



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**DENEYSEL SEPSİS OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA L-THEANİNİN KARACİĞER
DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Huriye PATAN

YÜKEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Birgül KURAL

Dr. Öğr. Üyesi Meltem MALKOÇ (İkinci Danışman)

TRABZON-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**DENEYSEL SEPSİS OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA L-THEANİNİN KARACİĞER
DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Huriye PATAN

YÜKEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Birgül KURAL

Dr. Öğr. Üyesi Meltem MALKOÇ (İkinci Danışman)

TRABZON-2019

ONAY

Bu Tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur

Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Huriye PATAN'ın hazırladığı “Deneysel Sepsis Oluşturulan Sıçanlarda L-Theanin’in Karaciğer Dokusu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Birgül KURAL

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Birgül KURAL

Prof. Dr. Ahmet ALVER

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU



Tarih: 24 /05/2019

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../.... tarih ve ...sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü V.

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 26/06/2019

Huriye PATAN

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez çalışmam süresince her aşamada göstermiş olduğu hoşgörü, sabır ve desteğinden dolayı değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Birgül KURAL'a, tezimin çalışmalarında katkıları büyük olan ikinci danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Meltem MALKOÇ'a,

Yüksek Lisans eğitimimde emekleri geçen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. E. Edip KEHA, Prof. Dr. Orhan DEĞER, Prof. Dr. Asım ÖREM, Prof. Dr. S. Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Ahmet ALVER, Doç. Dr. Ahmet MENTEŞE ve Dr. Öğretim Üyesi Fulya BALABAN YÜCESAN'a,

Sıçanlarda deneysel modelin oluşturulması ve operasyonun gerçekleştirilmesinde katkı sağlayan Prof. Dr. Süleyman TÜREDİ'ye, doku histopatolojik incelemelerini gerçekleştiren Doç. Dr. Gökçen KERİMOĞLU'na,

Başta Arş. Gör. Serap ÖZER YAMAN olmak üzere Anabilim Dalımızdaki tüm araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü ailesine,

Son olarak da beni bugünlere getiren, hayatım boyunca destekleri ve sevgileri ile hep yanımda olduklarını hissettiğim aileme ve yakınlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Huriye PATAN

Bu tez çalışması Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenmiştir. Proje numarası: TYL-2017-7013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Sepsis	2
2.1.1. Sepsis İle İlgili Tanımlamalar	3
2.1.2. Sepsis Epidemiyolojisi ve Etyolojisi	4
2.1.3. Sepsis Patofizyolojisi	5
2.1.4. Sepsisin Organlar Üzerine Etkisi	7
2.2. Oksidan-Antioksidan Denge	8
2.2.1. Oksidatif Stres	8
2.2.1.1. Lipid Peroksidasyonu	9
2.2.1.2. Protein Oksidasyonu	10
2.2.1.3. Miyeloperoksidaz	10
2.2.2. Antioksidan Sistemler	11
2.3. Sepsis ve Oksidan-Antioksidan Denge	13
2.4. L-Theanin	14
2.4.1. L-Theaninin Özellikleri	14
2.4.2. L-Theaninin Sentezi	15
2.4.2.1. Camellia Bitki Türlerinde Sentezi	15
2.4.2.2. Endüstriyel Sentezi	16

2.4.3. L-Theaninin Absorbsiyonu ve Metabolizması	17
2.4.4. L-Theaninin Biyolojik Etkileri	17
2.4.5. L-Theaninin Toksisitesi	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler	21
3.2. Deneyin Planlanması ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması	22
3.3. Sıçanlarda Sepsis Modelinin Oluşturulması	23
3.4. Doku ve Kan Numunelerinin Toplanması	25
3.5. Histopatolojik İncelemeler	25
3.6. Rutin Parametrelerin Tayini	25
3.7. Oksidatif Stres Parametrelerinin Tayini	25
3.7.1. TBARS Seviyeleri Tayini	25
3.7.1.1. Plazma TBARS Seviyesi Tayini	26
3.7.1.2. Doku TBARS Seviyesi Tayini	28
3.7.2. İleri Oksidasyon Protein Ürünleri Seviyelerinin Tayini	29
3.7.2.1. Plazma AOPP Seviyesinin Tayini	30
3.7.2.2. Doku AOPP Seviyesinin Tayini	31
3.8. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini	33
3.8.1. Plazma MPO Aktivitesi Tayini	33
3.8.2. Doku MPO Aktivitesi Tayini	34
3.9. Karaciğer Dokusunda Protein Tayini	35
3.10. İstatistiksel Yöntemler	37
4. BULGULAR	38
4.1. Histopatolojik Bulgular	38
4.2. Biyokimyasal Bulgular	42
4.2.1. Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri	42
4.2.2. Oksidatif Stres ve İnflamatuvar Parametrelerin Düzeyleri	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	46
6. KAYNAKLAR	58
EKLER	78
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	79
ÖZGEÇMİŞ	80

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Sepsis ile ilgili tanımlayıcı kriterler	2
Tablo 2. Kullanılan cihazlar ve üretici firmalar	21
Tablo 3. Kullanılan kimyasal malzemeler, üretici firma ve kodları	22
Tablo 4. Deney grupları	23
Tablo 5. Sepsis modelinin oluşturulma aşamaları	24
Tablo 6. Plazma TBARS seviyesi ölçümü yapılan işlemler	27
Tablo 7. Doku TBARS seviyesi ölçümü için yapılan işlemler	29
Tablo 8. Plazma AOPP ölçümü için yapılan işlemler	30
Tablo 9. Doku AOPP ölçümü için yapılan işlemler	32
Tablo 10. Plazma MPO ölçümü için yapılan işlemler	33
Tablo 11. Doku MPO ölçümü için yapılan işlemler	35
Tablo 12. Gruplarda karaciğer dokusunda sepsis bulgularının skorlanması	38
Tablo 13. Gruplarda biyokimyasal parametrelerin düzeyleri	43
Tablo 14. Gruplarda doku ve plazmada oksidatif stres ve inflamatuvar parametrelerin düzeyleri	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Sepsis ve SİYS arasındaki ilişki	3
Şekil 2.	Sepsis patofizyolojisi	5
Şekil 3.	Sepsiste sitokinlerin etkisi	6
Şekil 4.	Serbest radikallerin oluşumu ve etkileri	8
Şekil 5.	Oksidatif stres ve etkileri	9
Şekil 6.	Antioksidanların sınıflandırılması	12
Şekil 7.	L-theanin, glutamik asit ve GABA'nın yapısı	14
Şekil 8.	L-theaninin çaydan izole edilmesi	16
Şekil 9.	L-theaninin endüstriyel kimyasal sentezi	16
Şekil 10.	L-theaninin biyolojik etkileri	18
Şekil 11.	Plazma TBARS standart grafiği	27
Şekil 12.	Doku TBARS standart grafiği	29
Şekil 13.	Plazma AOPP standart grafiği	31
Şekil 14.	Doku AOPP standart grafiği	32
Şekil 15.	Doku TBARS ölçümünde kullanılan protein standart grafiği	36
Şekil 16.	Doku AOPP ölçümünde kullanılan protein standart grafiği	37
Şekil 17.	Doku MPO ölçümünde kullanılan protein standart grafiği	37

RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	Kontrol grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf	39
Resim 2.	ÇLP grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf	39
Resim 3.	ÇLP+LT1 grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf	40
Resim 4.	ÇLP+LT1 grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf	40
Resim 5.	ÇLP+LT2 grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf	41
Resim 6.	ÇLP+LT3 grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf	41



KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABY	Akut böbrek yetmezliği
ALT	Alanin aminotransferaz
AOPP	İleri protein oksidasyon ürünleri
AST	Aspartat aminotransferaz
BUN	Kan üre nitrojen
ÇLP	Çekal ligasyon ve perforasyon
ÇODS	Çoklu organ yetmezliği sendromu
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	İndirgenmiş glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş glutasyon
IL	İnterlökin
LPS	Lipopolisakkarit
LT	L-theanin
MDA	Malondialdehit
MPO	Miyeloperoksidaz
NFkB	Nükleer faktör kappa beta
SİYS	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
TLR	Toll-like reseptör
TNF	Tümör nekroz faktör

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
κ	Kappa
μ	Mikro
n	Nano
U	Ünite

ÖZET

Deneyisel Sepsis Oluşturulan Sıçanlarda L-Theaninin Karaciğer Dokusu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Sepsis, bakteriyel enfeksiyon sonrası birçok sistemi tutan, hemodinamik değişikliklere, şok gelişimine, organ fonksiyon bozukluğu veya yetmezliğine yol açan ciddi bir enfeksiyon hastalığıdır. Sepsis patofizyolojisinde, inflamatuvar yanıtın sitokinler ile aşırı indüklenmesi ve serbest oksijen radikallerinin üretimi önemli rol oynar. L-theanin (LT), yeşil ve siyah çaylarda bol miktarda bulunan özel bir amino asittir ve antikanser, antitrombotik, kolesterol düşürücü, antitrombotik, nöroprotektif, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahiptir. Bu çalışmada LT'nin Çekal Ligasyon ve Perforasyon (ÇLP) ile sepsis oluşturulan sıçanların karaciğer dokuları üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla 35 adet erkek Sprague Dawley (200-300g) türü sıçan kullanıldı ve her birinde 7 sıçan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna laparatomiden hemen sonra ve 12. saatte serum fizyolojik (SF) intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. ÇLP grubuna SF, ÇLP+LT1 grubuna 0.25 g/kg LT, ÇLP+LT2 grubuna 0.50 g/kg LT ve ÇLP+LT3 grubuna 0.75 g/kg LT i.p. olarak ÇLP işleminden hemen sonra ve 12. saatte uygulandı. Doku ve plazmada oksidatif stres ve inflamasyon parametreleri olarak TBARS ve ileri protein oksidasyon ürünü (AOPP) seviyeleri ile miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi. Ayrıca, karaciğer dokuları histopatolojik olarak değerlendirildi. LT grupları tedavi edilmemiş ÇLP grubuyla karşılaştırıldığında, plazma TBARS seviyeleri ve MPO aktivitelerinde anlamlı farklılık bulunamazken ($p>0.05$), AOPP seviyelerinde anlamlı düşüklük tespit edildi ($p<0.05$). Diğer taraftan, doku AOPP seviyeleri ve MPO aktivitelerinde anlamlı bir farklılık yokken ($p>0.05$), TBARS seviyeleri LT gruplarında ÇLP grubuna göre daha düşüktü ($p<0.05$). LT grupları kendi içerisinde anlamlı farklılık göstermedi ($p>0.05$). LT'nin koruyucu etkisi histopatolojik bulgularla desteklendi. Sonuç olarak, LT, ÇLP ile sepsis oluşturulan sıçanlarda doza bağımlı olmaksızın, oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltarak karaciğer dokularında koruyucu etki gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: İnflamasyon, L-theanin, Oksidatif stres, Sepsis

ABSTRACT

Investigation of The Effects of L-Theanine on Liver Tissue in Rats with Experimental Sepsis

Sepsis is a serious inflammatory disease which holds many systems after bacterial infection, leads to hemodynamic changes, shock development, organ dysfunction or failure. The over-induction of the inflammatory response with cytokines and the production of free oxygen radicals play important roles in sepsis pathophysiology. L-theanine (LT) is a special amino acid found abundantly in green and black teas and has anticancer, antimutagenic, cholesterol lowering, antithrombotic, neuroprotective, antibacterial, antiinflammatory and antioxidant properties. In this study, it was aimed to investigate the effects of LT on the liver tissues in rats with sepsis induced by Cecal Ligation and Perforation (CLP). For this purpose, 35 Sprague Dawley (200-300 g) male rats were used and divided into 5 groups each contain 7 rats. Saline was given intraperitoneally (i.p.) to control group immediately and at 12th hour after the laparotomy. Saline was applied to CLP group, 0.25 g/kg to the CLP+LT1 group, 0.50 g/kg to the CLP+LT2 group and 0.75 g/kg LT to CLP+LT3 group immediately and at 12th hour after the CLP method. The levels of TBARS and advanced protein oxidation product (AOPP) and myeloperoxidase (MPO) activities as oxidative stress and inflammatory parameters in tissues and plasmas were detected by spectrophotometric methods. In addition liver tissues were evaluated as histopathologically. While no significant differences plasma TBARS levels and MPO activities was found in LT groups when compared to untreated CLP group ($p>0.05$), a significant decrease in AOPP levels was determined ($p<0.05$). On the other hand, while tissue AOPP levels and MPO activities were not significantly different ($p>0.05$), TBARS levels were lower in LT groups than CLP group ($p<0.05$). LT groups did not show any significant difference within themselves. ($p>0.05$). Protective effects of LT was supported by histopathologic findings. In conclusion, LT may show protective effects on liver tissues by decreasing oxidative stress and inflammation in rats with sepsis induced by CLP but not dose-dependent of LT.

Keywords: Inflammation, L-theanine, Oxidative stress, Sepsis

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sepsis, bakteriyel enfeksiyon sonucu gelişen, organizmanın düzensiz inflamatuvar yanıtı ile etkisi artan ve çoklu organ yetmezliği ile sonuçlanan ağır bir tablodur. Sepsis kardiyovasküler, nöronal, hormonal, biyoenerjetik, metabolik ve pıhtılaşma gibi immünolojik olmayan yollarda büyük değişikliklere neden olur (1). Proinflamatuvar cevap ile antiinflamatuvar cevap arasındaki dengesizlik sepsiste kötü prognoza neden olabilir (2). Proinflamatuvar sitokinler inflamasyon başlangıcında salınır; immün cevabın başlaması ve devam edilmesinde önemli rol oynarlar. Antiinflamatuvar sitokinler inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınır; sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, septik şok, çoklu organ yetmezlik sendromu ve ölüme kadar giden aşırı sistemik inflamasyonun doğuracağı kötü sonuçları önlemek için fonksiyon görürler (3). Sepsis ve septik şokta aşırı inflamatuvar yanıtla ilgili olarak reaktif oksijen türleri (ROT) de artmaktadır (4). Sepsiste nötrofillerin aktive olması ile salınan MPO enziminin etkisiyle serbest radikaller oluşur (5) ve bu radikaller DNA'da hücrel proteinlerde ve membran lipidlerinde hasara yol açarak doku harabiyetine neden olurlar (6).

LT (diğer adları: L- γ -glutamiletamid, 5-N-etilamin, γ -glutamil L-etilamid, γ -etilamino-L-glutamik asit ve γ -L-glutamiletamid) protein yapısına katılmayan bir amino asit olup yeşil ve siyah çayın üretildiği *Camellia sinensis* bitkisi yapraklarının kuru ağırlığının %1-2'sini, toplam serbest amino asitlerin %50'sini oluşturmaktadır. LT'in rahatlama, öğrenme kabiliyetini geliştirme, nöroprotektif etki, kan basıncının düşürülmesi, vasküler hastalıkları önleme, antiobezite, antioksidan, antiinflamatuvar, antitümör, hepatoprotektif etkileri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (7-11). Ancak sepsis üzerine etkilerine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Bu çalışmada ülkemizde yaygın olarak tüketilen yeşil ve siyah çayda bol bulunan LT'in, yaygın kullanılan sepsis oluşturma modeli olan, ÇLP ile sepsis oluşturulmuş sıçanlarda inflamasyon ve oksidatif strese karşı etkisi incelendi. Sıçanların karaciğer dokularında ve plazmalarında oksidatif stres belirteçleri olarak lipid peroksidasyon göstergesi MDA ve protein oksidasyonu göstergesi AOPP ve inflamasyon belirteci olarak MPO seviyeleri belirlendi. Biyokimyasal veriler histopatolojik verilerle karşılaştırılarak değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

Hipokrat tarafından ilk olarak belirtilen sepsis ifadesi Yunanca sipsis yani çürüme anlamından gelmektedir (12). Sepsis inflamasyon ve enfeksiyona karşı verilen bir yanıttır. Her yıl kalp krizi veya akciğer, meme ve prostat kanserlerinin toplamından daha fazla ölümün gerçekleştiği sepsis tablosu, mekanizmaları tam olarak bilinmeyen, şok ve organ yetmezliği nedeniyle acil tedavi edilmesi gereken sistemik bir hastalıktır (13). Sepsis ile ilgili 2001 yılında yapılan uluslararası toplantıda sepsis, bir mikroorganizmanın sebep olduğu patolojik süreç ile beraber birçok değişkenin bir arada bulunması durumu olarak tanımlanmıştır (14). Sepsis için tanı kriterleri Tablo 1’de özetlenmiştir.

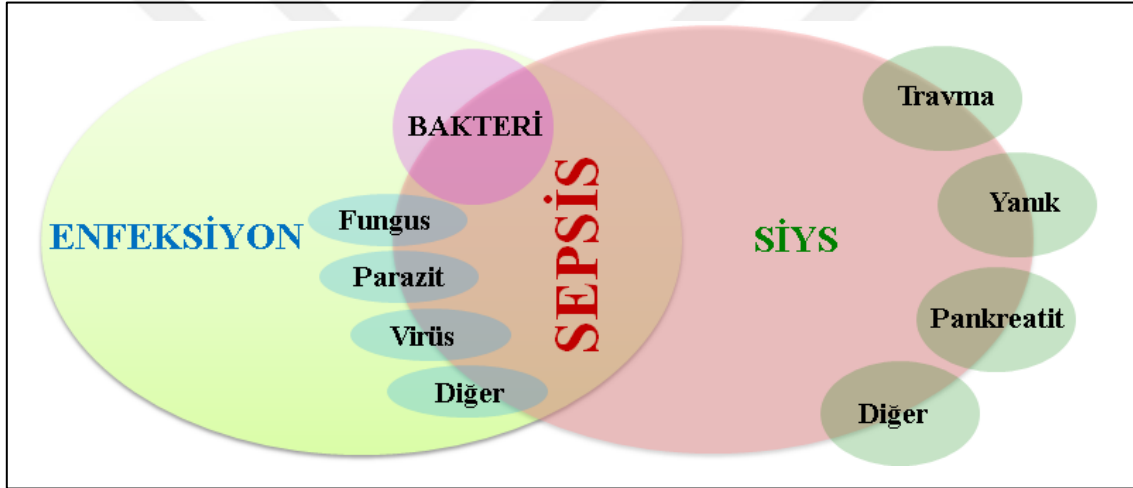
Tablo 1. Sepsis için tanımlayıcı kriterler (Schorr’dan, 15)

Genel Değişkenler
Ateş (Sıcaklık > 38.3 °C) Hipotermi (Sıcaklık < 36°C) Kalp atış hızında artış (> 90 atış/ dk) Takipne
Mental Durum Değişkenleri
Hiperglisemi (plazma glukoz seviyesi >120 mg/dL [6.7mmol/L] diyabet yokluğunda)
İnflamatuvar Değişkenler
Lökopeni (beyaz kan hücrelerin sayısı < 4000/mm ³) Normal beyaz kan hücre sayısı (> %10 olgunlaşmamış) Artmış plazma CRP konsantrasyonu (yaş için uygun üst sınırın üzerinde)
Hemodinamik Değişkenler
Arteriyal hipotansiyon (sistolik basınç < 90 mmHg; arteriyal basınç < 70 mmHg) Artmış karışık venöz oksijen satürasyonu (> %70) Artmış kardiyak indeks (> 3.5 L/dakika/m ² vücut yüzey alanı)
Doku Perfüzyon Değişkenleri
Hiperlaktatemi (laktat >1 mmol/L) Azalmış kapiller doluluk
Organ Fonksiyon Bozukluğu Değişkenleri
Arteriyal hipoksemi Akut oligoüri (üre çıkışı, < 0.5 mL/kg/saat ya da 45 mL/saat) Kreatinin değerinde artış (> 0.5 mg/dL (>44 µmol/L) Trombositopeni Hiperbilirubinemi (plazma total bilirubin > 4 mg/dL [68 µmol/L])

2.1.1. Sepsis İle İlgili Tanımlamalar

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SİYS): Organizmanın farklı klinik etkilere bağlı uyarıldığı genel inflamatuvar yanıtı tanımlar. SİYS'i tanımlarken aşağıdaki durumlardan iki ya da daha fazlasının gerçekleşmesi beklenir (16).

1. Vücut ısısı $> 38^{\circ}\text{C}$,
2. Kalp hızı > 90 atım/dakika,
3. Dakikada 20'den fazla solunum hızı veya 32 mmHg'den düşük PaCO_2 ,
4. Anormal ya da olgunlaşmamış lökosit miktarı (lökopeni, lökositoz),
5. Periferik yaymada: $> \%10$ bant nötrofil oluşumu.



Şekil 1. Sepsis ve SİYS arasındaki ilişki (Bone'dan, 17)

SİYS'da tanımlanan durumlar dışında travma, yanık ve pankreatit durumlarında da SİYS gelişebilir (Şekil 1).

Şiddetli Sepsis: Sepsis ile birlikte bir veya daha fazla organ veya sistemde fonksiyon bozukluğu, hipoperfüzyon ve hipotansiyonun eşlik ettiği durumdur (18).

Septik Şok: Yeterli sıvı verilmesine rağmen sepsis sonucu arteriyal hipotansiyona eşlik eden hipoperfüzyon durumudur (18).

Refrakter Septik Şok: Bir saatten fazla devam eden ve intravenöz sıvı uygulamasına rağmen vazopressör gibi tedavilere cevap verilmediği septik şok durumudur (19).

Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu (ÇOYS): Sepsisin ilerleyen evrelerinde karşımıza çıkan ve mortalitesi çok yüksek olan ÇOYS, normal organların işlevlerini sürdüremeyecek duruma gelmesi ve hemodinamik bozuklukların ortaya çıkması durumudur (18).

2.1.2. Sepsis Epidemiyolojisi ve Etyolojisi

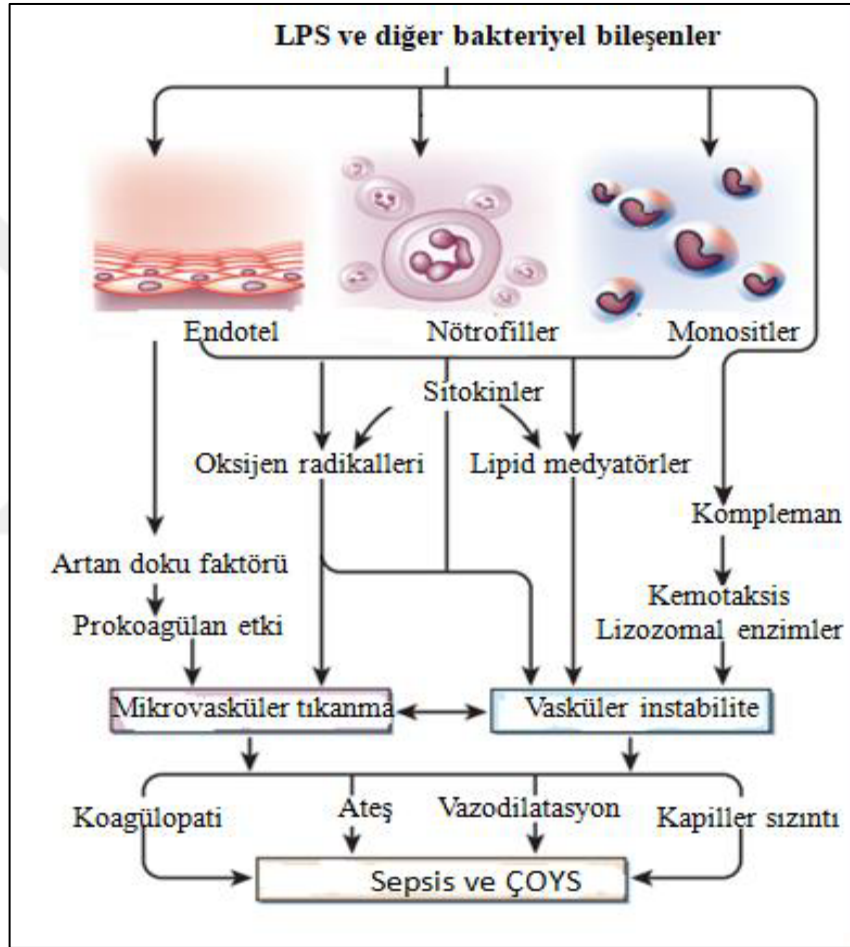
Sepsis, ciddi bir sağlık sorunu oluşturan yaygın ve yıkıcı bir durumdur. Tanımlayıcı kriterlerin tutarsız olarak uygulanması ve altta yatan başka hastalık nedenleri yüzünden sepsis sıklığı hakkında fikir öne sürmek oldukça zordur (20). Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi 1979'dan 1987'ye bakteremi ve sepsisemi durumunda %139'luk artış olduğunu ve mortalite oranının %35 olduğunu raporlamışlardır (21).

2002 yılında 24 Avrupa ülkesinde, 198 yoğun bakım ünitesini içine alan bir çalışmada, 2001 yılında yapılan konferans kriterleri kullanılarak sepsis sıklığı %37.4 olarak bulunmuştur. En çok hasar alan organlar % 68 oran ile akciğerler, % 22 abdomen, %20 kan ve %14 üriner sistem olarak belirlenmiştir. Şiddetli sepsiste mortalite %32.2, septik şokta ise %54.1 olarak saptanmıştır (22).

Bakteriler, virüsler ve mantar gibi infeksiyöz ajanlar sepsise neden olabildiği gibi ağır travma veya pankreatit, yanık gibi noninfeksiyöz olaylarla da sepsis gelişimine neden olmaktadır. Sepsis olgularının çoğunda antibiyotik tedavisine yanıt verilmesi durumunda etkenin bakteri olduğu düşünülmektedir. Sepsis durumunda en çok karşılaşılan mikroorganizmalar *Escherichia coli* (%22), *Streptococcus pneumoniae* (%16) ve *Staphylococcus aureus* (%12) olarak ifade edilmektedir (23). Bu bakterilerin görülme oranı sepsis evresiyle değişmekte olup sepsiste %17, şiddetli sepsiste %25 ve septik şokta ise %69 olarak bulunmuştur (24).

2.1.3. Sepsis Patofizyolojisi

Vücudumuz mikroorganizma istilasına yanıt olarak hipotermi, taşikardi, periferik lökosit sayımında bir artış veya azalma gibi inflamatuvar medyatörlerin ve semptomların üretilmesi gibi reaksiyonlar gösterirler ve sonuç olarak sepsis ve ÇOYS tablosu gelişir (25). Şekil 2’de bu olaylar şematize edilmiştir.

