

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PARENTERAL LİPİD EMÜLSİYONLARININ DENEY FARE SEPSİS MODELİNDE
MEZENTERİK HİPOPERFÜZYON, OKSİDATİF STRES VE ORGAN HASARINA ETKİSİ**

Dr. Öğrt. Üyesi Gökşen ÖZ

Tıbbi Farmakoloji Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2020

ÖZET

Öz, G., Parenteral Lipid Emülsiyonlarının Deney Fare Sepsis Modelinde Mezenterik Hipoperfüzyon, Oksidatif Stres ve Organ Hasarına Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2020.

Bu çalışmada, farede lipopolisakkarit ile oluşturulan septik şok modelinde farklı parenteral lipid emülsiyonlarının, mezenterik hipoperfüzyon, inflamasyona bağlı oksidatif hasar ve organ hasarına etkisi incelenmiştir. Mezenterik kan akımı değerlendirildiğinde, lipopolisakkarit uygulanan hayvanlarda akım, kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldı (ml/dk, kontrol: $3,02 \pm 0,10$, LPS: $1,44 \pm 0,10$). Kontrol grubunda zeytinyağı ve soya yağı mezenterik kan akımını azalttı. Lipopolisakkaritle azalan mezenterik kan akımını, balık yağı düzeltti ancak veri vücut ağırlığına göre yorumlandığında bu fark gözlenmedi. Lipopolisakkarit uygulaması sonrasında artan karaciğer ve dalak yağ ağırlığını lipid emülsiyonları önlemedi. Soya yağı, karaciğer, akciğer ve serumda oksidatif stres indeksini istatistiksel anlamlı olarak arttırdı. Zeytinyağı, dalakta, lipopolisakkarit ile artmış olan oksidatif stres indeksini azalttı, ancak serumda kontrol grubunda arttırdı. Histopatolojik incelemede, kullanılan dozlarda lipid emülsiyonları, normal fare karaciğer ve dalağı için histopatolojik olarak zararlı etkiler göstermektedir. Lipopolisakkarit varlığında balık yağı, sadece lipopolisakkarit uygulamasına göre karaciğere daha az hasar vermektedir. Bu sonuçların ana bulgusu yüksek omega-3 yağ asidi içeren balık yağı emülsiyonlarının deneysel sepsis modelinde azalmış mezenter kan akımını arttırması ve karaciğer hasarını önlemesidir. Balık yağı emülsiyonları, sepsis oluşturulmuş farelerde, koruyucu etki gösterdiği dozlarda, sağlıklı hayvanlarda organ hasarına sebep olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Septik şok, parenteral beslenme solüsyonları, yağ emülsiyonları, oksidatif stres, mezenterik dolaşım

ABSTRACT

Öz, G., Effects of Parenteral Lipid Emulsions on Mesenteric Hypoperfusion, Oxidative Stress and Organ Damage in Experimental Mouse Sepsis Model, Philosophy of Doctorate (PhD) Thesis in Medical Pharmacology, Ankara, 2020. In this study, the effect of different parenteral lipid emulsions on mesenteric hypoperfusion, inflammation-induced oxidative damage and organ damage in the septic shock model created with lipopolysaccharide in mice was investigated. When mesenteric blood flow was evaluated, the flow decreased significantly in animals treated with lipopolysaccharide (ml/min, control: 3.02 ± 0.10 , LPS: 1.44 ± 0.10). Olive oil and soybean oil decreased mesenteric blood flow in the control group. Reduced mesenteric blood flow and fish oil decreased with lipopolysaccharide but this difference was not observed when the data was interpreted according to body weight. Lipid emulsions did not prevent the increased liver and spleen wet weight after the application of lipopolysaccharide. Soybean oil statistically significantly increased the oxidative stress index in liver, lung and serum. Olive oil reduced the oxidative stress index in spleen, which increased with lipopolysaccharide, but increased in serum in the control group. In histopathological examination, lipid emulsions in the doses used show histopathologically harmful effects for healthy mouse liver and spleen. In the presence of lipopolysaccharide, fish oil does less damage to the liver than just lipopolysaccharide application. The main finding of these results is that fish oil emulsions containing high omega-3 fatty acids increase decreased mesenteric blood flow and prevent liver damage in the experimental sepsis model. Fish oil emulsions cause organ damage in healthy animals in sepsis-induced mice at doses with protective effects.

Key words: Septic shock, parenteral nutrition solutions, fat emulsions, oxidative stress, mesenteric circulation

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiv
RESİMLER	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sepsis Fizyopatolojisi	3
2.2. Total Parenteral Nutrisyon	4
2.3. Sepsiste TPN	5
2.4.Sepsiste Oksidatif Stres	24
2.5. Hipotez	25
2.6. Amaç	26
3. YÖNTEMLER	27
3.1. Deney Hayvanları	27
3.2. Etik Kurul İzni	27
3.3. Mezenter Kan Akımı Ölçümü	27

3.4. Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkileri	29
3.5. Lipid Emülsiyonlarının Organ Hasarına Etkileri	29
3.6. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları	30
3.7. Deneylede Kullanılan İlaçlar	30
3.8. Deney Verilerinin İstatistiksel Analizi	32
4. BULGULAR	34
4.1. Lipid Emülsiyonlarının Farede Mezenterik Kan Akımına Etkileri	34
4.2. Lipid Emülsiyonlarının Karaciğer Ve Dalak Ağırlıklarına Etkisi.	36
4.3. Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkileri.	38
4.3.1. Karaciğer Dokusunda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.	38
4.3.2. Dalak Dokusunda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.	39
4.3.3 Serumda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.	38
4.3.4 Akciğer Dokusunda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.	40
4.3.5 Böbrek Dokusunda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.	42
4.3.6. Karaciğer, Dalak, Akciğer, Böbrek ve Serum Oksidatif Stres İndeksi.	42
4.4. Lipid Emülsiyonlarının Organ Hasarına Etkileri	44
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	53
7. KAYNAKLAR	54
8. EKLER	
Ek 1: Deney Hayvanları Etik Kurul Kararı	
Ek 2: Orjinallik Raporu	
Ek 3: Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

ω	Omega
\approx	Yaklaşık
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADP	Adenozin difosfat
ALA	α -linolenik asit
ARA	Araşidonik asit
Asetil Ko A	Asetil koenzim A
ASPEN	American Society for Parenteral and Enteral Nutrition
BY	Balık Yağı
ÇDYA	Çoklu doymamış yağ asidi
DHA	Dokosaheksaenoik Asit
EPA	Eikozapentaenoik Asit
ESPEN	European Society for Clinical Nutrition and Metabolism
EYA	Esansiyel (temel) Yağ Asidi
HETE	Hidroksieikosatetraenoik asit
iv	intravenöz
ip	intraperitoneal
LA	Linoleik asit
LPS	Lipopolisakkarit
LT	Lökotrien
MCT	Middle Chain Triglyceride, orta zincirli trigliserit
MDA	Malonildialdehid
MPO	Myeloperoksidaz
NF- κ B	Nükleer faktör kappa Beta
OA	Oktadekenoik asit
Ox-LDL	Oxidised Low Density Lipoprotein
PG	Prostaglandin
PN	Parenteral Nutrisyon
PUFA	Poly-unsaturated Fatty Acid- Çoklu doymamış yağ asidi
Sal	Salin
SC	Subcutaneous, subkütan
SY	Soya yağı
TAS	Total Antioxidant Satatus, Toplam Antioksidan Statüsü
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substans
TDYA	Tekli Doymamış Yağ Asidi
TG	Trigliserit
TOS	Total Oxidant Status, Toplam Oksidan Statüsü
TPN	Total Parenteral Nutrisyon
TX	Tromboksan
YA	Yağ Asidi
ZY	Zeytinyağı

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1 İnfeksiyon, stres vb. hasarlanmayı takiben kritik hastalık akut ve geç fazı	5
2.2 Protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasının ortak ara ürünü Asetil-Ko A	12
2.3 EYA'lerinin yapısı A) n-3 ÇDYA B) n-6 ÇDYA	13
2.4 n-3, n-6, n-9 Çoklu doymamış yağ asitlerinin ortak kullanımdaki elongaz ve desatürazlarla metabolik süreçleri	14
2.5 n-3 ve n-6 Yağ asidi metabolitlerinden Eikasanoidlerin göreceli proinflamatuvar etkileri	20
2.6 Travmatik hasara bifazik immünoinflamatuvar yanıt	21
2.7 DHA ve EPA'nın hücre membranı kompozisyonu üzerinden yaptığı faydalı klinik sonuçlara yol açtığı düşünülen değişiklikler	23
4.1 LPS ve kontrol gruplarında mezenterik kan akımı (ml /dk) değerleri	34
4.2 Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY'nın mezenterik kan akımına (ml/dk) etkisi	35
4.3 Kontrol ve LPS gruplarında ağırlık başına mezenterik kan akımı (ml /dk gr) değerleri	35
4.4 Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY'nın ağırlık başına mezenterik kan akımına (ml/ dk.gr) etkisi	36
4.5 Karaciğer ağırlığı (kg vücut ağırlığı başına gr) (gr/kg)	37
4.6 Dalak ağırlığı (kg vücut ağırlığı başına gr) (gr/kg)	37
4.7 Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare karaciğer dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri	38
4.8 Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare dalak dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri	39

4.9	Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare serum TAS (A) ve TOS (B) değerleri	40
4.10	Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare akciğer dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri	41
4.11	Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare böbrek dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri	42
4.12	Fare karaciğer, dalak, akciğer, böbrek dokularında ve serumunda oksidatif stres indeksi (OSI).	43
4.13	BY, SY, ZY uygulamalarının karaciğer (A) ve dalak (B) üzerine etkisinin salin ve LPS uygulaması sonrası histopatolojik incelemesi, karşılaştırması	45 46

TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
2.1	Parenteral Nurisyon Tarihsel Gelişimi	8
2.2	İntravenöz Yağ Emülsiyonu Preparatlarında Kullanılan Yağlar	10
2.3	İntravenöz Lipid Emülsiyonlarındaki Yağ İçeriği	18
4.1	LPS verilen hayvanlara BY, SY, ZY uygulamalarının karaciğer ve dalak hasarına etkisi	47

RESİMLER

Resim		Sayfa
3.1	A) Doppler esasına göre akım hızı (ml/d) ölçen cihaz (Small animal blood flowmeter T 106X, Transonic Systems, USA) B) Damar probu (Perivascular Flow Probes, Transonic Systems, USA)	28
3.2	A) Damar probu yardımıyla mezenterik arter akımları ölçülmü B) Mezenterik kan akımı ölçümü- genel deney görünüm	28

1. GİRİŞ

Sepsis yoğun bakım ünitelerindeki hastaların en sık ölüm nedenidir. Mikrosirkülatuvar bozulma sonrasında yüksek mortalite ve morbidite gözlenir. Yoğun bakım hasta grubunda, bazı hastalarda gereksinimler doğrultusunda içerikleri farklı yüksek lipid komponenti olan parenteral nutrisyon (PN) ürünleri kullanılmaktadır. Bu ürünlerin sepsis ve kritik hastalıklar üzerine fayda ve zararları konusunda çelişkili yayınlar bulunmaktadır.

Intravenöz lipid emülsiyonları, parenteral nütrisyonun esansiyel yağ asitleri ve non-protein kalori sağlayan anahtar komponentidir (1). Bu lipid komponent, yağ asidi niteliğine göre kritik hastalık sırasında meydana gelen immün ve inflamatuvar yanıtı farklı şekilde etkileyebilir (2). n-6 Poliansature yağ asitlerinin zararlı etkilerini azaltmak için parenteral nutrisyonun lipid komponent içeriği yıllar boyu gelişim göstermiştir; orta zincirli yağ asidi içerenler ve/veya daha az peroksidize olan zeytinyağında bulunan oleik asit gibi tekli doymamış yağ asidi içeren ürünler geliştirilmiştir. Orta zincirli trigliseridler (MCT-*'medium chain triglycerides'*) alifatik kuyruğu 6-12 karbon atomu içeren trigliseridlerdir, uzun zincirli trigliseridler ise 14-18 karbon atomu içerir. Son zamanlarda n-6/n-3 çoklu doymamış yağ asidi oranını azaltan 3-4 çeşit yağ içeren karışımlar da kullanıma sunulmuştur (2). Lipid komponentin zaman içinde bu şekilde optimizasyonu ile proinflamatuvar sitokinlerin ve lökosit reaktif oksijen gruplarının azalacağı, antiinflamatuvar sitokinlerin sentezinin artacağı, resolinlerin salıverilmesine yol açacağı ve inflamasyonda rolü olan gen aktivasyonunun modüle olabileceği öngörülmüştür (2). Ancak, son klinik ve deneysel farmakonütrisyon çalışmaları kritik hastalık ve sepsis tedavisi açısından çelişkili verilerin ortaya çıkmasına yol açmıştır (3-13). Ülkemizde ticari olarak bulunan 3 farklı lipid türünü içeren parenteral nutrisyon ürünü; Kabiven periferal (Fresenius Kabi İlaç), Omegaven (Fresenius Kabi İlaç) ve Olicliomel N4 (Eczacıbaşı-Baxter İlaç) farklı lipid içeriğine sahiptir. Kabiven periferal, saflaştırılmış soya fasülyesi yağı, Omegaven yüksek derecede rafine edilmiş balık yağı

ve Oliclinomel rafine soya ve zeytinyağı içermektedir. Parenteral nütrisyon gereken durumlarda, lipid emülsiyon gereksinimde klinik pratikte bu ticari ürünler kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında ülkemizde ve dünyada sıklıkla kullanılan farklı içeriğe sahip parenteral lipid emülsiyonlarının deneysel sepsis modelinde mezenterik perfüzyon bozukluğuna (hemodinami), sistemik inflamasyona ve çoklu organ hasarına etkileri değerlendirilerek konuya katkı sağlanması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis Fizyopatolojisi

Sepsis, bozulmuş mikrohemodinami ve heterojen lokal perfüzyon, mikrotromboz ve endotelial disfonksiyon, permeabilite değişiklikleri ve intersitisyel sıvı kaymaları ile ilişkilidir (14-17). Bu mikrosirkülatuar değişiklikler sepsisten yaşamını kaybedenlerde daha belirgin olarak bozulmuştur ve bu değişikliklerin inatçı şekilde devam etmesi organ yetmezliği gelişimi ve ölümlle ilişkilidir (16, 18, 19). Deneysel sepsis modellerinde [lipopolisakarid (LPS) ile veya çekal bağlama ve delme (*'cecal ligation and puncture'-CLP*)] saatler içinde endotelial aktivasyon ve mikrovasküler permeabilitede artış başlar (20). Septiseminin sistemik doğası hesaba katıldığında bakteriyel endotoksine (LPS) ilk maruz kalan vasküler endotelialdır (21).

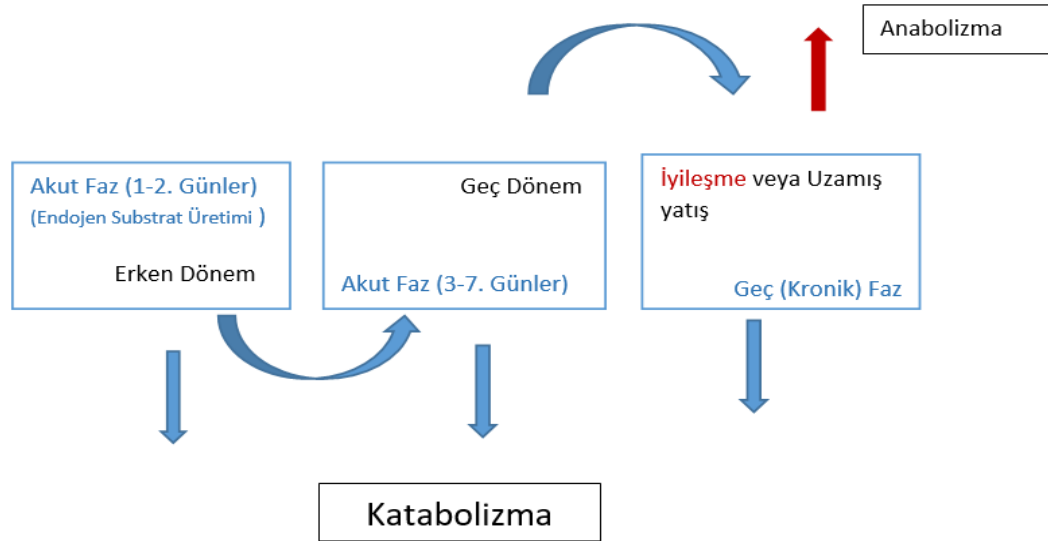
Son yıllarda glikokaliksin, mikrovasküler ve endotelial fizyoloji açısından özellikle mikrovasküler tonus ve endotelial permeabilitenin regülasyonu, endotelial bariyer boyunca onkotik gradiyentin sürdürülmesi, lökosit adezyon/migrasyonunun regülasyonu ve intravasküler trombozun önlenmesi açısından anahtar role sahip olduğu anlaşılmıştır (22-24). Glikokaliks, 0,2-0,5 mikrometre kalınlığında endotelialın lüminal yüzeyini kaplayan jelimsi çok katmanlı bir yapıdır. Proteoglikan, glikoprotein içerir ve glikozaminoglikanlarla endotelial hücrelerine bağlanır. Oksidanlar, hiperglisemi, sitokinler ve bakteriyel endotoksin varlığında dökülür ve bu durum sepsis dahil birçok hastalık fizyopatolojise ilişkilidir. Endotelial glikokaliks endotoksin, iskemi/reperfüzyon, oksidatif stres gibi bir çok değişik faktöre aşırı duyarlıdır ve bütünlüğü bozulur (25). Endotelial glikokaliksin sepsis gibi stres koşullarında zarar gördüğü bildirilmiştir (26). Klinik açıdan sepsis ve septik şok, enfeksiyonlara karşı vücut cevabının bozulduğu organ disfonksiyonunun eşlik ettiği yüksek mortaliteye neden olan bir hastalıktır (27). Yoğun bakıma yatış nedenleri arasında en sık görülendir ve yoğun bakımdaki en sık ölüm nedenidir (3, 28, 29). Bu nedenle, parenteral nutrisyon yoğun bakım hastaları için hayati önem taşımaktadır (30).

2.2. Total Parenteral Nutrisyon (TPN)

Enteral nutrisyon ve parenteral nutrisyon, klinik tedavi süreçlerinin ayrılmaz parçasıdır. Ağızdan beslenme mümkün olmadığında vücudun yapısal bileşenlerini muhafaza etmek için vücuda gerekli besinlerin sağlanması enteral ve parenteral nutrisyonun amacıdır. Yetersiz beslenme, insan vücudundaki tüm organları etkiler. Bu nedenle başta malnütrisyonlu hastalar olmak üzere, beslenmenin gastrointestinal ve/veya intravenöz yolla desteklenmesi büyük önem taşır. Bu nosyon, çok eski çağlardan beri vardır ve günümüzde de geçerlidir.

“Nutrient (besin)” gereksinimlerini anlamaya, yapılan deneysel çalışmalar ve araştırmaların çok büyük katkısı olmuştur. Gastrointestinal yola daha rahat ve uygun erişim, yeni araç-gereçlerin (tüpler, muhafaza kapları vb) geliştirilmesi, sindirim, emilim ve makro-mikronutrientlerin kullanımı gibi konularda yöntem ve bilgiler devamlı güncellenmektedir. Günümüzde özellikle yoğun bakım hastalarında enteral nutrisyon sıklıkla kullanılmakla beraber, tek başına veya enteral nutrisyona ek olarak parenteral nutrisyon kullanımının da vazgeçilmez olduğu kritik hastalık süreçleri söz konusudur (31, 32).

Kritik hastalıkların genel olarak tanımlanan med-cezir /gel-git/ yükselme-alçalma ('ebb and flow') fazları veya akut fazın erken ve geç dönemleri vardır. Erken dönem, yoğun bakım ünitesine kabul nedeni olan hemodinamik instabilitenin hiperakut fazıdır. Akut fazın geç dönemi ise takiben meydana gelen metabolik instabilite ve katabolizmayı içerir. Akut fazın geç dönemi, erken dönemine göre daha kısa veya uzun olabilir. Sonraki dönem ise anabolizma periyodudur (31) (Şekil 2.1). Post-akut faz (geç), iyileşme, rehabilitasyon, kalıcı inflamatuvar/katabolik durum veya uzamış hospitalizasyonla devam edebilir (Şekil 2.1) (31).



Şekil 2.1. İnfeksiyon, stres vb. hasarlanmayı takiben kritik hastalık akut ve geç fazı. Hasarlanmayı takiben akut faz erken ve geç periyodu (dönem) içerir. Post-akut faz iyileşme-rehabilitasyona ilerleyebilir, kronikleşir ve uzamış inflamatuvar veya katabolik sendroma (PICS-*'Prolonged Inflammatory and Catabolic Syndrome'*) ilerler.

2.3. Sepsiste TPN

SEPSİS-3 kriterlerine göre, septik şok, sepsisin mortalite artışıyla ilişkili dolaşımsal, hücrel ve metabolik anormalliklerin özellikle belirgin olduğu bir alt kümesi olarak tanımlanmaktadır (33). Bu güncellenmiş septik şok tanımı, çok iyi bilinen sepsisle indüklenen metabolik disregülasyonun, patofizyolojik önemini vurgulamaktadır. Klasik olarak, enerji tüketimi, stres hiperglisemisi, akut kas yıkımı, insulin rezistansının da eşlik ettiği hepatik glukoz üretimi artışı için, amino asitlerin endojen geri dönüşümünün arttığı metabolik dengesizlikleri kapsar (34).

