



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL BAğCILAR SAğLIK UYGULAMA VE
ARAşTIRMA MERKEZİ
ÇOCUK SAğLIğI VE HASTALIKLARI KLİNİğİ

DENEYSEL SEPSİS MODELİ OLUşTURULAN YAVRU RATLARDA,
KUARSETİN VE ASKORBİK ASİT KULLANIMININ
ENFLAMATUAR SİTOKİNLER VE ANTİOKSİDAN BELİRTEÇLER
ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARşILAşTIRILMASI

DR. EMİNE UFUK BOZKURT

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2022



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL BAğCILAR SAğLIK UYGULAMA VE
ARAşTIRMA MERKEZİ
ÇOCUK SAğLIğI VE HASTALIKLARI KLİNİğİ

DENEYSEL SEPSİS MODELİ OLUşTURULAN YAVRU RATLARDA,
KUARSETİN VE ASKORBİK ASİT KULLANIMININ
ENFLAMATUAR SİTOKİNLER VE ANTİOKSİDAN BELİRTEÇLER
ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARşILAşTIRILMASI

DR. EMİNE UFUK BOZKURT

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Meltem Erol

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yol gösteren, destek ve yardımlarını esirgemeyen kıymetli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Meltem Erol'a,

Asistan hekimliğim boyunca bilgisi, sabrı ve güler yüzleriyle desteklerine hissettiren Doç. Dr. Özlem Bostan Gayret'e, Uzm. Dr. Özgül Yiğit'e ve Uzm. Dr. Okan Yüce'ye

Asistanlığımın ilk gününden son gününe kadar her konuda destekleyen, bildiği her şeyi ve daha fazlasını bizlere de öğretmek için çabalayan, yaşam boyu öğretmenliğini, abiliğini ve arkadaşlığını kaybetmek istemeyeceğim, abimiz Uzm. Dr. Abdulrahman Özel'e, mesleki tecrübelerinden asistanlığım boyunca faydalandığım saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Emrah Can, Doç. Dr. Şahin Hamilçikan, Doç. Dr. Sertaç Hanedan Onan, Uzm. Dr. Övgü Büke'ye

Dört yıllık bu süreçte, birbirimize her zaman destek olduğumuz, en zor günleri birlikte atlattığımız canım yol arkadaşlarım, eşkıdemlerim Dr. Volkan Tosun, Dr. Selin Akgül, Dr. Murat Koçkar'a, iyi günde kötü günde beraber omuz omuza çalıştığımız bana en yakın arkadaş olan Dr. Dilara Cengiz, Dr. Fatmanur Aydemir 'e, Dr. Büşra Kertmen'e ve aynı ortamda çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Dr. Şeyda, Dr. Ayça ve Dr. Ramazan başta olmak üzere tüm tıpta uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma,

Tüm yaşamımda ve eğitim hayatımda bana hep doğruyu gösteren, beni sevgiyle yetiştiren, her zaman arkamda olan annem Metlube Bolat'a, her zaman yolumu aydınlatan birer ışık olan ve bana her zaman güzel örnek olan kardeşlerim ablam Fatma Nur Bolat'a ve abim Mehmet Fatih Bolat' a, dört yıl önce bu zorlu maratona başladığım ilk günden şu güne kadar yanımda olan, bana her koşulda inanan ve güvenen, her konuda desteğini hissettiğim, en az benim kadar bana emek veren ve her zaman benim için benden daha iyisini hayal eden, hem en yakın arkadaşım hem de hayat arkadaşım olan çok sevgili eşim Hakan Bozkurt'a,

Sonsuz Teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	v
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
TABLO ve GRAFİK DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Sepsis.....	3
2.1.1. Sepsisin Tanımı.....	3
2.1.1.1. Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS).....	3
2.1.1.2. Sepsis	4
2.1.1.3. Septik Şok	4
2.1.1.4 Ağır Sepsis	4
2.1.2. Sepsis Epidemiyolojisi.....	5
2.1.3. Sepsis Etyolojisi.....	6
2.1.4. Sepsis Fizyopatolojisi	6
2.1.5. Klinik	8
2.1.6. Tanı	9
2.1.7. Tedavi	10
2.2. C- Reaktif Protein (CRP)	10
2.3. İnterlökin-1 (IL-1)	11
2.4. İnterlökin-6 (IL-6)	12
2.5. Tümör Nekrozis Faktör (TNF- alfa).....	12
2.6. Antioksidan Sistemler	13
2.6.1. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar.....	13
2.6.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	14
2.6.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	14
2.6.1.1.2. Katalaz.....	14
2.6.1.1.3. Glutasyon peroksidaz (GPx).....	14

2.6.1.1.4. Glutasyon-S-transferaz (GST)	14
2.6.1.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	14
2.6.2. Ekzojen Antioksidanlar.....	15
2.7. Askorbik Asit (Vitamin C)	15
2.7.1. Askorbik Asit Kaynakları	16
2.7.2. Askorbik Asit Metabolizması	16
2.7.3. Askorbik Asit Fonksiyonları.....	16
2.7.4. Askorbik Asit Eksikliği	17
2.7.5. Askorbik Asit Eksikliğini Önleme ve Tedavisi	17
2.7.6. Askorbik Asit Toksikitesi.....	18
2.8. Kuersetin	18
2.8.1. Kuersetin Kaynakları	18
2.8.2. Kuersetin Metabolizması	19
2.8.3. Kuersetin Fonksiyonları.....	19
2.8.4. Kuersetin Kullanımı ve İnsanlarda Güvenilirliği.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1 Araştırmanın Amacı	21
3.2. Denek Olarak Kullanılan Hayvanlar	21
3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasallar	21
3.4. Deneysel Uygulamalar ve Çalışma Planı	21
3.5. Biyokimyasal Analizler	22
3.5.1. Antienfalematuar Belirteçlerin Seviyelerinin Belirlenmesi.....	22
3.5.1.1 TNF-Alfa, IL-1 beta, IL-6 Ölçümü	22
3.5.1.2. CRP Ölçümü	23
3.5.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	23
3.5.2.1. SOD Enzimi Ölçümü	23
3.5.2.2. CAT Enzimi Ölçümü	23
3.5.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzimi Ölçümü	23
3.5.2.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST) Enzimi Ölçümü	24
3.6. İstatistiksel Analizler	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	30

6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	36
7. KAYNAKLAR	37



ÖZET

Amaç: Sepsis, mikrobiyal bir hasara yanıt olarak oluşan, vücudun yarattığı şiddetli enfeksiyon ile ilişkili oksidatif stres ve enflamasyonun birlikte karakterize olduğu kompleks bir klinik tablodur. Gram negatif bakterilerin hücre zarı bileşeni olan lipopolisakkaritler (LPS), endotoksin özelliği ile sepsiste önemli bir patojenik faktördür. Deney hayvanlarında sepsis modeli için LPS enjeksiyonuyla, sepsisin klinik özelliklerini taklit eden sistemik inflamasyon indüklenir. Sepsiste mortaliteyi azaltacak antioksidan ve antienflamatuar mekanizma üzerine artırıcı etkisi olan tedavilerin arayışı hala sürmektedir. Son yıllarda yaygın kullanılan askorbik asitin immün sistem üzerine olumlu etkisi, inflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı ve antioksidan etkisi bilinmektedir. Ancak günümüzde literatürde bitkisel bir flavinoid olan kuarsetinin sepsis üzerine antienflamatuar ve antioksidan etkisini araştıran çok az çalışma vardır. Çalışmamızda amacımız yavru ratlarda oluşturulan sepsis modeli üzerinden, kuarsetinin ve askorbik asitin antienflamatuvar ve antioksidan etkinliğini saptamak, serum enflamatuar sitokinleri olan interlökin-1beta (IL-1beta), interlökin-6 (IL-6), Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa), C-reaktif protein (CRP) ve serum antioksidan belirteçleri olan katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon s transferaz (GST) üzerindeki etkilerini incelemektir.

Materyal ve metod: Yirmibir günlük, emzirme dönemini yeni bitirmiş 28 yavru rat, dört eşit gruba ayrıldı; 1.grup kontrol grubu, 7 gün boyunca bu grupta herhangi bir ilaç takviyesi almayıp, 1ml gavaj yolu ile serum fizyolojik verildi, bu grupta sepsis modeli oluşturulmadı. 2.grup 7 gün boyunca herhangi bir ilaç takviyesi almayıp, 1ml gavaj yolu ile serum fizyolojik verildi, 8.gün intraperitoneal bakteri LPS (30 mg/kg) enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturuldu. 3.grup 7 gün boyunca gavaj yolu ile kuarsetin (25 mg/kg) takviyesi verilip, 8.gün intraperitoneal bakteri LPS (30mg/kg/bw) enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturuldu. 4.grup 7 gün boyunca gavaj yolu ile askorbik asit (200 mg/gün) takviyesi verilip, 8.gün intraperitoneal bakteri LPS (30mg/kg/bw) enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturuldu. Kontrol grubu ve LPS ile sepsis modeli oluşturulan diğer 3 gruptan, 24 saat sonra serum da enflamatuar sitokinlerin düzeyleri (IL-1beta, IL-6, TNF-alfa, CRP) ve antioksidan düzeyleri

(CAT, GPx, SOD, GST) çalışılmak üzere intrakardiyak olarak 5'er cc kan örnekleri alındı, ve sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma 11/04/22 – 20/04/22 tarihleri arasında 7'si (%25) Kontrol, 7'si (%25) Sepsis, 7'si (%25) Sepsis+Kuarsetin ve 7'si (%25) Sepsis+Askorbik Asit olmak üzere 4 grup altında 28 toplam hayvan ile yapılmıştır. Kontrol grubunun CRP değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p<0.05$). Sepsis grubunun CRP değerleri, sepsis + kuarsetin grubundan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Sepsis grubunun TNF-alfa değerleri, kontrol ve sepsis + kuarsetin gruplarından anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Kontrol grubunun IL-1beta değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Sepsis grubunun IL-1beta değerleri, sepsis + kuarsetin ve sepsis+ askorbik asit gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubunun IL-6 değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Sepsis grubunun IL-6 değerleri, sepsis + kuarsetin grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Sepsis grubunun CAT değerleri, kontrol, sepsis + kuarsetin ve sepsis+ askorbik asit gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol grubunun SOD değerleri, sepsis ve sepsis + kuarsetin gruplarından anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Sepsis + askorbik asit grubunun SOD değerleri, sepsis ve sepsis + kuarsetin gruplarından düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Sepsis grubunun GPx değerleri, kontrol ve sepsis + askorbik asit gruplarından anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p<0.05$). Gruplar arasında GST değerlerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Sonuç: Çalışmamızda, intraperitoneal LPS uygulanarak sepsis oluşturulmuş ratlarda, kuarsetin ve askorbik asitin biyobelirteçler üzerinde etkileri değerlendirildi. Her iki antioksidan molekülün, güçlü antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri olduğu gözlenmiştir. Septiste en etkin sitokinler olan IL1-beta, IL-6, TNF-alfa ve CRP düzeylerinde, kuarsetin ve askorbik asit verilmiş septik deneklerin serum örneklerinde herhangi bir takviye almamış septik deneklere göre anlamlı derecede düşüş kaydedildi. Her iki molekülün de sepsis ile azalan antioksidan aktiviteyi artırdığı görüldü. Kendi aralarında karşılaştırma yapıldığında ise istatistiksel açıdan

antiinflamatuvar özellikleri ve antioksidan etkileri arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Anahtar kelimeler: antioksidanlar, askorbik asit, kuarsetin, sepsis, sitokinler, yavru ratlar



ABSTRACT

Aim: Sepsis is a complex clinical picture that occurs in response to a microbial injury and is characterized by severe infection of the body, associated with oxidative stress and inflammation. Lipopolysaccharides (LPS), which are cell membrane components of gram-negative bacteria, are an important pathogenic factor in sepsis with their endotoxin properties. Injection of LPS for the sepsis model in experimental animals induces systemic inflammation that mimics the clinical features of sepsis. The search for treatments that have an enhancing effect on the antioxidant and anti-inflammatory mechanism that will reduce mortality in sepsis is still ongoing. It is known that ascorbic acid, which has been widely used in recent years, has a positive effect on the immune system, reduces the production of inflammatory cytokines and has an antioxidant effect. However, there are few studies in the literature investigating the anti-inflammatory and antioxidant effects of quercetin, a herbal flavonoid, on sepsis. In our study, our aim was to determine the anti-inflammatory and antioxidant effects of quercetin and ascorbic acid through the sepsis model created in juvenile rats, and to determine the serum inflammatory cytokines interleukin-1beta (IL-1beta), interleukin-6(IL-6), Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), C-reactive protein (CRP) and serum antioxidant markers catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione s transferase (GST) to examine their effects.

Materials and Methods: Twenty-one-day-old, 28 puppies that have just completed the lactation period were divided into four equal groups; The 1st group control group did not take any drug supplement in this group for 7 days, and 1 ml of saline was given by gavage, no sepsis model was created in this group. The second group did not take any drug supplements for 7 days, 1 ml of saline was given by gavage, and a sepsis model was created with intraperitoneal bacterial LPS (30 mg/kg) injection on the 8th day. In the third group, quercetin (25 mg/kg) supplementation was given by gavage for 7 days, and a sepsis model was created by intraperitoneal bacterial LPS (30mg/kg/bw) injection on the 8th day. Group 4 was given ascorbic acid (200 mg/day) supplementation by gavage for 7 days, and a sepsis model was created by intraperitoneal bacterial LPS (30mg/kg/bw) injection on the 8th day. After 24 hours,

the levels of inflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, CRP) and antioxidant levels (CAT, GPx, SOD, GST) in the serum were studied in the control group and the other 3 groups in which a sepsis model was created with LPS. 5 cc blood samples were taken for each, and the results were compared statistically.

Results: Study between 11/04/22 – 20/04/22 7 (25%) Control, 7 (25%) Sepsis, 7 (25%) Sepsis+Quercetin and 7 (25%) Sepsis+Ascorbic Acid. It was done with 28 total animals under 4 groups as Sepsis+Ascorbic Acid. The CRP values of the control group were significantly lower than those of the sepsis and sepsis + ascorbic acid groups ($p<0.05$). The CRP values of the sepsis group were significantly higher than the sepsis + quercetin group ($p<0.05$). TNF-alpha values of the sepsis group were significantly higher than the control and sepsis + quercetin groups ($p<0.05$). IL-1beta values of the control group, sepsis and sepsis + It was found to be statistically significantly lower than the ascorbic acid groups ($p<0.05$). IL-1beta values of the sepsis group, sepsis + quercetin and sepsis+ It was found to be statistically significantly higher than the ascorbic acid groups ($p<0.05$). IL-6 values of the control group, sepsis and sepsis + It was found to be statistically significantly lower than the ascorbic acid groups ($p<0.05$). IL-6 values of the sepsis group were statistically significantly higher than the sepsis + quercetin group ($p<0.05$). The CAT values of the sepsis group were significantly lower than the control, sepsis + quercetin and sepsis + ascorbic acid groups ($p<0.05$). The SOD values of the control group were found to be significantly higher than the sepsis and sepsis + quercetin groups ($p<0.05$). The SOD values of the sepsis + ascorbic acid group were higher than those of the sepsis and sepsis + quercetin groups ($p<0.05$). The GPx values of the sepsis group were significantly lower than the control and sepsis + ascorbic acid groups ($p<0.05$). There was no significant difference in GST values between the groups ($p>0.05$).

Conclusion: In our study, the effects of quercetin and ascorbic acid on biomarkers were evaluated in rats with sepsis by applying intraperitoneal LPS. Both antioxidant molecules have been observed to have strong anti-inflammatory and antioxidant effects. IL1-beta, IL-6, TNF-alpha and CRP levels, which are the most effective cytokines in septic disease, were significantly decreased in the serum samples of the septic subjects given quercetin and ascorbic acid compared to the septic subjects who

did not receive any supplementation. It was observed that both molecules increased the antioxidant activity, which decreased with sepsis. When they were compared among themselves, no statistically significant difference was found between their anti-inflammatory properties and antioxidant effects.