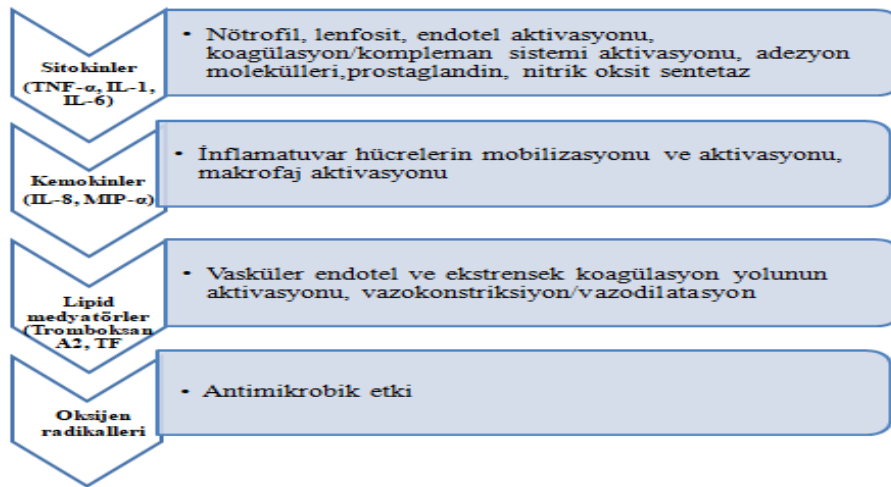


Şekil 2. Sepsis Patofizyolojisi (Cohen'den, 26)

Gram (-) bakteri hücre duvarındaki lipopolisakkarid (LPS) sepsis patogenezinde önemli olup, LPS'in toksik kısmı olan lipid A, septik sürecin başlamasında ve ilerlemesinde merkezi bir rol oynar (26). LPS yapısındaki endotoksin, bakteriyel lizis ile açığa çıkar ve özel plazma proteinleri ile bağlanıp, makrofajların ve monositlerin membranındaki CD14 reseptörü ile etkileşir (27). Hücre içinde CD14 eksikliğinde, LPS'ye

karşı hücrel yanıt transmembranda bulunan toll-like reseptörler (TLR) ile sağlanır (28). TLR'ler mikroorganizmaların epitoplarına bağlanarak sitozolik nükleer faktör kapp B (NFkB)'nin aktivasyonunu sağlar. Aktive olan NFkB proinflamatuvar özellikteki sitokinlerin transkripsiyonunu başlatmak üzere sitoplazmadan nükleusa giderek transkripsiyonu başlatan bölgelere bağlanır (29, 30). Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonun başlangıcında salınıp, immün cevabın başlaması ve sürdürülmesinde önemli olurken antiinflamatuvar sitokinler inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınır ve SİYS, ÇOYS, şok ve ölüme kadar giden aşırı sistemik inflamasyonun kötü sonuçlarını önlemek için devreye girerler (3). Sepsiste IL-10 gibi antiinflamatuvar etkiye sahip sitokinlerin aşırı salınması immünsüpresyona neden olabilir. İmmünsüpresyon durumu ise daha sonra ortaya çıkabilecek organ yetersizliğinin gelişimine de neden olabilir (31).

LPS ile oluşturulan sepsis sonucunda araşidonik asit metabolitlerinin sentezi aktive olur ve siklooksijenaz yoluyla prostoglandinler ve tromboksan A2, lipoksijenaz yoluyla ise lökotrienler oluşur Bu medyatörler sepsiste; kemotaktik ajan, vasküler tonus geçirgenliğini artırma, vazokonstriksiyona neden olma gibi işlevler görürler (32). Sepsiste bir diğer medyatör olan kemokinler ise interlökin-8 (IL-8), makrofaj yangısal protein-1 α (MIP- α), prostoglandinler, lökotrienler ile T hücre alt gruplarının farklılaşmasını tetikler (17). IL-1 ve interlökin-6 (IL-6) T hücrelerini aktive ederek γ -interferon, interlökin-2, interlökin-4, granülosit monosit koloni stimulan faktörlerin salgılanmasını sağlar (26). Şekil 3'de sepsiste salınan medyatörlerin etkisi görülmektedir.



Şekil 3. Sepsiste medyatörlerin etkisi (Karaali ve Tabak'dan, 33)

Sepsiste endotoksin etkisi ile kompleman sisteminde aktive olmaktadır. Komplemanların direkt veya indirekt proinflatuar etkileri bulunmaktadır. Örneğin; kompleman C5a dolaşımdaki nötrofiller için temel kemotaktik faktördür ve endotel adezyonlarında rol alır. Komplemanlar nötrofillerden reaktif oksijen türlerinin veya proteolitik enzimlerin salınmasına yol açarlar (34). Sepsis fizyopatolojisinde koagülasyon faktörlerinin etkisi büyüktür. LPS gibi bakteriyel toksinler ile etkilenen monositler, koagülasyon faktörlerini aktive eder. Bu faktörlerden doku faktörü, daha sonra bir dizi proteolitik süreci aktive eder. Bu olaylar zinciri sonunda tromboz oluşumu, doku perfüzyonunun bozulması ve çoklu organ yetmezliği gibi klinik tablolar gelişir (28, 34, 35). Sepsis patogeneğinde apoptozun da önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (36). Sepsis modellerinde, LPS ve TNF- α gibi proinflatuar medyatörlerin apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca ÇOYS nedeniyle kaybedilen hastaların, lenfosit ve intestinal epitel hücrelerinde apoptoz olduğu bildirilmiştir (37).

2.1.4. Sepsisin Organlar Üzerine Etkisi

Bağışıklık sistemi hücreleri genel olarak faydalı olsa da, aşırı ve düzenli olmayan inflamatuvar yanıt ciddi organ hasarına neden olur. Sepsis sırasında, sistemik hipotansiyon, mikrosirkülasyonun bozulmuş perfüzyonu gibi durumlar doku toksisitesine yol açar ve organ yetmezliğine katkıda bulunur (38). ÇOYS, sepsis görülen hastalarda organ işlevinin bozulmasıdır ve mortalitenin en önemli nedenidir (39). Her bir organ yetmezliği için ölüm riski %15–20 oranında artmaktadır. Solunum yetmezliği sepsiste erken dönemde görülen organ yetmezliklerinden birisidir. Ayrıca koagülasyon sistemi, karaciğer, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve böbreklerin yetmezliği sepsiste sık görülebilen ve mortaliteyi arttıran sorunlardır (40). Sepsiste meydana gelen ciddi patogenezlere biride akut akciğer hasarı ve akut solunum sıkıntısı sendromudur. Son epidemiyolojik çalışmalar sepsis ve septik şoklu hastalarda akut akciğer hasarını %40.2 oranında göstermiştir (25).

Karaciğer fonksiyon bozukluğu, hepatoselüler fonksiyonların değişmesinden kaynaklanır ve sıklıkla erken sepsiste görülür. Örneğin karaciğer fonksiyon bozukluğu, ÇLP sonrası 1.5 saat içinde oluşur. Klinik ve deneysel veriler, karaciğer fonksiyon bozukluğunun sepsisin erken belirtisi olduğunu ve sepsisli hastalarda hepatik disfonksiyonun bir risk faktörü olduğunu ileri sürmektedir. (41). Sepsis sonucu gelişen karaciğer fonksiyon bozukluğu primer ve sekonder olarak ayrılabilir. Primer karaciğer fonksiyon bozukluğu septik şok ve resüsitasyondan sonra gelişir ve sistemik mikrodolaşım

bozukluklarıyla ilişkilendirilir. Ayrıca sepsiste karaciğer hipoperfüzyonu gelişir ve endotoksemi ile beraber primer karaciğer hasarına neden olur. Sekonder karaciğer fonksiyon bozukluğu ise endotoksinin sebep olduğu inflamatuvar yanıtın sitokinleri aktive etmesi sonucu gelişmektedir. Karaciğerde kupffer hücrelerinden nötrofil aktivasyonuna neden olan sitokinler salgılanır. Nötrofillerin göçü sonucu salgıladıkları proteazlar ve serbest radikaller ise hepatosit hasarına yol açar (42, 43).

Akut böbrek yetmezliği (ABY) yoğun bakımda, özellikle yaşlılarda sepsisin sık ve ciddi bir sonucudur. Ayrıca kritik hastalarda sepsis ve septik şokun ABY'nin en önemli nedenleri olduğuna, yoğun bakım ünitelerinde ABY vakalarının %50'sinden fazlasını oluşturduğuna ve çok yüksek bir mortaliteye neden olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (44). Sepsis ve ABY kombinasyonu olan hastalarda pulmoner ödem, hipoksi, mekanik ventilasyon gereksinimi, akut solunum sıkıntısı sendromu ve ÇOYS gibi sistemik arteriyel vazodilatasyonun bazı etkileri gözlenmektedir (45).

2.2. Oksidan-Antioksidan Denge

2.2.1. Oksidatif Stres

ROT ve reaktif nitrojen türleri (RNT); sitokin transkripsiyonu, immünmodülasyon, iyon taşınımı ve apoptoz gibi hücre olayları için gereklidir (46). Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda hücrelerde ROT ve RNT oluşur. Enzimatik reaksiyonlar sonucu solunum zincirinde, fagositoz aktivitesiyle, sitokrom P-450 sisteminde, endotelial hücrelerin aktivitesiyle; non enzimatik olarak da oksijenin organik bileşiklerle reaksiyonu sonucu reaktif moleküller oluşur (47).

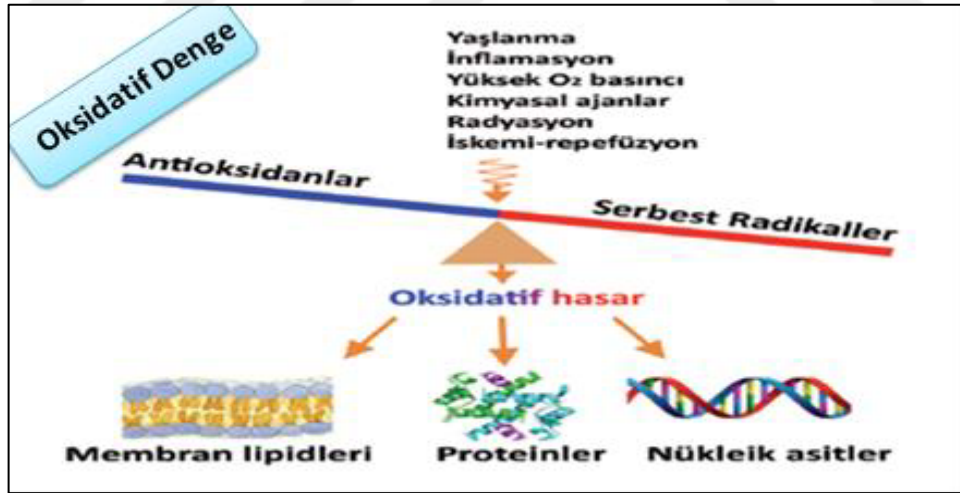


Şekil 4. Serbest radikallerin oluşumu ve etkileri (Lachance'den, 48)

Canlı vücudundaki normal temel metabolik süreçlere ilaveten; ekzojen etkenler olan X-ışınlarına maruz kalma, ozon, sigara kullanımı, hava kirleticileri ve endüstriyel kimyasallar da reaktif türlerin oluşumuna neden olur. Reaktif türlerin kontrolsüz üretimi ise oksidatif strese neden olur (47, 49) (Şekil 4).

Reaktif türler serbest radikaller olarak ifade edilir ve bu radikaller dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili atom ya da moleküllerdir. Serbest radikaller eşlenmemiş elektronlardan dolayı başka moleküllerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler (50). Membran lipidlerine, proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açarlar (51). Serbest radikallerin etkisiyle monosakkaritler otooksidasyona uğrarlar ve bunun sonucunda hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehid gibi ürünler meydana getirirler (52, 53).

Sonuç olarak serbest radikallerin aşırı üretimi ve bu radikal üretimini engelleyen veya azaltan antioksidan sistemlerin yetersizliğinde oksidan-antioksidan sistem dengesi serbest radikaller lehine kayarak oksidatif stres meydana gelmekte ve biyolojik sistemdeki moleküller etkilenerek patolojik olaylar gerçekleşmektedir (Şekil 5) (46, 51).



Şekil 5. Oksidatif dengenin bozulması (Özcan'dan, 53)

2.2.1.1. Lipid Peroksidasyonu

ROT miktarındaki artışın lipidlere doğrudan hasar verdiği bilinmektedir. Lipidleri önemli derecede etkileyebilen en yaygın radikaller; çoğunlukla hidroksil radikali ve hidroperoksildir (54). Çoklu doymamış yağ asitleri bulunduran lipidler serbest radikal

tarafından başlatılan oksidasyona karşı hassastırlar ve biyomoleküllere zarar veren zincir reaksiyonlarına katılabilirler. Genellikle lipid hidroperoksit oluşumuna yol açan lipid peroksidasyonu, oksidatif strese cevap olarak ortaya çıkar (55). Lipid peroksidasyonu sonunda konjudienler veya lipid hidroperoksitler gibi birincil oksidasyon ürünleri, MDA, 4-hidroksinonenal, F2-isoprostan, pentan, etan veya heksan dahil olmak üzere sekonder ürünler meydana gelir (56). Son yıllarda, MDA önemli bir lipid peroksidasyon göstergesi olarak kabul edilmiştir. MDA iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına neden olur ve iyon geçirgenliğini bozar. Bu yüzden MDA ölçümü patolojik durumlarda çok önemlidir (50, 57).

2.2.1.2. Protein Oksidasyonu

Doymamış ve sülfür içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, metiyonin, sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler (58). Proteinlerde oksidasyon sonucu aromatik grupların ve alifatik amino asitlerin yan zincirlerinde hidroksilasyon, nitrolanma, sülfoksitleme, klorlanma, çapraz bağlı proteinlerin oluşumu gibi olaylar gerçekleşir (59). Son zamanlarda protein oksidasyonunun bir belirteci olarak ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) tayini dikkat çekmeye başlamıştır. AOPP, ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak ifade edilmektedir (60). Yapılan bir çalışmada, AOPP düzeylerinin plazma ditirozin ve ileri glikasyon ürünü olan pentozidin düzeyleri ile orantılı olduğu raporlanmıştır (61).

2.2.1.3. Miyeloperoksidaz

Lökositler tarafından salınan bir HEM proteini olan MPO enzimi, inflamasyon ve hücrel oksidatif stresde önemli bir rol oynayan moleküller arasında en çok çalışılan parametrelerden birisidir (62). İnflamasyon varlığında MPO'nun hücre dışına salınması ve bunun ölçülmesi nötrofil aktivasyonunun bir göstergesidir (63).

Nötrofillerde bulunan MPO enzimi fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde rol alır (64). Nötrofiller, fagositoz sırasında solunum patlaması olarak adlandırılan bir süreç geçirirler. Bu solunum patlaması, süperoksit, hidrojen peroksit ve diğer reaktif oksijen türevlerinin üretimine neden olup, salınan granül içerikleri patojenleri ortadan kaldırır (22, 65). MPO, hidrojen peroksit ve klorür iyonlarını substrat olarak kullanarak hidrojen peroksitten daha fazla mikrobiyal öldürme gücüne sahip olan hipokloröz asit (HOCl) oluşumunu katalizlemektedir (66). HOCl ayrıca peroksinitrit, hidroksil radikali, singlet

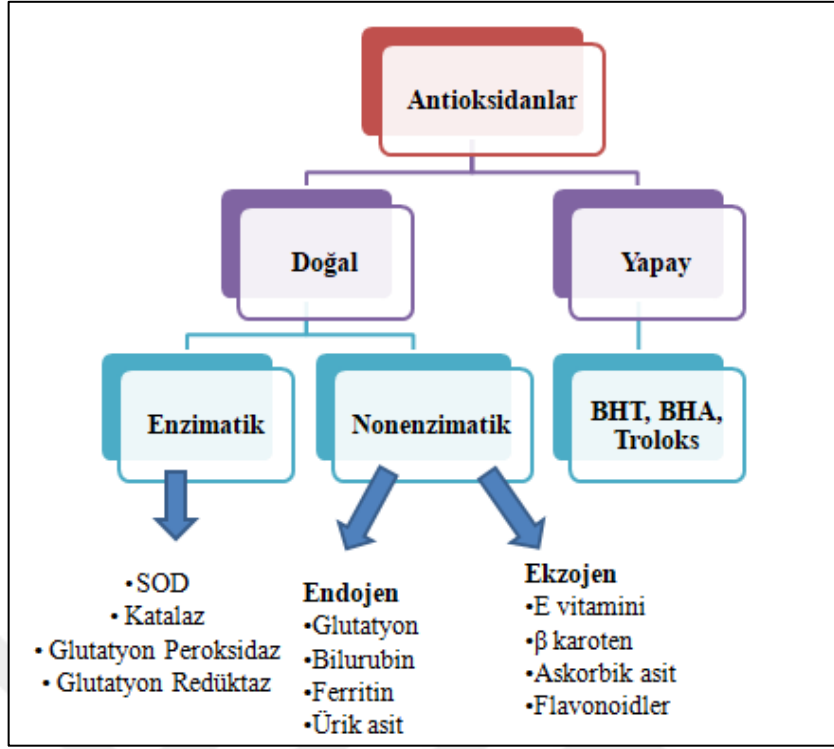
oksijen ve ozon, monokloraminleri oluşturmak üzere NH_3 ve diğer radikaller ile etkileşime girerek patolojik etkiler gösterebilir (67).

2.2.2. Antioksidan Sistemler

İnsan vücudunun serbest radikaller tarafından ortaya çıkan oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli güç kaynağı antioksidanlardır. Antioksidanlar, nispeten küçük konsantrasyonlarda bile oksidasyon sürecini inhibe edebilirler ve vücutta farklı fizyolojik roller oynarlar (49, 68). Antioksidanlar çeşitli aktivitelerle etkilerini gösterirler:

- Serbest oksijen radikalleriyle reaksiyona girerek onlara bir hidrojen aktarır ve bu da radikallerin aktivitelerinde azalmaya ve inaktifleştirmeye yol açar (Bastırıcı Etki).
- Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincir reaksiyonlarını kırar ve işlevlerini engeller (Zincir kırıcı Etki).
- Serbest radikallerin zararlı etkilerini onarır (Onarıcı Etki).
- Serbest oksijen radikallerini daha etkisiz yeni bir moleküle çevirir (Toparlayıcı Etki) (69).

Vücudumuzda yer alan antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılırlar. Doğal antioksidanlar, bitki ve hayvan dokularında bulunmakla birlikte endojen ya da ekzojen olarak vücuda alınabilmektedir (Şekil 6). ROT'ların düzeyini kontrol eden ve stres koşulları altında hücreleri koruyan memeli dokuları, katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GSH) gibi ROT'ları temizleyen çeşitli enzimler içerir (68, 70). Antioksidanlar içerisinde GSH hücre içi en önemli antioksidanlardan birisidir. GSH, γ -L-glutamil-L-sisteinil-glisin amino asitlerinden oluşan tripeptittir ve glutamattan γ -glutamilsistein sentetaz ve glutatyon sentetaz enzimleri ile sentezlenmektedir Hücrenin yükseltgenme-indirgenme dengesini koruyarak oksidatif hasara karşı koruyucu etki göstermektedir (71). Reaktif oksijen türlerinin ve toksik bileşenlerin detoksifikasyonunda görev alan GPx, GST gibi enzimlerin koenzimi olması açısından GSH seviyeleri büyük bir öneme sahiptir (72, 73).



Şekil 6. Antioksidanların sınıflandırılması (Kara'dan, 74)

Organizmanın doğal antioksidan üretimi yaş ilerledikçe azaldığından bu açığın kapatılabilmesi için doğal ürünlerin iyi bir takviye olabileceği ileri sürülmektedir (70). Tıbbi bitkiler ve diğer doğal ürünler hastalıkları iyileştirmek için tek veya birlikte hareket edebilen farklı kimyasal bileşikler ihtiva etmektedirler. Bu nedenle doğal ürün olarak alınan gıda bileşenlerinin ayrı ayrıdan ziyade sinerjik etkilerinin incelenmesi önem arz etmektedir. Doğal ürünlerde amino asitler, polifenolik asitler, flavonoidler, vitaminler gibi bileşenler antioksidan olarak fonksiyon görürler (75). Flavonoidler, serbest radikallerin yol açtığı hasarı reaktif oksijen türlerini doğrudan temizleyerek, antioksidan enzimlerin aktivasyonunu sağlayarak, metal şelatlama etkinliği, α -tokoferil radikallerinin indirgenmesi, oksidazların inhibisyonu, nitrik oksitten kaynaklanan oksidatif stresin azaltılması, ürik asit seviyelerinde artış, düşük moleküllü antioksidanların antioksidan özelliklerinde artış sağlayarak önleyebilirler (76).

Doğal ürünlerde bulunan sistein, histidin, triptofan, lizin, arjinin, glutamin ve lösin gibi aminoasitler ve bunların türevleri antioksidan özellik gösterebilmektedir. Aromatik aminoasitlerin ve kükürt içeren aminoasitlerin antioksidan özelliklerinin serbest radikallere proton vermesiyle alakalı olduğu, lizin ve arjinin gibi asidik aminoasitlerin antioksidan

aktivitelerinin ise metal iyonları ile şelat oluşturmalarından kaynaklandığı söylenmektedir. (77, 78). Arjininin antioksidan molekül olan nitrik asit (NO) yapısına katılması, glutamat, sistein ve glisinine ise önemli antioksidan moleküllerden olan glutatyonun yapısına katılması antioksidan sistemi güçlendirmede önemli rol oynamaktadır (71, 79). Ayrıca yeşil çayda bulunan LT gibi türev amino asitlerde oksidan-antioksidan dengeyi antioksidanlar lehine kaydırıcı özellik göstermektedir (80).

2.3. Sepsis ve Oksidan-Antioksidan Denge

Sepsis ve septik şok olguları ile ilgili hipotezler; inflamatuvar yanıtla ilgili olarak ROT ve RNT'nin artışı ile birlikte inflamatuvar sitokinlerin üretiminin de arttığını ileri sürmektedir (81). Endotel hasarı, zayıflamış doku ve bozulmuş vücut solunumu, GSH tükenmesi, mitokondriyal solunum yetmezliği, ATP ve oksijen tüketiminin azalması ile birlikte sistemik hasar meydana gelmektedir. ROT özellikle bağışıklık hücrelerinin işlevleri için gerekli olmasına rağmen aşırı üretiminde oksidatif stres meydana gelmektedir (4). Sepsiste oksidatif stres belirteçleri, hücrelerde görülen düşük GSH düzeyleri, artmış MDA seviyeleri, artmış protein karbonil grupları ve artmış SOD/KAT oranı içerir. ROT çeşitli kaynaklardan kaynaklanmasına rağmen, solunum patlamasının sepsiste oksidanların en önemli üreticisi olduğuna inanılmaktadır (82).

Nötrofillerin kullandığı radikal oluşumunda rol alan MPO, polimorfonükleer nötrofillerin ve makrofajların azurofilik granüllerinde depolanıp, inflamatuvar süreçte hücre dışı sıvıya salınır (66). Sepsiste aktive nötrofiller, NADPH oksidaz yoluyla süperoksit oluşturabilir. Nötrofillerin MPO aktivitesi ile oluşturdukları ROT ve RNT'ler lipid peroksidasyonuna sebep olup, hücre membran hasarına yol açarlar (83, 84). Nötrofil aktivasyonu ile oluşan süperoksit zayıf bir ROT olmasına rağmen, NFkB translokasyonu, endotelial apoptoz, endotelial nitrik oksit sentaz baskılanması, artmış doku faktörü ekspresyonu ve inflamatuvar sürecin aktivasyonunda rol alır. Ayrıca NO ile reaksiyona girer ve çok zararlı radikal olan peroksinitriti üretebilir (84).

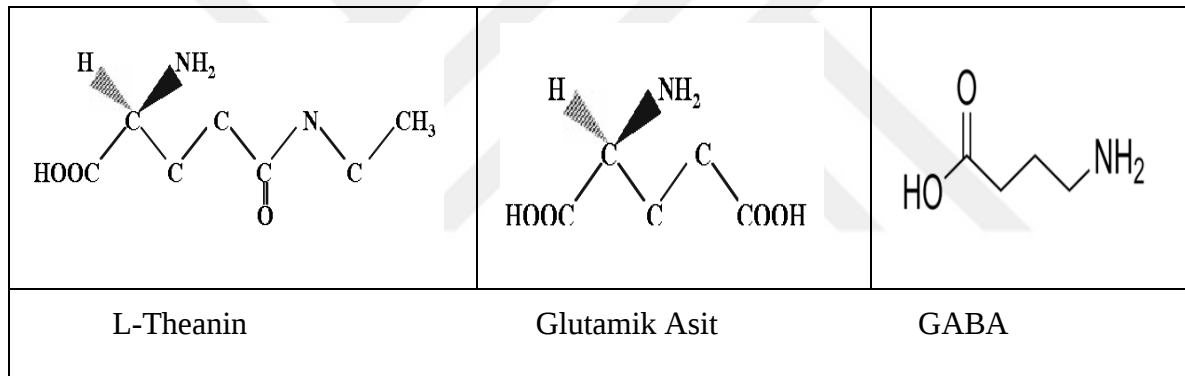
LPS uygulaması indirgenmiş GSH düzeylerinde azalmaya neden olurken GSSG düzeylerinde artmaya neden olmaktadır. Bu da antioksidan savunma sistemini zayıflatarak doku hasarına neden olmaktadır (85). Sepsiste GSH seviyesi değişimine bağlı olarak GSH metabolizmasında rol alan antioksidan bir enzim olan GSH-Px aktivitesinin düştüğü rapor edilmiştir (86).

Sepsiste oksidatif stresin artışı inflamasyonu veya inflamasyonun artışı da sepsisi tetikleyerek birbirine bağlı zincir reaksiyonları meydana getirir ve sepsisin ciddi komplikasyonları ortaya çıkar (87).

2.4. L-Theanin

2.4.1. L-Theaninin Özellikleri

LT, glutamatın etilamid türevi olan protein yapısına dahil olmayan bir amino asit olup γ -glutamiletilamid, γ -L-glutamiletilamid, γ -glutamil L-etilamid, γ -etilamino-L-glutamik asit ve 5-N-etilamin olarak da adlandırılmaktadır (88). Yapı olarak nörotransmitter glutamat ya da γ -aminobütirik asit (GABA)'ya benzerlik gösterir (Şekil 7). LT, glutamik asidin karboksilik uçlarından birinin farklı bir amin grubu ve sonrasında bir etil grubu ile modifikasyonu sonucu oluşabilmektedir (89).