Vazopresör veya inotrop alan septik şok hastaları için, kritik hasta beslenme rehberlerinde, erken ve progresif enteral nutrisyon kullanımı veya enteral nutrisyonun kontraendike olduğu durumlarda yerine progresif parenteral nutrisyon kullanılıp

kullanılamayacağı konusunda kanıta dayalı bir öneri henüz yoktur (31, 32). Patofizyolojik temelde, kontrol altına alınamamış şokta enteral nutrisyonun tolere edilememesi ihtimali yüksektir, çünkü şoka bağlı splanknik perfüzyon bozulmuştur ve enteral nutrisyon ile bu bozulma daha da artar, bu durumda teorik olarak sindirimin kendisi bağırsak iskemisi ve nekrozuna ilerleyebilen ekstra iş yüküne neden olabilir (35).

Kritik hastalarda parenteral nutrisyon yerine enteral nutrisyon tercih edilmesi güncel rehberlerin (ASPEN-American Society for Parenteral and Enteral Nutrition, ESPEN-European Society for Clinical Nutrition and Metabolism) paradigmasıdır (31, 32). En son yayınlanan ESPEN rehberi, ilgili çalışmaların az olması nedeniyle 'uzman görüşü' olarak şok durumu yoksa sepsiste erken ve progresif enteral nutrisyon önermektedir (31). ASPEN rehberi de benzer şekilde 'uzman görüşü' olarak hemodinamik instabilite yoksa sepsiste ilk 24-48 saat içerisinde enteral nutrisyon başlanmasını önermektedir (32). Sepsiste Hayatta Kalma Seferberliği (*The Surviving Sepsis Campaign*) de düşük ve orta kalitede çalışmalara göre erken parenteral nutrisyonu tavsiye etmemektedir, erken progresif enteral nutrisyon ise teşvik edilmektedir (36). Sonuç olarak sadece şok durumu kontrol altına alınamamış hastalarda, enteral nutrisyonun kesilmesi önerilmektedir. Son zamanlarda özellikle septik yoğun bakım hastalarında medikal nutrisyon tedavisi açısından bu konuda eksiklik olduğu düşünülmektedir (37, 38). Parenteral nutrisyonun daha az gastrointestinal komplikasyonu olduğu düşünüldüğünde septik şoktaki hastalarda daha avantajlı olup olmadığı hala belirsizdir (38). Ancak henüz herhangi bir rehberde, bu hastalarda parenteral nutrisyon endikasyonlarına değinilmemiştir.

Parenteral nutrisyon, yeme ve sindirim süreçlerinin atlanarak özellikli nutrisyonel ürünlerin kişiye intravenöz yolla verilmesidir. Başka bir deyişle parenteral nutrisyon desteği, kalori, amino asitler, elektrolitler, vitaminler, eser elementler ve sıvıların parenteral yolla sağlanmasıdır. Enteral nutrisyonun tolere edilemediği veya gastrointestinal yolun kullanılmadığı durumlarda gerektiğinde parenteral nutrisyon

kullanılır. Total parenteral nutrisyon, nutrisyonun parenteral yol dışında diğer herhangi bir yolla (oral, gastrik, jejunal), sağlanamadığı durumda söz konusudur. Periferik parenteral nutrisyon ise, parenteral nutrisyon santral venler dışında özellikle ekstremitelerde bulunan periferik venlerle sağlanmasıdır. Parenteral nutrisyon ürünleri, karbonhidrat, protein, vitamin, eser element ve elektrolit gibi besin ögesi karışımlarından oluşur (39). Parenteral nutrisyon, yaklaşık 70 yıldır mevcut terapötik bir yöntemdir. Bu tedavi yönteminin modern anlamda başarılı gelişimi 1930'ların sonunda başladı ancak 1960'lı yıllara kadar klinik kullanıma girmedi (40). Yapay beslenme düşüncesinin kökeni ise 5000 yıl öncesi eski Mısır'a kadar gider ve son 2000 yıllık süreçte bu alanda önemli deneme ve araştırmalar olmuştur (41). PN tarihi, M.Ö. 300'lerde dolaşım sisteminin ilk kez tanımlanması ile başlar (Tablo 2.1) (41). PN'deki ilk belgeli girişim 12. yüzyılda Sevilla, İspanya'da, İbn Zühr (1091–1161) adlı bir cerrah tarafından tasarlanan içi boş gümüş bir iğne yardımıyla insana besin sağlayan bir aletle yapıldı (42). Girişimin başarılı olup olmadığı veya içeriği belli değil ancak böyle bir girişimin tarihte çok erken yapılmış olması kayda değerdir. 1628 yılında kan dolaşımının ayrıntılı tanımlanması intravenöz enjeksiyon ve infüzyonların temelini oluşturmaktadır. Sonrasında 1665'te bir köpeğe intravenöz yoldan şarap, bira ve opiyatlar infüze edilmiş ve yayınlanmıştır. Bu yayında insanın oral yoldan alkol aldığında görülen sarhoş edici etkilerin, köpeğe intravenöz yoldan verildiğinde de aynı olduğu belirtilmiştir (40). Sonrasında yine köpeğe kan transfüzyonu, koyundan genç bir erkek hastaya kan transfüzyonu gibi denemeler yapılmıştır (43). Bir diğer dönüm noktası ise 1g/kg dozda zeytinyağının bir köpeğe iv. yoldan verilmesidir. Köpeğin, akciğerlerde meydana gelen muhtemel yağ embolisi sonucu ciddi solunum sıkıntısı belirtileri ile öldüğü görüldü. Bu nedenle, intravenöz yoldan yağ verilmesinin ancak bazı özel veya değiştirilmiş şekillerde olabileceği farkedildi (40). 1831-1832'de kolera salgını sırasında İskoç doktor Latta, su ve tuzları ilk kez infüze etti ve hasta kurtuldu (44). 1873'te Edward Hodder, Kanada'da 3 kolera hastasına süt (içinde yağla) infüzyonu yaptı, üç hastanın ikisi kurtuldu. Diğer bazı süt infüzyonu çalışmaları, süt infüzyonunun birçok ciddi advers

Tablo 2.1: Parenteral Nutrisyon Tarihsel Gelişimi (41).

Tarih	Katkı Sağlayan	Katkısı
300 (M.Ö)	Herophilus ve Erasistratus	Dolaşım sisteminin ilk kez tanımlanması
1091-1161	İbn Zuhr	İçi boş gümüş iğneyle insan "beslemek" için ilk teşebbüs
1628	Harvey	Kan dolaşımının ayrıntılı açıklanması
1658	Wren	Şarap,bira,afyonu kaz tüyünden bir aletle köpeğe iv uyguladı
1710	Courten	Sirke, tuz ve idrarın yan etkisi olmadan bir köpeğe iv infüzyonu; zeytinyağı infüze ederken köpeğin ölmesi
1733	Hales	IV su infüzyonu, ödemin keşfedilmesine yol açtı
1831	Latta	IV salin infüzyonu ile kolera'nın başarılı tedavisi
1843	Bernard	Sonrasında hastanın idrarında tespit edilen iv sükröz infüzyonu
1869	Menzel ve Perco	Yüksek dozda SC yağ, süt ve kafurun, köpeklerde belirgin yan etki olmadan infüze edildi
1873	Hodder	Kolera tedavisinde iv süt infüzyonu
1875	Krug	Anoreksiya nervoza hastasını SC yağ ve protein enjeksiyonları ile besledi
1904	Friedrich	SC pepton, yağ, glikoz ve tuz infüzyonu ile PN uyguladı
1904	Abderhalten	İlk başarılı PN uygulaması
1909	Kausch	Postoperatif glukoz infüzyonu
1911	Henriques ve Andersen	Hayvansal proteinle iv beslenen bir keçiye pozitif azot dengesinin elde edilmesi
1913	Woodyatt ve arkadaşarı	Sabit iv glukoz infüzyonu için infüzyon pompası
1915	Rose	İnsanlarda esansiyel amino asitlerin tanımlanması
1934	Elman	Enzimatik olarak hidrolize edilen proteinlerin köpeklere ve insanlara başarılı şekilde iv infüzyonu
1936	Shohl	Hidrolize proteinlerin glikoz ve fruktoz ile iv infüzyonu - tatminkar sonuçlar
1949	Rhode ve ark	Yetişkin köpeklere başarılı PN infüzyonu
1963	Schuberth ve Wretlind	Soya yağı ve yumurta sarısı fosfolipitleri içeren yağ emülsiyonunun test edilmesi (başarılı)
1964	Bansi ve ark	IV sentetik L-amino asit sağlanması
1967	Dudrick ve ark	Tazı yavrularına PN ile başarılı infüzyon
1968	Wilmore ve Dudrick	Bir infanta başarılı uzun süreli PN infüzyonu
1973	Hofert ve ark	İnfantler için tasarlanmış ilk amino asit formülü
1974	Grotte ve ark;Borresen ve Knutrud;Jurgens ve ark	İnfant ve çocuklar için tasarlanmış emülsifiye yağ içeren programlı PN uygulamaları
1983	Wretlind	Postoperatif hastalar için Vamin adlı sentetik formül mama geliştirdi
1987	Panteliadis ve ark	Taurin içeren orta zincirli ve uzun zincirli trigliserit formül ürün tasarlanması

IV veya iv, intravenöz; PN, parenteral nutrisyon; SC, deri altı

reaksiyona yol açtığını gösterdi ve bu terapötik metod terkedildi (40). 1869'da Menzel ve Perco tarafından Viyana'da köpeklere subkütanöz yağ verildi ve göreceli olarak büyük miktarların bile zararlı etkileri gözlenmedi (40). 1904'te Paul Friedrich, pepton, yağ, glukoz ve elektroliti subkutan infüzyon şeklinde uygulayarak daha ileri çalışmalar yaptı ancak infüzyonların çok ağırlı olması nedeniyle bu yöntem klinik kullanıma giremedi (41).

20. yüzyılın başında diyetle alınan proteinlerin, emilim öncesi, bağırsakta hidrolize olduğu biliniyordu (40). Bu nedenle amino asit ve hidrolizatların iv uygulanmasının etkilerinin araştırılması gündeme geldi. Bu alanda ilk başarılı çalışma 1913 yılında Henriques ve Andersen tarafından sığır eti hidrolizatının bir keçiye infüze edilmesi ve pozitif azot dengesi sağlanmasıdır (40). Amino asitlerin, ancak eş zamanlı olarak yeterli enerji sağlandığında optimal kullanılabileceği fark edildi. O günlerde glukoz, protein olmayan mevcut tek iv enerji kaynağıydı (40). Ancak, bu yolla verilebilecek glukoz miktarı ise sınırlıydı.

İzotonik glukoz emülsiyonları kullanıldığında sıvı yükü fazla oluyor, konsantre glukoz kullanıldığında ise venlerin intimaları hasar görüyordu ve tromboflebite yol açıyordu (o sıralarda infüzyon için sadece periferik venler kullanılmakta idi). Bu nedenle düşük osmotik basıncı ve yüksek enerji içeriği olan enerji kaynakları bulmak için birçok çalışma yapıldı. 1920-1960 arasında Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Japonya'da çeşitli kompozisyonlarda yüzlerce yağ emülsiyonu denendi (Tablo 2.2) (45). Yağ emülsiyonlarının bir avantajı da hastalara, normal besinlerde olan miktarda yağ ve esansiyel yağ asidi sağlayabiliyor olmasıydı.

1960 öncesi insanda kullanılan tüm yağ emülsiyonları akut bulantı-kusma, sırt ağrısı, kolloid reaksiyonları, ateş gibi advers etkilere neden olmaktaydı. Ayrıca arka arkaya infüzyonlar sonrası karaciğer hasarı, sarılık, kanama gibi daha ciddi reaksiyonlar gözlenmekteydi (45). Çalışma sonuçlarının bu şekilde hayal kırıklığına yol açmış olması ileri çalışmaların yapılmasını teşvik etmedi. İlk toksik olmayan ve kolay elde edilen yağ

emülsiyonu 1961’de Intralipid adıyla Wretlind ve Schubert tarafından geliştirildi (46). Bu emülsiyon, soya fasulyesi yağı ve yumurta sarısı fosfolipidlerinden hazırlanmıştı. 1962’de ilk parenteral nutrisyon sempozyumu İsveç’te toplandı ve bir TPN programının detayları ilk kez sunuldu (40).

Tablo 2.2. İntravenöz Yağ Emülsiyonu Preparatlarında Kullanılan Yağlar (45).

Susam	Pamuk tohumu
Zeytin	Morina balığı karaciğeri
İnsan vücudu yağları	Hindistan cevizi
Tereyağ	Domuz yağı
Mısır	Aspir yağı
Fıstık	Sentetik
Soya	

Daha ileri gelişmeler, 1976’da kurulan Amerikan Parenteral ve Enteral Nutrisyon Derneğinin (ASPEN) desteğiyle meydana geldi (41). Avrupada da çeşitli nutrisyon kongreleri yapılmasına rağmen Avrupa Klinik Nutrisyon ve Metabolizma Derneği (ESPEN) ancak 1980’de resmi olarak kuruldu. Akut hastalık ile ilişkili metabolik problemlerin araştırılması, bunların nutrisyonel etkileri ve yönetimi konularına adanmış bir dernektir (47). ESPEN, konunun multidisipliner doğasına vurgu yapmaktadır ve bu durum dernek üyelik şartlarına da yansıtılmıştır (47).

Süreç içerisinde pirojenik olmayan iv çözeltiler sağlandı ve bunu diğer teknik gelişmeler izledi. Sıvı ve elektrolit dengesi, katabolik durumla ilişkili değişiklikler, perioperatif metabolizma ve açlık metabolizması etrafında yeni bir bilim alanı ortaya çıktı. Aynı şekilde bu gelişmelerin pediatrik hasta grubunda beslenme ve büyüme-gelişme alanına da katkıları oldu (40).

Son 20-30 yılda, intravenöz beslenmenin gelişmesi devasa boyutlara ulaştı. Yeni yağ ve amino asit emülsiyonları pazara sunuldu, etkili oldukları kanıtlandı. Günümüzde beslenme pompaları, infüzyon pompaları ve kateterler çok daha başarılıdır ve artık tüm dünyada kolayca ulaşılabilir konumdadır (48). Ayrıca gerektiğinde uzun dönem parenteral nutrisyon ihtiyacı olan hastalarda evde PN uygulamaları da yapılabilmektedir.

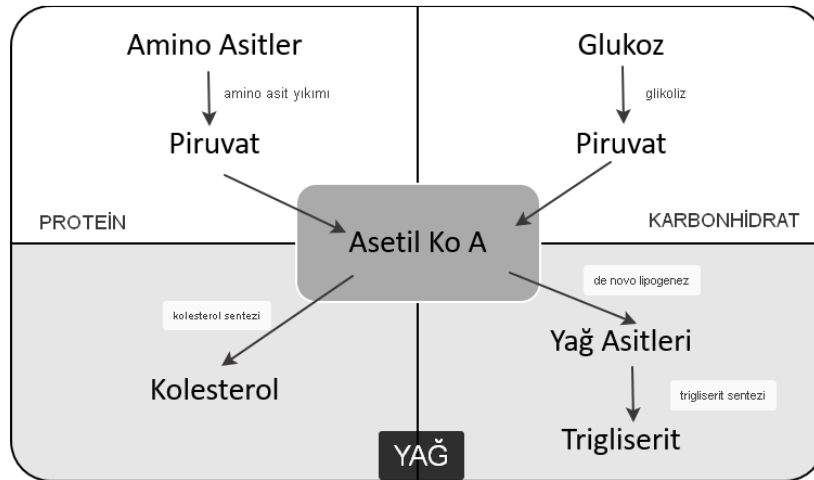
Parenteral Nutrisyondaki Lipid Emülsiyonları

PN, enteral yolla besin maddelerini yeterince absorbe edemeyen bağırsak yetmezliği olan hastalar için hayat kurtarıcı bir tedavidir. 1960'larda PN formülleri, besin gereksinimlerini karşılamak amacıyla, iv karbonhidrat, amino asit, elektrolit ve mineral içerecek şekilde tasarlanmışlardı. Bu ilk formüllasyonlar, PN gereksinimi olan infantların bir dereceye kadar hayatta kalmasına hatta bazı büyüme belirteçlerini karşılamasına olanak sağlıyordu (49). Bununla birlikte, hastalarda yağ içermeyen PN ile uzun vadede esansiyel (temel) yağ asidi eksikliği gelişmekteydi. Bu durum büyüme bozukluğu, gelişme geriliği, dermatit, böbrek ve akciğer anomalileri ile karakterize idi (49). Uzun süreli beslenme desteği gereken intestinal yetmezliği olan hastalar için iv lipid emülsiyonları ABD'de 1970'lerde kullanılabilir hale geldi. Günümüzde intravenöz yolla optimal nutrisyonu sağlamak için bu ürünler hala geliştirilmeye devam etmektedir.

Besinsel Açıdan Yağ Gereksinimi

Yağlar, vücutta birçok amaca hizmet ettikleri için biyolojik olarak hayati öneme sahiptirler. Primer olarak hücre için yoğun bir enerji kaynağı işlevi görürler. Ayrıca yağların, hücre membranı bileşeni, hücre sel sinyalleme kaskadlarında ikinci ulak, inflamasyon modülasyonu, trombosit fonksiyonu öncülüğü ve kolesterol-endojen steroid biyosentezi için substrat görevleri vardır. Fizyolojik ihtiyaçları karşılayacak miktarda yağ alımını sürdürmek önemlidir. Fazla protein ve karbonhidrat alımı *de novo* lipogenezi arttırabilir. Bu durumda yağ üretimi, protein, karbonhidrat ve kendi

metabolizmasının ortak ara ürünü olan asetil koenzim A (Asetil Ko A) üzerinden artmaktadır (Şekil 2.2.) (49). Besin fazlalığından üretilen yağ asitleri trigliserit (TG) olarak paketlenir; adipositler ve karaciğerde depolanır, bu durum non-alkolik yağlı karaciğer hastalığına yol açabilir. Yetersiz miktar yağ alımı da esansiyel yağ asidi (EYA) eksikliğine yol açar. Esansiyel yağ asidi eksikliği, dermatit, büyüme bozukluğu, gelişme geriliği, yorgunluk, infertilite, hepatik yağ metabolizması bozuklukları, enfeksiyona yatkınlık ve bazen pulmoner yetmezlik klinik belirtileri ile karakterizedir.



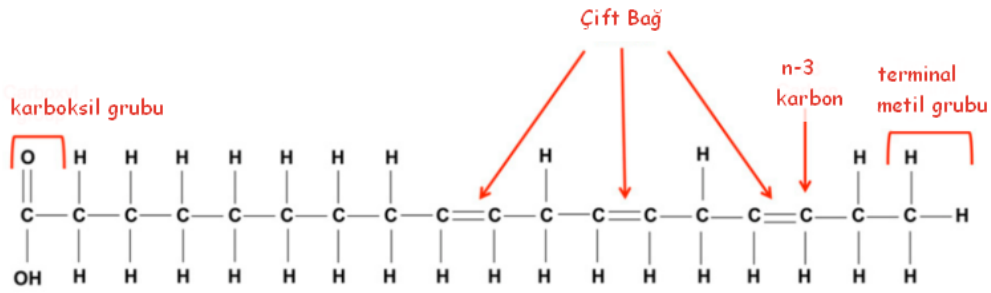
Şekil 2.2. Protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasının ortak ara ürünü Asetil-Ko A. Fazla protein ve karbonhidrat alımına bağlı kalorinin, yağa dönüşümü ortak ara ürün Asetil Ko A nedeniyle kolaydır.

Kalorik gereksinimler, parenteral karbonhidrat ve protein ile de tek başına karşılanabilir ancak yüksek karbonhidratlı veya yağ içermeyen PN hem hayvan modellerinde hem hastalarda hepatik steatoza ve esansiyel yağ asidi eksikliğine yol açar (50-52). Yüksek karbonhidrat içeren PN uygulamaları ile meydana gelen diğer metabolik anomaliler, hiperglisemi ve insülin rezistansıdır (53). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada PN uygulamasında, karbonhidrat kalorisinin % 20'si yağdan karşılandığında,

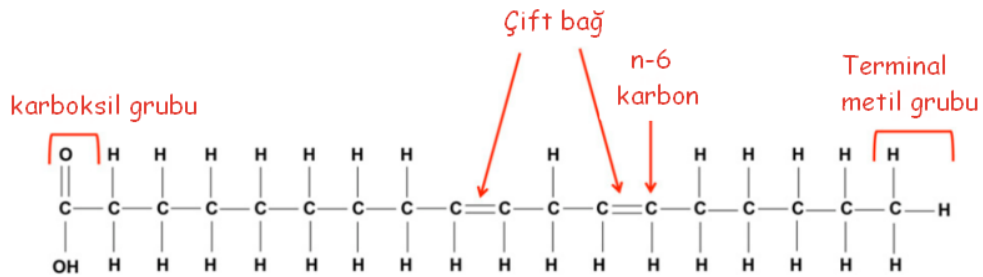
yağsız aynı kalorideki PN'a göre normal serum glukoz seviyeleri, serum insülinde azalma ve insülin rezistansında düzelme görülmüştür (54).

Esansiyel (Temel) Yağ Asitleri

Çoğu yağ asidi (YA) karaciğer, yağ dokusu ve süt veren meme bezlerinde asetil-KoA'dan sentezlenebilir. Ancak memeliler, omega-3 (ω -3, n-3) ve omega-6 (ω -6, n-6) uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerini (ÇDYA) sentezleyemezler. n-3 YA'leri, terminal metil grubundan itibaren 3., 6. ve 9. karbondan itibaren çift bağ içerir, n-6 YA'leri ise 6. ve 9. karbondan itibaren çift bağ içerir (Şekil 2.3). Bu uzun zincirli YA'leri sentezlenemez, çünkü terminal karbondan itibaren 3. ve 6. karbondan itibaren çift bağ oluşumunu katalizleyen desaturaz enzimi insanda yoktur. Bu nedenle n-3 ve n-6 YA'leri diyetle alınmalıdır.



