaileh, S. H., Al-Swailmi, F. K., Abukhalil, M. H., Ahmeda, A. F. ve Mahmoud, A. M. (2021). Punicalagin prevents cisplatin-induced nephrotoxicity by attenuating oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis in rats. *Life Sciences*, 286, 120071. ss. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120071>
- Al-Assal, K., Martinez, A. C., Torrinhas, R. S., Cardinelli, C. ve Waitzberg, D. (2018). Gut microbiota and obesity. *Clinical Nutrition Experimental*, 20, 60–64. ss. <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2018.03.001>
- Al-Jaghbeer, M., Dealmeida, D., Bilderback, A., Ambrosino, R. ve Kellum, J. A. (2018). Clinical decision support for in-hospital AKI. *Journal of the American Society of Nephrology*, 29(2), 654–660. ss. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017070765>
- Alsubhi, N. H., Al-Quwaie, D. A., Alrefaei, G. I., Alharbi, M., Binothman, N., Aljadani, M., Qahl, S. H., Jaber, F. A., Huwaikem, M., Sheikh, H. M., Alrahimi, J., Abd Elhafez, A. N. ve Saad, A. (2022). Pomegranate pomace extract with antioxidant, anticancer, antimicrobial, and antiviral activity enhances the quality of strawberry-yogurt smoothie. *Bioengineering*, 9(12), 735. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9120735>
- Althunibat, O., Almustafa, A., Tarawneh, K., Khleifat, K., Ridzwan, B. H. ve Qaralleh, H. (2010). Protective role of Punica granatum L. peel extract against oxidative damage in experimental diabetic rats. *Process Biochemistry*, 45(4), 581–585. ss. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.12.004>
- Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244–248. ss. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.002>

- Anas, A. A., Wiersinga, W. J., de Vos, A. F., & van der Poll, T. (2010). Recent insights into the pathogenesis of bacterial sepsis. *Netherlands Journal of Medicine*, 68(4), 147-152. PMID: 20421654
- Angus, D. C., Linde-Zwirble, W. T., Lidicker, J., Clermont, G., Carcillo, J. ve Pinsky M. R. (2001). Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Medicine*, 29(7), 1303-1310. ss. <http://doi.org/10.1097/00003246-200107000-00002>
- Annane, D., Aegerter, P., Jars-Guincestre, M. C. ve Guidet, B. (2003). Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 168(2), 165-172. ss. <https://doi.org/10.1164/rccm.2201087>
- Athie-Morales, V., O'Connor, G. M. ve Gardiner, C. M. (2008). Activation of human NK cells by the bacterial pathogen-associated molecular pattern muramyl dipeptide. *Journal of Immunology*, 180(6), 4082–4089. ss. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.6.4082>
- Bachofen, M. ve Weibel, E. R. (1977). Alterations of the gas exchange apparatus in adult respiratory insufficiency associated with septicemia. *American Review of Respiratory Disease*, 116(4), 589–615. ss. <https://doi.org/10.1164/arrd.1977.116.4.589>
- Bachoual, R., Talmoudi, W., Boussetta, T., Braut, F. ve El-Benna, J. (2011). An aqueous pomegranate peel extract inhibits neutrophil myeloperoxidase in vitro and attenuates lung inflammation in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6), 1224–1228. ss. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.02.024>
- Bagshaw, S. M., Uchino, S., Bellomo, R., Morimatsu, H., Morgera, S., Schetz, M., Tan, I., Bouman, C., Macedo, E., Gibney, N., Tolwani, A., Oudemans-van Straaten, H. M., Ronco, C. ve Kellum, J. A. (2007). Septic acute kidney injury in critically ill patients: Clinical characteristics and outcomes. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2(3), 431–439. ss. <https://doi.org/10.2215/CJN.03681106>
- Bai, X., Liu, L. ve Wang, Y. (2021). Sepsis induced renal damage in acute kidney injury mice model is prevented by *Punica granatum* extract through targeting IL-10 and TNF- α production. *Latin American Journal of Pharmacy*, 40(5), 965–971.
- Balouiri, M., Sadiki, M. ve Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. ss. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bastien, M., Poirier, P., Lemieux, I. ve Despres, J. (2014). Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 56(6), 369–381. ss. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2013.10.016>

- Batool, K., Sultana, S., Akhtar, N., Asif, H. M., Akhtar, N., Ahmad, K. ve Owais, A. (2018). Medicinal plants combating against human pathogens: A review. *International Journal of Biotechnology and Food Science*, 6(3), 42–51. ss. <https://doi.org/10.4236/ijbfs.2018.63004>
- Baum, N., Dichoso, C. C. ve Carlton, C. E. (1975). Blood urea nitrogen and serum creatinine. *Urology*, 5(5), 583–588. ss. [https://doi.org/10.1016/0090-4295\(75\)90105-3](https://doi.org/10.1016/0090-4295(75)90105-3)
- Baykara, N., Akalın, H., Arslantaş, M. K., Hancı, V., Çağlayan, Ç., Kahveci, F., Demirağ, K., Baydemir, C. ve Ünal, N. (2018). Epidemiology of sepsis in intensive care units in Turkey: A multicenter, point-prevalence study. *Critical Care*, 22(1), 93. ss. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2013-1>
- Becker, B. F., Chappell, D., Bruegger, D., Annecke, T. ve Jacob, M. (2010). Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: Acute deficits, but great potential. *Cardiovascular Research*, 87(2), 300–310. ss. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq137>
- Bekir, J., Mars, M., Souchard, J. P. ve Bouajila, J. (2013). Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 470–475. ss. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2013.01.036>
- Benchagra, L., Berrougui, H., Islam, M. O., Ramchoun, M., Boulbaroud, S., Hajjaji, A., Fulop, T., Ferretti, G. ve Khalil, A. (2021). Antioxidant effect of Moroccan pomegranate (*Punica granatum* L. Sefri variety) extracts rich in punicalagin against the oxidative stress process. *Foods*, 10(9), 2219. ss. <https://doi.org/10.3390/foods10092219>
- Benjamim, C. F., Lundy, S. K., Lukacs, N. W., Hogaboam, C. M. ve Kunkel, S. L. (2005). Reversal of long-term sepsis-induced immunosuppression by dendritic cells. *Blood*, 105(9), 3588–3595. ss. <http://doi.org/10.1182/blood-2004-08-3251>
- Bialonska, D., Ramnani, P., Kasimsetty, S. G., Muntha, K. R., Gibson, G. R. ve Ferreira, D. (2010). The influence of pomegranate by-product and punicalagins on selected groups of human intestinal microbiota. *International Journal of Food Microbiology*, 140(2–3), 175–182. ss. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.038>
- Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69(3), 89–95. ss. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
- Bittencourt-Mernak, M. I., Pinheiro, N. M., Santana, F. P. R., Guerreiro, M. P., Saraiva-Romanholo, B. M., Grecco, S. S., Caperuto, L. C., Felizardo, R. J. F., Câmara, N. O. S., Tibério, I. F. L. C., Martins, M. A., Lago, J. H. G. ve Prado,

- C. M. (2017). Prophylactic and therapeutic treatment with the flavonone sakuranetin ameliorates LPS-induced acute lung injury. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 312(2), L217–L230. ss. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00444.2015>
- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B., Dellinger, R. P., Fein, A. M., Knaus, W. A., Schein, R. M. H. ve Sibbald, W. J. (1992). Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest*, 101(6), 1644-1655. ss. <https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>
- Bone, R. C. (1996). Immunologic dissonance: A continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Annals of Internal Medicine*, 125, 680–687. ss. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-125-8-199610150-00009>
- Boomer, J. S., To, K., Chang, K. C., Takasu, O., Osborne, D. F., Walton, A. H., Bricker, T. L., Jarman, S. D., Kreisel, D., Krupnick, A. S., Srivastava, A., Swanson, P. E., Green, J. M. ve Hotchkiss, R. S. (2011). Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA*, 306(23), 2594-2605. ss. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1829>
- Bouasla, A., Barour, C., Bouasla, I. ve Messarah, M. (2021). Beneficial effects of *Punica granatum* L. juice and gallic acid against kidney oxidative damage caused by sodium fluoride. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 55(9), 920–928. ss. <https://doi.org/10.1007/s11094-021-02516-8>
- Bouchard, J., Acharya, A., Cerda, J., Maccariello, E. R., Madarasu, R. C., Tolwani, A. J., Liang, X., Fu, P., Liu, Z.-H. ve Mehta, R. L. (2015). A prospective international multicenter study of AKI in the intensive care unit. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(8), 1324–1331. ss. <https://doi.org/10.2215/CJN.04360514>
- Broz, P., Newton, K., Lamkanfi, M., Mariathasan, S., Dixit, V. M. ve Monack, D. M. (2010). Redundant roles for inflammasome receptors NLRP3 and NLRC4 in host defense against Salmonella. *Journal of Experimental Medicine*, 207(8), 1745-1755. ss. <https://doi.org/10.1084/jem.20100257>
- Butt, Y., Kurdowska, A. ve Allen, T. C. (2016). Acute lung injury: A clinical and molecular review. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 140(4). ss. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0519-RA>
- Calvano, S. E., Xiao, W., Richards, D. R., Felciano, R. M., Baker, H. V., Cho, R. J., Chen, R. O., Brownstein, B. H., Cobb, J. P., Tschoeke, S. K., Miller-Graziano, C., Moldawer, L. L., Mindrinos, M. N., Davis, R. W., Tompkins, R. G. ve Lowry, S. F. (2005). A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature*, 437(7061), 1032–1037. ss. <https://doi.org/10.1038/nature03985>

- Caraballo, C. ve Jaimes, F. (2019). Organ dysfunction in sepsis: An ominous trajectory from infection to death. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 92, 629–640. ss. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6913810/>
- Casey, L. C., Balk, R. A. ve Bone, R. C. (1993). Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Annals of Internal Medicine*, 119(8), 771–778. ss. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-119-8-199310150-00001>
- CDC; Centers for Disease Control and Prevention (2019). Antibiotic Resistance Threats in the United States; US Department of Health and Human Services, Centres for Disease Control and Prevention: Atlanta, GA, USA.
- Cerdá, B., Cerón, J. J., Tomás-Barberán, F. A. ve Espín, J. C. (2003). Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3493–3501. ss. <https://doi.org/10.1021/jf020842c>
- Chalifour, A., Jeannin, P., Gauchat, J. F., Blaecke, A., Malissard, M., N'Guyen, T., Thieblemont, N., & Delneste, Y. (2004). Direct bacterial protein PAMP recognition by human NK cells involves TLRs and triggers alpha-defensin production. *Blood*, 104(6), 1778–1783. ss. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-08-2820>
- Chandra, R., Jadhav, V. T. ve Sharma, J. (2010). Global scenario of pomegranate (*Punica granatum* L.) culture with special reference to India. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 4(2), 7-18.
- Chang, K.C., Unsinger, J., Davis, C. G., Schwulst, S. J., Muenzer, J. T., Strasser, A. ve Hotchkiss, R. S. (2007). Multiple triggers of cell death in sepsis: death receptor and mitochondrial-mediated apoptosis. *The FASEB Journal*, 21(3), 708-719. ss. <http://doi.org/10.1096/fj.06-6805com>
- Chapman, P. B., Lester, T. J., Casper, E. S., Gabrilove, J. L., Wong, G. Y., Kempin, S. J., Gold, P. J., Welt, S., Warren, R. S., Starnes, H. F., Sherwin, S. A., Old, L. J. ve Oettgen, H. F. (1987). Clinical pharmacology of recombinant tumour necrosis factor in patients with advanced cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 5(12), 1942–1951. ss. <https://doi.org/10.1200/JCO.1987.5.12.1942>
- Charlton, J. R., Portilla, D. ve Okusa, M. D. (2014). A basic science view of acute kidney injury biomarkers. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(7), 1301–1311. ss. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft510>
- Chen, X. S., Wang, S. H., Liu, C. Y., Gao, Y. L., Meng, X. L., Wei, W., Shou, S. T., Liu, Y. C. ve Chai, Y. F. (2022). Losartan attenuates sepsis-induced cardiomyopathy by regulating macrophage polarization via TLR4-mediated NF-κB and MAPK signaling. *Pharmacological Research*, 185, 106473. ss. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106473>

