

T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ECZACILIK FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**ENDOTOKSEMİK SIÇANLARIN RENAL VE KARDİYOVASKÜLER  
DOKULARINDA 20-HETE MİMETİK 5,14-HEDGE'NİN  
PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-JUN, İMPORTİN- $\alpha$ 3 VE RXR $\alpha$  EKSPRESYONU  
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzm. Ecz. Şefika Pınar ŞENOL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN

MERSİN - 2014

T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
ECZACILIK FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

**ENDOTOKSEMİK SIÇANLARIN RENAL VE KARDİYOVASKÜLER  
DOKULARINDA 20-HETE MİMETİK 5,14-HEDGE'NİN  
PPAR $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ , c-JUN, İMPORTİN- $\alpha$ 3 VE RXR $\alpha$  EKSPRESYONU  
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzm. Ecz. Şefika Pınar ŞENOL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
BAP-SBE FB (ŞPŞ) 2014-3 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 268

MERSİN - 2014

**Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

"Eczacılık Farmakoloji Ana Bilim Dalı Eczacılık Farmakoloji Yüksek lisans Programı" çerçevesinde yürütülmüş olan "Endotoksemik sıçanların renal ve kardiyovasküler dokularında 20-HETE mimetik 5,14-HEDGE'nin PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, importin- $\alpha$ 3 ve RXR $\alpha$  ekspresyonu üzerindeki etkisinin araştırılması" başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/12/2014

Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN  
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmakoloji Ana Bilim Dalı  
Jüri Başkanı

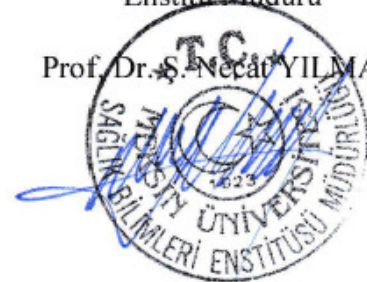
Doç. Dr. Seyhan ŞAHAN FIRAT  
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmakoloji Ana Bilim Dalı  
Jüri Üyesi

Doç. Dr. İsmail ÜN  
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı  
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 05/01/2015 tarihli ve 2015/18 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. S. Necati YILMAZ



## TEŞEKKÜR

Tezimin doğuşundan, şekillenmesi, gelişmesi ve sonlanmasına dek her aşamada bilgi, deneyim ve emeğini esirgemediği özveriyle çalışan ikinci defa yüksek lisans çalışmasını birlikte yürüttüğümüz danışman hocam sayın Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince bilgilerini ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen sayın Doç. Dr. Seyhan ŞAHAN FIRAT ve sayın Yrd. Doç. Ayşe Nihal SARI hocalarıma, yardımlarından dolayı çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Meryem TEMİZ ve Arş. Gör. Demet Sinem GÜDEN'e çok teşekkür ederim.

Yılların eskitemediği dostluğumuzun bilimsel platformda da pekiştiği meslektaşım Pelin ÇEÇEN'e, dostluğunu ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Aslıhan KULA'ya, sabrı ve manevi desteğinden ötürü Arş. Gör. Samet BELVEREN'e kucak dolusu teşekkürler.

Ablam Betül ŞENOL başta olmak üzere kararlarımın her zaman beni destekleyen aileme en içten teşekkürlerimi sunarım. İyi ki varsınız...

# İÇİNDEKİLER

<b>KABUL VE ONAY</b> .....	ii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	x
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xii
<b>ÖZET</b> .....	xix
<b>ABSTRACT</b> .....	xx
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	7
2.1. Septik Şok .....	7
2.1.1. Epidemiyolojisi .....	9
2.1.2. Etiyolojisi .....	10
2.1.3. Fizyopatolojisi .....	10
2.1.4. Tedavisi .....	17
2.2. 20-HETE .....	24
2.2.1. Özellikleri .....	24
2.2.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü .....	24
2.3. PPAR Alt Türleri .....	28
2.3.1. Özellikleri .....	28
2.3.2. PPAR Alt Türlerinin Fizyopatolojik Olaylardaki Rollerini .....	31
2.3.2.1. PPAR $\alpha$ .....	31
2.3.2.2. PPAR $\beta$ .....	33
2.3.2.3. PPAR $\gamma$ .....	34

2.4. RXR .....	37
2.4.1. Özellikleri .....	37
2.4.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rollerini .....	38
2.5. AP-1 .....	38
2.5.1. Özellikleri .....	38
2.5.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rollerini .....	40
2.6. İmportin- $\alpha$ 3.....	41
2.6.1. Özellikleri .....	41
2.6.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü .....	41
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>45</b>
3.1. Gereç .....	45
3.1.1. Deney Hayvanı .....	45
3.1.2. Sarf Malzemesi .....	45
3.1.3. Teçhizat .....	48
3.2 Yöntem .....	49
3.2.1. <i>In Vivo</i> Çalışmalar .....	49
3.2.2. Doku Örneklerinde Toplam Protein Düzeyinin Belirlenmesi .....	50
3.2.3. Doku Örneklerinde Sitozolik/Nükleer PPAR $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ , c-Jun, Fosforile c-Jun, İmportin- $\alpha$ 3 ve $\alpha$ -Düz Kas Aktini İle Nükleer RXR $\alpha$ Protein Düzeylerinin Ölçülmesi .....	51
3.2.4. İmmünoreaktif Proteinlerin Analizi .....	55
3.2.5. Verilerin Analizi .....	56
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>57</b>
4.1. 5,14-HEDGE'nin LPS'ye Verilen Kardiyovasküler Yanıt Üzerindeki Etkisi .....	57
4.2. 5,14-HEDGE'nin Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların Böbrek, Kalp, Torasik Aort ve Süperiyor Mezenterik Arterlerinde Aktin Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi .....	60

4.3. 5,14-HEDGE'nin Sitolik ve Nükleer PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$ ve PPAR $\gamma$ Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi .....	62
4.4. 5,14-HEDGE'nin Sitolik ve Nükleer c-Jun Protein Ekspresyonu İle Fosforilasyonu Üzerindeki Etkisi .....	75
4.5. 5,14-HEDGE'nin Sitolik ve Nükleer İmportin- $\alpha$ 3 Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi .....	83
4.6. 5,14-HEDGE'nin Nükleer RXR $\alpha$ Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi .....	89
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>92</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>98</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>99</b>
<b>ÖZ GEÇMİŞ .....</b>	<b>122</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b> LPS yapısının şematik gösterimi .....	12
<b>Şekil 2.2.</b> Memeli bir konakta enflamasyon ile sonuçlanan LPS/TLR4 aracılıklı sinyalleme yolu etkinliğinin şematik gösterimi .....	13
<b>Şekil 2.3.</b> Septik şok patojenezinde rol oynayan mediyatörlere yönelik tedavi yaklaşımları .....	18
<b>Şekil 2.4.</b> Araşidonik asidin CYP'ye bağımlı monooksijenazlar ( $\omega$ -hidroksilazlar ve epoksijenazlar) tarafından $\omega$ - ve $\omega$ -1-HETE'ler, epoksitler (EET'ler) ve diollere (DHT'lere) metabolizması .....	25
<b>Şekil 2.5.</b> 20-HETE'nin kan basıncını düzenleyici etkisi ile ilgili olarak ileri sürülen mekanizma .....	26
<b>Şekil 2.6.</b> CYP aracılığı ile oluşan arakidonik asit metabolitlerinin damar gerimi üzerindeki etkileri ile ilgili olarak ileri sürülen mekanizmalar .....	26
<b>Şekil 2.7.</b> PPAR reseptörlerinin genel yapısı .....	29
<b>Şekil 2.8.</b> İnsan PPAR alt türlerinin yapısı .....	29
<b>Şekil 2.9.</b> PPAR'ların etki mekanizmaları .....	31
<b>Şekil 2.10.</b> PPAR $\alpha$ 'nın vasküler etkileri .....	33
<b>Şekil 2.11.</b> PPAR $\beta$ 'nin fizyolojik etkileri .....	34
<b>Şekil 2.12.</b> PPAR $\gamma$ 'nın vasküler etkileri .....	35
<b>Şekil 2.13.</b> PPAR $\gamma$ ve PPAR $\gamma$ ligantlarının antienflamatuvar etkilerinin önerilen moleküler mekanizmaları .....	37
<b>Şekil 2.14.</b> AP-1 alt türlerinin yapısı .....	39
<b>Şekil 2.15.</b> AP-1 proteinin toksinler tarafından etkinleştirilmesi .....	40
<b>Şekil 2.16.</b> NPC'lerin (A) yapısının ve (B) moleküler bileşiminin şematik olarak gösterimi. (C) Listelenmiş olan her bir NPC alt yapısını oluşturduğu bilinen maya ve omurgalı homolog nükleoproteinler .....	42



<b>Şekil 2.17.</b> İmportin-eksportin yolu aracılığıyla makromoleküllerin nükleositoplazmik taşınması .....	43
<b>Şekil 2.18.</b> Özgül importin moleküllerinin transkripsiyon faktörlerine bağlanması .....	44
<b>Şekil 4.1.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanlarda 5,14-HEDGE'nin (A) OAB ve (B) KH üzerindeki etkisi .....	59
<b>Şekil 4.2.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\alpha$ protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	65
<b>Şekil 4.3.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\beta$ protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	67
<b>Şekil 4.4.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\gamma$ protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	69
<b>Şekil 4.5.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik PPAR $\alpha$ proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	72
<b>Şekil 4.6.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik PPAR $\beta$ proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	73
<b>Şekil 4.7.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik PPAR $\gamma$ proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	74
<b>Şekil 4.8.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer c-jun protein ekspresyonu ve fosforilasyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	78
<b>Şekil 4.9.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik c-jun ve nükleer/sitozolik fosforile c-jun proteinlerinin hesaplanan oranları üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	81

<b>Şekil 4.10.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	85
<b>Şekil 4.11.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik importin- $\alpha$ 3 proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	88
<b>Şekil 4.12.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer RXR $\alpha$ protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	91
<b>Şekil 5.1.</b> 5,14-HEDGE'nin endotoksinin neden olduğu vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi, enflamasyon, doku zedelenmesi, çoklu organ yetmezliği ve mortaliteye karşı koruyucu etkisinin mekanizması ile ilgili olarak ileri sürülen mekanizma .....	93

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Konakta enfeksiyona maruziyet sonucunda başlayan ve çoklu organ yetmezliğine dek gidebilen durumlar ile ilgili tanımlar .....	8
<b>Çizelge 2.2.</b> Sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için <i>Surviving Sepsis Campaign</i> 'in yapılmasını şiddetle önerdiği yaklaşımlar .....	19
<b>Çizelge 2.3.</b> PPAR alt türleri ve özellikleri .....	30
<b>Çizelge 3.1.</b> Böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arter örneklerinde ölçülen parametreler .....	50
<b>Çizelge 3.2.</b> Sitolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$ ve $\alpha$ -düz kas aktini ile nükleer RXR $\alpha$ protein düzeylerinin ölçülmesinde yapılan işlemler ve kullanılan antikörlerin özellikleri .....	54
<b>Çizelge 4.1.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanlarda 5,14-HEDGE'nin OAB ve KH üzerindeki etkisi .....	58
<b>Çizelge 4.2.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer $\alpha$ -düz kas aktini protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	61
<b>Çizelge 4.3.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$ ve PPAR $\gamma$ proteinlerinin ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	63
<b>Çizelge 4.4.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitolik PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$ ve PPAR $\gamma$ proteinlerinin hesaplanan oranları üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	71
<b>Çizelge 4.5.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer c-jun protein ekspresyonu ve fosforilasyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	76