A. Alfa-linolenik asit (n-3)

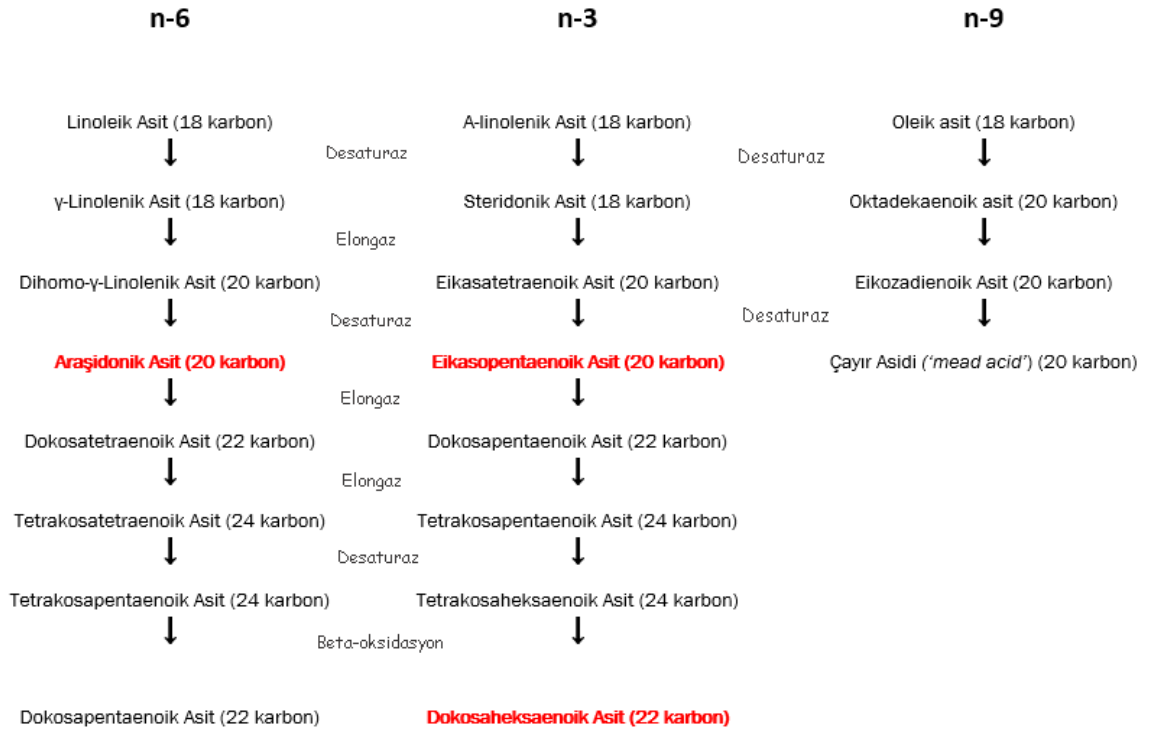


B. Linoleik asit (n-6)

Şekil 2.3.: EYA'lerinin yapısı. A) n-3 ÇDYA, birden fazla çift bağ içerir, çift bağlardan birisi mutlaka n-3 karbonu pozisyonundadır. B) n-6 ÇDYA, birden fazla çift bağ içerir, çift bağlardan birisi mutlaka n-6 karbonu pozisyonundadır.

Diyetten sağlanan α -linolenik asit (ALA; 18:3 n-3) ve linoleik asit (LA; 18:2n-6) kaynak n-3 ve n-6 esansiyel yağ asidi görevi görürler ve elongazlar yardımıyla diğer n-3 ve n-6 ÇDYA oluşumuna sebep olurlar. Elongazlar, YA hidrokarbon kuyruğunu uzatırlar ve ek çift bağ yerleştirerek desature ederler. LA üzerine etki eden enzimler araşidonik asit (ARA, eikozatetraenoik asit; 20: 4 n-6), ALA üzerine etki edenler eikozapentaenoik asit (EPA; 20:5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA; 22:6n-3) oluşumuna neden olurlar.

Bu enzimler, ayrıca esansiyel olmayan ω -9 (n-9) yağ asidi oleik asiti de (OA, oktadekenoik asit; 18:1n-9) 'mead' (çayır) asidine (eikasotrienoik asit; 20:3n-9) çevirirler (Şekil 2.4) (49).



ŞEKİL 2.4. n-3, n-6, n-9 Çoklu doymamış yağ asitlerinin ortak kullanımındaki elongaz ve desaturazlarla metabolik süreçleri. Bu enzimler n-6 yağ asitlerine daha fazla afinite gösterirler. Kırmızı renkli yazılı olan yağ asitleri, inflamasyon, koagülasyon ve hücre sinyalleme modülatörü üretiminde anahtar ara ürünlerdir.

PN için intravenöz uygulanan lipid emülsiyonlarında temel yağ asidi eksikliğini engellemek için uygun miktarda EYA bulunmalıdır. Bu konuda 1960'lerden itibaren birçok çalışma yapılmıştır (55-58). 80'li yıllarda Barr ve ark. soya yağı temelli lipid emülsiyonu ile toplam günlük kalorinin en az % 3.2'sini sağlandığında PN-bağımlı hastalarda esansiyel yağ asidi eksikliği gelişmediğini bulmuşlardır (56). LA ve ALA, tarihsel olarak temel n-6 ve n-3 olarak kabul edilse de, DHA, EPA ve ARA içeren LA ve ALA metabolitleri, klinik olarak EYA eksikliğini önlemek için yeterlidir (57).

Intravenöz Lipid Emülsiyonları İçeriği

Normalde diyetdeki yağlar, intestinal lümende safra tuzları tarafından emülsifiye edilir, pankreatik lipazlarca hidrolize olur ve intestinal enterositlerce alınır. Serbest kalan uzun zincirli YA'leri lenfatik kanallara ve sonrasında venöz sisteme girmeleri için şilomikronlara paketlenir. Kısa ve orta zincirli yağ asitleri ise enterositlerden doğrudan emilerek dolaşıma albumine bağlı yağ asitleri olarak geçerler. Bu süreçler, YA'nin kan akımında stabil bir enerji gereksinimi formu olarak taşınabilmesi için özenle düzenlenmiştir. İntravenöz yağlar ise intestinal lümende hedef organlara ulaştırılmak üzere kan dolaşımına uygun hale getirildikleri; lipazlar tarafından hidrolize edilme, safra tarafından çözünür hale getirilme ve enterositlerde şilomikronlara paketlenme olmadan doğrudan kan dolaşımına girerler. Bu nedenle dolaşıma verilecek olan yağların, aköz fizyolojik ortamla uyumlu transportu için, uygun şekilde partiküller halinde paketlenmeleri gerekir (49).

Fosfolipid emülsifiye ediciler: Emülsiyonlar, birbirinden ayrı iki sıvı fazını içerir, ancak bu sıvı fazlardan birisi diğerinin içinde ince damlacıklar şeklinde yayılmıştır. İntravenöz kullanım için olan lipid emülsiyonları aköz dispersiyon (saçıntı) içinde asılı yağlar şeklindedir. Dispersiyon tipik olarak yumurta sarısı lesitini, gliserol ve su formunda fosfolipid içerir. Yağ, dispersiyona devamlı karıştırma ile sokulur ve fosfolipid tek katmanın çevrelediği yağdan gelen TG'leri içeren çok küçük damlacıklar (globül) oluşur. Bu globüller yapısal olarak intestinal enterositlerde meydana gelen

şilomikronlara benzer. Globül büyüklüğü parenteral lipid emülsiyonlarının çok önemli bir özelliğidir, çünkü çok büyük globüller birleşerek daha büyük damlacıklar haline gelebilir ve çeşitli organlarda birikerek oksidatif hasara yol açabilir (59). İntravenöz uygulanan lipid emülsiyonlarının birleşmesi nedeniyle hepatosplenomegali (Kupffer hücrelerinde ve retiküloendotelyal sistemde yağ birikimi) ve pulmoner dolaşımında yağ tortuları nedeniyle solunumun bozulması durumları bildirilmiştir (60, 61). Ayrıca stabil olmayan büyük globüllü lipid emülsiyonları uygulanması sonrası hayvan modellerinde oksidatif hasar ve YA peroksidasyonu görülmüştür (61).

Küçük globül boyutları ile lipidlerin kanda optimal stabilite ve solubilité ile transportu sağlanır. ABD farmakopesinde intravenöz lipid emülsiyonları için ortalama globül büyüklüğü < 500nm ve >5 µm olan yağ globülü yüzdesinin <% 0.05 olduğu 2 farklı globül boyutu belirlenmiştir. Globül büyüklüğü, fosfolipid/TG oranı değiştirilerek belirlenebilir (62, 63).

Fosfolipid emülsifiye ediciye ek olarak sodyum oleat stabilize edici, gliserin ise ozmotik ajan olarak eklenmektedir.

İntravenöz Yağ Emülsiyonlarındaki Yağ İçeriği

Parenteral lipid emülsiyonlarındaki TG'lerin başlıca kaynağı yağlardır. Her yağın kendine has bir YA kompozisyonu ve parenteral lipid emülsiyonunun fizyolojik etkilerine tesir eden katkı maddesi profili vardır. Öncelikle, PN'da intravenöz lipid emülsiyonlarının n-3 ve n-6 YA içeriği EYA eksikliğini önleyecek şekilde olmalıdır. Klinik çalışmalar, aynı zamanda n-6/n-3 YA oranının da önemli olduğunu belirtmektedir. ALA ve başlıca metabolitleri olan EPA ve DHA'nın da içinde bulunduğu n-3 YA'leri antinflamatuar 3-serisi prostaglandinlerin, 5-serisi lökotrienlerin ve inflamasyonun çözülmesini (iyileşmesini) teşvik eden resolvinler, protektinler ve maresinlerin öncüleridirler (64, 65). *In vitro*, makrofaj membranlarında yüksek DHA ve EPA lipopolisakkarite yanıt olarak IL-6 ve TNF-α yanıtında azalmaya neden olabilmektedir (66, 67). n-6 YA'leri LA ve başlıca metaboliti ARA, proinflamatuar mediyatörler olan 2-

serisi prostaglandinlerin ve tromboksanların, 4-serisi lökotrienlerin öncülüdür. n-6/ n-3 YA oranı yüksek diyetler, yüksek proinflatuvar biyobelirteç serum seviyeleri ile ve ADP/trombin aracılı platelet agregasyonu artışı ile ilişkilidir (68). Ayrıca, bu diyetler non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, koroner arter hastalığı ve aterosklerozla da ilişkilidir (69, 70). Hayvan deneyleri, birebir n-6/n-3 YA oranının ideal olabileceği yönünde deliller ortaya koymaktadır, bu nedenle PN lipid emülsiyonlarının EYA içeriğini göz önünde tutmak önemli olabilir (71, 72).

Lipid Emülsiyonlarında Biyolojik Olarak Aktif Kısımlar

Intravenöz lipid emülsiyonlarında kullanılan fizyolojik olarak en önemli katkı maddesi fitosteroller ve α -tokoferoldür. Fitosteroller bitki kökenli sterollerdir, yapısal olarak kolesterole benzerler ancak insan vücudunda metabolize edilemezler. Enteral olarak tüketilirse yaklaşık % 5'i intestinal olarak absorbe edilir (73). Ancak iv uygulandığında % 100'ü sistemik dolaşıma girer. Fitosteroller, hayvan modellerinde iv uygulandığında, dolaşımda, karaciğerde, safrada birikirler ve kolestazisi tetikleyebilirler (74, 75). Çalışmalarda, safra akımını teşvik eden, nükleer bir reseptör olan hepatik farnesoid X reseptörünü inhibe ederek bu etkiyi gösterdikleri anlaşılmıştır (76, 77).

α -Tokoferol, E vitamini ailesinden bir antioksidandır. n-3, n-6 YA'leri gibi çoklu doymamış YA'leri peroksidasyon ve oksidatif hasara özellikle duyarlıdır. ÇDYA'lerinin oksidasyonu, serbest oksijen radikalleri oluşumuna yol açar, bunlar da DNA ve proteine bağlanarak hücre hasarı ve ölümüne yol açabilir. α -Tokoferol, peroksidlenen lipitlerden kaynaklanan serbest radikalleri temizler ve oksidatif lipid hasarına ilerlemeyi engeller (78).

Parenteral Lipid Emülsiyonları İçin Yağ Kaynakları

Intravenöz uygulama için lipid emülsiyonu üretiminde birçok yağ kullanılmaktadır. Her biri, YA içeriği, esansiyel YA eksikliği potansiyeli ve fitosterol, α -tokoferol içeriği açısından farklıdır. Tüm bu özellikler, bir yağın PN'a uygun bir lipid

kaynağı olup olmaması durumunu etkiler. Tablo (2.3), iv emülsiyonlar için mevcut başlıca yağları kıyaslamaktadır.

Soya yağı: Soya yağı, üretilen ve PN'da başarıyla kullanılan ilk lipid emülsiyonunun TG kaynağıdır (46, 79). Soya yağında bol miktarda n-6 ÇDYA içerir ve bunların yaklaşık % 50'si LA'tir. Diğer ÇDYA'leri de vardır, n-3 ALA yaklaşık % 10'u ve OA yaklaşık % 25'idir. Doymuş YA'leri, YA'nin yaklaşık %15'idir. Soya yağı, esansiyel yağ asiti

Tablo 2.3: İntravenöz lipid emülsiyonlarındaki yağ içeriği.

	Soya yağı	Aspir yağı	Zeytinyağı	Balık yağı	Hindistan cevizi yağı
YA içeriği %					
LA (n-6)	50	77	4	1-3	2
ARA (n-6)	0	0	0	0	0
α - ALA (n-3)	10	0	0	1,3- 5,2	0
EPA (n-3)	0	0	0	5,4- 13,9	0
DHA (n-3)	0	0	0	5,4- 26,8	0
Oleik asit (n-9)	25	15	85	16-20	6
Orta Zincirli YA'leri	0	0	0	0	65
Doymuş YA'leri	15	8	11	10-20	27
Fitosterol konsantrasyonu, mg/ 100mg yağ	300	450	200	Eser	70
α - Tokoferol konsantrasyonu, mg/ 100mg yağ	6,4-7,5	34	10-37	45-70	0,2-2

ALA: α -Linolenik asit, ARA: Araşidonik asit, LA: Linoleik asit

eksikliği oluşmaması için yeterli miktarda esansiyel (temel) yağ asidi sağlar, bu nedenle besinlerini sadece PN'dan sağlayan hastalar için uygun bir yağ seçeneğidir. Ancak n:6/n:3 oranı yaklaşık 5/1 - 7/1 oranında yüksektir ve bu durum inflamatuvar potansiyele ilişkin kaygıları arttırır. Kobaylarda yapılan bir çalışma, sadece soya yağı emülsiyonu uygulanan hayvanlarda, diğer esansiyel YA'i içeren emülsiyonlara göre serum inflamatuvar belirteçleri ve oksidatif strese artış görülmüştür (80). Ancak, enteral yolla veya doymuş yağ asitlerinin fazla miktarda olduğu yağların iv uygulanması

ile karşılaştırıldığında soya yağının hayvan modellerinde daha az inflamatuvar etki profili olduğu görülmektedir (81, 82). Soya yağı yüksek bir fitosterol konsantrasyonuna sahiptir (≈ 300 mg fitosterol / 100 g yağ) (83). B-Sitosterol soya yağında baskın fitosteroldür (toplam fitosterollerin % 60'ı). Fitosterollerden kampesterol ve stigmasterol, geri kalan kısmın çoğunluğunu oluşturur (her biri ≈ 20). Soya yağının α -tokoferol konsantrasyonu düşüktür ($\approx 6.4 - 7.5$ mg / 100 g yağ). Daha fazla miktarda başka tokoferoller (γ -tokoferol) vardır, ancak bunların, α -tokoferol ile aynı antioksidan potansiyeli yoktur.

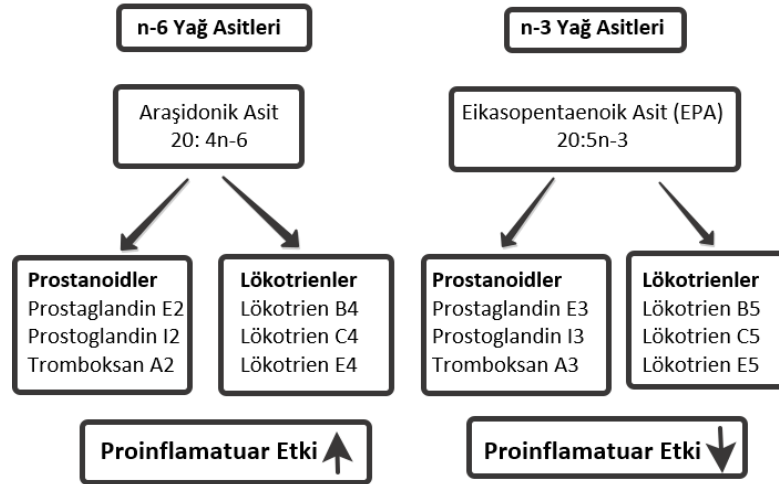
Zeytinyağı: İntravenöz lipid emülsiyonlarında kullanılan diğer bir bitki bazlı yağdır. YA içeriğinin ≈ 85 'i esansiyel olmayan oleik asittir, ancak ≈ 4 'ü esansiyel yağ asidi olan n-6 YA, LA'dır ve zeytinyağı aslında n-3 ÇDYA'den yoksundur. Zeytinyağında esansiyel YA eksikliği olması nedeniyle, parenteral kullanım için sadece zeytinyağını yağ kaynağı olarak kullanan ticari emülsiyon yoktur (49). Zeytinyağının fitosterol konsantrasyonu soya yağından ve aspir yağından daha düşüktür, ancak yine de önemli miktardadır (200 mg / 100 g yağ). Zeytinyağındaki fitosterol içeriğinin çoğu β -sitosteroldür, kalanı çok az miktarda kampesterolden oluşur. α -Tokoferol konsantrasyonu bölgeye ve yetiştirme yöntemlerine bağlı olarak büyük ölçüde değişkendir (10 ila 37 mg / 100 g yağ) (49).

Balık yağı: n-3 YA'leri, balık yağında bitki bazlı yağlardan daha fazladır ancak, tam YA içeriği balığın türüne ve yağın elde edildiği balığın diyetinin içeriğine bağlıdır. Genel olarak, balık yağı, n-6'ya göre daha yüksek oranlarda n-3 esansiyel ÇDYA içerir; $\approx 1-3$ LA ve; n-3 YA'lerinin $\approx 20-40$ 'ı ALA, EPA ve DHA formundadır. n - 9 YA $\approx 16 - 20$ 'yi oluşturur ve doymuş yağ asitleri $\approx 10 - 20$ ' yi oluşturur. Bu nedenle balık yağı sadece esansiyel yağ asidi eksikliği potansiyelini azaltmak için bol miktarda gerekli ÇDYA içermekle kalmaz, aynı zamanda çok düşük bir n-6 / n-3 YA oranı vardır, böylece antiinflamatuvar fayda da sağlayabilir. İntravenöz balık yağı hem *in vitro*, hem *in vivo* olarak olarak inflamatuvar uyarılara verilen yanıtları azaltabilir (84-86). Balık yağı,

hayvansal bazlı olduğundan, çok az bitki bazlı fitosterol içerir, ancak α -tokoferol bol miktarda bulunur ($\approx 45-70$ mg / 100 g yağ).

Soya yağı, n-6 ÇDYA ve İnflamasyon

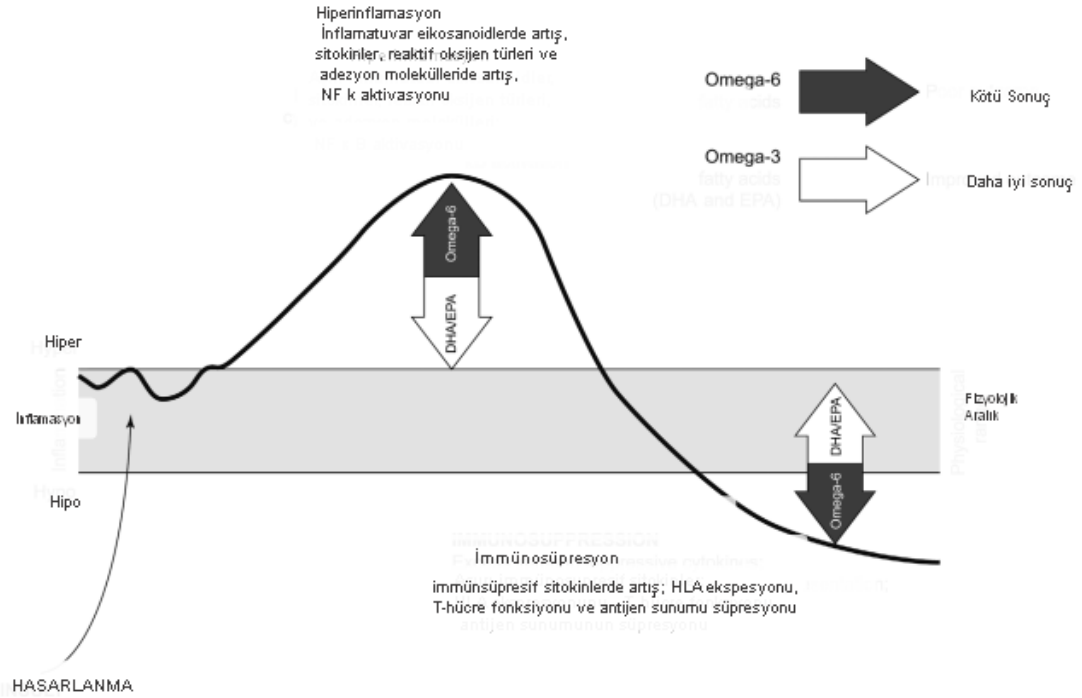
Soya yağı geleneksel olarak parenteral nutrisyonda en sık lipid emülsiyonu seçeneği olmuştur (87). Soya yağı % 50'ler civarında linoleik asit içermesine rağmen n-3 yağ asidi de içerir ($\approx 8\%$ α -linolenik asit) ve böylece n-6/n-3 yağ asidi oranı 7:1'lere ulaşmaktadır. Ancak bitki kaynaklı n-3 yağ asidi, α -linolenik asit ile genellikle deniz (balık) kaynaklarından elde edilen n-3 yağ asitleri DHA ve EPA arasında bazı farklar olduğu unutulmamalıdır (88). α -Linolenik asidin ana metabolik rolü DHA ve EPA'ya dönüştürülebilmesidir, ancak DHA'ya dönüşüm zayıf olduğundan α -linolenik asit DHA'nın yerine bazen geçememektedir (89). Vücutta, n-6 yağ asidi linoleik asit ise elongaz ve desaturaz enzimleri etkisi ile araşidonik asite döner (Şekil 2.4, 2.5).