- Choi, J. G., Kang, O. H., Lee, Y. S., Chae, H. S., Oh, Y. C., Brice, O. O., Kim, M. S., Sohn, D. H., Kim, H. S., Park, H., Shin, D. W., Rho, J. R. ve Kwon, D. Y. (2011). In vitro and in vivo antibacterial activity of Punica granatum peel ethanol extract against Salmonella. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 48. ss. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep105>
- CLSI; Clinical and Laboratory Standards Institute (2006). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically Approved Standards Seventh Edition Document, *CLSI document M7- A7* Wayne, PA/USA.
- CLSI; Clinical and Laboratory Standards Institute (2020). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, in Twenty-Fourth Informational Supplement; CLSI, Ed.; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA/USA.
- Clyne, B. ve Olshaker, J. S. (1999). C-reactive protein. *Journal of Emergency Medicine*, 17(6), 1019–1025. ss. [https://doi.org/10.1016/S0736-4679\(99\)00135-3](https://doi.org/10.1016/S0736-4679(99)00135-3)
- Cohen, S., Bigazzi, P. E. ve Yoshida, T. (1974). Similarities of T cell function in cell-mediated immunity and antibody production. *Cellular Immunology*, 12(1), 150-159. ss. [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(74\)90066-5](https://doi.org/10.1016/0008-8749(74)90066-5)
- Cohen, J. (2002). Immunopathogenesis of sepsis. *Nature*, 420, 885–892. ss. <https://doi.org/10.1038/nature01326>
- Colbert, J. F. ve Schmidt, E. P. (2016). Endothelial and microcirculatory function and dysfunction in sepsis. *Clinics in Chest Medicine*, 37(2), 263–275. ss. <http://doi.org/10.1016/j.ccm.2016.01.009>
- Czaikoski, P. G., Mota, J. M. S. C., Nascimento, D. C., Sonogo, F., Castanheira, F. V. S., Melo, P. H., Scortegagna, G. T., Silva, R. L., Barroso-Sousa, R., Souto, F. O., Pazin-Filho, A., Figueiredo, F., Alves-Filho, J. C., Cunha, F. Q. (2016). Neutrophil Extracellular Traps Induce Organ Damage during Experimental and Clinical Sepsis. *PLoS One*, 11(2), e0148142. ss. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0148142>
- Dağdeviren, T. ve Ünver Saraydın, S. (2020). Mukozal bağışıklığın anahtarı "M" hücreleri. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 46(2), 247–254. <https://doi.org/10.32708/uutfd.756283>
- Dahham, S. S., Ali, M. N., Tabassum, H. ve Khan, M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (Punica granatum L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural&Environmental Sciences*, 9(3), 273–281.
- Dai, H., Zhang, H., Zu, X., Wang, H. ve Wang, L. (2020). Clinical significance of serum levels of microRNA-27a and its correlation with interleukin-10 in

- patients with multiple organ dysfunction syndrome caused by acute paraquat poisoning. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19(3), 1961–1968. ss. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8409>
- David, J. R. (1966). Delayed hypersensitivity *in vitro*: Its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 56(1), 73–77. <https://doi.org/10.1073/pnas.56.1.72>
- de Jong, E., van Oers, J. A., Beishuizen, A., Vos, P., Vermeijden, W. J., Haas, L. E., Loef, B. G., Dormans, T., van Melsen, G. C., Kluiters, Y., Kemperman, H., van den Elsen, M. J., Schouten, J. A., Streefkerk, J. O., Krabbe, H. G., Kieft, H., Kluge, G. H., van Dam, V. C., van Pelt, J. ve Bormans, L. (2016). Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: A randomised, controlled, open-label trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(7), 819–827. ss. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00053-0)
- de Oliveira, J. F. F., Garreto, D. V., da Silva, M. C. P., Fortes, T. S., de Oliveira, R. B., Nascimento, F. R. F., Da Costa, F. B., Grisotto, M. A. G., & Nicolete, R. (2013). Therapeutic potential of biodegradable microparticles containing *Punica granatum* L. (pomegranate) in murine model of asthma. *Inflammation Research*, 62(11), 971–980. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0659-3>
- Delano, M. J., Thayer, T., Gabrilovich, S., Kelly-Scumpia, K. M., Winfield, R. D., Scumpia, P. O., Cuenca, A. G., Warner, E., Wallet, S. M., Wallet, M. A., O'Malley, K. A., Ramphal, R., Clare-Salzer, M., Efron, P. A., Mathews, C. E., Moldawer, L. L. (2011). Sepsis induces early alterations in innate immunity that impact mortality to secondary infection. *Journal of Immunology*, 186(1), 195–202. ss. <http://doi.org/10.4049/jimmunol.1002104>
- Dellinger, R. P., Levy, M. M., Carlet, J. M., Levy, P., Maravi-Poma, E., Petrov, M. S., Reinhart, K., Angus, D. C., Brun-Buisson, C., Beale, R., Calandra, T., Dhainaut, J. F., Gerlach, H., Harvey, M., Marini, J. J., Marshall, J., Ranieri, M., Ramsay, G., Sevransky, J., Thompson, B. T., Townsend, S., Vender, J. S., Zimmerman, J. L. ve Vincent, J. L. (2008). Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Medicine*, 34(1), 17–60. ss. <https://doi.org/10.1007/s00134-007-0934-2>
- Delsesto, D. ve Opal, S. M. (2011). Future perspectives on regulating pro- and anti-inflammatory responses in sepsis. *Contributions to Microbiology*, 17, 137–156. <https://doi.org/10.1159/000324030>
- Denev, P., Kratchanova, M., Ciz, M., Lojek, A., Vasicek, O., Nedelcheva, P., Blazheva, D., Toshkova, R., Gardeva, E., Yossifova, L., Hyrsil, P. ve Vojtek, L. (2014). Biological activities of selected polyphenol-rich fruits related to immunity and gastrointestinal health. *Food Chemistry*, 157, 37–44. ss. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.022>

- Dhara, A.K. ve Mandal, S.C. (2023). Role of Herbal Medicines: Management of Lifestyle Diseases; Springer Nature: Berlin/ Heidelberg, Germany.
- Dinareello, C. A. (1999). Cytokines as endogenous pyrogens. *The Journal of Infectious Diseases*, 179, 294-304. ss. <http://doi.org/10.1086/513856>
- Dinareello, C. A. (1999). IL-18: A Th1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 103, 11–24. ss. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(99\)70518-x](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(99)70518-x)
- Dinareello, C. A. (2000). Impact of basic research on tomorrow's medicine: Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503-508. <https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503>
- Donnem, T., Al-Saad, S., Al Shibli, K., Delghandi, M. P., Persson, M., Nilsen, M. N., Busund, L. T. ve Bremnes, R. M. (2007). Inverse prognostic impact of angiogenetic marker expression in tumor cells versus stromal cells in non small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 13(22), 6649-6657. ss. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-0414>
- Doostan, F., Vafafar, R., Zakeri-Milani, P., Pouri, A., Amini Afshar, R. ve Mesgari Abbasi, M. (2017). Effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed and peel methanolic extracts on oxidative stress and lipid profile changes induced by methotrexate in rats. *Advances in Pharmaceutical Bulletin*, 7(2), 269–274. ss. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.032>
- Druml, W. (2014). Systemic consequences of acute kidney injury. *Current Opinion in Critical Care*, 20(6), 613–619. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000150>
- Dschietzig, T., Richter, C., Pfannenschmidt, G., Bartsch, C., Laule, M., Baumann, G. ve Stangl, K. (2001). Dexamethasone inhibits stimulation of pulmonary endothelins by proinflammatory cytokines: Possible involvement of a nuclear factor kappa B dependent mechanism. *Intensive Care Medicine*, 27(4), 751–756. ss. <https://doi.org/10.1007/s001340100882>
- Dulhunty, J. M., Roberts, J. A., Davis, J. S., Webb, S. A. R., Bellomo, R., Gomersall, C., Shirwadkar, C., Eastwood, G. M., Myburgh, J., Paterson, D. L., Starr, T., Paul, S. K. ve Lipman, J. (2015). A multicenter randomized trial of continuous versus intermittent β -lactam infusion in severe sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 192(11), 1298-1305. ss. <https://doi.org/10.1164/rccm.201505-0857OC>
- Dumonde, D. C., Wolstencroft, R. A., Panayi, G. S., Matthew, M., Morley, J. ve Howson, W. T. (1969). Lymphokines: Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation. *Nature*, 224(5215), 38-42. ss. <https://doi.org/10.1038/224038a0>

- Eghbali, S., Askari, S. F., Avan, R. ve Sahebkar, A. (2021). Therapeutic effects of *Punica granatum* (pomegranate): An updated review of clinical trials. *Journal of Nutrition and Metabolism*. ss. <https://doi.org/10.1155/2021/5297162>
- El-Ali, Z., El-Kassas, G., Ziade, F. M., Shivappa, N., Hebert, J. R., Zmerly, H. ve Bissar N. (2021). Evaluation of circulating levels of interleukin-10 and interleukin-16 and dietary inflammatory index in Lebanese knee osteoarthritis patients. *Heliyon*, 7(7), e07551. ss. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07551>
- El-Demerdash, F. M., Ahmed, M. M. ve Baghdadi, H. H. (2023). *Punica granatum* peel extract modulates levofloxacin-induced oxidative stress and testicular damage in rats. *Tissue and Cell*, 85, 102227. ss. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2023.102227>
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry Biophysics*, 82(1), 70–77. ss. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Endo, S., Inada, K., Yamada, Y., Takakuwa, T., Kasai, T., Nakae, H., Yoshida, M. ve Ceska, M. (1994). Plasma endotoxin and cytokine concentrations in patients with hemorrhagic shock. *Critical Care Medicine*, 22(6), 949–955. ss. <https://doi.org/10.1097/00003246-199406000-00012>
- Englert, J. A., Bobba, C. ve Baron, R. M. (2019). Integrating molecular pathogenesis and clinical translation in sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. *JCI Insight*, 4(2), e124061. ss. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.124061>
- Er, B. ve Ortaç Ersoy, N. E. (2021). Sepsis ve biyobelirteçler. Ortaç Ersoy NE, editör. *Sepsis*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, 15-9.
- Fajgenbaum, D. C. ve June, C. H. (2020). Cytokine Storm. *The New England Journal of Medicine*, 383(23), 2255-2273. ss. <http://doi.org/10.1056/NEJMr2026131>
- Fink, M. P. ve Evans, T. W. (2002). Mechanisms of organ dysfunction in critical illness: Report from a Round Table Conference held in Brussels. *Intensive Care Medicine*, 28(3), 369–375. ss. <https://doi.org/10.1007/s00134-001-1205-2>
- Fouad, A. A., Qutub, H. O. ve Al-Melhim, W. N. (2016). Nephroprotection of punicalagin in rat model of endotoxemic acute kidney injury. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 26(7), 538–543. ss. <https://doi.org/10.1080/15376516.2016.1211207>
- Fu, P., Murley, J. S., Grdina, D. J., Birukova, A. A. ve Birukov, K. G. (2011). Induction of cellular antioxidant defense by amifostine improves ventilator-induced lung injury. *Critical Care Medicine*, 39(12), 2711–2721. ss. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3182284a5f>