Key words: antioxidants, ascorbic acid, quercetin, sepsis, cytokines, baby rats



SİMGELER VE KISALTMALAR

ACCP/SCCM:	American College of Chest Physicians ve Society of Critical Care Medicine
ALT:	Alanin Transaminaz
ARDS:	Akut Respiratuar Distres Sendrom
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
CAT:	Katalaz
CRP:	C- Reaktif Protein
ÇODS:	Çoklu Organ Yetmezlik Sendromu
DIC:	Yaygın Damar İçi Pıhtılaşması
ESH:	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
ESICM:	The European Society of Intensive Care Medicine
FAD:	Flavin Adenin Dinükleotid
FDA:	ABD Gıda ve İlaç Dairesi
GKS:	Glaskow Koma Skalası
GLUT1:	Glukoz Transport Tip 1
GM-CSF:	Granülosit Monosit Koloni Stimulan Faktörlerin
GPx:	Glutasyon Peroksidaz
GR:	Glutasyon Redüktaz
GST:	Glutasyon s transferaz
IBM SPSS:	Türkiye, IBM SPSS Statistics 22
IFN- γ :	İnterferon Gama
IL-1BETA:	İnterlökin-1beta

IL-2:	İnterlökin-2
IL-4:	İnterlökin-4
IL-6:	İnterlökin-6
IL-10:	İnterlökin-10
LPS:	Lipopolisakkarit
NAC:	N-Asetil Sistein
NADP:	Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat
PAF:	Platelet Aktive Eden Faktör
PCT:	Prokalsitonin
PICU:	Pediyatrik Yoğun Bakım Ünitesi
SOD:	Süperoksit Dismutaz
SOR:	Serbest Oksijen Radikalleri
SIRS:	Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
SPROUT:	Sepsis Prevalansı Sonuçlar ve Tedaviler
TF:	Doku Faktörü
TNF-ALFA:	Tümör Nekrozis Faktör-Alfa

TABLO ve GRAFİK DİZİNİ

Tablo 1: Gruplar arasında çalışma parametrelerinin değerlendirilmesi 25

Grafik 1 26

Grafik 2 26

Grafik 3 27

Grafik 4 28

Grafik 5 28

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis, vücudun mikrobiyal bir ajanın verdiği hasara karşı yanıt olarak oluşturduğu, şiddetli enfeksiyon ile ilişkili oksidatif stres ve inflamasyonun birlikte karakterize olduğu kompleks bir klinik tablodur. Yüksek ölüm oranına sahip yaşamı tehdit eden bu durumdur. Aşırı proinflamatuvar sitokin üretimi ile birlikte sistemik enflamasyon eşlik eder[1]. Özellikle çocuk ölümlerinin %10'unu halen sepsis ve septik şok oluşturmaktadır[2].

Gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan LPS, endotoksin özelliği ile sepsiste önemli bir patojenik faktördür. Uzun yıllardır bu konuyu aydınlatmak için deneysel hayvan modellemeleri ile çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. En sık kullanılan yöntemlerden biri olan LPS enjeksiyonu ile sepsisin klinik özelliklerini taklit eden sistemik enflamasyon indüklenir[3].

Sepsis ve septik şok tanısında ve tedavisinde son yıllarda gelişmeler olmasına ve araştırmalar artmasına rağmen sepsis mortalitesi hala günümüzde çok yüksektir. Sepsiste mortaliteyi azaltacak antioksidan ve antiinflamatuvar yollar üzerine etkili tedavilerin arayışı hala sürmektedir[4]. Son yıllarda yaygın olarak kullanılan askorbik asitin bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkisi olduğu, inflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı ve antioksidan etki gösterdiği bilinmektedir[5]. Ancak günümüzde literatürde bitkisel bir flavonoid olan kuersetinin sepsis üzerine antiinflamatuvar ve antioksidan etkisini araştıran çok az çalışma vardır. Flavonoidler, antiinflamatuvar ve anti-oksidatif etkiler dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik etkilere sahip bir grup doğal maddedir[6][7]. Kuersetin, birçok sebze, meyve ve içeceklerde bulunan bitkisel kaynaklı flavonoiddir ve antiinflamatuvar, antiproliferatif ve antioksidatif etkiler dahil olmak üzere bir çok fizyolojik özelliklere sahiptir ve insan beslenmesinde önemli bir moleküldür[8]. Literatürdeki son çalışmalar, kuersetinin TNF-alfa ve IL-1beta salınımını azaltabildiğini ve böylece inflamatuvar tepkileri hafiflettiğini göstermiştir[8]. Kuersetinin antiinflamatuvar işlevi bilinmesine rağmen, ölümcül sepsisi olan hastalarda mortalite ve sistemik inflamasyonun önlenmesindeki rolü hala açıklanmayı beklemektedir.

Çalışmada amacımız, yavru ratlarda oluşturulan sepsis modeli üzerinden, kuarsetinin ve askorbik asitin antienflamatuvar ve antioksidan etkinliğini ayrı ayrı incelemek, aynı zamanda iki güçlü antioksidanı karşılaştırmaktır. Çocuklarda önemli bir mortalite sebebi olan sepsiste bu destekleyici moleküllerin hastalığın klinik şiddetini azaltabileceğini göstererek literatüre katkı sağlamaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Sepsis

2.1.1. Sepsisin Tanımı

Sepsis, mikroorganizmaların ve toksinlerinin kan akımına girmesi, yaygın inflamatuvar reaksiyonlar ve konağın bu duruma karşı yanıt vermesi halidir. Uygun tedavinin en uygun zamanda verilmemesi halinde sepsis multi organ yetmezlikleri ve ölüm ile sonuçlanabilir.[1] 1992’de, American College of Chest Physicians ve Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM), sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS), sepsis, ağır sepsis ve septik şok tanımları ortaya çıkarılmış ve yıllar içinde bu tanımlamalar geliştirilmeye başlanmıştır.[4][9] 2001, 2005, 2008, 2012, 2016 yıllarında belirli standartlar getirmek adına başka toplantılar da düzenlenmiştir. 2016 yılında The European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) ve SCCM tarafından düzenlenen Sepsis-3 adlı toplantıda kriterler yeniden düzenlenmiştir ve sepsisin yeni tanımı yapılmıştır. Bu toplantılar sonucunda “Sepsis” tanımı “enfeksiyona karşı aşırı konak cevabına bağlı organ disfonksiyonu şeklinde kesinleştirilmiştir.[10]

Çocukluk çağında sepsis, septik şok, ağır sepsis ve multi organ disfonksiyonu ölçütleri kesin olarak 2002 senesinde Uluslararası Çocukluk Çağı Sepsis Konsensus Konferansı’nda tanımlanmıştır. Daha sonra pediatrik yaş gruplarında sepsis ölçütleri, 2005’te ise organ disfonksiyonu tanısı yeniden belirlenmiştir.[6] [7] 2012’de literatürlere en son tanımlar eklenmiştir.

2.1.1.1. Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)

Aşağıdaki kriterlerden en az bir tanesinin lökosit sayısı veya anormal vücut ısısı olmak üzere en az ikisinin bulunmasıdır.[13]

1. Lökosit sayısının yaşa göre normal değerlerin üstünde ya da altında olması veya olgunlaşmamış nötrofil oranının %10’un üzerinde olması,

2. Takipne (solunum sayısının yaşa göre > 2 SD üzerinde olması),

3. Taşikardi (kalp tepe atımının yaşa göre > 2 SD üzerinde olması) veya < 1 yaş çocuklar için bradikardi (kalp tepe atımının yaşa göre < 10 persentil altında olması),

4. Vücut sıcaklığı $> 38.5^{\circ}\text{C}$ veya $< 36^{\circ}\text{C}$ olması.

2.1.1.2. Sepsis

Şüpheli ya da kanıtlanmış enfeksiyonla birlikte SIRS

2.1.1.3. Septik Şok

Sepsis ve kardiyovasküler sistem bozukluğunun bir arada olması

Kardiyovasküler sistem bozukluğu kriterleri:

(1 saatte 40 ml/kg izotonik sıvı uygulanmasına rağmen)

Hipotansiyon: Yaşa göre < 5 persentil veya < 2 SD olması

veya inotrop ilaç kullanımı gerekliliği (dopamin $> 5 \mu\text{g/kg/dk}$, veya dobutamin veya adrenalin veya noradrenalin)

veya aşağıdaki bulgularda en az ikisinin varlığı

Santral ve periferel ısı farkının > 3 santigrat derece

Oliguri: İdrar çıkışının $< 0.5 \text{ mL/kg/saat}$

Arteryal laktat düzeyinin normalin 2 katından fazla artışı

Açıklanamayan metabolik asidoz, baz açığı $> 5 \text{ mEq/L}$ Santral

Uzamış kapiller geri dolum zamanı $> 2 \text{ sn}$

2.1.1.4 Ağır Sepsis

Sepsis + kardiyovasküler fonksiyon bozukluğu veya Akut Respiratuar Distres Sendrom(ARDS) veya > 2 organ fonksiyon bozukluğu

Organ fonksiyon bozukluğu kriterleri:

Nörolojik

Glaskow koma skoru (GKS) < 11 veya akut bilinç durum değişikliği (GKS > 3 bazale göre azalma)

Solunum

PaO₂/ FİO₂: <300 (konjenital kalp hastalığı veya kronik akciğer hastalığı yokluğunda) veya

PaCO₂ > 65 mmHg veya bazal değerin 20 mmHg ↑ veya oksijen saturasyonunu > % 92 için FİO₂ > % 50 olması veya mekanik ventilasyon ihtiyacı (invaziv veya noninvaziv)

Renal

Kreatinin >2 kat artması (yaş için normal üst sınırın) veya başlangıç kreatinin değerinin 2 kat artması

Hematolojik sistem

Trombositlerin < 80.000 olması veya kronik hematoloji ve onkoloji hastaları için son üç gündeki en yüksek değerine göre % 50 azalması veya INR>2

Karaciğer

Total bilirubin > 4 mg/dl (yenidoğan dışı) veya alanin transaminaz (ALT)'ın yaşa göre üst sınırının 2 katı artması[14]

2.1.2. Sepsis Epidemiyolojisi

Pediyatrik yaş grubunu genel olarak değerlendirdiğimizde en çok yenidoğan döneminde sepsis görülür. Neonatal sepsis sıklıdır. Yapılmış epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde genel olarak bin canlı doğumda 1-10 (ortalama 2-3) olarak saptanmıştır, prematüre bebeklerde sepsis riski daha büyük oranda bildirilmiştir. Üç aydan küçük bebeklerde, ağır sepsis oranı %15, bakteriyemi oran %5 olarak görülmüştür.[15][4]

1-4 yaş grubunda sepsis ve septik şok sebebiyle senelik ölüm oranı 0.5/100.000'dir. Son yıllarda prematür bebeklerin yaşam süresinin uzaması, sepsis görülme sıklığını uzatmıştır[16].

26 ülkede 128 pediatrik yoğun bakım ünitesini (PICU) içeren 2015 Sepsis Prevalansı Sonuçlar ve Tedavileri (SPROUT) çalışması, %8,2'lik bir sepsis prevalansı ve %25'lik bir genel ölüm oranı gösterdi. Mortalite açısından bölgeler arasında farklılık saptanmıştır. Bu çalışmada Kuzey Amerika'da %21, Avrupa'da %29, Avustralya/Yeni Zelanda'da %32, Asya'da %40, Güney Amerika'da %11 ve Afrika'da %40 oranında mortalite bildirilmiştir[17].

2.1.3. Sepsis Etiyolojisi

Sepsis etkenleri, yaş, altta yatan başka hastalık, kişinin doğuştan gelen hastalıkları, toplumdan veya hastaneden edinilmiş olması, immün durumuna göre farklılık gösterir[18]. Yenidoğan döneminde gram negatif enterik basiller (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), B grubu streptokok ve *Listeria monositogenez* en çok görülen etkenlerdir. *Haemophilus influenzae*, enterokoklar, ± hemolitik streptokoklar daha nadir görülen etkenlerdir. 1-3 ay arası hastalarda en sık görülen etkenler *H influenzae* tip B, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* ve B grubu streptokoklardır. Nadir olarak ise *Listeria monositogenez*, *Neisseria meningitidis* ve *Salmonella spp*'dir. 3 -24 ay hastalarda, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* tip B en sık görülen sepsis etkenleridir, nadir olarak sepsise yol açan etkenler ise A grubu streptokoklar (GAS), *S.aureus*, *Salmonella spp* ve *Shigella*'dır. 2-5 yaş çocuklarda, sepsise sebep olan etkenler *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ve *H. influenzae* tip B'dir[15] [19][20][18]. Daha büyük çocuklarda, en yaygın etiyolojiler stafilokoklar, streptokoklar, *psödomonas* ve meningokoklardır. Yoğun bakım ünitelerinde ise özellikle çoklu ilaca dirençli organizmaların ortaya çıkmaması için, uygun seçimlerde antimikrobiyal tedaviler seçilmelidir[21][22].

2.1.4. Sepsis Fizyopatolojisi

Sepsis fizyopatolojisi, enfeksiyon odağına karşı hücrel immün sistem cevabı ile başlayan ve organ düzeyinde konağa zarar veren fizyopatolojik olaylar bütünüdür. Mediyatörler ve sitokinler, sepsis oluşum sürecinde önemli yer tutan

faktörlerdir[23]. Gram negatif bakterilerin LPS'si, gram pozitif bakterilerin lipoteikoik asit-peptidoglikan kompleksi, mantarlarda ergosterol veya mikroorganizmaların salgıladığı enzimler (ekzotoksin) inflamasyonu harekete geçirir[20]. Mikroorganizmalardaki ekzotoksinler, bağışıklık sisteminin cevabını şekillendirirler[24].

Proinflamatuvar aşamanın ilk ortaya çıkan mediatörleri IL-1 beta, TNF-alfa ve IL-6'dır, antiinflamatuvar savunmanın en önemli sitokinleri interlökin-4 (IL-4), interlökin-10 (IL-10) ve platelet aktive eden faktör (PAF)'dür. Ortaya çıkan bu sitokinler, T hücrelerini aktive ederek interferon gama (IFN- γ), interlökin-2 (IL-2), IL-4, granülosit monosit koloni stimulan faktörlerin (GM-CSF) salgılanmasını sağlarlar ve vücudun savunma sisteminde görevi olan bazı sistemlerin (kompleman sistemi, kinin-kallikrein sistemi, koagülasyon sistemi) harekete geçmesini sağlar[25]. Bu mediatörler, tüm sitokinleri uyaran trombosit aktive edici faktör gibi sekonder mediatörlere ve lökositlere direkt ya da dolaylı yoldan etki ederler. Aynı zamanda proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin olan IL-6, IL-10 ve TNF-alfa salınımını baskılayarak inflamatuvar yanıtı dengelerler. Aktif T hücrelerinden salınan IL-4, TNF- α ve IL1beta'yı inhibe ederken, monositlerden salınan IL-10, diğer inflamatuvar sitokinleri inhibe ederler[26][27][28].

IL-1 ve TNF-alfa'dan dolayı zarar gören endotel hücrelerinde açığa çıkan doku faktörü (TF) ile koagülasyon kaskadı başlatılır. TF, trombin salınımını aktive eder ve trombin de plazmadaki fibrinojenden fibrin oluşturup pıhtılaşmayı başlatır[29]. Trombin aynı zamanda, trombosit aktivitesini artırır ve protrombotik mekanizmayı aktive eder. Kan akımının yavaşlamasına böylece yetersiz sıvı replasmanına neden olur. Böylece dokuların yetersiz oksijenlenmesine sebep olur[26]. Enfeksiyon durumunda, fibrinolitik aktivitenin düzgün çalışmaması sebebi ile, kılcallarda aşırı fibrin ve pıhtı oluşumu gözlenir ve bu da son evrede organ yetmezliğine sebep olur[26]. Aynı zamanda sepsiste trombojenez ve tromboliz arasındaki denge de bozulmuştur. Aynı anda tromboz ve kanamalar birlikte görülür. Yaygın damar içi pıhtılaşması (DIC) gelişir. DIC'in en sık komplikasyonları büyük damarların tıkanıklığı, karaciğer iskemisi, akut böbrek yetmezliği, intrakranial kanamalar ve kranial iskemidir[30].

Oksidatif hasar süreci, aktifleşmiş bağışıklık sistemi hücreleri tarafından fazla miktarda oluşturulan serbest oksijen radikalleri (SOR) ile başlar[31]. SOR'un fazla miktarda üretilmiş olması doku hasarına sebep olmakta, dolayısıyla lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı yaparak çoklu organ yetmezliği olur ve ölümler sonuculanabilmektedir[32]. Sepsiste prooksidan ve antioksidan dengesi bozulur. Böylece günümüzde artık araştırmalar, sepsis olgularında antioksidan ajanların kullanılması yönüne doğru kaymıştır[33][34].

Tüm bu fizyopatolojik süreç sonuçta; hipertermi, damar duvarında geçirgenlik artışı, serbest oksijen radikallerinde artış ile oluşan endotel hasarı, trombotik aktivasyon ve DIC, miyokard fonksiyonlarında bozulma, periferik dokularda oksijenizasyonda bozulma, laktik asidoz, nötrofil aktivasyonu, değişimler oluşur[15][16][25]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda genetik özelliklerin sepsis oluşumunda predispozan faktör olduğunu ve kliniğin gidişatını etkilediğini ortaya çıkarmıştır.[35]

2.1.5. Klinik

Sepsisli çocuklarda çoğunlukla vücut sıcaklığı artar. Ateş ve titremede gözlenir. Bazı hastalarda normotermi olabileceği gibi, vücut sıcaklığında düşüşte görülebilir. Vücut sıcaklığında ciddi düşüş, sepsiste kötü prognoz göstergesidir[36].