Şekil 2.5. n-3 ve n-6 Yağ asidi metabolitlerinden Eikasanoidlerin, göreceli proinflamatuvar etkileri.

Araşidonik asit, inflamasyon, immünosupresyon ve trombozda rolü olan eikosanoid yolağı için temel n-6 substratıdır (49). Araşidonik asitler, 2-serisi prostaglandinler (PG), tromboksanlar (TX), 5-hidroksi-eikosatetraenoik asit (HETE) ve 4

serisi lökotrienler (LT) gibi eikosanoidlere dönüşür ve inflamatuvar süreçlerde potansiyel olarak baskılayıcı T-hücre aracılı bağışıklıkta rol oynar (89). n-3 ve n-6 yağ asitleri, aynı desatürazlar ve elongazları içeren aynı biyosentetik yolları paylaşırlar (Şekil 2.4) (49, 90). Böylece, α -linolenik asitin EPA'ya (ve daha sonra DHA'ya) dönüşümü linoleik asidin araşidonik aside dönüşümü ile yarışa girer ve aynı enzimler kullanıldığından, aşırı linoleik asit DHA ve EPA biyosentezini inhibe edebilir (90). Genel olarak, çok miktarda ekzojen n-6 yağ asitlerinin ortamda bulunması inflamatuvar, immünsüpresif ve pıhtılaşma açısından optimal durumu sağlamaz ve hastalarda kötü sonuçlara yol açabilir (91). n-6 Yağ asitlerinin baskın olması, travmatik hasara bifazik immünoinflamatuvar yanıtı kötüleştirir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Travmatik hasara bifazik immünoinflamatuvar yanıt (88). İnflamatuvar mediyatör üretimi artışı ve sonrasında antiinflamatuvar immünsüprese duruma kayış. Bu durum n-6 YA'lerinin çoğunlukta olması ile daha kötüleşebilir, n-3 YA'leri DHA ve EPA ile düzelebilir. (NF κ B, nükleer faktör kappa Beta.)

İnflamatuvar mediyatörlerin üretiminde artış, önce hiperinflamatuvar yanıtta daha sonra da immünsüprese duruma doğru kayış ile karakterizedir. Bu nedenle lipid

emülsiyonları konusunda sadece soya yağı temelli olanlardan kaçınarak linoleik ve α -linolenik asit içeriğinin kısmen orta zincirli trigliseritler (MCT), zeytinyağından sağlanan tekli doymamış yağ asitleri (TDYA) ve/veya balık yağından sağlanan EPA ve DHA ile yer değiştirdiği parenteral lipid emülsiyonları kullanımı lehinde artan bir fikir birliği vardır (92, 93). Bu şekilde lipid emülsiyonu alternatiflerinin kullanılması, özellikle büyük cerrahi, travma, yanık ve sepsis gibi yüksek derecede inflamasyonun gözlemlendiği hipermetabolik kritik hastalar için gereklidir (92, 93).

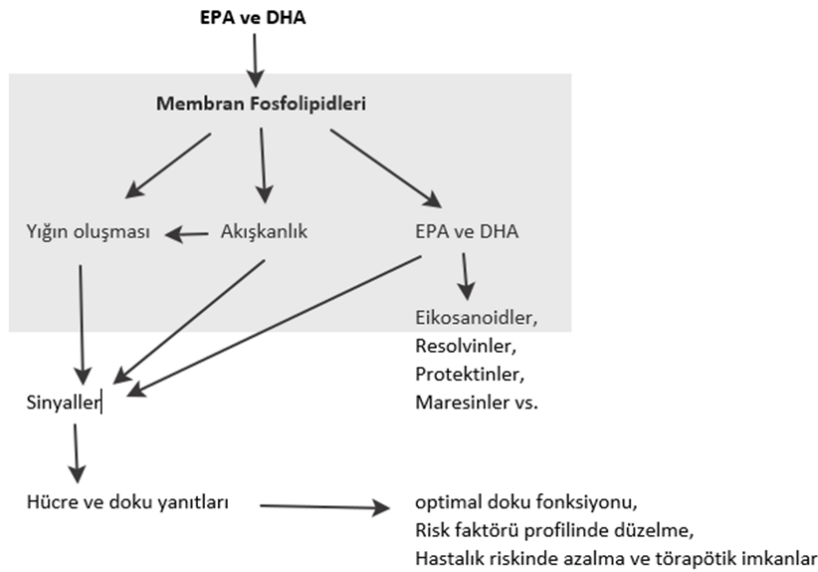
Saf Soya Yağı İçeren Emülsiyonlara Alternatifler

Birçok ülkede sadece soya yağı içeren emülsiyonlar dışında bazı kombine lipid emülsiyonları mevcuttur ve bunların tümünde n-6 çoklu doymamış yağ asitlerinin oranı azaltılmıştır (Tablo 2.3) (94). Bu alternatifler farklı oranlarda MCT'ler, oleik asit, DHA ve EPA gibi yağ asitleri içerirler. Bu nedenle en azından potansiyel olarak farklı biyoaktiviteleri vardır. Örneğin MCT'ler hindistan cevizi yağı veya hurma çekirdeği yağından elde edilir. Ketojenik, protein koruyan ve peroksidasyona göreceli olarak dirençli, kan trigliserit düzeylerini etkilemeyen kolay enerji kaynaklarıdır (92, 94). MCT'ler hızla metabolize olarak, vücut yağı şeklinde depolanmaya çok az eğilim gösterirler (92, 95). Ayrıca, MCT'ler genellikle sadece soya yağı içeren lipid emülsiyonları ile karşılaştırıldığında rölatif olarak 'immünnötür' kabul edilir (92).

Oleik asit, n-9 YA, zeytinyağından sağlanan başlıca yağ asididir ve immün fonksiyon, inflamasyon ve koagülasyon üzerine yüksek n-6 ÇDYA içeren lipid emülsiyonlarına göre daha az inflamatuvar potansiyel etkisi olduğu kabul edilmektedir (92, 94, 96). ÇDYA'leri, çok sayıda karbon çift bağı (peroksidasyon hedefleri) içerdiği için lipid peroksidasyon potansiyeli bir problem olabilir, ancak oleik asit gibi tekli doymamış yağ asidi sadece bir adet çift karbon bağı içerir (92). Bu nedenle TDYA fazla olan zeytinyağının peroksidasyon ve oksidatif strese soya yağından daha fazla dirençli olduğu düşünülmektedir (92). Zeytinyağından zengin lipid emülsiyonlarının, konak immün yanıtı üzerine sadece soya yağı veya MCT/soya yağı karışımı içeren lipid

emülsiyonlarına göre etkisi potansiyel olarak daha az olabilir. Böylece lenfositler, doğal öldürücü hücreler ve nötrofiller üzerine daha az etkisi olur (90, 92, 93, 97). Ancak, canlı organizma dışı çalışma modellerinde ülser ve nekrotizan kolitte zeytinyağı/soya yağı emülsiyonlarının sadece soya yağı veya soya yağı/MCT içerenlere göre daha fazla istenmeyen etkiye yolaçabileceği de gösterilmiştir (93).

Balık Yağı İçeren Lipid Emülsiyonarı. Sadece soya yağı içeren standart lipid emülsiyonlarından bazı klinik durumlarda kaçınma konusunda giderek artan kanıtlar vardır (98). Genel olarak n-3 YA'leri, n-6 yağ asitlerinin etkilerinin tersi yönde etki göstererek n-6 YA'lerinin etkisini düzenler (89, 94). Ayrıca DHA ve EPA'nın antiinflamatuvar, immünomodülatuar ve antioksidan biyolojik etkileri vardır ve yoğun bakımda infeksiyon riskini ve yoğun bakım, hastane kalış süresini azaltıcı yönde etki gösterebilmektedir (94, 98, 99). Bu faydalı etkiler DHA ve EPA'nın hücre zarı kompozisyonunu değiştirmesinden kaynaklanabilir (Şekil 2.7) (100).



Şekil 2.7. DHA ve EPA'nın hücre zarı kompozisyonunu (gri renkli alan) üzerinden yaptığı faydalı klinik sonuçlara yol açtığı düşünülen değişiklikler.

2.4. Sepsiste Oksidatif Stres

Sepsisin moleküler patobiyolojisi ve immünolojisini anlama konusunda birçok gelişme olmuştur. Önceleri, sepsisin hemodinamik belirtilerinin temel olarak belirli bir patojene hiperimmün konakçı yanıtı ile ilişkili olduğu düşünülüyordu (33, 101). Bununla birlikte, sepsisin moleküler temelleri üzerine yapılan geniş çaplı çalışmalar, infeksiyöz ajan ve konak arasındaki ilişkinin daha ayrıntılı ve karmaşık olduğunu gösterdi (101). Ancak sepsis patogenezindeki belirsizlikler hala devam etmektedir (102).

Sepsiste hücrenin oksijen tüketememesi yönünde (sitotoksik hipoksi) çok sayıda çalışma vardır. Bu durum sepsis patogenezinde önemli rol oynayabilir. Supranormal oksijen sunumunun hedeflendiği çalışmalar, septik hasta sonuçlarında iyi yönde düzelmeye yol açmamıştır (103). Ayrıca, hayvan çalışmalarında mukozal perfüzyon değişmemesine rağmen mukozal asidozun devam ettiği görüldü (104). Mitokondriyal oksijen tüketimi toplam vücut tüketiminin % 90'ıdır, oksijen kullanımında ve mitokondri fonksiyonunda bozulma sepsisin bazı özelliklerini açıklayabilir. Sepsis ayrıca aşırı oksidan üretimi ile karakterizedir. Bu durumun mortalite artış nedeni olan anormalliklerde anahtar rolü olabilir (103). O yüzden redoks homeostazı ve redoks anormalliklerini hedef alan yaklaşımların incelendiği araştırmalar önemlidir.

Redoks reaksiyonları, fizyolojik hücre fonksiyonu için zorunlu olan hücre sinyalizasyonu gibi çok sayıda biyokimyasal mekanizmanın temelini temsil eder (105-107). Oksidanlar ve antioksidanlar bu biyokimyasal mekanizmalarda anahtar konumdadır. Antioksidan terimi elektron veren bir maddeyi belirtirken, bir oksidan elektron kabul eden bir maddedir (107).

Oksidanlar, deoksiribonükleotitlerin oluşumu, prostaglandin üretimi, normal hücre işlevi için gerekli olan oksidasyon, karboksilasyon ve hidrosilasyon reaksiyonları için önemlidir. Serbest radikaller ayrıca bakteriyel enfeksiyonlara karşı konak savunmasında (108, 109), vasküler tonus regülasyonu, hücre adezyon reaksiyonlarında

rol oynar, oksijen konsantrasyonu için sensör işlevi yapar (109, 110). Sepsis patogenezindeki önemli reaktif oksijen türleri süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerini içerir. Süperoksit ve hidroksil radikalleri, moleküllerindeki eşleşmemiş elektronlar nedeniyle serbest radikallerdir. Sağlıklı durumlarda ve sepsiste oksidan moleküllerin üretildiği birçok süreç vardır (110). Nötrofil ve makrofajlar gibi doğal bağışıklık sistemini temsil eden hücreler, sepsis sürecinde erken dönemde gerçekleşen oksidatif patlamadan sorumludurlar (111, 112). Oluşturulan reaktif oksijen türleri konak savunması için önemlidir.

Fizyolojik koşullarda oksidan maddeler ve onları ortamdaki temizleyen antioksidan bileşikler bir denge halindedir (113). Oksidatif stres, antioksidan koruma ve oksidan üretimi arasındaki dengesizlikten meydana gelir. Oksidan konsantrasyonunun artmasına neden olan bu durum birçok diğer hastalık süreçleri için de bir hasarlanma mekanizması oluşturur (114).

Sepsiste oksidatif stresin klinik önemi çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Cowley ve ark. çalışmalarında sepsisten kurtulanların, kurtulamayanlara göre daha yüksek antioksidan potansiyeli olduğunu göstermişlerdir (115). Diğer iki prospektif gözlemsel çalışmada, toplam antioksidan kapasite Akut Fizyoloji ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi II (APACHE II) skoru ile ilişkilendirildi (116) ve antioksidan eksikliği daha fazla mortalite ile ilişkili bulundu (117).

Sepsiste artmış oksidan seviyesinin zararlı etkileri arasında, protein, lipit ve nükleik asit modifikasyonu nedeniyle hücresel hasar ve endotel disfonksiyonu meydana gelmesi bulunmaktadır. Ek olarak, oksidatif hasasepsis oluşumunun temeli olan glikokaliks ve endotel hücreleri arasındaki bağlanma noktalarını bozarak vasküler geçirgenliğin artmasına da yol açar (118).

2.5. Hipotez

Parenteral lipid emülsiyonları sepsiste inflamasyon ve organ hasarını önler.

2.6. Amaç

Bu çalışmada farede endotoksin (LPS) ile oluşturulan septik şok modelinde, farklı parenteral lipid emülsiyonlarının, mezenterik hipoperfüzyon, inflamasyona bağlı oksidatif hasar ve çoklu organ hasarına etkilerini incelemek amaçlanmıştır.

3. YÖNTEMLER

3.1. Deney hayvanları

Bu tez çalışmasında, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde üretilen ve Hacettepe Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji bölümü hayvan barınağına getirilen, ağırlıkları 20-35 g arasında değişen, Swiss-albino cinsi erkek fareler kullanıldı. Hayvanlar, standart laboratuvar yemi ve su ile *ad libitum* beslendi. Ayrıca $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'lik sıcaklıkta, % 30-70 nem ve 12 saat karanlık/12 saat aydınlık uygulanan ortamda barındırıldı.

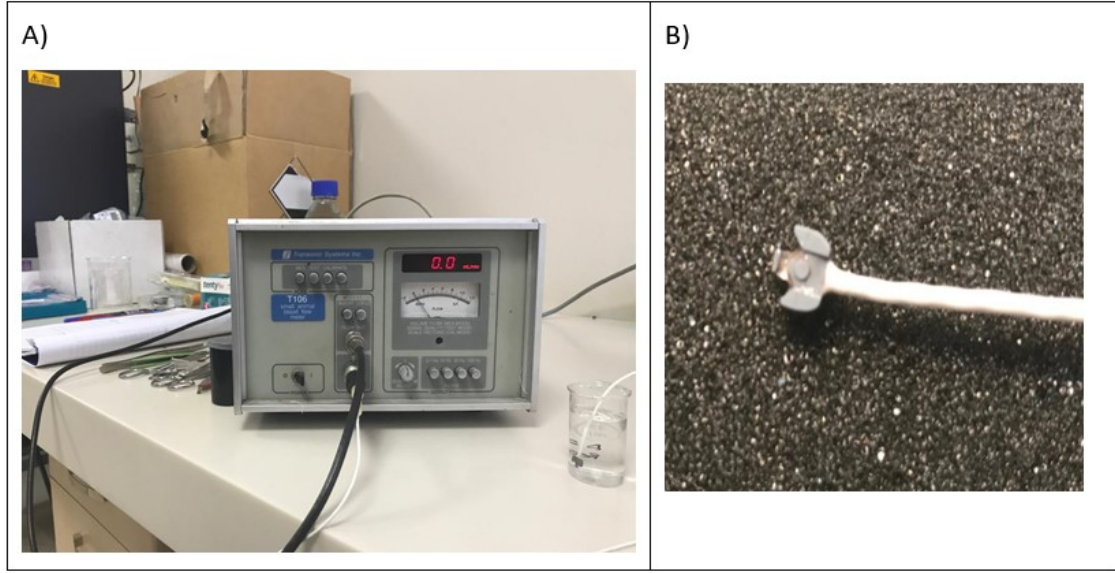
3.2. Etik Kurul izni

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 2019/04-04 karar no'lu 30.04.2019 tarihli onayı ile, Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı.

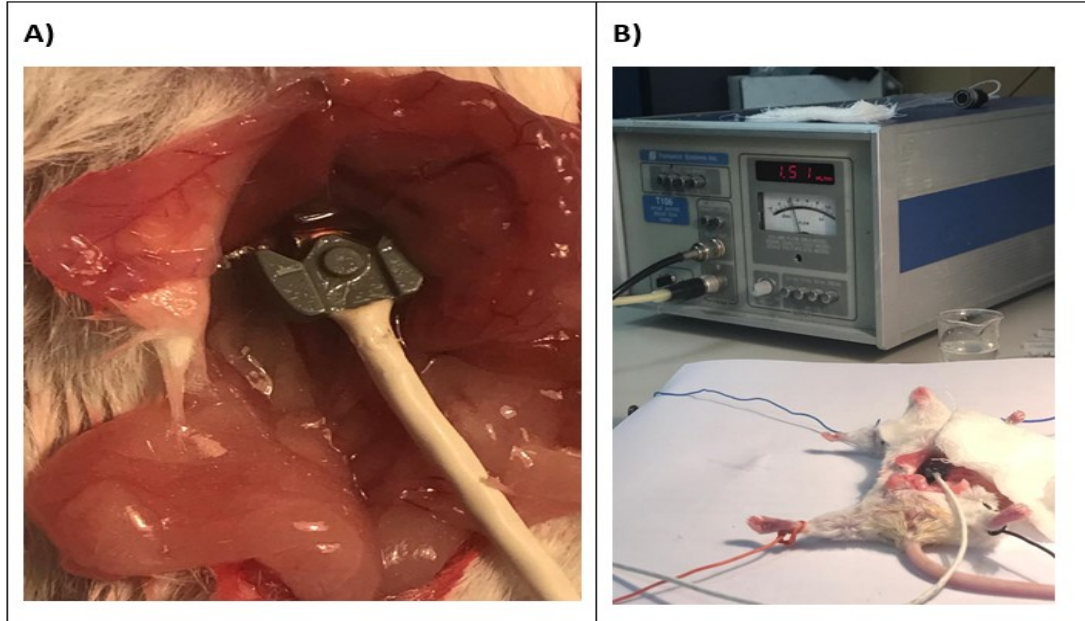
3.3. Mezenter Kan Akımı Ölçümü

Uygulanacak temel cerrahi yöntem daha önce birçok çalışmada laboratuvarlarımızda uygulanmıştır (119). Erkek Swiss albino fareler (20-35 g) kloralhidrat (400 mg kg^{-1} , ip) ile anestezi altına alınarak, anestezi derinliği parmak veya deri kıstırmaya yanıt ile değerlendirildi. Bu sırada hayvanların vücut sıcaklığı $37.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ da rektal termistör prob ve onun bağlandığı termokupl şalter ile, hayvanın 35 cm yukarısında yerleşmiş olan 150 W'lık bir lamba ile sabit tutuldu.

Daha sonra umblikusun 1 cm altından, ksifoid–pubis hattı boyunca orta hat insizyonu ile karın boşluğuna girildi. Barsaklar orta hattın soluna alınıp, mezenter köküne inilerek ortak mezenterik arter bulundu ve izole edilerek akım ölçüm işlemine hazırlandı. Doppler esasına göre akım algılayan bir damar probu (Perivascular Flow Probes, Transonic Systems, USA) aracılığıyla, akım hızı ölçen cihaz (Small animal blood flowmeter T 106X, Transonic Systems, USA) yardımıyla mezenterik arter akımları ölçüldü ve kaydedildi (Resim 3.1 ve 3.2).



Resim 3.1 A) Doppler esasına göre akım hızı (ml/dk) ölçen cihaz (Small animal blood flowmeter T 106X, Transonic Systems, USA) B) Damar probu (Perivascular Flow Probes, Transonic Systems, USA)



Resim 3.2. A) Damar probu yardımıyla mezenterik arter kan akımları ölçümü.
B) Mezenterik kan akımı ölçümü- genel deney görünümü.

3.4. Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkileri

Septiste dokularda oluşan oksidatif hasarın saptanması ve farklı lipid emülsiyonlarının bu oluşan hasara etkisini incelemek amacıyla TAS (*Total Antioxidant Status*) ve TOS (*Total Oxidant Status*) ölçümleri” yapıldı. Farklı oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçümü pratik değildir ve oksidan etkileri aditifdir, o nedenle örneklerin toplam oksidan durumu bu deneysel teknikle ölçülmektedir (120-122)

Hemodinamik ölçümlerden sonra sternotomi yapılarak anestezi altındaki sıçanlardan intrakardiyak ponksiyon ile kan örnekleri alınarak Eppendorf tüplere aktarıldı. Eksanguinasyon ile hayatları sonlandırılan hayvanların önce karaciğer ve dalakları çıkartılarak hassas terazi ile tartıldı. Daha sonra karaciğer, akciğer dalak ve böbreklerin bir kısmı -80° C’de dondurularak saklandı. ELISA kitleri (*Rel Assay Kit Diagnostics*, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak ölçümler üretici talimatına göre yapıldı. Karaciğer, dalak, akciğer, böbrek doku homojenatlarında ve serumda TAS ve TOS ölçümleri yapıldı. TOS sonuçları dokular için mmol Trolox equiv./g protein, serum için mmol Trolox equiv./L olarak ifade edildi. TAS sonuçları dokular için $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./g protein, serum için $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./L olarak ifade edildi.

Oksidatif Stres İndeksi (OSI), TOS’un TAS değerine oranı olarak tanımlanır (122, 123). Bulunan değerlere göre şu şekilde hesaplandı: $\text{OSI (arbitrary unit, AU)} = \text{TOS} / \text{TAS}$ (124).