- Funk, D. J., Parrillo J. E. ve Kumar, A. (2009). Sepsis and Septic Shock: A History. *Critical Care Clinics*, 25(1), 83-101. ss. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2008.12.003>
- Gamcrlidze, M. M., Intskirveli, N. A., Vardosanidze, K. D., Chikhladze, KhE, Goliadze, LSh ve Ratiani, L. R. (2015). Vasoplegia in septic shock (review). *Georgian Medical News*, 239, 56-62.
- Ge, S., Duo, L., Wang, J., GegenZhula, Y., Li, Z. ve Tu, Y. (2021). A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L., and its current research status. *Journal of Ethnopharmacology*, 271(27), 113877. ss. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113877>
- Giamarellos-Bourboulis, E. J. (2014). Natural killer cells in sepsis: Detrimental role for final outcome. *Critical Care Medicine*, 42(6), 1579–1580. ss. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000000352>
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. ve Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4581–4589. ss. <https://doi.org/10.1021/jf000404a>
- Gilroy, D. W. ve Vallance, P. (2005). Resolution for sepsis? *Circulation*, 111(1), 2–4. ss. <http://doi.org/10.1161/01.CIR.0000152696.25879.CE>
- Gosset-Erard, C., Zhao, M., Lordel-Madeleine, S. ve Ennahar, S. (2021). Identification of punicalagin as the bioactive compound behind the antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. *Food Chemistry*, 352(October 2020), 129396. ss. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129396>
- Govindappa, M., Tejashree, S., Thanuja, V., Hemashekhar, B., Srinivas, C., Nasif, O., Pugazhendhi, A. ve Raghavendra, V. B. (2021). Pomegranate fruit fleshy pericarp mediated silver nanoparticles possessing antimicrobial, antibiofilm formation, antioxidant, biocompatibility and anticancer activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61, 102289. ss. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102289>
- Grailer, J. J., Kalbitz, M., Zetoune, F. S. ve Ward, P. A. (2014). Persistent neutrophil dysfunction and suppression of acute lung injury in mice following cecal ligation and puncture sepsis. *Journal of Innate Immunity*, 6(5), 695–705. ss. <http://doi.org/10.1159/000362554>
- Grams, M. E. ve Rabb, H. (2012). The distant organ effects of acute kidney injury. *Kidney International*, 81(10), 942–948. ss. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.241>
- Grover, V., Pantelidis, P., Soni, N., Takata, M., Shah, P. L., Wells, A. U., Henderson, D. C., Kelleher P. ve Singh, S. (2014). A biomarker panel (Bioscore)

- incorporating monocytic surface and soluble TREM-1 has high discriminative value for ventilator-associated pneumonia: a prospective observational study. *PLoS One*, 9(10), e109686. ss. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0109686>
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S. ve Prior, R. L. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *Journal of Nutrient Requirements*, 134, 613–617. ss. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.613>
- Guerrero-Solano, J. A., Jaramillo-Morales, O. A., Jiménez-Cabrera, T., Urrutia-Hernandez, T. A., Chehue-Romero, Á., Olvera-Hernandez, E. G. ve Bautista, M. (2020). Punica protopunica Balf., the forgotten sister of the common pomegranate (*Punica granatum* L.): Features and medicinal properties—A review. *Plants*, 9(9), 1–15. ss. <https://doi.org/10.3390/plants9091214>
- Guidet, B., Aegerter, P., Gauzit, R., Meshaka, P. ve Dreyfuss, D. (2005). Incidence and impact of organ dysfunctions associated with sepsis. *Chest*, 127(3), 942–951. ss. <https://doi.org/10.1378/chest.127.3.942>
- Guo, C., Yang, J., Wei, J. ve Li, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719–1726. ss. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2003.08.005>
- Guo, R. F. ve Ward, P. A. (2005). Role of C5a in inflammatory responses. *Annual Review of Immunology*, 23, 821–852. ss. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115835>
- Gutcher, I. ve Becher, B. (2007). APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(5), 1119–1127. ss. <https://doi.org/10.1172/JCI31720>
- Gül, F., Arslantaş, M. K., Cinel, I., ve Kumar, A. (2017). Changing definitions of sepsis. *Turkish Journal of Anaesthesiology and Reanimation*, 45(3), 129–138. ss. <https://doi.org/10.5152/TJAR.2017.93753>
- Güner, P. ve Aşkun, T. (2023). Anti-bacterial, anti-mycobacterial and anti-fungal properties of Punica granatum as natural dye. *European Journal of Biology*, 82(1), 38–48. ss. <https://doi.org/10.26650/EurJBiol.2023.1239283>
- Halaçlı, B. (2021). Sepsis immünolojisi. Ortaç Ersoy NE, editör. *Sepsis*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, 10-14.
- Hamed, H. S. ve Abdel-Tawwab, M. (2021). Dietary pomegranate (*Punica granatum*) peel mitigated the adverse effects of silver nanoparticles on the performance, haemato-biochemical, antioxidant, and immune responses of Nile tilapia fingerlings. *Aquaculture*, 540, 736742. ss. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736742>
- Hamidzadeh, K., Christensen, S. M., Dalby, E., Chandrasekaran, P. ve Mosser, D. M. (2017). Macrophages and the recovery from acute and chronic

- inflammation. *Annual Review of Physiology*, 79, 567–592. ss. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034348>
- Hancı, P. (2021). Sepsis tedavisi. In N. E. Ortaç Ersoy (Ed.), *Sepsis* (1st ed., pp. 31–38). Ankara: Türkiye Klinikleri.
- Hasan, N. ve Yang, H. (2019). Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *PeerJ*, 8, e7502. ss. <https://doi.org/10.7717/peerj.7502>
- Heguy, A., Baldari, C. T., Macchia, G., Telford, J. L. ve Melli, M. (1992). Amino acids conserved in interleukin-1 receptors and the Drosophila Toll protein are essential for IL-1R signal transduction. *Journal of Biological Chemistry*, 267(4), 2605–2609.
- Holvoet, P., Kritchevsky, S. B., Tracy, R. P., Mertens, A., Rubin, S. M., Butler, J., Goodpaster, B. ve Harris, T. B. (2004). The metabolic syndrome, circulating oxidized LDL, and risk of myocardial infarction in well-functioning elderly people in the health, aging, and body composition cohort. *Diabetes*, 53(4), 1068–1073. ss. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.4.1068>
- Hosseini, A., Razavi, B. M. ve Hosseinzadeh, H. (2023). Protective effects of pomegranate (*Punica granatum*) and its main components against natural and chemical toxic agents: A comprehensive review. *Phytomedicine*, 109, 154581. ss. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154581>
- Hoste, E. A., Bagshaw, S. M., Bellomo, R., Cely, C. M., Colman, R., Cruz, D. N., Edipidis, K., Forni, L. G., Gomersall, C. D. ve Govil, D. (2015). Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: The multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Medicine*, 41(8), 1411–1423. ss. <https://doi.org/10.1007/s00134-015-3934-7>
- Hosten, A. O. (1990). BUN and creatinine. In Walker, H. K., Hall, W. D., & Hurst, J. W. (Eds.), *Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations* (3rd ed.). Butterworths.
- Hotchkiss, R. S., Monneret, G. ve Payen, D. (2013). Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 13(12), 862–874. ss. <https://doi.org/10.1038/nri3552>
- Hotchkiss, R. S., Moldawer, L. L., Opal, S. M., Reinhart, K., Turnbull, I. R. ve Vincent, J. L. (2016). Sepsis and septic shock. *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1), 16045. ss. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.45>
- Huang, M., Cai, S. ve Su, J. (2019). The Pathogenesis of Sepsis and Potential Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21), 5376. ss. <https://doi.org/10.3390/ijms20215376>
- Husain, H., Latief, U. ve Ahmad, R. (2018). Pomegranate action in curbing the incidence of liver injury triggered by Diethylnitrosamine by declining

- oxidative stress via Nrf2 and NF κ B regulation. *Scientific Reports*, 8(1), 1–17. ss. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26611-1>
- Husari, A., Khayat, A., Bitar, H., Hashem, Y., Rizkallah, A., Zaatari, G. ve El Sabban, M. (2014). Antioxidant activity of pomegranate juice reduces acute lung injury secondary to hyperoxia in an animal model. *BMC Research Notes*, 7, 664. ss. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-664>
- Islam, A. T. M. R., Ferdousi, J. ve Shahinozzaman, M. (2021). Previously published ethno-pharmacological reports reveal the potentiality of plants and plant-derived products used as traditional home remedies by Bangladeshi COVID-19 patients to combat SARS-CoV-2. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 28(11), 6653-6673. ss. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.036>
- İnce, C., Mayeux, P. R., Nguyen, T., Gomez, H., Kellum, J. A., Ospina-Tascon, G. A., Hernandez, G., Murray, P. ve Backer, D. D. (2016). The endothelium in sepsis. *Shock*, 45(3), 259–270. ss. <http://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000473>
- Jacob, J., Lakshmanapermalsamy, P., Illuri, R., Bhosle, D., Sangli, G. K. ve Mundkinajeddu, D. (2018). In vitro evaluation of antioxidant potential of isolated compounds and various extracts of peel of *Punica granatum* L. *Pharmacognosy Research*, 10(1), 44–48. <https://doi.org/10.4103/pr.pr.36.17>
- Jamsa, J., Ala-Kokko, T., Huotari, V., Ohtonen, P., Savolainen, E. R. ve Syrjala, H. (2018). Neutrophil CD64, C-reactive protein, and procalcitonin in the identification of sepsis in the ICU-Post-test probabilities. *Journal of Critical Care*, 43, 139-142. ss. <http://doi.org/10.1016/j.jcrc.2017.08.038>
- Jarrar, D., Kuebler, J. F., Rue, L. W., Matalon, S., Wang, P., Bland, K. I. ve Chaudry, I. H. (2002). Alveolar macrophage activation after trauma-hemorrhage and sepsis is dependent on NF-kappaB and MAPK/ERK mechanisms. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 283(4), L799-L805. ss. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00465.2001>
- Jazinaki, M. S., Rashidmayvan, M. ve Pahlavani, N. (2024). The effect of pomegranate juice supplementation on C-reactive protein levels: GRADE-assessed systematic review and dose–response updated meta-analysis of data from randomized controlled trials. *Phytotherapy Research*, 38(6), 2818-2831. ss. <https://doi.org/10.1002/ptr.8188>
- Jin, H. T., Ahmed, R. ve Okazaki, T. (2011). Role of PD-1 in regulating T-cell immunity. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 350, 17-37. ss. https://doi.org/10.1007/82_2010_116
- Johnson, J., Meyrick, B., Jesmok, G. ve Brigham, K. L. (1989). Human recombinant tumour necrosis factor- α infusion mimics endotoxemia in awake sheep. *Journal of Applied Physiology*, 66(3), 1448–1454. ss. <https://doi.org/10.1152/jappl.1989.66.3.1448>