Şekil 7. L-theanin, glutamik asit ve GABA'nın kimyasal yapısı (Yamama'dan 90, Boonstra'dan 91)

LT'in molekül ağırlığı 174.2 g/mol ve kimyasal formülü $C_7H_{14}N_2O_3$ 'dür. Erime noktası 214-216°C'dir (92). Suda çözünme özelliğine sahiptir. Metanol ve kloroform gibi organik çözücüler içindeki çözünmezliğiyle kafein ve kateşin gibi yapılardan farklılık gösterir (93). LT'in L ve D olmak üzere iki enantiomeri olup D-LT'in ortalama seviyesi toplam LT'in yaklaşık %1.85'ini oluşturmaktadır ve ağırlıklı L-(S) enantiomeri görülmektedir (80, 94-96). İlk defa 1949 yılında Sakato tarafından yeşil çay yapraklarından izole edilmiştir (97). LT en fazla *Camellia sinensis* bitki yapraklarında olmak üzere *Camellia*, *Camellia japonica* ve *Camellia sasanqua* gibi çay türlerinde de bulunmaktadır (92). Bunların dışında bir çeşit mantar olan *Xerocomus badius* türünde de düşük miktarlarda bulunmaktadır (98). Türkiye'de *Camellia sinensis* bitki yapraklarının farklı

işlemlere maruz kalması ile yeşil, siyah, beyaz ve oolong çayları üretilmektedir (88). Yeşil çayın kuru yaprakları birçok mineral, amino asit ve organik madde barındırmaktadır (99). Çay yapraklarının toplam kuru ağırlığının %1-2'si (100, 101), toplam serbest amino asitlerin ise yaklaşık %50'si LT'dir (80, 102). Çaydaki miktarı güneş ışınlarına maruz kalma süresiyle de ters orantılıdır. LT oranı yüksek olan çaylar daha kaliteli olarak değerlendirilmektedir (80, 92). 2 dakika boyunca 80 ° C'de demlenmiş 200 mL standart bir fincan (yaklaşık 500 mg) yeşil ve siyah çayda sırasıyla 7.9 ve 24.2 mg LT bulunduğu rapor edilmiştir (103).

LT, çeşitli işlenmiş yiyeceklerin ve içeceklerin tadını iyileştirme özelliğine sahiptir. Umami ya da “5. tat” denilen tat etkisi vermektedir (104). Umami tat reseptörleri olan tat reseptörü Tip1 aile1 (T1R1) ve aile 3 (T1R3) üzerinde LT'in etkileri araştırılmış ve LT'in T1R1 + T1R3 reseptör hücrelerinin ekspresyonunu aktive ettiği gözlenmiştir (105). Ayrıca LT ile inozin 5'-monofosfat (IMP) arasında umami tat için sinerji olup olmadığı araştırılmıştır ve LT'nin IMP ile etkileştiğinde umami tatda artış olduğu açığa çıkarılmıştır (106).

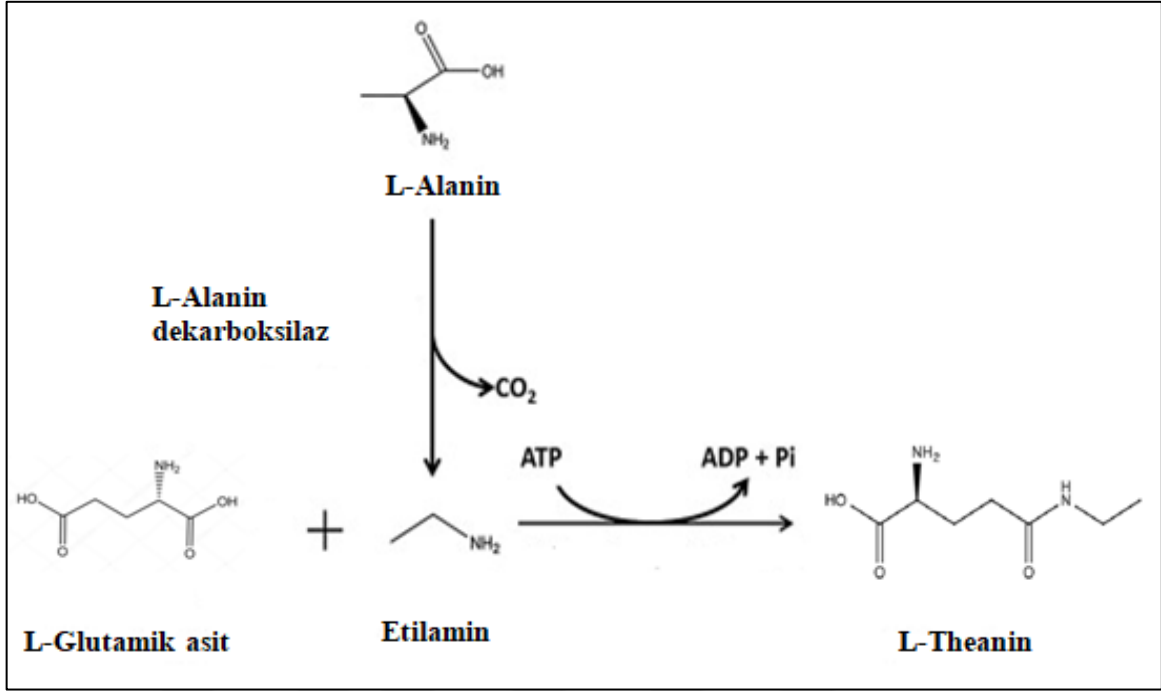
2.4.2. L-Theaninin Sentezi

2.4.2.1. Camellia Bitki Türlerinde Sentezi

Camellia bitki türlerinde, glutamik asit ve etilamin theaninin sentezindeki başlıca öncüllerdir. LT, L-glutamik asit ve etilaminden (L-alaninden L-alanin dekarboksilaz vasıtasıyla sentezlenen) LT sentetaz (L-glutamat: etilamin ligaz, EC 6.3.1.6) ile sentezlenir (Şekil 8) (7, 9).

Deng ve ark. (9) tarafından yapılan çalışmada LT sentezinin hem kök hem de sürgünde gerçekleştiği ve LT sentetaz birikiminin tuz ilavesinden olumlu etkilendiği, LT ve toplam serbest amino asit konsantrasyonunun köklerde kademeli olarak arttığı, 8. günde maksimuma ulaştığı bildirilmiştir (107).

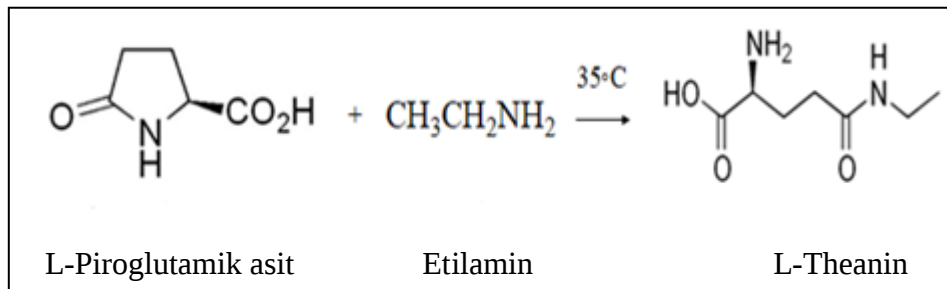
LT sentezlendikten sonra; ksilem yoluyla sürgünlere dağılır, daha sonra orada konsantre olur ya da LT hidrolaz ile yıkım ürünlerine ayrılır. (108). Magnezyumun da, köklerde LT sentezini ve çay bitkilerinin sürgünlerinde LT birikimini sağladığı gözlenmiştir (109).



Şekil 8. L-theaninin çaydan izole edilmesi (Deng'den, 9)

2.4.2.2. Endüstriyel Sentezi

1942'de Lichenstein tarafından pirolidon-5-karboksilik asidin sulu bir etilamin ile 35°C'de muamele edilmesi sonucu LT'nin endüstriyel olarak kimyasal sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 9) (110). Ayrıca L-glutamik asitin pirolidon karboksilik asite dehidrasyonu sonrası etilamin ile reaksiyonu sonucu LT'nin sentezlendiği iki basamaklı bir yöntem rapor edilmiştir (111). LT üretmek için bu yol basit ve uygun maliyetli bir yaklaşım sunsa da, bazı sınırlamaları mevcuttur. Başlıca sınırlamalardan biri, sentetik ürünün, L ve D enantiyomerlerin rasemik bir karışımı olmasıdır (80, 112).



Şekil 9. L-theaninin endüstriyel kimyasal sentezi (Lichenstein'den, 110)

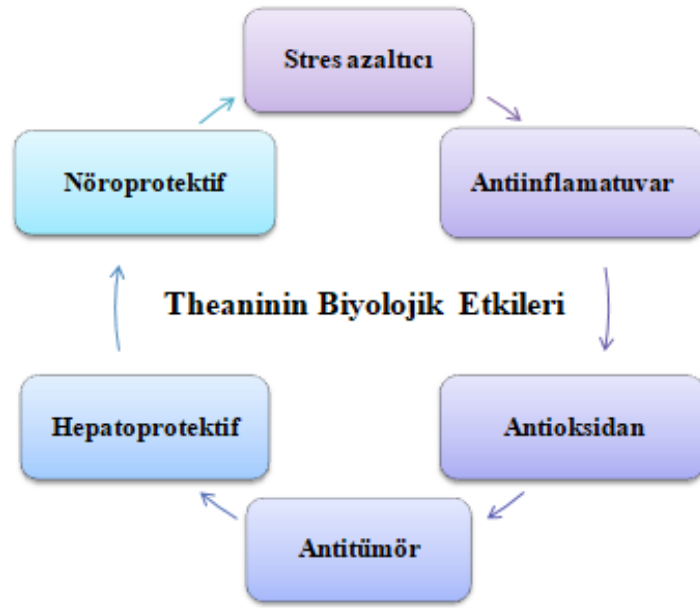
LT'nin kimyasal sentezi karmaşık ve uzun bir işlem gerektirmektedir. Çay bitkilerinden izole edilmesi de zaman alıcı ve zahmetlidir. Bu nedenle LT'in biyolojik üretimi üzerinde durulmaktadır (7). LT'in endüstriyel olarak biyolojik üretimi için L-glutamin sentetaz (GS), γ -glutamilmetilamid sentetaz, γ -glutamil transpeptidaz (GGT) gibi enzimler kullanılmaktadır (108). L-glutamat, amonyum klorür ve ATP kullanılarak bakteriyel GS enzimi vasıtasıyla LT sentezlenmektedir. Tachiki ve ark. (113) *Micrococcus glutamicus* bakterisinden elde edilen GS enzimini kullanarak amonyağın etilamin ile reaksiyonu sonucu LT üretebilmiştir. Shuai ve ark. (114) *B. subtilis* suşundan elde ettikleri GGT enzimini kullanarak LT'in verimli bir şekilde sentezlenebildiğini ifade etmişlerdir.

2.4.3. L-Theaninin Absorbsiyonu ve Metabolizması

LT'nin barsaktan emiliminin Na^+ aracılıklı taşıyıcılar vasıtasıyla olduğu ileri sürülmektedir (115). LT (25-100 mg) insanlara çay ile beraber verildiğinde plazma konsantrasyonunun oral alımdan sonra yaklaşık 50 dakika içinde maksimuma ulaştığı ve yarılanma ömrünün insanda 15-65 dakika arasında değiştiği belirtilmiştir (116). 200 mg LT oral olarak sıçanlara verildiğinde plazmada 0.5-2 saat sonra etilamin ve glutamik asit miktarında artış olduğu bildirilmiştir (117). Sıçanlarda oral alımdan 1 saat sonra serumda, karaciğerde ve beyinde LT düzeylerinde anlamlı artış olduğu ancak 24 saatte tamamen kaybolduğu ifade edilmiştir. Ayrıca serumda etilamin, glutamik asit ve aspartik asit, karaciğerde etilamin, glisin, glutamin ve fenilalanin, beyinde ise etilamin ve glutamin seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir (118). LT'nin etilamine ve glutamik aside hidrolizi böbrekte fosfat bağımsız glutaminaz tarafından gerçekleştiği ve bu yolla atıldığı ifade edilmektedir (119).

2.4.4. L-Theaninin Biyolojik Etkileri

LT ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda sağlık üzerine olumlu etkilere sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Şekil 10) (7, 80, 88, 108, 112).



Şekil 10. L-theaninin biyolojik etkileri (7, 80, 88, 108, 112)

LT beyinde çeşitli modölatör etkiler göstermektedir (112). Standart dozlarda (50-250 mg) LT alımının sağlıklı kişilerde rahatlatıcı özelliklere sahip olan alfa beyin dalgalarının etkinliğini arttırdığı tespit edilmiştir (120). LT'nin beyinde serotonin, dopamin, GABA düzeylerini arttırdığı ve α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit (AMPA), kainat ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri gibi glutamat reseptörleri üzerinde koruyucu etki gösterdiği ifade edilmiştir (121). LT'nin, glutamat reseptörlerinin inhibisyonu yoluyla nöroprotektif etkiler gösterdiği ve bu nedenle Alzheimer hastalığının etkili profilaksisi ve tedavisinde kullanılabileceği ifade edilmiştir (122). LT'nin zararlı nitrik oksit üretimi ve striatumda nörotransmitterlerin seviyelerinin değişmesini engelleyerek beyinde koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (123). Ayrıca LT'nin yüksek dozlarının, kafeinin beyindeki uyarıcı etkisini inhibe ettiği, kafein kaynaklı uyku bozukluğuna negatif yönde etki ettiği ve bu nedenle de kafeininin antagonisti olabileceği ileri sürülmüştür (124).

LT'nin yeşil çay ve bileşenlerinin gösterdiği gibi obezite karşıtı bir etki gösterdiği çalışmalarla belirlenmiştir (125). LT'nin, hormon seviyelerini değiştirerek gıda alımını etkilediği, özellikle beyinde dopamin ve serotonin nörotransmitterlerinin seviyelerini değiştirerek bunu gerçekleştirdiği ileri sürülmüştür (126). Sıçanlarda oral yoldan LT verildiğinde gıda alımının baskılandığı, serum glukoz seviyesinin kontrolle aynı olduğu,

kortikosterol konsantrasyonunun arttığı ve insülin seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir (127).

LT'nin vasküler sistemde kanın vizkozitesi, vasküler direnç ve kanın periferel direnci gibi faktörler üzerinden kan basıncına etki ettiği düşünülmektedir (120). Hipertansif sıçanlara 0-2000 mg/kg LT enjekte edildiğinde kan basıncını düşürdüğü, beyinde kan basıncı ve 5-hidroksiindol seviyesini azalttığı belirtilmektedir (128, 129). Ayrıca LT'nin serum kolesterolü, NO üretimi ve arter vazodilatasyonu üzerinde etkili olduğu ileri sürülmüştür. Serum kolesterol düzeylerini düşürerek koroner kalp hastalığı riskini azalttığı buna bağlı olarak abdominal adipoz, karaciğer kolesterol, serum nötr yağ ve kolesterol seviyelerini önemli ölçüde azalttığı düşünülmektedir (130).

Yapılan çalışmalar LT'nin organizmalara karşı ve hastalıklara karşı bizi güçlendirdiğini ileri sürmektedir. LT metabolitlerinden biri olan etilamin (peptid-dışı antijen), sitokin salgılamak için gelişmiş bir kapasiteye sahip olan bağışıklık sistemi elemanı olan γ -delta T hücrelerini aktive ettiği belirlenmiştir (131). Atletlere oral yol ile LT ve sistin birlikte verildiğinde yoğun egzersiz süresinde immün fonksiyonun zayıflamasını engelledikleri, enfeksiyon ve bununla ilişkili semptomları azalttıkları gözlenmiştir (132). Başka bir çalışmada karaciğerdeki toplam GSH düzeylerini belirgin şekilde arttırdığı ve T yardımcı hücre aracılı yanıtların artırılması yoluyla antijen spesifik immünoglobülin G üretimini arttırdığı bildirilmiştir (133). Karaciğer hücrelerinde LT'nin doku büyüme faktörü-beta ve bağ doku büyüme faktörünün etkisini azaltarak ve matriks metaloproteinazın aktivasyonunu uyararak antifibrotik özellik sergilediği ileri sürülmektedir. Ayrıca LT'in NFkB yolağını inaktive ederek proinflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe ettiği ve antiinflamatuvar özellikteki sitokinlerin düzeylerini artırarak antiinflamatuvar ve antinekrotik özellik sergilediği belirtilmektedir (134).

LT'nin, etanol ile hasar oluşturulan fare karaciğerinde ROT ve MDA üretimini engellediği bildirilmiştir. Ayrıca hepatositlerin antioksidan kapasitelerinin geri kazanılmasını sağladığı ve GSH'ın seviyesini arttırdığı ifade edilmiştir (135). Diğer çalışmada LT'nin, bakır ile uyarılan LDL oksidasyonunu inhibe ettiği ancak bunu çay polifenollerine göre daha az etki ile yaptığı belirlenmiştir (136).

LT doksorubisin ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanların serum alanin transferaz (ALT), aspartat transferaz (AST), hepatik kaspaz-3 seviyelerini ve hepatik proapoptotik protein ekspresyonu düzeylerini düzelttiği bildirilmiştir (137). LT'nin

kanserli hücrelerde glutamat taşınımını engellediği ve hücre içi GSH seviyelerini azalttığı ancak normal hücrelerde glutamat reseptörlerine bağlanıp antikanser ilaçların akışkanlığını arttırdığı ve bu şekilde koruyucu etki gösterdiği ileri sürülmüştür (138).

LT'nin nefrotoksisite üzerine koruyucu etkinlik gösterdiği, böbrek dokusunda dehidratasyonu engellediği ile ilgili bulgularda mevcuttur (130, 140).

2.4.5. L-Theanin Toksisitesi

LT'nin gıda katkı maddesi olarak kullanılması 1964 yılında Japonya Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanmıştır. ABD'de LT bir besin takviyesi olarak satılmakta olup, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi LT'yi “genellikle güvenli kabul edilen” ve “toksik olmayan bileşik” olarak kabul etmiştir (7, 80). LT erkek ve dişi sıçanlara 13 hafta süreyle yüksek dozda 4000 mg/kg/gün şeklinde verilerek toksikokinetiği incelenmiş, morbidite, mortalite, vücut ağırlığı, klinik kimya, hematoloji ve idrar tahlili yönünden herhangi bir olumsuzluk veya yan etki gözlenmemiştir (141). Ayrıca deneklerde meydana gelen böbrek lezyonlarının toksik etkiden ziyade genetik çöküntü ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (141). Akut ve subakut toksisite ve mutajenite testleri sonucunda Japon Gıda Katkı Maddeleri Birliği tarafından LT'nin sentetik ürünü olan Suntheanin®'in güvenilir olduğu kabul edilmiştir. 2 hafta boyunca 6500 mg/kg ve 28 gün boyunca 2000 mg/kg Suntheanin® oral alımının toksik etkiye neden olmadığı raporlanmıştır (142)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler

Çalışmamızda kullanılan cihazlar Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Kullanılan cihazlar ve üretici firmaları

Kullanılan Cihazlar	Üretici Firmaları
Biyokimya Tüpleri	BD Vacutainer
Derin Dondurucu (-80 °C)	Forma ULT Freezer
Etüv	Gallenkamp
Hassas analitik terazi	Mettler Toledo AB204-S
Homojenizatör	IKA-ultra turrax T18
Işık Mikroskobu	Olympus BX-51, Olympus
Kamera	Olympus DP 71, Olympus
Magnetik Karıştırıcı	Ikamag RH
Mikrotom	Leica RM 2255, Leica Instrument
Otoanalizör	Roche, Simens
Otomatik pipet,10-100 µL	Socorex
Otomatikpipet, 100-1000 µL	Socorex
pH metre	Hanna Instruments, HI 9321
Santrifüj	Eppendorf Centrifuge 5810
Santrifüj Tüpleri	ISOLAB
Soğutmalı santrifüj	Beckman-Coulter
Sonikasyon cihazı	Sonics & Material Inc VCX 130
Vorteks	IKA Vortex Genius 3

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Kullanılan kimyasal malzemeler, üretici firma ve kodları

Kullanılan Kimyasal Malzemeler	Üretici Firma ve Kodları
Asetik asit (%100)	TEK KİM, 64-19-7, (Türkiye)
Di potasyum hidrojen fosfat	Merck, A70000 546, (Almanya)
Di sodyum hidrojen fosfat dihidrat	Merck, K16290176 139, (Almanya)
Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)	Sigma, E5134, (Amerika)
Fosforik Asit (H_3PO_4)	Merck, K3093963 637, (Almanya)
Hekzadesiltrimetilamonyumbromür	Sigma, H-9151, (Amerika)
Kloramin-T standartı	Sigma, 857319, (Amerika)
L-theanin	Chem-Impex, 504-17-6
O-dianisin dihidroklorür	Sigma, D-3252, (Amerika)
Potasyum di hidrojen fosfat	Merck, A15371 646, (Almanya)
Potasyum Klorür (KCl)	Sigma, P9333, (Amerika)
Sodyum di hidrojen fosfat	Merck, K1305445 541, (Almanya)
Sodyum Klorür (NaCl)	Merck, K363600 515, (Almanya)
Sülfirik Asit (H_2SO_4)	Merck, K39098713 833, (Almanya)
Tiyobarbitirik Asit (TBA)	Merck, 504-17-6, (Almanya)
Triton X-100 (> %95)	Merck, K2351869 (Almanya)

3.2. Deneyin Planlanması ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, "ÇLP yöntemi ile sepsis oluşturulan ratlarda L-Theaninin etkilerinin araştırılması" isimli, T.C. Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi destekli araştırma projesi (Proje No: TSA-2017-7013) ile desteklenerek yürütüldü. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 06.06.2017 tarihinde 2017/24 protokol numaralı onay alındıktan sonra çalışma başlatıldı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilip yine aynı yerde deneyler için oda sıcaklığında ($21\pm 2^{\circ}C$) 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortam sağlanarak barındırılıp beslendi. Çalışmada 35 adet Sprague Dawley erkek sıçan kullanıldı. Deneysel sepsis modeli olarak

ÇLP yöntemi seçildi. Bu çalışma için sıçanlar 8-12 haftalık, 200-300 g ağırlığında, yem ve su *adlibitum* olarak, tüm gruplara standart sıçan yemi ve içme suyu verildi 7 günlük standart beslenme ve bakımın ardından operasyon öncesi 12 saat süresince sadece su almalarına izin verildi. Sıçanlar rastgele 5 gruba ayrılarak çalışma grupları oluşturuldu (Tablo 4).

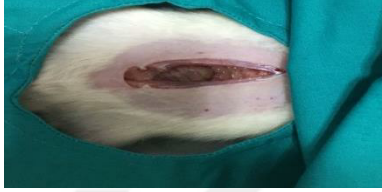
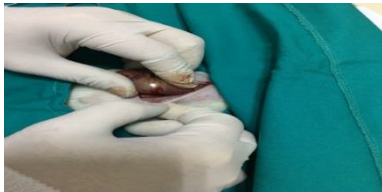
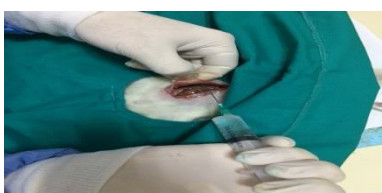
Tablo 4. Deney grupları

Grup	Uygulama
Kontrol (n=7)	Anestezi ile sadece laparotomi yapılarak ÇLP işlemi yapılmadan batin kapatıldı, 12 saat ara ile iki kez SF i.p. olarak verildi.
ÇLP (n=7)	ÇLP işleminde hemen sonra ve 12. saatte SF i.p. olarak verildi.
ÇLP+LT1 (n=7)	ÇLP işleminden hemen sonra ve 12. saatte 0.25 g/kg LT iki doz şeklinde i.p.olarak verildi.
ÇLP+LT2 (n=7)	ÇLP işleminden hemen sonra ve 12. saatte 0.50 g/kg LT iki doz şeklinde i.p. olarak verildi.
ÇLP+LT3 (n=7)	ÇLP işleminden hemen sonra ve 12. saatte 0.75 g/kg LT iki doz şeklinde i.p. olarak verildi.

3.3. Sıçanlarda Sepsis Modelinin Oluşturulması

Sıçanlarda sepsis oluşturmak için yaygın kullanılan bir işlem olan ÇLP modeli kullanıldı. Rittirsch ve ark. (143) tarafından ifade edilen yöntemde küçük modifikasyonlar yapıldı. 50 mg/kg ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg ksilazin i.p. olarak verilerek anestezi uygulandı ve Tablo 5’de belirtilen işlemler sırasıyla yapıldı.

Tablo 5. Sepsis modelinin oluşturulma aşamaları

Uygulama		
1	Karın traşı yapılarak dezenfeksiyon uygulandı.	
2	Sıçanlara sonra laparotomi yapıldı. Abdominal bölge orta hattan açılarak batına ulaşıldı.	
3	Çekum izole edildi.	
4	Çekum gaita ile doldurulduktan sonra ileoçekal valfin altından bağlandı ve iğne ile delindi.	
5	Küçük bir kesik atılarak barsak içeriğinin karın boşluğuna akışı gözlemlendi.	
6	Çekum delindikten ve fekal içerik peritona bulaştırıldıktan sonra çekum tekrar batına yerleştirildi.	
7	Operasyon sonrasında 1 mL steril SF subkütan yoldan enjekte ederek sıvı replasmanı sağlandı.	

3.4. Doku ve Kan Numunelerinin Toplanması

Operasyondan 24 saat sonra sıçanlara tekrar anestezi uygulanarak karaciğer dokuları ve aort kanları alındı. Alınan dokular %0.9'luk NaCl çözeltisi ile yıkanarak dokuların bir kısmı biyokimyasal analizlerinin yapılması için -20 °C'de donduruldu diğer kısmı ise histopatolojik çalışmalar için kullanılmak üzere %10'luk formaldehit çözeltisinde fikse edildi. Antikoagülansız, EDTA'lı ve florürlü tüplere alınan kan numuneleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek serum ve plazmalar elde edildi. Analiz edileceği güne kadar -20 °C dondurucuda saklandı.

3.5. Histopatolojik İncelemeler

%10'luk formaldehit çözeltisinde bekletilerek fikse edilen karaciğer dokuları artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilenle yapılan şeffaflaştırmanın ardından tüm dokular parafine gömülerek bloklandı. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla lam üzerine alınan 5 µm'lik kesitler etüvde ısıtılıp; ksilen ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek deparafinize ve hidrate edildi. Daha sonra tüm kesitler hematoksilin eozin ile boyandı. Gruplara ait tüm kesitler ışık mikroskopunda histopatolojik açıdan değerlendirilerek ve fotoğrafları mikroskoba entegre kamera ile çekilerek belirlendi.

3.6. Rutin Parametrelerin Tayini

Serum numunelerinde ALT, AST, laktat dehidrogenaz (LDH), kan üre azotu (BUN) ve kreatin seviyeleri, florürlü tüple elde edilen plazmada laktat KTÜ Farabi hastanesi biyokimya laboratuvarında Roche otoanalizöründe tayin edildi.

3.7. Oksidatif Stres Parametrelerinin Tayini

3.7.1. TBARS Seviyeleri Tayini

EDTA'lı tüplerden elde edilen plazmada ve karaciğer dokularında MDA tayini malondialdehidin asidik ortamda tiyobarbütirik asit (TBA) ile pembe renkli bir şelat oluşturması (TBARS) ve oluşan şelatın 532 nm'deki absorbansının ölçülmesine dayanılarak yapıldı (144, 145).