3.5. Lipid Emülsiyonlarının Organ Hasarına Etkileri

Çıkan karaciğer ve dalağın bir kısmı %10 tamponlu nötral formalin çözeltisi içinde histopatolojik inceleme için ayrıldı. Tespit süresi sonunda rutin ışık mikroskop doku takip yöntemine göre dehidrate edilen ve parafine gömülen doku örneklerinden 5 mikron kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler hematoksilin-eosin (HE) ile boyandıktan sonra Zeiss, Axioskop mikroskop ile HÜTF Patoloji Anabilim dalında Prof Dr. Cenk Sökmensüer ve Dr Selma Yıldırım tarafından kör olarak incelendi ve dijital olarak görüntüler bilgisayara aktarıldı. Skorumla, karaciğerde portal inflamatuvar reaksiyon,

intrasinüzoidal konjesyon, intrasinüzoidal lenforetiküler reaksiyon, hepatosellüler zedelenme, 'ballooning' dejenerasyon üzerinden, dalakta ise konjesyon üzerinden yapıldı. Dalakta kapsülit skorlama dışı tutuldu ancak yorumlamada kullanıldı.

3.6. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları

Deneylerde kullanılan 48 adet fare "kontrol" ve "endotoksin" grupları olarak ikiye ayrıldı. Endotoksin grubuna cerrahi uygulamadan 4 saat önce *E. coli* lipopolisakkariti (055:B5) i.p. olarak 10 mg kg⁻¹ dozda, 10 ml kg⁻¹ hacim içerisinde verildi. Daha önceki çalışmalarda hemodinamik bozukluğa ve organ hasarına sebep olan doz seçildi (119). Kontrol grubuna SF (% 0.9'luk NaCl) i.p. olarak aynı hacim içerisinde uygulandı.

Her iki grup da kendi içinde SF, Kabiven periferal lipid emülsiyonu, Omegaven lipid emülsiyonu ve Olicliomel lipid emülsiyonunun uygulandığı 4 alt gruba ayrıldı. Bu uygulamalar her grupta 6 fare olacak şekilde subkutan yoldan (enseden sırtı doğru) 50 ml kg⁻¹ hacim içerisinde gerçekleştirildi (20 gr hayvana 1 ml). Bu subkutan uygulama, yavaş emilim sebebiyle, yoğun bakım hastalarına uygulanan "sürekli infüzyon" klinik uygulamasının benzeri olarak tanımlanmakta ve birçok deneysel septik şok modelinde kullanılmaktadır (125).

Endotoksin uygulanmasını takiben 4-6. saatte öncelikle indüklenebilir NOS aktivitesi başta olmak üzere birçok inflamatuvar mediatörün farklı dokularda bol miktarda açığa çıktığı bilinmektedir (126). Endotoksin veya kontrol grubunda salin uygulanmasını takiben 4. saatte hemodinamik ölçümler yapıldı.

3.7. Deneylerde Kullanılan İlaçlar

Çalışmada *E. coli* liposakkariti (055:B5; Sigma, ABD), SF (% 0.9'luk NaCl; Eczacıbaşı, Türkiye) ve 3 farklı içerikte lipid emülsiyonu kullanılmıştır:

1. Kabiven periferal (Fresenius Kabi İlaç),

Yağ emülsiyonu (Intralipid %20): Saflaştırılmış soya fasulyesi yağı

Yardımcı maddeler:

Sodyum hidroksit (her 100ml'lik Intralipid % 20 yağ emülsiyonu için) 0,09 mmol

Saflaştırılmış yumurta fosfolipidi

Gliserol

Asetik asit, glasiyel

Enjeksiyonluk su

2. Omegaven (Fresenius Kabi İlaç)

Etken madde (100 ml infüzyonluk emülsiyon):

Yüksek derecede rafine edilmiş balık yağı içeriği	10,0 g:
Eikozapentaenoik asit (EPA)	1,25-2,82 g
Doksaekzaenoik asit (DHA)"	1,44-3,09 g
dl- α -Tokoferol	0,015-0,03 g
Gliserol	2,5 g
Saflaştırılmış yumurta fosfolipidleri	1,2 g
pH	7,5-8,7
Titrasyon asiditesi	<1mmol HCl/l
Osmolalite	308-376 mosm/kg
Teorik osmolarite	273 mosm/l

Yardımcı maddeler (Her 100 ml emülsiyon):

Sodyum hidroksit	0-0,002g(pH ayarlayıcı)
Sodyum oleat	0,003 g (emülsifiyan)
Enjeksiyonluk su	

3. Olicliomel (Eczacıbaşı-Baxter İlaç)

% 10 lipid emülsiyonu bölmesi (10g/100ml):

Etken madde:

Rafine zeytinyağı+ rafine soya yağı [Rafine zeytinyağı (%80) ve rafine soya yağı (%20) karışımı]

Yardımcı maddeler:

Saf yumurta fosfatidi (tavuk kaynaklı)

Gliserol

Sodyum oleat

Sodyum hidroksit (pH ayarlaması için)

Enjeksiyonluk su

Kullandığımız lipid emülsiyonlarını da içeren bir çalışma (127), bu emülsiyonların çeşitli sıcaklıklarda (4-40°C) ve sürelerde (0-30 saat) propilen enjektörler içindeki pH değerlerini incelemiştir. En yüksek pH değeri Oliklinomel'de 4°C'de 8,31 en düşük pH değeri Omegaven'de 40 °C'de 7, 3 olarak bulunmuştur. Bu çalışma (127), kullandığımız lipid solüsyonlarının kendi ticari ambalajı dışında polipropilen enjektör içinde, 4 ila 40° C arasında, 0 ila 30 saat boyunca pH değerlerinin 7,30-8,31 arasında değişebileceğini göstermektedir.

3.8. Deney Verilerinin İstatistiksel Analizi

Tüm data; n sayıdaki deneyin aritmetik ortalaması \pm ortalamanın standart hatası (S.H.) olarak ifade edildi. Değişkenleri normal dağılıma uygunluğu görsel (Histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak incelendi. İnceleme sonucu hipotez testlerinde bağımsız gruplarda tek yönlü varyans analizi veya Kruskal-Wallis ile değerlendirme yapıldı. *Post hoc* Dunn Çoklu Karşılaştırma Testi (*Dunn's Multiple Comparison Test*) kullanıldı. İstatistiksel olarak

anlamli sonuçlar elde edebilmek için 'Resource Equation' metoduna göre denek sayilarina ulaşıldı. Bualışma kullanılan hayvan sayısı açısından benzer çalışmalarla korelasyon göstermektedir. Grup başına 6 hayvan (en az sayıda) kullanıldı.

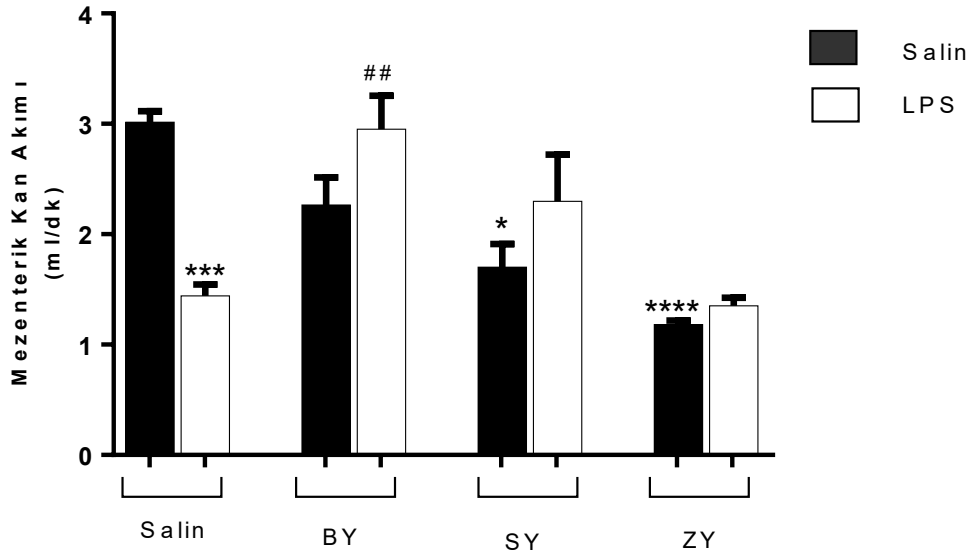
Tüm hesaplama ve analiz işlemleri bilgisayar aracılığı ile gerçekleştirildi. Tez alışması esnasında istatistik, hesaplama ve grafik oluşturma amacıyla "Microsoft Office Excel" ve "GraphPad 6.0" programları kullanıldı.

$p < 0.05$ ise aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

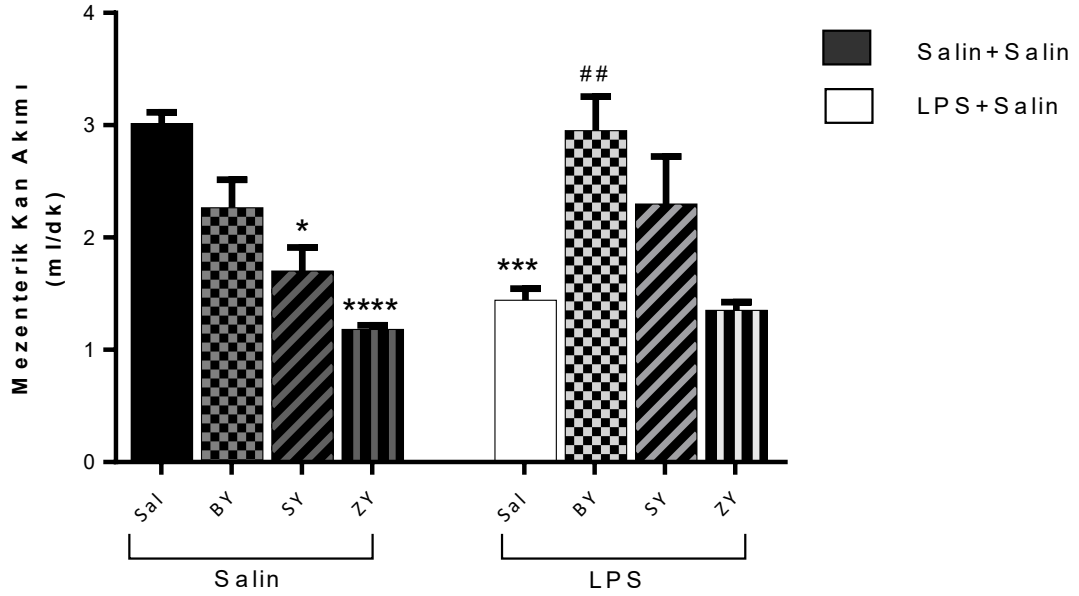
4. BULGULAR

4.1. Lipid Emülsiyonlarının Farede Mezenterik Kan Akımına Etkileri

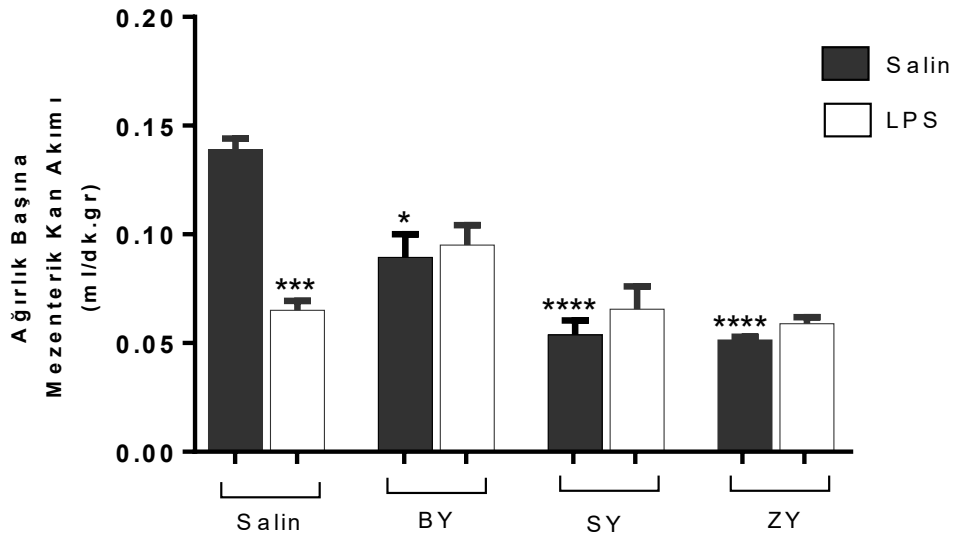
Anestezi altındaki farelerde ölçülen mezenterik kan akımı değerlendirildiğinde (Şekil 4.1 ve 4.2), LPS uygulanan hayvanlarda mezenterik kan akımı, kontrol (salin-salin) grubundaki hayvanlara göre istatistiksel anlamlı şekilde azalmaktadır (ml/dk, kontrol: $3,02 \pm 0,10$, LPS: $1,44 \pm 0,10$, , n= 6, p < 0,05). Kontrol grubunda SY ve ZY mezenterik kan akımını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttı (sırasıyla p= 0,0118 ve p<0,0001). BY, düşmüş LPS kan akımını yükseltti (p=0.0041, Şekil 4.1 ve 4.2), ancak veri vücut ağırlığına göre yorumlandığında bu fark gözlenmedi (Şekil 4.3 ve 4.4). Kontrol grubuna (salin+salin) göre LPS, BY, SY ve ZY ağırlık başına mezenterik kan akımını istatistiksel anlamlı olarak azalttı (sırasıyla p= 0,0001, p= 0,034, p< 0,0001).



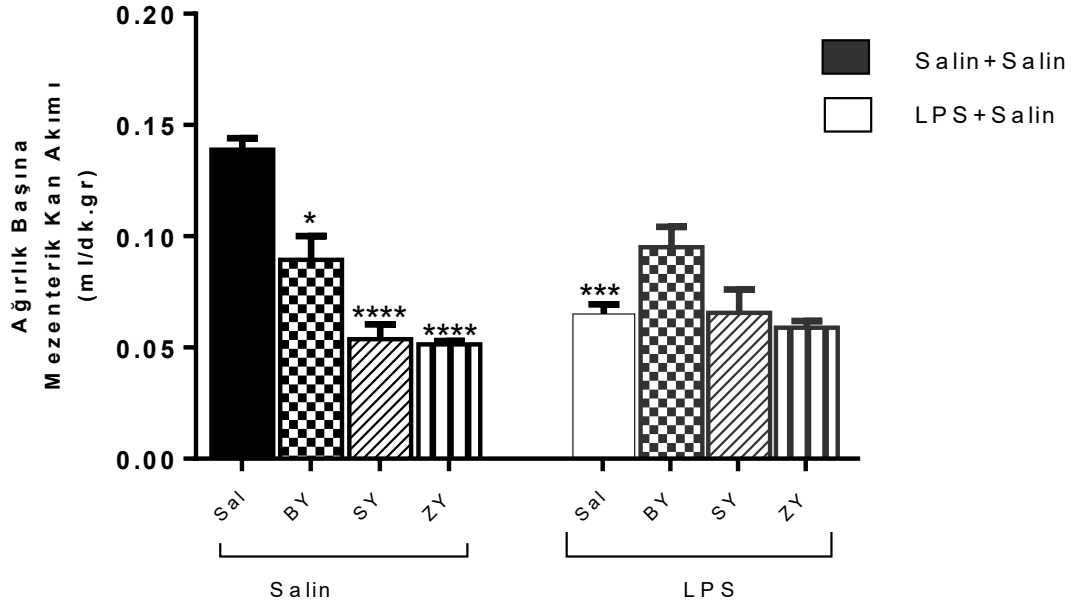
Şekil 4.1. LPS ve kontrol gruplarında mezenterik kan akımı (ml dk⁻¹) değerleri. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde verildi (*, “salin-salin” grubuna, # “LPS-salin” grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ****p< 0,0001).



Şekil 4.2. Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY'nin mezenterik kan akımına etkisi (ml/dk). Veriler ortalama± standart hata şeklinde verildi *, "salin-salin" grubuna, # "LPS-salin" grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ****p< 0,0001



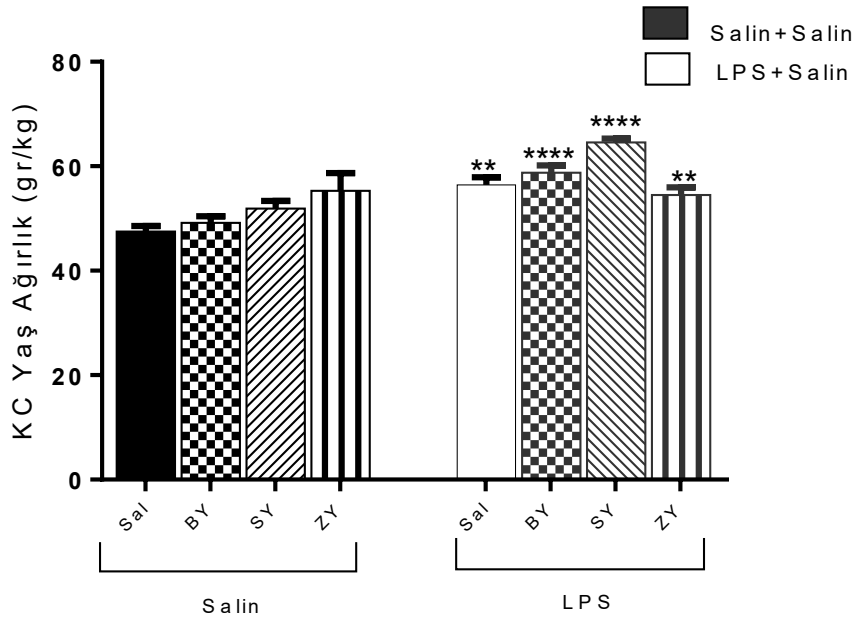
Şekil 4.3. Kontrol ve LPS gruplarında ağırlık başına mezenterik kan akımı (ml/dk. gr) değerleri *, "salin-salin" grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; *p<0,05, ***p<0,001, ****p< 0,0001 .



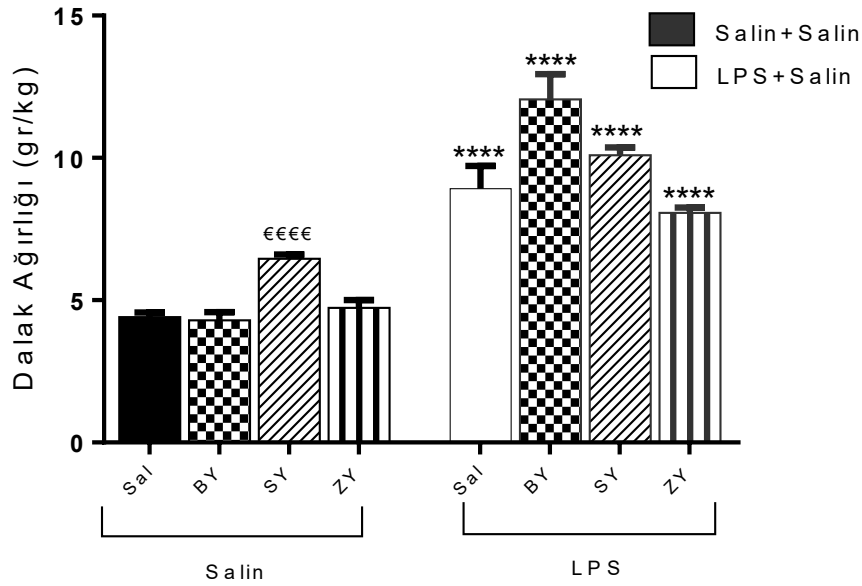
Şekil 4.4. Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY'nin ağırlık başına mezenterik kan akımına (ml/dk.gr) etkisi (*, "salin-salin" grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; * $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$).

4.2. Lipid Emülsiyonlarının Karaciğer ve Dalak Ağırlıklarına Etkisi.

Mezenterik kan akımı ölçümü sonrası ötenaziyi takiben ölçülen vücut ağırlığı (kg) başına karaciğer ve dalak ağırlıkları (gr) değerlendirildiğinde, deneysel modelde lipopolisakkarit uygulaması sonrasında artan karaciğer ve dalak yağ ağırlık artışını lipid emülsiyonları önlemedi. Kontrol grubuna uygulanan SY'nin de kontrol grubunda yapılan istatistiksel analizde dalak ağırlığını istatistiksel anlamlı olarak arttırdığı görüldü (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Karaciğer ağırlığı (kg vücut ağırlığı başına; gr/kg). *, “salin-salin” grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$.



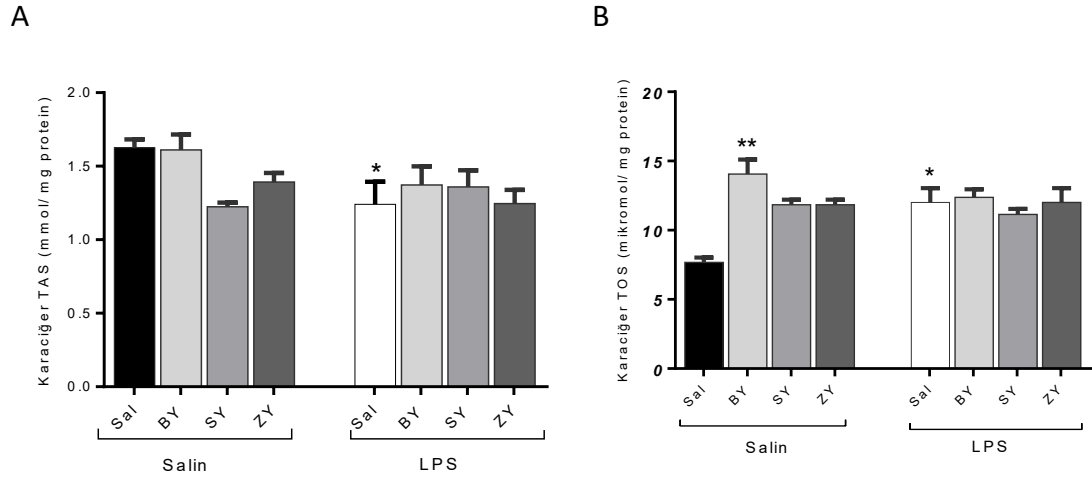
Şekil 4.6. Dalak ağırlığı (kg vücut ağırlığı başına gr) (gr/kg) . *, “salin-salin” grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; **** $p < 0,0001$. €, salin grubu içi Kruskal Wallis analizine göre “salin-salin’ grup içi istatistiksel anlamlılığı göstermektedir, €€€€= $p < 0,0001$.