Hastada hipotansiyon, idrar çıkışında azalma, trombosit ve kanamanın gözlenmesi halinde sepsis düşünülmesi şarttır[36]. Sepsisin en erken bulgusu olarak hiperventilasyon karşımıza çıkabilir. Ateş ve titreme daha sonra oluşabilir. PICU şartlarında sürekli monitörize olan tedavi altındaki hastalarda hiperventilasyon gözlenmesi durumunda sepsis akla gelmelidir. Merkezi sinir sistemi tutulumu olmadan mental ve kişilik değişikliklerin olması sepsiste ciddi bir semptomdur. Sepsiste %9-71 oranında ensefalopati görülür. Erken sepsis döneminde, cilt soluk ve kirlidir. Daha sonraki aşamada cilt lezyonları değişiklik gösterir. Dikkatli bir cilt muayenesi ile peteşi, purpura görülebilir.[19][15] Beslenmede güçlük, emmede zorluk, iştahsızlık, bulantı, kusma ve diyare sepsisin bir diğer bulgularıdır.

Hipotansiyon görülmesiyle birlikte kliniğin hızla septik şoka ilerlediği öngörülmelidir. Çoklu organ yetmezlik sendromu (ÇODS) ve buna ait semptomlar

başlar. ARDS, hepatomegali ve sarılık, bilincin kapanması ve konvülsiyon, kanamalar, ödem, purpura ve periferik kangrenler görülebilir. Başlangıçta olüğüri olan hastalarda anüri gelişebilir. Sepsis eğer belirli bir enfeksiyona (pnömoni, menenjit, idrar yolu enfeksiyonu vb.) bağlı olarak ortaya çıkmış ise buna ait semptomlar da görülür. ÇODS tanı rehberleri önce erişkinlerde, daha sonra çocuklarda kullanılmaya başlanmıştır[13].

2.1.6. Tanı

Sepsiste tanıda en önemli şey kliniklidir. Ayrıntılı fizik muayene ve anamnez, tanı koyarken klinik bulgulara eşlik eder. Sepsis sistemik inflamasyondur, bu sebeple diğer enflamatuvar hastalıklarla karışabilir. Laboratuvar sonuçları, sadece sepsisi düşündürür ancak kesin tanıyı koydurmaz. Hastalardan öncelikle kan kültürü, idrar kültürü, ishal varsa dışkı kültürü, ikincil bir enfeksiyon odağı varsa buralardan kültürler, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve kateter kültürleri alınmalıdır. Kültürde mikroorganizma üremesi görülmeden, kültür alınır alınmaz ampirik tedaviye başlanmalıdır. Septik şoklu hastaların sadece % 40'ında etken izole edilebilmiştir[37].

Tarama testleri (nonspesifik enflamasyon belirteçleri) erken tanıda ve ekartasyonda önemlidir (yüksek sensitivite) ve (yüksek negatif prediktif doğruluk). Hiçbir tarama testinin, enfeksiyonun kesin tanısını koyma açısından yeterli duyarlılığı yoktur. Bu nedenle klinik değerlendirme, semptomlar ve anamnez mutlaka ön planda tutulmalıdır. Bununla birlikte tarama testleri sadece tedavi sürecini ilerletmede klinisyenlere fikir verir[38] [39][40].

Günümüzde hastalarda pratikte ilk olarak tam kan sayımına bakıldığında, lökositoz ve sola kayma görülür. Bazı hastalarda lökopeni saptanabilir bu kötü prognozu işaret eder. Periferik yayma yapılırsa eğer, nötrofillerin granüllerinde artış ve daha nadir olarak nötrofil sitoplazmasında vakuoller görülür[15][20][25]. Arter kan gazları, laktik asit, karaciğer enzimleri, üre, kreatinin, fibrin yıkım ürünleri, fibrinojen gibi parametrelerde sepsis tanısını desteklemekte ve etiyoloji açısından fikir vermekte yararlıdır. Tam idrar tetkiki ve akciğer grafisi de klinisyen tarafından değerlendirmeye alınmalıdır.[41]

Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), CRP ve prokalsitonin (PCT) gibi parametreler en çok kullanılan akut faz belirteçleridir[42]. CRP, 10-12 saat sonra yükselmeye başlar ve 2-3 günde en yüksek seviyeye ulaşır[43]. CRP ve PCT yüksekliğinin özgüllüğü ve duyarlılığı ESH göre daha yüksektir[43][44]. Enflamatuvar sitokinlerin ölçümünün (TNF, IL-6, IL-8, IL10) sepsis tanısındaki yeri günümüzde halen deneysel çalışmaların konusudur[41].

2.1.7. Tedavi

Sepsiste mortaliteyi azaltacak en önemli etken, tanı ve tedavisinin vakit kaybetmeden başlanmasıdır. İlk amaç, hastanın hayati fonksiyonlarının düzeltilmesi düzeltilmesidir. Oksijenizasyon ve ventilasyonunun sağlanması ilk resüsitasyon açısından en önemli durumdur. Antibiyoterapinin yanı sıra destek tedavisi (sıvı tedavisi, vazopressörler, inotrop ajanlar, kan ürünleri, bikarbonat tedavisi) başlanmalıdır[45].

Sepsis tedavisinde steroid kullanımı halen netleşmemiştir ve deneysel çalışmaları devam etmektedir. Adrenal yetmezlikli hastalarda hidrokortizonun mortaliteyi %30 azalttığına dair yayınlar mevcuttur[46].

Doğal veya sentetik antioksidanlar ile ilgili deneysel çalışmalar halen devam etmektedir. Asıl tedavi antimikrobiyal tedavidir. Uygun antibiyotik seçiminde birinci enfeksiyon nedeni, epidemiyolojik faktörler, hastane veya toplumda kazanılmış olması, antibiyotik duyarlılık durumları düşünülür. Genelde ampirik başlanan antibiyotik tedavisinde sık görülen etkenlere karşı uygun iki antibiyotik kombinasyonu yapılır. Burada amaç, polimikrobiyal enfeksiyona etkili olmak, direnç gelişimini önlemektir. Daha sonra ise kültür sonuçları ile etken tespitine göre yeni bir antibiyotik tedavisi başlanır ya da ampirik başlanan devam ettirilir[47].

2.2. C- Reaktif Protein (CRP)

1930 yılında, Tillet ve Francis adlı iki araştırmacının S.Pneumoniae'nın C polisakkaridine bağlanarak aglütinasyon yapan bir etmen keşfedip ve buna CRP demişlerdir. CRP 11800 dalton ağırlığında bir proteindir. Karaciğerden sentezlenir[48]. Travma, sepsis ve dokuyu uyaran tüm durumlarda konsantrasyonu bir kaç kat artan bu proteinin normalde plazma konsantrasyonları 10 mg/l'nin

altındadır[49]. Bakteriyel enfeksiyonlar da güçlü uyarandır. Saatler içinde plazma konsantrasyonunu hızla yükseltir. IL-1, IL-6, TNF-alfa bu yükselmeye aracı sitokinlerdir[50][51].

Yenidoğan döneminde sepsis tanısında en yardımcı akut faz reaktanı CRP'dir. Üst sınır, 1 mg/dL olduğu kabul edilir. CRP plasentadan geçmez veya minimal düzeyde geçer. Bu nedenle yenidoğanda saptanan yüksek değerler anne kaynaklı değildir. Yaşamın ilk 48 saatinde CRP'nin normal düzeyinde değişiklikler olabilir. Sepsis açısından yanlış CRP yüksekliği %5-15 olguda gözlemlenebilir[52][53][54].

CRP, bakteriyel enfeksiyonlar ile enfeksiyöz olmayan inflamasyon nedenlerini ayırmada net bir şekilde yardımcı olmayacağı için tanısal değeri kısıtlıdır. Ancak hastalık varlığında seyri açısından körele ilerlediği için yardımcı bir parametredir[55]. CRP seviyelerinde hızlı düşüş, septik hastaların tedaviye iyi yanıt verdiğini gösteren bir çok çalışma bildirilmiştir. CRP'nin bu özelliği klinisyenlere tedavi takibinde çok önemli bir yardımcıdır.[56]

2.3. İnterlökin-1 (IL-1)

1984 yılında, insanın periferik kanındaki monositlerden klonlanmıştır[57]. IL-1 pluripotenttir[58]. Ana kaynakları monosit, makrofaj ve polimorfonükleer lökositlerdir[59][60][59]. IL-1 düzeyi, her hücrede farklıdır. Makrofajlar IL-1' in ana kaynağıdır[57]. IL-1, başka hücrelerden de salgılanır böylece vücuttaki tüm hücrelere etki edebilir, bu sebeple diğer sitokinlerden farklıdır[59]. Üretimi kortikosteroidler, prostaglandinler, IFN- γ , IL-10 ve IgG otoantikorları tarafından baskılanır.[61]

IL-1'in yaptığı etkiler şunlardır: [62]

- Nötrofil aktivasyonu, B ve T lenfositlerin aktivasyonu, bir çok hücre tipinin sitokin salınımlarının aktive edilmesi, kollejenaz sentezlenmesini sağlar.
- Endotelial hücre proliferasyonunu sağlar.
- Lökosit göçünü arttırırlar.
- PGE salgılamasını uyarırlar.

IL- 1; IL-1alfa, IL-1beta ve IL-1Ra olmak üzere 3 formdan oluşmaktadır. IL-1alfa ve IL-1beta formları benzerdir[60][61]. IL-1beta; bir proinflamatuvar sitokindir, vücudun patojene karşı hızlı bağışıklık cevabının ortaya çıkmasını sağlar. Bu yüzden IL-1beta gibi inflamasyona öncülük eden sitokinler bağışıklık sisteminin harekete geçmesinde çok önemli bir role sahiptirler[63]. LPS gibi mikrobiyal ürünler, makrofajlardan IL-1 sentezini artırır.[64] IL-1 yüksek seviyelerde ise hipertermi, artmış ağrı hassasiyeti, vazodilatasyon ve hipotansiyona sebep olur[65].

2.4. İnterlökin-6 (IL-6)

Sepsisin erken fazında bağışıklık sistemi tarafından üretilen bir sitokindir[66]. Yarım asırdır, IL6'nın plazma seviyeleri, sepsisin ağırlığını göstermede önemli bir parametre olduğunu saptayan bir çok çalışma yapılmıştır.[67][68] Septiste endotel ve monositler tarafından salgılanarak lökosit artışını sağlar[69]. İnterlökin-6 doğal bağışıklığı başlattığı gibi edinsel immünitede de görevi vardır[70].

IL-6 sepsis durumunda, 2 saat içinde pik seviyeye ulaşır bu da hem erken dönem önlem almak için hem de deneysel çalışmaların kolaylaşması açısından çok önemlidir[70][71]. IL-6 seviyeleri bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarının çoğunda yükselir[72]. Eğer sepsis, septik şok ve organ yetmezliğine doğru ilerliyorsa IL-6 düzeyi de korele olarak artar[73]. Artan IL-6 seviyeleri CRP ve diğer akut faz reaktanlarının üretimini de artırır[74][75][76][77].

IL-6 spesifitesi en yüksek ve kısa sürede pik yapıp sepsisin ön habercisi olmasına rağmen, klinikte henüz plazma IL-6 düzeyleri ölçüm olarak kullanılmamaktadır[70]. Klinik ciddiyetin en önemli göstergesi olarak bildirilse de günümüzde CRP, beyaz küre sayısı, klinik durum, sepsis ağırlığını göstermede yeterli olarak düşünülmektedir[74][79].

2.5. Tümör Nekrozis Faktör (TNF- alfa)

Gram (-) bakterilere karşı vücutta salgılanan esas mediatörüdür. İmmün sistemde asıl kaynağı mononükleer fagositlerdir. Ağırlığı 17 kD'dır. İki çeşit TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajların oluşturduğu TNF-alfa (orijinal olarak

kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerin oluşturduğu TNF-beta (Lenfotoksin)'dir[80][81].

Parakrin ve otokrin sistemi düzenler. Vücutta etkileri şunlardır; [81][82]

1. Nötrofillere de etki ederek endotel hücrelerinin bağlanma fonksiyonunu artırır.
2. Nötrofillerin bağışıklık sisteminde de görev alması için aktive eden elemanlardan biridir.
3. TNF, IL-1, IL-6, kemokinler ve TNF'in kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir.
4. Virüslere karşı interferon gibi koruyucu etki gösterir. Bu etkileri vücudun immün yanıtında çok önemlidir[82].

TNF-alfa'nın enfeksiyon durumunda temel sistemik çok önemli görevleri vardır. Öncelikle IL-1 ile birlikte endojen projen etki oluşturarak, hasta bireyde ateşi yükseltir. Ateş oluşum sürecinde, IL-1 ve TNF- alfa 'nın yükselmesi, hipotalamustan prostaglandin E2 sentezini başlatması ile olur[80]. TNF- alfa, IL-1 ve IL-6 nın dolaşıma salınmasına neden olur. Aynı zamanda , karaciğer hücrelerinde de, serum amiloid A ve P proteini, kompleman faktör 3, haptoglobulin, CRP gibi bazı akut faz proteinlerinin oluşumunda görev alır[82]. Ayrıca antikoagulan sistem üzerine de etkisi bulunur.[81] Sepsiste fazla salgılanan TNF, dolaşımda kollaps ve DİC'e neden olur. Yani TNF, septik şokun önemli bir mediatörüdür[82].

2.6. Antioksidan Sistemler

Sepsis, yanık gibi vücudun karşılaştığı herhangi bir travma durumunda oluşan serbest oksijen radikallerinin oluşumunu önleyen, metabolize eden, oluşabilecek hasarı onaran çeşitli maddeler vardır. Bunlara antioksidan maddeler denir. Ekzojen veya endojen kaynaklı olabilmektedir[83][84] .

2.6.1. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar; enzimatik (SOD ,CAT, GPx, GST, mitokondriyal oksidaz sistemi) veya non-enzimatik (bilirubin, albumin, ürik asit, α - tokoferol,

seruloplazmin, transferin, ferritin, glutatyon) maddelerdir[85]. Bunlar SOR gibi vücudun savunma mekanizmasını kötü yönde etkileyen maddelere karşı, ilk savunma sistemidir[86] [87].

2.6.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.6.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksiti hidrojen peroksite dönüştüren bir metalloenzimdir[84].

$(2O_2 + 2H \longrightarrow H_2O_2 + O)$ tepkimesi ile lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. Hücre dışı aktivitesi düşüktür. Ekstrasellüler düzeyde SOR'u yok edebilen tek antioksidan olması sebebiyle, SOD oksidan hasarı, fibrozis gibi bir çok akciğer hastalıklarından korunmada çok önemli bir antioksidan moleküldür[85][93][94].

2.6.1.1.2. Katalaz

Hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürür. Daha çok peroksizomlarda, nadir olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. Bulunduğu hücreyi oksidatif strese karşı korumaktadır[95].

2.6.1.1.3. Glutatyon peroksidaz (GPx)

Hücre sitoplazmasında bulunur. SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asiti peroksitlerini suya çevirirler[84]. $(H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow GSSG + 2H_2O)$ tepkimesini yapar. Selenyum kofaktörüdür. Fagositik hücrelerin ve eritrositlerin oksidatif strese karşı korunmasında rol alırlar[83][96][97].

2.6.1.1.4. Glutatyon-S-transferaz (GST)

Ksenobiyotiklerin değişiminde görev alırlar. Lipit hidroperoksitlere karşı GST'ler selenyum kullanmadan, hareket ederler[83][85][87].

2.6.1.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, alfa-lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin enzimatik olmayan antioksidanlara örneklerdir[99][100].

2.6.2. Ekzojen Antioksidanlar

Ekzojen antioksidanlar; vitaminler ve ilaç antioksidanları olarak sınıflandırılır[101]. Vitamin E, Vitamin A, Vitamin C, folik asit ve günümüzde yeni duyulmaya başlanan flavonoid grubundan kuarsetin, dışarıdan alınan vitamin kaynaklı antioksidanlardır[84][102]. İlaç antioksidanları içinde; allopurinol, adenozin, asetilsistein, mannitol, desferroksamin, demir şelatörleri sayılabilir[84].

2.7. Askorbik Asit (Vitamin C)

Askorbik asit suda çözünür. Reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesinde ve immün sistemin güçlenmesinde aktif rol alan bir ekzojen antioksidandır[103][104]. Daha önce yapılan çalışmalarda, sepsis durumunda hastanın çoklu organ yetmezliğine gidişinde plazma değerleri ters korelasyon göstermiştir[105]. İmmün sisteme etkilerini araştırmak için çok fazla deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar ışığında askorbik asitin hastanın kliniğini iyileştirdiği belirtilmiştir[5].

Yararlı etkiler arasında lipit peroksidasyonunun zayıflaması, vasküler geçirgenliğin azalması, mikrovasküler disfonksiyonun düşük seviyeleri, endotelyal hasarın korunması, fonksiyon ve mikrodolaşım akışı, gelişmiş endojen vazopresör sentezi, artan vazopresör duyarlılığı ve hemodinamik stabilite yer alır[106]. Yüksek seviyelerde bakteriyostatik etkiye sahiptir. Ayrıca endojen katekolamin üretiminde de görevli, L-tirozinden L-dopa ve noradrenalin ve epinefrin üretiminde rol almaktadır[106].