3.7.1.1. Plazma TBARS Seviyesi Tayini

Yagi yöntemine göre yapıldı (144).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1. Sülfürik asit (H_2SO_4) çözeltisi (0.042 M): 228 μL H_2SO_4 alınıp bir miktar saf suya pipetlendi, son hacim saf suyla 100 mL' ye tamamlandı.

2. Fosfotungustik asit ($H_3(W_3O_{10})_4H_2O$) çözeltisi (%10'luk): 1.11 g fosfotungustik asit 10 mL saf suda çözüldü.

3. TBA çözeltisi (%0.67'lik): 0.335 g TBA 25 mL saf suya ilave edildi. Karıştırıcıda folyo ile sarılarak ve ısıtılarak manyetik bar aracılığıyla çözünmesi sağlandı. Soğuduktan sonra üzerine 25 mL glasiyel asetik asit eklendi.

4. Standart çözeltiler: 10 $\mu mol/mL$ 'lik tetrametoksipropan ana çözeltisi hazırlamak için 82.5 μL 1,1,3,3-tetrametoksipropan, 0.01 M 50 mL HCl çözeltisine eklendi ve 50 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı Hazırlanan 10 $\mu mol/mL$ 'lik MDA standartından sırasıyla 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625 ve 0.78 nmol/mL'lik standart çözeltiler hazırlandı.

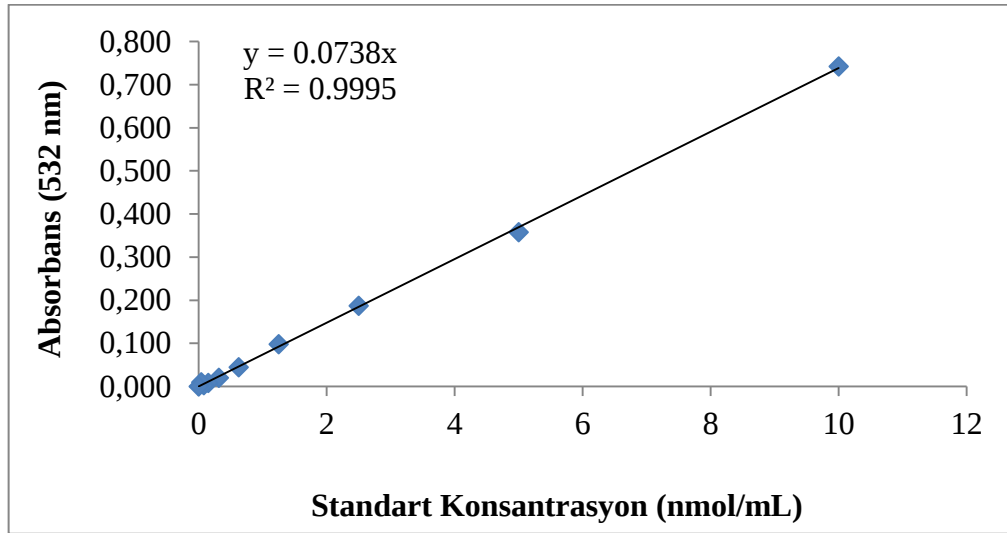
Deneyin Yapılışı

Numuneler ve standartlar Tablo 6'da verilen şekilde pipetlenerek deney gerçekleştirildi.

Tablo 6. Plazma TBARS seviyesi ölçümü için yapılan işlemler

Reaktifler	Numune (µL)	Standart (µL)
Numune	150	-
H ₂ SO ₄	1200	-
Fosfotungustik asit	150	-
Vorteksleme, 5 dakika bekleme		
4000 rpm’de 10 dakika santrifüjleme, süpernatantın atılması		
Saf su	2000	-
Standart	-	2000
Pelletin vortekslenerek çözülmesi		
TBA	500	500
100°C’de 1 saat inkübasyon		
3000 rpm’de 10 dakika santrifüjleme		
250 µL süpernatantların mikrolakalara eklenmesi		
532 nm’de mikrolaka okuyucuda absorbans ölçülmesi		

Standart grafikten (Şekil 11) yararlanılarak plazma MDA konsantrasyonu hesaplandı ve sonuçlar nmol/mL olarak verildi.



Şekil 11. Plazma TBARS standart grafiği

3.7.1.2. Doku TBARS Seviyesi Tayini

Karaciğer dokusunda MDA ölçümü Uchiyama ve Mihara yöntemi modifiye edilerek yapıldı (145).

Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

1. Doku homojenizasyon tamponu (0.05 Triton X-100 içeren %1.15'lik KCl çözeltisi): 5.75 g KCl hassas terazide tartıldı, üzerine 0.125 mL Triton X-100 eklendi ve son hacim saf su ile 250 mL' ye tamamlandı.

2. %1'lik H_3PO_4 çözeltisi: Bir miktar saf suya 11.77 mL %85'lik H_3PO_4 ilave edildi ve karıştırıldı. Son hacim saf suyla 1 L' ye tamamlandı.

3. TBA çözeltisi (%0.67'lik): 1.34 g TBA tartıldı ve 100 mL saf su eklendi. 10 dakika karıştırıcıda ısıtılarak manyetik bar kullanılarak çözünmesi sağlandı. Ardından üzerine 100 mL asetik asit eklendi.

4. Standart çözeltiler: 10 $\mu\text{mol/mL}$ 'lik tetrametoksipropan ana çözeltisi hazırlamak için 82.5 μL 1,1,3,3-tetrametoksipropan, 0.01 M 50 mL HCl çözeltisine eklendi ve 50 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu ana stok çözeltiden sırasıyla 200, 100, 50, 25, 12.5 nmol/mL'lik standart çözeltiler hazırlandı.

Homojenizasyon İşlemi

1. Yaklaşık 100 mg tartılan karaciğer dokuları 1 mL'lik homojenizasyon tamponuna aktarıldı.

2. Dokular 30 s süreyle, buz küvetinde 5000 rpm'de homojenizatör kullanılarak homojenize edildi.

3. Homojenize edilen doku 4000 rpm'de, 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant kısım alındı ve TBARS tayini için kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

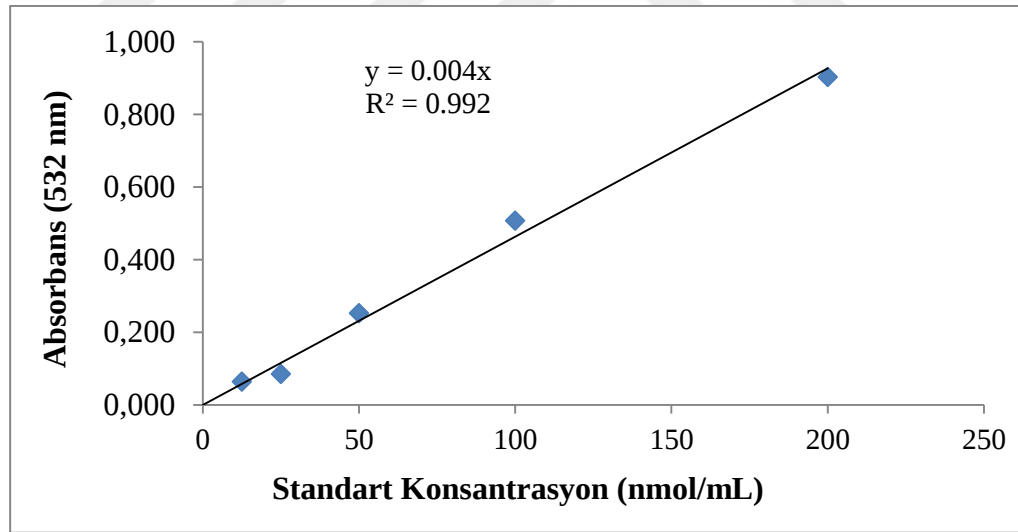
Süpernatant numuneler ve standartlar Tablo 7'de verilen şekilde pipetlenerek deney gerçekleştirildi.

Tablo 7. Doku TBARS seviyesi ölçümü için yapılan işlemler

Reaktifler	Numune (µL)	Standart (µL)
Numune	500	-
Standart	-	500
Fosforik Asit	3000	3000
TBA	1000	1000

Vorteksleme ve 100°C’ de 50 dakika inkübasyon
3000 rpm’ de 10 dakika santrifüjleme
250 µL süpernatant pleytlere aktarma
532 nm’de mikropilaka okuyucusu ile absorbans ölçülmesi

Elde edilen standart grafiğinden (Şekil 12) yararlanılarak doku MDA konsantrasyonu hesaplandı. Standardize etmek için doku protein değerlerine bölünerek karaciğer dokusu MDA seviyeleri nmol/mg protein birimi ile verildi.



Şekil 12. Doku TBARS standart grafiği

3.7.2. İleri Oksidasyon Protein Ürünleri Seviyelerinin Tayini

Plazma ve doku AOPP düzeyleri Witko-Sarsat ve ark. (146) tarafından geliştirilen metod modifiye edilerek belirlendi. Metodun yöntemi başta albümin olmak üzere plazma proteinlerinin HOCl gibi klorlu oksidanlarla oluşturduğu çapraz bağlanma ürünlerinin

potasyum iyodürü oksitlemesi ve açığa çıkan triiyodid iyonunun spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır.

3.7.2.1. Plazma AOPP Seviyesinin Tayini

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1. Potasyum İyodür (KI) Çözeltisi (1.16 M): 9.62 g KI alınıp bir miktar saf suyla çözüldü ve son hacim 50 mL'ye tamamlandı.

2. Asetik Asit: Glasiyel asetik asit saf olarak kullanıldı.

3. Standart Çözeltiler: 10 mmol/mL kloramin-T ana çözeltisi hazırlamak için 22.8 mg kloramin-T standartından tartıldı ve 10 mL fosfat tamponuna ilave edildi. Bu çözeltiden sırasıyla 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.81, 3.90, 1.95, 0.97 mmol/mL'lik standart çözeltiler hazırlandı.

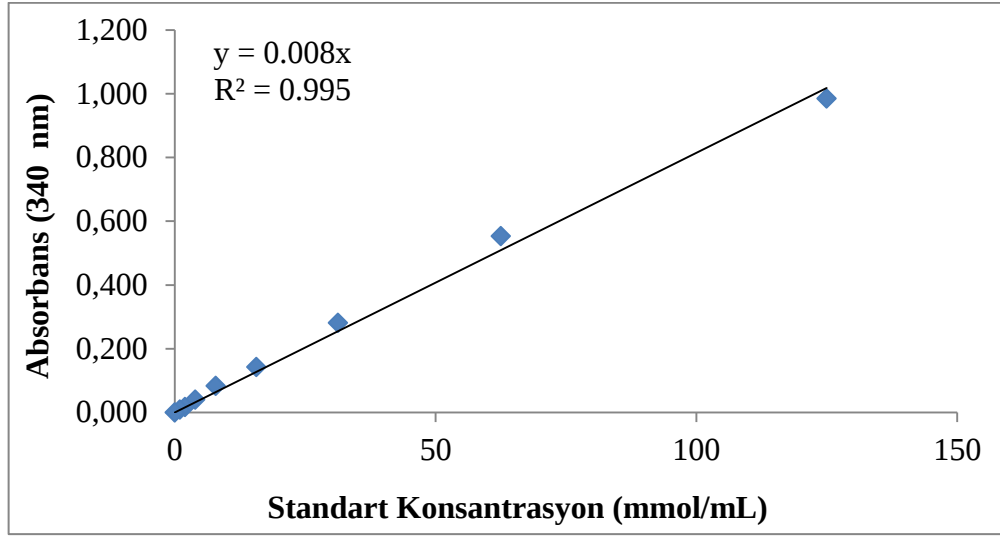
Deneyin Yapılışı

Numuneler ve standartlar Tablo 8'de verilen şekilde pipetlenerek deney gerçekleştirildi.

Tablo 8. Plazma AOPP ölçümü için yapılan işlemler

Reaktifler	Numune (µL)	Standart (µL)
Numune	200	-
Standart	-	200
KI	10	10
2 dakika bekletildi		
Asetik asit	20	20
340 nm'de mikropilaka okuyucuda absorban ölçülmesi		

Elde edilen Kloramin-T standart grafiğinden (Şekil 13) yararlanılarak plazma AOPP konsantrasyonu mmol/mL olarak hesaplandı.



Şekil 13. Plazma AOPP standart grafiği

3.7.2.2. Doku AOPP Seviyesinin Tayini

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1. Fosfat Tamponu (10 mM pH: 7.4): 5.45 g Na_2HPO_4 ve 3.023 g NaH_2PO_4 yaklaşık 400 mL saf suya ilave edilerek çözüldü. pH'sı 7.4'e ayarlandı. Son hacim saf su ile 500 mL'ye tamamlandı.

2. KI çözeltisi (1.16 M): 50 mL KI çözeltisi hazırlandı. 9.62 g KI alınıp bir miktar saf suyla çözüldü ve son hacim 50 mL'ye tamamlandı.

3. Asetik Asit: Glasiyel asetik asit direkt kullanıldı.

4. Standart çözeltiler: AOPP ölçümü için kloramin-T standartı hazırlandı. 10 mmol/mL kloramin-T ana çözeltisi hazırlamak için 22.8 mg kloramin-T çözeltisi 10 mL fosfat tamponunda çözüldü. Sırasıyla 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.81, 3.90, 1.95, 0.97 mmol/mL'lik standart çözeltiler hazırlandı.

Homojenizasyon İşlemi

1. Karaciğer dokuları 70-100 mg arası tartılıp 1 mL'lik homojenizasyon tamponuna aktarıldı.

2. Dokular 30 s süreyle, buz küvetinde 5000 rpm'de homojenizatör kullanılarak homojenize edildi.

3. Homojenize edilen doku 4000 rpm'de, 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant kısım alındı ve AOPP tayini için kullanıldı.

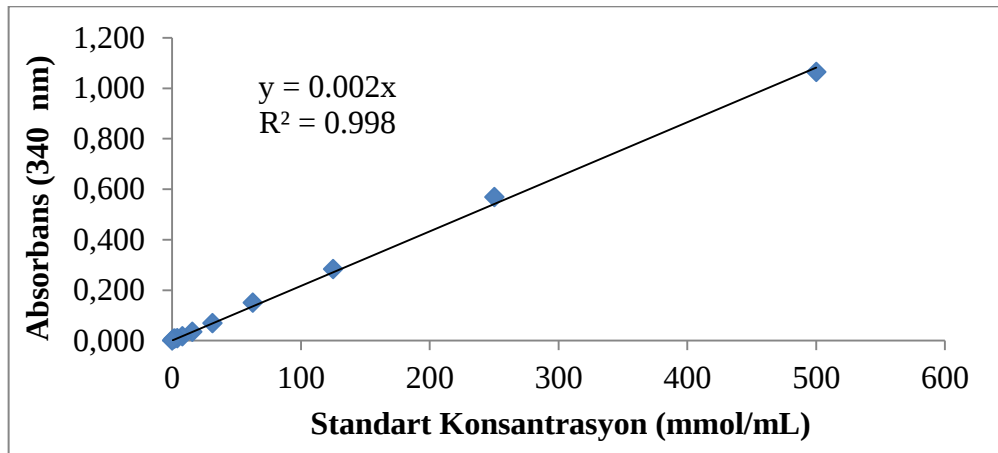
Deneyin Yapılışı

Süpernatant numuneler ve standartlar Tablo 9’da verilen şekilde pipetlenerek deney gerçekleştirildi.

Tablo 9. Doku AOPP seviyesi ölçümü için yapılan işlemler

Reaktifler	Numune (µL)	Standart (µL)
Numune	50	-
Standart	-	50
Tampon	200	200
KI	10	10
2 dakika bekleme		
Asetik asit	20	20
340 nm’de mikropłaka okuyucuda absorbans ölçülmesi		

Elde edilen kloramin-T standart grafiğinden (Şekil 14) yararlanılarak doku AOPP konsantrasyonu hesaplandı. Standardize etmek için doku protein değerlerine bölünerek karaciğer dokusu AOPP seviyeleri nmol/mg protein birimi ile verildi.



Şekil 14. Doku AOPP standart grafiği

3.8. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

İnflamasyon göstergesi olan MPO aktivitesi tayini MPO tarafından oksitlenen H_2O_2 'nin o-dianisidini indirgemesi ve bu indirgenmiş ürünün 460 nm dalga boyunda absorbandsının ölçülmesi esasına dayanır (147, 148).

3.8.1. Plazma MPO Aktivitesi Tayini

Plazma MPO düzeylerinin ölçümü Bradley ve ark. (147) metodu modifiye edilerek yapıldı.

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1. Potasyum Fosfat Tamponu (50 mM pH: 6): 0.26 g K_2HPO_4 ve 3.20 g KH_2PO_4 tartılıp bir miktar suda çözüldü. pH:6'ya ayarlandıktan sonra hacim 500 mL'ye tamamlandı.

2. o-Dianisidin Hidroklorür (0.167 mg/mL)- H_2O_2 (%0.0005) Çözeltisi: 16.7 mg o-dianisidin hidroklorür bir miktar 50 mM potasyum fosfat tamponunda çözüldü. 20 μ L H_2O_2 ilave edildi. Son hacim 50 mM potasyum fosfat tamponu ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

Tablo 10'da verilen şekilde pipetlenmeler yapılarak deney gerçekleştirildi.

Tablo 10. Plazma MPO tayini için yapılan işlemler

Reaktifler	Numune (μ L)	Kör (μ L)
Numune	20	-
Fosfat Tamponu	-	20
o-Dianisidin + H_2O_2 Çözeltisi	280	280
37 °C'de 460 nm'de mikropilaka okuyucuda 5 dakika boyunca absorbands ölçülmesi		

Kinetik ölçüm sonunda elde edilen absorbands değişimi göz önüne alınarak ve aşağıdaki formül kullanılarak plazma MPO aktiviteleri hesaplandı. Sonuçlar U/mL birimi ile verildi.

$$\text{Enzim Aktivitesi} = \frac{\Delta A}{dk} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs}$$

Vt : Toplam Reaskiyon Hacmi (0.3 mL)

Vs : Numune Hacmi (0.02 mL)

ϵ : Molar absorbtivite katsayısı ($\epsilon_{\text{MPO}}=10062 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

l : Işık yolunun uzunluğu (1 cm)

3.8.2. Doku MPO Aktivitesi Tayini

Karaciğer dokularında MPO aktivitesi Hillegas ve ark. (148) tarafından önerilen metotla belirlendi.

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1. Potasyum Fosfat Tamponu (50 mM pH: 6): 0.26 g K_2HPO_4 ve 3.20 g KH_2PO_4 tartılıp bir miktar suda çözüldü. pH: 6'ya ayarlandıktan sonra hacim 500 mL'ye tamamlandı.

2. Potasyum Fosfat Tamponu (50 mM pH: 7.4): 2.692 g K_2HPO_4 ve 1.305 g KH_2PO_4 saf suda çözüldü. pH'sı 7.4'e ayarlandıktan sonra son hacim 500 mL'ye tamamlandı. Doku homojenizasyonu için kullanıldı.

3. Hekzadesiltrimetilamonyumbromür (%0.5 HETAB) + EDTA (10 mM): 0.5 g HETAB ve 0.372 g EDTA tartılıp pH'sı 6 olan 50 mM fosfat tamponunda çözüldü. Son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

4. o-Dianisidin Hidroklorür (0.246 mg/mL)- H_2O_2 (20 mM) Çözeltisi: 24.6 mg o-dianisidin-hidroklorür pH'sı 6 olan fosfat tamponunda çözüldü ve üzerine 114 μL %50'lik H_2O_2 ilave edilip yine aynı fosfat tamponu ile son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

Homojenizasyon İşlemi

1. Karaciğer dokuları 70-100 mg arası tartılıp 1 mL'lik homojenizasyon tamponuna aktarıldı.

2. Dokular 40 s süreyle, buz küvetinde 9500 rpm'de homojenizatör kullanılarak homojenize edildi.

3. Homojenize edilen doku 20000 x g 'de, 20 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant kısım alındı ve MPO tayini için kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

Tablo 11’de verilen şekilde pipetlenemeler yapılarak deney gerçekleştirildi.

Tablo 11. Doku MPO tayini için yapılan işlemler

Reaktifler	Numune (µL)	Kör (µL)
Numune	30	-
Fosfat Tamponu	-	30
o-Dianisidin + H ₂ O ₂ Çözeltisi	230	230
37 °C’de 460 nm’de mikropilaka okuyucuda 5 dakika boyunca absorbans ölçülmesi		

Kinetik ölçüm sonunda elde edilen absorbans değişimi göz önüne alınarak ve aşağıdaki formül kullanılarak plazma MPO aktiviteleri hesaplandı. Standardize etmek için doku protein değerlerine bölünerek karaciğer dokusu MPO aktiviteleri U/mg protein olarak verildi.

$$\text{Enzim Aktivitesi} = \frac{\Delta A}{dk} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs}$$

Vt : Toplam Reaksiyon Hacmi (0.26 mL)

Vs : Numune Hacmi (0.03 mL)

ε : Molar absorbtivite katsayısı (ε_{MPO}=10062 M⁻¹.cm⁻¹)

l : Işık yolunun uzunluğu (0.8 cm)

3.9. Karaciğer Dokusunda Protein Tayini

Karaciğer doku homojenatlarında MDA, AOPP ve MPO seviyelerini standardize etmek için bulunan değerler doku protein seviyelerine bölünerek değerlendirildi. Protein tayini Bradford metoduna (149) göre yapıldı. Bu metodun prensibi, organik bir boya olan Coomassie Brilliant Blue G250’nin fosforik asitli ortamda proteinlere bağlanması ve oluşan mavi renkli kompleksin 600 nm’de maksimum absorbans göstermesi esasına dayanmaktadır.

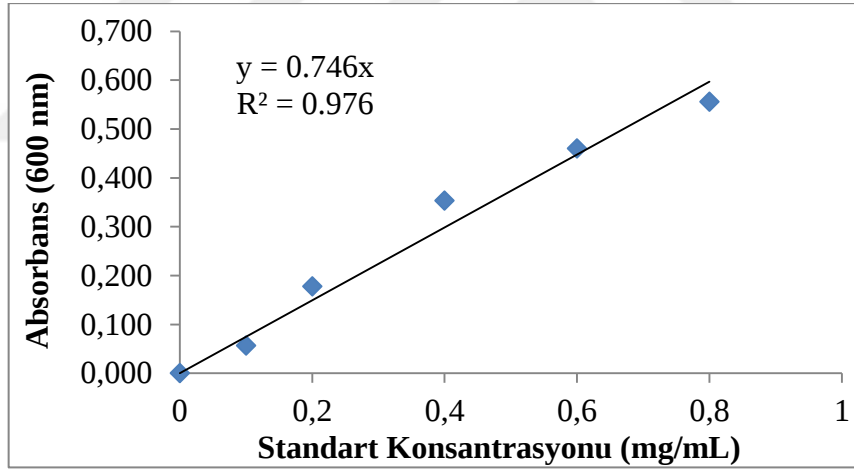
Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

1. Bradford Reaktifi: 10 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 %95'lik 5 mL etanol ile çözüldü. Daha sonra üzerine 10 mL %85'lik H₃PO₄ eklendi. Son hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.

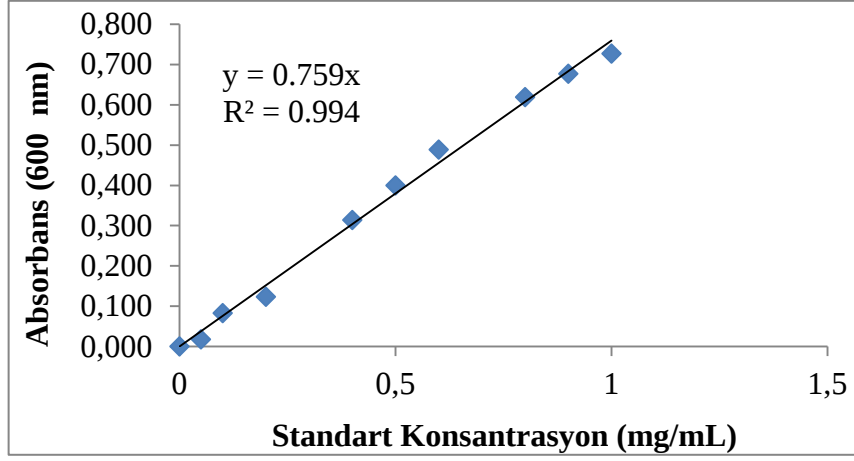
2. Standart Çözeltiler: Bovin serum albümin (BSA) standartları 1, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 mg/mL'lik konsantrasyonlarda hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

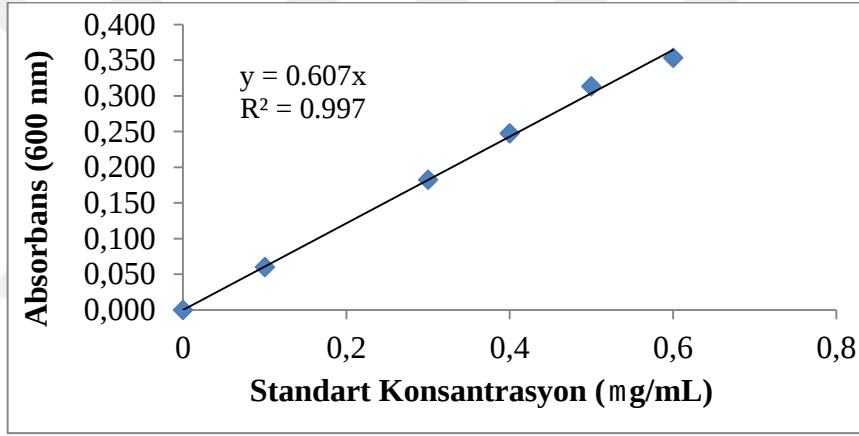
10 µL numune ve standart mikropalakalara yüklendikten sonra 100 µL Bradford reaktifi eklendi ve 10 dakika karanlıkta düşük hızda sallanarak bekletildi. 600 nm'de mikropalaka okuyucuda absorbanlar okundu. Protein konsantrasyonları mg/mL olarak hesaplandı. Protein standart grafikleri doku MDA seviyesi için Şekil 15'de, AOPP seviyesi için Şekil 16'da ve MPO aktivitesi için Şekil 17'de gösterilmiştir.