4.3. Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkileri.

Kontrol ve LPS gruplarında karaciğer, dalak, serum, akciğer ve böbreklerde yapılan TAS ve TOS ölçümleri ile oksidatif hasar değerlendirmesinde dokularda ve serumda çeşitli sonuçlara ulaşıldı. Oksidatif stres indeksi de değerlendirildi.

4.3.1. Fare Karaciğerinde, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.

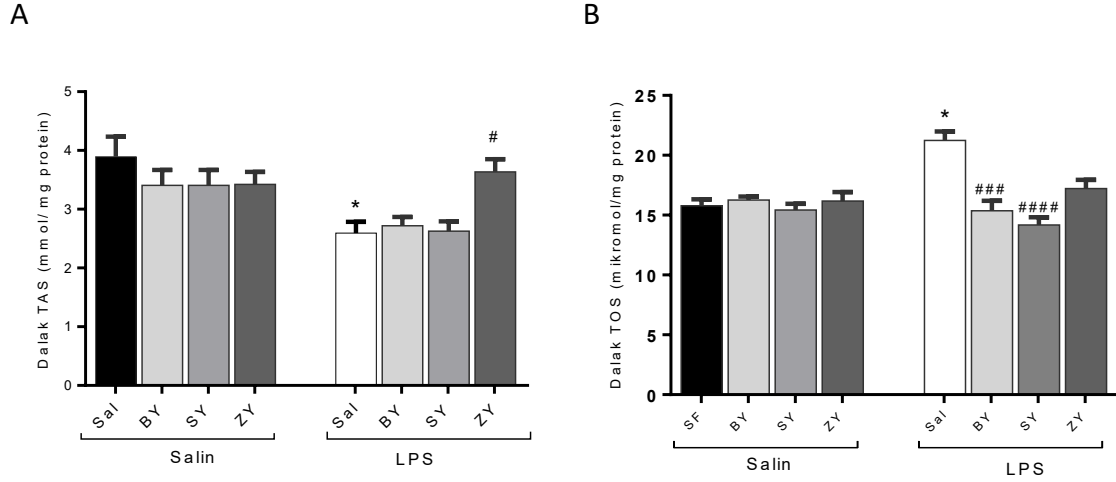
LPS uygulaması ile toplam antioksidan durum anlamlı olarak azaldı ($p=0,039$), toplam oksidan durum anlamlı olarak artış gösterdi ($p=0,048$). Çalışmada uygulanan BY kontrol grubunda (normal karaciğerde) toplam oksidatif durumda artışa neden oldu ($p=0,0019$). Sepsisli karaciğerde lipid emülsiyonları bozulan antioksidan ve oksidan durumu düzeltmedi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare karaciğer dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri. *, “salin-salin” grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; * $p<0,05$, ** $p<0,01$.

4.3.2. Fare Dalağında, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.

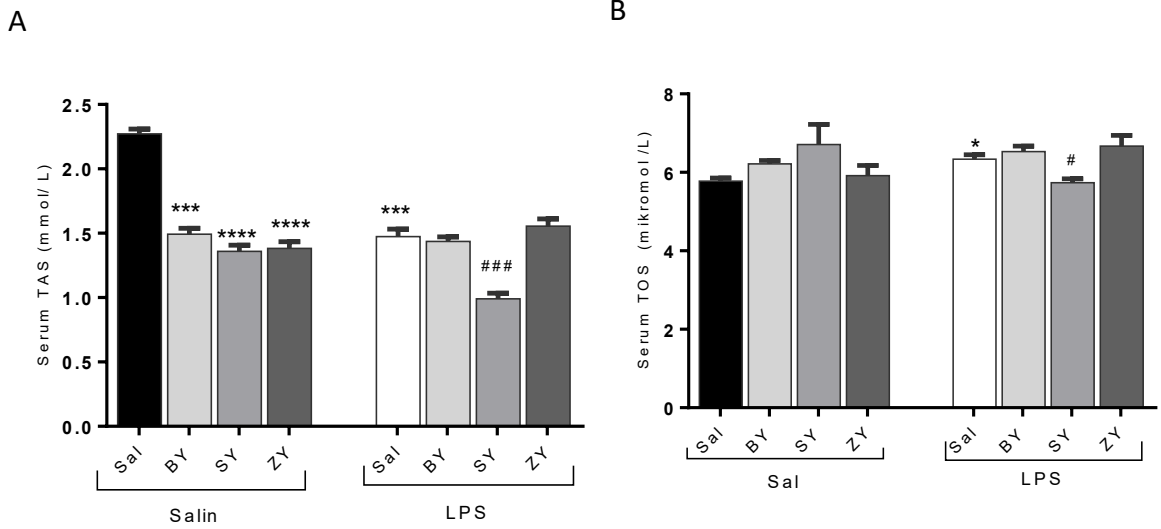
LPS varlığında artan TOS'u BY ve SY tedavisi istatistiksel olarak anlamlı şekilde düzeltti (sırasıyla $p=0,0002$, $p < 0,0001$). Dalakta LPS varlığında azalmış TAS'ı ZY düzeltti ($p=0,0234$) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare dalak dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri. *, “salin-salin” grubuna, # “LPS-salin” grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$.

4.3.3. Serumda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.

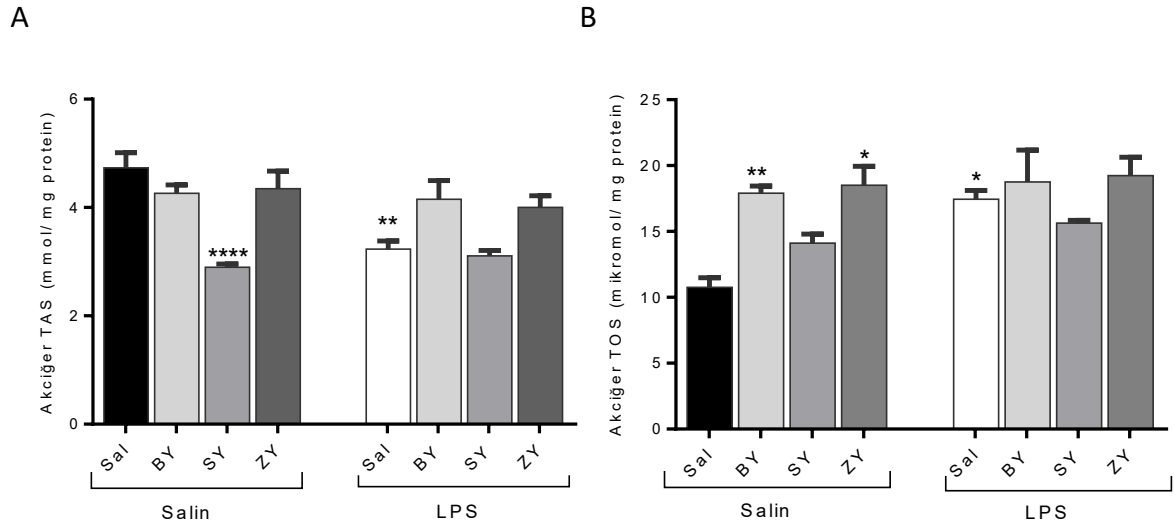
Kontrol grubunda (salin-salin) serumda, tüm lipid emülsiyonları TAS'ı istatistiksel anlamı olarak azalttı (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare serum TAS (A) ve TOS (B) değerleri. (*, "salin-salin" grubuna, # "LPS-salin" grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

4.3.4. Akciğer Dokusunda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.

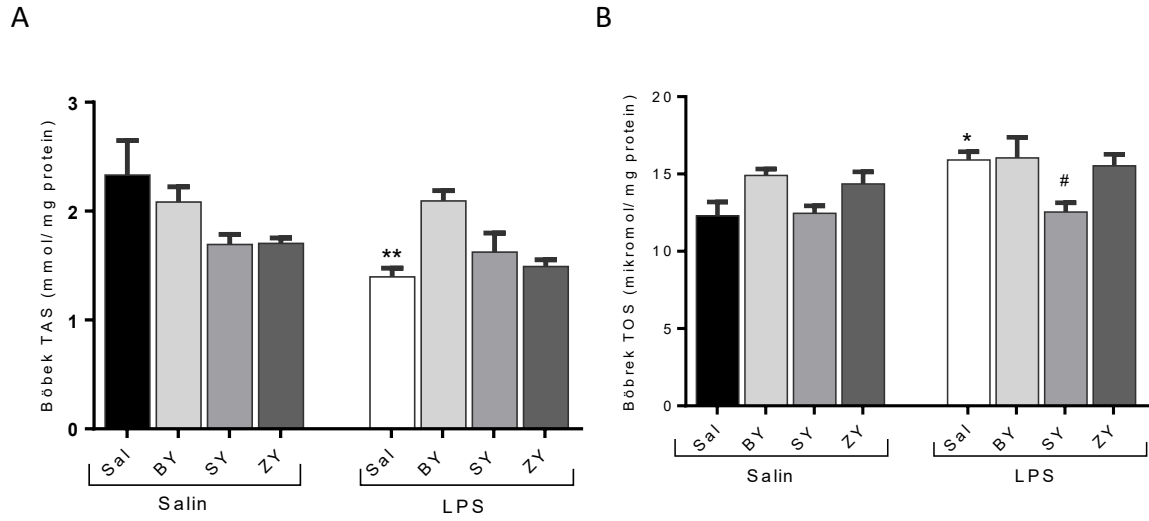
Kontrol grubunda SY, istatistiksel anlamlı olarak toplam antioksidan durumunu azalttı ($p= 0,015$). Kontrol grubunda (salin-salin) akciğer dokusunda BY ve ZY toplam oksidatif durumu anlamlı olarak arttırdı (sırasıyla $p= 0,0087$, $p= 0,011$). LPS grubunda, oksidatif hasarı hiçbir lipid emülsiyonu önlemedi. SY normal fare akciğer dokusunda TAS'ı azaltarak oksidatif hasara katkıda bulundu (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare akciğer dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri. *, “salin-salin” grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, **** $p<0,0001$.

4.3.5. Böbrek Dokusunda, Lipid Emülsiyonlarının Oksidatif Hasara Etkisi.

LPS grubunda, fare böbrek dokusunda toplam oksidatif durumu SY istatistiksel anlamlı olarak azalttı (Şekil 4.11). Total antioksidan durum ve oksidan durum, LPS – salin grubunda beklediği şekilde salin-salin grubuna göre antioksidan durumda istatistiksel anlamlı düşüklük ve toplam oksidan kapasitede istatistiksel anlamlı olarak yükselme şeklinde idi.

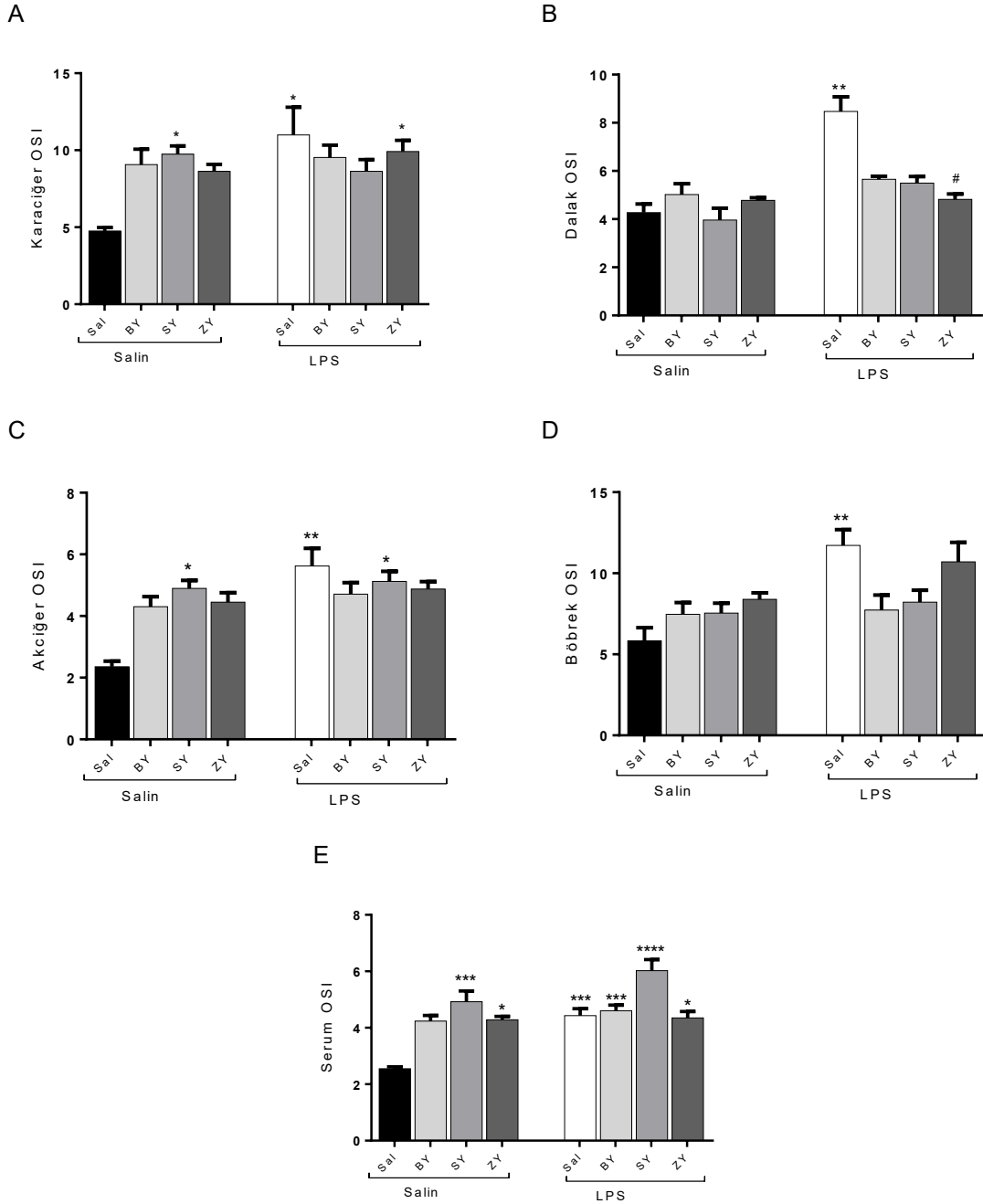


Şekil 4.11. Kontrol ve LPS gruplarında BY, SY ve ZY uygulamasının fare böbrek dokusu TAS (A) ve TOS (B) değerleri. *, “salin-salin” grubuna, # “LPS-salin” grubuna göre istatistiksel anlamlılığı göstermek için kullanıldı; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

4.3.6. Karaciğer, Dalak, Akciğer, Böbrek ve Serum Oksidatif Stres İndeksi

Oksidatif stres indeksine göre, karaciğerde kontrol grubuna (salin-salin) göre soya yağı oksidatif stres indeksini istatistiksel anlamlı şekilde arttırdı (Şekil 4.12-A). Zeytinyağı, dalakta oksidatif stres indeksini LPS grubunda istatistiksel anlamlı şekilde azalttı (Şekil 4.12-B). Fare akciğerinde soya yağı, kontrol grubuna (salin-salin) göre oksidatif indeksi istatistiksel anlamlı şekilde arttırdı (Şekil 4.12-C). Böbrekte LPS ile meydana gelen oksidatif stresi, çalışmamızda kullanılan yağ emülsiyonları azaltmadı

(Şekil 4.12-D). Serumda soya yağı ve zeytinyağı oksidatif stres indeksini kontrol grubuna (salin-salin) göre anlamlı şekilde arttırdı (Şekil 4.12-E).



Şekil 4.12. Fare karaciğer, dalak, akciğer, böbrek dokularında ve serumunda oksidatif stres indeksi (OSI).

4.4. Lipid Emülsiyonlarının Organ Hasarına Histopatolojik Etkileri

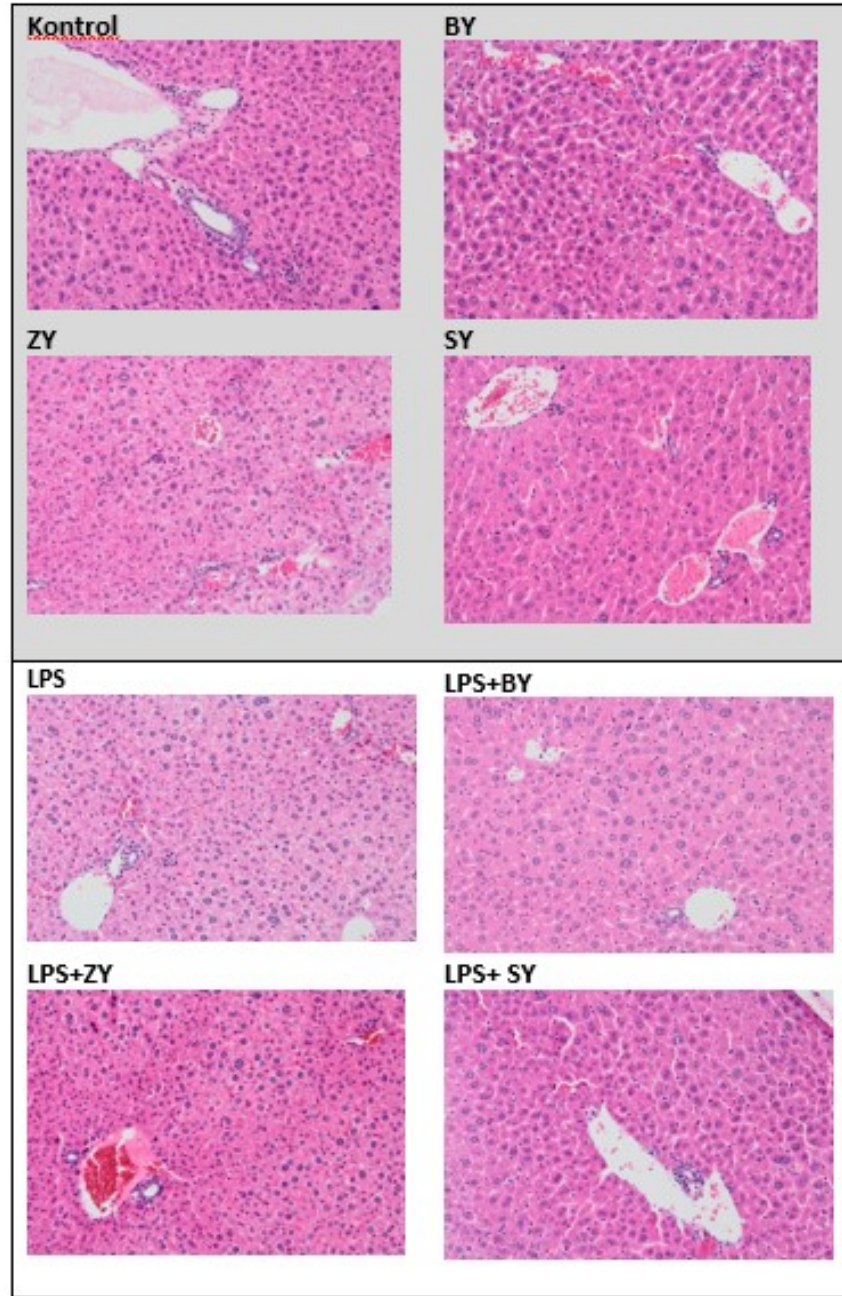
Kullanılan dozlarda lipid emülsiyonları, kontrol grubu (salin-salin) fare karaciğer ve dalağı için histopatolojik olarak zararlı etkiler göstermektedir (Şekil 4.13 ve Tablo 4.1). Karaciğer için portal inflamatuvar reaksiyon, intrasinüzoidal konjesyon, intrasinüzoidal lenforetiküler reaksiyon, hepatosellüler zedelenme, *'ballooning'* dejenerasyon üzerinden yapılan skorlamada normal dokularda BY ve ZY için skor 6, SY için 3 olarak belirtildi .

LPS uygulaması sonrası skorlama BY için 3, SY ve ZY için 6 olarak belirtildi. LPS varlığında BY uygulaması portal inflamatuvar reaksiyon, intrasinüzoidal lenforetiküler reaksiyon ve hepatosellüler zedelenmeye yol açsa da, sadece LPS uygulamasına göre daha az hasar vermektedir.