<b>Çizelge 4.6.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik c-jun ve nükleer/sitozolik fosforile c-jun proteinlerinin hesaplanan oranları üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	80
<b>Çizelge 4.7.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	84
<b>Çizelge 4.8.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik importin- $\alpha$ 3 proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	87
<b>Çizelge 4.9.</b> Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer RXR $\alpha$ protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi .....	90

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

15d-PGJ <sub>2</sub>	<i>15-Deoksi-delta-12,14-prostaglandin J<sub>2</sub></i> ( <i>15-deoxy-delta-12,14-prostaglandin J<sub>2</sub></i> )
20-HETE	20-Hidroksieikozatetraenoik asit ( <i>20-hydroxieicosatetraenoic acid</i> )
5,14-HEDGE	N-[20-Hidroksieikoza-5(Z),14(Z)-dienoil]glisin ( <i>N-[20-hydroxyeicosa-5(Z),14(Z)-dienoyl]glycine</i> )
AA	Araşidonik asit ( <i>arachidonic acid</i> )
ACTH	Adrenokortikotropik hormon ( <i>adrenocorticotropic hormone</i> )
AF	<i>Activation function</i>
AFT	Etkinleştirici transkripsiyon faktörü ( <i>activating transcription factor</i> )
ANOVA	Varyans analizi ( <i>analysis of variance</i> )
AngII	<i>Angiotensin II</i>
apo	Apolipoprotein ( <i>apolipoprotein</i> )
AP	Etkinleştirici protein ( <i>activator protein</i> )
ARDS	İveğen solunum sıkıntısı sendromu ( <i>acute respiratory distress syndrome</i> )
ATF	<i>Activating transcription factor</i>
AT III	<i>Antithrombin III</i>
BPI	<i>Bactericidal permeability-increasing protein</i>
bZIP	<i>Basic leucine zipper</i>
cAMP	Siklik adenzin monofosfat ( <i>cyclic adenosine monophosphate</i> )
CBP	<i>Cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein</i>
CoA	Koenzim A ( <i>coenzyme A</i> )
CREB	<i>cAMP response element-binding protein</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
COX	Siklooksijenaz ( <i>cyclooxygenase</i> )
CRE	Siklik adenzin monofosfat yanıt elementi ( <i>cyclic adenosine monophosphate response element</i> )
CYP	Sitokrom P450 ( <i>cytochrom P450</i> )

çEH	Çözünebilir epoksit hidrolaz ( <i>soluble epoxide hydrolase</i> )
çGS	Çözünebilir guanilil siklaz ( <i>soluble guanylyl cyclase</i> )
DAG	<i>Diacyl glycerol</i>
DBD	<i>Deoxyribonucleic acid binding domain</i>
DHA	<i>Docosahexaenoic acid</i>
DHT	<i>Dihydroxyeicosatrienoic acid</i>
DNA	Deoksiribonükleik asit ( <i>deoxyribonucleic acid</i> )
DTT	Ditiotreytol ( <i>dithiothreitol</i> )
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit ( <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i> )
EET	Epoksieikozatrienoik asit ( <i>epoxyeicosatrienoic acid</i> )
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz ( <i>endothelial nitric oxide synthase</i> )
EPA	<i>Eicosapentaenoic acid</i>
ERK	Ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz ( <i>extracellular signal-regulated kinase</i> )
ET	<i>Endothelin</i>
Exp	<i>Exportin</i>
F <sub>I02</sub>	İnspirasyonla alınan oksijen fraksiyonu ( <i>fraction of inspired oxygen</i> )
FA	<i>Fatty acid</i>
FG	<i>Phenylalanineglycine</i>
GADD	<i>Growth arrest and deoxyribonucleic acid-damage-inducible protein</i>
GAP	<i>Guanosine triphosphatase activating protein</i>
GDP	<i>Guanosine diphosphate</i>
GEF	<i>Guanine nucleotide exchange factor</i>
GTP	<i>Guanosine triphosphate</i>
HCl	Hidroklorik asit ( <i>hydrochloric acid</i> )
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HSF	<i>Heat shock factor</i>
HMG-1	<i>High mobility group I</i>
HODE	<i>Hydroxyoctadecadienoic acid</i>

hsp	<i>Heat shock protein</i>
hPPAR	<i>Human peroxisome proliferator activated receptor</i>
Imp	<i>İmportin</i>
I-TAC	<i>Inducible T-cell alpha chemoattractant I</i>
ISGFR	<i>Interferon stimulated gen factor response element</i>
IκB	κB inhibitörü ( <i>inhibitor of κB</i> )
IFN	İnterferon ( <i>interferon</i> )
IKK	IκB kinaz ( <i>IκB kinase</i> )
IL	İnterlökin ( <i>interleukin</i> )
i.p.	İntraperitoneal ( <i>intraperitoneal, intraperitoneally</i> )
IP	<i>Inducible protein</i>
IP <sub>3</sub>	<i>Inositol-1,4,5-triphosphate</i>
IP-10	İndüklenebilir protein ( <i>inducible protein-10</i> )
IRAK	İnterlökin-1 reseptör ile ilişkili kinaz ( <i>interleukin-1 receptor-associated kinase</i> )
IRF	İnterferon düzenleyici faktör ( <i>interferon regulating factor</i> )
ISGFR	<i>Interferon stimulated gen factor response element</i>
I-TAC	İndüklenebilir T hücre alfa kemoatraktan ( <i>inducible T-cell alpha chemoattractant</i> )
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz ( <i>inducible nitric oxide synthase</i> )
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
KCl	Potasyum klorür ( <i>potassium chloride</i> )
KH	Kalp hızı
L	<i>Ligand</i>
LBD	<i>Ligand binding domain</i>
LBP	Lipit bağlayıcı protein ( <i>lipid binding protein</i> )
LPL	Lipoprotein lipaz ( <i>lipoprotein lipase</i> )
LPS	Lipopolisakkarit ( <i>lipopolysaccharide</i> )
LZD	<i>Leucine-zipper domain</i>
Mab	<i>Monoclonal antibody</i>

MAPK	Mitojen ile aktive edilen protein kinaz ( <i>mitogen-activated protein kinase</i> )
MD-2	Lenfosit antijen 96 ( <i>lymphocyte antigen 96</i> )
MIF	<i>Macrophage migration inhibitory factor</i> ;
MEK	Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz ( <i>mitogen-activated protein kinase kinase</i> )
miR	MikroRNA ( <i>microRNA</i> )
MKK	Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz ( <i>mitogen-activated protein kinase kinase</i> )
MMP	<i>Matrix metalloproteinases</i>
mRNA	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
MyD88	Miyeloit farklılaşma faktörü 88 ( <i>myeloid differentiation factor 88</i> )
NaCl	Sodyum klorür ( <i>sodium chloride</i> )
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat ( <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> )
NaHCO <sub>3</sub>	Sodyum bikarbonat ( <i>sodium bicarbonate</i> )
NAP	Nükleer faktör $\kappa$ B etkinleştirici kinaz ile ilişkili protein ( <i>nuclear factor <math>\kappa</math>B-activating kinase-associated protein</i> )
NE	<i>Norepinephrine</i>
NES	<i>Nuclear export signal</i>
NFAT	Etkinleştirilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü ( <i>nuclear factor of activated T cells</i> )
NF- $\kappa$ B	Nükleer faktör $\kappa$ B ( <i>nuclear factor <math>\kappa</math>B</i> )
NF- $\kappa$ B-RE	<i>Nuclear factor <math>\kappa</math>B response element</i>
NLS	<i>Nuclear localization signal</i>
NO	Nitrik oksit ( <i>nitric oxide</i> )
NOS	Nitrik oksit sentaz ( <i>nitric oxide synthase</i> )
NPC	Nükleer por kompleksi ( <i>nuclear pore complex</i> )
Nups	<i>Nucleoproteins</i>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	<i>Superoxide</i>
OAB	Ortalama arter basıncı



<i>P</i>	İstatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi ( <i>probability</i> )
$P_{aCO_2}$	Kan kısmi karbondioksit basıncı ( <i>partial pressure of carbon dioxide in the blood</i> )
PARP	Poli (adenozin difosfat-riboz) polimeraz ( <i>poly [adenosine diphosphate-ribose] polymerase</i> )
PAF-AH	<i>Platelet-activating factor acetylhydrolase</i>
PAFra	<i>Platelet activating factor receptor antagonist</i>
PEPCK	Fosfoenolpürivat karboksikinaz ( <i>phosphoenolpyruvate carboxykinase</i> )
PG	Prostaglandin ( <i>prostaglandin</i> )
$PGI_2$	Prostaglandin I <sub>2</sub> ( <i>prostaglandin I<sub>2</sub></i> ); prostasiklin ( <i>prostacyclin</i> )
PKC	Protein kinaz C ( <i>protein kinase C</i> )
PKG	Protein kinaz G ( <i>protein kinase G</i> )
PLA	<i>Phospholipase A</i>
PLC	<i>Phospholipase C</i>
PMX B	<i>Polymyxin B</i>
POMs	<i>Pore membrane proteins</i>
PON	Peroksinitrit ( <i>peroxynitrite</i> )
PPAR	Peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör ( <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i> )
PPRE	Peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör yanıt elementi ( <i>peroxisome proliferator-activated receptor response element</i> )
PUFA	Çoklu doymamış yağ asidi ( <i>polyunsaturated fatty acid</i> )
R	<i>Receptor</i>
RBP-p	<i>Ribonucleic acid binding protein-p</i>
rhAPC	<i>Recombinant human activated protein C</i>
ROS	<i>Reactive oxygen species</i>
RXR	Retinoit X reseptörü ( <i>retinoid X receptor</i> )
s.k.	Subkütan ( <i>subcutaneous, subcutaneously</i> )
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SDS	Sodyum dodesil sülfat ( <i>sodium dodecyl sulfate</i> )

SKB	Sistolik kan basıncı ( <i>systolic blood pressure</i> )
SIRS	Sistemik enflamatuvar yanıt sendromu ( <i>systemic inflammatory response syndrome</i> )
SOD	Süperoksit dizmutaz ( <i>superoxide dismutase</i> )
sPLA	<i>Secretory phospholipase A</i>
SSA	Sığır serum albumini ( <i>bovine serum albumin</i> )
STAT	Sinyal dönüştürücüsü ve transkripsiyon etkinleştiricisi ( <i>signal transducer and activator of transcription</i> )
TAD	<i>Transcription activation domain</i>
TAK	Transforme edici büyüme faktörü ile etkinleştirilen kinaz ( <i>transforming growth factor-activated kinase</i> )
TBK	Tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü ile ilişkili faktör aile üyesi ile ilişkili nükleer faktör $\kappa$ B etkinleştiricisini bağlayan kinaz ( <i>tumor necrosis factor receptor-associated factor family member-associated nuclear factor <math>\kappa</math>B-activator-binding kinase</i> )
TFPI	<i>Tissue factor pathway inhibitor</i>
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametiletilediamin ( <i>N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine</i> )
TGF	<i>Tubuloglomerular feedback</i>
TIMP	<i>Metallopeptidase inhibitor 1</i>
TIRAP	<i>Toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein</i>
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TNF	Tümör nekrozlaştırıcı faktör ( <i>tumor necrosis factor</i> )
TPA	12-O-tetradekanoylforbol-13-asetat ( <i>12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate</i> )
TPR	<i>Total peripheral resistance</i>
TRAF	Tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü ile ilişkili faktör ( <i>tumor necrosis factor receptor-associated factor</i> )
TRAM	<i>Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-<math>\beta</math>-related adaptor molecule</i>
TRE	<i>12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate response element</i>
TRIF	<i>Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-<math>\beta</math></i>