Yanık hastalarında yüksek doz C vitamini kullanımı resüstasyon sıvı miktarında ve organ disfonksiyonunda azalma sağlayarak mortaliteyi azaltmaktadır. Cerrahi hastalarda kullanımı enfeksiyon gibi komplikasyonların gelişimini engellemede etkilidir[107]. Ayrıca yine son yıllarda yapılan çalışmalar kritik hastalarda orta dozda (3-10 gr/gün) askorbik asit kullanımının PİCU kalış süresinde, vazopressör kullanım süresinde, mekanik ventilatör uygulama süresinde kısılma sağladığını göstermektedir[108].

2.7.1. Askorbik Asit Kaynakları

Askorbik asit veya vitamin C, vitaminler içinde en hızlı metabolize olandır. Bir çok sebze ve meyve c vitamini açısından zengindir. Özellikle turunçgiller yüksek oranda C vitamini içerirler. Hayvansal gıdalar bitkisel gıdalara oranla daha az oranda c vitamini içerirler[109].

2.7.2. Askorbik Asit Metabolizması

Vitamin C ağız mukozasından emilir. Hücre içine askorbat spesifik membran taşıyıcıları ile, dihidroaskorbik asit ise glukoz taşıyıcıları ile taşınmaktadır. Dihidroaskorbik asit hücre içinde askorbik asite çevrilir. Askorbik asit kan-beyin bariyerini geçemez, fakat dihidroaskorbik asit Glukoz transport tip 1(GLUT1) aracılığı ile geçebilir ve nöronlara alındıktan sonra askorbik asite dönüşür[110][111].

2.7.3. Askorbik Asit Fonksiyonları

C vitaminin insan hayatında çok önemli bi yeri vardır. Vücut metabolizmasında bir çok sistemde görevi mevcuttur. Antioksidan etkisi; süperoksit, hidrojen peroksit, peroksinitrit gibi reaktif oksijen metabolitlerinin salgılanmasını azaltır.[112] Kemik gelişiminin desteklenmesi ve kollajen sentezinde çok önemli rol oynar. Tip 1 kollajen sentezinde çalışır. Vitamin C eksikliğinde kollajen hidroksilasyonu ile kemik yapısı büyük oranda bozulur.[113] C vitamini aynı zamanda miyelin oluşumu, katekolamin biyosentezi, glutamat toksisitesinin önlenmesi, sinaptik aktivitenin desteklenmesi, hücre çoğalmasının ve çeşitlenmesinin önlenmesinde görev alır. Bu görevlerle santral sinir sistemine büyük oranda faydası olur.[111]

C vitamini sepsis patogeneğinde önemli rol oynar. Damar geçirgenliğini önler, apoptozu engelleyerek endotel progenitör hücreleri korur.[114] Bazı çalışmalarda c vitaminin antidepresan etkinliği olduğu gösterilmiştir. Duygu durum bozukluğunu düzelttiği, stresi azalttığı, majör depresyonda etkili olduğu düşünülmüştür.[115][116] Obez hastalarda yapılan bir çok çalışmada tip 2 diyabette kan şekeri üzerine olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir.[117]

Vitamin C'nin, methemoglobinemi tedavisinde olumlu etkisi, alerjik rinit semptomlarının düzelmesi, kompleks bölgesel ağrı sendromuna karşı destekleyici, preeklampsiye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir.[118][119]

2.7.4. Askorbik Asit Eksikliği

Vitamin C eksikliği sıklıkla gelişmekte olan ve gelişmemiş ülkelerde görülmektedir. Ülkemize ait oranlar kesin olarak bilinmemektedir. Çocuklarda vitamin c eksikliği, bakımsız geriatric grubu, alkolikler, psikiyatrik hastalar, bilinçsiz diyet uygulayan erişkin gruplara göre daha az görülmektedir.[111][120] Kistik fibrozis, anoreksiya nevroza, besin alerjileri, uzun süreli enteral beslenme alan çocuklarda daha sık gözlenmektedir.[120]

Yalnızca inek sütü ile beslenme, meyve-sebzelerin yetersiz tüketilmesi, onkolojik durumlar, intestinal malabsorbsiyon sendromları, böbrek yetmezliği(son dönem) ve ketojenik diyet uygulanması çocuklarda başlıca risk faktörleridir.[120]

Vitamin C eksikliğinin neden olduğu klinik tablo skorbüt olarak adlandırılmaktadır. 8-12 haftalık yetersiz ve düzensiz C vitamini kullanımı semptomların oluşmasına neden olur.[121] Erken semptomlar non-spesifik olup beslenme güçlüğü, halsizlik, irritabilite, takipne, gastrointestinal problemler, ateş olabilir. İlerleyen dönemlerde peteşi, ekimoz, hiperkeratoz gibi bulgular ortaya çıkar. Kanama bozuklukları ve anemi gelişebilir. Diş etleri şişer ve kolaylıkla kanar[121]. Kemik yapısında deformasyon meydana gelir, kırık dokusu kalsifikasyonu ve kemik kırılabilirliği artar. Büyük eklemlerde kaymalar olabilir, psödoparalizi ve kurbağa bacağı görünümü oluşur[122]. Artralji, artrit, miyalji, yürüme güçlüğü olan çocukların ayırıcı tanısında askorbik asit eksikliği akla gelmelidir.[122] Pulmoner hipertansiyon, kardiomegali, kemik iliği ve adrenal yetmezlik ,alopesi, ödem diğer görülebilen klinik durumlarıdır[123]. Vitamin C eksikliğinin en kesin tanısı plazma C vitamini düzeyinin ölçülmesi ile olmaktadır[124]. Plazma seviyesi 23 µmol/l altı olan grup hipovitaminoz olarak adlandırılmaktadır[111]

2.7.5. Askorbik Asit Eksikliğini Önleme ve Tedavisi

C vitamini vücutta üretilemez bu sebeple dışarıdan alınması zorunludur.[122] Önlemek için C vitamininden zengin gıdaların tüketilmelidir. Dünya Sağlık Örgütü

20-30 mg/gün C vitamini alımı için, 400 gr/gün yani yaklaşık günde 5 porsiyon meyve-sebze tüketilmesini önermektedir[123]. Skorbüt hastalığının tedavisi için 1 ay süreyle çocuklarda 100-300 mg/gün, erişkinlerde 500-1000 mg/gün önerilmiş olup tedavi süresi semptomların tamamen kaybolmasına kadar sürdürülmelidir. Tedavi ile oral belirtiler günler içerisinde düzelirken, ekimozlar ve kemik semptomlarının birkaç haftada düzelir[123].

2.7.6. Askorbik Asit Toksikitesi

Vitamin C alımı üst limit bilinmemektedir. Uzun süre yüksek doza maruziyette (1000 mg/gün) alınırsa, idrar okzalik asit atılımını arttırarak böbrekteki kalsiyum-oksalat taşlarının atılmasına sebep olur. 2-6 gr/gün den fazla alımı ishale neden olabilmektedir[113].

2.8. Kuersetin

Kuersetin, doğada yaygın olarak bulunan flavonoidlerdendir. Flavonoidler, bitkilerdeki moleküllerin ana gruplarından birini oluşturur ve 9.000'den fazla bileşik içerir[125][126].

2.8.1. Kuersetin Kaynakları

Kuersetin, bitkilere renklerini veren pigemnlı bir flavonoiddir. Her çeşit kırmızı, yeşil ve mor pigmentli bitkiler kuersetin içerir. Bitkisel kaynaklarda kuersetin miktarı , ne kadar taze olduklarına, organik olup olmamasına ve hazırlanış şekline göre değişebilir. Örnek vermek gerekirse, organik domatesler, standart olarak yetiştirilen domateslere göre %79'a kadar daha fazla kuersetin içerir. En çok kullanılan kuersetin kaynakları: meyveler, kırmızı şarap, domates, brokoli, lahana ve filiz içeren turpgil sebzeler, ıspanak, turuncgiller, kereviz, kakao, tam tahıl, karabuğday, çiğ kuşkonmaz, kırmızı soğan, keçiboynuzu, zeytinyağı, siyah ve yeşil çay, kuru baklagillerdir[125][126]. Yiyeceklerde kuersetin içeriğiyle ilgili bilgiler azdır. Fakat elde edilen veriler kuersetinin meyvelerde 2-250 mg/kg, sebzelerde 0-100mg/kg olduğunu ve özellikle soğanda 200-600 mg/kg gibi yüksek değerlerde olduğunu göstermektedir[127]. Bir günde ortalama 23 mg alınır[128][129].

2.8.2. Kuarsetin Metabolizması

Besinlerde genellikle glikozid yapısında bulunur. Büyük ve ağır moleküllü yapılardır. Bağırsaklarda emilimi zordur. Gastrointestinal sistemde emilim için küçük moleküllere dönüşür. Bağırsak florasındaki mikroorganizmalar, glikozid yapısının erimesini sağlarlar. Büyük kısmı böbreklerden atılır[130][129][131]. Kuarsetin diyetlerde en çok bulunan flavonol olup SOR temizleme aktivitesi açısından potansiyel bir antioksidandır[132][133][134][135].

2.8.3. Kuarsetin Fonksiyonları

Kuarsetinin, biyolojik, farmakolojik açıdan önemli antioksidan etkileri vardır[136]. Biyolojik etkilerinin; antikanser, antiviral, antitrombotik, antiiskemik, antiinflamatuvar, antiallerjik olduğu, çalışmalarla gösterilmiştir[137][6][7][8]. Çoğu görülen kanser çeşitlerinde malign hücre büyümesini ve çoğalmasının engellemede etkisi olduğu bazı çalışmalarda saptanmıştır[138][139]. Bunların yanı sıra çoğu çalışmada trombosit birikimini önlediği ve hipertansiyona karşı olumlu bir etkisinin olduğu gösterilmiştir[140]. Yapılan başka bir çalışmada elma ve soğan tüketimi arttığında koroner hastalıklara bağlı ölüm oranı azalmış olarak bulunmuştur[141][142]. Lipid peroksidasyonu azaltarak akut böbrek hasarını engelleyebilir[143]. Yapılmış başka bir hayvan deneyi çalışmasında; kuarsetin uygulamasının, oksidatif strese maruz edilmiş pankreatik dokularda, lipid peroksidasyonunu etkileyerek ve endojen antioksidanları salgılatarak vücudun savunma metabolizmasında önemli görevleri olabileceği gösterilmiştir[144]. Kuarsetinin uyarılmış oksidatif strese ve renal ve hepatik hasara karşı kullanılabilecek iyi bir antioksidan olabileceği düşünülmüştür[145]. Kuarsetin kullanmak antioksidan aktiviteyi arttırıp ve pankreatik beta hücre bütünlüğünü korur. Diyabete karşı koruyucu etkisi vardır[146][147].

SOR oluşumunu engellemesi ile ilgili olarak kuarsetinin diğer flavonoidlere karşı üstünlüğü ortaya konmuştur[148]. SOR ilgili etki mekanizmaları çeşitlidir. Diğer flavonoidlerle karşılaştırıldığında, hidroksil radikali, peroksil ve süperoksit anyona karşı en iyi antioksidan etki gösterir[149]. Ksantin oksidaz aracılığıyla süperoksit anyonunu inhibe eder, SOR'u ortadan kaldırır[149][150].

2.8.4. Kuarsetin Kullanımı ve İnsanlarda Güvenilirliği

Kuarsetin, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından, GRAS statüsüne (genellikle güvenli olarak kabul edilir) sahiptir[151]. Ayrıca sadece güvenliiliğinin yanı sıra Avrupa Gıda Güvenliği Komitesi, kuarsetinin DNA, protein ve lipidlerin oksidatif streten immün savunmada faydalı etkilere sahip olduğunu gösteren bir çok yayın vardır[152]. Kuarsetin ile 3 ay boyunca 1 g / güne kadar alımının, önemli bir yan etki oluşturmadağı gösterilmiştir[152]. Gebelik ve emzirme döneminde kuarsetin bazı takviyelerin güvenliilirliği henüz belirlenmemiştir[151]. Östrojenik etkisi bilindiği için, östrojene duyarlı meme kanseri olanların kullanması önerilmez[152].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın Amacı

Yavru ratlarda, kuarsetin ve askorbik asit takviyesi alınmasının, LPS enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturulduktan sonra serum enflamatuvar sitokinleri olan IL-1beta, IL-6, TNF-alfa, CRP ve serum antioksidan belirteçleri olan CAT, GPx, GST, SOD üzerindeki etkilerini incelemektir.

3.2. Denek Olarak Kullanılan Hayvanlar

Çalışma da Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma ve Eğitim Merkezi Laboratuvarı'ndan temin edilen 50-55 gram ağırlığında her biri 21 günlük olmak üzere, 21 erkek, 7 dişi toplam 28 Wistar Hannover ratlar kullanılmıştır. Ratlar standart diyet ve su ile beslenmiş ve her grup özel kafeste tutulmuştur. Ratlara 18- 22 santigrat derece oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır. Her kafeste 7 hayvan bulunacak şekilde ayrılmışlardır. Uygulamalar S.B.Ü. İstanbul Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma ve Eğitim Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş olup, çalışma protokolü S.B.Ü. İstanbul Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021-122 sayılı 118. Kurul toplantısı tarafından onaylanmıştır. Laboratuar hayvanlarının kullanıldığı bu çalışmada, Avrupa Konseyi'nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) (ETS 123) uyulmuştur.

3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasallar

Kuarsetin (Venatura marka), Askorbik asit (Redokson marka) kullanılmıştır. Anestezik ajanlar; ketamin(65mg/kg), pentobarbital(150mg/kg) intrakardiyak kan alımı sırasında, intramuskuler olarak uygulandı.

3.4. Deneysel Uygulamalar ve Çalışma Planı

21 günlük, emzirme dönemini yeni bitirmiş 28 yavru rat, eşit sayıda dişi erkek ayrılarak, 4 gruba ayrıldı.

1.grup: Kontrol grubu, 7 gün boyunca bu grupta herhangi bir ilaç takviyesi verilmedi, 1ml gavaj yolu ile serum fizyolojik verildi. 8.gün sepsis modeli oluşturulmadı.

2.grup: Sepsis grubu, 7 gün boyunca herhangi bir takviye almayıp, 1ml gavaj yolu ile serum fizyolojik verildi. 8.gün intraperitoneal bakteri LPS (30 mg/kg) enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturuldu.

3.grup: Sepsis + kuarsetin grubu, 7 gün boyunca gavaj yolu ile kuarsetin (25 mg/kg) takviyesi verilip, 8.gün intraperitoneal bakteri LPS (30mg/kg/bw) enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturuldu.

4.grup: Sepsis + askorbik asit grubu, 7 gün boyunca gavaj yolu ile askorbik asit (200 mg/gün) takviyesi verilip, 8.gün intraperitoneal bakteri LPS (30mg/kg/bw) enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturuldu.

Deney hayvanlarına verilen tüm bakteri LPS, kuarsetin ve askorbik asit dozları genel literatür taranarak belirlenmiştir.

Tüm gruplardan 9. gün , enflamatuvar sitokinlerin düzeyleri (IL-1beta, IL-6, TNF-alfa, CRP) ve antioksidan düzeyleri (katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, glutatyon s transferaz) çalışılmak üzere intrakardiak olarak 5 er cc kan örnekleri ayrılıp santrifüj edilerek -80 santigrat derecede daha sonra çalışılmak üzere saklandı. Ayrılan kanlar Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi biyokimya laboratuvarında analizatör spektrofotometrik olarak ticari kitle ölçüldü.

3.5. Biyokimyasal Analizler

Deneyin 8. Gününde, ratlardan intrakardiak olarak 5 er cc kan örnekleri ayrılıp santrifüj edilerek -80 santigrat derecede daha sonra çalışılmak üzere saklandı.

3.5.1. Antienfalamatuvar Belirteçlerin Seviyelerinin Belirlenmesi

3.5.1.1 TNF-Alfa, IL-1 beta, IL-6 Ölçümü

Serum TNF-alfa ölçümü için DIA kaynaklı TNF-alfa-Elisa Kit 96 Testi (KAP1751; DIASOURCE, China) kullanıldı. DIA-kaynaklı IL-6-ELISA, bir

mikrotitre plakası üzerinde gerçekleştirilen bir katı faz enzim bağımlı immünsorban analizdir. 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka okuyucu kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Serum numunelerindeki TNF-alfa konsantrasyonları, standart eğrinin optik yoğunluğu ile karşılaştırıldığında pg/mL olarak gösterildi. Farmasina marka kitlere özgü prosedür rehberine uygun olarak diğer IL-1beta ve IL-6 ölçümü için DIA kaynaklı IL-6-Elisa Kit 96 Testi (KAP1261; DIASOURCE, China) kullanıldı. DIA-kaynaklı IL-6-ELISA, bir mikrotitre plakası üzerinde gerçekleştirilen bir katı faz enzim bağımlı immünsorban analizdir. 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka okuyucu kullanarak hemen her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Sonuçlar ng/ml olarak ifade edildi. Serum numunelerindeki IL6 konsantrasyonları, standart eğrinin optik yoğunluğu ile karşılaştırıldığında pg/mL olarak gösterildi.