Şekil 15. Doku TBARS ölçümünde kullanılan protein standart grafiği



Şekil 16. Doku AOPP ölçümünde kullanılan protein standart grafiği



Şekil 17. Doku MPO ölçümünde kullanılan protein standart grafiği

3.10. İstatistiksel Yöntemler

Veriler SPSS (IBM SPSS 23) programında istatistiksel olarak değerlendirildi. Çalışma verilerinin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edildi. Normal dağılıma uymayan ikiden fazla değişkenin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi ve ikili değişken için Mann-Whitney U testi uygulandı. Sonuçlar medyan-çeyrekler arası aralık (IQR) ve %95 güven aralığı (CI) olarak ifade edildi. $p < 0.05$ istatistiksel anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

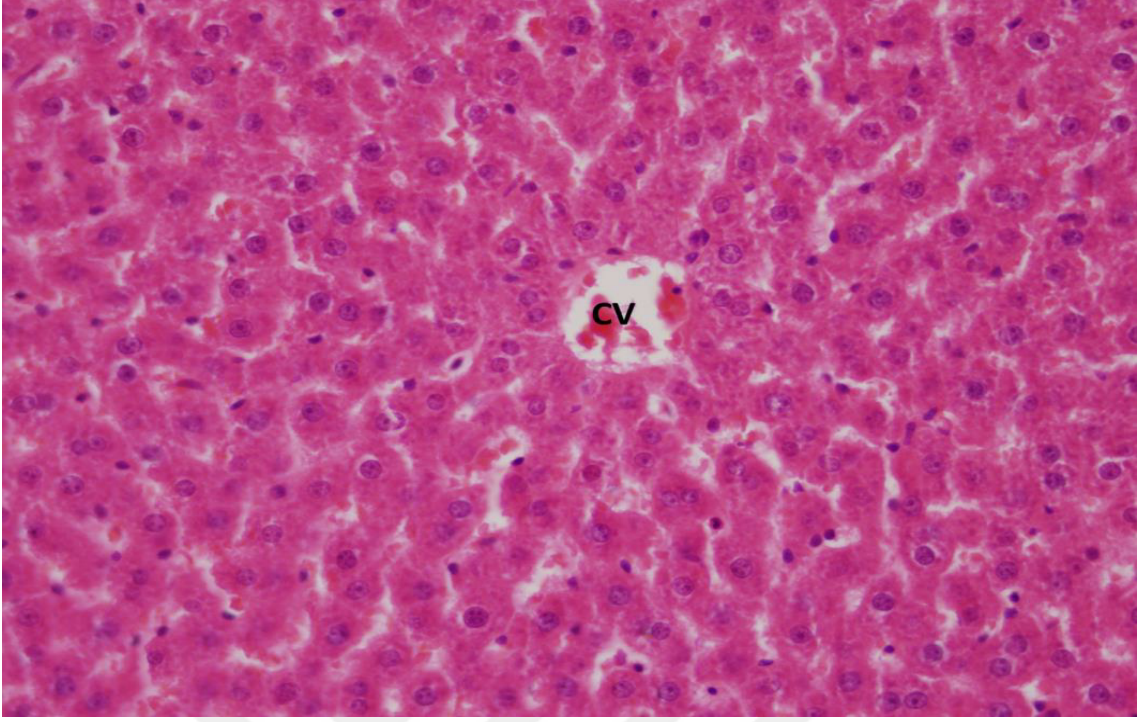
4.1. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik yapılan incelemelerde doku hasarı skorlaması, sepsis bulgularının karaciğer dokusundaki yaygınlık derecesine göre gerçekleştirildi. Konjesyon 1, ödem 2, inflamatuvar hücre infiltrasyonu 3 ve nekroz veya dejenerasyon 4 puan olarak değerlendirildi. Her preparat için toplam skor (0-10) belirlendi (Tablo 12).

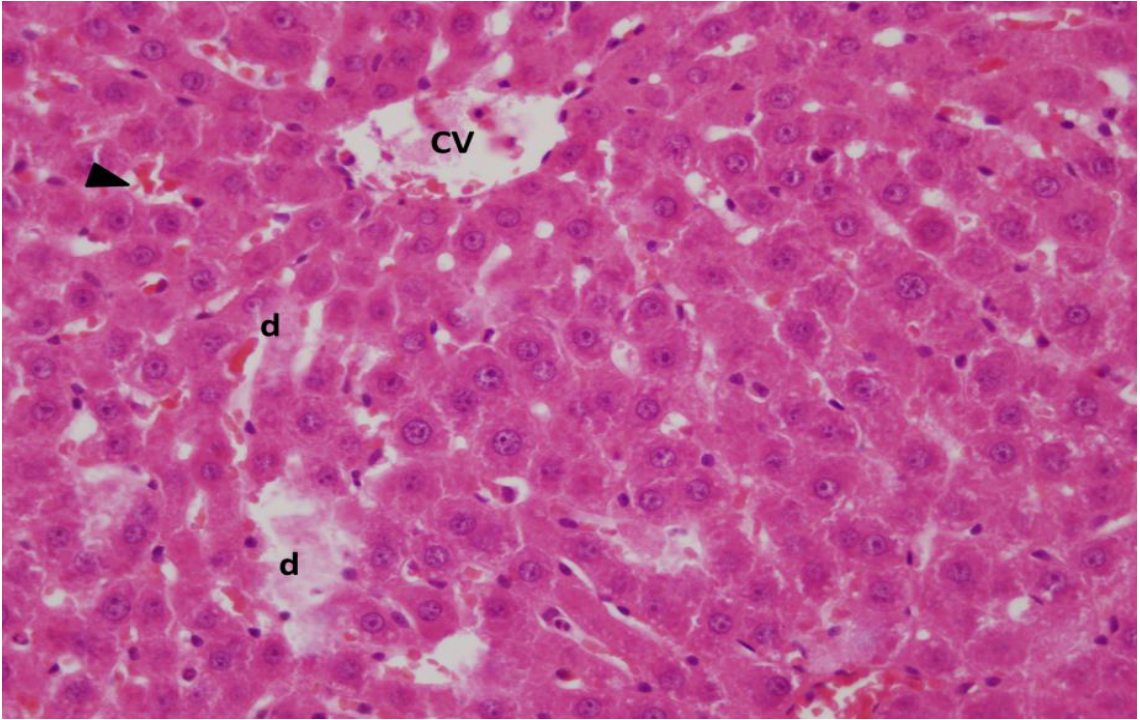
Tablo 12. Gruplarda karaciğer dokusunda sepsis bulgularının skorlanması

Sıçan No	Kontrol	ÇLP	ÇLP+LT1	ÇLP+LT2	ÇLP+LT3
1	1	7	6	6	4
2	2	8	6	7	5
3	2	7	-	8	4
4	2	8	7	6	4
5	1	7	8	5	3
6	3	9	7	7	4
7	1	8	5	6	3

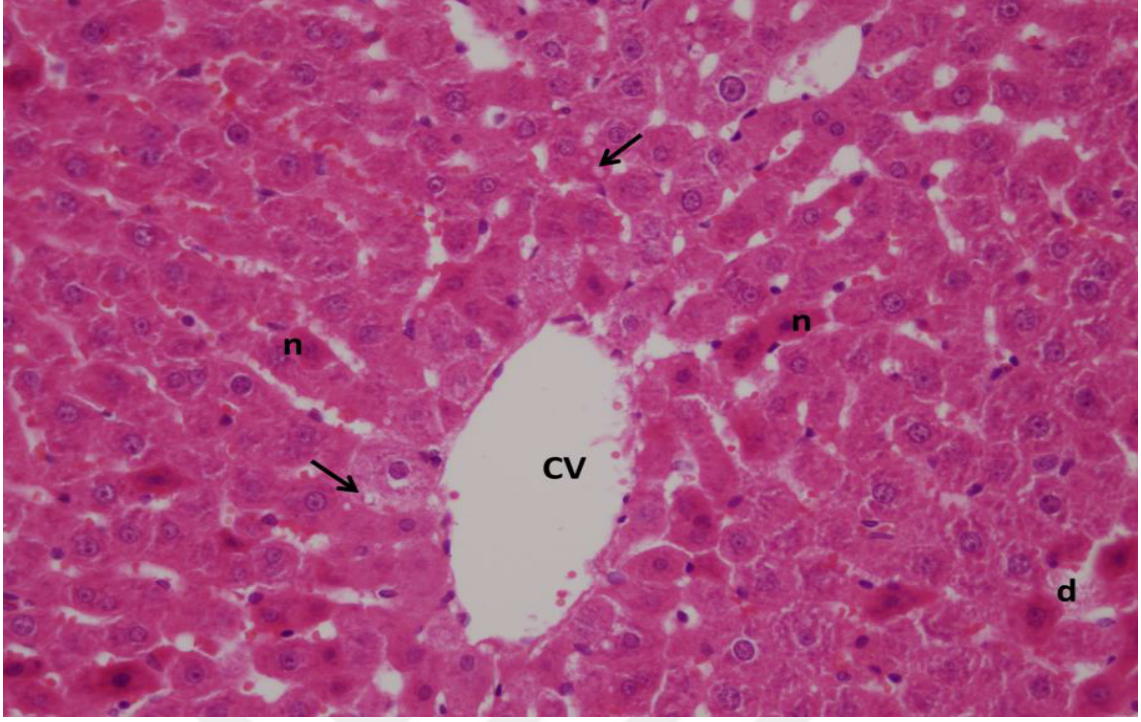
Kontrol grubunda sağlıklı hepatositler olduğu ve hasar gelişmediği görüldü (Resim 1). ÇLP grubunda ise fokal dejenerasyon alanlarının sık olduğu, çoğu bölgede ödem, damarlarda konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 2 ve 3). Yani ÇLP grubunun toplam hasar skoru kontrol grubuna göre oldukça yüksekti ($p=0.01$). LT ile tedavi edilen gruplarda ÇLP grubuna göre hasar skoru anlamlı düşük ($p<0.05$) olmasına rağmen en fazla farklılık yüksek doz ile tedavi edilen grupta tespit edildi. ÇLP grubuna göre anlamlı farklılık düzeyleri ÇLP+LT1 grubu için $p=0.027$, ÇLP+LT2 için $p=0.008$ ve ÇLP+LT3 için $p=0.001$ olarak bulundu. ÇLP+LT1 grubunda ÇLP grubuna göre daha az nekrotik hepatosit mevcut olsa da ödem, konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu devam etmekteydi (Resim 4). ÇLP+LT2 grubunda fokal dejenerasyon alanlarında azalma olduğu ancak ödem, konjesyon ve hücre infiltrasyonun devam etmekte olduğu görüldü (Resim 5). ÇLP+LT3 grubunda diğer gruplara kıyasla daha az sayıda nekrotik hepatositler izlenmekte olup fokal dejenerasyon alanlarının oldukça azaldığı ancak bazı bölgelerde ödem, damarlarda konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun devam etmekte olduğu gözlemlendi (Resim 6). Tedavi grupları kendi içerisinde karşılaştırıldığında ÇLP+LT3 grubunda toplam hasar skoru daha düşük bulundu ($p<0.05$).



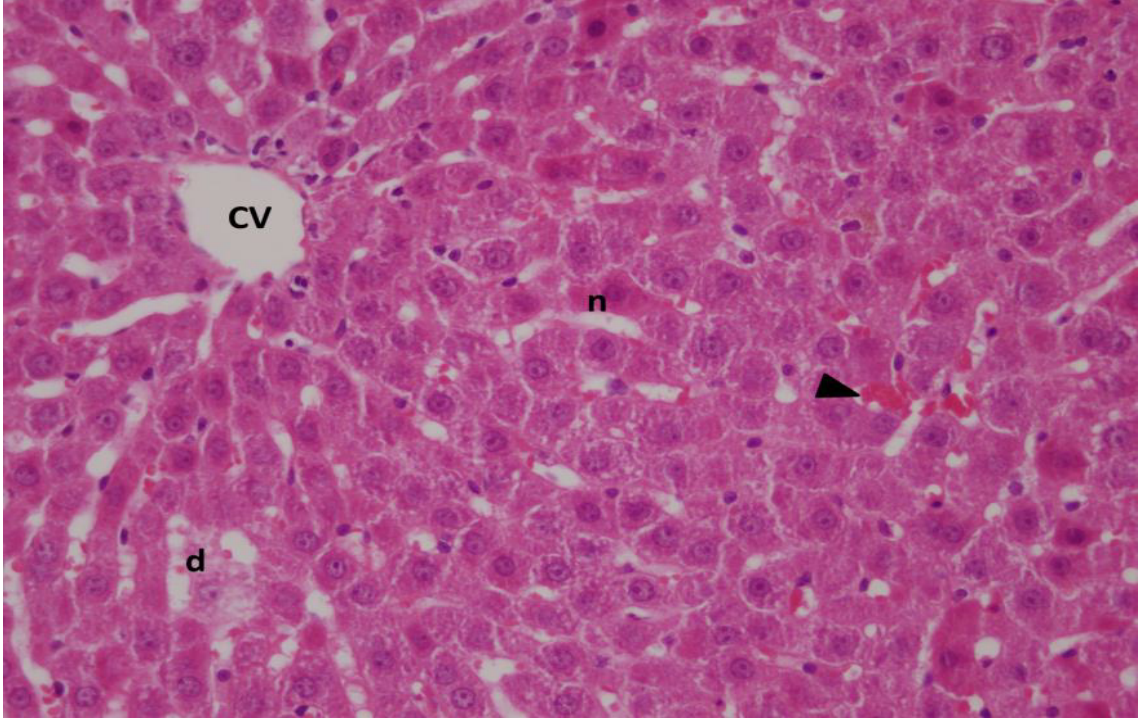
Resim 1. Kontrol grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf (H&E x400)
CV: santral ven



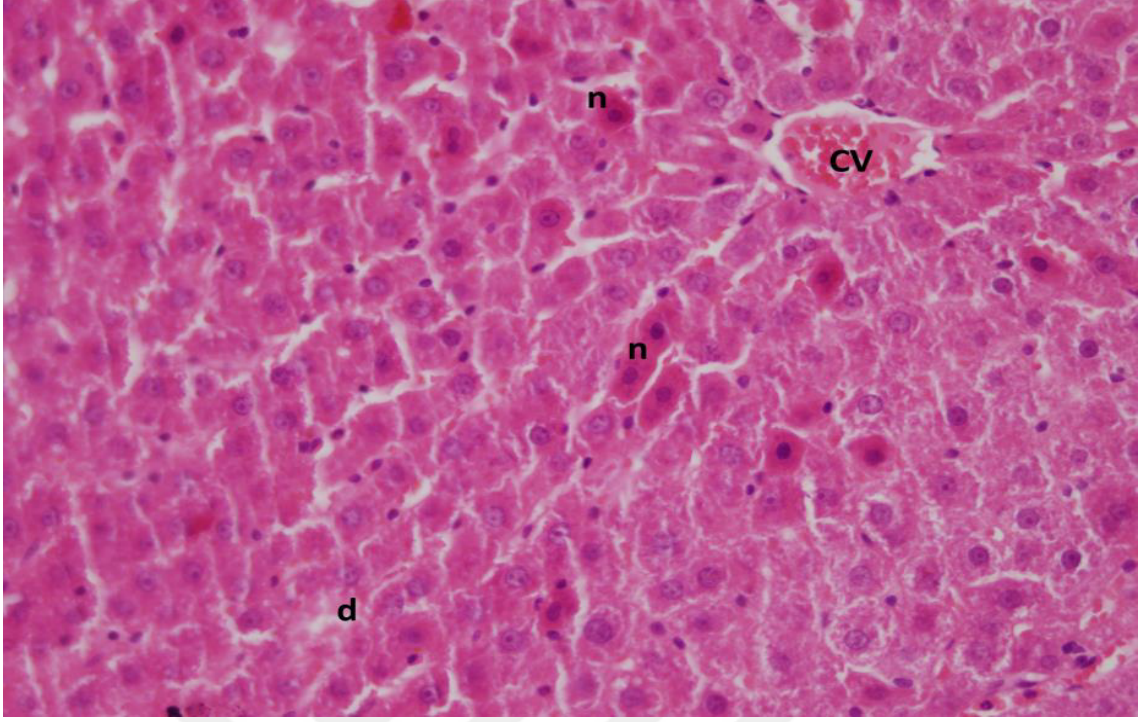
Resim 2. ÇLP grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf (H&E x400)
CV: santral ven, d: fokal dejenerasyon alanları, ok başı: konjesyon



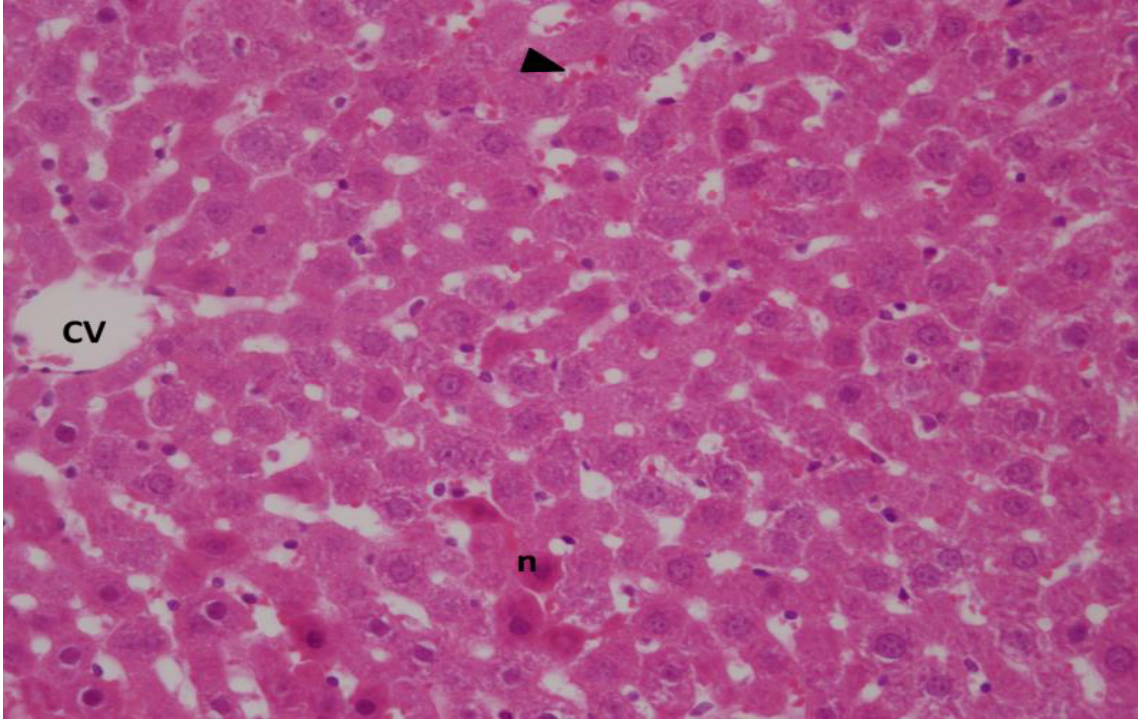
Resim 3. ÇLP grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf-2 (H&E x400)
CV: santral ven, n: eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu nekrotik hepatositler,
d: fokal dejenerasyon alanları, ok: hepatositlerde vakuol



Resim 4. ÇLP+LT1 grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf (H&E x400)
CV: santral ven, n: eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu nekrotik hepatositler,
d: fokal dejenerasyon alanları, ok başı: konjesyon



Resim 5. ÇLP+LT2 grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf (H&E x400)
CV: santral ven, n: eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu nekrotik hepatositler,
d: fokal dejenerasyon alanları, ok başı: konjesyon



Resim 6. ÇLP+LT3 grubu karaciğer dokusuna ait fotomikrograf (H&E x400)
CV: santral ven, n: eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nükleuslu nekrotik hepatositler,
ok başı: konjesyon

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Düzeyleri

Tablo 13’de otoanalizör ile belirlenen biyokimyasal parametrelerin düzeyleri gösterildi. Plazma laktat düzeyleri açısından bakıldığında ÇLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik belirlendi ($p=0.004$). ÇLP+LT verilen grupların tamamında ÇLP’ye göre ve kendi içinde istatistiksel boyutta anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$).

Serum LDH düzeyleri ÇLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.004$). LT ile tedavi gruplarından sadece ÇLP+LT3 grubunda ÇLP grubuna göre anlamlı düşüklük tespit edildi ($p=0.025$). Theanin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$).

Serum ALT düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenemedi ($p>0.05$).

Serum AST düzeyleri ÇLP grubunda kontrole göre istatistiksel anlamlı yükseklikte idi ($p=0.004$). ÇLP+LT1 ve ÇLP+LT3 gruplarında ÇLP grubuna göre anlamlı düşüklük gözlenmesine ($p<0.05$) rağmen ÇLP+LT2 grubunda istatistiksel olmayan düzeyde ($p>0.05$) düşüklük bulundu. LT grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$).

Serum BUN düzeyleri ÇLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p=0.001$). Sadece ÇLP+LT3 grubunda ÇLP grubuna göre anlamlı düşüklük görüldü. LT grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$).

Serum kreatinin düzeyleri ÇLP grubunda kontrole göre anlamlı yüksekti ($p=0.04$). ÇLP+LT1 ve ÇLP+LT2 gruplarında ise ÇLP grubuna göre anlamlı düşüktü (Sırasıyla $p=0.01$ ve $p=0.046$). LT grupları içerisinde ÇLP+LT3 grubunun kreatinin düzeyleri diğer LT gruplarına göre anlamlı yüksekti ($p>0.05$).

BUN/kreatinin oranı ÇLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen sınırda yüksekti ($p=0.054$). Sadece ÇLP+LT3 grubu ÇLP grubuna göre anlamlı oranda düşüktü ($p=0.01$). LT grupları karşılaştırıldığında ÇLP+LT3 grubun diğer LT gruplarına göre anlamlı düşüklükte idi ($p<0.05$).

Tablo 13. Gruplarda biyokimyasal parametrelerin düzeyleri (n=7)

Parametreler	Kontrol	ÇLP	ÇLP+ LT1	ÇLP+ LT2	ÇLP+ LT3
Laktat (mg/dL)	[5.19 (1.79)] (4.2-9.78)	[10.03 (12.65)] ^a (6.89-23.62)	[9.73 (4.76)] ^a (7.34-12.46)	[9.13 (2.29)] ^a (6.28-14.88)	[9.48 (4.98)] ^a (6.57-16.13)
LDH (U/L)	[146 (83)] (109-228)	[335 (243)] ^a (216-715)	[269 (216)] ^a (144-481)	[271(312)] ^a (169-528)	[237 (128)] ^b (76-271)
ALT (U/L)	[45 (19)] (32-65)	[52 (11)] (42-60)	[43 (9.50)] (39-53)	[50 (8)] (40-58)	[52 (21)] (34-66)
AST (U/L)	[136 (45)] (99-182)	[192 (64)] ^a (150-249)	[158 (27)] ^b (124-171)	[169 (60)] ^a (152-227)	[162 (56)] ^b (103-198)
BUN (mg/dL)	[14 (3.25)] (12-17)	[17 (0.75)] ^a (17-19)	[17 (1)] ^a (13-19)	[15 (4)] (13-18)	[15 (3)] ^b (12-17)
Kreatinin (mg/dL)	[0.25 (0.03)] (0.22-0.26)	[0.26 (0.03)] ^a (0.25-0.31)	[0.23 (0.03)] ^b (0.20-0.26)	[0.24 (0.04)] ^b (0.21-0.30)	[0.29 (0.05)] ^{a,c,d} (0.26-0.32)
BUN/Kreatinin	[56 (7.69)] (52-68)	[65 (7.29)] (55- 72)	[68 (7.15)] ^a (65-77)	[64 (11.74)] ^a (58-71)	[52 (11.02)] ^{c,d} (41-65)

Sonuçlar: [Medyan (IQR) minimum-maksimum]; (%95 CI) şeklinde verildi.

^a: kontrol; ^b: ÇLP; ^c: ÇLP+LT1; ^d: ÇLP+LT2 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).

4.2.2. Oksidatif Stres ve İnflamatuvar Parametrelerinin Düzeyleri

Çalışma gruplarında plazma ve karaciğer dokusu oksidatif stres ve inflamatuvar parametrelerinin düzeyleri Tablo 14’de verildi.

Lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA (TBARS) düzeyleri plazma ve dokuda ÇLP grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti (sırasıyla $p=0.004$ ve $p=0.025$). Plazmada LT gruplarının ÇLP gruplarına göre ve kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığı bulunamadı ($p>0.05$). Dokuda LT gruplarının hepsi ÇLP gruplarına göre anlamlı düşüklükte idi. Anlamlılık düzeyleri ÇLP+LT1 için $p=0.003$, ÇLP+LT2 için $p=0.009$ ve ÇLP+LT3 için $p=0.032$) olarak belirlendi. LT grupları kendi içerisinde anlamlı düzeyde farklılık göstermedi ($p>0.05$).

Protein oksidasyonunun göstergesi olan AOPP düzeyleri plazma ve dokuda ÇLP grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksekti (sırasıyla $p=0.006$ ve $p=0.003$). Plazmada LT grubunun düzeyleri ÇLP grubuna anlamlı düşüklükte idi. Anlamlılık düzeyleri ÇLP+LT1 için $p=0.007$, ÇLP+LT2 için $p=0.003$ ve ÇLP+LT3 için $p=0.004$ seviyesinde idi. Dokuda LT grupları kendi içinde ve ÇLP grubu arasında anlamlı bir farklılık göstermedi ($p>0.05$).

İnflamasyon göstergesi olan MPO düzeyleri ÇLP grubunda kontrol grubuna göre plazmada anlamlı yüksek ($p=0.046$) iken dokuda yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık seviyesinde değildi ($p=0.055$). Plazma ve dokuda LT grupları ÇLP grubu ile karşılaştırıldığında ÇLP+LT3 grubu düzeyleri düşük olmasına rağmen anlamlılık tespit edilemedi ($p>0.05$).

Tablo 14. Gruplarda plazma ve dokuda oksidatif stres ve inflamatuvar parametrelerin düzeyleri (n=7)

Parametreler	Kontrol	ÇLP	ÇLP+ LT1	ÇLP+ LT2	ÇLP+ LT3
Plazma					
TBARS (nmol/mL)	[1.31 (0.30)] (1.03-1.51)	[1.52 (0.79)] ^a (1.43-3.06)	[1.75 (1.03)] (1.05-2.55)	[1.35 (0.87)] (1.02-1.97)	[1.90 (0.82)] (1.12-2.10)
AOPP (mmol/mL)	[274 (302)] (151-477)	[525 (118)] ^a (368-673)	[261 (221)] ^b (129-416)	[248 (122)] ^b (180-407)	[270 (212)] ^b (140-424)
MPO (U/mL)	[28 (10)] (22-38)	[41 (30)] ^a (19-70)	[39 (14)] (23-60)	[46 (25)] ^a (30-65)	[28 (14)] ^d (19-48)
Doku					
TBARS (nmol/mg protein)	[8.08 (2.82)] (6-11)	[11 (11.29)] ^a (8-30)	[6.53 (1.84)] ^b (5-9)	[6.24 (3.83)] ^b (5-11)	[7.40 (7.08)] ^b (4-20)
AOPP (mmol/mg protein)	[96 (13.45)] (84-102)	[111 (16.16)] ^a (104-130)	[101 (18.37)] (76-112)	[133 (46.78)] ^a (98-161)	[130 (34.07)] ^a (99-134)
MPO (U/mg protein)	[0.76 (0.90)] (0.12-1.46)	[1.70 (2.26)] (0.77-5.17)	[2.09 (1.45)] ^a (1.17-3.16)	[2.43 (1.17)] ^a (1.24-4.35)	[1.04 (1.65)] (0.63-3.96)

Sonuçlar: [Medyan (IQR) minimum-maksimum]; (%95 CI) şeklinde verildi.