- Jones, R. B., Stockerl-Goldstein, K. E., Klein, J., Murphy, J., Blume, K. G., Dansey, R., Martinez, C., Matthes, S. ve Nieto, Y. (2004). A randomized trial of amifostine and carmustine-containing chemotherapy to assess lung-protective effects. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 10(4), 276–282. ss. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2004.01.001>
- Jordakieva, G., Budge-Wolfram, R. M., Budinsky, A. C., Nikfardjam, M., Delle-Karth, G., Girard, A., Godnic-Cvar, J., Crevenna, R. ve Heinz, G. (2021). Plasma MMP-9 and TIMP-1 levels on ICU admission are associated with 30-day survival. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 133(3-4), 86-95. ss. <https://doi.org/10.1007/s00508-019-01592-x>
- Jurenka, J. S. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. *Alternative Medicine Review*, 13(2), 128-144.
- Kachkoul, R., Benjelloun Touimi, G., Bennani, B., El Mouhri, G., El Habbani, R., Mohim, M., Sqalli Houssaini, T., Boukansa, S., Tahiri, L., El Fatemi, H., Gouzi, I., Elagy, F., Sekal, M. ve Lahrichi, A. (2023). In vivo anti-lithiasis activity and antibacterial effect of hydroalcoholic extract and infusion of *Punica granatum* L. peel. *Scientific African*, 22, e01918. ss. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01918>
- Kalantari, S., Roufegarinejad, L., Pirs, S., Gharekhani, M. ve Tabibiazar, M. (2021). β -Cyclodextrin-assisted extraction of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A new strategy for anthocyanin copigmentation. *LWT*, 151(March), 112136. ss. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112136>
- Kanevskiy, L. M., Telford, W. G., Sapozhnikov, A. M. ve Kovalenko, E. I. (2013). Lipopolysaccharide induces IFN-gamma production in human NK cells. *Frontiers in Immunology*, 4, 11. ss. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00011>
- Kangelaris, K. N., Prakash, A., Liu, K. D., Aouizerat, B. E., Woodruff, P. G., Erle, D. J., Rogers, A. J., Seeley, E. J., Chu, J. H., Liu, T., Osterberg-Deiss, T., Zhuo, H., Matthay, M. A. ve Calfee, C. S. (2015). Increased expression of neutrophil-related genes in patients with early sepsis-induced ARDS. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 308(11), L1102–L1113. ss. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00380.2014>
- Karimi, M., Sadeghi, R. ve Kokini, J. (2017). Pomegranate as a promising opportunity in medicine and nanotechnology. *Trends in Food Science & Technology*, 69, 59–73. ss. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.019>
- Karin, M., Lawrence, T., & Nizet, V. (2006). Innate immunity gone awry: Linking microbial infections to chronic inflammation and cancer. *Immunological Reviews*, 124(4), 823-835.
- Kasten, K. R., Muenzer, J. T. ve Caldwell, C. C. (2010). Neutrophils are significant producers of IL-10 during sepsis. *Biochemical and Biophysical Research*

- Communications, 393(1), 28–31. ss. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.01.066>
- Kaur, H. ve Ghorai, S.M. (2022). Role of Cytokines as Immunomodulators. In: Kesharwani, R.K., Keservani, R.K., Sharma, A.K. (eds) Immunomodulators and Human Health. *Springer*, Singapore. ss. https://doi.org/10.1007/978-981-16-6379-6_13
- Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H. ve Abdul Hamid, A. (2016). Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. *Food Chemistry*, 206, 156–166. ss. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.017>
- Kellum, J. A., Chawla, L. S., Keener, C., Singbartl, K., Palevsky, P. M., Pike, F. L., Yealy, D. M., Huang, D. T. ve Angus, D. C. (2016). The effects of alternative resuscitation strategies on acute kidney injury in patients with septic shock. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 193(3), 281–287. ss. <https://doi.org/10.1164/rccm.201505-0995OC>
- Khan, N., Syed, D. N., Pal, H. C., Mukhtar, H. ve Afaq, F. (2012). Pomegranate fruit extract inhibits UVB-induced inflammation and proliferation by modulating NF- κ B and MAPK signaling pathways in mouse skin. *Photochemistry and Photobiology*, 88(5), 1126–1134. ss. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.01063.x>
- Khan, M. M., Yang, W.-L., Brenner, M., Cerutti Bolognese, A. ve Wang, P. (2017). Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) causes sepsis-associated acute lung injury via induction of endoplasmic reticulum stress. *Scientific Reports*, 7, Article 41363. ss. <https://doi.org/10.1038/srep41363>
- Kho, Z. Y. ve Lal, S. K. (2018). The human gut microbiome - a potential controller of wellness and disease. *Frontiers in Microbiology*, 9, Article 1835. ss. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01835>
- Khwaja, A. (2012). KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clinical Practice*, 120(4), 179–184. ss. <https://doi.org/10.1159/000339789>
- Kim, H., Hur, M., Moon, H. W., Yun, Y. M. ve Di Somma, S. (2017). Multi-marker approach using procalcitonin, presepsin, galectin-3, and soluble suppression of tumorigenicity 2 for the prediction of mortality in sepsis. *Annals of Intensive Care*, 7(1), 27. ss. <http://doi.org/10.1186/s13613-017-0252-y>
- Ko, K., Dadmohammadi, Y. ve Abbaspourrad, A. (2021). Nutritional and bioactive components of pomegranate waste used in food and cosmetic applications: A review. *Foods*, 10(3). ss. <https://doi.org/10.3390/foods10030657>

- Kondo, Y., Ota, K., Imura, H., Hara, N. ve Shime, N. (2020). Prolonged versus intermittent β -lactam antibiotics intravenous infusion strategy in sepsis or septic shock patients: A systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis of randomized trials. *Journal of Intensive Care*, 8, 77. ss. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-00490-z>
- Kovach, M. A. ve Standiford, T. J. (2012). The function of neutrophils in sepsis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 25(3), 321–327. ss. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283528c9b>
- Kumar, G., Kumar, N., Taneja, A., Kaleekal, T., Tarima, S., McGinley, E., Jimenez, E., Mohan, A., Jacobs, E., Whittle, J., ve Nanchal, R. (2011). Nationwide trends of severe sepsis in the 21st century (2000–2007). *Chest*, 140(5), 1223–1231. ss. <https://doi.org/10.1378/chest.11-0352>
- Kumar, V. (2018). Targeting macrophage immunometabolism: Dawn in the darkness of sepsis. *International Immunopharmacology*, 58, 173–185. ss. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.03.005>
- Kumar, V. (2019). Natural killer cells in sepsis: Underprivileged innate immune cells. *European Journal of Cell Biology*, 98(2), 81–93. ss. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2018.12.003>
- Kumar, V. (2020). Pulmonary innate immune response determines the outcome of inflammation during pneumonia and sepsis-associated acute lung injury. *Frontiers in Immunology*, 11, 1722. ss. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01722>
- Lamkanfi, M. (2011). Emerging inflammasome effector mechanisms. *Nature Reviews Immunology*, 11(3), 213–220. ss. <https://doi.org/10.1038/nri2936>
- Landry, D. W. ve Oliver, J. A. (2001). The pathogenesis of vasodilatory shock. *The New England Journal of Medicine*, 345(8), 588–595. ss. <https://doi.org/10.1056/NEJMra002709>
- Lange, M., Enkhbaatar, P., Nakano, Y. ve Traber, D. L. (2009). Role of nitric oxide in shock; the large animal perspective. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 14(5), 1979–1989. ss. <https://doi.org/10.2741/3357>
- Lansky, E. P. ve Newman, R. A. (2007). Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 177–206. ss. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.006>
- Lauvau, G., Loke, P. ve Hohl, T. M. (2015). Monocyte-mediated defense against bacteria, fungi, and parasites. *Seminars in Immunology*, 27(6), 397–409. ss. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.03.014>
- Lazar, V., Ditu, L. M., Pircalabioru, G. G., Gheorghe, I., Curutiu, C., Holban, A. M., Picu, A., Petcu, L. ves Chifiriuc, M. C. (2018). Aspects of gut microbiota and

- immune system interactions in infectious diseases, immunopathology, and cancer. *Frontiers in Immunology*, 9, Article 1830. ss. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01830>
- Lee, C. R. ve Zeldin, D. C. (2015). Resolving infectious inflammation by targeting the host response. *The New England Journal of Medicine*, 373(22), 2183–2185. ss. <https://doi.org/10.1056/NEJMcibr1511280>
- Lee, S., Nakahira, K., Dalli, J., Siempos, I. I., Norris, P. C., Colas, R. A., Moon, J. S., Shinohara, M., Hisata, S., Howrylak, J. A., Ryter, S. W., Serhan, C. N. ve Choi, A. M. K. (2017). NLRP3 inflammasome deficiency protects against microbial sepsis via increased lipoxin B4 synthesis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 196(6), 713–726. ss. <https://doi.org/10.1164/rccm.201604-0892OC>
- Legrand-Poels, S., Schoonbroodt, S., Matroule, J.-Y., & Piette, J. (1998). NF- κ B: An important transcription factor in photobiology. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 45(1), 1-8. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(98\)00118-3](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(98)00118-3)
- Levi-Montalcini, R. ve Hamburger, V. (1953). A diffusible agent of mouse sarcoma producing hyperplasia of sympathetic ganglia and hyperneurotization of the chick embryo. *Journal of Experimental Zoology*, 123, 233-388. ss. <https://doi.org/10.1002/jez.1401230203>
- Levy, M. M., Fink, M. P., Marshall, J. C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., Cohen, J., Opal, S. M., Vincent, J. L. ve Ramsay, G. (2003). 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical Care Medicine*, 31(4), 1250–1256. ss. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B>
- Levy, M. M., Artigas, A., Phillips, G. S., Rhodes, A., Beale, R., Osborn, T., Vincent, J. L., Townsend, S., Lemeshow, S. ve Dellinger, R. P. (2012). Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: A prospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 12(12), 919–924. ss. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70239-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70239-6)
- Li, W., Li, D., Chen, Y., Abudou, H., Wang, H., Cai, J., Wang, Y., Liu, Z., Liu, Y. ve Fan, H. (2022). Classic signaling pathways in alveolar injury and repair involved in sepsis-induced ALI/ARDS: New research progress and prospect. *Disease Markers*, 2022, Article 6362344. ss. <https://doi.org/10.1155/2022/6362344>
- Lijmer, J. G., Mol, B. W. ve Heisterkamp, S. (1999). Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *Journal of the American Medical Association*, 282(11), 1061–1066. ss. <https://doi.org/10.1001/jama.282.11.1061>

- Liu, V., Morehouse, J. W., Soule, J., Whippy, A. ve Escobar, G. J. (2013). Fluid volume, lactate values, and mortality in sepsis patients with intermediate lactate values. *Annals of the American Thoracic Society*, 10, 466–473. ss. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201304-099OC>
- Liu, D., Su, L., Han, G., Yan, P. ve Xie, L. (2015) Prognostic value of procalcitonin in Adult patients with Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, 10(6), e0129450. ss. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0129450>
- Lobo, S. M., Lobo, F. R., Bota, D. P., Lopes-Ferreira, F., Soliman, H. M., Mélot, C. ve Vincent, J. L. (2003). C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest*, 123(6), 2043–2049. ss. <https://doi.org/10.1378/chest.123.6.2043>
- Luan, Y. Y., Dong, N., Xie, M., Xiao, X. Z. ve Yao, Y. M. (2014). The significance and regulatory mechanisms of innate immune cells in the development of sepsis. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 34(1), 2–15. ss. <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0042>
- Luzzani, A., Polati, E., Dorizzi, R., Rungatscher, A., Pavan, R. ve Merlini, A. (2003). Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Critical Care Medicine*, 31(6), 1737-1741. ss. <http://doi.org/10.1097/01.CCM.0000063440.19188.ED>
- Lydia, D. E., Khusro, A., Immanuel, P., Esmail, G. A., Al-Dhabi, N. A. ve Arasu, M. V. (2020). Photo-activated synthesis and characterization of gold nanoparticles from Punica granatum L. seed oil: An assessment on antioxidant and anticancer properties for functional yoghurt nutraceuticals. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 206, 111868. ss. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111868>
- Makled, M. N., El-Awady, M. S., Abdel-Aziz, R. R., Shehab El-Din, A. B., Ammar, E. M. ve Gameil, N. M. (2021). Pomegranate extract ameliorates renal ischemia/reperfusion injury in rats via suppressing NF-κB pathway. *Human & Experimental Toxicology*, 40(12_suppl), S573–S582. ss. <https://doi.org/10.1177/09603271211041998>
- Male, D., Brostoff, J., Roth, D. B., ve Roitt, I. (Çeviri: Turgut, T.). (2008). *İmmünoloji* (7. baskı). Palme Yayıncılık.
- Malhotra, R. ve Siew, E. D. (2017). Biomarkers for the early detection and prognosis of acute kidney injury. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(1), 149–173. ss. <https://doi.org/10.2215/CJN.01300216>
- Mandić-Kovačević, N., Kukrić, Z., Latinović, S., Cvjetković, T., Sobot, T., Bajić, Z., Malicević, U., Marinković, S., Đukanović, Đ., Uletilović, S. ve Suruć, R. (2023). Antioxidative potential of pomegranate peel extract: In vitro and in vivo studies. *Scripta Medica*, 54(1), 9–18. ss. <https://doi.org/10.5937/scriptamed54-43453>