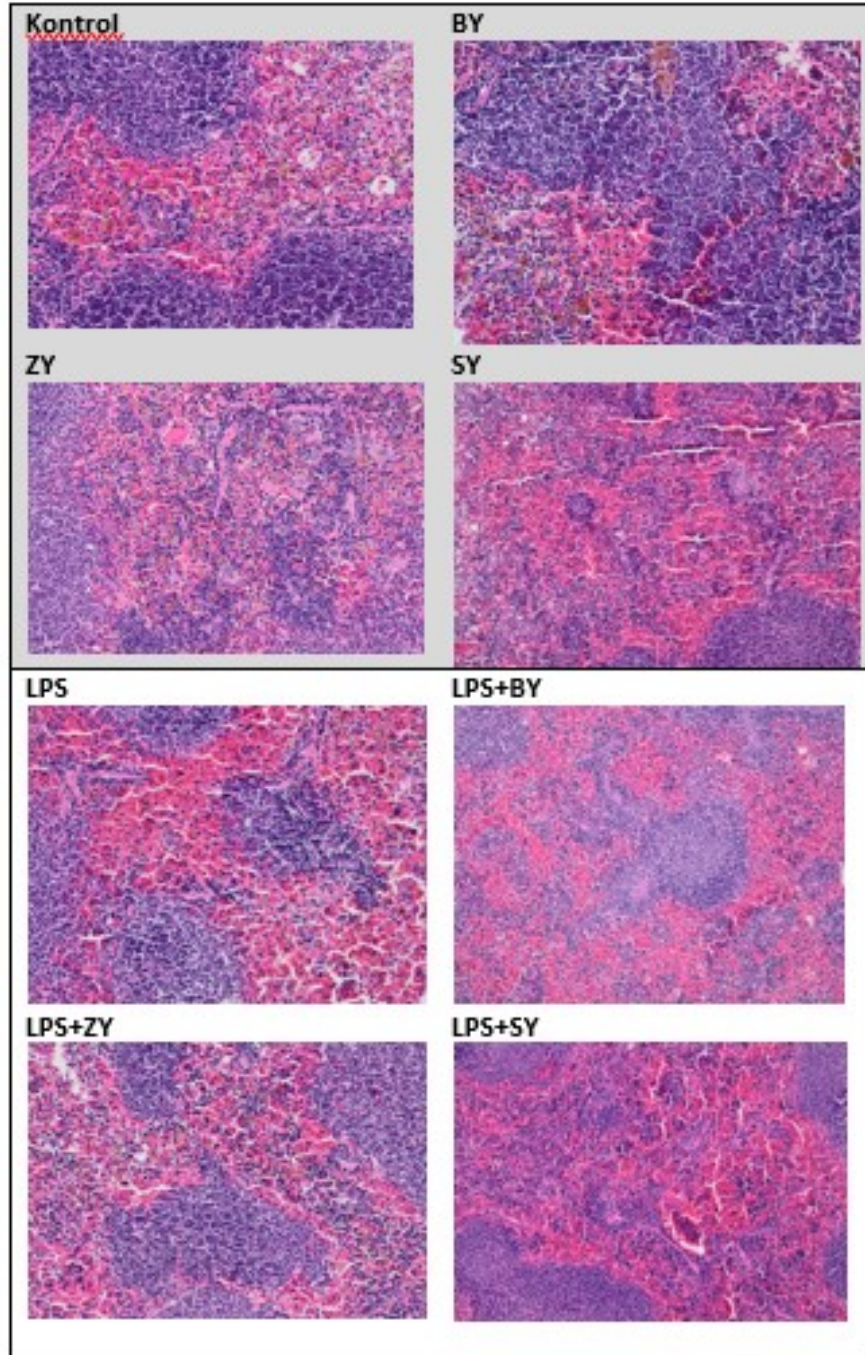
Dalak için konjesyon üzerinden yapılan skorlamada, çalışmada kullanılan dozlarda lipid emülsiyonlarının normal veya LPS sonrası histopatolojik zararlı etkileri belirtildi, iyileştirici etkiler görülmedi.

Şekil 4.13. BY, SY, ZY uygulamalarının karaciğer (A) ve dalak (B) üzerine etkisinin salin ve LPS uygulaması sonrası histopatolojik incelemesi, karşılaştırması.

A. Karaciğer. Kontrol ve LPS grubunda lipid emülsiyonları etkilerinin histopatolojik incelemesi.



B. Dalak. Kontrol ve LPS grubunda lipid emülsiyonları etkilerinin histopatolojik incelemesi.



Tablo 4.1. LPS verilen hayvanlara BY, SY, ZY uygulamalarının karaciğer ve dalak hasarına etkisi.

Grup		KARACİĞER										DALAK		
		Portal inflammatuar Reaksiyon	Intrasinüzoidal Konjesyon	Intrasinüzoidal Lenforetiküler Reaksiyon	Hepatoselüler Zedelenme	Ballooning	Dejenerasyon	SKOR	Konjesyon	Kapsülit	SKOR			
Kontrol	Sal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	BY	1	1	1	1	2	6	1	1	1				
	SY	1	1	0	1	0	3	2	2					
	ZY	1	1	0	2	2	6	1	1					
LPS	Sal	1	1	0	1	2	5	1	1					
	BY	2	0	1	0	0	3	2	+	2				
	SY	1	1	1	2	1	6	2	+	2				
	ZY	1	2	0	1	2	6	1	1					

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında farklı içerikli parenteral lipid emülsiyonlarının deneysel sepsis modelinde bozulan hemodinami, organ hasarı ve oksidatif hasara etkileri incelendi. BY, SY, ZY kullanılan dozlarda normal hayvanda mezenter kan akımını azaltırken, sadece BY, LPS verilen hayvanda azalmış mezenter kan akımını düzeltti. Deneysel modelde artmış karaciğer ve dalak ağırlıklarına yağların azaltıcı, tedavi edici bir etkisi gözlenmedi. BY, ZY, nispeten SY kullanılan dozlarda kontrol grubu hayvanda karaciğer ve dalakta histopatolojik olarak hasar oluştururken, sadece BY, LPS verilen hayvanda karaciğer hasarını düzeltti. Bozulan oksidatif denge üzerine yağların etkisi organa özgüdür ve genel bir düzeltici etkiden bahsetmek zordur.

Bir organ sisteminde etkin doku perfüzyonunu sürdürmek için gerekli otoregülasyon 50 – 150 mm Hg arasındaki ortalama arter basıncı ile sağlanır. Septik şokta kan akımının organlara dağılımı şantlar nedeniyle heterojendir. Vital organlara yeterli perfüzyonun sağlanması için bazı organ ve doku yataklarında relatif hipoperfüzyon görülür. Erken ve klinik olarak önemli olan major şant splanknik hipoperfüzyondur. Göreceli hipoperfüzyon gastrointestinal sistemde hasarlanma ile ciddi sepsiste sistemik inflamasyonu daha da artırır. Sepsiste, deri ile birlikte mezenterik dolaşımın ilk bozulan dolaşım olması, ve bunun kliniğe ciddi ölçüde yansması, araştırmacıların mezenterik kan akımının değerlendirilmesine olan ilgilerini arttırdı (128, 129). Gastrointestinal sistemde gözükten bu göreceli hipoperfüzyon (mezenterik dolaşımın bozulması) bağırsak mukozal bütünlüğünün bozulmasıyla bakterilerin lümeden sistemik dolaşıma karışmasına (bakteriyel translokasyon) ve inflamasyon yollarının tekrar uyarılmasına neden olur. Bu durum 1998 yılında domuzlar üzerinde yapılan deneysel septik şok çalışmalarında gösterilmiştir (130). Şok tablosunda vazopresör ajanlarla arteriyel kan basıncının normal sınırlarda tutulmasına rağmen, mezenterik dolaşımın bozuk kalmaya devam ettiği ve bunun sonucunda intestinal iskemi ve bakteriyel translokasyon olduğu gözlenmiştir (130). Bu tez

çalışmasında sadece BY mezenter arterdeki kan akımı azalmasını önledi. BY dahil olmak üzere tüm yağ emülsiyonları normal hayvanda kan akımını düşürdü. Bu düşüş ZY'nda istatistiksel olarak anlamlıydı. Daha kapsamlı bir projede daha farklı dozların denenmesi gereklidir. BY'nin LPS verilen hayvanda düşen kan akımını düzeltmesi önemlidir, ancak hayvan ağırlığı göz önünde tutulursa bu düzeltme bozulmaktadır. Bu azalmadan, salıverilen endojen katekolaminler ve endotelin gibi vazokonstriksiyon mekanizmaların sorumlu olduğu düşünüldü. Literatürde gelişen bu vazokonstriksiyonun endotelin reseptör antagonisti bosentan ile önlendiğine dair bulgular vardır (119). Bu nedenle mezenterik kan akımı ve damar direncinin takibi septik şok prognozu açısından önemlidir. Mezenterik hipoperfüzyon sonrası başlayan ve prognozu etkileyen birçok patolojinin bloke olması nedeniyle tanısı konmuş septik şokta BY içeren lipid emülsiyonların kullanımı başarılı olabilir, prognozu etkileyebilir. Bu durum klinik açıdan değerlendirilmelidir.

Deneysel septik şok modellerinde LPS uygulaması sonrasında ıslak karaciğer ve dalakta ağırlık artışı beklenen bir bulgudur (119). Bu çalışmada da artış gözlemlendi. Parenteral yağ emülsiyonlarının hiçbirisi bu artışı önlememiştir. Organ hasarını değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen histopatolojik incelemede karaciğer ve dalakta LPS'ye bağlı hasarlar tespit edilmiştir. Bu bulgular literatürle uyumlu olup parankim harabiyeti, hemokonjesyon, inflamatuvar lenfositik infiltrasyon ile karakterizedir. Ayrıca karaciğere özgü "spotty nekroz" ve dalağa özgü "kapsül içine kanama" da gözlenebilir (131). Histopatolojik incelemede mezenter kan akımı ölçüm sonuçlarına benzer bir durum olmuştur. Normal hayvanda kullanılan dozlarda BY, ZY ve nispeten SY karaciğerde ve dalakta hasara yol açmıştır. LPS verilen hayvanlarda sadece BY hasarı önlemiştir. Dalakta bu iyileştirici etki gözlenmemiştir.

LPS ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde oluşan yaygın oksidatif hasar bu çalışmada TAS/TOS ölçümüyle gösterildi. Çalışma bütününde LPS verilen hayvanlarda koruyucu TAS azalırken, hasarın sorumlusu TOS arttı. LPS'nin reaktif

oksijen türlerini ve lipid peroksidasyon ürünleri olan süperoksid anyonu, peroksitler ve MDA seviyelerini arttırdığı bilinmektedir. Tüm bu etkenlerin sepsis patofizyolojisinde ve komplikasyonlarında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (132, 133). Septik şokta aktive olan nötrofil MPO gibi enzimlerin salıverilmesine ve serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasına neden olur (134). Normal fizyolojik şartlarda, serbest oksijen radikallerinin yapımıyla, bunların antioksidanlarca temizlenmesi arasında denge vardır. Sepsiste endotel hasarı ve çoklu organ yetmezliği nedeniyle, fazla miktarda oluşan bu radikallerin temizlenmesi azalır. Bu çalışmada histopatolojik incelemeden farklı olarak karaciğer ve dalak haricinde serum, böbrek, akciğerde de TAS/TOS tayini yapılmıştır. Bunun en önemli nedeni akciğer ve böbrekten köken alabilecek, açığa çıkabilecek ve serumda da tespit edilebilecek, oksidatif hasarı önleyebilecek maddelerin açığa çıkma ihtimali idi. Karaciğerde paranteral lipid emülsiyonlarının hiçbiri oksidatif hasarı önlememiştir. Dalakta BY ve SY artan TOS değerini normale çekerek koruyucu etki göstermiştir. Akciğerde durum ise tamamen farklıdır. Yağ emülsiyonları LPS etkilerini önlemezken kontrol grubu hayvanlarında BY ve ZY TOS değerini artırarak, SY ise TAS değerini azaltarak kullanılan dozlarda zarar verici, olumsuz etki göstermişlerdir. Böbrekte ise SY, LPS etkisini TOS değerini azaltarak önledi.

Bu ölçümlerin en şaşırtıcı kısmı serum sonuçlarıdır. Kullanılan bu dozda tüm yağ emülsiyonları koruyucu serum TAS konsantrasyonlarını kontrol grubunda azaltmıştır. ZY'nin antioksidan olduğu konusunda birçok yayın, *in vitro* çalışma mevcutken, *in vivo* şartlarda böyle bir sonuç ilginçtir (11, 90, 97, 135, 136). Bu sonuçlar parenteral lipid emülsiyonlarının oksidatif hasarı bazı istisnalar dışında önlemediğini göstermektedir. Normal sağlıklı hayvanda bu dozlarda akciğerde oksidatif hasara neden olduğunu ve serum ölçümlerinde antioksidan maddeleri azalttığını göstermiştir. Ayrıca BY'nin karaciğerdeki hasarı ve mezenter kan akımındaki azalmayı önleyici, koruyucu, tedavi edici etkisinin oksidatif hasarı gidererek, antioksidan aktivite göstererek olmadığını gösterir.

Literatürde daha çok diyetle alınan yağların öncelikle kardiyovasküler sistem üzerindeki koruyucu etkilerinden bahsedilmektedir. Özellikle sepsis, septik şok gibi durumlarda yapılmış çalışmalar olmamakla beraber son yıllarda zeytinyağı içeren emülsiyonların *in vitro* ölçümlerde yüksek antioksidan aktivite göstermesi nedeniyle yoğun bakım ünitelerinde daha üstün olabileceği iddia edilmektedir. Akdeniz diyetindeki zeytinyağının kalp koruyucu etkisinin, içerdiği fenolik komponentin (hidroksitirozol ve oleuropein gibi) güçlü biyolojik aktivitesinden kaynaklandığı, *invivo* ve *invitro* çalışmalarla da gösterilmiştir (136-138). Zeytinyağı fenoliklerinin biyolojik aktiviteleri arasında, aterosklerozun başlamasıyla ilişkili olan LDL oksidasyonunu baskılaması, trombosit agregasyonunu engellemesi, aktive lökositlerden LTB4 ve TXB2 salgılanmasının azaltılması, süperoksit ve diğer reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesi, plazma antioksidan kapasitesinin artması, makrofajlardan nitrik oksit salıverilmesinin artması, hipotansif etki gibi etkiler sayılabilir (139).

Majör abdominal cerrahi girişim geçiren hastalarda operasyon sonrası parenteral nutrisyon sırasında yağ kaynağı olarak, "MCT-LCT", "soya yağı-zeytinyağı", "soya yağı-zeytinyağı-balık yağı" kullanılan bir çalışmada inflamatuvar yanıt ve oksidan kapasite değerlendirilmiştir (140). %20 soya yağı / %80 zeytinyağı karışımının kullanımının OXLDL3 değerinin anlamlı derecede düşürdüğü, TBARS değerlerinin ise ileri derecede yükselttiği bulunmuştur. Okside LDL3 (OXLDL3) ve Thiobarbituric Acid Reactive Substans (TBARS) değerleri bu tez çalışmasında kullanılan TAS/TOS ölçümüne göre kesinliği daha düşük tekniklerdir. Özellikle TBARS, plazmada antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için kullanılan, lipid peroksidasyonun göstergesi olan çok eski bir parametredir. Bu tez çalışmasında zeytinyağı kontrol hayvanlarında organ hasarına neden olmuş, LPS etkilerini de önleyememiştir. Kullandığımız LPS dozunun yüksek olması ve ZY emülsiyonunun miktarı (yüksek doz) bu etkide olumsuz rol oynamış olabilir.

SY içeren emülsiyonlar birçok enteral ve parenteral formülasyonda kullanılan, uzun zincirli trigliseridlerdir (LCT). Mısır yağı, ayçiçeği yağı da soya yağına benzer özellikler gösterir ve LCT içerir. Bu yağlar ile esansiyel yağ asidi eksikliği önlenir. Ancak yüksek miktarlarda çoklu doymamış yağ asidi (PUFA- *Poliunsaturated Fatty Acid*) ve % 52-54 oranında linoleik asit içerirler (141). Soya fasülyesi kaynaklı emülsiyonların düzenli infüzyonu sonrasında plazma lipoproteinlerinde α -tokoferol düzeyinde düşme, buna bağlı olarak antioksidan kapasitede azalma ortaya çıkmaktadır. En eski lipid emülsiyonu olma özelliği olan bu grup, zeytinyağı ve soya yağının 80/20 oranında karıştırılmasıyla veya α -tokoferol ile zenginleştirilerek kullanılmaktadır. Bizim bulgularımızda zeytinyağı gibi SY içeren emülsiyonlar da LPS hasarını genelde önleyememiştir. Sadece böbrekte ve karaciğerde koruyucu etki gözlenmiş, akciğer ve serumda oksidatif hasarı artırmıştır.

Bu tez çalışmasını ana bulgusu son yıllarda ön plana çıkan yüksek omega-3 yağ asidi içeren balık yağı emülsiyonlarının bu deneysel sepsis modelinde azalmış mezenter kan akımını artırması, karaciğer hasarını önlemesi ve dalakta oksidatif hasarı önlemesidir. Bu koruyucu durum zeytinyağı emülsiyonlarında iddia edildiği gibi oksidatif hasarın önlenmesi ile ilişkili değildir. BY emülsiyonları, LPS verilerek septik şok oluşturulmuş hayvanlarda, koruyucu etki gösterdiği dozlarda, normal hayvanlarda organ hasarına sebep olmaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Parenteral yağ emülsiyonları kritik hastalık durumlarında verilmelidir.
2. Bu emülsiyonların kullanılan dozlarda sağlıklı hayvanlara verildiğinde zararlı olabileceği gözlenmiştir.
3. Balık yağı içeren emülsiyonlar deneysel sepsis modelinde diğer lipid emülsiyonlarına göre daha bazı parametrelerde faydalı bulunmuştur.
4. Zeytinyağı ve soya yağı emülsiyonları literatürden farklı olarak bu modelde faydalı bulunmamıştır.
5. Çekal ligasyon ve delme (CLP) modelinde de bu hipotez test edilebilir (farklı model).
6. Bu çalışmanın farklı miktarda lipid emülsiyonları verilerek geliştirilmesi daha aydınlatıcı olabilir (farklı doz).
7. Mezenterik kan akımı, TAS ve TOS ölçümleri bu deneysel modelde farklı zaman aralıklarında da yapılabilir (farklı zaman).

7. KAYNAKLAR

1. Vinnars E, Hammarqvist F. 25th Arvid Wretling's Lecture--Silver anniversary, 25 years with ESPEN, the history of nutrition. *Clin Nutr.* 2004;23(5):955-62.
2. Boisrame-Helms J, Toti F, Hasselmann M, Meziani F. Lipid emulsions for parenteral nutrition in critical illness. *Prog Lipid Res.* 2015;60:1-16.
3. Genga KR, Russell JA. Update of Sepsis in the Intensive Care Unit. *J Innate Immun.* 2017;9(5):441-55.
4. Boisrame-Helms J, Said A, Burban M, Delabranche X, Stiel L, Zobairi F, et al. Medium-chain triglyceride supplementation exacerbates peritonitis-induced septic shock in rats: role on cell membrane remodeling. *Shock.* 2014;42(6):548-53.
5. Lin MT, Hsu CS, Yeh SL, Yeh CL, Chang KJ, Lee PH, et al. Effects of omega-3 fatty acids on leukocyte Th1/Th2 cytokine and integrin expression in rats with gut-derived sepsis. *Nutrition.* 2007;23(2):179-86.
6. Tsou SS, Chiu WC, Yeh CL, Hou YC, Yeh SL. Effects of omega-3 fatty acids on inflammatory mediators and splenocyte cytokine mRNA expressions in rats with polymicrobial sepsis. *Nutrition.* 2008;24(5):484-91.
7. Chao CY, Yeh SL, Lin MT, Chen WJ. Effects of parenteral infusion with fish-oil or safflower-oil emulsion on hepatic lipids, plasma amino acids, and inflammatory mediators in septic rats. *Nutrition.* 2000;16(4):284-8.
8. Mayer K, Fegbeutel C, Hattar K, Sibelius U, Kramer HJ, Heuer KU, et al. Omega-3 vs. omega-6 lipid emulsions exert differential influence on neutrophils in septic shock patients: impact on plasma fatty acids and lipid mediator generation. *Intensive Care Med.* 2003;29(9):1472-81.
9. Mayer K, Gokorsch S, Fegbeutel C, Hattar K, Rosseau S, Walmrath D, et al. Parenteral nutrition with fish oil modulates cytokine response in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167(10):1321-8.
10. Heller AR, Rossler S, Litz RJ, Stehr SN, Heller SC, Koch R, et al. Omega-3 fatty acids improve the diagnosis-related clinical outcome. *Crit Care Med.* 2006;34(4):972-9.
11. Gultekin G, Sahin H, Inanc N, Uyanik F, Ok E. Impact of Omega-3 and Omega-9 fatty acids enriched total parenteral nutrition on blood chemistry and inflammatory markers in septic patients. *Pak J Med Sci.* 2014;30(2):299-304.
12. Mateu-de Antonio J, Grau S, Luque S, Marin-Casino M, Albert I, Ribes E. Comparative effects of olive oil-based and soyabean oil-based emulsions on infection rate and leucocyte count in critically ill patients receiving parenteral nutrition. *Br J Nutr.* 2008;99(4):846-54.
13. Umpierrez GE, Spiegelman R, Zhao V, Smiley DD, Pinzon I, Griffith DP, et al. A double-blind, randomized clinical trial comparing soybean oil-based versus olive oil-based lipid emulsions in adult medical-surgical intensive care unit patients requiring parenteral nutrition. *Crit Care Med.* 2012;40(6):1792-8.

14. De Backer D, Orbegozo Cortes D, Donadello K, Vincent JL. Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. *Virulence*. 2014;5(1):73-9.
15. Paulus P, Jennewein C, Zacharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers*. 2011;16 Suppl 1:S11-21.
16. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(1):98-104.
17. Becker BF, Chappell D, Bruegger D, Annecke T, Jacob M. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential. *Cardiovasc Res*. 2010;87(2):300-10.
18. Verdant C, De Backer D. How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside. *Curr Opin Crit Care*. 2005;11(3):240-4.
19. Trzeciak S, McCoy JV, Phillip Dellinger R, Arnold RC, Rizzuto M, Abate NL, et al. Early increases in microcirculatory perfusion during protocol-directed resuscitation are associated with reduced multi-organ failure at 24 h in patients with sepsis. *Intensive Care Med*. 2008;34(12):2210-7.
20. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascon GA, et al. The Endothelium in Sepsis. *Shock*. 2016;45(3):259-70.
21. Morrison DC, Ulevitch RJ. The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. A review. *Am J Pathol*. 1978;93(2):526-618.
22. Woodcock TE, Woodcock TM. Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *Br J Anaesth*. 2012;108(3):384-94.
23. Frati-Munari AC. [Medical significance of endothelial glycocalyx]. *Arch Cardiol Mex*. 2013;83(4):303-12.
24. Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, De Gaudio AR, Adembri C. Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Crit Care*. 2015;19:26.
25. Song JW, Zullo JA, Liveris D, Dragovich M, Zhang XF, Goligorsky MS. Therapeutic Restoration of Endothelial Glycocalyx in Sepsis. *J Pharmacol Exp Ther*. 2017;361(1):115-21.
26. Steppan J, Hofer S, Funke B, Brenner T, Henrich M, Martin E, et al. Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J Surg Res*. 2011;165(1):136-41.
27. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *Lancet*. 2018;392(10141):75-87.
28. Hoyert DL, Xu J. Deaths: preliminary data for 2011. *Natl Vital Stat Rep*. 2012;61(6):1-51.
29. Perner A, Gordon AC, De Backer D, Dimopoulos G, Russell JA, Lipman J, et al. Sepsis: frontiers in diagnosis, resuscitation and antibiotic therapy. *Intensive Care Med*. 2016;42(12):1958-69.
30. Heyland DK, MacDonald S, Keefe L, Drover JW. Total parenteral nutrition in the critically ill patient: a meta-analysis. *JAMA*. 1998;280(23):2013-9.