3.5.1.2. CRP Ölçümü

Farmasina Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. Ve Dış Ticaret Ltd. Şti marka kit kullanılarak otoanalizörde çalışıldı.

3.5.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.5.2.1. SOD Enzimi Ölçümü

Marklund ve Marklund¹⁹⁶ metodu kullanılarak pyrogallol'un 3 dakikada 440 nm'de alkali ortamda otooksidasyonu ile artan absorbans ölçüldü. Bir ünite toplam SOD aktivitesi pyrogallol' un otooksidasyonun %50 inhibiyonuna sebep olan protein miktarı olarak hesaplandı. SOD aktivitesi ng/ML olarak verildi.

3.5.2.2. CAT Enzimi Ölçümü

240 nm'de hidrojen peroksitin parçalanmasını gösteren azalan absorbans ölçüldü. Birim zaman başına absorbansdaki değişimler CAT aktivitesinin ölçümü olarak baz alındı. Enzim aktivitesi ng/ML birimiyle verildi.

3.5.2.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzimi Ölçümü

Paglia ve Valentine²²⁷ tarafından kurallaştırılmış metoda göre yapıldı. NADPH'nin Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340

nm’de absorbansın azalmasına neden olur, böylece indirekt yoldan GPx’in aktivitesinin bulunmasında kullanılmaktadır. Buna hidrojen peroksit eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 3 dakika boyunca 340 nm’de absorbanslar okundu. GPx aktivitesi birim zamanda harcanan NADPH 47 miktarı olarak hesaplandı ve enziminin spesifik aktivitesi ng/ML olarak verildi.

3.5.2.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST) Enzimi Ölçümü

Habig ve ark.134 metoduna göre yapıldı. Bütün izoenzimler için 1-chloro-2,4- dinitrobenzen substrat olarak kullanılmaktadır. 340 nm’ de absorbanslar okundu. Enzimin aktivitesi ng/ML olarak verildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Shapiro Wilks testi ile parametrelerin normal dağılıma uygunluğuna bakılmıştır. Tanımlayıcı istatistiksel metodların (frekans) yanı sıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Dunn’s testi kullanıldı. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

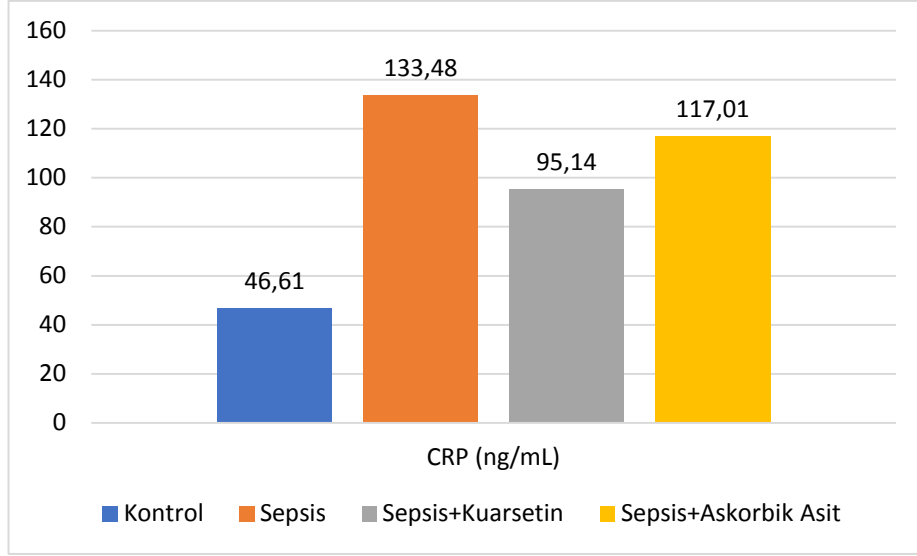
Çalışma, 11/04/22 – 20/04/22 tarihleri arasında 7’si (%25) Kontrol, 7’si (%25) Sepsis, 7’si (%25) Sepsis + Kuarsetin ve 7’si (%25) Sepsis + Askorbik Asit olmak üzere grup altında toplam hayvan ile yapılmıştır.

Tablo 1: Gruplar arasında çalışma parametrelerinin değerlendirilmesi

Grup	Kontrol	Sepsis	Sepsis+Kuarsetin	Sepsis+Askorbik Asit	Total	p
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
CRP (ng/mL)	(46,61±20,89 (42,5))	133,48±11,87 (136,4))	95,14±16,47 (99,4))	117,01±20,01 (116,6))	98,06±37,21 (100,6))	0,000 *
TNF-ALFA (ng/L)	132,82±47,17 (120,4))	226,09±32,57 (212,1))	153,85±44,74 (160,9))	185,6±28,01 (198,5))	174,59±51,31 (175,4))	0,006 *
IL-1BETA (pg/L)	1265,1±297,13 (1100,4))	2282,92±306,33 (2119,1))	1713,57±207,29 (1659,9))	1793,73±368,11 (1959,8))	1763,83±464,07 (1800))	0,000 *
IL-6 (pg/mL)	64,32±6,44 (61,9))	99,84±42,7 (83,4))	71,85±7,02 (70,2))	77,6±11,3 (74,5))	78,4±25,21 (73,3))	0,002 *
CAT (ng/mL)	49,15±7,28 (51,8))	28,32±6,12 (25,6))	46,22±7,91 (45,6))	43,69±6,05 (44,5))	41,85±10,45 (44,3))	0,002 *
SOD (ng/mL)	22,63±3,79 (21,4))	17,32±3,13 (18,3))	14,69±2,63 (15,3))	21,55±2,78 (21,4))	19,05±4,39 (19))	0,001 *
GPX (ng/mL)	35,2±8,95 (37,6))	21,23±5,69 (21,3))	26,27±6,29 (27,5))	33,8±5,87 (33,9))	29,13±8,66 (29,2))	0,007 *
GST(ng/mL)	28,51±2,71 (27,8))	28,15±3,54 (27,7))	24,69±3,18 (25,2))	31,33±6,68 (30,7))	28,17±4,72 (27,5))	0,103

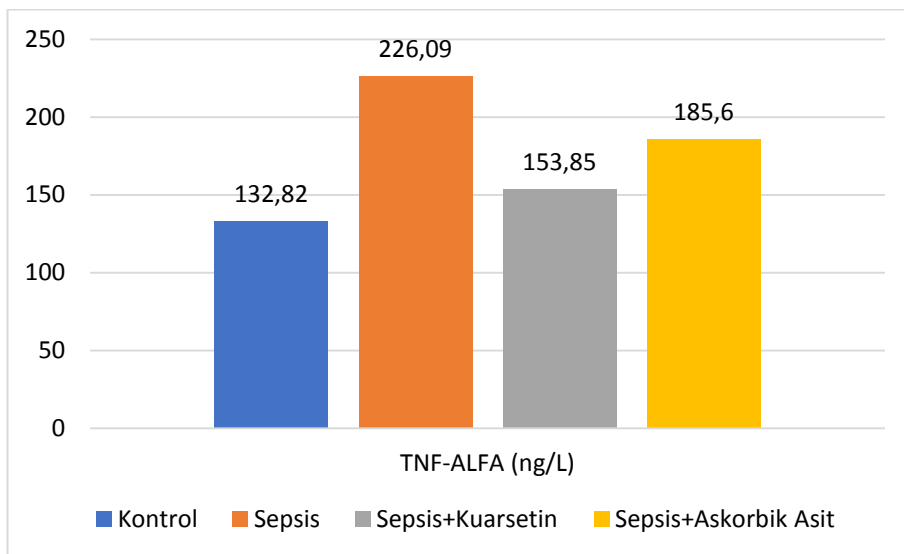
Kruskal Wallis Test

* $p<0.05$



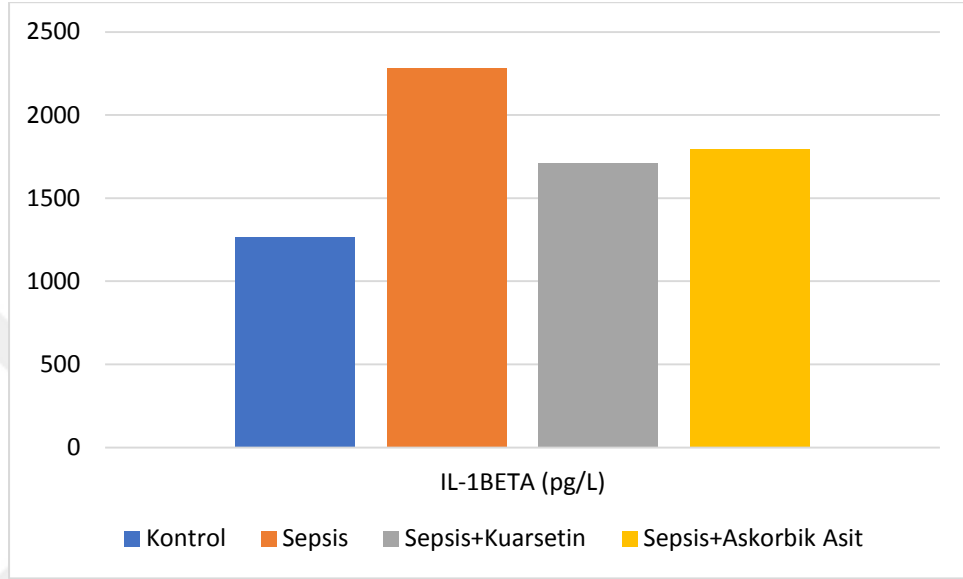
Grafik 1

Gruplar arasında CRP değerlerine bakıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktur ($p:0.000$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun CRP değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p_1:0.000$; $p_2:0.002$; $p<0.05$). Sepsis grubunun CRP değerleri, sepsis + kuarsetin grubundan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p:0.015$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında CRP değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$).



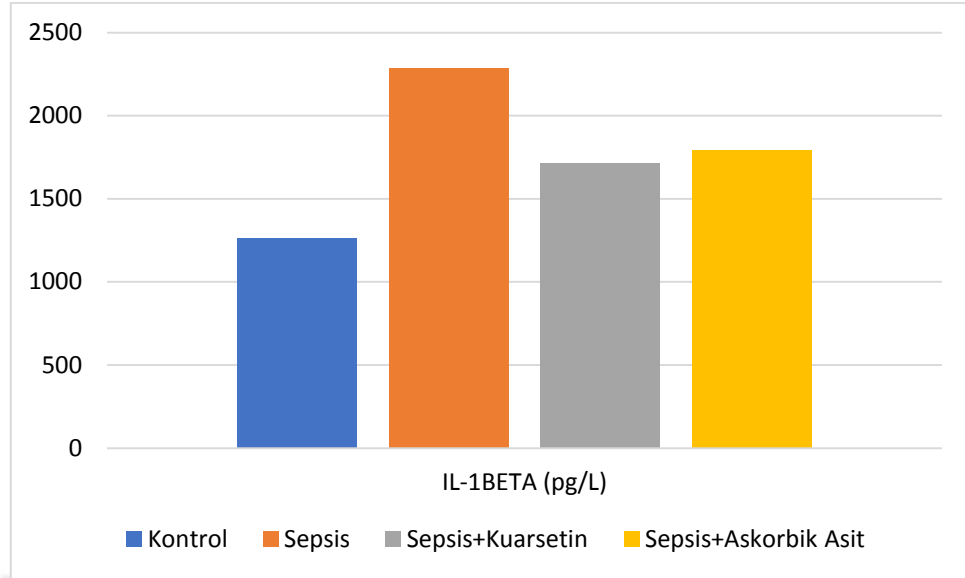
Grafik 2

Gruplar arasında TNF-alfa değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmıştır (p:0.006; p<0.05). Farklılığın tespiti için ikili karşılaştırmalar sonucunda; sepsis grubunun TNF-alfa değerleri, kontrol ve sepsis + kuarsetin gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek görölmüştür (p₁:0.001; p₂:0.010; p<0.05). Diğer gruplar arasında TNF-alfa değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yoktur (p>0.05).



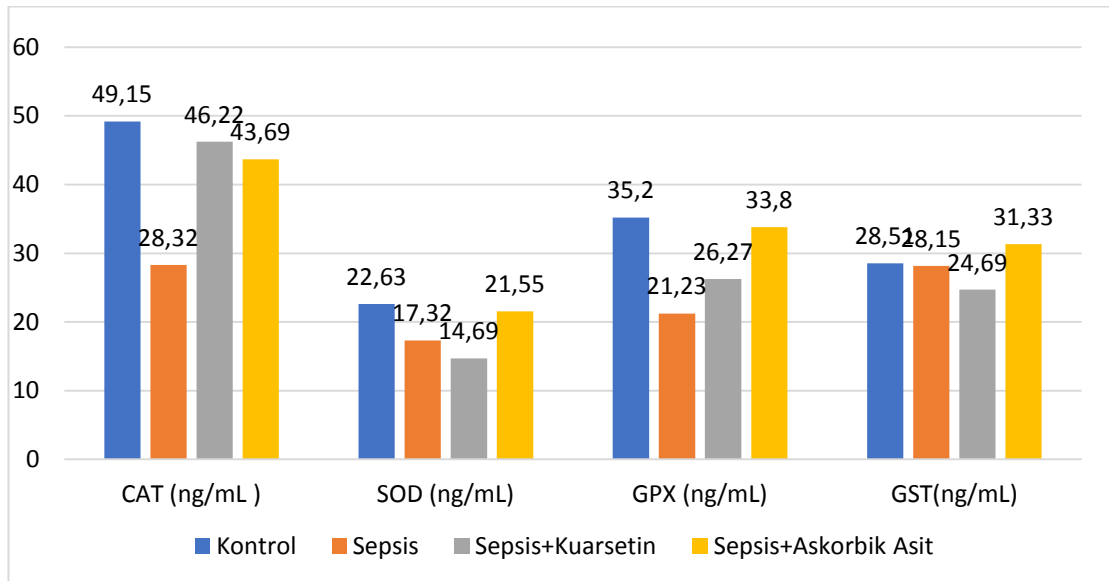
Grafik 3

Gruplar arasında IL-1beta değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0.000; p<0.05). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun IL-1beta değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p₁:0.000; p₂:0.032; p<0.05). Sepsis grubunun IL-1beta değerleri, sepsis + kuarsetin ve sepsis+ askorbik Asit gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p₁:0.008; p₂:0.035; p<0.05). Diğer gruplar arasında IL-1beta değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).



Grafik 4

Gruplar arasında IL-6 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.002$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; Kontrol grubunun IL-6 değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p_1:0.000$; $p_2:0.020$; $p<0.05$). Sepsis grubunun IL-6 değerleri, sepsis + kuarsetin grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0.017$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında IL-6 değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



Grafik 5

CAT değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p:0.002$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; sepsis grubunun CAT değerleri, kontrol, sepsis + kuarsetin ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p_1:0.000$; $p_2:0.003$; $p_3:0.015$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında CAT değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

SOD değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p:0.001$; $p<0.05$). Farklılığın tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; kontrol grubunun SOD değerleri, sepsis ve sepsis + kuarsetin gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p_1:0.019$; $p_2:0.001$; $p<0.05$). Sepsis+ askorbik asit grubunun SOD değerleri, sepsis ve sepsis + kuarsetin gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p_1:0.029$; $p_2:0.001$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında SOD değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Gruplar arasında GPx değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p:0.007$; $p<0.05$). İkili karşılaştırmalar sonucunda; sepsis grubunun GPx değerleri, kontrol ve sepsis+ askorbik asit gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p_1:0.003$; $p_2:0.007$; $p<0.05$). Diğer gruplar arasında GPx değerleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

GST değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Sepsiste erken tanı ve tedavi, ağır sepsis, septik şok ve ÇODS ‘a gidişin önlenmesi için önemlidir. Bakteriyel ekzotoksinlerin, sepsis fizyopatolojini araştıran birçok çalışmanın sonucu olarak, sitokinlerin salınımına neden oldukları ve mediyatör sistemleri aktive ettikleri gösterilmiştir. Özellikle gram negatif bakterilerden salınan endotoksin, koagülasyon ve kompleman kaskadını aktive ederek TNF-alfa, IL-1beta, IL-6, ve CRP gibi sepsisin klinik tablosunu oluşturan biyobelirteçlerin açığa çıkmasına neden olmaktadır[156]. Deney hayvanlarına *Escherichia coli* LPS’si intraperitoneal uygulandığında inflamasyona sebep olur[154]. Bu yöntem deney hayvanlarıyla yapılan sepsis modellemelerinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. LPS ile oluşturulmuş sepsis modelleri, doku ve organ değişikliklerinin incelenmesi, yeni tedavi modellerinin araştırılması için bize fırsat sağlar[155].