- Mao, Z. R., Zhang, S. L. ve Feng, B. (2016). Association of IL-10 (-819T/C, -592A/C, and -1082A/G) and IL-6 -174G/C gene polymorphism and the risk of pneumonia-induced sepsis. *Biomarkers*, 22(2), 106–112. ss. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2016.1210677>
- Maphetu, N., Unuofin, J. O., Masuku, N. P., Olisah, C. ve Lebelo, S. L. (2022). Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113256. ss. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113256>
- Marques, L. C. F., Pinheiro, A. J. M. C. R., Araujo, J. G. G., de Oliveira, R. A. G., Silva, S. N., Abreu, I. C., de Sousa, E. M., Fernandes, E. S., Luchessi, A. D., Silbiger, V. N., Nicolete, R. ve Lima-Neto, L. G. (2016). Anti-inflammatory effects of a pomegranate leaf extract in LPS-induced peritonitis. *Planta Medica*, 82(17), 1463-1467. ss. <https://doi.org/10.1055/s-0042-108856>
- Martin, G. S., Mannino, D. M., Eaton, S. ve Moss, M. (2003). The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *The New England Journal of Medicine*, 348(16), 1546–1554. ss. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa022139>
- Martins, P. S., Kallas, E. G., Neto, M. C., Dalboni, M. A., Blecher, S. ve Salomao, R. (2003). Upregulation of reactive oxygen species generation and phagocytosis, and increased apoptosis in human neutrophils during severe sepsis and septic shock. *Shock*, 20(3), 208–212. ss. <https://doi.org/10.1097/01.shk.0000079425.52617.db>
- Mastrogiovanni, F., Mukhopadhyay, A., Lacetera, N., Ryan, M. T., Romani, A., Bernini, R. ve Sweeney, T. (2019). Anti-inflammatory effects of pomegranate peel extracts on in vitro human intestinal Caco-2 cells and ex vivo porcine colonic tissue explants. *Nutrients*, 11(3), 548. ss. <https://doi.org/10.3390/nu11030548>
- Matthay, M. A. ve Wiener-Kronish, J. P. (1990). Intact epithelial barrier function is critical for the resolution of alveolar edema in humans. *American Review of Respiratory Disease*, 142(6 Pt 1), 1250–1257. ss. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/142.6 Pt 1.1250>
- Matute-Bello, G., Frevert, C. W. ve Martin, T. R. (2008). Animal models of acute lung injury. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 295(3), L379–L399. ss. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00010.2008>
- Matute-Bello, G., Downey, G., Moore, B. B., Groshong, S. D., Matthay, M. A., Slutsky, A. S. ve Kuebler, W. M. (2011). An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 44(5), 725-738. ss. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0210ST>

- Mayasankaravalli, C., Deepika, K., Lydia, D. E., Agada, R., Thagriki, D., Govindasamy, C., Chinnadurai, V., Gatar, O. M. O., Khusro, A., Kim, Y. O. ve Kim, H.-J. (2020). Profiling the phyto-constituents of *Punica granatum* fruits peel extract and accessing its in-vitro antioxidant, anti-diabetic, anti-obesity, and angiotensin-converting enzyme inhibitory properties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3228-3234. ss. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.046>
- Mearelli, F., Fiotti, N., Giansante, C., Casarsa, C., Orso, D., De Helmersen, M., Altamura, N., Ruscio, M., Castello, L. M., Colonetti, E., Marino, R., Barbat, G., Bregnocchi, A., Ronco, C., Lupia, E., Montrucchio, G., Muiesan, M. L., Di Somma, S., Avanzi, G. C., Biolo G. (2018). Derivation and validation of a Biomarker-Based Clinical Algorithm to Rule Out Sepsis From Noninfectious Systemic Inflammatory Response Syndrome at Emergency Department Admission: A Multicenter Prospective Study. *Critical Care Medicine*, 46(9), 1421-1429. ss. <http://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003206>
- Medeiros, P., Nga, H. S., Menezes, P., Bridi, R., Balbi, A. ve Ponce, D. (2015). Acute kidney injury in septic patients admitted to emergency clinical room: Risk factors and outcome. *Clinical and Experimental Nephrology*, 19(5), 859–866. ss. <https://doi.org/10.1007/s10157-014-1076-9>
- Melgarejo-Sanchez, P., Nunez-Gomez, D., Martinez-Nicolas, J. J., Hernandez, F., Legua, P. ve Melgarejo, P. (2021). Pomegranate variety and pomegranate plant part, relevance from bioactive point of view: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1). ss. <https://doi.org/10.1186/s40643-020-00351-5>
- Mestry, S. N., Dhodi, J. B., Kumbhar, S. B. ve Juvekar, A. R. (2017). Attenuation of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats by *Punica granatum* Linn. leaves extract. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(3), 273–280. ss. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.06.008>
- Micheau, O. ve Tschopp, J. (2003). Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*, 114(2), 181–190. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00521-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00521-X)
- Michie, H. R., Manogue, K. R., Spriggs, D. R., Revhaug, A., O'Dwyer, S. T., Dinarello, C. A., Cerami, A., Wolff, S. M. ve Wilmore, D. W. (1988). Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *New England Journal of Medicine*, 318(23), 1481–1486. ss. <https://doi.org/10.1056/NEJM198806093182301>
- Mirahmad, M., Mohseni, S., Tabatabaei-Malazy, O., Esmaeili, F., Alatab, S., Bahramsoltani, R., Ejtahed, H.-S., Qulami, H., Bitarafan, Z., Arjmand, B. ve Nazeri, E. (2023). Antioxidative hypoglycemic herbal medicines with in vivo and in vitro activity against C-reactive protein; a systematic review. *Phytomedicine*, 109, 154615. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154615>

- Modaeinama, S., Abasi, M., Abbasi, M. M. ve Esfahlan, R. J. (2016). Anti-tumoral properties of Punica granatum (pomegranate) seed extract in different human cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(3), 1119–1122. ss. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.3.1119>
- Modlin, R. I., Brightbill, H. D. ve Godowski, P. J. (1999). The toll of innate immunity on microbial pathogens. *The New England Journal of Medicine*, 340(23), 1834-1835. ss. <http://doi.org/10.1056/NEJM199906103402312>
- Moga, M. A., Dimienescu, O. G., Balan, A., Dima, L., Toma, S. I., Bîgiu, N. F. ve Blidaru, A. (2021). Pharmacological and therapeutic properties of Punica granatum phytochemicals: *Possible roles in breast cancer*. *Molecules*, 26(4), 1054. ss. <https://doi.org/10.3390/molecules26041054>
- Mogensen, T. H. (2009). Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(2), 240–273. ss. <https://doi.org/10.1128/CMR.00046-08>
- Mohamad Sukri, S. N. A., Shameli, K., Mei-Theng Wong, M., Teow, S. Y., Chew, J. ve Ismail, N. A. (2019). Cytotoxicity and antibacterial activities of plant-mediated synthesized zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Punica granatum (pomegranate) fruit peels extract. *Journal of Molecular Structure*, 1189, 57–65. ss. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.04.026>
- Monserrat, J., de Pablo, R., Diaz-Martin, D., Rodriguez-Zapata, M., de la Hera, A., Prieto, A. ve Alvarez-Mon, M. (2013). Early alterations of B cells in patients with septic shock. *Critical Care*, 17(3), R105. ss. <http://doi.org/10.1186/cc12750>
- Moreira, H., Slezak, A., Szyjka, A., Oszmianski, J. ve Gasiorowski, K. (2017). Antioxidant and cancer chemopreventive activities of Cistus and pomegranate polyphenols. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 74(2), 688–698.
- Mphahlele, R. R., Fawole, O. A., Makunga, N. P. ve Opara, U. L. (2016). Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial, and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–12. ss. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1132-y>
- Munford, R. S. ve Pugin, J. (2001). Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 163(2), 316–321. ss. <http://doi.org/10.1164/ajrccm.163.2.2007102>
- Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Jorgensen, J. H., & Tenover, R. C. (2009). *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., Vol. 1, pp. 390-770). ASM Press.
- Murthy, K. N. C., Jayaprakasha, G. K. ve Singh, R. P. (2002). Studies on antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel extract using in vivo models.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4791–4795. ss. <https://doi.org/10.1021/jf0255735>
- Nathan, C. (2006). Neutrophils and immunity: Challenges and opportunities. *Nature Reviews Immunology*, 6(3), 173–182. ss. <http://doi.org/10.1038/nri1785>
- Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A. ve Packer, L. (2002). Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: Delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 166–171. ss. <https://doi.org/10.1021/jf0108765>
- Ohkawa, H., Ohishi, N. ve Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358. ss. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- O'Neill, L. A. J. (2008). The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: 10 years of progress. *Immunological Reviews*, 226(1), 10–18. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00701.x>
- O'Neill, J. (2016). Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. The Review on Antimicrobial Resistance. Wellcome Trust and HM Government: London, UK.
- Opal, S. M. ve Poll, T. (2015). Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *Journal of Internal Medicine*, 277(3), 277–293. ss. <https://doi.org/10.1111/joim.12331>
- Oppenheim, J. J. (2001). Cytokines: Past, present, and future. *International Journal of Hematology*, 74(1), 3–8. ss. <https://doi.org/10.1007/BF02982543>
- Osborne, B. A. (2000). Transcriptional control of T cell development. *Current Opinion in Immunology*, 12(3), 301–306. ss. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(00\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(00)00091-1)
- Otto, G. P., Sossdorf, M., Claus, R. A., Rodel, J., Menge, K., Reinhart, K., Bauer, M. ve Riedemann, N. C. (2011). The late phase of sepsis is characterized by an increased microbiological burden and death rate. *Critical Care*, 15(4), R183. <https://doi.org/10.1186/cc10332>
- Özkanlar, S. (2011). Deneysel Sepsis Oluşturulan Ratlarda Antibiyotik, Kortikosteroid ve Vitamin K Kullanımlarının İnflamatuvar Belirteçler, Hematolojik Parametreler ve Yaşam Süreleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. [Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi]. Yükseköğretim Kurulu Tez Merkezi. ss. <https://tez.yok.gov.tr/>
- Pai, V., Chanu, T. R., Chakraborty, R., Raju, B., Lobo, R. ve Ballal, M. (2011). Evaluation of the antimicrobial activity of *Punica granatum* peel against the enteric pathogens: An in vitro study. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1(2), 57–62.