^a; kontrol; ^b; ÇLP; ^c; ÇLP+LT1; ^d; ÇLP+LT2 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sepsis yüksek ölüm oranı ile yoğun bakım ünitelerinde kendini gösteren ciddi bir sorundur. Sepsiste hemostatik denge bozukluğu, endotel disfonksiyonu özellikle böbrek ve karaciğer hasarı olmak üzere organ fonksiyon bozuklukları, kardiyovasküler bozukluklar, hücrede hipoksi ve apoptoz görülür (13). Günümüzde sepsis tedavisine yönelik verilen antibiyotik tedavisi ve yoğun bakım alanındaki son gelişmelere rağmen, sepsis yaygın bir sorun olmaya devam etmektedir. Sepsisin tedavisine yönelik arayışlar ise hala devam etmektedir (150, 151).

Bu çalışmada Türkiye’de çokça tüketilen siyah ve yeşil çayın özel amino asidi olan LT’in farklı dozlarının Sprague Dawley erkek sıçanlarda sepsis kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisi olup olmadığı belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla serum biyokimyasal parametrelerinin (laktat, LDH, ALT, AST, BUN, kreatinin) seviyeleri; karaciğer ve plazma oksidatif stres parametreleri olan TBARS ve AOPP seviyeleri, inflamatuvar parametre olan MPO aktiviteleri ve karaciğer doku histopatolojik bulguları değerlendirildi.

Çalışmamızda deneysel sepsis modeli olarak kemirgenlerde en yaygın kullanılan model olan ve altın standart olarak kabul edilen ÇLP yöntemi kullanıldı. ÇLP modeli; tekniğinin kolay olması, genel tekrarlanabilirliği ve insan hastalığının progresyonuna benzerliği nedeniyle en çok tercih edilen deneysel modeller arasındadır (152). Bu model, polimikrobik sepsisin indüksiyonu için gerçekçi bir modeldir. ÇLP, orta hat laparotomisi sonrası ileoçekal valfin altında bağlanmayı takiben çekumun iğne ile delinmesi esasına dayanır (143). ÇLP yöntemi kullanılarak; hemodinamik ve biyokimyasal açıdan, sepsis sonucu beklenen etkilerin çoğu ilk 24 saatte elde edilebilmektedir (153). Sepsisin erken döneminde hiperdinamik evrede artmış organ perfüzyonu, hiperglisemi ve hiperinsülinemi görülürken bunu takiben geç hipodinamik evrede azaltılmış organ perfüzyonu, hipoglisemi ve hiperlaktatemi gibi semptomlar gelişir (154).

Çalışmamızda laktat, LDH ve AST düzeyleri ÇLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$) (Tablo 13). ALT seviyelerinde ise anlamlı bir farklılık gözlenemedi ($p>0.05$). Sepsiste akut dönemde görülen hiperlaktatemi doku hipoperfüzyonunun bir belirtisi olarak kabul edilmektedir. Klinik çalışmalar, sepsisli hastalarda laktat seviyelerinin artmasının önemli bir nedeni olarak oksijen tüketimi ile karakterize doku hipoksisi ve doku hipoperfüzyonunu vurgulamıştır (155). Sepsiste hipoksi durumu meydana geldiği için anaerobik glikoliz yolu aktif olmakta ve laktat üretiminde

artış meydana gelmektedir (156). Sepsis sonucu yükselen laktat düzeyleri literatürde de belirtilmektedir. Çoklu organ yetmezliği ve ölümünün bir göstergesi olarak laktat klerensinin incelendiği bir çalışmada, başlangıçta hastalarda yüksek laktat seviyeleri gözlemlendiği, ancak 6 saat acil servis müdahalesi sonrası laktat klerensi yüksek olan hastaların laktat klerensi düşük olanlara kıyasla daha iyi sonuçlar elde ettiği gözlenmiştir (157). Yoğun bakımdaki sepsisli hastalarda yapılan çalışmada, vefat eden hastalarda laktat değerleri iyileşen hastalara göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur (158). Son zamanlarda yapılan bir metabolik çalışma, LPS'nin ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazlara bağlı bir mekanizma aracılığıyla makrofajlarla glukoz tüketimini, laktat üretimini ve inflamasyonu arttırdığını göstermiştir (159).

Sepsiste hücre içi laktatın piruvata oksidasyonunu katalizleyen LDH düzeyinin yükselmiş seviyeleri, reperfüzyon sırasında oluşan bakteriyel toksinlere, iskemiye ve reaktif oksijen türlerine bağlı hücre hasarını içeren çeşitli mekanizmalardan kaynaklanabilir. Sepsisli hastalarda yapılan bir çalışmada serum LDH düzeylerinde artış görülürken, aynı zamanda bu artışın laktat değeri ile de orantılı olduğu bildirilmiştir (160). Dragica ve ark. (161) ÇLP metodu ile sepsis oluşturduktan 12 saat sonra LDH düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu belirtmişlerdir. Tsao ve ark. (162) sıçanlarda ÇLP ile sepsis oluşturduktan 18 saat sonra LDH düzeylerinde artış olduğunu ifade etmişlerdir.

Şiddetli sepsis veya septik şokun erken evresinde serum aminotransferaz düzeylerinin (ALT ve AST) yükselmesi sepsiste hepatik disfonksiyon tanısı için önem arz etmektedir (163). Yapılan bir çalışmada ÇLP uygulamasından 20 saat sonra AST, ALT seviyelerinde kontrole göre anlamlı yükseklik olduğu tespit edilmiştir (164). Hu ve ark. (165) ÇLP uygulamasının 24. saatinde yüksek ALT ve AST seviyeleri belirlemişlerdir. LPS (10 mg/kg, i.p.) ile sepsis modeli oluşturulan sıçanlarda ALT, AST ve ALP enzimlerinin sepsis grubunda yükseldiği, LPS'nin karaciğerde proteazlar ve serbest oksijen radikallerinin salınımını artırarak hasar oluşturduğu bildirilmiştir (85).

Bizim çalışmamızda ÇLP grubunda AST anlamlı yüksek iken ($p<0.05$) ALT seviyelerinde anlamlı yükseklik tespit edilememiştir (Tablo 13) ($p>0.05$). ALT ve AST karaciğerde yüksek oranda bulunmasına rağmen AST karaciğer dışında kalp, iskelet kasları, böbrek, beyin, eritrositlerde bulunur. Bu yüzden karaciğer hasarı için ALT'nin daha spesifik bir belirteç olduğu belirtilmektedir. Ancak hipoksi durumunda hassas olan hepatik asinözün 3. bölgesi yüksek oranda AST içerir ve bu bölgede iskemik ya da toksik

bir hasar olduğuunda AST seviyelerinde daha fazla değişim gözlenir. İskemi ya da toksik etkilere bağlı bir karaciğer hasarında enzimin intralobüler dağılımından dolayı AST genellikle ALT'den daha önce pik yapar. Bu yüzden çalışmamızda AST değerinin anlamlı yüksek çıkması sepsis sonucu gelişen hipoksi durumuna bağlanabilir. Ayrıca ALT karaciğerde yalnızca hücresel sitoplazmada bulunurken, AST hem sitozolik hem de mitokondriyal sistemde bulunur (166). AST düzeylerinin artışının sepsis kaynaklı mitokondriyal bozukluklarla da ilişkili olabileceği düşünölmektedir (31).

Sepsiste karaciğer hasarı ile birlikte böbrek hasarı da gözlenebilmektedir. Böbrek ve karaciğer fonksiyonlarının düzeni birbirine bağlıdır. Karaciğer hastalarının %20-25'inde böbrek hastalığı da meydana gelmektedir (167). Her ikisindeki fonksiyon kaybı çoklu organ hasarına neden olup, ciddi hastalıkları ortaya çıkarmaktadır (168). Çalışmamızda böbrek fonksiyon testlerinden kreatinin ve BUN düzeyleri ÇLP grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdi ($p<0.05$). Sepsiste lokal inflamatuvar medyatörler renal mikrosirkülasyonu değiştirerek, endotelial yapıya zarar vererek böbrek fonksiyonlarını bozarlar (169). Sepsisin erken evrelerinde renal kan akımındaki azalmaya bağlı olarak üre ve asit klerensinde azalma, asit-baz dengesinde bozulma görülürken renal tübüllerde çok bir değişim olmamaktadır. Fakat sepsiste gözlenen uzun süreli renal iskemi, tübüler hücre hasarı ve akut tübüler nekroz gelişimine yol açmakta (43) ve bunun sonucunda idrar çıkışında azalma, kreatinin değerlerinde ise artış görölmektedir (44). Aynı şekilde ürenin tübüler reabsorbsiyonu ve glomerüler filtrasyonda azalma gibi durumlarında BUN seviyelerinde değişime neden olduğu düşünölmektedir (170).

Froon ve ark. (171) yoğun bakımdaki sepsisli hastalarda yaptıkları çalışmada plazma çözünür TNF reseptörü konsantrasyonlarının plazma kreatinin konsantrasyonlarıyla orantılı olduğunu tespit etmişlerdir. ÇLP uygulanmış sıçanlarda yapılan bir çalışmada, BUN ve kreatinin düzeylerinde artış olduğu ifade edilmiştir (172). Benzer şekilde Yasuda ve ark. (173) ÇLP işlemi ile sepsis oluşturdıkları sıçanlarda serum kreatinin ve BUN düzeylerinin 6. saatte anlamlı olarak arttığını, 24. saatte ise pik yaptığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda BUN/Kreatinin oranına bakıldığında ÇLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte sınırda yükseklik tespit edildi ($p=0.054$). BUN/kreatinin oranı dehidratasyonu belirlemek için kullanılır. Sepsis tablosunda, renal yetmezlik gibi birçok hastalığa bağlı olarak dehidratasyon gözlenir (174). Sepsiste glomerüler filtrasyon basıncı ne kadar düşük olursa, o kadar az filtrat üretilir ve bu

filtrat uzun süre tübüler sistem içinde hareket eder. Bu durum ise üre emiliminin artmasına ve BUN/kreatinin serum oranının artmasına neden olur (175). Bu nedenle çalışmamızda  LP grubunda dehidratasyon meydana gelmiş olabileceğini söylemek mümkündür.

Karaciğer dokuları histopatolojik yönden incelendiğinde kontrol grubunda normal olarak değerlendirilen histopatolojik görüntüler gözlenirken (Resim 1)  LP grubunda hepatosit bütünlüğünün bozulduğu belirlendi.  LP grubunda sitoplazmalı nekrotik hepatositler, hücre sınırlarının kaybolduğu çok sayıda fokal dejenerasyon alanları, çoğu bölgede ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlendi (Resim 2 ve 3). Konjesyon, ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu nekroz veya dejenerasyon yönünden doku hasarı skorlaması yapıldığında  LP grubunda kontrol grubuna göre karaciğer hasarının anlamlı yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 12).

Histopatolojik bulgular  LP yöntemi ile oluşturulan sepsisin başarılı olduğunu ve karaciğer hasarının meydana geldiğini göstermektedir. Bu bulgular biyokimyasal bulguları da desteklemektedir. Akut karaciğer hasarı inflamasyonun başlamasını ve çoğalmasını tetikleyip, hepatik sentez kapasitenin düşmesine ve metabolizmanın bozulmasına neden olur. ATP tükenmesi ile beraber akut metabolik bozulma meydana gelir ve karaciğer dokusunda nekroz görülür (176). Ayrıca ATP tükenmesi sonrasında hücre şişmesi, mitokondriyal depolarizasyon, lizozomal bozulma ve nihayetinde hücre harabiyeti de meydana gelir. Hücresel hasar, hücre içi içeriklerin dökülerek ikincil bir inflamasyonunda başlamasına neden olmaktadır (177). Sepsiste NF B aracılı mekanizmanın aktivasyonuna bağlı olarak, karaciğerden salınan TNF, IL-1, IL-6, interferon-  gibi proinflamatuvar sitokinler de karaciğerde sistemik inflamasyonu destekler ve karaciğerdeki yapıyı değiştirip anormal hepatosit rejenerasyonuna yol açar (11).

Literatürde de  LP yöntemi ile sepsis oluşturulduktan sonra karaciğer dokusunda patolojik değişiklikler olduğu belirtilmiştir. Sıçanlarla yapılan bir çalışmada  LP ile sepsis oluşturduktan 24 saat sonra karaciğerde santral ven tıkanıklığı, akut hücre şişmesi ve hepatositlerde nekroz gözlendiği ifade edilmiştir (178). Diğer bir çalışmada da  LP grubunda karaciğer örneklerinde özellikle sinüzoidal dilatasyonlar ve portal alanda hücresel inflamasyon gözlenmiştir (179). Benzer şekilde başka bir çalışma da  LP grubunda karaciğer hasarı geliştiği, yüksek derecede inflamasyon, hücre infiltrasyonu, nekroz ve hepatosit çekirdeklerinde morfolojik değişiklikler olduğu raporlanmıştır (180). Farelerde  LP ile indüklenen sepsiste 24 saat sonra, karaciğer dokusunda inflamatuvar

hücre infiltrasyonu, nekroz, dejenerasyon, düzensiz santral ven konjesyonu olduğu belirtilmiştir (181). Tüm bu bulgular bizim sonuçlarımızla da orantılı bulunmuştur.

Çalışmamızda inflamatuvar sürecin bir göstergesi olarak değerlendirilen MPO aktiviteleri incelendiğinde, ÇLP grubunda kontrol grubuna göre plazmada anlamlı yükseklik ($p<0.05$), dokuda ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde sınırda yükseklik ($p=0.054$) tespit edildi (Tablo 14). MPO aktivitelerindeki bu değişiklik histopatolojik bulguları desteklemektedir. Sepsiste inflamasyona bağlı olarak açığa çıkan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi inflamatuvar medyatörler, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz ve MPO gibi enzimlerin aktivitelerinin artışına yol açarlar (22, 84). Ayrıca nötrofil aktivasyonu da granüllerden MPO enziminin salınmasına ve MPO düzeylerinde artışa neden olmaktadır (182). MPO deneysel sepsis çalışmalarında nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olarak kullanılmaktadır (183) ve sepsis, yanık gibi inflamatuvar süreçlerde arttığı gösterilmiştir (5). Şener ve ark. (184) tarafından sıçanlarda yapılan çalışmada sepsis durumunda karaciğer dokusunun MPO seviyelerinde kontrole göre artış gözlenmiştir. Kolgazi ve ark. (185) sıçanlarda endotoksemi ile hasar oluşturmuş ve incelenen dokulardaki oksidan hasarın MPO aktivitesi artışı ile paralellik gösterdiğini ifade etmişlerdir. Sepsisli hastalarda plazma MPO enzim aktivitesinde artış olduğunu belirten çalışmalarda mevcuttur (186).

Çalışmamızda plazma ve karaciğer dokusu homojenatlarında, oksidatif stres sonucu oluşan lipid peroksidasyon ürünü olan TBARS ve protein oksidasyon ürünü olan AOPP değerlendirildi. Plazma ve doku TBARS ve AOPP seviyeleri ÇLP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p<0.05$) (Tablo 14). Sepsiste artan TBARS ve AOPP düzeylerinin nedenleri ise; bakteriyel endotoksinlerin inflamatuvar sitokinleri aktive etmesi ve ROT miktarında artış meydana gelmesidir (3, 4, 63). Sepsis sırasında endotel, ROT salınımı için bir kaynak oluştururken aynı zamanda damar duvarında inflamasyonda yer alan hücreler içinde bir hedef oluşturmaktadır. Makrofajlar ve nötrofiller büyük miktarlarda ROT, RNT üretebilirler ancak bu mikroorganizmalara zarar verme veya öldürme için önemli bir mekanizma sağlarken oksijen patlaması hücre hasarına neden olabilir (22, 186, 187). Aktive olmuş nötrofillerin MPO aktivitesi ile oluşturdukları radikaller lipid peroksidasyonuna yol açarak hücre membran hasarına neden olurlar (83). Ayrıca LPS gibi deneysel sepsis modelleri dokularda GSH düzeylerinde azalmaya neden olurken GSSG'de artmaya neden olmaktadır. Bu nedenle antioksidan savunma sistemi zayıflamakta ve lipid peroksidasyon hasarı engellenememektedir (27).

Sepsiste aşırı sitokin üretimine bağlı olarak oluşan oksijen radikallerinin ve bağışıklık hücrelerinden salgılan proteazlar, proteinin enzimatik hidrolize olan duyarlılığını arttırmakta ve konformasyonel değişikliklere neden olmaktadır (188). TNF, interferon- γ gibi sitokinlerin indüklenebilir nitrik oksit sentaz ekspresyonunu indükleyerek NO üretimini arttırdığı belirtilmektedir (189). NO birikmesi -SH gruplarının sülfenik asitlere veya disüflitlere oksitlenmesine neden olur ve bu durum anahtar metabolik enzimleri etkisiz hale getirerek geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açar (172).

Abu-Zidan ve ark. (188) tarafından yapılan çalışmada plazma protein konsantrasyonları ve protein karbonil gruplarının septik hastalarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı, plazma protein karbonil konsantrasyonu ile protein kaybı (protein indeksi) arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Köksal ve ark. (190) sepsisli sıçanların plazma ve karaciğer dokusunun MDA seviyelerinde yükseklik, GSH seviyelerinde ise düşüklük olduğunu, plazma ve doku MDA konsantrasyonlarının birbiri ile orantılı olduğunu belirlemişlerdir. Yine Prauchner ve ark. (191) karaciğer dokusunda ÇLP grubunda kontrole göre MDA seviyelerinde anlamlı artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Kharb ve ark. (192) septik şoklu hastalarda yaptıkları klinik çalışmada plazma MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Lorente ve ark. (193) şiddetli sepsisli erişkinlerde, özellikle hayatta kalanlarda, MDA seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir. Yenidoğan sepsisli hastalarda tükürük ve serum AOPP düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur (194). Septik şoklu hastalarda protein oksidasyonunun diğer bir göstergesi olan protein karbonil konsantrasyonunun daha yüksek seviyede olup yoğun bakım ünitesi mortalitesi ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (195). Diğer bir çalışmada ciddi sepsis veya majör travma geçiren hastalarda protein karbonil konsantrasyonlarının sağlıklı yetişkinlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (196). Andesen ve ark. (197) yaptıkları çalışmada lipid peroksidasyon hasarının sepsisin geç evresinde arttığını, protein hasarının erken evrede artıp, tepe noktasına ulaştığını raporlamışlardır. Lipid peroksidasyonunun ve protein oksidasyonunun arttığını gösteren bu çalışmalar, bizim sonuçlarımızı da desteklemektedir.

Çalışmamızda etken madde olarak araştırılan LT'nin literatürde mevcut olan farklı çalışmalar göz önüne alınarak 2x250 mg/kg/gün, 2x500 mg/k/gün, 2x750 mg/kg/gün LT (i.p. 2 doz, 0. Saat ve 12. saat) olacak şekilde uygulanmasına karar verildi. Hepatotoksisite üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda ardışık üç gün 50 100 ve 200 mg/kg/gün veya

400 mg/kg/gün i.p. LT uygulanmıştır (134, 135, 198). LPS indüklü karaciğer hasarında farelere işlemden önce 7 gün boyunca LT 30mg/kg/gün dozunda i.p. olarak verilmiştir (11). LT'in nefrotoksisite üzerine etkilerinin incelendiği bir başka çalışmada LT, beş gün süreyle 200 mg/kg/gün dozunda i.p. olarak uygulanmıştır (139). Sıçanlarda LT'in farmakokinetiğinin incelendiği bir çalışmada 500 mg/kg/gün ve 1000 mg/kg/gün (tek doz, i.p.) dozları kullanılmıştır ve plazmada 30 dakika ve 60 dakika arasında maksimuma ulaştığı gözlenmiştir (199). Terashima ve ark. (118) sıçanlarda oral yolla 4 g/kg LT alındıktan 1 saat sonra serum, beyin, karaciğer dokularında LT konsantrasyonunda artış olduğunu, beyinde 5 saat sonra maksimuma ulaştığını ve sonra gittikçe azaldığını, 24 saat sonra ise tüm dokulardan tamamen kaybolduğunu gözlemlemişlerdir.

LT'in ölümcül dozunun ortalama 5g/kg olduğu belirtilse de bu konuda kesin kanıta dayalı sonuçlar bulunmamaktadır (7). Çalışmamızda başlangıçta 2x1000 mg/kg LT uygulanması planlanmıştır. Ancak sıçanlara ÇLP ile sepsis oluşturduktan sonra belirtilen dozda LT verildiğinde 10 sıçandan yalnızca 4 sıçan ağır durumda da olsa sağ kalabildi. Literatürde bu dozla ilgili toksik olduğuna dair bir kaynak bulunmamasına rağmen sepsis ağır bir tablo olduğu için muhtemelen bu doz yüksek gelmiş olabilir. Bu nedenle etik kurul izinleri alarak 2x250 mg/kg uygulaması ile çalışmaya devam etmeye karar verildi.

LT i.p. olarak verildiğinde peritonda da mevcut olan glutaminaz enzimi (200) burada LT'yi glutamat ve etilamine metabolize edebilir. Sıçanlarda i.p. ilaç enjeksiyonu sonrası taşınımın mezenterik-portal dolaşım, mezenterik-ekstraportal dolaşım ve lenf damarları üzerinden meydana geldiği ileri sürülmüştür (201). Bu nedenle LT karaciğere LT, glutamat, etilamin şeklinde ulaşmış olabilir ve bu ürünler üzerinden biyolojik etkilerini gösterebilir. Ayrıca glutaminaz enzimi karaciğer ve böbrekte de olduğu için (202) bu dokularda da glutamat ve etilamine metabolize olabilir. Bu metabolitlerin oluşumunun temel yolağının böbrekte olduğu ve vücuttan atılım yolunun böbrek vasıtasıyla metabolitler şeklinde olduğu ifade edilmektedir (117, 118).

Çalışmamızda ÇLP gurubu ile karşılaştırıldığında ÇLP+LT gruplarında serum laktat seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p>0.05$) ÇLP+LT3 grubunda LDH seviyesi anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$) (Tablo 13). Literatürde LT'in laktat değerleri üzerine etkisini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sepsiste LT'in yakın analogu olan glutaminin enteral ve parenteral alımının etkili olduğu gözlenmiştir. Yoğun bakım ünitesinde yatan sepsisli hastalar ile enteral glutamin verilen grup arasında serum

laktat düzeyleri açısından anlamlı bir değişiklik yokken, 0.5 g / kg / gün dozunda parenteral glutamin verilmesinin serum laktat düzeylerinde iyileşmeye neden olduğu bildirilmiştir (203). LT'in LDH düzeyleri üzerinde koruyucu etkileri olduğu yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada farelere i.p. olarak 10 mg/kg LT verildiğinde LDH düzeylerinin düştüğü, rapor edilmiştir (204). Hidrojen peroksit ile hasar oluşturulan insan hepatik L02 hücrelerinde LT'nin H₂O₂ indüklü canlılık kaybını ve LDH salınımını azaltarak hepatoprotektif etki gösterdiği tespit edilmiştir (205). Alkolik karaciğer hasarı oluşturulan farelere LT verildiğinde LDH seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (135).

Karaciğer fonksiyon testlerinden ALT, AST düzeyleri değerlendirildiğinde; AST düzeyinin ÇLP+LT1 ve ÇLP+LT3 grubunda ÇLP grubuna göre anlamlı düşük olduğu ($p<0.05$), ÇLP+LT2 grubunda düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Bu sonuçlara göre LT'in AST düzeylerini düşürdüğünü, ancak doza bağımlı farklılık olmadığını söylemek mümkündür. LT gruplarının hiç birinde ALT düzeylerinde ÇLP grubuna göre anlamlı bir değişiklik gözlenemedi (Tablo 13). LT'in metabolitlerinden olan glutamatın biyosentezinde ALT ve AST enzimleri de rol almaktadır (206). LT, AST değerini düşürerek glutamat toksisitesine karşı koruyucu etki göstermiş olabilir. LT ile ilgili yapılan çalışmalarda da ALT ve AST düzeylerinin düştüğüne dair bulgulara rastlanmıştır. Gong ve ark. (207) yapılan bir çalışmada karaciğer hasarı sonucu yükselen serum ALT, AST değerlerinin LT uygulaması sonrası anlamlı olarak azaldığını, bu sonuçların histopatolojik bulgularla uyumlu olduğunu gözlemlemişlerdir. Wang ve ark. (11) tarafından yapılan çalışmada LPS indüklü hepatik karaciğer hasarında kupffer hücrelerinin LPS stimülasyonu sonucu proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimini tetiklediği buna bağlı olarak da artan ALT, AST seviyelerinin LT uygulaması ile azaldığını tespit etmişlerdir. Asetaminofen indüklü hepatotoksositeye karşı LT'in koruyucu etkileri incelendiğinde ALT, AST enzimlerinin yükselen seviyelerinin LT tedavisi ile düştüğü ve yine bulguların histopatoloji ile orantılı olduğu gözlenmiştir (208).

Çalışmamızda BUN ve kreatin düzeyleri incelendiğinde, ÇLP grubuna göre BUN seviyeleri sadece ÇLP+LT3 grubunda, kreatinin seviyeleri ise ÇLP+LT1 ve ÇLP+LT2 grubunda anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). BUN/kreatinin oranına bakıldığında ise sadece ÇLP+LT3 grubunda anlamlı düşüklük belirlendi ($p<0.05$) (Tablo 13). Karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının birbirine bağlı olması göz önüne alındığında, LT'nin karaciğerde

koruyucu etki göstererek böbrek fonksiyonlarını da indirekt olarak düzeltebileceği düşünülmektedir (168). BUN ve kreatinin açısından LT'in etkinliğine baktığımızda literatürde bununla ilgili çalışma yok denecek kadar azdır. Doksorubisin ile uyarılmış nefrotoksisitede LT'in azalan kreatinin klerensini düzenleyerek koruyucu etkinlik gösterdiği belirtilmiştir (139) Altınkaynak ve ark. (140) benzer şekilde doksorubisin indüklü nefrotoksisite üzerine LT'in etkilerini değerlendirmişler ve nefrotoksisite sonucu artan serum BUN ve kreatinin düzeylerinin, LT verilen gruplarda düşük düzeylerde olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca BUN/kreatinin oranı da aynı çalışmada incelenmiş ve LT'in dehidrasyonu engelleyerek böbrek dokusu üzerinde koruyucu etkinlik gösterebileceği ileri sürülmüştür. LT benzer özelliklere sahip olan glutaminin de nefrotoksisite üzerine koruyucu etkinlik gösterdiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Sisplatinle oluşturulan nefrotoksisiteye karşı glutamin verildiğinde renal fonksiyon kaybına karşı koruyucu olduğu, artan BUN ve kreatinin seviyelerinde ise azalma olduğu rapor edilmiştir (209).