Sepsiste enflamasyon ile beraber serbest radikaller de salgılanır ve sitokinlerin sentezini tetikler[157]. Bu sebeple sepsiste antibiyotik tedavinin yanısıra antioksidan tedavinin de faydalı olabileceği düşünülmektedir. Sepsis fizyopatolojisi halen araştırma konusudur, bu konuda yapılan çalışmalar devam ederken antioksidanların önemi yapılan çalışmalar arttıkça daha çok ortaya çıkmaktadır[158]. Antioksidanların asıl hedefi, organizmada herhangi bir sebeple oluşan serbest radikal oluşumunu engellemek veya oluşan serbest radikalleri uzaklaştırmaya çalışmaktır[31]. Eğer antioksidan savunma sistemi düzgün çalışmazsa, vücut birçok hastalıkla karşı karşıya kalabilir[158].

İki güçlü antioksidan olan askorbik asit ile kuersetinin, sepsis fizyopatolojisinde büyük rol oynayan, enflamatuvar sitokinler ve antioksidan enzimler üzerine etkisini araştırdığımız bu çalışmada, 21 günlük emzirme dönemini bitirmiş, yavru ratlar kullanıldı.

CRP, sepsis başlangıcından ancak 4-6 saat sonra salınmaya başlar, 24-48 saatte pik seviyeye ulaşır ve enflamasyonun gerilemesiyle birlikte azalır[36]. Yarılanma ömrü 5-7 saattir. Antimikrobik tedavi başlanması ile serumda CRP düzeyleri düşmeye başlar ve bu düşüş, tedavinin takibinde kullanılır. CRP ’nin

yenidoğanda en çok ard arda yapılan ölçümleriyle sepsis hakkında fikir vermede faydalı olduğu görülmüştür. Bu sebeple de en fazla 12-24 saat ara ile, en az iki ölçüm yapmak gerekmektedir[160]. Aamer A Syed ve arkadaşlarının 24 hasta ile yaptığı bir çalışmada, askorbik asit CRP ve PCT 'yi önemli ölçüde azaltmıştır[161]. Equey ve arkadaşlarının İsviçre'de, 0-16 yaş arası 60 hastada yaptıkları vitamin C'nin sepsis üzerine etkisi ile ilgili çalışmada düşük c vitamini takviyesi alan hastalarda daha yüksek CRP oranları bulunmuştur[162]. Kübra Dinçer ve arkadaşlarının, 60 hasta ile yaptıkları başka bir çalışmada c vitamini takviyesinin CRP düzeylerinde anlamlı bir düşüşe sebep olduğu görülmüştür[163]. Kuarsetinin CRP üzerine etkilerine baktığımızda, Garcia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kuarsetin alımının CRP düzeyini düşürebileceği tespit edilmiştir. Klinik öncesi in vitro yaptıkları bu çalışmalarda, kuarsetin, insan hepatosit türevli hücre hattında NO sentaz, COX-2 ve CRP gibi enflamatuvar sitokinlerde azalma gözlenmiştir[164]. Guardia ve arkadaşlarının ratlarda yaptıkları başka bir çalışmada, kuarsetinin hem akut hem de kronik inflamasyonu inhibe ettiği, CRP değerlerini kontrol grubuna göre belirgin düşürdüğü gözlenmiştir[165]. Çalışmamızda, kontrol grubunun CRP değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p<0.05$). Sepsis grubunun CRP değerleri, sepsis + kuarsetin grubundan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Kuarsetin ve askorbik asit verdiğimiz iki ayrı grubu karşılaştırdığımızda CRP düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Sonuç olarak, kuarsetinin ve askorbik asitin ayrı ayrı CRP düzeylerinde düşüşe sebep olduğu görülsede, iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Araştırmamızın CRP açısından sonuçları literatürle uyumlu bulundu.

TNF-alfa, IL-1beta ve IL-6'nın aşırı üretimi doku ve hücre hasarına açar, multi organ yetmezliğine ve sonunda ölümcül sepsise neden olur[166]. Bu nedenle bu sitokinlerin ekspresyonunu azaltan her türlü ilaç ve takviye gıdalar günümüzde çok önemlidir. Bu konuda birçok çalışma yapılmıştır, halen araştırılmaya da devam edilmektedir. Yu-Cheng Chang ve arkadaşlarının Amerika'da yaptıkları hayvan deneyi çalışmasında, LPS ile sepsis oluşturulmuş ratlarda kuarsetinin belirgin derecede TNF-alfa, IL-1beta ve IL-6 üretimini düşürdüğünü saptamışlardır[167]. Tang ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında yine kuarsetin incelenmiştir. Bu

çalışmada ratlara tek doz kuarsetin uygulanmış ve LPS endotoksinin ağır sepsis tablosu oluşturmamasını engellediği gözlenmiştir. Ancak yine bu çalışmada bu sitokinlerin kısa süreli düşüş gösterdiği, akut evrede tek doz kuarsetinin faydalı olduğu belirtilmiştir[168] Jiajia Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir başka hayvan deneyi çalışmasında ise kuarsetinin izole olarak sadece IL-6 salınımı üzerine etkisi araştırılmış olup, kuarsetin takviyesi alan ratlarda anlamlı düzeyde IL-6 seviyeleri düşük bulunmuştur[169]. C vitamininin klinik kullanımına ilişkin ilk veriler hayvan modellerinden elde edildi. Daha sonra, tamamlanmış birkaç klinik çalışma, Askorbik asitin sepsiste olumlu etkilerine dair literatüre katkıda bulundu. Sawyer ve arkadaşlarının, 1986'da yayınlanan çalışmasında, 16 ARDS hastasını intravenöz C vitamini (her 6 saatte bir 1000 mg IV) ile kontrol grubunu ise standart o dönemki tedavi prosedürleri ile tedavi etmeye devam etti. C vitamini grubunda ölüm oranı dramatik bir azalma vardı. Standart bakım grubunda %71'lik bir mortalite oranı gözlenmişken, C vitamini takviyesi alan grupta %37 ($p < 0.01$) saptandı[170]. Fowler ve arkadaşlarının, 2014'te yaptıkları bir çalışmada şiddetli sepsisli hastalarında Askorbik asit düzeylerinin çok düşük olduğu görülmüş ve intravenöz c vitamini uygulanması ile yine ölüm oranlarında belirgin düşüklük olduğu görülmüştür[171]. Şen ve arkadaşlarının, askorbik asitin enflamatuvar sitokinler üzerine etkisini araştırdığı bir çalışmada ise, IL-1beta ve TNF-alfa da kontrol grubuna göre belirgin düşüklük saptandı[172]. Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada askorbik asitin enflamatuvar sitokinlere etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada influenza A virüsü ile enfekte edilmiş yavru ratlar, C vitamini takviyesi verilmiş ancak IL-1beta ve TNF-alfa düzeylerinde anlamlı bir düşüş bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda, gruplar arasında TNF-alfa değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar görüldü ($p < 0.05$). Sepsis grubunun TNF-alfa değerleri, kontrol ve sepsis+ kuarsetin gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek görüldü ($p < 0.05$). Ancak sepsis + kuarsetin ve sepsis+ Askorbik asit grupları arasında TNF-alfa değerleri açısından istatistiksel bir farklılık gözlenmedi. Literatürle uyumlu olarak, kuarsetin takviyesi TNF-alfa değerinde düşüşe neden olduğu saptandı. Çalışmamızın diğer bir parametresi olan IL-1 beta da ise, kontrol grubunun IL-1beta değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel olarak açıdan düzeyde düşük saptandı ($p < 0.05$). Sepsis grubunun IL-1beta değerleri, sepsis +

kuarsetin ve sepsis + askorbik Asit gruplarından istatistiksel olarak açıdan düzeyde yüksek saptandı ($p<0.05$). IL-6 da ise, kontrol grubunun IL-6 değerleri, sepsis ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p<0.05$). Sepsis grubunun IL-6 değerleri, sepsis + kuarsetin grubundan istatistiksel olarak açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0.05$). Her iki parametrede de kuarsetin ve Askorbik asit karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı.

Serbest oksijen radikallerinin reaktif yapılarına bağlı olarak, karbonhidrat, protein ve lipidlerin oksidasyonu ile oluşacak doku hasarının önlenmesi antioksidan sistemin işidir[173]. SOD, KAT, GPx ve GST gibi enzimler vücudun endojen olarak salgıladığı enzimatik antioksidanları oluştururlar. Hücre içindeki birincil savunma sistemini oluştururlar[174]. Genel olarak antioksidan sistem elemanları, zararlı oksijen türevlerini ortadan kaldırırlar[173][175]. Hsiao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, SOD enziminin karaciğer hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağladığı bildirilmiştir[176]. Sebai ve arkadaşlarının çalışmasında, LPS uygulanmış gruplarda SOD, KAT, GPx ve GST aktivitelerinin istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük saptandığını göstermişlerdir[177]. Mohamadin ve arkadaşlarının LPS enjeksiyonu ile sepsis oluşturdukları bir başka hayvan deneyi çalışmasında, sepsis oluşturulan gruplarda KAT, SOD, GPx enzim düzeylerinin istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük saptadıklarını bildirmişlerdir[178].

Günümüze kadar kuarsetinin sepsis durumunda antioksidan enzim düzeylerine etkisi açısından çok fazla araştırma yoktur. Fethullah ve arkadaşlarının, 2015'te yaptıkları çalışmada, sepsis modeli oluşturulmuş ratlarda tek doz kuarsetin uygulanmasının etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada kuarsetinin oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerinin azaltarak ve antioksidan enzim aktivitelerini artırarak akut akciğer hasarına faydalı olduğu görülmüştür[179]. Risheng ve arkadaşları, 2015'te LPS ile indüklenmiş sepsis modeli oluşturdukları ratlarda, SOD, CAT, GPx seviyelerinde belirgin artış görmüşlerdir[180]. C vitamini güçlü indirgeyici özelliğe sahiptir. Süperoksit ve hidroksil radikali ile reaksiyona girerek onların vücutta yok edilmesinde rol oynar[83][181]. C vitamini güçlü bir antioksidan ve antienflamatuar

olarak günümüzde çok sık kullanılmaktadır. Yıllarca hem çocuklarda hem de yetişkinlerde etkileri araştırılmıştır. Aynı zamanda birçok başka antioksidan aktivitesi olduğu düşünülen moleküllerle de karşılaştırılmıştır. Tevfik ve arkadaşlarının, 2004 yılında yaptığı çalışmada, 50 yavru ratın A, E ve C vitamini takviyesi ile antioksidan enzim düzeyleri karşılaştırılmıştır. Yaptıkları bu çalışma ile C vitamini uygulamasının tek başına hem insülin hem de insülinle birlikte A ve E vitamini tedavisine göre kan şekeri düzeyi ve karaciğer dokusu lipid peroksidasyonunu azaltmada daha yararlı olabileceğini göstermişlerdir[182]. Ancak çocukluk çağında geçirilen sepsiste, c vitaminin antioksidan etkisini araştıran çok az sayıda araştırma vardır.

Çalışmamızda kuarsetin ve askorbik asitin LPS indüksiyonu ile sepsis uygulanmış yavru ratlarda, antioksidan enzim düzeylerini inceledik ve karşılaştırdık. Sepsis grubunun CAT değerleri, kontrol, sepsis + kuarsetin ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p<0.05$). Kendi aralarında sepsis + kuarsetin ve sepsis + askorbik asit gruplarını karşılaştırdığımızda ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulmadık. SOD için ise baktığımızda CAT'a göre farklı bir sonuçla karşılaştık. Sepsis + askorbik asit grubunun SOD değerleri, sepsis ve sepsis + kuarsetin gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Askorbik asitin SOD enzimi açısından daha iyi olduğunu saptadık. Sepsis grubunun GPX değerleri, kontrol ve sepsis + askorbik asit gruplarından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). Ancak kendi aralarında sepsis + kuarsetin ve sepsis + askorbik asit gruplarını karşılaştırdığımızda ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulmadık. Gruplar arasında GST değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptamadık ($p>0.05$).

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı; etik değerler sebebiyle minimum sayıda deney hayvanı ile çalışılması gerekliliği ve sepsis modellemesi yapılmış ratlardan kısa sürede kan örneklerinin alınmış olmasıdır. Uzun süreli, farklı dozlarda yapılan daha geniş kapsamlı çalışmalar ile konumuz hakkında daha net bilgiler elde edilecektir. Çalışmanın kuvvetli yönü ise, daha önce kuarsetin ve askorbik asit, sepsis durumunda antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin birlikte karşılaştırıldığı

Çalışma bulunmamaktadır. Bu özelliğiyle literatüre büyük bir katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Kuarsetin takviyesi, ratlarda yaptığımız sepsis modellemesinde gözlenen inflamatuvar biyobelirteçlerin artışı engelleyici. Sepsis grubuna göre IL-1beta, IL-6, TNF-alfa, CRP de anlamlı bir düşüş olmasını sağladı.

2. Kuarsetin takviyesi, deneysel sepsis modelinde artan oksidatif stresin azaltılması için salgılanan antioksidan enzim seviyesini anlamlı düzeyde arttırdı. CAT, SOD, GST, GPx seviyelerini arttırdı.

3. Askorbik asit takviyesi, deneysel sepsis modelinde gözlenen inflamatuvar biyobelirteçlerin artışı engelleyici. Sepsis grubuna göre, IL-1beta, IL-6, TNF-alfa, CRP de anlamlı bir düşüş olmasını sağladı.

4. Askorbik asit takviyesi, deneysel sepsis modelinde artan oksidatif stresin azaltılması için salgılanan antioksidan enzim seviyesini anlamlı düzeyde arttırdı. CAT, SOD, GST, GPx seviyelerini arttırdı.

5. Bilinen iki güçlü antioksidan olan kuarsetin ve askorbik asitin kendi aralarında karşılaştırılmalarında, kuarsetinin medyan değerlerine bakıldığında antiinflamatuvar markerları daha iyi düşürdüğü gözlenirse de istatistiksel açıdan iki grup arasında anlamlı fark gözlenmedi.

6. Ortalama değerlere bakıldığında, askorbik asit takviyesi alan grupta, kuarsetin takviyesi alan gruba göre antioksidan enzim seviyeleri daha yüksek görülse de istatistiksel açıdan iki grup arasında anlamlı bir fark görülmedi.

7. Literatürde yan etkileri bulunmayan bu iki molekülün, çocukluk çağında sepsis durumunda, ağır ve ölümcül sepsise gidişte olumlu etkileri olduğu gözlemlendi.

8. Bu sonuçlara göre farklı doz kuarsetin ve askorbik asit uygulamaları ile, farklı deney protokolleri ile bu çalışmalar devam ettirilebilir.

7. KAYNAKLAR

- [1] “Reinhart K, Bloos F, Brunkhorst : Pathophysiology of sepsis and MOF Chapter 146 p.1249 in Textbook of Critical Care 5th Ed. 2005.”
- [2] “BNP as Predictor of Pediatric Severe Sepsis Fluid Responsiveness in Limited Resource Setting Country Nanan Sekarwana¹, Heda Melinda Nataprawira¹, Nur Melani Sari¹, Dadang Hudaya Somasetia¹, Rahmat Budi Kuswiyanto¹ ¹Department of Child Health, Dr. Hasan S.”
- [3] “Abraham E. Sepsis: rapidly expanding horizons. New Horizons 1993; 1:1-2.”
- [4] “Kurt C: Sepsis ile ilişkili tanımlar, epidemiyoloji, insidans ve klinik, ‘Güncel Bilgiler Işığında Sepsis’, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri sempozyum Dizisi No.51, s.17-26, İstanbul (2006).”
- [5] “Long CL, Maull KI, Krishnan RS, et al. Ascorbic acid dynamics in the seriously ill and injured. J Surg Res. 2003;109(2):144–8.”
- [6] “Elik M, Serdaroğlu G, Ozkan R. Mirisetin ve quercetin bileşiklerinin antioksidan etkinliklerinin dft yöntemiyle incelenmesi. Fen Bilimleri Dergisi. 2007; 28(2): 53-65.”
- [7] “İnal ME, Kahraman A. The Protective Effect of Flavonol quercetin Against Ultraviolet a Induced Oxidative Stress in Rats. Toxicology. 2000; 154: 21-29.”
- [8] “Kahraman A, Erkasap N, Koken T. et al. The Antioxidative and Antihistaminic Properties of quercetin in Ethanol-induced Gastric Lesions. Toxicology. 2003; 183: 133-142.”
- [9] “American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine: Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis, Crit Care Med 1992;20:864-74.”
- [10] “Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. Intensive Care Med 2017; 43(3): 304-377.”
- [11] “Levy MM, Fink MP, Marshall JC Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ ACCP/ ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, Crit Care Med 2003;31(4): 1250-6.”
- [12] “Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of Severe Sepsis. Virulence 2014;5(1):4-11.”
- [13] “Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. Pediatr Crit Care Med 2005;6(1):2-8.”
- [14] “CAYD, Çocuklarda sepsis ve septik şok protokolü, 2018.”