- Pannu, N., James, M., Hemmelgarn, B. ve Klarenbach, S. (2013). Association between AKI, recovery of renal function, and long-term outcomes after hospital discharge. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 8(2), 194–202. ss. <https://doi.org/10.2215/CJN.06480612>
- Park, J. H., Kim, D. H., Jang, H. R., Kim, M. J., Jung, S. H., Lee, J. E., Huh, W., Kim, Y. G., Kim, D. J. ve Oh, H. Y. (2014). Clinical relevance of procalcitonin and C-reactive protein as infection markers in renal impairment: a cross-sectional study. *Critical Care*, 18(6), 640. ss. <http://doi.org/10.1186/s13054-014-0640-8>
- Pasteur, L. (1880). De l'extension de la theorie des germes a l'etiologie de quelques maladies communes. *Recueil de Medecine Veterinaire*, 57, 642-654.
- Pastille, E., Didovic, S., Brauckmann, D., Rani, M., Agrawal, H., Schade, F. U., Zhang, Y. ve Flohe, S. B., (2010). Modulation of dendritic cell differentiation in the bone marrow mediates sustained immunosuppression after polymicrobial sepsis. *Journal of Immunology*, 186(2), 977–986. ss. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001147>
- Peerapornratana, S., Manrique-Caballero, C. L., Gomez, H. ve Kellum, J. A. (2019). Acute kidney injury from sepsis: Current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention, and treatment. *Kidney International*, 96(5), 1083–1099. ss. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.05.026>
- Peng, Y., Liu, X., Duan, Z., Duan, J. ve Zhou, Y. (2021). The association of serum IL-10 levels with the disease activity in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis patients. *Mediators of Inflammation*, 6. ss. <https://doi.org/10.1155/2021/6650928>
- Pienaar, L. ve Barends-Jones, V. (2021). The economic contribution of South Africa's pomegranate industry. *Division of Macroeconomic Resources and Economics*, 18(4). ss. <https://hdl.handle.net/10520/ejc-agriprob-v18-n4-a23>
- Pierrakos, C., Velissaris, D., Bisdorff, M., Marshall, J. C. ve Vincent, J. L. (2020). Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal. *Critical Care*, 24(1), 287. ss. <http://doi.org/10.1186/s13054-020-02993-5>
- Pinheiro, A. J. M. C. R., Mendes, A. R. S., Neves, M. D. F. J., Prado, C. M., Bittencourt-Mernak, M. I., Santana, F. P. R., Lago, J. H. G., Sá, J. C. de, Rocha, C. Q. da, Sousa, E. M. de, Fontes, V. C., Grisoto, M. A. G., Falcai, A. ve Lima-Neto, L. G. (2019). Galloyl–hexahydroxydiphenoyl (HHDP)–glucose isolated from *Punica granatum* L. leaves protects against lipopolysaccharide (LPS)–induced acute lung injury in BALB/c mice. *Frontiers in Immunology*, 10, 1978. ss. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01978>

- Poll, T., Veerdonk, F. L., Scicluna, B. P. ve Netea, M. G. (2017). The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nature Reviews Immunology*, 17(7), 407-420. ss. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.36>
- Poltorak, A., Smirnova, I., He, X., Liu, M. Y., Van Huffer, C., McNally, O., Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., Du, X., Thompson, P., Chan, E. K., Ledesma, J., Roe, B., Clifton, S., Vogel, S. N. ve Beutler, B. (1998). Genetic and physical mapping of the Lps locus: Identification of the toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 24(3), 340–355. ss. <https://doi.org/10.1006/bcmd.1998.0201>
- Povoa, P., Coelho, L., Almeida, E., Fernandes, A., Mealha, R., Moreira, P. ve Sabino, H. (2005). C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(2), 101–108. ss. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.01044.x>
- Povoa, P., Teixeira-Pinto, A. M. ve Carneiro, A. H. (2011). C-reactive protein, an early marker of community-acquired sepsis resolution: a multi-center prospective observational study. *Critical Care*, 15(4), R169. ss. <http://doi.org/10.1186/cc10313>
- Qiu, P., Liu, Y. ve Zhang, J. (2019). The role and mechanisms of macrophage autophagy in sepsis. *Inflammation*, 42(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0890-8>
- Qnais, E. Y., Elokda, A. S., Abu Ghalyun, Y. Y. ve Abdulla, F. A. (2007). Antidiarrheal Activity of the Aqueous extract of Punica granatum (Pomegranate) peels. *Pharmaceutical Biology*, 45(9), 715–720. ss. <https://doi.org/10.1080/13880200701575304>
- Rangel-Frausto, M. S. (1999). The epidemiology of bacterial sepsis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 13(2), 299-312. ss. [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(05\)70076-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(05)70076-3)
- Rauch, P. J., Chudnovskiy, A., Robbins, C. S., Weber, G. F., Etzrodt, M., Hilgendorf, I., Tiglao, E., Figueiredo, J. L., Iwamoto, Y., Theurl, I., Gorbato, R., Waring, M. T., Chicoine, A. T., Mouded, M., Pittet, M. J., Nahrendorf, M., Weissleder, R., Swirski, F. K. (2012). Innate response activator B cells protect against microbial sepsis. *Science*, 335(6068), 597-601. ss. <http://doi.org/10.1126/science.1215173>
- Raymond, S. L., Holden, D. C., Mira, J. C., Stortz, J. A., Loftus, T. J., Mohr, A. M., Moldawer, L. L., Moore, F. A., Larson, S. D. ve Efron, P. A. (2017). Microbial recognition and danger signals in sepsis and trauma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(10), 2564–2573. ss. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.01.013>
- Reinhart, K., Daniels, R., Kissoon, N., Machado, F. R., Schachter, R. D. ve Finfer, S. (2017). Recognizing sepsis as a global health priority -A WHO resolution.

- The New England Journal of Medicine*, 377(5), 414–417. ss. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1707170>
- Rhee, C., Kadri, S. S., Dekker, J. P., Danner, R. L., Chen, H.-C., Fram, D., Zhang, F., Wang, R. ve Klompas, M. (2020). Prevalence of antibiotic-resistant pathogens in culture-proven sepsis and outcomes associated with inadequate and broad-spectrum empiric antibiotic use. *The Journal of the American Medical Association Network Open*, 3(4), e202899. ss. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.2899>
- Rhodes, A., Evans, L. E., Alhazzani, W., Levy, M. M., Antonelli, M., Ferrer, R., Kumar, A., Sevransky, J. E., Sprung, C. L., Nunnally, M. E., Rochwerf, B. Ve Dellinger, R. P. (2017). Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Medicine*, 43(3), 304–377. <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4683-6>
- Rimmele, T., Payen, D., Cantaluppi, V., Marshall, J., Gomez, H., Gomez, A., Murray, P. ve Kellum, J. A. (2016). Immune cell phenotype and function in sepsis. *SHOCK*, 45(3), 282–291.ss. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000495>
- Rittirsch, D., Flierl, M. A. ve Ward, P. A. (2008). Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nature Reviews Immunology*, 8(10), 776–787. ss. <http://doi.org/10.1038/nri2402>
- Rodrigues Pinheiro, A. J. M. C., Sá Gonçalves, J., Alves Dourado, Á. W., de Sousa, E. M., Mesquita Brito, N., Silva, L. K., Aranha Batista, M. C., Cortez de Sá, J., Vieira Monteiro, C. R. A., Soares Fernandes, E., Monteiro-Neto, V., Campbell, L. A., Wiziack Zago, P. M. ve Lima-Neto, L. G. (2018). *Punica granatum L. leaf extract attenuates lung inflammation in mice with acute lung injury*. *Journal of Immunology Research*, 2018, 6879183. ss. <https://doi.org/10.1155/2018/6879183>
- Rojas, D. B., Gemelli, T., Binkowski de Andrade, R., Guimaraes Campos, A., Dutra-Filho, C. S. ve Duval Wannmacher, C. M. (2012). Administration of histidine to female rats induces changes in oxidative status in cortex and hippocampus of the offspring. *Neurochemical Research*, 37, 1031-1036. ss. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0703-7>
- Ruan, J.-H., Li, J., Adili, G., Sun, G.-Y., Abuduaini, M., Abdulla, R., Maiwulanjiang, M. ve Aisa, H. A. (2022). Phenolic compounds and bioactivities from pomegranate (*Punica granatum L.*) peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3678–3686. ss. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c08341>
- Rudd, K. E., Johnson, S. C., Agesa, K. M., Shackelford, K. A., Tsoi, D., Kievlan, D. R., Colombara, D. V., Ikuta, K. S., Kissoon, N., Finfer, S., Fleischmann-Struzek, C., ... Naghavi, M. (2020). Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: Analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*, 395, 200–211. ss. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32989-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32989-7)

- Rummun, N., Somanah, J., Ramsaha, S., Bahorun, T. ve Neergheen-Bhujun, V. S. (2013). Bioactivity of nonedible parts of *Punica granatum* L.: A potential source of functional ingredients. *International Journal of Food Science*. Article ID 602312. ss. <https://doi.org/10.1155/2013/602312>
- Saadat, S., Beigoli, S., Khazdair, M. R., Amin, F. ve Boskabady, M. H. (2022). Experimental and clinical studies on the effects of natural products on noxious agents-induced lung disorders: A review. *Frontiers in Nutrition*, 9, 867914. ss. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.867914>
- Santos, S. S., Brunialti, M. K. C., Rigato, O., Machado, F. R., Silva, E. ve Salomão, R. (2012). Generation of nitric oxide and reactive oxygen species by neutrophils and monocytes from septic patients and association with outcomes. *Shock*, 38(1), 18–23. ss. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318257114e>
- Savage, R. D., Fowler, R. A., Rishu, A. H., Bagshaw, S. M., Cook, D., Dodek, P., Hall, R., Kumar, A., Lamontagne, F., Lauzier, F., Marshall, J., Martin, C. M., McIntyre, L., Muscedere, J., Reynolds, S., Stelfox, H. T. ve Daneman, N. (2016). Pathogens and antimicrobial susceptibility profiles in critically ill patients with bloodstream infections: A descriptive study. *CMAJ Open*, 4(4), 569-577. ss. <https://doi.org/10.9778/cmajo.20160074>
- Scheiermann, P., Hoegl, S., Hofstetter, C., Pfeilschifter, J., Zwissler, B., Mühl, H., Boost, K. A. ve Scheller, B. (2011). Comparing hemodynamics, blood gas analyses and proinflammatory cytokines in endotoxemic and severely septic rats. *International Immunopharmacology*, 11(6), 719-723. ss. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2011.01.020>
- Schmit, X. ve Vincent, J. L. (2008). The time course of blood C-reactive protein concentrations in relation to the response to initial antimicrobial therapy in patients with sepsis. *Infection*, 36(3), 213–219. ss. <https://doi.org/10.1007/s15010-007-7077-9>
- Schroder, K. ve Tschopp, J. (2010). The Inflammasomes. *Cell*, 140(6), 821-832. ss. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.040>
- Schuetz, P., Wirz, Y., Sager, R., Christ-Crain, M., Stolz, D., Tamm, M., Bouadma, L., Luyt, C. E., Wolff, M., Chastre, J., Tubach, F., ... Mueller, B. (2017). Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 10. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007498.pub3>
- Schuster, D. P. ve Marklin, G. F. (1986). The effect of regional lung injury or alveolar hypoxia on pulmonary blood flow and lung water measured by positron emission tomography. *American Review of Respiratory Disease*, 133(6), 1037–1042. ss. <https://doi.org/10.1164/arrd.1986.133.6.1037>

- Scumpia, P. O., Delano, M. J., Kelly-Scumpia, K. M., Weinstein, J. S., Wynn, J. L., Winfield, R. D., Xia, C., Chung, C. S., Ayala, A., Atkinson, M. A., Reeves, W. H., Clare-Salzler, M. J. ve Moldawer, L. L. (2007). Treatment with GITR agonistic antibody corrects adaptive immune dysfunction in sepsis. *Blood*, 110(10), 3673-3681. ss. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-04-087171>
- Segar, H. M., Gani, S. A., Khayat, M. E. ve Abdul Rahim, M. B. H. (2023). Antioxidant and Antidiabetic Properties of Pectin Extracted from Pomegranate (*Punica granatum*) Peel. *Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology*, 11(2), 35–40. ss. <https://doi.org/10.54987/jobimb.v11i2.851>
- Selby, P., Hobbs, S., Viner, C., Jackson, E., Jones, A., Newell, D., Calvert, A. H., McElwain, T., Fearon, K., Humphreys, J. ve Shiga, T. (1987). Tumour necrosis in man: Clinical and biological observations. *British Journal of Cancer*, 56(6), 803–808. ss. <https://doi.org/10.1038/bjc.1987.294>
- Selby, N. M., Kolhe, N. V., McIntyre, C. W., Monaghan, J., Lawson, N., Elliott, D., Packington, R. ve Fluck, R. J. (2012). Defining the cause of death in hospitalised patients with acute kidney injury. *PLoS ONE*, 7(11), e48580. ss. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048580>
- Setiadhi, R., Sufiawati, I., Zakiawati, D., Nur'aeny, N., Hidayat, W. ve Firman, D. R. (2017). Evaluation of antibacterial activity and acute toxicity of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed ethanolic extracts in Swiss Webster mice. *Journal of Dentomaxillofacial Sciences*, 2(2), 119. ss. <https://doi.org/10.15562/jdmfs.v2i2.536>
- Shafik, N. M. ve El Batsh, M. M. (2016). Protective effects of combined selenium and *Punica granatum* treatment on some inflammatory and oxidative stress markers in arsenic-induced hepatotoxicity in rats. *Biological Trace Element Research*, 169(1), 121–128. ss. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0397-1>
- Shaheen, H. A. A. ve Elkholy, W. A. (2024). Effect of *Punica granatum* peels methanolic extract on interactions of *Giardia intestinalis* with the intestinal barrier in murine model: Lipid peroxidation and oxidative stress. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 96(1), 2323–2329. ss. <https://doi.org/10.21608/ejhm.2024.363589>
- Shaikh, S. B. ve Bhandary, Y. P. (2021). Therapeutic properties of *Punica granatum* L (pomegranate) and its applications in lung-based diseases: A detailed review. *Journal of Food Biochemistry*, 45(7), e13684. ss. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13684>
- Shames, R. S. ve Kishiyama, J. L. (2006). Bağışıklık sistemi hastalıkları. (çeviri: Avcı A. B.). Hastalıkların patofizyolojisi. (Ed: McPee, S., çeviri Ed: Çoban, E., Süleymanlar, G.) 4. Baskı, 31-57.