31. Singer P, Blaser AR, Berger MM, Alhazzani W, Calder PC, Casaer MP, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. *Clin Nutr*. 2019;38(1):48-79.
32. McClave SA, Taylor BE, Martindale RG, Warren MM, Johnson DR, Braunschweig C, et al. Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient: Society of Critical Care Medicine (SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.). *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2016;40(2):159-211.
33. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-10.
34. Hartl WH, Jauch KW. Metabolic self-destruction in critically ill patients: origins, mechanisms and therapeutic principles. *Nutrition*. 2014;30(3):261-7.
35. Mancl EE, Muzevich KM. Tolerability and safety of enteral nutrition in critically ill patients receiving intravenous vasopressor therapy. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2013;37(5):641-51.
36. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017;43(3):304-77.
37. van Niekerk G, Meaker C, Engelbrecht AM. Nutritional support in sepsis: when less may be more. *Crit Care*. 2020;24(1):53.
38. Kott M, Hartl WH, Elke G. Enteral vs. parenteral nutrition in septic shock: are they equivalent? *Curr Opin Crit Care*. 2019;25(4):340-8.
39. Ersoy OE, Topeli İskit, Arzu., Abbasoğlu Osman Parenteral Nütrisyon. *İç Hastalıkları Dergisi*.17:209-16.
40. Vinnars E, Wilmore D. Jonathan Roads Symposium Papers. History of parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2003;27(3):225-31.
41. Vassilyadi F, Panteliadou AK, Panteliadis C. Hallmarks in the history of enteral and parenteral nutrition: from antiquity to the 20th century. *Nutr Clin Pract*. 2013;28(2):209-17.
42. Abdel-Halim RE. Contributions of Ibn Zuhr (Avenzoar) to the progress of surgery: a study and translations from his book *Al-Taisir*. *Saudi Med J*. 2005;26(9):1333-9.
43. Fastag E, Varon J, Sternbach G. Richard Lower: the origins of blood transfusion. *J Emerg Med*. 2013;44(6):1146-50.
44. Latta T. Letter from Dr. Latta to the Secretary of the Central Board of Health, London, affording a view of the rationale and results of his practice in the treatment of cholera by aqueous and saline injections. 1832. *Int J Epidemiol*. 2013;42(2):387-90.
45. Wretling A. Recollections of pioneers in nutrition: landmarks in the development of parenteral nutrition. *J Am Coll Nutr*. 1992;11(4):366-73.
46. Schuberth O, Wretling A. [Fat emulsions for intravenous nutrition. Pharmacological and clinical experiences]. *Nord Med*. 1963;69:13-7.

47. Clark R, Vinnars E. Early history of ESPEN. *Clin Nutr.* 1994;13(1):57-61.
48. Dudrick SJ, Palesty JA. Historical highlights of the development of total parenteral nutrition. *Surg Clin North Am.* 2011;91(3):693-717.
49. Fell GL, Nandivada P, Gura KM, Puder M. Intravenous Lipid Emulsions in Parenteral Nutrition. *Adv Nutr.* 2015;6(5):600-10.
50. Javid PJ, Greene AK, Garza J, Gura K, Alwayn IP, Voss S, et al. The route of lipid administration affects parenteral nutrition-induced hepatic steatosis in a mouse model. *J Pediatr Surg.* 2005;40(9):1446-53.
51. Kalish BT, Le HD, Gura KM, Bistrrian BR, Puder M. A metabolomic analysis of two intravenous lipid emulsions in a murine model. *PLoS One.* 2013;8(4):e59653.
52. Tulikoura I, Huikuri K. Morphological fatty changes and function of the liver, serum free fatty acids, and triglycerides during parenteral nutrition. *Scand J Gastroenterol.* 1982;17(2):177-85.
53. Rosmarin DK, Wardlaw GM, Mirtallo J. Hyperglycemia associated with high, continuous infusion rates of total parenteral nutrition dextrose. *Nutr Clin Pract.* 1996;11(4):151-6.
54. Ohkawa H, Fukuwa C, Matsuzawa-Nagata N, Yokogawa K, Omura K, Miyamoto K. Soybean fat supplementation controls insulin resistance caused by fat-free total parenteral nutrition. *J Pharm Pharmacol.* 2008;60(4):461-5.
55. Holman RT. The ratio of trienoic: tetraenoic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. *J Nutr.* 1960;70(3):405-10.
56. Barr LH, Dunn GD, Brennan MF. Essential fatty acid deficiency during total parenteral nutrition. *Ann Surg.* 1981;193(3):304-11.
57. Le HD, Meisel JA, de Meijer VE, Gura KM, Puder M. The essentiality of arachidonic acid and docosahexaenoic acid. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009;81(2-3):165-70.
58. de Meijer VE, Gura KM, Meisel JA, Le HD, Puder M. Parenteral fish oil as monotherapy for patients with parenteral nutrition-associated liver disease. *Pediatr Surg Int.* 2009;25(1):123-4.
59. Driscoll DF, Ling PR, Quist WC, Bistrrian BR. Pathological consequences from the infusion of unstable lipid emulsion admixtures in guinea pigs. *Clin Nutr.* 2005;24(1):105-13.
60. Driscoll DF. Lipid injectable emulsions: Pharmacopeial and safety issues. *Pharm Res.* 2006;23(9):1959-69.
61. Driscoll DF, Ling PR, Bistrrian BR. Pathological consequences to reticuloendothelial system organs following infusion of unstable all-in-one mixtures in rats. *Clin Nutr.* 2006;25(5):842-50.
62. Gallegos C, Valencia C, Partal P, Franco JM, Maglio O, Abrahamsson M, et al. Droplet-size distribution and stability of commercial injectable lipid emulsions containing fish oil. *Am J Health Syst Pharm.* 2012;69(15):1332-5.

63. Luk AS, Kaler EW, Lee SP. Structural mechanisms of bile salt-induced growth of small unilamellar cholesterol-lecithin vesicles. *Biochemistry*. 1997;36(19):5633-44.
64. Shinohara M, Mirakaj V, Serhan CN. Functional Metabolomics Reveals Novel Active Products in the DHA Metabolome. *Front Immunol*. 2012;3:81.
65. Serhan CN, Dalli J, Colas RA, Winkler JW, Chiang N. Protectins and maresins: New pro-resolving families of mediators in acute inflammation and resolution bioactive metabolome. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1851(4):397-413.
66. Oliver E, McGillicuddy FC, Harford KA, Reynolds CM, Phillips CM, Ferguson JF, et al. Docosahexaenoic acid attenuates macrophage-induced inflammation and improves insulin sensitivity in adipocytes-specific differential effects between LC n-3 PUFA. *J Nutr Biochem*. 2012;23(9):1192-200.
67. Honda KL, Lamon-Fava S, Matthan NR, Wu D, Lichtenstein AH. EPA and DHA exposure alters the inflammatory response but not the surface expression of Toll-like receptor 4 in macrophages. *Lipids*. 2015;50(2):121-9.
68. Freese R, Mutanen M, Valsta LM, Salminen I. Comparison of the effects of two diets rich in monounsaturated fatty acids differing in their linoleic/alpha-linolenic acid ratio on platelet aggregation. *Thromb Haemost*. 1994;71(1):73-7.
69. Araya J, Rodrigo R, Videla LA, Thielemann L, Orellana M, Pettinelli P, et al. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n - 6/n - 3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond)*. 2004;106(6):635-43.
70. Simopoulos AP. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008;233(6):674-88.
71. Duan Y, Li F, Li L, Fan J, Sun X, Yin Y. n-6:n-3 PUFA ratio is involved in regulating lipid metabolism and inflammation in pigs. *Br J Nutr*. 2014;111(3):445-51.
72. Liu HQ, Qiu Y, Mu Y, Zhang XJ, Liu L, Hou XH, et al. A high ratio of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids improves obesity-linked inflammation and insulin resistance through suppressing activation of TLR4 in SD rats. *Nutr Res*. 2013;33(10):849-58.
73. Salen G, Ahrens EH, Jr., Grundy SM. Metabolism of beta-sitosterol in man. *J Clin Invest*. 1970;49(5):952-67.
74. Clayton PT, Whitfield P, Iyer K. The role of phytosterols in the pathogenesis of liver complications of pediatric parenteral nutrition. *Nutrition*. 1998;14(1):158-64.
75. Iyer KR, Spitz L, Clayton P. BAPS prize lecture: New insight into mechanisms of parenteral nutrition-associated cholestasis: role of plant sterols. *British Association of Paediatric Surgeons. J Pediatr Surg*. 1998;33(1):1-6.
76. Carter BA, Taylor OA, Prendergast DR, Zimmerman TL, Von Furstenberg R, Moore DD, et al. Stigmasterol, a soy lipid-derived phytosterol, is an antagonist of the bile acid nuclear receptor FXR. *Pediatr Res*. 2007;62(3):301-6.

77. El Kasmi KC, Anderson AL, Devereaux MW, Vue PM, Zhang W, Setchell KD, et al. Phytosterols promote liver injury and Kupffer cell activation in parenteral nutrition-associated liver disease. *Sci Transl Med*. 2013;5(206):206ra137.
78. Brigelius-Flohe R. Bioactivity of vitamin E. *Nutr Res Rev*. 2006;19(2):174-86.
79. Hallberg D, Holm I, Obel AL, Schuberth O, Wretling A. Fat emulsions for complete intravenous nutrition. 1967. *Nutrition*. 1994;10(1):96-106; discussion 96,7-8.
80. Miloudi K, Comte B, Rouleau T, Montoudis A, Levy E, Lavoie JC. The mode of administration of total parenteral nutrition and nature of lipid content influence the generation of peroxides and aldehydes. *Clin Nutr*. 2012;31(4):526-34.
81. Zhao M, Zang B, Cheng M, Ma Y, Yang Y, Yang N. Differential responses of hepatic endoplasmic reticulum stress and inflammation in diet-induced obese rats with high-fat diet rich in lard oil or soybean oil. *PLoS One*. 2013;8(11):e78620.
82. Nivala AM, Reese L, Frye M, Gentile CL, Pagliassotti MJ. Fatty acid-mediated endoplasmic reticulum stress in vivo: differential response to the infusion of Soybean and Lard Oil in rats. *Metabolism*. 2013;62(5):753-60.
83. Verleyen T, Forcades, M., Verhe, R., Dewettinck, K., Huyghebaert, A., De Greyt, W., 2002. Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. doi:10.1007/s11746-002-0444-3. Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 2002.;doi:10.1007/s11746-002-0444-3
84. Garib R, Garla P, Torrinhas RS, Bertevello PL, Logullo AF, Waitzberg DL. Effects of parenteral fish oil lipid emulsions on colon morphology and cytokine expression after experimental colitis. *Nutr Hosp*. 2013;28(3):849-56.
85. Garla P, Garib R, Torrinhas RS, Machado MC, Calder PC, Waitzberg DL. Effect of parenteral infusion of fish oil-based lipid emulsion on systemic inflammatory cytokines and lung eicosanoid levels in experimental acute pancreatitis. *Clin Nutr*. 2017;36(1):302-8.
86. Manzoni Jacintho T, Gotho H, Gidlund M, Garcia Marques C, Torrinhas R, Mirtes Sales M, et al. Anti-inflammatory effect of parenteral fish oil lipid emulsion on human activated mononuclear leukocytes. *Nutr Hosp*. 2009;24(3):288-96.
87. Raman M, Almutairdi A, Mulesa L, Alberda C, Beattie C, Gramlich L. Parenteral Nutrition and Lipids. *Nutrients*. 2017;9(4).
88. Calder PC, Waitzberg DL, Klek S, Martindale RG. Lipids in Parenteral Nutrition: Biological Aspects. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2020;44 Suppl 1:S21-S7.
89. Klek S. Omega-3 Fatty Acids in Modern Parenteral Nutrition: A Review of the Current Evidence. *J Clin Med*. 2016;5(3).
90. Calder PC. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *J Nutr*. 2012;142(3):592S-9S.
91. Calder PC. Lipids for intravenous nutrition in hospitalised adult patients: a multiple choice of options. *Proc Nutr Soc*. 2013;72(3):263-76.

92. Calder PC, Jensen GL, Koletzko BV, Singer P, Wanten GJ. Lipid emulsions in parenteral nutrition of intensive care patients: current thinking and future directions. *Intensive Care Med.* 2010;36(5):735-49.
93. Waitzberg DL, Torrinhas RS. The complexity of prescribing intravenous lipid emulsions. *World Rev Nutr Diet.* 2015;112:150-62.
94. Calder PC, Adolph M, Deutz NE, Grau T, Innes JK, Klek S, et al. Lipids in the intensive care unit: Recommendations from the ESPEN Expert Group. *Clin Nutr.* 2018;37(1):1-18.
95. Babayan VK. Medium chain triglycerides and structured lipids. *Lipids.* 1987;22(6):417-20.
96. Waitzberg DL, Torrinhas RS, Jacintho TM. New parenteral lipid emulsions for clinical use. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2006;30(4):351-67.
97. Buenestado A, Cortijo J, Sanz MJ, Naim-Abu-Nabah Y, Martinez-Losa M, Mata M, et al. Olive oil-based lipid emulsion's neutral effects on neutrophil functions and leukocyte-endothelial cell interactions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2006;30(4):286-96.
98. Martindale RG, Berlana D, Boullata JI, Cai W, Calder PC, Deshpande GH, et al. Summary of Proceedings and Expert Consensus Statements From the International Summit "Lipids in Parenteral Nutrition". *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2020;44 Suppl 1:S7-S20.
99. Pradelli L, Mayer K, Klek S, Omar Alsaleh AJ, Clark RAC, Rosenthal MD, et al. omega-3 Fatty-Acid Enriched Parenteral Nutrition in Hospitalized Patients: Systematic Review With Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2020;44(1):44-57.
100. Calder PC. Intravenous Lipid Emulsions to Deliver Bioactive Omega-3 Fatty Acids for Improved Patient Outcomes. *Mar Drugs.* 2019;17(5).
101. Gyawali B, Ramakrishna K, Dharmoon AS. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Med.* 2019;7:2050312119835043.
102. Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P, Latini R, Tognoni G, Pesenti A, et al. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. SvO₂ Collaborative Group. *N Engl J Med.* 1995;333(16):1025-32.
103. Mantzaris K, Tsolaki V, Zakyntinos E. Role of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Sepsis and Potential Therapies. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:5985209.
104. VanderMeer TJ, Wang H, Fink MP. Endotoxemia causes ileal mucosal acidosis in the absence of mucosal hypoxia in a normodynamic porcine model of septic shock. *Crit Care Med.* 1995;23(7):1217-26.
105. Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;295(4):C849-68.
106. Zhang J, Wang X, Vikash V, Ye Q, Wu D, Liu Y, et al. ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:4350965.
107. N VP, V AN, A RK, O SZ, T BK, I ON. Serous pigment epithelium detachment associated with age-related macular degeneration: a possible treatment approach. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol.* 2012;1(4):72-5.

108. Webster NR, Nunn JF. Molecular structure of free radicals and their importance in biological reactions. *Br J Anaesth.* 1988;60(1):98-108.
109. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82(1):47-95.
110. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1245049.
111. Chanock SJ, el Benna J, Smith RM, Babior BM. The respiratory burst oxidase. *J Biol Chem.* 1994;269(40):24519-22.
112. Robinson JM, Badwey JA. Production of active oxygen species by phagocytic leukocytes. *Immunol Ser.* 1994;60:159-78.
113. Gutteridge JM, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull.* 1999;55(1):49-75.
114. Poljsak B, Suput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:956792.
115. Cowley HC, Bacon PJ, Goode HF, Webster NR, Jones JG, Menon DK. Plasma antioxidant potential in severe sepsis: a comparison of survivors and nonsurvivors. *Crit Care Med.* 1996;24(7):1179-83.
116. Chuang CC, Shiesh SC, Chi CH, Tu YF, Hor LI, Shieh CC, et al. Serum total antioxidant capacity reflects severity of illness in patients with severe sepsis. *Crit Care.* 2006;10(1):R36.
117. Karapetsa M, Pitsika M, Goutzourelas N, Stagos D, Tousia Becker A, Zakyntinos E. Oxidative status in ICU patients with septic shock. *Food Chem Toxicol.* 2013;61:106-11.
118. Rubio-Gayosso I, Platts SH, Duling BR. Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290(6):H2247-56.
119. Iskit AB, Sungur A, Gedikoglu G, Guc MO. The effects of bosentan, aminoguanidine and L-canavanine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. *Eur J Pharmacol.* 1999;379(1):73-80.
120. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103-11.
121. Gedik AH, Cakir E, Vehapoglu Turkmen A, Ozer OF, Kaygusuz SB. Total oxidant and antioxidant status and paraoxonase 1 levels of children with noncystic fibrosis bronchiectasis. *Turk J Med Sci.* 2020;50(1):1-7.
122. Aycicek A, Erel O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. *J Pediatr (Rio J).* 2007;83(4):319-22.
123. Wu R, Feng J, Yang Y, Dai C, Lu A, Li J, et al. Significance of Serum Total Oxidant/Antioxidant Status in Patients with Colorectal Cancer. *PLoS One.* 2017;12(1):e0170003.

124. Motor S, Ozturk S, Ozcan O, Gurpinar AB, Can Y, Yuksel R, et al. Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index in patients with alopecia areata. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(4):1089-93.
125. Baker CC, Chaudry IH, Gaines HO, Baue AE. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery*. 1983;94(2):331-5.
126. Gardiner SM, Kemp PA, March JE, Bennett T. Enhancement of the haemodynamic effects of NG-monomethyl-L-arginine by transforming growth factor-beta 1 in conscious, normal, but not endotoxaemic, rats. *Br J Pharmacol*. 1995;116(7):3042-8.
127. Watrobska-Swietlikowska D. Stability of commercial parenteral lipid emulsions repacking to polypropylene syringes. *PLoS One*. 2019;14(4):e0214451.
128. Navaratnam RL, Morris SE, Traber DL, Flynn J, Woodson L, Linares H, et al. Endotoxin (LPS) increases mesenteric vascular resistance (MVR) and bacterial translocation (BT). *J Trauma*. 1990;30(9):1104-13; discussion 13-5.
129. Albuszies G, Radermacher P, Vogt J, Wachter U, Weber S, Schoaff M, et al. Effect of increased cardiac output on hepatic and intestinal microcirculatory blood flow, oxygenation, and metabolism in hyperdynamic murine septic shock. *Crit Care Med*. 2005;33(10):2332-8.
130. Sautner T, Wessely C, Riegler M, Sedivy R, Gotzinger P, Losert U, et al. Early effects of catecholamine therapy on mucosal integrity, intestinal blood flow, and oxygen metabolism in porcine endotoxin shock. *Ann Surg*. 1998;228(2):239-48.
131. Iskit AB, Guc O. Effects of endothelin and nitric oxide on organ injury, mesenteric ischemia, and survival in experimental models of septic shock. *Acta Pharmacol Sin*. 2003;24(10):953-7.
132. Ben-Shaul V, Lomnitski L, Nyska A, Zurovsky Y, Bergman M, Grossman S. The effect of natural antioxidants, NAO and apocynin, on oxidative stress in the rat heart following LPS challenge. *Toxicol Lett*. 2001;123(1):1-10.
133. Bian K, Murad F. Diversity of endotoxin-induced nitrotyrosine formation in macrophage-endothelium-rich organs. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(4):421-9.
134. Iseri SO, Sener G, Saglam B, Gedik N, Ercan F, Yegen BC. Oxytocin protects against sepsis-induced multiple organ damage: role of neutrophils. *J Surg Res*. 2005;126(1):73-81.
135. Cai W, Calder PC, Cury-Boaventura MF, De Waele E, Jakubowski J, Zaloga G. Biological and Clinical Aspects of an Olive Oil-Based Lipid Emulsion-A Review. *Nutrients*. 2018;10(6).
136. Gaforio JJ, Visioli F, Alarcon-de-la-Lastra C, Castaner O, Delgado-Rodriguez M, Fito M, et al. Virgin Olive Oil and Health: Summary of the III International Conference on Virgin Olive Oil and Health Consensus Report, JAEN (Spain) 2018. *Nutrients*. 2019;11(9).
137. Alvarez-Alvarez I, Martinez-Gonzalez MA, Sanchez-Tainta A, Corella D, Diaz-Lopez A, Fito M, et al. Adherence to an Energy-restricted Mediterranean Diet Score and Prevalence of Cardiovascular Risk Factors in the PREDIMED-Plus: A Cross-sectional Study. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2019;72(11):925-34.

138. Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis*. 2007;190(1):181-6.
139. Visioli F, Galli C. Antiatherogenic components of olive oil. *Curr Atheroscler Rep*. 2001;3(1):64-7.
140. Demirer S, Sapmaz A, Karaca AS, Kepenekci I, Aydintug S, Balci D, et al. Effects of postoperative parenteral nutrition with different lipid emulsions in patients undergoing major abdominal surgery. *Ann Surg Treat Res*. 2016;91(6):309-15.
141. Kahveci ŞF. Yoğun bakım hastalarında parenteral beslenmenin yeri ve önemi: parenteral beslenmede yağların yeri ve önemi. . *Yoğun Bakım Dergisi*. 2002;;2(Ek 1):79-82.