- [15] “Lebel M, Tapiero B. Bacteremia, Sepsis and Septic Shock. In: Jenson HB, Baltimore RS (eds). *Pediatric Infectious Diseases*, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Company; 2002. p.279-95.”
- [16] “Stormorken A, Powell KR. Sepsis and septic shock. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds). *Nelson Text Book of Pediatrics* 17th edition. Philadelphia, Saunders; 2004.p.846-50.”
- [17] “Weiss SL, Fitzgerald JC, Pappachan J, Wheeler D, Jaramillo-Bustamante JC, Salloo A, et al. Global epidemiology of pediatric severe sepsis: the sepsis prevalence, outcomes, and therapies study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(10):1147–57.”
- [18] “Sparrow A, Willis F. Management of septic shock in childhood. *Emerg Med Austr* 2004; 16: 125-34.”
- [19] “Butt W. Septic shock. *Pediatr Clin North Am* 2001; 48: 601-25.”
- [20] “Kaplan S. Bacteremia and septic shock. In: Long SL, Pickering LK, Prober GC (eds). *Principles and Practice of Pediatric Infectious Disease*, 2nd edition. New York, Churchill Livingstone; 2003.p.810-25.”
- [21] “Aneja RK, Varughese-Aneja R, Vetterly CG, Carcillo JA. Antibiotic therapy in neonatal and pediatric septic shock. *Curr Infect Dis Rep* 2011;13:433–441.”
- [22] “McGrath EJ, Asmar BI. Nosocomial infections and multidrug-resistant bacterial organisms in the pediatric intensive care unit. *Indian J Pediatr* 2011;78:176–184.”
- [23] “Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *The New England journal of medicine*. 2013;369(21):2063. Epub 2013/11/22.”
- [24] “Leu TH, Charoenfuprasert S, Yen CK, Fan CW, Maa MC. Lipopolysaccharide-induced c-Src expression plays a role in nitric oxide and TNF alpha-secretion in macrophages. *Mol Immunol* 2006; 43: 308-316.”
- [25] “Munford RS. Sepsis, severe sepsis and septic shock. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*, 6th edition. Philadelphia, Curcill Livingstone; 2005.p.906-26.”
- [26] “Picard KM, O’Donoghue SC, Young-Kershaw DA, Russell KJ. Development and implementation of a multidisciplinary sepsis protocol. *Crit Care Nurse* 2006; 26: 43-54.”
- [27] “Shapiro L, Gelfand JA. Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy. *New Horiz* 1993; 1: 13-22.”
- [28] “Randels A. Systemic inflammatory response syndrome. *Veterinary Technician* 2013; E1-E7.”
- [29] “Bone RC, Fisher CJ, Clemmer TP, et al. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 1987; 317: 653-658.”

- [30] “Cilliers H, Whitehouse T, Tunnicliffe B. Serious complications of sepsis. In: Daniels R, Nutbeam T (editors). ABC of Sepsis. 1st edition. West Sussex: Blackwell Publishing Ltd; 2010; 15-9.”
- [31] “Esen F. Sepsiste Antimikrobik Dışı Tedavi Yaklaşımları. İçinde: Yoğun Bakım Enfeksiyonları, editör Köksal İ. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi; 2005. s. 453-65.”
- [32] “Sakaguchi S, Furusawa S. Oxidative stress and septic shock: metabolic aspects of oxygen-derived free radicals generated in the liver during endotoxemia. FEMS Immunol Med Microbiol 2006;47:167-77.”
- [33] “Rocha M, Herance R, Rovira S, Hernández-Mijares A, Victor VM. Mitochondrial dysfunction and antioxidant therapy in sepsis. Infect Disord Drug Targets 2012;12:161-78.”
- [34] “Lowes DA, Webster NR, Murphy MP, Galley HF. Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. Br J Anaesth .”
- [35] “Somec R, Amaglio N, Spirer and Rechavi G. Genetic predisposition to infectious pathogenes; a review of less familiar variants. Pediatr Infect Dis J, 2003; 22:457-61.”
- [36] “Haris RL, Musher DM, Bloom K, Gathe J, Rice L, Sugarman B, et al. Manifestations of Sepsis 1987; 147(11): 1895-906.”
- [37] “Bone RC. The patogenesis of sepsis. Ann Intern Med, 1991; 115:457.”
- [38] “Edwards MS, Baker CJ. Sepsis in the newborn. In: Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL, editors. Krugman’s Infectious Diseases of Children. 11st ed. Philadelphia: Mosby, 2004: 545-61.”
- [39] “Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. Pediatr Clin North Am 2004;51(4):939-59.”
- [40] “Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. Curr Opin Pediatr 2006;18:125-31-3.”
- [41] “Aygün G. Sepsis ve Septik Şok. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 2002; 37:131-140.”
- [42] “Casado-Flores J, Blanco-Quirós A, Asensio J, Arranz E, Garrote JA, Neiteo M. Serum procalcitonin in children with suspected sepsis: A comparison with C-reactive protein and neutrophil count. Pediatr Crit Care Med 2003; 4:190-5.”
- [43] “Gervaix A, Galetto-Lacour A, Gueron T, et al. Usefulness of procalcitonin and C-reactive protein rapid tests for the manangement of children with urinary tract infection. Pediatr Infect Dis 2001; 20: 507-11.”

- [44] “Prat C, Dominguez J, Rodrigo C, et al. Procalcitonin, C-reactive protein and leukocyte counts in children with lower respiratory infection. *Pediatr Infect Dis* 2003; 22: 963-7.”
- [45] “Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Critical care medicine*. 2008;36(1):296-327. Epub 2007/12/26.”
- [46] “Bellissant E, Annane D. Effect of Hydrocortisone on Phenylephrine Mean Arterial Pressure Dose-response Relationship in Septic Shock. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68(3): 293- 303.”
- [47] “Akova M, Sungur C, Uzun Ö, Hayran M, Gür D, Akalın HE. Hastane İnfeksiyonu Etkeni Oportunist Gram-negatif Çomaklar. 1. Türk Hastane İnfeksiyonu Kongresi Kitabı 1992; 32-6.”
- [48] “Meisner M, Tschaikowsky K, Palmaers T, et al. Comparison of procalcitonin (PCT) and C-Reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care (LOND)*, 1999; 3:45-5.”
- [49] “Pepys MB, Baltz ML (1983) Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentraxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol* 34: 141±212.”
- [50] “Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, et al. (1990) Acute phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology* 12: 1179±1186.”
- [51] “Sim JE, March CD, Cosman D, et al. (1988) cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin super-family. *Science* 241: 585±589.”
- [52] “Kushner I. Acute phase reactants. Furst DE, Romain PL (eds). https://www.uptodate.com/contents/acute-phase-reactants?source=search_result&search=Acute%20phase%20reactants&selectedTitle=1~150.”
- [53] “Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004;39:206-17.”
- [54] “C-reactive protein, serum. Immunology: C-reactive protein, serum. In: Jacobs DS, DeMott WR, Oxley DK (eds). *Laboratory test handbook*. 5th edition. LexiComp: Cleveland; 2001:523-4.”
- [55] “Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, et al. C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clinical Microbiology and Infection*. 2005;11(2):101-8.”
- [56] “Schmit X, Vincent JL. The time course of blood C-reactive protein concentrations in relation to the response to initial antimicrobial therapy in patients with sepsis. *Infection*. 2008;36(3):213-9.”

- [57] “Seymour GJ, Gemmell E. Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol Scand* 2001; 59(3):167-173.”
- [58] “Genco R.J. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *Journal of Periodontology* 1992;63:338-355.”
- [59] “Delaleu N, Bickel M. Interleukin-1 beta and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontol* 2000 2004; 35:42-52.”
- [60] “Offenbacher S. Periodontal diseases: Pathogenesis. *Annals of Periodontology* 1996;1: 879-925.”
- [61] “Havemose-Poulsen A, Holmstrup P. Factors affecting IL-1-mediated collagen metabolism by fibroblasts and the pathogenesis of periodontal disease: a review of the literature. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8(2): 217-236.”
- [62] “Dizen F. Osteointegre Dental İmplant Yapılmış Hastalarda IL-1 β Genotipi ve Düzeylerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.”
- [63] “Mathur A YC, Wolff L. Cytokines in gingival crevicular fluid of periodontally diseased and healthy sites. *J Periodontal Res* 1996;31:489-495.”
- [64] “Auron PE, Webb AC. Interleukin-1: a gene expression system regulated at multiple levels. *European Cytokine Network* 1994;5:573-592.”
- [65] “Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin Emmanuel Contassot 1, Hans-Dietmar Beer, Lars E French.”
- [66] “Buttenschoen K, Buttenschoen DC, Berger D, et al. Endotoxemia and acute-phase proteins in major abdominal surgery. *Am J Surg*, 2001; 181(1):36–43.”
- [67] “Gaini S, Koldkjar, Pedersen C, Pedersen SS. Procalcitonin, lipopolysaccharidebinding protein, interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired infections and sepsis: a prospective study. *Crit Care*, 2006; 10:R53.”
- [68] “R.T. Patel et al. Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intraabdominal sepsis. *Br. J. Surg*, 1994; 81(9):1306–1308.”
- [69] “Shin HS, Xu F, Bagchi A, Herrup E, et al. Bacterial lipoprotein TLR2 agonist broadly modulate endothelial function and coagulation pathways in vitro and in vivo. *J Immunol*, 2011; 186(2):1119-1130.”
- [70] “J. Van Snick. Interleukin-6: an overview. *Annu. Rev Immunol*, 1990; 8:253–278.”
- [71] “W.L. Biffl et al. Interleukin-6 in the injured patient. Marker of injury or mediator of inflammation? *Ann. Surg*, 1996; 224(5):647–664.”

- [72] “E. Presterl, A. Lassnigg, P. Mueller-Uri, I. El-Menyawi, W. Graninger. Cytokines in sepsis due to *Candida albicans* and in bacterial sepsis. *European Cytokine Network*, 1999; 10(3):423-30.”
- [73] “F.A. Bozza et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit. Care*, 2007; 11(2):R49.”
- [74] “Engler R. Acute-phase proteins in inflammation. *C R Seances Soc Biol Fil*, 1995; 189(4):563-578.”
- [75] “Grube BJ, Cochane CG, Ye RD, et al. Lipopolysaccharide binding protein expression in primary human hepatocytes and HepG2 hepatoma cells. *J Biol Chem*, 1994; 269(11):8477-848.”
- [76] “D. Andaluz-Ojeda et al. A combines score of pro- and anti-inflammatory improves mortality prediction in severe sepsis. *Cytokine*, 2012; 57(3):332–336.”
- [77] “Praveen Makhija, Sangita Yadav and Archana Thakur: Tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in infants with Sepsis. *Indian Pediatrics*, 2005; 42(10):1024- 8.”
- [78] “Dong Wook Jekarl, So-Young Lee, Jehoon Lee, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2013; 75:342–347.”
- [79] “Lori F. Gentile, Alex G. Cuenca, et al. Is there value in plasma cytokine measurements in patients with severe trauma and sepsis? *Elsevier Methods*, 2013; 61:3–9.”
- [80] “Müller B, Becker KL, Schächinger H, et al. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit Care Med*. 2000 Apr;28(4):977-83.”
- [81] “Güner İ, Özmen D, Bayındır O. Sitokinler. *T Klin J Med Sci* 1997; 17:65-74.”
- [82] “Demir Kuş A, Sepsisli hastalarda mortalite belirteçleri. Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Yoğun Bakım Ünitesi, İzmir, 2010.”
- [83] “Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. baskı. Konya: Mimoza yayınları, 1995.”
- [84] “Aslan R, DüNDAR Y (1999) Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cer. Tıp Bil. Der*, 2(2):134-42.”
- [85] “Halliwell B, Auroma OI (1991) DNA Damage Byoxigen-Derived Species Its Mechanism and Measurement in Mammalian Systems. *FEBS Letters*, 281:9-19.”
- [86] “Buhimschi IA, Buhimschi CS, Pupkin M, Weiner CP. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:181-8.”

- [87] “Madi BC, Sandal J, Bannett R (1999) Effects of Female Relative in Labor. Birth, 26:9-10.”
- [88] “Sen S, Chakraborty R. The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy. Chapter 1: 1-37. 2011.”
- [89] “Mruk DD, Silvestrini B, Meng-Yun MO, Cheng CY. Antioxidant Superoxide Dismutase - a Review: Its Function, Regulation in the Testis, and Role in Male Fertility. Contraception. 2002; 65(4): 305- 311.”
- [90] “Nordberg J, Arner SJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidant, And The Mammalian Thioredoxin System. Free Radic Biol Med. 2001; 31(11): 1287-1312.”
- [91] “Fridovich I. Superoxide Radical and Superoxide Dismutase. Annu Rev Biochem. 1995; 64: 97-112.”
- [92] “Orbea A, Fahimi HD, Cajaraville MP. Immunolocalization of Four Antioxidant Enzymes in Digestive Glands of Molluscs and Crustaceans and Fish Liver. Histochem Cell Biol. 2000; 114(5): 393-404.”
- [93] “Gao F, Kinnula VL, Myllärniemi M, Oury TD. Extracellular Superoxide Dismutase in Pulmonary Fibrosis. Antioxid Redox Signal. 2008; 10(2): 343-354.”
- [94] “Scandalios JG. The rise of ROS. TRENDS in Biochemical Sciences 2002;27:483-6.”
- [95] “Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. TIBS 2000;25:502- 7.”
- [96] “Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van-Zanden J, Van Bladeren PJ. The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense. Environ Toxicol Pharmacol. 2001; 10(4): 141- 152.”
- [97] “Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, Acuna-Castroviejo D. A review of the evidence supporting melatonin’s role as an antioxidant. J Pineal Res. 1995; 18(1): 1-11.”
- [98] “Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi. 2004; 14: 52-60.”
- [99] “Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev. 2002; 82(1): 47-95.”
- [100] “Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004; 44(4): 275-295.”
- [101] “Şener G, Yeğen Berrak Ç. İskemi Reperfüzyon Hasarı. Klinik Gelişim Dergisi. 2009; 22: 5-13.”

- [102] “Aydemir B, Karadağ Sarı E. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. Kocatepe Veterinary Journal. 2009; 2(2): 56-60.”
- [103] “Goode HF, Webster NR. Free radicals and antioxidants in sepsis. Crit Care Med. 1993;21(11):1770.”
- [104] “Wu F, Schuster DP, Tynl K, et al. Ascorbate inhibits NADPH oxidase subunit p47phox expression in microvascular endothelial cells. Free Radic Biol Med. 2007;42(1):124–31.”
- [105] “Borrelli E, Rouxlombard P, Grau GE, et al. Plasma concentrations of cytokines, their soluble receptors, and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk. Crit Care Med. 1996;24(3):392–7.”
- [106] “Ferrón-Celma I, Mansilla A, Hassan L, et al. Effect of vitamin C administration on neutrophil apoptosis in septic patients after abdominal surgery. J Surg Res. 2009;153(2):224–30.”
- [107] “Moskowitz A, Andersen LW, Huang DT, Berg KM, Grossestreuer AV, Marik PE, Sherwin RL, Hou PC, Becker LB, Cocchi MN, Doshi P, Gong J, Sen A, Donnino MW. Ascorbic acid, corticosteroids, and thiamine in sepsis: a review of the biologic rationale and the prese.”
- [108] “Wang Y, Lin H, Lin BW, Lin JD. Effects of different ascorbic acid doses on the mortality of critically ill patients: a meta-analysis. Ann Intensive Care 2019;9(1):58.”
- [109] 2007. P. J. S. Janos Zemleni, John W. Suttie, Jesse F. Gregory III, Handbook of Vitamins, Ed, 4th. Boca Raton, “No Title.”
- [110] doi: 10. 1016/j. mam. 2012. 12. 002. M. Bürzle et al., “The sodium-dependent ascorbic acid transporter family SLC23,” Mol. Aspects Med., vol. 34, no. 2–3, pp. 436–454, Apr. 2013, “No Title.”
- [111] doi: 10. 3390/nu609381. S. Hansen, P. Tveden-Nyborg, and J. Lykkesfeldt, “Does Vitamin C Deficiency Affect Cognitive Development and Function?,” Nutrients, vol. 6, no. 9, pp. 3818–3846, Sep. 2014, “No Title.”
- [112] doi: 10. 1080/10408398. 2013. 862611. G. C. Rampersaud and M. F. Valim, “100% citrus juice: Nutritional contribution, dietary benefits, and association with anthropometric measures,” Crit. Rev. Food Sci. Nutr., vol. 57, no. 1, pp. 129–140, Jan. 2017, “No Title.”
- [113] doi: 10. 1017/S0954422414000195. H. Finck, A. R. Hart, A. Jennings, and A. A. Welch, “Is there a role for vitamin C in preventing osteoporosis and fractures? A review of the potential underlying mechanisms and current epidemiological evidence,” Nutr. Res. Rev., vol. 27, no. 2, pp. 268–28, “No Title.”