- Shankar Hari, M., Phillips, G. S., Levy, M. L., Seymour, C. W., Liu, V. X., Deutschman, C. S., Bellomo, R., Bernard, G. R., Chiche, J. D., Coopersmith, C. M., De Backer, D., Hotchkiss, R. S., Joannidis, M., Klompas, M., Machado, F. R., Marshall, J. C., Rubenfeld, G. D., van der Poll, T., Vincent, J. L. ve Angus, D. C. (2016). Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315(8), 775–787. ss. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0289>
- Shao, Z., Nishimura, T., Leung, L. L. K. ve Morser, J. (2015). Carboxypeptidase B2 deficiency reveals opposite effects of complement C3a and C5a in a murine polymicrobial sepsis model. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 13(6), 1090-1102. ss. <https://doi.org/10.1111/jth.12956>
- Shao, J., Chen, K., Li, Q., Ma, J., Ma, Y., Lin, Z., Kang, H. ve Chen, B. (2020). High level of IL-10 in cerebrospinal fluid is specific for diagnosis of primary central nervous system lymphoma. *Cancer Management and Research*, 12, 6261–6268. ss. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S255482>
- Sharma, P., McClees, S. F. ve Afaq, F. (2017). Pomegranate for prevention and treatment of cancer: An update. *Molecules*, 22(1), 177. ss. <https://doi.org/10.3390/molecules22010177>
- Shozushima, T., Takahashi, G., Matsumoto, N., Kojika, M., Endo, S. ve Okamura, Y. (2011). Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 17(6), 764–769. ss. <https://doi.org/10.1007/s10156-011-0254-x>
- Silva, E., Passos, R. da H., Ferri, M. B. ve de Figueiredo, L. F. (2008). Sepsis: from bench to bedside. *Clinics*, 63(1), 109-120. ss. <https://doi.org/10.1590/S1807-59322008000100019>
- Simon, L., Saint-Louis, P., Amre, D. K., Lacroix, J. ve Gauvin, F. (2008). Procalcitonin and C-reactive protein as markers of bacterial infection in critically ill children at onset of systemic inflammatory response syndrome. *Pediatric Critical Care Medicine*, 9(4), 407-413. ss. <http://doi.org/10.1097/PCC.0b013e31817285a6>
- Singer, M. (2014). The role of mitochondrial dysfunction in sepsis-induced multi-organ failure. *Virulence*, 5(1), 66-72. ss. <https://doi.org/10.4161/viru.26907>
- Singer, M., Deutschman, C. S., Seymour, C. W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., Bellomo, R., Bernard, G. R., Chiche, J.-D., Coopersmith, C. M., Hotchkiss, R. S., Levy, M. M., Marshall, J. C., Martin, G. S., Opal, S. M., Rubenfeld, G. D., van der Poll, T., Vincent, J. L. ve Angus, D. C. (2016). The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315(8), 801–810. ss. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>

- Singh, S. ve Evans, T. W. (2006). Organ dysfunction during sepsis. *Intensive Care Medicine*, 32, 349–360. ss. <https://doi.org/10.1007/s00134-005-0038-9>
- Singh, J., Prasad, R., Kaur, H. P., Jajoria, K., Chahal, A. S., Verma, A., Kara, M., Assouguem, A. ve Bahhou, J. (2023). Bioactive Compounds, Pharmacological Properties, and Utilization of Pomegranate (*Punica granatum* L.): A Comprehensive Review. *Trop. J. Nat. Prod. Res.*, 7, 3856–3873. ss. <http://www.doi.org/10.26538/tjnpr/v7i9.2>
- Sjaastad, F. V., Condotta, S. A., Kotov, J. A., Pape, K. A., Dail, C., Danahy, D. B., Kucaba, T. A., Tygrett, L. T., Murphy, K. A., Cabrera-Perez, J., Waldschmidt, T. J., Badovinac, V. P., Griffith, T. S. (2018). Polymicrobial Sepsis Chronic Immunoparalysis Is Defined by Diminished Ag-Specific T Cell-Dependent B Cell Responses. *Frontiers in Immunology*, 31(9), 2532. ss. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02532>
- Souza Basso, B. de, Haute, G. V., Ortega-Ribera, M., Luft, C., Antunes, G. L., Bastos, M. S., Carlessi, L. P., Levorse, V. G., Cassel, E., Fagundes Donadio, M. V., Santarém, E. R., Gracia-Sancho, J. ve Rodrigues de Oliveira, J. (2021). Methoxyeugenol deactivates hepatic stellate cells and attenuates liver fibrosis and inflammation through a PPAR- γ and NF-kB mechanism. *Journal of Ethnopharmacology*, 280, 114433. ss. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2021.114433>
- Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Parlato, M., Philippart, F., Misset, B., Cavaillon, J. M. ve Adib-Conquy, M. (2012). Toll-like receptors expression and interferon-gamma production by NK cells in human sepsis. *Critical Care*, 16(5), R206. ss. <https://doi.org/10.1186/cc11838>
- Srivastava, P., Indrani, D. ve Singh, R. P. (2014). Effect of dried pomegranate (*Punica granatum*) peel powder (DPPP) on textural, organoleptic and nutritional characteristics of biscuits. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(7), 827–833. ss. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.937797>
- Srzic, I., Neseek Adam, V. ve Tunjic Pejak, D. (2022). Sepsis definition: What's new in the treatment guidelines. *Acta Clinica Croatica*, 61(1), 67–72. ss. <https://doi.org/10.20471/acc.2022.61.s1.11>
- Strieter, R. M., Kunkel, S. L. ve Bone, R. C. (1993). Role of tumour necrosis factor- α in disease states and inflammation. *Critical Care Medicine*, 21(10), 447–463.
- Sun, H. Y., Ma, N., Pan, T., Du, C. L. ve Sun, J. Y. (2019). Punicagranine, a new pyrrolizine alkaloid with anti-inflammatory activity from the peels of *Punica granatum*. *Tetrahedron Letters*, 60(18), 1231–1233. ss. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2019.03.056>

- Sung, M. J., Kim, D. H., Jung, Y. J., Kang, K. P., Lee, A. S., Lee, S., Kim, W., Davaatseren, M., Hwang, J.-T., Kim, H.-J., Kim, M. S., Kwon, D. Y. ve Park, S. K. (2008). Genistein protects the kidney from cisplatin-induced injury. *Kidney international*, 74(12), 1538–1547. ss. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.409>
- Surucic, R., Travar, M., Petković, M., Tubić, B., Stojiljković, M. P., Grabez, M., Savikin, K., Zdunic, G. ve Skrbic, R. (2021). Pomegranate peel extract polyphenols attenuate the SARS-CoV-2 S-glycoprotein binding ability to ACE2 receptor: In silico and in vitro studies. *Bioorganic Chemistry*, 114(June), 105145. ss. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105145>
- Süntar, I. (2020). Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: Role of medicinal plants. *Phytochemistry Reviews*, 19(5), 1199–1209. ss. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09629-9>
- T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2023). *Ulusal sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar surveyans ağı (USHIESA) özet raporu 2022*. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/ulusal-saglik-hizmeti-iliskili-enfeksiyonlar-surveyans-agi-ushiesa/ozet-raporlar.html>
- Taguri, T., Tanaka, T., & Kouno, I. (2004). Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(12), 1965–1969. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1965>
- Tang, R. ve Li, L. (2021). Modulation of short-chain fatty acids as potential therapy method for type 2 diabetes mellitus. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. ss. <https://doi.org/10.1155/2021/6632266>
- Taylor, F. B., Kinasewitz, G. T. ve Lupu, F. (2011). Pathophysiology, staging and therapy of severe sepsis in baboon models. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16(4), 672–682. ss. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01454.x>
- Tepetaş, M., Arslantaş, D. ve Ünsal, A. (2022). Türkiye’de 2009-2019 yılları arasındaki ölüm nedenlerinin TÜİK verilerine göre incelenmesi. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 44(2), 258-267. ss. <https://doi.org/10.20515/otd.975000>
- Thompson, B. T., Chambers, R. C. ve Liu, K. D. (2017). Acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine*, 377(6), 562–572. ss. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1608077>
- Tolba, Y. ve Thickett, D. (2010). Sepsis. In J. C. Hall & G. Esposito (Eds.), *Core topics in critical care medicine*. 15. bölüm, 99-107. Cambridge University Press.

- Topal Suzan, Z. (2020). Sıçanlarda prenatal dönemde uygulanan imatinibin testis gelişimi üzerine etkisi (Doktora tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi & Atatürk Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ortak Doktora Programı).
- Trabelsi, A., El Kaibi, M. A., Abbassi, A., Horchani, A., Chekir-Ghedira, L. ve Ghedira, K. (2020). Phytochemical study and antibacterial and antibiotic modulation activity of *Punica granatum* (pomegranate) leaves. *Scientifica*, 31. ss. <https://doi.org/10.1155/2020/8271203>
- Truong, D. H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H. ve Nguyen, H. C. (2019). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. *Journal of Food Quality*, 2019, 8178294. ss. <https://doi.org/10.1155/2019/8178294>
- Tsikakos, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, 524, 13–30. ss. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021>
- Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552(2), 335–344. ss. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
- Uğan, R. A., Yayla, M., Ün, H., Civelek, M. S. ve Aksu Kılıç, P. (2020). Nar kabuğu ekstrelerinin sıçanlarda diyabetik şartlarda sepsis ile indüklenen akciğer hasarına karşı etkileri. *Dicle Tıp Dergisi / Dicle Medical Journal*, 47(3), 678–686. ss. <https://doi.org/10.5798/dicletip.796805>
- Uygur Külcü, N. (2009). Kistik fibrozlu çocuklarda sistemik antibiyotik, lökotrien reseptör antagonisti ve makrolid grubu antibiyotiklerin enflamatuvar yanıtı etkisi (Yayımlanmamış doktora tezi). İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- van der Poll, T. ve Opal, S. M. (2008). Host-pathogen interactions in sepsis. *The Lancet Infectious Diseases*, 8(1), 32–43. ss. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70265-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70265-7)
- Vincent, J. L. ve Abraham, E. (2006). The last 100 years of sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 173(3), 256–263. ss. <https://doi.org/10.1164/rccm.200510-1604OE>
- Vincent, J. L., Sakr, Y., Sprung, C. L., Ranieri, V. M., Reinhart, K., Gerlach, H., Moreno, R., Carlet, J., Le Gall, J. R. ve Payen, D. (2006). Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Critical Care Medicine*, 34(2), 344–353. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000194725.48928.3A>