TK	<i>Tyrosine kinase</i>
TTÇ	Tris tampon çözeltisi
TZD	Tiyazolidindion ( <i>thiazolidinedione</i> )
UCP	<i>Uncoupling protein</i>
VCAM	Vasküler hücre adezyon molekülü ( <i>vascular cell adhesion molecule</i> )
YYL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein ( <i>high density lipoprotein</i> )
YKST	Yağsız kurutulmuş süt tozu ( <i>non-fat dry milk</i> )

## ÖZET

### Endotoksemik Sıçanların Renal ve Kardiyovasküler Dokularında 20-HETE Mimetik 5,14-HEDGE'nin PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-Jun, İmportin- $\alpha$ 3 ve RXR $\alpha$ Ekspresyonu Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

Bu çalışmada, dayanıklı bir 20-hidroksieikozatetraenoik asit (20-HETE) analogu olan ve endojen olarak oluşan 20-HETE'nin etkilerini taklit ettiği bilinen *N*-(20-hidroksieikoz-5[Z],14[Z]-dienoil) glisin (5,14-HEDGE) uygulandığında, kontrol ve endotoksemik sıçanların renal ve kardiyovasküler dokularının sitozolik ve/veya nükleer fraksiyonlarında peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (PPAR)  $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun/fosforile c-jun ve importin- $\alpha$ 3 ile retinoit X reseptörü (RXR)  $\alpha$  protein ekspresyonunun ne yönde değiştiği araştırıldı. Deneylerde kontrol grubu olarak serum fizyolojik ve septik şok grubu olarak lipopolisakkarit (LPS), deney grubu olarak da tek başına veya LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanan erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. 5,14-HEDGE, hayvanlara serum fizyolojik veya LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulandı. Sıçanlara serum fizyolojik veya LPS enjeksiyonundan önce ve 1, 2, 3 ve 4 saat sonra kuyruktan ortalama arteriyel basınç (OAB) ve kalp hızı (KH) kayıtları alındı. Deneyler sonunda, öldürülen sıçanlarından alınan böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterde sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun/fosforile c-jun ve importin- $\alpha$ 3 ile nükleer RXR $\alpha$  protein ekspresyonu ölçüldü. Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra OAB 33 mmHg kadar azaldı, KH 72 atım/dakika kadar arttı. LPS uygulanan sıçanların dokularında sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  ve nükleer RXR $\alpha$  proteinlerinin ekspresyonu ile PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  proteinlerinin nükleer translokasyonunda azalma, sitozolik/nükleer c-jun/fosforile c-jun ve importin- $\alpha$ 3 proteinlerinin ekspresyonu ile nükleer translokasyonunda artma olduğu gözlemlendi. LPS'nin neden olduğu bütün bu değişiklikler 5,14-HEDGE ile önlemlendi. Bu çalışmanın bulguları, endotoksemi sırasında 5,14-HEDGE'nin hipotansiyon, taşikardi ve enflamasyona karşı koruyucu etkisine PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  ve RXR $\alpha$  ekspresyonu/etkinliğindeki artma olduğu kadar, c-jun ve importin- $\alpha$ 3 ekspresyonu/etkinliğindeki azalmanın katkıda bulunduğunu ve böylece septik şok tedavisinde yararlı olabileceğini gösterdi.

**Anahtar kelimeler:** Endotoksin, PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, importin- $\alpha$ 3, RXR $\alpha$

## ABSTRACT

### Investigation of the Effect of 5,14-HEDGE, a 20-HETE Mimetic, on PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-Jun, Importin- $\alpha 3$ , and RXR $\alpha$ Expression in Renal and Cardiovascular Tissues of Endotoxemic Rats

In this study, effects of a stable analog of 20-HETE, N-20-hydroxyeicosa-5[Z],14[Z]-dienoyl]glycine (5,14-HEDGE), which mimics the effects of endogenously produced 20-HETE, on peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun/phosphorylated c-jun, and importin- $\alpha 3$  as well as retinoid X receptor (RXR)  $\alpha$  protein expression in cytosolic and/or nuclear fractions of renal and cardiovascular tissues of control and endotoxemic rats were investigated. In these studies, saline, lipopolysaccharide (LPS), and 5,14-HEDGE alone or in combination with LPS-treated male Wistar rats were used as control, septic shock, and experimental groups, respectively. 5,14-HEDGE was administered 1 hour after injection of saline or LPS. Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were measured from rats received either saline or LPS at time 0, 1, 2, 3, and 4 hours. At the end of the experiments, rats were sacrificed, cytosolic/nuclear PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun/phosphorylated c-jun, and importin- $\alpha 3$  as well as nuclear RXR $\alpha$  protein expression in kidney, heart, thoracic aorta, and superior mesenteric artery were measured. MAP fell by 33 mmHg, HR rose by 72 beats/min at 4 hour after LPS administration. In LPS-treated rats, tissue protein expression of cytosolic/nuclear PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  and nuclear RXR $\alpha$  as well as nuclear translocation of PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  proteins was decreased while cytosolic/nuclear c-jun/phosphorylated c-jun and importin- $\alpha 3$  protein expression as well as their nuclear translocation was increased. The LPS-induced changes were prevented by 5,14-HEDGE. The results of the study demonstrated that a decrease in the expression/activity of PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  and RXR $\alpha$  as well as an increase in c-jun and importin- $\alpha 3$  expression/activity participate in the protective effect of 5,14-HEDGE against hypotension, tachycardia, and inflammation during endotoxemia, and thus it could have a beneficial effect in septic shock treatment.

**Keywords:** Endotoxin, PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, importin- $\alpha 3$ , RXR $\alpha$

# 1. GİRİŞ

Sepsis enfeksiyona karşı konağın verdiği şiddetli sepsis (bilinen veya olası bir enfeksiyona karşı ikincil olarak hızla gelişen organ işlev bozukluğu) ve septik şok (sıvı uygulanmasıyla düzeltilemeyen hipotansiyonun eşlik ettiği şiddetli sepsis) ile sonuçlanabilen sistemik zararlı bir yanıttır. Sepsisin en sık görülen komplikasyonlarından biri olarak ortaya çıkan septik şok, enfeksiyona karşı konakta gelişen enflamatuvar ve antienflamatuvar olaylar ile hümmoral ve hüccresel tepkilerin neden olduğu respiratuvar, gastrointestinal, renal ve sirkülatuvar işlev bozukluklarının ardından çoklu organ yetmezliği ve ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Dünyada giderek daha büyük bir sağlık sorunu olmaya başlayan şiddetli sepsis ve septik şok nedeniyle her yıl dört bireyden biri, bazen daha çoğu, ölmektedir. Hemodinamik destek (oksijenasyon/ventilasyon stratejileri, sıvı/vazopresör kullanımı ve erken hedefe yönelik tedavi gibi), antimikrobiyal tedavi ve bakteriyel virülans faktörleri (antiendotoksin antikorlar ve endotoksin uzaklaştırıcı kolonların kullanılması gibi) ile konaktaki yanıt faktörlerini (steroitler, antisitokin ilaçlar ve antikoagülanların kullanılması gibi) hedef alan yaklaşımların yetersiz kaldığı sepsis ve septik şok tedavisindeki gelişmeler oldukça yavaş ilerlemekte, ayrıca tedavi maliyeti giderek artmaktadır. Bu durumun nedenleri arasında sepsis ve septik şok patojenezinin pek çok mediyatörün katkısından dolayı karmaşık olması, mediyatörlerin birbirleriyle etkileşmeleri, belirtiler ve prognozun bireyler arasında değişkenlik göstermesi sayılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, *Escherichia coli* (*E. coli*) gibi Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan ve "endotoksin" olarak da adlandırılan lipopolisakkarit (LPS)'nin lipit A bölümünün konakta tetiklediği sinyal ileti mekanizmalarının ve etkinleştirdiği çoğu enzim ekspresyon ve etkinliğinin düzenlenmesine dayanan nedene yönelik ve moleküler düzeyde özgül terapötik yaklaşımlar üzerinde yoğunlaşmıştır (1, 2).

Araşidonik asit (AA)'nın bir  $\omega$ -hidroksilasyon ürünü olan 20-hidroksieikozatetraenoik asit (*20-hydroxieicosatetraenoic acid*; 20-HETE), böbrek, kalp, karaciğer, beyin, akciğer ve çeşitli damarlarda başlıca sitokrom P450 (*cytochrom P450*; CYP) 4A ve CYP4F

izoformları olmak üzere, CYP enzimleri tarafından oluşturulmaktadır (2-6). 20-HETE renal, serebral, aortik, mezenterik ve koroner arterler gibi çeşitli damarlarda vazokonstriksiyona neden olmaktadır (7-11). 20-HETE'nin damar gerimini düzenleyici etkisine protein kinaz C (*protein kinase C*; PKC) ile mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (*mitogen-activated protein kinase*; MAPK), mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz (*mitogen-activated protein kinase kinase*; MEK) ve ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz (*extracellular signal-regulated kinase*; ERK) 1/2 gibi kinazların aracılık ettiği bildirilmiştir (12-19). Ayrıca, 20-HETE kalsiyum ile etkinleştirilen potasyum kanalını fosforile ederek etkinliğini azaltmakta, PKC'nin etkinleşmesi sonucunda L türü kalsiyum kanallarının iletkenliğini ve etkinliğini artırarak kalsiyum girişine neden olmakta ve böylece damar düz kasının sürekli depolarizasyonuna neden olmaktadır (11, 15, 19, 20). 20-HETE'nin neden olduğu vazokonstriksiyonun indometasin (8, 10) ve diklofenak (9) gibi siklooksijenaz (*cyclooxygenase*; COX) inhibitörleri veya endoperoksit/tromboksan reseptör antagonisti SQ-29548 (9, 10) ile önlenildiği bildirilmiştir. Ayrıca, damar endotel hücrelerinde COX aracılığıyla 20-HETE'den oluşan 20-OH-PGG<sub>2</sub> ve 20-OH-PGH<sub>2</sub>'nin de 20-HETE'nin vazokonstriktör etkilerine aracılık ettiği gösterilmiştir (8, 10). Vazokonstriktör etkisinin tersine, 20-HETE'nin renal, koroner, pulmoner ve baziler arterlerde gevşetici etkisinin de olduğu bildirilmiştir (10, 13, 14, 21-23). 20-HETE'nin vazodilatör etkilerine NO salınması (23), 20-HETE'nin COX tarafından 20-OH-PGE<sub>2</sub> ve 20-OH-PGF<sub>2α</sub>'ya dönüşmesi (9, 13, 21) ile PGE<sub>2</sub> (59) ve PGI<sub>2</sub> (13, 14, 21, 22) oluşumundaki artmanın aracılık ettiği ileri sürülmüştür. Ayrıca, insan endotel hücrelerinde 20-HETE'nin ERK1/2 ve nükleer faktör κB (*nuclear factor κB*; NF-κB) etkinliği ile proenflamatuvar sitokinlerden interlökin (*interleukin*; IL)-4, IL-8 ve IL-13 düzeylerini artırdığı, böylece güçlü bir proenflamatuvar etki gösterdiği de bildirilmiştir (24). Sığır endotel hücrelerinde yapılan bir çalışmada ise, 20-HETE'nin nitrik oksit (*nitric oxide*; NO) oluşumunu inhibe ettiği, ancak NF-κB etkinliğini artırdığı, 20-HETE'nin bu etkilerinin ise MEK1/ERK1/2 yolunun inhibisyonu ile önlenildiği gösterilmiştir (25). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, LPS'nin neden olduğu süregen (kronik) sistemik enflamasyonda CYP4A ve CYP4F aracılığıyla oluşan 20-HETE'nin rol oynadığı gösterilmiştir (26, 27). Öte yandan, daha önce yapılan çalışmalarda, CYP4A8 izoformu aracılığıyla olan 20-