Çalışmamızdaki histopatolojik bulgulara ÇLP+LT verilen gruplarda; konjesyon, ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu nekroz veya dejenerasyon göz önüne alınarak toplam skor değerleri karşılaştırıldığında ÇLP'ye göre üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı düşüklük bulundu ($p<0.05$) (Tablo 12). LT verilen ÇLP+LT1 ve ÇLP+LT2 grubunda sepsis bulgularının yaygınlığı orta düzeylerde (Resim 4 ve 5), ÇLP grubuna kıyasla daha hafif bulgular görülmektedir. Sıçanlardan alınan karaciğer dokusunda fokal dejenerasyon alanları ÇLP grubuna göre azalmış olsa da nekrotik hepatositlerin varlığı, ödem ve hücre infiltrasyonu devam etmekteydi. ÇLP+LT3 grubunda ise karaciğer dokusunda diğer çalışma gruplarına göre daha az sayıda nekrotik hepatositler mevcuttu ve fokal dejenerasyon alanları, ödem ve infiltrasyon diğer gruplara göre oldukça azalmıştı (Resim 6). LT'nin karaciğer histopatolojisi üzerine etkili olduğu literatürde de belirtilmiştir. Wang ve ark. (11) LPS indüklü hepatoksisite üzerine yaptıkları çalışmada LPS grubunda nötrofil infiltrasyonu, ödem, nekroz bulgularına rastlarken, LT verilen grupta tüm bu patolojik değişimlerin elimine edildiğini ifade etmişlerdir. Pérez-Vargas ve ark. (134) karbon tetraklorür (CCL_4) indüklü hepatotoksisite çalışmalarında LT'in hepatositlerin yapısal özelliklerini koruyucu yönde etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

LT inflamasyon üzerine etkilerini karaciğerde metabolik ürünleri olan glutamin veya glisin üzerinden göstermiş olabilir (118). Glutaminin sepsiste NF κ B aktivasyonunu

azaltarak, proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinler arası denge oluşturduğu, böylece nötrofil birikimini azalttığı, intestinal entegrasyon ve immün hücre fonksiyonunu iyileştirdiği görülmüştür (210). Glisin inflamasyonda yer alan nötrofiller, makrofajlar ve kupffer hücrelerinde glisin-kapılı klorür kanallarını aktive ederek hiperpolarize eder ve böylelikle Ca kanallarını inhibe ederek sitokinlerin ve inflamatuvar medyatörlerin üretimini engeller (211, 212). Bu sayede glisinin karaciğerde lökosit infiltrasyonunu ve nekrotik hücrelerin miktarını azaltarak koruyucu yönde etki gösterdiği bildirilmektedir (213). Ayrıca glisinin kupffer hücrelerinde TLR4 sinyalizasyonunun downregülasyonunu sağlayarak da doku hasarında koruyucu etki gösterdiği ifade edilmiştir (214). Çalışmamızda LT'in karaciğer histopatolojisi yönünden koruyucu etkileri gözlenmiş olmasına rağmen doza bağımlı çok önemli bir farklılık gözlenmedi.

Çalışmamızda inflamasyonun da bir göstergesi olan MPO değerlendirildiğinde doku-plazma değerleri sadece ÇLP+LT3 gruplarında ÇLP grubuna göre düşük gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 14). Bu bulgulara bakarak sepsis indüklü karaciğer dokusunda ve plazmada inflamasyon artmış, LT uygulamasının sepsis durumunda inflamasyona düşük düzeyde etkisi olabileceği düşünülmüştür. LT'nin sepsiste artan inflamasyonu; IL-10 gibi inflamatuvar yanıtın güçlü negatif regülatörlerin yanıtını artırarak ve interferon- γ gibi pozitif regülatörlerin yanıtını engelleyerek azaltabileceği, inflamasyon sürecinde bozulan immün cevap dengesini düzelterek koruyucu etki gösterdiği düşünülmektedir (11). Farelere oral yoldan LT verildiğinde alerjik reaksiyonları inhibe ettiği, NF κ B'nin inhibisyonu ve kaspaz-1'in aktivasyonu sayesinde proinflamatuar sitokin sekresyonunu baskıladığı belirtilmektedir (215). Gastrik ülser oluşturulmuş olan farelere 10 mg/kg LT verildiğinde MPO düzeylerinde düşüklük olduğu bildirilmiştir (216). Dişi farelerin solunum yollarında ve kan damarlarında yapılan bir çalışmada LT'in ovalbümin ile uyarılan mukus üretimini ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu engellediği ifade edilmiştir (217). Sıçan dalak lenfositlerinde yapılan diğer bir çalışmada ise LT'in interferon- γ , interlökinler ve TNF ekspresyonlarını inhibe ederek antiinflamatuar etkinlik gösterdiği öne sürülmüştür (218).

Çalışmamızda lipid peroksidasyonu göstergesi olan TBARS seviyeleri plazmada LT verilen ÇLP+LT2 grubunda, ÇLP grubuna göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta değildi ($p>0.05$). Ancak dokuda tedavi alan 3 grupta da tedavi almayan ÇLP grubuna göre anlamlı düşüktü ($p<0.05$). Diğer taraftan protein oksidasyon

göstergesi olan AOPP düzeyleri plazmada, LT verilen 3 grupta anlamlı düşük iken ($p<0.05$) dokuda ÇLP+LT1 grubunda düşüş görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 14). Dozlar arasında ise farklılık gözlenemedi. Bu sonuçlara göre LT'in lipid ve protein oksidasyonunu azaltmada etkili olabileceğini söylemek mümkündür. LT'in antioksidan etkisini hücreleri oksidatif strese karşı koruyan güçlü bir antioksidan olan glutatyon sentezini arttırarak gösterebileceği vurgulanmıştır (198). Sıçanlarda LT alımından sonra GSH sentezinde yer alan bir amino asit olan glisin düzeylerinde artış görüldüğü belirtilmiştir (118). LT'in sepsiste artan serbest oksijen radikallerini (81, 86, 87) glisin üzerinden glutatyonun da yer aldığı GSH-Px seviyesini arttırarak engellediği ve antioksidan özellik gösterebileceği düşünülmektedir (72, 135, 198). Glisinin oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinde Ca^{+2} salınımının kontrolü önemli rol oynamaktadır. Glisin Ca^{+2} salınımını inhibe ederek sitokin üretimini azaltmakta ve oksidatif hasara karşı koruyucu rol üstlenmektedir (212). Glisinin karaciğer hasarını azalttığı, hepatotoksisteye bağlı ortaya çıkan lipid peroksidasyon hasarını ve glutatyon eksikliğini giderdiği de belirtilmektedir (219). LT'in glutamik asitle yapısal benzerliğinden dolayı beyinde L-glutamik asitin bağlandığı glutamat reseptörlerini inhibe ettiği ve bu sayede beyinde koruyucu etkinlik gösterdiği düşünülmektedir (121). Bu yüzden karaciğerde de bulunan glutamat reseptörlerini de benzer etki ile bloklayıp (220) glutamatın toksik etkilerini azaltabileceği, oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Li ve ark. (135) yaptıkları çalışmada LT'in farede MDA ve ROT üretimini engellediğini, glutatyon redüktaz SOD, GSH gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırarak hepatositin antioksidan kapasitesinin geri kazanılmasını sağladığını ifade etmişlerdir. Sadzuka ve ark. (221) tarafından yapılan bir çalışmada etanol uygulamasından 3 saat sonra farelerde lipid peroksidlerde artış olmasına rağmen bu artış LT uygulaması ile normale dönmüş, LT'in karaciğer hasarına karşı etkili olduğu ortaya koyulmuştur. Farelerde CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarı çalışmalarında LT'nin lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (134, 198). LT'in protein oksidasyon ürünü olan karbonil düzeylerini azaltıcı etkisini gösteren beyin üzerinde çalışmalar mevcutken (222, 223) karaciğerde protein oksidasyonuna etkisine ait bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca literatürde LT'in üretildiği yeşil çayın protein oksidasyonunu azalttığına dair çalışmalar da mevcuttur (224).

Sonuç olarak ÇLP ile oluşturulan sepsisli sıçanlarda LT dozdan bağımsız olarak karaciğer dokusu ve plazmada inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltmaktadır. İnflamasyonu önlemede yüksek doz, oksidatif hasarı azaltmada düşük doz daha etkili gibi gözükmektedir. Sepsis ağır bir tablo olduğundan dolayı 24 saatlik tedaviden ziyade daha uzun süreli tedavi etme durumu olsaydı LT'in etkileri daha belirgin gözlenebilirdi. Ancak LT'in sepsiste antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler gösterdiğini söyleyebilmek için daha fazla parametre ile desteklenmeye ihtiyacı vardır.

Sepsiste LT'nin insan üzerinde etkilerini değerlendiren bir çalışma olmadığı için, sepsisli kişilerde nasıl etkiler gösterebileceği henüz bilinmemektedir. Sıçan ve insan metabolizması farklı olduğundan dolayı insan üzerinde benzer etkiler göstermeyebilir. Çalışmamızda sıçanlarda sepsis üzerinde olumlu etkiler tespit edilmesine rağmen insanlarda da olumlu etkilerinin mevcut olabileceğine dair çalışmalara ihtiyaç vardır. Ancak insanlarda zıt etki de sergileyebilir. Alınan takviye ürünlerin faydalı etkileri olduğu gibi zararlı etkilerinde olabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle LT kullanımında dikkatli olunması gerekmektedir. Fazla miktarda çayla yüksek doz LT alınabileceğinden, çay içimi de sepsis durumunu etkileyebilir. Ancak çayda LT haricinde diğer etken maddelerin de bulunması ve bunların sinerjik etki gösterebileceği göz önüne alınarak ülkemizde oldukça fazla tüketilen siyah ve yeşil çayın sepsis üzerine etkilerine yönelik çalışmalara da ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M (2016). Third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3) JAMA 315: 801-810.
2. Brod S, Gobetti T, Gittens B, Ono M, Perretti M, D'Acquisto F (2017). The impact of environmental enrichment on the murine inflammatory immune response. JCI Insight 2(7): 1-14
3. Jaffer U, Wade RG, Gourlay T (2010). Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome. HSR Proceedings in Int Care and Cardiovasc Anest 2: 161-175.
4. Victor VM, Esplugues JV, Hernandez-Mijares A, Rosha M (2009). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis: a potential therapy with mitochondria-targeted antioxidants. Infect Disord Drug Targets 9(4): 376-389.
5. Yıldırım AG. (2013) Sıçanlarda lipopolisakkarit (lps) ile oluşturulan sepsis modelinde β -hidroksi, β -metilbütirat'ın (htm) bozulmuş kolon anastomozunda iyileşme üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Mersin.
6. Seo KH, Choi JW, Jung HS, Yoo H, Joo JD (2017). The effects of remifentanyl on expression of high mobility group box 1 in septic rats. J Korean Med Sci 32(3): 542-551.
7. Chatterjee S, Chatterjee A, Bandyopadhyay SK (2016). L-theanine: a prospective natural medicine. Int J Pharm Sci Rev Res 41(21): 95-103.
8. Ding Y, Yu H, Mou S (2002). Direct determination of free amino acids and sugars in green tea by anion-exchange chromatography with integrated pulsed amperometric detection. J Chromatogr A 982: 237-244.
9. Deng WW, Ogita S, Ashihara H (2008). Biosynthesis of theanine (g-ethylamino-L-glutamic acid) in seedlings of *Camellia sinensis*. Phytochem Lett 1: 115–119.
10. Eschenauer G, Sweet BV (2006). Pharmacology and therapeutic uses of theanine. Am J Health Syst Pharm 63(1): 28-30.

11. Wang D, Gao Q, Zhao G, Kan Z, Wang X, Wang H, Huang J, Wang T, Qian F, (2018). Protective effect and mechanism of theanine on lipopolysaccharide-induced inflammation and acute liver injury in mice. *J Agric Food Chem* 66(29): 7674-7683.
12. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A.(2009). Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin* 25(1): 83-101.
13. Hattori M, Yamazaki M, Ohashi W, Tanaka S, Hattori K, Todoroki K, Fujimori T, Ohtsu H, Matsuda N, Hattori Y (2016). Critical role of endogenous histamine in promoting end-organ tissue injury in sepsis. *Intensive Care Med Exp* 4(1): 36.
14. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G (2003). 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 31(4): 1250-1256.
15. Schorr CA, Zanotti S, Dellinger RP (2014). Severe sepsis and septic shock management and performance improvement. *Virulence* 5(1): 190-199.
16. Kurt C (2006). Sepsis ile ilişkili tanımlar, epidemiyoloji, insidans ve klinik. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri 51: 17-26.
17. Bone RC (1991). Sepsis, the sepsis syndrome, multiorgan failure: a plea for comparable definitions. *Ann Inter Med* 114: 332-333.
18. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA (1997). Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 112: 235-243.
19. Tiwari SC, Vikrant S (2000). Sepsis and the kidney. *JACM* 5(1): 44-54.
20. Angus DC, Wax RS (2001). Epidemiology of sepsis: an update. *Crit Care Med* 29(7): 109-116.
21. Kempker JA, Martin GS (2016). The changing epidemiology and definitions of sepsis. *Clin Chest Med* 37(2): 165-179.
22. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D (2006). Sepsis occurrence in acutely ill patients investigators. *Crit Care Med* 34(2): 344-353.
23. Başak M, Coşansel S, Çankır Z, Keskin O, Yazgan Y, Koçak N. Sepsis, septik şok ve tedavide son yaklaşımlar. *Sendrom* 10: 54-61.

24. Öresin ZA (2008). Sepsis oluşturulmuş ratlarda kefirin etkinliği. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
25. Fujishima S (2016). Organ dysfunction as a new standard for defining sepsis. *Inflamm Regen* 36: 24.
26. Cohen J (2002). The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 420(6917): 885-891.
27. Çıracı ZM (2011). Lipopolisakkarit ile sepsis oluşturulan ratların karaciğer dokularında serbest radikal metabolizmasının incelenmesi; Vitamin D'nin etkisi. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
28. Çağatay AA (2006). Sepsis gelişimini kolaylaştıran faktörler ve sepsis patogenezi *ANKEM Derg* 20(2): 43-46.
29. Özkanlar S (2011). Deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda antibiyotik, kortikosteroid ve vitamin k kullanımlarının inflamatuvar belirteçler, hematolojik parametreler ve yaşam süreleri üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum
30. Carrigan SD, Scott G, Tabrizian M (2004). Toward resolving the challenges of sepsis diagnosis. *Clin Chem* 50(8): 1301-1314.
31. Yalçın AD, Gürsoy B (2008). Sepsis immünopatogenezi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 5(3): 25-29.
32. Özcan C, Hasanoğlu A, Gülcüler M (1996). Sepsis ve inflamasyon mediatörleri. *Turgut Özal Tıp Dergisi* 3(4): 374-381
33. Karaali R, Tabak F (2009). Sepsis patogenezi. *Klinik Gelişim* 22: 71-76.
34. van der Poll T, Opal SM (2008). Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis* 8(1): 32-43.
35. Levi M, van der Poll T (2017). Coagulation and sepsis. *Thromb Res* 149: 38-44.
36. Chung CS, Chaudry IH, Ayala A (2000). The apoptotic response of the lymphoid immune system to trauma, shock, and sepsis. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* 2000: 27-40.

37. Giamarellos-Bourboulis E, Routsis C, Plachouras D (2006). Early apoptosis of blood monocytes in the septic host: is it a mechanism of protection in the event of septic shock. *Critical Care* 10(3): R76.
38. Rossaint J, Zarbock A (2015). Pathogenesis of multiple organ failure in sepsis. *Crit Rev Immunol* 35(4): 277-91.
39. Fry DE (2012). Sepsis, systemic inflammatory response, and multiple organ dysfunction: the mystery continues. *Am Surg* 78(1): 1-8.
40. Sungur M (2005). Sepsiste organ destek tedavileri. *Yoğun Bakım Dergisi* 5(2): 112-121.
41. Yan J, Li S, Li S (2014). The role of the liver in sepsis. *Int Rev Immunol* 33(6): 498–510.
42. Szabo G, Romics L Jr, Frendl G (2002). Liver in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Clin Liver Dis* 6(4): 1045-1066.
43. Mete B (2006). Sepsiste böbrek ve karaciğer. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri* 51: 35-43.
44. Zarjou A, Agarwal A (2011). Sepsis and acute kidney injury. *JASN* 22(6): 999-1006.
45. Schrier RW, Wang W (2004). Acute renal failure and sepsis. *N Engl J Med* 351(2): 159-169.
46. Rehman ZU, Chunchun M, Sun Y, Safdar A (2018). Oxidative stress in poultry. *Oxid Med Cell Longev* 8: 1-14.
47. Lobo VC, Phatak A, Chandra N (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev* 4(8): 118–126.
48. Lachance AP, Nakat Z, Jeong W (2001). Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition* 17: 835-838.
49. Karabulut H, Gülay MŞ (2016). Serbest radikaller. *MAKÜ Sag Bil Enst Derg* 4(1): 50-59.
50. Mercan U (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg* 15(1-2): 91-96.

51. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *J Clin Exp Immunol (JCEI)* 6(3): 331-336.
52. Thornalley PJ, Vasak M (1985). Possible role of metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress: kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochem Biophys Acta* 827: 35–44.
53. Cavalli TG and Santos MG (2015). The role of nutrition in fighting free radicals. *J Nutr Health Sci* 2(4): 405
54. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014(6): 360438.
55. Catala A (2009). Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids* 157(1): 1-11.
56. Nam T (2011). Lipid peroxidation and its toxicological implications. *Toxicol Res* 27(1): 1–6.
57. Grotto D, S. Maria L, Valentini J, Paniz C (2009). *Química Nova* 32(1): 169-174.
58. Kavas ÖG (1989). Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 9(1): 1-6.
59. Büyükgüzel E (2013). Protein oksidasyonun biyokimyasal ve moleküler mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi* 3(1): 40-51.
60. Kayalı R, Çakatay U (2004). Protein oksidasyonun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa J Med* 35: 83-89.
61. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 49(5): 1304-1313.
62. Anatóliotakis N, Deftereos S, Bouras G, Giannopoulos G, Tsounis D, Angelidis C, Stefanadis C (2013). Myeloperoxidase: Expressing inflammation and oxidative stress in cardiovascular disease. *Curr Top Med Chem* 13(2): 115–138.

63. Bayraktar O (2013). Deneyisel sepsis modeli oluşturulan ratlarda sallilsistein'in transglutaminaz II üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir.
64. Aratani Y (2018). Myeloperoxidase: its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. Arch Biochem Biophys 640: 47-52.
65. El-Benna J, Hurtado-Nedelec M, Marzaioli V, Marie JC, Gougerot-Pocidalo MA, Dang P MC (2016). Priming of the neutrophil respiratory burst: role in host defense and inflammation. Immunol Rev 273(1): 180–193.
66. Nauseef WM (2014). Myeloperoxidase in human neutrophil host defense. Cell Microbiol 16(8): 1146–1155.
67. Nakazato T, Sagawa M, Yamato K, Xian M, Yamamoto T, Suematsu M, Ikeda Y, Kizaki M (2007). Myeloperoxidase is a key regulator of oxidative stress mediated apoptosis in myeloid leukemic cells. Clin Cancer Res 13(18 Pt 1): 5436-5445.
68. Kumar S (2011). Free radicals and antioxidants: human and food system. Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research 2(1): 129-135.
69. Halliwell B (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutr Rev 55: 44-49.
70. Kasnak C, Palamutoğlu R (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. TURJAF 3(5): 226-234.
71. Sezer K, Keskin M (2014). Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 28(1): 049-056.
72. Forman HJ, Zhang H, Rinna A (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. Mol Aspects Med 30(1): 1-12.
73. Şener A, Çevik Ö (2013). Gama-glutamil transferazın oksidatif stres ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi. Cumhuriyet Medical Journal 35(2): 291-301.
74. Kara H (2011). Hafif düzeyde hiperkolesterolemik kişilerde fındık tüketiminin eritrositlerdeki antioksidan enzimlere etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Trabzon.

75. Bhatt ID, Rawat S, Rawal RS (2013). Antioxidants in medicinal plants. *Biotechnology for Medicinal Plants: Micropropagation and Improvement* (Ed: Chandra S, Lata H, Varma A). Berlin, 295-326.
76. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* 82(4): 513-523.
77. Xie Z, Huang J, Xu X, Jin Z (2008). Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chem* 111: 370–376.
78. Akıllıoğlu HG, Yalçın E (2010). Tahıl protein hidrolizatlarının antioksidan aktiviteleri. *GIDA* 35(3): 227-233.
79. Shan L, Wang B, Gao G, Cao W, Zhang Y (2013). L-Arginine supplementation improves antioxidant defenses through L-arginine/nitric oxide pathways in exercised rats. *J Appl Physiol* 115: 1146–1155.
80. Kural BV, Patan H (2019). Teanin. *GÜSBD* 8(1): 128-135.
81. Goode HF, Webster NR (1993). Free radicals and antioxidants in sepsis *Crit Care Med* 21(11): 1770.
82. Nagar H, Piao S, Kim C-S (2018). Role of mitochondrial oxidative stress in sepsis. *Acute Crit Care* 33(2): 65-72.
83. Wilkie-Grantham RP, Magon NJ, Harwood DT, Kettle AJ, Vissers MC, Winterbourn CC, Hampton MB (2015). Myeloperoxidase-dependent lipid peroxidation promotes the oxidative modification of cytosolic proteins in phagocytic neutrophils. *J Biol Chem* 290(15): 9896-9905.
84. Andrades ME, Ritter C, Dal-Pizzol F (2009). The role of free radicals in sepsis development. *Front Biosci* 1: 277-287.
85. Mohamadin AM, Elberry AA, Elkablawy MA, Gawad HS, Al-Abbasi FA (2011). Montelukast, s leukotriene receptor antagonist abrogates lipopolysaccharide induced toxicity and oxidative stress in rat liver. *Pathophysiology* 18(3): 235-242.
86. Berger MM, Chioléro RL (2007). Antioxidant supplementation in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 35(9): 584-590.
87. Macdonald J, Galley HF, Webster NR (2003). Oxidative stress and gene expression

in sepsis. *Br J Anaesth* 90(2): 221-232.

88. Türközü D, Şanlıer N. L-theanine, unique amino acid of tea, and its metabolism, health effects, and safety. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57(8): 1681-1687.
89. Başkan MH, Aydın M (2013). Electron paramagnetic resonance studies of gamma-irradiated dl-alanine ethyl ester hydrochloride, L-theanine and l-glutamic acid dimethyl ester hydrochloride. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 112: 280-282.
90. Yamada T, Terashima T, Kwano S, Fruno R, Okubo T (2009). Theanine, γ -glutamylethylamide a unique amino acid in tea leaves, modulates neurotransmitter concentrations in the brain striatum interstitium in conscious rats. *Amino Acids* 36(1): 21-27.
91. Boonstra E, de Kleijn R, Colzato LS, Alkemade A, Forstmann BU, Nieuwenhuis S (2015). Neurotransmitters as food supplements: the effects of GABA on brain and behavior. *Front Psychol* 6: 1520.
92. Vuong QV, Bowyer MC, Roach PD (2011). L-Theanine: properties, synthesis and isolation from tea. *J Sci Food Agric* 91(11): 1931-1939.
93. Wan XC, Zhang ZZ, Li DX (2009). Chemistry and biological properties of theanine. ed Ho CT, Lin JK, Shahidi F. Boca Raton: CRC Press 255-274.
94. Juneja LR, Chu D-C, Okubo T, Nagato Y, Yokogoshi H (1999). L-theanine a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans. *EFoST* 10(6): 199-204.
95. Chen ZM, Wang H, You X, Xu N (2002). The chemistry of tea non-volatiles. Tea, bioactivity and therapeutic potential. ed Zhen YS: Taylor & Francis Press, London, UK, 57-88.
96. Ekborg-Ott KH, Taylor A, Armstrong DW (1997). Varietal differences in the total and enantiomeric composition of theanine in tea. *J Agric Food Chem* 45: 353-363.
97. Sakato Y (1949). The chemical constituents of tea: III. A new amide theanine. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 23: 262-267.
98. Casimir J, Jadot J, Renard M (1960). Separation and characterization of N-ethyl- γ -glutamine from *Xerocomus badius*. *Biochim Biophys Acta* 39: 462-468.

99. Saeed M, Yatao X, Hassan F, Arain MA, El-Hack ME, Noreldin AE, Sun C (2018). Influence of graded levels of L-theanine dietary supplementation on growth performance, carcass traits, meat quality, organs histomorphometry, blood chemistry and immune response of broiler chickens. *Int J Mol Sci* 19(2): 462.
100. Kvasnička F, Krátká J (2006). Isotachophoretic determination of theanine. *Cent Eur J Chem* 4(2): 216–222.
101. White DJ, de Klerk S, Woods W, Gondalia S, Noonan C, Scholey AB. Anti-stress, behavioural and magnetoencephalography effects of an L-theanine-based nutrient drink: A randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Nutrients* 8(1): 53.
102. Thippeswamy R, Mallikarjun G, Rao DH, Martin A, Gowda L (2006). Determination of theanine in commercial tea by liquid chromatography with fluorescence and diode array ultraviolet detection. *J Agric Food Chem* 54: 7014-7019.
103. Sharma E, Joshi, R, Gulati A (2018). L-theanine: an astounding sui generis integrant in tea. *Food Chem* 242: 601-661.
104. Mason R (2001). 200 mg of Zen: L-theanine boosts alpha waves, promotes alert relaxation. *J Altern Complement Med* 7(2): 91-95.
105. Narukawa M, Toda Y, Nakagita T, Hayashi Y, Misaka T (2014). L- theanine elicits umami taste via the T1R1 + T1R3 umami taste receptor *Amino Acids* 46(6): 1583-1587.
106. Narukawa M, Morita K and Hayshi Y (2008). L-Theanine elicits an umami taste with inosine 5'-monophosphate. *Biosci Biotechnol Biochem* 72: 3015–3017.
107. Deng WW, Ogita S, Ashihara H (2008). Biosynthesis of theanine (γ -ethylamino-L-glutamic acid) in seedlings of *Camellia sinensis*. *Phytochem Lett* 1(2): 115–119.
108. Mu W, Zhang T, Jiang B (2015). An overview of biological production of L-theanine. *Biotechnol Adv* 33(3): 335-342.
109. Basavaraju L, John M, Venkatesh P, Pawar V, Sinkar VP, Ganesh PT, Guttapadu S (2012). Theanine biosynthesis during tea seed germination. *IJTS* 8(3): 30–34.
110. Lichtenstein, N. Preparation of -alkylamides of glutamic acid. *J Am Chem Soc* 64: 1021–1022.