- Vincent, J. L., Mira, J. P., ve Antonelli, M. (2016). Sepsis: Older and newer concepts. *The Lancet Respiratory Medicine*, 4(3), 237–240. ss. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00522-6](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00522-6)
- Waage, A., Halstensen, A., & Espevik, T. (1987). Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *The Lancet*, 329(8529), 355–357. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(87\)91728-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(87)91728-4)
- Wacker, C., Prkno, A., Brunkhorst, F. M. ve Schlattmann, P. (2013). Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(5), 426–435. ss. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70323-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70323-7)
- Wafa, B. A., Makni, M., Ammar, S., Khannous, L., Ben Hassana, A., Bouaziz, M., Es-Safi, N. E. ve Gdoura, R. (2017). Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 123–131. ss. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.007>
- Wagner, J. G. ve Roth, R. A. (2000). Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacological Reviews*, 52(3), 349–374.
- Wang, C. H., Gee, M. J., Yang, C. ve Su, Y. C. (2006). A new model for outcome prediction in intra-abdominal sepsis by the linear discriminant function analysis of IL-6 and IL-10 at different heart rates. *Journal of Surgical Research*, 132(1), 46–51. ss. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2005.08.030>
- Wang, H. L., Akinci, I. O., Baker, C. M., Urich, D., Bellmeyer, A., Jain, M., Chandel, N. S., Mutlu, G. M. ve Budinger, G. R. S. (2007). The intrinsic apoptotic pathway is required for lipopolysaccharide-induced lung endothelial cell death. *The Journal of Immunology*, 179(3), 1834–1841. ss. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1834>
- Wang, T. S. ve Deng, J. C. (2008). Molecular and cellular aspects of sepsis-induced immunosuppression. *Journal of Molecular Medicine*, 86(5), 495–506. ss. <https://doi.org/10.1007/s00109-007-0300-4>
- Wang, D., Özen, C., Abu-Reidah, I. M., Chigurupati, S., Patra, J. K., Horbanczuk, J. O., Jozwik, A., Tzvetkov, N. T., Uhrin, P. ve Atanasov, A. G. (2018). Vasculoprotective effects of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Frontiers in Pharmacology*, 9, Article 544. ss. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00544>
- Ware, L. B. ve Matthay, M. A. (2001). Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 163(6), 1376–1383. ss. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.6.2004035>

- Wen, L. ve Duffy, A. (2017). Factors influencing the gut microbiota, inflammation, and type 2 diabetes. *Journal of Nutrition*, 147(7), 1468S–1475S. ss. <https://doi.org/10.3945/jn.116.240754>
- Wheeler, A. P., Jesmok, G. ve Brigham, K. L. (1990). Tumour necrosis factor's effect on lung mechanics, gas exchange, and airway reactivity in sheep. *Journal of Applied Physiology*, 68(6), 2542–2549. ss. <https://doi.org/10.1152/jappl.1990.68.6.2542>
- Wichterman, K. A., Baue, A. E. ve Chaudry, I.H. (1980). Sepsis and shock: A review of laboratory models and a proposal. *Journal of Surgical Research*, 29, 189–201. ss. [https://doi.org/10.1016/0022-4804\(80\)90037-2](https://doi.org/10.1016/0022-4804(80)90037-2)
- Wiersinga, W. J., Leopold, S. J., Cranendonk, D. R. ve Poll, T. (2014). Host innate immune responses to sepsis. *Virulence*, 5(1), 36–44. ss. <https://doi.org/10.4161/viru.25436>
- Winkler, M. S., Rissiek, A., Prießler, M., Schwedhelm, E., Robbe, L., Bauer, A., Zahrt, C., Zoellner, C., Kluge, S. ve Nierhaus, A. (2017). Human leucocyte antigen (HLA-DR) gene expression is reduced in sepsis and correlates with impaired TNF α response: A diagnostic tool for immunosuppression? *PLoS One*, 12(8), e0182427. ss. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182427>
- Wong, T. L., Strandberg, K. R., Croley, C. R., Fraser, S. E., Nagulapalli Venkata, K. C., Fimognari, C., Sethi, G. ve Bishayee, A. (2021). Pomegranate bioactive constituents target multiple oncogenic and oncosuppressive signaling for cancer prevention and intervention. *Seminars in Cancer Biology*, 73, 265–293. ss. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.01.006>
- Wu, V. C., Huang, T. M., Lai, C. F., Shiao, C. C., Lin, Y. F., Chu, T. S., Wu, P. C., Chao, C. T., Wang, J. Y. ve Kao, T. W. (2011). Acute-on-chronic kidney injury at hospital discharge is associated with long-term dialysis and mortality. *Kidney International*, 80(11), 1222–1230. ss. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.259>
- Wu, H. P., Chung, K., Lin, C. Y., Jiang, B. Y., Chuang, D. Y. ve Liu, Y. C. (2013). Associations of T helper 1, 2, 17 and regulatory T lymphocytes with mortality in severe sepsis. *Inflammation Research*, 62(8), 751–763. ss. <http://doi.org/10.1007/s00011-013-0630-3>
- Wu, S. ve Tian, L. (2017). Diverse phytochemicals and bioactivities in the ancient fruit and modern functional food pomegranate (*Punica granatum*). *Molecules*, 22(10). ss. <https://doi.org/10.3390/molecules22101606>
- Wu, X., Zhang, G., Hu, X., Pan, J., Liao, Y. ve Ding, H. (2019). Inhibitory effect of epicatechin gallate on protein glycation. *Food Research International*, 122, 230–240. ss. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.023>

- Xu, X., Nie, S., Liu, Z., Chen, C., Xu, G., Zha, Y., Qian, J., Liu, B., Han, S., Xu, A., Xu, X. ve Hou, F. F. (2015). Epidemiology and clinical correlates of AKI in Chinese hospitalized adults. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(9), 1510–1518. ss. <https://doi.org/10.2215/CJN.02140215>
- Xu, D., Xu, M., Jeong, S., Qian, Y., Wu, H., Xia, Q. ve Kong, X. (2019). The role of Nrf2 in liver disease: novel molecular mechanisms and therapeutic approaches. *Frontiers in Pharmacology*, 9(JAN). ss. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01428>
- Yalçın, A. D. ve Gürsoy, B. (2008). Sepsis İmmünopatogenezi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 5(3), 25-29.
- Yaman, M. (2009). Gram pozitif bakteriyel toksinlerin mezenkimal kök hücrelerdeki Toll benzeri reseptörlere etkisinin araştırılması (Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı). Ankara.
- Yazıcıoğlu Moçin, Ö. (2021). Sepsis tanı ve kliniği. In N. E. Ortaç Ersoy (Ed.), *Sepsis* (1st ed., pp. 25–30). Ankara: Türkiye Klinikleri.
- Yenil, N., Yemiş, F., Şabikoğlu, İ., Memon, N. ve Güler, A. (2022). Comparative analyses of few West Turkish varieties of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels for phenolic content using liquid chromatography. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 43(8), 1–17. ss. <https://doi.org/10.1080/10406638.2022.2080727>
- Yousefi, M., Sadriirani, M., Mahmoodi, S., Samimi, B., Pourmahmoudi, A., Hosseinikia, M., Sadeghi, O., Roustaei, N., Saeedinezhad, Z., Espín, J. C., Ansari, S. ve Panahande, S. B. (2023). Adjuvant pomegranate juice intake improves the inflammatory status of hospitalized COVID-19 patients: A randomized and placebo-controlled trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 75, 102958. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2023.102958>
- Zago, G. R., Gottardo, F. M., Bilibio, D., Freitas, C. P., Bertol, C. D., Dickel, E. L. ve dos Santos, L. R. (2020). Pomegranate (*Punica granatum* L.) peel lyophilized extract delays lipid oxidation in Tuscan sausages. *Ciência Rural*, 50(4). ss. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190689>
- Zeghad, N., Ahmed, E., Belkhiri, A., Heyden, Y. V. ve Demeyer, K. (2019). Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus-indica* fruits cultivated in Algeria. *Heliyon*, 5(4), e01575. ss. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01575>
- Zeng, Y., Zhao, H., Zhang, T., Zhang, C., He, Y., Du, L., Zuo, F. ve Wang, W. (2022). Lung-protective effect of punicalagin on LPS-induced acute lung injury in mice. *Bioscience Reports*, 42(1), BSR20212196. ss. <https://doi.org/10.1042/BSR20212196>

- Zhang, X. ve Dong, S. (2019). Protective effects of erythropoietin towards acute lung injuries in rats with sepsis and its related mechanisms. *Annals of Clinical Laboratory Science*, 49(2), 257-264. PMID: 31028073
- Zhang, H., Mao, Y.-F., Zhao, Y., Xu, D.-F., Wang, Y., Xu, C.-F., Dong, W.-W., Zhu, X.-Y., Ding, N., Jiang, L. ve Liu, Y.-J. (2021). Upregulation of matrix metalloproteinase-9 protects against sepsis-induced acute lung injury via promoting the release of soluble receptor for advanced glycation end products. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 8889313. ss. <https://doi.org/10.1155/2021/8889313>
- Zhou, X. ve Liao, Y. (2021). Gut-lung crosstalk in sepsis-induced acute lung injury. *Frontiers in Microbiology*, 12, 779620. ss. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.779620>
- Zhou, G., Xie, D., Fan, R., Yang, Z., Du, J., Mai, S., Xie, L., Wang, Q., Mai, T., Han, Y. ve Lai, F. (2023). Comparison of pulmonary and extrapulmonary models of sepsis-associated acute lung injury. *Physiological Research*, 72(6), 741–752. ss. <https://doi.org/10.33549/physiolres.935123>
- Ziegler, E. J., Fisher, C. J. Jr., Sprung, C. L., Straube, R. C., Sadoff, J. C., Foulke, G. E., Wortel, C. H., Fink, M. P., Dellinger, R. P. ve Teng, N. N. (1991). Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group. *New England Journal of Medicine*, 324, 429–436. ss. <https://doi.org/10.1056/NEJM199102143240701>
- Zivkovic, I., Savikin, K., Zivkovic, J., Zdunic, G., Jankovic, T., Lazic, D. ve Radin, D. (2021). Antiviral effects of pomegranate peel extracts on human norovirus in food models and simulated gastrointestinal fluids. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(2), 203-209. ss. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00895-7>

EKLER

EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı Araştırma Başvurusu Onay Formu

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
(Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)

BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):41		
	ÇALIŞMANIN ADI	Sıçanlarda LPS ile İndüklenen Deneysel Sepsis Modelinde Punica granatum Kabuk Ekstraktının Antimikrobiyal ve Antiinflamatuar Etkilerinin Araştırılması	
	Title	Investigation of Antimicrobial and Anti-inflammatory Effects of Punica granatum Peel Extract in Rats with the Sepsis Model Induced by LPS	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Prof.Dr.Zihni AÇAR YAZICI	
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Sena ŞAHİN AKTURA, Levent TÖMKAYA, Kazım ŞAHİN, Atilla TOPÇU, Tolga MERCANTEPE	
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	☒ Tek Merkez Ulusal	☐ Çok Merkezli Ulusal	☐ Çok Merkezli Uluslararası

KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2022/05	Tarih (Date): 25.02.2022
	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, Prof.Dr.Zihni AÇAR YAZICI'nın sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sorunca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.	

Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.	
	☒ Accepted	☐ Rejected

ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr. Fikri BALTA (Başkan, Müdür)	Su Ürünleri (Veteriner Hekim)	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr.Levent TÖMKAYA (Başkan Vekili)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof.Dr.Ayşe ERTÜRK (Üye)	Enfeksiyon Hast. Ve Klinik Mikr.	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	☒ E ☐ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr. Hülya KILIÇ YILMAZ (Üye)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Doç.Dr. Murat ALKURT (Üye)	Protektif Diş Tedavisi	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Dr.Öğr.Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN (Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hay.Uy.ve Arş.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Şevket ÇAKMAKÇI (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sendika Üyesi	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Stil Üye	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

*Araştırma ile ilişkisi(Relation to the project, E: Yes, H: No)**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)