HETE'nin vasküler oluşumunun arttığı durumlarda endotelial işlevsizlik ve hipertansiyon arasında neden/etki ilişkisinin olduğu sonucuna varılmıştır (28). Araştırmacılar, 20-HETE'nin, bütün nitrik oksit sentaz (*nitric oxide synthase*; NOS) izoformlarının etkinleştirilmesinde rolü olduğu bilinen *heat shock protein* (hsp) 90'ın (29-36) endotelial nitrik oksit sentaz (*endothelial nitric oxide synthase*; NOS) ile etkileşmesini önleyerek NO oluşumunu azaltırken, süperoksit oluşumunu artırabileceği ve böylece endotelial işlevsizliğe neden olabileceğini ve damar gerimini artırabileceğini ileri sürmüşlerdir (36, 37). Ayrıca, 20-HETE'nin süperoksit, gp91<sup>phox</sup> (NOX2; nikotinamid adenin dinükleotit fosfat [*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*; NADPH] oksidazın süperoksit oluşturan katalitik alt birimi), p47<sup>phox</sup> (NOXO2; NOX2 etkinliğinin düzenlenmesinden sorumlu NADPH oksidaz alt birimi) ve nitrozillenmiş proteinlerin vasküler ekspresyonunu artırarak (38) ve endotel hücrelerinde doğrudan etkisi ile (39) de süperoksit oluşumuna neden olabileceği gösterilmiştir. Damar yatağında 20-HETE ile oluşumu artan süperoksidin ise NO'nun biyoyararlanımını azaltabileceği ve böylece endotelial işlevsizlik ve hipertansiyona neden olabileceği ileri sürülmüştür (28). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, pek çok genin ekspresyonunun düzenlenmesinden sorumlu olan ve antienflamatuvar özelliklerinden dolayı özellikle septik şok patojenezinde rol oynadıkları bilinen transkripsiyon faktörlerinden peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (*peroxisome proliferator-activated receptor*; PPAR)'lar için (40-44) yanıt elementi (peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör yanıt elementi [*peroxisome proliferator-activated receptor response element*]; PPRE]) taşıyan CYP4A izoformlarının retinoit X reseptörü (*retinoid X receptor*; RXR) aracılığıyla indüklenebilmeleri ile 20-HETE oluşumunun artabilmesi ve 20-HETE'nin etkilerini oluşturabilmesi için PPAR $\alpha$  ve PPAR $\gamma$ 'nın gerekli olduğuna ilişkin çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (45-50). Öte yandan, her ne kadar sıçanlara LPS uygulanmasından sonra PPAR $\gamma$  ekspresyonunun arttığı bildirilmiş olsa da (51, 52). PPAR $\gamma$  ekspresyonunun azaldığını (53-55) ve PPAR $\alpha/\gamma/\beta$  agonistlerinin ya da PPAR $\alpha/\gamma/\beta$  düzeylerini artıran maddelerin sepsis ve septik şokta görülen organ zedelenmesini, işlev bozukluğunu ve çoklu organ yetmezliğini önlediğini gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (56-65).



Günümüzde LPS'ye maruziyet sonucunda indüklenebilir nitrik oksit sentaz (*inducible nitric oxide synthase*; iNOS) ve COX-2 gibi enzimlerin ekspresyon ve etkinliğinin artması sonucunda aşırı düzeyde oluşan ve enflamasyon ile belirgin birçok renal ve kardiyovasküler hastalığın patojenezinde rol oynayan NO ve PG'ler gibi vazodilatör mediyatörlerin inhibisyonuna yönelik yaklaşımlar olmasına karşın, endotoksemi sırasında CYP4A ekspresyon ve etkinliğinin azalması sonucunda oluşumu azalan 20-HETE gibi vazokonstriktör ürünlerin dayanıklı analoglarının sepsis ve septik şok tedavisinde yararlı olabileceğine ilişkin literatürde tarafımızdan yapılan çalışmalar dışında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (67-90). Endotoksemik sıçanlarda *in vivo* olarak yaptığımız çalışmaların sonuçlarına göre, periton içine 10 mg/kg (subletal) dozda LPS enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde gelişen vasküler hiporeaktivite ve hipotansiyona serum, böbrek, kalp, akciğer, dalak, beyin, torasik aort, süperiyor mezenterik arter ve/veya femoral arterde çözünebilir epoksit hidrolaz (*soluble epoxide hydrolase*; çEH), MEK1, ERK1/2, IκB kinaz (*IκB kinase*; IKK) β, κB inhibitörü (*inhibitor of κB*; IκB)-α, NF-κB, iNOS, çözünebilir guanilil siklaz (*soluble guanylyl cyclase*; çGS), protein kinaz G (*protein kinase G*; PKG) ve/veya COX-2 ekspresyon/etkinliği, katalaz etkinliği ile tümör nekrozlaştırıcı faktör (*tumor necrosis factor*; TNF)-α ve IL-8 oluşumunda artma, aynı zamanda CYP2C23, AA epoksijenazlar, CYP4A1/A3 ve eNOS ekspresyon/etkinliğinde azalma eşlik etmektedir. Ayrıca, apopitozun göstergelerinden biri olan kaspaz-3 etkinliği ile oksidatif stresin göstergelerinden toplam antioksidan etkinlik, süperoksit dizmutaz (*superoxide dismutase*; SOD) etkinliği, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz etkinliği ile indirgenmiş glutatyon düzeyleri azalmaktadır. MEK1/ERK1/2/iNOS yolu (70-80) ve/veya COX-1/2 inhibisyonu (66-67, 79, 84, 85, 88) ya da dayanıklı bir 20-HETE analogu olan 5,14-HEDGE (68, 69, 81, 82, 86, 87, 89, 90) uygulanması sonucunda sıçanların renal ve/veya kardiyovasküler dokularında proenflamatuvar sitokinlerden IL-8 ve TNF-α oluşumu ile birlikte artmış olan çEH, MEK1, ERK1/2, IKKβ, IκB-α, NF-κB p65, iNOS, hsp90, çGS, PKG, COX-2, gp91<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> ve/veya nitrotirozin ekspresyon/etkinliği ile azalmış olan CYP2C23, AA epoksijenazlar ve CYP4A1 ekspresyon/etkinliği ile apopitoz, oksidan/antioksidan durum, lipit peroksidasyonu ve enflamasyon ile ilgili değişiklikler normal düzeylere getirilebilmekte, ayrıca güçlü bir

vazokonstriktör olan 20-HETE oluşumunun artması ile vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi ve enflamasyon düzeltilebilmekte, farelerde mortalite önlenmektedir. Ayrıca, Ana Bilim Dalımızda yürütülmüş olan bir Doktora tez çalışmasında, N-[20-hidroksieikosa-5(Z),14(Z)-dienoil]glisin (*N*-[20-hydroxyeicosa-5(Z),14(Z)-dienoyl]glycine; 5,14-HEDGE)'nin endotoksemik sıçanların serumlarında mikroRNA (*microRNA*; miR)-150, miR-223 ve miR-297 ekspresyon düzeyleri ile renal ve kardiyovasküler dokularında miyeloid farklılaşma faktörü 88 (*myeloid differentiation factor 88*; MyD88)/transforme edici büyüme faktörü ile etkinleştirilen kinaz (*transforming growth factor-activated kinase*; TAK1)/NF- $\kappa$ B yolu ekspresyon ve etkinliği üzerindeki etkisi araştırılmıştır (89, 90). Elde ettiğimiz bulgulara göre, endotoksemik sıçanların serumlarında, sepsis ve septik şok gibi enflamatuvar olaylarda rolü olduğu gösterilen ve oluşumlarındaki değişikliklerin yaşam süresinde kısalma veya uzama ile ilişkilendirildiği miR-150, miR-223 ve miR-297 ekspresyon düzeylerindeki artma olduğu kadar, böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik MyD88, TAK1, IKK $\beta$ , I $\kappa$ B- $\alpha$  ve NF- $\kappa$ B p65 ekspresyon ve/veya etkinliğindeki artmayı ve NF- $\kappa$ B p65'in sitozolden nükleusa geçişini 5,14-HEDGE önleyebilmektedir (89, 90). Son yıllarda yapılan çalışmalar, NF- $\kappa$ B p65 gibi PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  (91-93) ve c-jun (94-96)'un da çeşitli importinler veya eksportinler aracılığıyla sitozolden nükleusa ya da nükleustan sitozole taşındıklarını göstermiştir. Öte yandan, LPS uygulanan sıçanların renal ve kardiyovasküler dokularında MyD88/TAK1/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B ile MyD88/TAK1/MEK1/ERK1/2 yollarının etkinleşmesinin ardından NO, PG'ler ve 20-HETE gibi vazoaktif moleküllerin üretimi ile nitrozatif ve oksidatif stres gelişmesinden sorumlu iNOS, COX-2 ve CYP4A1 enzimlerinin transkripsiyon, translasyon ve/veya translasyon sonrası düzeyde düzenlenmesine ve proenflamatuvar mediyatörlerin oluşmasına katkıda bulunan transkripsiyon faktörleri ailesinden PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun (etkinleştirici protein [*activator protein*; AP]-1'in alt birimlerinden biri), importin- $\alpha$ 3 (karyoferin- $\alpha$ 3 olarak da bilinen transkripsiyon faktörlerinin nükleusa taşınmasından sorumlu taşıyıcı bir protein) ve RXR $\alpha$  (liganda bağımlı transkripsiyon faktörü olarak görev yapan nükleer bir reseptör) ekspresyonu/etkinliğindeki değişiklikler üzerinde 20-HETE ya da 5,14-HEDGE gibi

dayanıklı 20-HETE mimetiklerin etkisine ilişkin herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında, sıçanlarda oluşturulan deneysel septik şok modelinde, 20-HETE mimetik 5,14-HEDGE'nin renal ve kardiyovasküler sistem ile mortalite üzerindeki yararlı etkilerinin mekanizması, PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, importin- $\alpha 3$  ve RXR ekspresyonu/etkinliğindeki değişikliklerin, MyD88/TAK1/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B ile MyD88/TAK1/MEK1/ERK1/2 yolları aracılığıyla gelişen olaylar sonucunda vazoaaktif ve proenflamatuvar mediyatörlerin oluşumu ile ilişkilendirilerek araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Septik Şok

Şok, vücudun yaşamsal organlara ve dokulara yeterli kan ve oksijenin sağlanamaması sonucu yaşamı tehdit eden bir durum olarak tanımlanmaktadır. Şokun başlıca türleri arasında septik şok, hemorajik şok, travmatik şok, kardiyojenik şok, nörojenik şok ve anafilaktik şok bulunmaktadır. Septik şok, başta Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler olmak üzere çeşitli mikroorganizmalara karşı konakta gelişen enflamatuvar ve antienflamatuvar olaylar ile humoral ve hücrel tepkilerin neden olduğu, kanda vazopresör katekolamin düzeylerinin artmasına karşın, vazokonstriktör maddelere karşı hiporeaktivite ve sıvı uygulanmasıyla düzeltilemeyen kan basıncında ileri derecede bir düşmenin eşlik ettiği, mikrosirkülatuvar işlev bozukluğuyla birlikte akciğer, karaciğer, böbrek ve beyin gibi yaşamsal organlarda doku perfüzyonu ve oksijen kullanımında bozulma sonucu bu organların işlevlerinde bozukluk ve ardından ölümün görüldüğü karmaşık bir sistemik yanıt olarak tanımlanmaktadır. *E. coli* gibi Gram-negatif bakterilerden açığa çıkan endotoksinlerin neden olduğu septik şok ise "endotoksik şok", "endotoksin şoku" veya "toksik şok" olarak adlandırılmaktadır. Konakta enfeksiyona maruziyet sonucunda başlayan ve çoklu organ yetmezliğine dek gidebilen durumların tanımları Çizelge 2.1'de verilmiştir (1, 2, 97-99).