- [114] “C. Jacobs, B. Hutton, T. Ng, R. Shorr, and M. Clemons, ‘Is There a Role for Oral or Intravenous Ascorbate (Vitamin C) in Treating Patients With Cancer? A Systematic Review,’ *Oncologist*, vol. 20, no. 2, pp. 210–223, Feb. 2015, doi: 10.1634/theoncologist.20.”
- [115] doi: 10.1016/j.nut.2010.05.016. M. Zhang, L. Robitaille, S. Eintracht, and L. J. Hoffer, “Vitamin C provision improves mood in acutely hospitalized patients,” *Nutrition*, vol. 27, no. 5, pp. 530–533, May 2011, “No Title.”
- [116] “Y. Wang, X. J. Liu, L. Robitaille, S. Eintracht, E. MacNamara, and L. J. Hoffer, ‘Effects of vitamin C and vitamin D administration on mood and distress in acutely hospitalized patients,’ *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 98, no. 3, pp. 705–711, Sep. 2013, doi: 10.”
- [117] “O. García et al., ‘Zinc, Iron and Vitamins A, C and E Are Associated with Obesity, Inflammation, Lipid Profile and Insulin Resistance in Mexican School-Aged Children,’ *Nutrients*, vol. 5, no. 12, pp. 5012–5030, Dec. 2013, doi: 10.3390/nu5125012.”
- [118] “O. Tabatabaei-Malazy, S. Nikfar, B. Larijani, and M. Abdollahi, ‘Influence of Ascorbic Acid Supplementation on Type 2 Diabetes Mellitus in Observational and Randomized Controlled Trials; A Systematic Review with Meta-Analysis,’ *J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol.”
- [119] “B. Zhao et al., ‘Beneficial aspects of high dose intravenous vitamin C on patients with COVID-19 pneumonia in severe condition: a retrospective case series study,’ *Ann. Palliat. Med.*, vol. 10, no. 2, pp. 1599–1609, Feb. 2021, doi: 10.21037/apm-20-1387.”
- [120] “M. Kletzel, K. Powers, and M. Hayes, ‘Scurvy: A new problem for patients with chronic GVHD involving mucous membranes; an easy problem to resolve,’ *Pediatr. Transplant.*, vol. 18, no. 5, pp. 524–526, Aug. 2014, doi: 10.1111/petr.12285.”
- [121] “M. Kitcharoensakkul et al., ‘Scurvy Revealed by Difficulty Walking,’ *JCR J. Clin. Rheumatol.*, vol. 20, no. 4, pp. 224–228, Jun. 2014, doi: 10.1097/RHU.000000000000101.”
- [122] “A. Agarwal, A. Shaharyar, A. Kumar, M. S. Bhat, and M. Mishra, ‘Scurvy in pediatric age group – A disease often forgotten?,’ *J. Clin. Orthop. Trauma*, vol. 6, no. 2, pp. 101–107, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.jcot.2014.12.003.”
- [123] “P. Saha, R. B. Pal, I. Das, and M. K. Sinha, ‘Bilateral proptosis in a child with vitamin C deficiency,’ *Int. Ophthalmol.*, vol. 32, no. 6, pp. 599–601, 2012, doi: 10.1007/s10792-012-9602-9.”
- [124] “M. Weinstein, P. Babyn, and S. Zlotkin, ‘An Orange a Day Keeps the Doctor Away: Scurvy in the Year 2000,’ *Pediatrics*, vol. 108, no. 3, pp. e55–e55, Sep. 2001, doi: 10.1542/peds.108.3.e55.”

- [125] “REVIEWpublished: 02 August 2019doi: 10.3389/fpls.2019.00943Frontiers in Plant Science | www.frontiersin.org1August 2019 | Volume 10 | Article 943Edited by:Kevin Davies,The New Zealand Institute for Plantand Food Research Ltd., New ZealandReviewed by:Stefa.”
- [126] “A Review of the Role of Flavonoids in Peptic Ulcer (2010-2020) Catarina Serafim 1, Maria Elaine Araruna 1, Edvaldo Alves Júnior 1, Margareth Diniz 2, Clélia Hiruma-Lima 3, Leônia Batista 2 Affiliations expand PMID: 33233494 PMCID: PMC7699562 DOI: 10.3390/.”
- [127] “Lamson DW, Brignall MS. Antioxidants and Cancer III: quercetin. Altern Med Rev. 2000; 5(3): 196-208.”
- [128] “Elliott M, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells. Implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacological Reviews. 2000; 52(4): 673-75.”
- [129] “Nijveldt RJ, Nood E, Hoorn DEC, Boelens PG, Noreen K, Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. Clin. Nutr. 2001; 74: 418-425.”
- [130] “Burak M, Çimen Y. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. T. Klin. Tıp Bilimleri Dergisi. 1999; 19: 296-304.”
- [131] “Tanakol R. Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. Klinik Gelisim Dergisi. 1998; 11: 347-357.”
- [132] “Eren SH. Sıçanlarda Melatonin Desteğinin Akut (Hafif ve Ağır) Egzersizle Çeşitli Dokularda Oluşan Lipid Peroksidasyonu Ve Antioksidan Durum Üzerine Etkileri. Yüksek lisans. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2008.”
- [133] “Pietta PG. Flavonoids as Antioxidants. J. Nat. Prod. 2000; 63: 1035- 1042.”
- [134] “Chen JC, Ho FM, Pei-Dawn Lee Chao, et al. Inhibition of iNOS gene expression by quercetin is mediated by the inhibition of IkappaB kinase, nuclear factor-kappa B and STAT1, and depends on heme oxygenase-1 induction in mouse BV-2 microglia. Eur J Pharmacol.”
- [135] “Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras Tuñón MJJM, Tuñón MJ. Flavonoids: properties and anti-oxidizing action. Nutrición Hospitalaria. 2002; 17(6): 271-278.”
- [136] “Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. Pharmacol Rep 2009; 61: 67-75.”
- [137] “Bakheet SA. Assessment of Anti-Cytogenotoxic Effects of quercetin in Animals Treated with Topotecan. Oxid Med Cell Longev. 2011; 824597.”
- [138] “Elia G, Santoro MG. Regulation of heat shock protein synthesis by quercetin in human erythroleukaemia cells, Biochem J. 1994; 300: 201-9.”

- [139] “Liu, F.T., Agrawal, S.G., Movasaghi, Z., Wyatt, P.B., Rehman, I.U., Gribben, J.G., Newland, A.C. and Jia, L., 2008, Dietary flavonoids inhibit the anticancer effects of the proteasome inhibitor bortezomib, *Blood*, 112, 3835-46.”
- [140] “Abdel-Raheem IT, Abdel-Ghany AA, Mohamed A. Protective Effect of quercetin against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity. *Biol. Pharm. Bull.* 2009; 32(1): 61-67.”
- [141] “Coşkun T. Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2005; 48: 69-84.”
- [142] “Lipski E. quercetin. Erişim Tar: [24 Kasım 2011]. Elektronik Adresi: url: <http://www.innovativehealing.com./health-library/articles-by-liz/nutrition-health-and-wellbeing/quercetin>.”
- [143] “Yao F, Zhang R, Fu R, He W. Preventive and therapeutic effects of quercetin on hyperuricemia and renal injury in rats. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2011; 40(2): 175-7.”
- [144] “Adewole SO, Caxton-Martins EA, Ojewole JAO. Protective Effect of quercetin on the Morphology of Pancreatic β -Cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2007; 4(1): 64–74.”
- [145] “Singh S, Singh SK, Kumar M, Chandra K, Singh R. Ameliorative Potential of quercetin Against Paracetamol-induced Oxidative Stress in Mice Blood. *Toxicol Int.* 2011; 18(2): 140-5.”
- [146] “Coşkun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res.* 2005; 51(2): 117-23.”
- [147] “Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry.* 1974; 47: 469-474.”
- [148] “Kuntal M, Kakalı M, Arunava G, Haja NA, Bishnu PS, Pulok KM. Enhanced therapeutic benefit of quercetin–phospholipid complex in carbon tetrachloride–induced acute liver injury in rats: a comparative study. *Iranian Journal of Pharmacology Therapeutics.* 2005.”
- [149] “Casagrande R, Georgetti SR, Jabar JR, Santos AC, Fonseca MJV. Evaluation of functional stability of quercetin as a raw material and in different topical formulations by its antilipoperoxidative activity. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2006; 7(1): 10.”
- [150] “Mccutcheon LJ, Byrd SK, Hodgson DR. Ultrastructural changes in skeletal muscle after fatiguing exercise. *J Appl Physiol.* 1992; 72: 1111-7.”
- [151] “Effects of the dietary flavonoid quercetin upon performance and health J Mark Davis 1, E Angela Murphy, Martin D Carmichael Affiliations expand PMID: 19584608 DOI: 10.1249/JSR.0b013e3181ae8959.”

- [152] “A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties M Harwood 1, B Danielewska-Nikiel, J F Borzelleca, G W Flamm, G M Williams, T C Lines Affiliatio.”
- [153] “Rat TNF- α , Rat IL-1 β , Rat IL-6 and Rat IL-17 ELISA Test Principles Manual, 01/03/2018, <https://www.elabscience.com/>.”
- [154] “Bilgin, Ö., 2007, Lipopolisakkarit ile uyarılmış hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan deneklerde, melatonin uygulanmasının doku (karaciğer ve böbrek) Nf-Kb ekspresyonu ile kan ve doku lipid peroksidasyonu üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, Mersin Üni.”
- [155] “Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH, et al. Sepsis and Septic Shock – A Review of Laboratory Models and Proposal. J Surg Res 1980; 29: 189.”
- [156] “Kansu E. Sepsis Fizyopatolojisinde Güncel Kavramlar. Yoğun Bakım Enfeksiyonları (Eds. Köksal İ, Çakar N, Arman D). Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara. 2005; 381-393.”
- [157] “Powell RJ, Machiedo GW, Rush BF Jr. Dikdan DS. Effect of Oxygen-free Radical Scavengers on Survival in Sepsis. AM Surg 1991; 57(2): 86-8.”
- [158] “Yaprak M.(1998) Akut Miyokart Enfarktüsünde Biyokimyasal Parametreler ve Antioksidan Sistemik İlişkisi (Doktora Tezi). Çukurova Ün. Tıp Fak. Biyokimya ABD. Adana.”
- [159] “Cowley HC, Bacon PJ, Goode HF, et al. Plasma Antioxidant Potential in Severe Sepsis; A Comparison of Survivors and Nonsurvivors. Crit Care Med 1996; 24: 1179-83.”
- [160] “Stoll BJ. Infections of Neonatal Infant. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. Nelson Textbook of Pediatrics (17th ed). Philadelphia: WB Saunders Company. 2005; 623- 640.”
- [161] “Phase I safety trial of intravenous ascorbic acid in patients with severe sepsis Alpha A Fowler III, Aamer A Syed, Shelley Knowlson, Robin Sculthorpe, Don Farthing, Christine DeWilde, Christine A Farthing, Terri L Larus, Erika Martin, Donald F Brophy, See.”
- [162] “Serum Ascorbic Acid and Thiamine Concentrations in Sepsis: Secondary Analysis of the Swiss Pediatric Sepsis Study Equey, Lucile MD1; Agyeman, Philipp K. A. MD2; Veraguth, Rosemarie3; Rezzi, Serge PhD3; Schlapbach, Luregn J. MD, PhD4,5; Giannoni, Eric MD1;”
- [163] “Kübra DİNÇER BİLİNMEZİ* İD , Zeynep ÖZERSON KOÇ2 İD ,*Sorumlu Yazar e mail: kkubradincer@gmail.com 1İstanbul Büyük Şehir Belediyesi Darülaceze Müdürlüğü, İstanbul,Türkiye 2Haliç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanb.”

- [164] “García-Mediavilla V, Crespo I, Collado PS, Esteller A, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ, et al. Anti-inflammatuar flavonlar quercetin ve kaempferol, indüklenabilir nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz-2 ve reaktif C-proteinin inhibisyonuna ve Chang Karaciğer hücr.”
- [165] “Guardia T, Rotelli AE, Juarez AO, Pelzer LE. Bitki flavonoidlerinin anti-inflammatuar özellikleri. Rutin, kersetin ve hesperidin’in sıçanlarda adjuvan artrit üzerine etkileri. *Farmaco*. 2001; 56 :683–7.”
- [166] “Chong DL, Sriskandan S (2011) Pro-inflammatory mechanisms in sepsis. *Contrib Microbiol* 17: 86-107. doi:10.1159/000324022. PubMed: 21659748.”
- [167] “The Therapeutic Potential and Mechanisms of Action of Quercetin in Relation to Lipopolysaccharide-Induced Sepsis In Vitro and In Vivo Yu-Cheng Chang¹ , Ming-Han Tsai¹ , Wayne Huey-Herng Sheu² , Shu-Chen Hsieh³ , An-Na Chiang^{1*}.”
- [168] “Tang D, Kang R, Xiao W, Zhang H, Lotze MT et al. (2009) Quercetin prevents LPS-induced high-mobility group box 1 release and proinflammatory function. *Am J Respir Cell Mol Biol* 41: 651-660. doi: 10.1165/rcmb.2008-0119OC. PubMed: 19265175.”
- [169] “The Inhibitory Effect of Quercetin on IL-6 Production by LPS_Stimulated Neutrophils Jiajia Liu^{1, 2}, Xin Li¹ , Yang Yue¹ , Juan Li¹ , Tao He¹ and Yanzheng He.”
- [170] “Sawyer, MAJ; Mike, JJ; Chavin, K.; Marino, PL ARDS’de antioksidan tedavi ve sağkalım. *Krit. Bakım Med*. 1989 , 17 , S153.”
- [171] “Fowler, AA; Seyit, AA; Knowlson, S.; Sculthorpe, R.; Farting, D.; De Wilde, C.; Farthing, CA; Larus, TL; Martin, E.; Brophy, DF; et al. Tıbbi Solunum Yoğun Bakım Ünitesi Hemşireliği, Fisher BJ, Natarajan R. Şiddetli sepsisli hastalarda intravenöz askorbik.”
- [172] “Şen, T.; Inoue, N.; Matsui, K.; Ejiri, J.; Hirata, K.-I.; Kawashima, S.; Yokoyama, M. İnsan endotel hücrelerinde sodyuma bağlı C vitamini taşıyıcı 2’nin fonksiyonel ifadesi. *J. Vasc. Araş.* 2004 , 41 , 345–351.”
- [173] “Çolak, E., 2011, Yüksek Lisans Tezi, Karbon tetrakloridin (ccl4) indüklediği karaciğer hasarı ve oksidatif stres üzerine *Cynara scolymus* L. yaprağı ekstraktının etkileri, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 127 s. (yayımlanmamış).”
- [174] “Gutteridge, J.M.C., 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinical Chemistry*, 41,12, 1819-1828 p.”
- [175] “Mehmetçik, G., Özdemirler, G., Koçak-Toker N., Çevikbaş, U., Uysal M., 2008, Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stres, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60, 475-480 p.”

- [176] “Hsiao, G., Lin, Y.H., Lin C.H., Chou D.S., Lin W.C., Sheu J.R., 2001, The Protective Effects of PMC against Chronic Carbon Tetrachloride- Induced Hepatotoxicity in Vivo, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24,11, 1271-1276 p.”
- [177] “Sebai, H., Sani, M., Yacoubi, M.T., Aouani, E., Boughanmi., N., Ben-Attia, M., 2010, Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat liver, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 1078–1083 p.”
- [178] “Mohamadin, A.M., Elberry, A.A., Elkablawy, M.A., Gawad, A., Al-Abbasi, F., 2011, Montelukast, a leukotriene receptor antagonist abrogates lipopolysaccharide-induced toxicity and oxidative stress in rat liver, *Pathophysiology* 18: 235–242 p.”
- [179] “Gerin, F., Sener, U., Erman, H. et al. The Effects of Quercetin on Acute Lung Injury and Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress in the Rat Model of Sepsis. *Inflammation* 39, 700–705 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10753-015-0296-9>.”
- [180] “Experimental research Quercetin protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats through suppression of inflammation and oxidative stress Risheng Huang, Tian Zhong, Hao Wu More details *Arch Med Sci* 2015;11(2):427–432 DOI: <https://doi.org/>”
- [181] “Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, Blanco I, Millan I, Rojas-Hidalgo E. (1998) Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and their immediate relatives. *Clin Sci (Colch)*94 (2): 189-195.”
- [182] “Diyabetik Sıçanlarda İnsülinle Kombine Edilmiş A, E, ve C Vitamini Tedavisinin Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri Tevfik Noyan, Ragıp Balahoroğlu, Ufuk Kömüroğlu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van,2004, Cilt 2, Sayı 3.”