111. Yan SH, Dufour JP, Meurens M (2003). Synthesis and characterization of highly pure theanine. *Tea Sci* 23: 99–104.
112. Williams J, Kellett J, Roach PD, McKune A, Mellor D, Thomas J and Naumovski N (2016). L-theanine as a functional food additive: its role in disease prevention and health promotion. *Beverages* 2: 13.
113. Tachiki T, Wakisaka S, Kumagai H, Tochikura T (1981). Crystallization of glutamine synthetase from *Micrococcus glutamicus*. *Agric Biol Chem* 45: 549-550.
114. Shuai Y, Zhang T, Mu W, Jiang B (2011). Purification and characterization of γ -glutamyltranspeptidase from *Bacillus subtilis* SK11.004. *J Agric Food Chem* 59: 6233–6238.
115. Kitaoka S, Hayashi H, Yokogoshi H, Suzuki Y (1996). Transmural potential changes associated with the in vitro absorption of theanine in the guinea pig intestine. *Biosci Biotechnol Biochem* 60: 1768-1771.
116. Van der Pijl P, Chen L, Mulder T (2010). Human disposition of L-theanine in tea or aqueous solution. *J Funct Foods* 2(4): 239-244.
117. Unno T, Suzuki Y, Kakuda T, Hayakawa T, Tsuge H (1999). Metabolism of theanine, γ -glutamylethylamide, in rats. *J Sci Food Agric* 47(4): 1593-1596.
118. Terashima T, Takido J, Yokogoshi H (1999). Time-dependent changes of amino acids in the serum, liver, brain and urine of rats administered with theanine. *Biosci Biotech Biochem* 63: 615-618.
119. Tsuge H, Sano S, Hayakawa T, Kakuda T, Unno T (2003) Theanine, gamma-glutamylethylamide, is metabolized by renal phosphate-independent glutaminase. *Biochim Biophys Acta* 1620: 47–53.
120. Füsunoğlu M (2007). Theanine amino asidinin plazma serbest amino asit ve antioksidan kapasite düzeyine etkisi üzerine bir çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
121. Nathan PJ, Lu K, Gray M, Oliver C (2006). The neuropharmacology of Ltheanine (N-ethyl-L-glutamine) a possible neuroprotective and cognitive enhancing agent. *J Herb Pharmacother* 6(2): 21-30.
122. Kakuda T, Hinoi E, Abe A, Nozawa A, Ogura M, Yoneda Y (2008). Theanine, an

ingredient of green tea, inhibits [3H] glutamine transport in neurons and astroglia in rat brain. *J Neurosci Res* 86(8): 1846-1856.

123. Jamwal S, Kumar P (2017). L-theanine, a component of green tea prevents 3-nitropropionic acid (3-NP)-Induced striatal toxicity by modulating nitric oxide pathway. *Mol Neurobiol* 54(3): 2327-2337.
124. Kakuda T, Nozawa A, Unno T, Okamura T (2000). Inhibiting effects of theanine on caffeine stimulation evaluated by EEG in the rat. *Biosci Biotechnol Biochem* 64(2): 287-293.
125. Sarı F (2010). Çay işlemede teanin miktarının değişimi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
126. Yokogoshi H, Kobayashi M, Mochizuki M, Terashima T (1998). Effect of Theanine, gamma glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats. *Neurochem Res* 23: 671-677.
127. Yamada T, Nishimura Y, Sakurai T, Terashima T, Okub T, Juneja LR, Yokogoshi H (2008). Administration of theanine, a unique amino acid in tea leaves, changed feeding-relating components in serum and feeding behavior in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 72(5): 1352-1355.
128. Yokogoshi H, Kato Y, Sagesaka YM, Takihara-Matsuura T, Kakuda T, Takeuchi N (1995). Reduction effect of theanine on blood pressure and brain 5-hydroxyindoles in spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 59(4): 615-618.
129. Yokogoshi H, Kobayashi M (1998). Hypotensive effect of gamma glutamylmethyl amide in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 62(12): 1065-1068.
130. Ahdihary R, Mandal V (2017). L-Theanine: a potential multifaceted natural bioactive amide as health supplement. *Asian Pac J Trop Biomed* 7(9): 842-848.
131. Bukowski JF, Percival SS (2008). L-theanine intervention enhances human gammadelta T lymphocyte function. *Nutr Rev* 66(2): 96-102.
132. Murakami S, Kurihara S, Titchenal CA, Ohtani M (2010). Suppression of exercise-induced neutrophilia and lymphopenia in athletes by cystine/theanine intake: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutri* 7: 23.
133. Kurihara S, Shibahara S, Arisaka H, Akiyama Y (2007). Enhancement of antigen-

specific immunoglobulin G production in mice by co-administration of L-cystine and L-theanine. *J Vet Med Sci* 69(12): 1263-1270.

134. Pérez-Vargas J, Zarco N, Vergara P, Shibayama M, Segovia J, Tsutsumi V, Muriel P (2016). L-theanine prevents carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via inhibition of nuclear factor κ B and down-regulation of transforming growth factor β and connective tissue growth factor. *Hum Exp Toxicol* 35(2): 135-146.
135. Li G, Ye Y, Kang J, Yao X, Zhang Y, Jiang W, Gao M, Dai Y, Xin Y, Wang Q, Yin Z, Luo L (2012). L-theanine prevents alcoholic liver injury through enhancing the antioxidant capability of hepatocytes. *Food Chem Toxicol* 50(2): 363-372.
136. Yokozawa T, Dong E (1997). Influence of green tea and its three major components upon low-density lipoprotein oxidation. *Exp Toxicol Pathol* 49 (5): 329-335.
137. Nagai K, Oda A, Konishi H (2015). Theanine prevents doxorubicin-induced acute hepatotoxicity by reducing intrinsic apoptotic response. *Food Chem Toxicol* 78: 147-152.
138. Friedman M (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol Nutr Food Res* 51(1): 116.
139. Altınkaynak Y, Kural B, Akcan B, Bodur A, Özer S, Yuluğ E, Munğan S, Kaya C, Örem A (2018). Protective effects of L-theanine against doxorubisin-induced nephrotoxicity in rats. *Biomed Pharmacother* 108: 1524.
140. Nagai K, Fukuno S, Otani K, Nagamine Y, Omotani S, Hatsuda Y, Myotoku M, Konishi H (2018). Prevention of doxorubicin-induced renal toxicity by theanine in rats. *Pharmacology* 101(3-4): 219-22.
141. Borzelleca JF, Peters D, Hall W (2006). A 13-week dietary toxicity and toxicokinetic study with l-theanine in rats. *Food Chem Toxicol* 44(7): 1158-1166.
142. Rao TP, Ozeki M, Juneja LR (2007). Suntheanine: a pure and safe L-theanine dietary supplement relaxation and relief. *Nutraceuticals* 6(1): 26-30.
143. Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, Ward PA (2009). Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat Protoc* 4: 31–36.
144. Yagi K (1984). Assay of blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 109: 328-331.

145. Mihara M, Uchiyama M (1978). Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
146. Witko-Sarsat V, Nguyen AT, Descamps-Latscha B (1992). Microtiter plate assay for phagocyte-derived taurine-chloramines. *J Clin Lab Anal* 6(1): 47-53.
147. Bradley PP, Priebat D.A, Christensen RD, Rothstein G (1982). Measurement cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* 78(3): 206-209.
148. Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C (1990). Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods* 24(4): 285-295.
149. Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72(1-2): 248-254.
150. Gül F, Arslantaş MK, Cinel İ, Kumar A (2017). Changing Definitions of Sepsis Turk *J Anaesthesiol Reanim* 45(3): 129-138.
151. Abd El-Latif AA, Sayed AA, Soliman AM, Fahmy SR (2016). Exploration of the therapeutic potential effect of *Sepia officinalis* in animal model of sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Injury* 47(12): 2709-2717.
152. Buras JA, Holzmann B, Sitkovsky M (2005). Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat Rev Drug Discov* 4: 854–865
153. Seydanoğlu A (2006). Deneysel sepsis modelinde oksidan-antoksidan sistem ve akciğer histopatolojisi üzerine oktreotidin doza bağımlı etkileri. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Konya.
154. Popov D, Pavlov G (2013). Sepsis models in experimental animals. *Trakia Journal of Sciences* 1: 13-23.
155. Filho RR, Rocha LL, Corrêa TD, Pessoa CM, Colombo G, Assuncao MS (2016). Blood lactate levels cutoff and mortality prediction in sepsis-time for a reappraisal? A retrospective cohort study. *Shock* 46(5): 480-485.
156. Garcia-Alvarez M, Marik P, Bellomo R (2014). Sepsis-associated hyperlactatemia. *Crit Care* 18(5): 503.

157. Nguyen HB, Loomba M, Yang JJ, Jacobsen G, Shah K, Otero RM, Suarez A, Parekh H, Jaehne A, Rivers EP (2010). Early lactate clearance is associated with biomarkers of inflammation, coagulation, apoptosis, organ dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock. *J Inflamm (Lond)* 7: 6.
158. Abul Y (2015). Yoğun bakım ünitesinde yatan kritik hastalarda ciddi hastalık görülme riski ile serum laktat seviyesi arasındaki ilişkinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İstanbul.
159. Gibot S (2012). On the origins of lactate during sepsis. *Crit Care* 16(5): 151.
160. Zein JG, Lee GL, Tawk M, Dabaja M, Kinasevitz GT. Prognostic significance of elevated serum lactate dehydrogenase (LDH) in patients with severe sepsis. *Chest* 126(4): 873S
161. Stajonović D, Kovacevic Z, Stosic MZ, Asanin J (2013). Examination of enzymes concentration in the blod of rats with sepsis caused by mixed and pure bacterial cultures. *Acta Vet* 63(5-6): 609-620.
162. Tsao CM, Li KY, Chen SJ, Ka SM, Liaw WJ, Huang HC, Wu CC (2014). Levosimendan attenuates multiple organ injury and improves survival in peritonitis-induced septic shock: studies in a rat model. *Crit Care* 18(6): 652.
163. Nesseler N, Launey Y, Aninat C, Morel F, Mallédant Y, Seguin P (2012). Clinical review: The liver in sepsis. *Crit Care* 16(5): 235.
164. Zhang F, Wu R, Qiang X, Zhou M, Wang P (2010). Antagonism of alpha2A-adrenoceptor: a novel approach to inhibit inflammatory responses in sepsis. *J Mol Med (Berl)* 88(3): 289-296.
165. Hu JY, Li CL, Wang YW (2012). Altered proteomic pattern in platelets of rats with sepsis. *Blood Cells Mol Dis* 48(1): 30-35.
166. Giannini EG, Testa R, Savarino V (2005). Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ* 172(3): 367-379.
167. Gonwa TA, Wadei HM (2013). Kidney disease in the setting of liver failure: core curriculum. *Am J Kidney Dis* 62(6): 1198-1212.
168. Betrosian AP, Agarwal B, Douzinas EE (2007). Acute renal dysfunction in liver diseases. *World J Gastroenterol* 13(42): 5552–5559.

169. Kara Ö, Umuroğlu T, Gürsoy T, Saraçoğlu KT, Goğüs FY (2014). Sepsis oluşturulan sıçanlarda farklı konsantrasyonlarda verilen albuminin böbrek antioksidan ve serbest oksijen radikalleri üzerine etkisi. *Marmara Medical Journal* 27: 42-46.
170. Beier K, Eppanapally S, Bazick HS, Chang D, Mahadevappa K, Gibbons FK, Christopher KB (2011). Elevation of blood urea nitrogen is predictive of long-term mortality in critically ill patients independent of "normal" creatinine. *Crit Care Med* 39(2): 305-313.
171. Froon AH, Bemelmans MH, Greve JW, van der Linden CJ, Buurman WA (1994). Increased plasma concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors in sepsis syndrome: correlation with plasma creatinine values. *Crit Care Med* 22(5): 803-809.
172. Prauchner CA (2017). Oxidative stress in sepsis: pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. *Burns* 43(3): 471-485.
173. Yasuda H, Yuen PS, Hu X, Zhou H, Star RA (2006). Simvastatin improves sepsis-induced mortality and acute kidney injury via renal vascular effects. *Kidney Int* 69(9): 1535-1542.
174. Sert H, Olgun N (2016). Yoğun bakımda ödem ve dehidratasyon. *Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi* 20(1): 24-36.
175. Robinson BE, Weber H (2004). Dehydration despite drinking: beyond the BUN/Creatinine ratio. *J Am Med Dir Assoc* 5(2): 67-71.
176. Bantel H ve Schulze-Osthoff K (2012). Mechanisms of cell death in acute liver failure. *Front Physiol* 3: 79.
177. Krawitz S, Lingiah V, Prysopoulos NT (2018). acute liver failure: mechanisms of disease and multisystemic involvement. *Clin Liver Dis* 22(2): 243-256.
178. Al-Saidya AM, Ismail H Kh (2013). Histopathological study of sepsis experimentally induced by cecal ligation and puncture in rats. *Bas J Vet Res* 12(1): 104-115.
179. Öter S, Şahin A, Burukoğlu D, Sutken E (2015). Deneysel septik şok modeli oluşturulan ratlarda eritropoetinin karaciğer dokusu üzerine etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 16: 178-184.
180. Bitto A, Minutoli L, David A, Irrera N, Rinaldi M, Venuti FS, Squadrito F, Altavilla

- D (2012). Flavocoxid, a dual inhibitor of COX-2 and 5-LOX of natural origin, attenuates the inflammatory response and protects mice from sepsis. *Crit Care* 16(1): R32.
181. Zhu W, Bao R, Fan X, Tao T, Zhu J, Wang J, Li J, Bo L, Deng X (2013). PD-L1 blockade attenuated sepsis-induced liver injury in a mouse cecal ligation and puncture model. *Mediators Inflamm* 2013: 361501.
182. Schrijver IT, Kemperman H, Roest M, Kesecioglu J, de Lange DW (2017). Myeloperoxidase can differentiate between sepsis and non-infectious SIRS and predicts mortality in intensive care patients with SIRS. *Intensive Care Med* 5(1): 43.
183. Gülmen Ş, Doğuç DK, Ceylan BG, Çetin NK, Meteoğlu İ, Okutan H, Öcal A (2011). Deneyisel aortik iskemi-reperfüzyonda beta-glukanın böbrek hasarı üzerine etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 19(2): 234-241.
184. Sener G, Toklu H, Kapucu C, Ercan F, Erkanli G, Kaçmaz A, Tilki M, Yeğen BC (2005). Melatonin protects against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Surg Today* 35(1): 52-59.
185. Kolgazi M, Özgür F, Beyazoğlu Ö, Kocagöz A, Çelik M, A. Elmas M, Yüksel M, Ercan F, Alican İ (2015). Sıçanda endotoksemiye bağlı çoklu organ hasarında kolinerjik anti-inflamatuvar yolun rolü. *MÜSBED* 1(1): 21-30.
186. Keshari RS, Jyoti A, Dubey M, Kothari N, Kohli M, Bogra J, Barthwal MK, Dikshit M (2012). Cytokines induced neutrophil extracellular traps formation: implication for the inflammatory disease condition. *PLoS One* 7(10): e48111
187. Harrois A, Huet O, Duranteau J (2009). Alterations of mitochondrial function in sepsis and critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 22(2): 143-149.
188. Abu-Zidan FM, Plank LD, Windsor JA (2002). Proteolysis in severe sepsis is related to oxidation of plasma protein. *Eur J Surg* 168(2): 119-123.
189. Ochoa JB, Bernard AC, Mistry SK, Morris SM Jr, Figert PL, Maley ME (2000). Trauma increases extrahepatic arginase activity. *Surgery* 127: 419-426.
190. Koksall GM, Sayilgan C, Aydın S, Oz H, Uzun H (2004). Correlation of plasma and tissue oxidative stresses in intra-abdominal sepsis. *J Surg Res* 122(2): 180-183.

191. Prauchner CA, Prestes Ade S, da Rocha JB (2011). Effects of diphenyl diselenide on oxidative stress induced by sepsis in rats. *Pathol Res Pract* 207(9): 554-558.
192. Kharb S, Singh V, Ghalaut PS, Sharma A, Singh GP (2000). Role of oxygen free radicals in shock. *J Assoc Physicians India* 48(10): 956-957.
193. Lorente L, Martín MM, Abreu-González P, Domínguez-Rodríguez A, Labarta L, Díaz C, Solé-Violán J, Ferreres J, Borreguero-León JM, Jiménez A, Morera-Fumero A (2013). Prognostic value of malondialdehyde serum levels in severe sepsis: a multicenter study. *PLoS One* 8(1): e53741.
194. Yunanto A, Firdaus RT, Triawanti, Suhartono E (2014). Advance oxidation protein products (AOPPs) of newborn at risk of sepsis as novel parameter for early-onset neonatal sepsis. *IJBBB* 4(2): 90-93.
195. Costa NA, Gut AL, Azevedo PS, Tanni SE, Cunha NB, Fernandes AAH, Polegato BF, Zornoff LAM, de Paiva SAR, Balbi AL, Ponce D, Minicucci MF (2018). Protein carbonyl concentration as a biomarker for development and mortality in sepsis-induced acute kidney injury. *Biosci Rep* 38(1): 1-8
196. Winterbourn CC, Buss IH, Chan TP, Plank LD, Clark MA, Windsor JA (2000). Protein carbonyl measurements show evidence of early oxidative stress in critically ill patients. *Crit Care Med* 28(1): 143-149.
197. Andresen M, Regueira T, Bruhn A, Perez D, Strobel P, Dougnac A, Marshall G, Leighton F (2008). Lipoperoxidation and protein oxidative damage exhibit different kinetics during septic shock. *Mediators Inflamm* 2008: 8.
198. Jiang W, Gao M, Sun S, Bi A, Xin Y, Han X, Wang L, Yin Z, Luo L (2012). Protective effect of L-theanine on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 422(2): 344-350.
199. Desai MJ, Gill MS, Hsu WH, Armstrong DW (2005). Pharmacokinetics of theanine enantiomers in rats. *Chirality* 17(3): 154-162
200. Bhattacharya P, Maity P (2000). Localization of phosphate dependent glutaminase in ascites fluid of ovarian cancer patient. *Pathol Oncol Res* 6(3): 217-223.
201. Claassen V (1994). Intraperitoneal drug administration. *Techniques in the Behavioral and Neural Sciences* 12: 46-58.

202. Yu D, Shi X, Meng G, Chen J, Yan C, Jiang Y, Wei J, Ding Y (2015). Kidney-type glutaminase (GLS1) is a biomarker for pathologic diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 6(10): 7619-7631.
203. Das R, Routray SS, Pradhan A, Ipsita S (2017). Immunonutrition with glutamine in ICU patients. *Asian J Pharm Clin Res* 10(8): 235-239.
204. Nagai K, Konishi H (2013). Protection of theanine against doxorubicin-induced acute cardiac toxicity. *Biomed Preventive Nutr* (2): 197-199.
205. Li C, Yan Q, Tang S, Xiao W, Tan Z (2018). L-theanine protects h9c2 cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis by enhancing antioxidant capability. *Med Sci Monit* 24: 2109-2118.
206. Ellinger JJ, Lewis IA, Markley JL (2011). Role of aminotransferases in glutamate metabolism of human erythrocytes. *J Biomol NMR* 49(3-4): 221-229.
207. Gong Z, Liu Q, Lin L, Deng Y, Cai S, Liu Z, Zhang S, Xiao W, Xiong S, Chen D (2018). L-theanine prevents ETEC-induced liver damage by reducing intrinsic apoptotic response and inhibiting ERK1/2 and JNK1/2 signaling pathways. *Eur J Pharmacol* 818: 184-190.
208. Eu JB, Kim SO, Seoung TJ, Choi SG (2010). Protective effect of theanine on the acetaminophen-induced hepatotoxicity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 9(3): 350-355.
209. Kim HJ, Park DJ, Kim JH, Jeong EY, Jung MH, Kim TH, Yang JI, Lee GW, Chung HJ, Chang SH (2015). Glutamine protects against cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing cisplatin accumulation. *J Pharmacol Sci* 127(1): 117-126.
210. Oliveira GP, Dias CM, Pelosi P, Rocco PR. Understanding the mechanisms of glutamine action in critically ill patients. *An Acad Bras Cienc* 82(2): 417-430.
211. Wheeler MD, Ikejima K, Enomoto N, Stacklewitz RF, Seabra V, Zhong Z, Yin M, Schemmer P, Rose ML, Rusyn I, Bradford B, Thurman RG (1999). Glycine: a new anti-inflammatory immunonutrient. *Cell Mol Life Sci* 56(9-10): 843-856.
212. Zhong Z, Wheeler MD, Li X, Froh M, Schemmer P, Yin M, Bunzendaul H, Bradford B, Lemasters JJ (2003). L-Glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 6(2): 229-240.
213. McCarty MF, O'Keefe JH, DiNicolantonio JJ (2018). Dietary glycine is rate-limiting

for glutathione synthesis and may have broad potential for health protection. *Ochsner J* 18(1): 81-87.

214. Xu FL, You HB, Li XH, Chen XF, Liu ZJ, Gong JP (2008). Glycine attenuates endotoxin-induced liver injury by downregulating TLR4 signaling in Kupffer cells. *Am J Surg* 196(1): 139-148.
215. Kim NH, Jeong HJ, Kim HM (2011). Theanine is a candidate amino acid for pharmacological stabilization of mast cells. *Amino Acids* 42: 1609-1618.
216. Chatterjee S, Chatterjee A, Roy S, Bera B, Bandyopadhyay SK (2014). L-theanine healed NSAID-induced gastric ulcer by modulating pro/antioxidant balance in gastric ulcer margin. *J Nat Med* 68(4): 699-708
217. Hwang YP, Jin SW, Choi JH, Choi CY, Kim HG, Kim SJ, Kim Y, Lee KJ, Chung YC, Jeong HG (2017). Inhibitory effects of l-theanine on airway inflammation in ovalbumin-induced allergic asthma. *Food Chem Toxicol* 99: 162-169.
218. Li C, Yan Q, Tang S, Xiao W, Tan Z (2018). Alteration of mevalonate pathway in rat splenic lymphocytes: possible role in cytokines secretion regulated by L-theanine. *BioMed Res Int* 2018: 8.
219. Razak MA, Begum PS, Viswanath B, Rajagopal S (2017). Multifarious beneficial effect of nonessential amino acid, glycine: a review. *Oxid Med Cell Longev* 2017: 8.
220. Ferrigno A, Berardo C, Di Pasqua LG, Siciliano V, Richelmi P, Vairetti M (2017). Localization and role of metabotropic glutamate receptors subtype 5 in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 23(25): 4500–4507.
221. Sadzuka Y, Inoue C, Hirooka S, Sugiyama T, Umegaki K, Sonobe T (2005). Effects of theanine on alcohol metabolism and hepatic toxicity. *Biol Pharm Bull* 28(9): 1702-1706.
222. Sumathi T, Asha D, Nagarajan G, Sreenivas A, Nivedha R (2016). L-Theanine alleviates the neuropathological changes induced by PCB (Aroclor 1254) via inhibiting upregulation of inflammatory cytokines and oxidative stress in rat brain. *Environ Toxicol Pharmacol* 42: 99-117.

223. Kim TI, Lee YK, Park SG, Choi IS, Ban JO, Park HK, Nam SY, Yun YW, Han SB, Oh KW, Hong JT (2009). L-Theanine, an amino acid in green tea, attenuates beta-amyloid-induced cognitive dysfunction and neurotoxicity: reduction in oxidative damage and inactivation of ERK/p38 kinase and NF-kappaB pathways. *Free Radic Biol Med* 47(11): 1601-1610.
224. Nakagawa T, Yokozawa T, Terasawa K, Shu S, Juneja LR (2002). Protective activity of green tea against free radical- and glucose-mediated protein damage. *J Agric Food Chem* 50(8): 2418-2422.

EKLER



EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi

T.C. KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU							
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI		Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu				
	AÇIK ADRESİ		Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 61080 /Trabzon				
	TELEFON		0462- 3775853—0462-3775403				
	FAKS, E- posta		0462- 3252270 – etikhd@ktu.edu.tr				
BAŞVURU BİLGİLERİ	ETİK KURUL DOSYA NO:		2017 / 24				
	ÇALIŞMANIN ADI		“Çekal Ligasyon Perforasyon (ÇLP) Yöntemi ile Sepsis Oluşturulan Ratlarda L-theaninin Etkilerinin Araştırılması”				
	SORUMLU ARAŞTIRMACI	ÜNVANI/ADI/SOYADI	Y.Doç.Dr.Meltem MALKOÇ				
		UZMANLIK ALANI	Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu / Biyokimya				
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, ÜNVANI/ADI/SOYADI		Prof.Dr.Birgül Vanızor KURAL, Prof.Dr.Süleyman TUREDİ, Arş.Gör.Serap Özer YAMAN, Y.Doç.Dr.Gökçen KERİMOĞLU, Yük.Lis.Öğr.Ihuriye PATAN, Prof.Dr.Asım ÖREM				
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ		TEZ ☐ AKADEMİK AMAÇLI ☒					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 40		Tarih: 06 /06/2017				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak KTÜ Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na incelenmiş; yapılan inceleme sonucunda araştırmanın KTÜ Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Yönergesi'ne uygun bulunarak onaylanmasına ve araştırmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.						
	ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYILARI		Erkek Sıçan 72 Adet				
	BAŞLANGIÇ Tarihi ve ETİK KURUL İZİN SÜRESİ:						
ÜYELER							
Unvanı / Adı / Soyadı		Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma İle İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ahmet AYAR Başkan		Fizyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Ahmet ALVER Başkan Yrd.		Tıbbi Biyokimya	KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	KATILMADI
Prof.Dr.Ali CANSU Üye		Pedatri	KTÜ Tıp Fakültesi Pedatri ABD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Engin YENİLMEZ Üye		Histoloji ve Embriyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Zerrin PULATHAN Üye		Kalp ve Damar Cerrahisi	KTÜ Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi ABD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Celal ÇANDIRLI Üye		Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi ABD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Rezzan ALİYAZICIOĞLU Üye		Temel Eczacılık Bilimleri Biyokimya	KTÜ Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri ABD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Nadir BAŞÇINAR Üye		Bahkçılık Teknolojisi	KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Bahkçılık Teknolojisi	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr.Serdar TÜRKİYILMAZ Üye		Genel Cerrahi	KTÜ Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Y.Doç.Dr.Emel ÇAKIR Üye		Tıbbi Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji ABD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Sait AL Üye		Veteriner Hekim	KTÜ Cerrahi Damar ve Estetik Bilimleri	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Uzm.Dr.Nuran AYDIN Üye		Nöroloji	KTÜ Tıp Fakültesi Nöroloji ABD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Ecz.Nuran EYÜPOĞLU Üye		Eczacı	KTÜ Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri ABD.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	KATILMADI

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı PATAN, Huriye
Uyruğu Türkiye Cumhuriyeti
Doğum Tarihi ve Yeri 1993/GÖRELE
E-Posta patanhuriye@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2019
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2015
Lise	Kadriye Moroğlu Lisesi	2011

YABANCI DİL : İngilizce (YÖKDİL: 82.5)

YAYINLAR

1. Kural BV, Patan H (2019). Teanın. GÜSBD 8(1): 128-135.