**Çizelge 2.1.** Konakta enfeksiyona maruziyet sonucunda başlayan ve çoklu organ yetmezliğine dek gidebilen durumlar ile ilgili tanımlar.

<b>Enfeksiyon</b>	Normalde steril olan konakçıda mikroorganizmanın varlığı veya mikroorganizmanın yayılmasına karşı verilen enflamatuvar yanıt ile belirgin mikrobiyal durum.
<b>Bakteriyemi</b>	Kanda canlı bakteri bulunması durumu.
<b>SIRS</b>	Şiddetli klinik belirtiler ile kendini gösteren sistemik enflamatuvar yanıt. Sayılan durumlardan en az ikisi olmalı: Ateş > 38°C veya < 36°C; kalp hızı > 90 atım/dk.; solunum hızı ≥ 20 solunum/dk. veya Pa <sub>CO2</sub> < 32 torr (< 4.3 kPa); lökosit > 12.000 hücre/mm <sup>3</sup> veya > %10 olgunlaşmamış hücre.
<b>Sepsis</b>	Bilinen veya olası bir enfeksiyona karşı verilen sistemik yanıt durumu. Sayılan durumlardan bazıları olabilir: <u>Genel değişkenler</u> (ateş > 38.3°C; hipotermi < 36°C; kalp hızı > 90 atım/dk. veya yaşa göre normal değerinden iki standart sapma daha çok; takipne; mental durumda değişiklik; anlamlı derecede ödem veya pozitif sıvı dengesi [24 saatten uzun süre > 20 ml/kg]; hiperglisemi [diyabet yokluğunda kan glukozu > 140 mg/dl veya 7.7 mmol/l]); <u>enflamasyona ilişkin değişkenler</u> (lökositoz [lökosit sayısı > 12.000 µl <sup>-1</sup> ]; lökopeni [lökosit sayısı < 4.000 µl <sup>-1</sup> ]; %10'dan çok olgunlaşmamış biçimde normal lökosit sayısı; plazma C-reaktif protein düzeyi normal değerinden iki standart sapma daha çok; plazma prokalsitonin düzeyi normal değerinden iki standart sapma daha çok); <u>hemodinamik değişkenler</u> (arteriyel hipotansiyon [yetişkinlerde SKB < 90 mmHg, OAB < 70 mmHg veya SKB'de > 40 mmHg kadar bir azalma ya da kan basıncı yaşa göre normal değerinden iki standart sapma daha az]); <u>organ işlev bozukluğu ile ilgili değişkenler</u> (arteriyel hipoksemi [Pa <sub>O2</sub> /F <sub>O2</sub> değeri < 300]; ivergen oligoüri [yeterli miktarda sıvı uygulanmasına karşın idrar çıkışı en az 2 saat süreyle < 0.5 ml/kg/sa.]; kreatinin düzeylerinde artma [> 0.5 mg/dl veya 44.2 µmol/l]; pıhtılaşma anormallikleri [uluslararası normalize oranı > 1.5 veya etkinleştirilmiş kısmi tromboplastin süresi > 60 Sn.]; ileus [bağırsak sesleri yokluğunda]; trombositopeni [trombosit sayısı < 100.000 µl]; hiperbilirubinemi [plazma toplam bilirubini > 4 mg/dl veya 70 µmol/l]); <u>doku perfüzyonu ile ilgili değişkenler</u> (hiperlaktatemi [> 1 mmol/l]; azalmış kapiler dolum veya lekelenme).
<b>Sepsisin neden olduğu hipotansiyon</b>	Hipotansiyona neden olabilecek bir durum olmamasına karşın, SKB'nin 90 mmHg'den düşük olması veya OAB'nin 70 mmHg'den düşük olması ya da SKB'de 40 mmHg'den daha çok bir azalma olması veya kan basıncının yaşa göre normal değerinden iki standart sapma daha az olması durumu.
<b>Sepsisin neden olduğu doku hipoperfüzyonu</b>	Enfeksiyonun neden olduğu hipotansiyon, laktat düzeylerinde yükselme veya oligoüri olması durumu.
<b>Şiddetli sepsis</b>	Sepsisin neden olduğu organ işlev bozukluğu veya doku hipoperfüzyonu ile birlikte olan sepsis durumu. Enfeksiyon nedeniyle olduğunu düşündüren sayılan durumlardan herhangi biri olabilir: Sepsisin neden olduğu hipotansiyon; laktat düzeyleri normal laboratuvar üst değerlerinin üzerinde; yeterli miktarda sıvı uygulanmasına karşın idrar çıkışı 2 saatten uzun süre < 0.5 ml/kg/sa. enfeksiyon kaynağı olarak pnömoni yokluğunda Pa <sub>O2</sub> /F <sub>O2</sub> değeri < 250 ile birlikte ivergen akciğer zedelenmesi; enfeksiyon kaynağı olarak pnömoni varlığında Pa <sub>O2</sub> /F <sub>O2</sub> değeri < 200 ile birlikte ivergen akciğer zedelenmesi; kreatinin > 2 mg/dl (176.8 µmol/l); bilirubin > 2 mg/dl (34.2 µmol/l); trombosit sayısı < 100.000 µl; koagülopati (uluslararası normalize oranı > 1.5).
<b>Septik şok</b>	Sepsisin neden olduğu, yeterli sıvı uygulanmasına karşın düzelmeyen hipotansiyon olması durumu.
<b>Çoklu organ yetmezliği</b>	Girişim ile homeostazın sağlanamadığı hastalarda organ işlevlerinin değişmesi ile belirgin durum.

F<sub>O2</sub>, inspirasyonla alınan oksijen fraksiyonu; OAB, ortalama arteriyel basınç; Pa<sub>CO2</sub>, kan kısmi karbondioksit basıncı; SIRS, sistemik enflamatuvar yanıt sendromu; SKB, sistolik kan basıncı.

### 2.1.1. Epidemiyolojisi

Sepsisin yıllık görülme sıklığı her 100.000'de 50-95 olgu olarak görülmekte, ayrıca görülme sıklığı da her yıl %9 oranında artmaktadır. Şiddetli sepsis ve septik şok olgularının sayısının ise 2010-2020 yılları arasında 934.000'den 1.110.000'e çıkacağı ileri sürülmüştür. Sepsis için yapılan hastane başvurularının, tüm başvuruların %2'sini oluşturduğu, sepsisli hastaların yaklaşık %9'unda şiddetli sepsis, şiddetli sepsis hastalarının %3'ünde ise septik şok geliştiği bildirilmiştir. Yoğun bakım birimlerinde bulunan hastaların yaklaşık %10'luk bir bölümünü de septik şoklu hastalar oluşturmaktadır. Yoğun bakım birimlerindeki destekleyici tedavideki önemli gelişmelere ve oldukça etkili ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmasına karşın, sepsisli hastalarda geniş çapta yapılan epidemiyolojik çalışmalar ve klinik araştırmaların sonuçlarına göre, mortalite görülme olasılığı yaklaşık %35 oranında, septik şok nedeniyle olan ölümlerin oranı ise %60 kadar artmıştır. Antihipotansif tedaviye yanıt vermeyen septik şoklu hastaların yaklaşık %75'i birkaç saat veya gün içerisinde ölmektedir, kalan hastalar ise günler veya haftalar sonra çoklu organ yetmezliği nedeniyle ölmektedir. Sepsisli hastalarda mortalite görülme olasılığı %21.6-50.8 arasında değişmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 750.000'den çok sepsis olgusunun görüldüğü, bu olguların 380.000'den çoğunun yoğun bakım birimlerine yatırıldığı ve 130.000 kadar olgunun da mekanik solunuma gerek duyduğu bildirilmiştir. Bir solunum aygıtına bağlanan sepsisli hastalar yoğun bakım birimlerinde yaklaşık 7-14 gün kadar yaşayabilmekte, daha sonra 10-14 gün kadar daha hastanede kalabilmektedirler. Sonuç olarak, bu hastalar hastanede 3-5 hafta kadar kalmaktadırlar. Angus ve ark. (100) tarafından yapılan bir araştırmada, sepsis ve septik şok nedeniyle tedavi gören hastalar için kişi başına yaklaşık 22.000 \$ kadar harcama yapıldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, sepsisli hastaların bakımı için yıllık toplam maliyetin 17 milyar \$ kadar olduğu bildirilmiştir. Hesaplanan bu yıllık maliyetin toplumun yaşlanması, antimikrobiyal ilaçlara dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve girişimsel terapötik yaklaşımların yaygınlaşmasından dolayı önümüzdeki yıllarda daha da artacağı ileri sürülmektedir (2, 101-106).

### 2.1.2. Etiyolojisi

Gram-pozitif bakteriler (%30-50) (metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) %14-24, metisiline dirençli *S. aureus* %5-11, öteki *Staphylococcus* türleri %1-3, *Streptococcus pneumoniae* %9-12, öbür *Streptococcus* türleri %6-11, *Enterococcus* türleri %3-13, anaerobik mikroorganizmalar %1-2 ve öteki Gram-pozitif bakteriler %1-5), Gram-negatif bakteriler (%25-30) (*E. coli* %9-27, *Pseudomonas aeruginosa* %8-15, *Klebsiella pneumoniae* %2-7, *Enterobacter* türleri %6-16, *Haemophilus influenzae* %2-10, anaerobik mikroorganizmalar %3-7 ve öbür Gram-negatif bakteriler %3-12), mantarlar (*Candida albicans* %1-3 ve öbür *Candida* türleri %1-2), parazitler (%1-3) ve virüsler (%2-4) sepsise neden olabilmektedir. Genellikle Gram-negatif veya Gram-pozitif bir bakterinin bağırsak, akciğer, deri ya da jenitoüriner sistem aracılığıyla kan dolaşımına geçmesi sonucunda sepsis ve septik şoka neden olan fizyopatolojik olaylar tetiklenmektedir (2, 105).

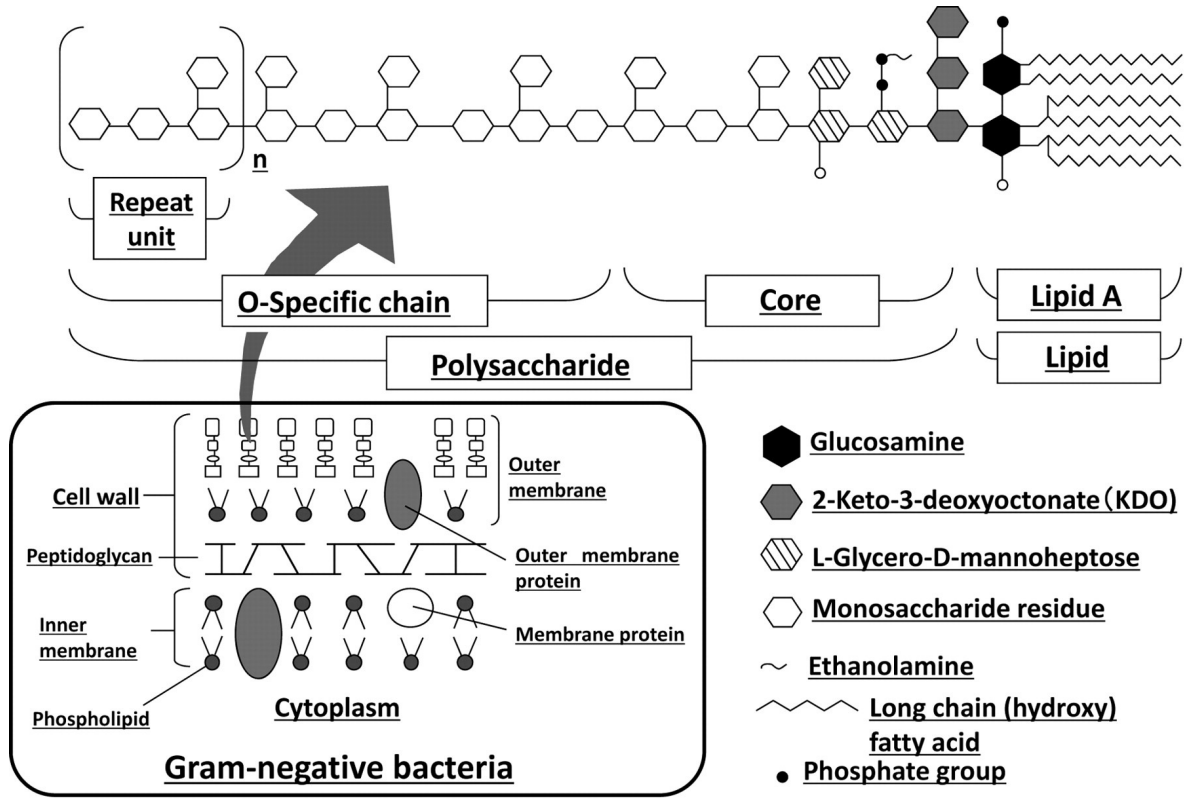
### 2.1.3. Fizyopatolojisi

Sepsis ve septik şokta gelişen fizyopatolojik olaylarda öncelikle monosit, makrofaj, nötrofil ve endotel hücreleri enfeksiyona karşı yanıtın başlatılması ve sürdürülmesi açısından önemli rol oynamaktadırlar. Sepsis ve septik şok fizyopatolojisinde yer alan öteki önemli olaylar ise enflamasyon ve pıhtılaşma olaylarının başlamasıdır. Enflamasyon ve pıhtılaşma olayları bir kez başladığında birbirleri ile etkileşerek konağın enfeksiyona karşı olan yanıtını güçlendirirler; örneğin, enflamasyon gelişmesine neden olan mediyatörler, dolaşımda bulunan monositlerin, doku makrofajlarının, nötrofillerin ve endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan doku faktörünün ekspresyonunu indükleyerek pıhtılaşma olayını artırabilmektedirler. Enflamasyonun başlaması ile birlikte sitokinler, adezyon molekülleri, reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi mediyatörlerin aşırı ve kontrolsüz bir biçimde oluşumunun artması sepsis fizyopatolojisine katkıda bulunmaktadır. Sepsiste oluşumları artan TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8 ve interferon (IFN)- $\gamma$  gibi enflamasyonun başlamasına aracılık

eden sitokinlerin yanı sıra, IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi antienflamatuvar sitokinler de oluşmaktadır (2, 101-116).

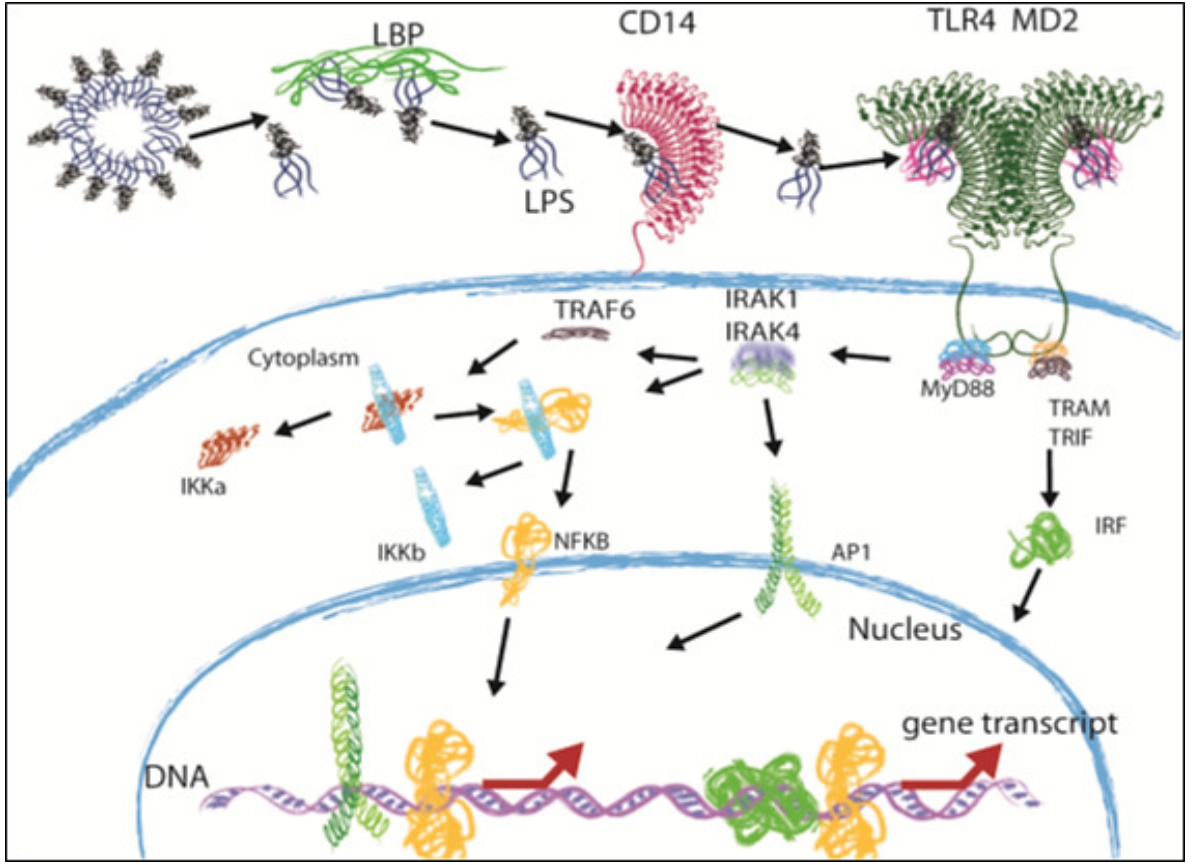
Sepsisli insanlarda sistemik enflamatuvar yanıt, esas olarak normalde insan dokularında bulunmayan mikrobiyal kökenli makromoleküller tarafından başlatılmaktadır. Bütün *pathogen-associated molecular pattern* moleküllerinden en potenti bakteriyel LPS'dir. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan LPS, moleküle polar ve amfipatik özelliklerini kazandıran üç değişik bölgeden oluşmaktadır. Bu bölgeler; lipit A, çekirdek oligosakkarit ve yineleyen polisakkarit zincirlerinden oluşmaktadır. Dış bölgede bulunan O-antijen yapısının bakteri türlerine bağlı olarak antijenitesi bulunmaktadır. Orta bölgede yer alan çekirdek bölge daha az antijenik değişkenlik göstermektedir. En içteki bölgede ise lipit A yapısı bulunmaktadır. *E. coli* gibi Gram-negatif bakterilerin neden olduğu sepsis ve septik şok patojenezinin en potent mikrobiyal mediyatörü "endotoksin" olarak da adlandırılan LPS'nin "lipit A" bölümüdür (Şekil 2.1). Gram-pozitif bakterilerde endotoksin olmamasına karşın, bu mikroorganizmaların en önemli özelliği peptidoglikan ve lipoteikoik asit gibi, LPS'den daha az derecede de olsa, enflamatuvar sitokinlerin salıverilmesine neden olan güçlü ekzotoksinler üretmeleridir (2, 101, 104, 113, 117-122).





Şekil 2.1. LPS yapısının şematik gösterimi (119). LPS, lipopolisakkarit.

Lipit A, yüksek derecede immünoreaktiftir ve Gram-negatif sepsiste gözlenen toksik etkilerin birçoğundan sorumludur. Lipit A'nın başlıca etkisi, makrofajları etkinleştirilmesi ve enflamasyona neden olan olayları tetiklemesidir. Enfeksiyona karşı gelişen yanıtta önemli rol oynayan monositler, makrofajlar, nötrofiller ve endotel hücreleri yüzeyinde bulunan *cluster of differentiation* (CD) 14 ve *toll-like receptor* (TLR) 4, bütün bakteriyi veya LPS gibi bakteriyel ürünleri tanıyan ve onlara bağlanan reseptörlerdir. Hepatositler tarafından sentezlenen bir serum proteini olan lipit bağlayıcı protein (*lipid-binding protein*; LBP)'nin bakteriyel LPS'yi CD14'e transfer etmesinin ardından, LPS molekülleri CD14 tarafından biriktirilmekte ve LPS monomerleri lenfosit antijen 96 (*lymphocyte antigen 96*; MD-2) ve TLR4 reseptör kompleksine sunulmaktadır (Şekil 2.2) (123).



**Şekil 2.2.** Memeli bir konakta enflamasyon ile sonuçlanan LPS/TLR4 aracılıklı sinyallejici yol etkinliğinin şematik gösterimi (123). AP, activator protein; CD, cluster of differentiation; DNA, deoxyribonucleic acid; IFN, interferon; IKK, IκB kinase; IRAK, interleukin-1 receptor-associated kinase; IRF, interferon regulating factor; LBP, lipid-binding protein; LPS, lipopolysaccharide; MD-2, lymphocyte antigen 96; MyD, myeloid differentiation factor; NF-κB, nuclear factor κB; TLR, toll-like receptor; TRAF, tumor necrosis factor receptor-associated factor; TRAM, toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-β-related adaptor molecule; TRIF, toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-β.

TLR4 aracılıklı olarak enflamasyon ile sonuçlanan yolun etkinliğinin bir göstergesi olarak, LPS ile bağlı olan MD-2/TLR4 kompleksi (LPS-MD-2-TLR4)<sub>2</sub> reseptör multimerine dönüştürülmektedir. TLR4 sinyal yolu MyD88'e bağımlı ve *toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-β* (TRIF)'e bağımlı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. MyD88'e bağımlı yolda, *Toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein* (TIRAP) aracılığıyla MyD88'e iletilen uyarı interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (*interleukin-1 receptor-associated kinase*; IRAK) 1/4, tümör nekrozlaştırıcı

faktör reseptörü ile ilişkili faktör (*tumor necrosis factor receptor-associated factor*; TRAF) 6, TAK1, IKK $\alpha$  (IKK1), IKK $\beta$  (IKK2), IKK $\gamma$  (IKK3); MAPK'ler gibi sinyalleici moleküller (MEK1, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz [*mitogen-activated protein kinase kinase*; MKK] 3/6 ve MKK4; ERK1/2, p38 MAPK ve *c-jun N-terminal kinase*; JNK] 1/2) aracılığıyla çeşitli enflamatuvar mediyatörlerin oluşumunu uyararak üzere NF- $\kappa$ B ve AP-1 (c-fos/c-jun heterodimeri) transkripsiyon faktörleri etkinleştirilmektedir. TRIF'e bağımlı yolda ise, nükleer faktör  $\kappa$ B etkinleştirici kinaz ile ilişkili protein (*nuclear factor  $\kappa$ B-activating kinase-associated protein*; NAP) 1, tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü ile ilişkili faktör aile üyesi ile ilişkili nükleer faktör  $\kappa$ B etkinleştiricisini bağlayan kinaz (*tumor necrosis factor receptor-associated factor family member-associated nuclear factor  $\kappa$ B-activator-binding kinase*; TBK) 1, IKKi ve TRAF3 aracılığıyla IFN- $\beta$  ve IFN ile indüklenebilen genleri up-regüle etmek üzere interferon düzenleyici faktör (*interferon regulating factor*; IRF) 3'ü etkinleştirilmektedir. Etkinleşmemiş hücrelerde NF- $\kappa$ B dimerlerinin, NF- $\kappa$ B'nin DNA'ya bağlanmasını önleyen (124) ve sitozolde kalmasını sağlayan (125) I $\kappa$ B proteinlerinden esas olarak I $\kappa$ B- $\alpha$ , I $\kappa$ B- $\beta$  ve I $\kappa$ B- $\epsilon$  ile birlikte bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca, NF- $\kappa$ B ve I $\kappa$ B- $\alpha$  moleküllerinin sitozol ve nükleus arasında gidip geldiği, ancak I $\kappa$ B- $\alpha$  varlığında, I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B kompleksinin esas olarak sitozolde yerleştiği gösterilmiştir (126-128). I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B kompleks oluşumu, p65, ancak p50 değil, nükleer yerleşim bölgelerini (*nuclear localization sequences*) maskeleyerek ve böylece NF- $\kappa$ B dimerlerinin nükleusa geçişini kısmen önlemektedir (129). Bazı I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B kompleksleri p50 üzerindeki maskelenmemiş nükleer yerleşim bölgeleri aracılığıyla nükleusa girebilmektedir. Öte yandan, nükleusa giren bu I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B kompleksleri I $\kappa$ B- $\alpha$  üzerindeki nükleer dışarı çıkarma bölgeleri (*nuclear export sequences*) aracılığıyla sitoplazmaya etkin bir biçimde geri taşınabilmektedirler (130). Sonuç olarak, I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B komplekslerinin nükleusa girişi ve çıkışının sürekli olarak gerçekleştiği söylenebilir. Öte yandan, nükleer dışarı çıkarma bölgelerinin etkisinin, nükleer yerleşim bölgelerinininkinden daha baskın olduğundan dolayı, NF- $\kappa$ B dimerlerinin başlıca yerleşim yerinin sitoplazma olduğu ileri sürülmüştür (130). Ayrıca, bu nükleusa giriş ve çıkış mekanizması yeni sentezlenen I $\kappa$ B- $\alpha$ 'nın, etkinleşmiş

NF- $\kappa$ B dimerlerini DNA'dan ayırması ve nükleus dışına çıkarmasından da sorumludur (130). I $\kappa$ B $\epsilon$  ise, I $\kappa$ B- $\alpha$ 'nın benzer mekanizmalarla, NF- $\kappa$ B dimerlerinin sitoplazmada dağılımına neden olmaktadır (125). Arjinin-lizinden zengin nükleer yerleşim bölgeleri içeren moleküllerin nükleusa taşınması importin  $\alpha/\beta$  yolu aracılığıyla olmaktadır. Bütün importin- $\alpha$  izoformlarının nükleer yerleşim bölgesi içeren substratların nükleusa girişine aracılık etme yeteneği bulunmaktadır. Importin- $\alpha$  ile birlikte olan importin- $\beta$  ise, nükleer por kompleksleri aracılığıyla importin-kargo kompleksinin translokasyonunun ardından, nükleer por komplekslerinin sitoplazmik tarafına yerleştirilmesinden (*docking*) sorumludur (131). TNF- $\alpha$ 'nın neden olduğu p50/p65 heterodimerinin (veya p50/p50 homodimerinin) nükleusa girişine importin- $\alpha 3$  ve daha az derecede olmak üzere importin- $\alpha 4$ 'ün aracılık ettiği gösterilmiştir (132, 133). p65 veya p50 üzerindeki nükleer yerleşim bölgeleri doğrudan importin- $\alpha 3$ 'ün nükleer yerleşim bölgelerine bağlanmakta ve böylece NF- $\kappa$ B dimerlerinin nükleer translokasyonuna neden olmaktadır (132-133). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mitokondriyal işlev ve protein katlanması (*fold*ing), çoğalmanın kontrolü, onkojenezin baskılanması ve transkripsiyonun düzenlenmesi gibi çeşitli hücrel olaylarda rolü olduğu gösterilen prohibitin 1'in de TNF- $\alpha$ 'nın neden olduğu p65'in nükleusa girişi, NF- $\kappa$ B/DNA bağlanması ve NF- $\kappa$ B aracılıklı transkripsiyonel etkinleşmeyi importin- $\alpha 3$  ekspresyonunu azaltarak önlediği gösterilmiştir (134). I $\kappa$ B- $\beta$ 'nin NF- $\kappa$ B dimerlerine bağlanması bir NF- $\kappa$ B alt biriminin nükleer yerleşim bölgeleri ile bir başka alt biriminin nükleer yerleşim bölgelerini maskeleymektedir (135). Öte yandan, bir başka NF- $\kappa$ B alt birimi üzerindeki nükleer yerleşim bölgelerini etkin bir biçimde baskılayan I $\kappa$ B- $\beta$ /NF- $\kappa$ B/ $\kappa$ B-Ras kompleksini oluşturmak üzere, I $\kappa$ B- $\beta$ /NF- $\kappa$ B kompleksi Ras'a benzeyen G proteini ( $\kappa$ B-Ras) ile etkileşmektedir (136). Böylece, I $\kappa$ B- $\beta$ /NF- $\kappa$ B kompleksleri nükleus ve sitoplazma arasında gidip gelememekte ve sitoplazmada kalmaktadır (130). Ayrıca, üçlü kompleksteki I $\kappa$ B- $\beta$  çoğu sinyal tarafından fosforilasyona ve degradasyona dirençlidir ki, bu durum da NF- $\kappa$ B'nin etkileşmesini önlemektedir (136). Öte yandan, yalnızca p50 üzerindeki nükleer yerleşim bölgeleri maskelenmiş olmasına karşın, I $\kappa$ B- $\beta$ /NF- $\kappa$ B ve p105/NF- $\kappa$ B kompleksleri sitoplazmiktir (135). I $\kappa$ B $\zeta$ , NF- $\kappa$ B'nin DNA'ya bağlanmasını negatif yönde düzenlediği ve NF- $\kappa$ B aracılıklı gen transkripsiyonunu inhibe ettiği nükleusta

yerleşmiştir (137). Ayrıca, NF-κB'nin nükleustan sitozole geçişinde, nükleer eksport sinyali içeren moleküllerin nükleustan sitoplazmaya geçişine aracılık eden bir nükleer eksport reseptörü olan Crm1 gibi eksportinler ile etkileşmesinin de rol oynadığı bildirilmiştir (138). Zerfaoui ve ark. (139) tarafından yapılan bir çalışmada, LPS/TLR4 yolunun etkinleşmesinin ardından nükleusa geçen p65'in, poli (adenozin difosfat-riboz) polimeraz (*poly [adenosine diphosphate-ribose] polymerase*; PARP1) tarafından poli(ADP-ribosil)asyonunun (PARilasyonunun) Crm1 ile etkileşmesini önlediği, böylece p65'in nükleusta kalabildiği gösterilmiştir (140-149).

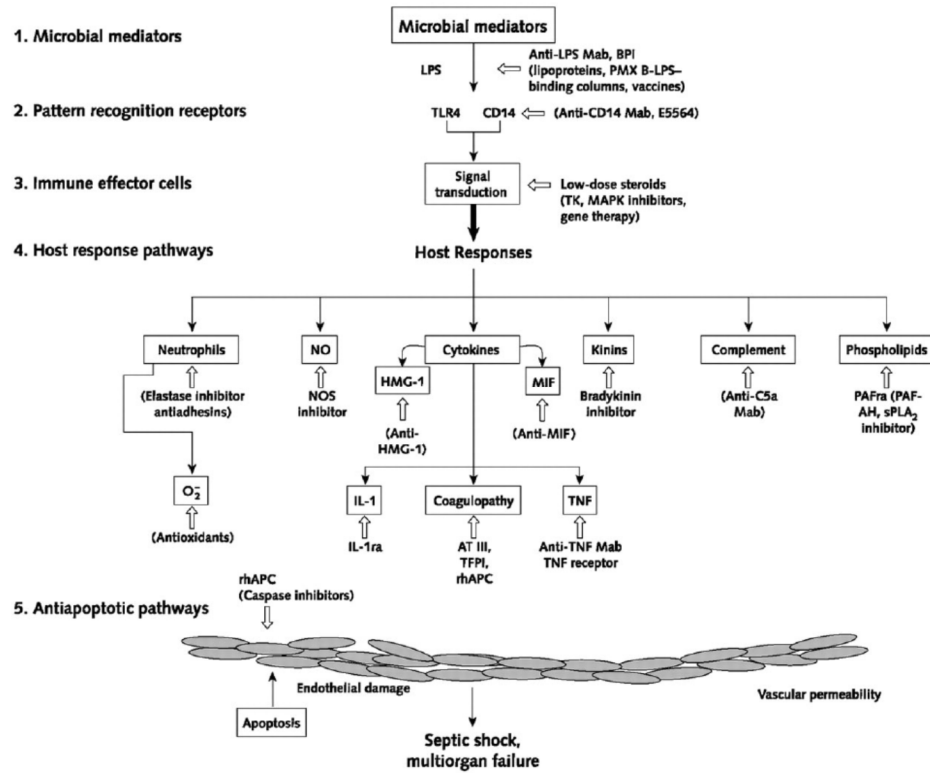
MyD88'e bağımlı yolda, etkinleşen NF-κB çekirdeğe geçmeden önce etkin olmayan durumda kalmasını sağlayan IκB molekülünden ayrılmaktadır. Çekirdeğe geçen NF-κB, çok sayıda enflamasyona neden olan moleküllerin oluşumundan sorumlu olan enzimlerin genlerinin transkripsiyonel düzeyde ekspresyonlarının artmasına neden olmaktadır. Bu genlerin arasında sepsis ve septik şok patojenezinde önemli rol oynayan iNOS ve COX-2 gibi enzimler, akut faz proteinleri ile IFN-γ, IL-1β, IL-6, IL-8 ve TNF-α gibi proenflamatuvar sitokinler yer almaktadır. Özellikle iNOS ve COX-2 etkinliğinin artması sonucunda oluşumu artan NO ve PGI<sub>2</sub> gibi vazodilatör ürünlerin yanı sıra, CYP4A, CYP3A ve CYP4F enzimlerinin katalizlediği tepkimeler sonucunda oluşan AA'nın bir ω-hidroksilasyon ürünü 20-HETE gibi proenflamatuvar olduğu kadar vazokonstriktör etkisi de olan ürünlerin oluşumunun azalmasının yanında, antienflamatuvar etkisi olan epoksieikozatrienoik asit (*epoxyeicosatrienoic acid*; EET)'ler gibi vazodilatör ürünlerin oluşumunun artması da kardiyovasküler sistemin baskılanmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, septik şok patojenezinde vazodilatör/vazokonstriktör ve pro/antienflamatuvar dengeler daha çok vazodilatör ve proenflamatuvar etkili ürünlerin oluşumunun artışı yönünde bozulmuştur. Bozulan bu dengenin yeniden kurulması için de ürünler ve/veya enzimler düzeyinde birbirlerinin oluşumlarını ve/veya etkilerini önleyecek biçimde etkileşmeler de görülmektedir. Bütün bu olaylar sepsis ve septik şok hastalarında uygun biçimde yapılan vazokonstriktör tedaviye karşın, geri çevrilemeyen vasküler hiporeaktiviteyi açıklamaktadır (2, 4, 106, 144, 145, 147, 148, 150-155). Öte yandan, aşırı düzeylerde oksidan oluşumu ve/veya antioksidanların azalmasına bağlı olarak ortaya çıkan

oksidan/antioksidan dengenin bozulması sonucunda gelişen enflamasyon oksidatif strese neden olmaktadır. Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin aşırı düzeylerde oluşumuna bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres ise, septik şok gibi çeşitli hastalıklarda sıklıkla görülen mortaliteye neden olabilmektedir. Endotoksemi sırasında oksidatif stres ve doku zedelenmesinin göstergelerinin arttığı çeşitli hayvan modellerinde ve insanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (4, 156-160). Septik şokta görülen sistemik hipotansiyon, vasküler hiporeaktivite, çoklu organ yetmezliği ve yüksek mortalite oranından sorumlu tutulan ve reaktif nitrojen türlerinden NO ve peroksinitrit (*peroxynitrite*; PON)'nin endotoksemi sırasında oksidatif DNA zedelenmesi ile birlikte olan doku zedelenmesine katkısı ile ilgili bulgular çelişkilidir (4, 154, 160). Öte yandan, iNOS inhibitörlerinin endotoksin ile azalan antioksidan kapasite ve doku zedelenmesinin önlenmesinde etkili olabileceği pek çok klinik araştırmada gösterilmiştir (4, 160).

#### **2.1.4. Tedavisi**

Sepsis ve septik şok tedavisinin başlıca hedefleri arasında patojenin zamanında tanımlanması, enfeksiyon kaynağının yok edilmesi, antimikrobiyal tedavi, septik şoka neden olabilecek olaylar zincirinin engellenmesi ve organlardaki işlev bozukluğunun düzeltilmesi bulunmaktadır. Günümüzde antibiyotik kullanılmadan yapılması gereken yaklaşımlarda ise destekleyici bakımın iyileştirilmesi (oksijenasyon/ventilasyon yaklaşımları, sıvı/vazopresör kullanımının optimize edilmesi, erken hedefe yönelik tedavi vb.), bakteriyel virülans faktörlerinin engellenmesi (antiendotoksin antikolarlar, endotoksin uzaklaştırıcı kolonlar vb.) ve konağa ilişkin etkenlerin baskılanması (kortikosteroidler, antisitokin ilaçlar, antikoagülanlar vb.) hedeflenmektedir. Öte yandan, septik şok patojenezinde onlarca sayıda değişik mediyatörün bulunması ve birbirleri ile etkileşmelerinden dolayı, sepsis ve septik şokun tek bir ilaç ile tedavisi olası gibi görünmemekte, mediyatör veya zarar gören organa özgü tedavi yaklaşımlarına gerek duyulmaktadır (Şekil 2.3). Bundan dolayı, bakteriyel bileşenler, konak kökenli enflamasyon gelişmesinde rol oynayan mediyatörler ile doku zedelenmesine neden olan

mediyatörlere karşı uygulanacak uygun tedavi yaklaşımları, özellikle enflamasyon sırasında gelişen olayları azaltarak, vasküler işlev bozukluğu ile hemodinamik bozuklukları düzelterek ve doku zedelenmesi ile çoklu organ yetmezliği gelişmesini önleyerek sepsis ve septik şokun tedavisinde mortalitenin azaltılarak yaşam süresinin uzatılmasında yarar sağlayabilecektir. Öte yandan, çeşitli tedavi yaklaşımları arasında olan glukokortikoidler, seçici veya seçici olmayan COX veya NOS inhibitörleri, NO veya NO donörleri, anti-LPS antikolar, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  reseptör antagonistleri kullanılarak yapılan klinik çalışmalarda istenilen başarıya ulaşılamamıştır (1, 4, 99, 102, 103, 161-171). Erişkinlerde sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için *Surviving Sepsis Campaign*'in yapılmasını şiddetle önerdiği ve en son 2012 yılında güncellenerek yayınlanan yaklaşımlar Çizelge 2.2'de özetlenmiştir (1).



**Şekil 2.3.** Septik şok patojenezinde rol oynayan mediyatörlere yönelik tedavi yaklaşımları (163). *AT III*, antithrombin III; *BPI*, bactericidal permeability-increasing protein; *CD*, cluster of differentiation; *HMG-1*, high mobility group I; *IL*, interleukin; *IL-1ra*, interleukin-1 receptor antagonist; *LPS*, lipopolysaccharide; *Mab*, monoclonal antibody; *MAPK*, mitogen-activated protein kinase; *MIF*, macrophage migration inhibitory factor; *NO*, nitric oxide; *NOS*, nitric oxide synthase;  $O_2^-$ , superoxide; *PAF-AH*, platelet-activating factor acetylhydrolase; *PAFra*, platelet activating factor receptor antagonist; *PMX B*, polymyxin B; *rhAPC*, recombinant human activated protein C; *sPLA<sub>2</sub>*, secretory phospholipase A<sub>2</sub>; *TFPI*, tissue factor pathway inhibitor; *TK*, tyrosine kinase; *TLR*, toll-like receptor; *TNF*, tumor necrosis factor.

**Çizelge 2.2.** Sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için *Surviving Sepsis Campaign*'in yapılmasını şiddetle önerdiği yaklaşımlar (1).

---

## İLK RESÜSİTASYON VE ENFEKSİYON SORUNLARI

---

### A. İlk resüsitasyon

1. Sepsisin neden olduğu doku hipoperfüzyonu olan hastaların resüsitasyonu için ilk 6 saat içindeki hedefler şunlardır:
  - a) Santral venöz basınç 8-12 mmHg
  - b) OAB  $\geq$  65 mmHg
  - c) İdrar çıkışı  $\geq$  0.5 ml/kg/sa.
  - d) Santral venöz (süperiyor vena kava) veya karışık venöz oksijen doygunluğu sırasıyla %70 veya %65 (derece 1C)
2. Laktat düzeyi yüksek olan hastalarda laktat düzeyi normal değerlere getirilmelidir (derece 1C).

---

### B. Sepsis için tarama ve performans iyileştirme

1. Erken tedavi uygulanabilmesi için olasılıkla enfekte ve ciddi derecede hasta olan bireyler şiddetli sepsis açısından rutin olarak taranmalıdır (derece 1C).
2. Şiddetli sepsiste hastane temelli performans iyileştirme girişimlerinde bulunulmalıdır (derecelendirilmemiş).

---

### C. Tanı

1. Antimikrobiyal tedaviye başlanmadan önce (eğer antimikrobiyal tedaviye başlanmışsa 45 dakikadan uzun süre geçmemiş olması koşuluyla) kültür yapılmalıdır (derece 1C). Aerobik ve anaerobik şişelerde en az 2 dizi kan kültürü yapılmalıdır (derece 1C).
2. Yapılabiliyorsa ve enfeksiyon nedeni olarak yaygın kandidiyaz varsa, 1,3-beta-D-glukan testi (derece 2B), manan ve antimannan antikor testleri yapılmalıdır (derece 2C).
3. Enfeksiyonun olası kaynağını doğrulamak için hızla görüntüleme çalışmaları yapılmalıdır (derecelendirilmemiş).

---

### Ç. Antimikrobiyal tedavi

1. Bir tedavi hedefi olarak etkili intravenöz antimikrobiyaller septik şok (derece 1B) ve septik şok olmaksızın şiddetli sepsis (derece 1C) tanısından sonraki ilk bir saat içinde uygulanmalıdır.
  - 2a. İlk ampirik antienfektif tedavi bütün olası patojenlere (bakteriyel ve/veya fungal ya da viral) karşı etkili ve olası enfeksiyon kaynağındaki dokulara yeterli miktarda geçebilen bir veya daha çok ilaç ile yapılmalıdır (derece 1B).
  - 2b. Antimikrobiyal tedavi günlük olarak yeniden değerlendirilmelidir (derece 1B).
  3. Başlangıçta septik olduğu görülen, ancak enfeksiyon olduğuna ilişkin yeterli kanıt olmayan hastalarda, ampirik antibiyotiklerin kullanımının bırakılması için hekime yardımcı olması açısından düşük prokalsitonin düzeyleri veya benzeri biyobelirteçler kullanılmalıdır (derece 2C).
  - 4a. Şiddetli sepsisi olan nötropenik hastalarda (derece 2B) ve tedavisi güç çoklu ilaca dirençli *Acinobacter* ve *Pseudomonas* spp. gibi bakteriyel patojenlerin saptandığı hastalarda (derece 2B) kombine ampirik tedavi yapılmalıdır. Solunum yetmezliği ve septik şok ile birlikte çeşitli enfeksiyonları olan hastalarda, geniş spektrumlu bir beta-laktam ile birlikte ya bir aminoglikozit veya bir florokinolon ile *P. aeruginosa* bakteremisi için kombinasyon tedavisi yapılmalıdır (derece 2B). Bakteremik *Streptococcus pneumoniae* enfeksiyonlarından dolayı septik şok gelişen hastalarda beta-laktam ve makrolit kombinasyonu kullanılmalıdır (derece 2B).
  - 4b. Ampirik kombinasyon tedavisi 3-5 günden uzun süre yapılmamalıdır. Şüphelenilen etken belirlenir belirlenmez uygun olan bir tek tedavi uygulanmalıdır (derece 2B).
  5. Tedavinin süresi tipik olarak 7-10 gündür; daha uzun süreli tedavi klinik yanıtın yavaş olduğu, enfeksiyon kaynağının boşaltılmadığı, *S. aureus*'un neden olduğu bakteremi, bazı fungal ve viral enfeksiyonlar ya da nötropeni gibi immünolojik yetersizliklerin olduğu hastalarda uygun olabilir (derece 2C).
  6. Viral kaynaklı şiddetli sepsis ve septik şoku olan hastalarda olabildiğince erken antiviral tedaviye başlanmalıdır (derece 2C).
  7. Enfeksiyöz bir nedenin olmadığı saptanan şiddetli enflamasyon ile belirgin bir durumu olan hastalarda antimikrobiyal ilaçlar kullanılmamalıdır (derecelendirilmemiş).
-



**Çizelge 2.2. (devam)** Sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için *Surviving Sepsis Campaign*'in yapılmasını şiddetle önerdiği yaklaşımlar (1).

---

#### **D. Kaynak kontrolü**

---

1. Acil kaynak kontrolünün önemli olduğu durumlarda enfeksiyonun özgül bir anatomik tanısının konulması düşünülebilir ve olabildiğince hızlı ya tanı konulabilir ya da dışlanabilir, eğer yapılabiliyorsa tanı konulduktan sonra ilk 12 saat içinde kaynak kontrolü için girişim yapılabilir (derece 1C).
2. Olası enfeksiyon kaynağı olarak enfekte peripankreatik nekroz tanımlanmışsa, canlı ve cansız dokuların sınırları belirleninceye dek kesin girişim geciktirilir (derece 2B).
3. Şiddetli septik bir hastada kaynak kontrolü gerektiğinde, apsenin cerrahiden çok perkütanöz olarak boşaltılması gibi en az fizyolojik zarar oluşturabilecek biçimde etkili bir girişim yapılmalıdır (derecelendirilmemiş).
4. Damar içi giriş aygıtları, şiddetli sepsis veya septik şokun olası kaynaklarından biri olduklarından, öteki damar girişleri yerleştirildikten sonra hızla çıkarılmalıdır (derecelendirilmemiş).

---

#### **E. Enfeksiyonun önlenmesi**

---

- 1a. Ventilatör ile ilişki pnömoni insidensini azaltmak için bir yöntem olarak, seçici oral dekontaminasyon ve seçici dijestif dekontaminasyon uygulanmalı ve araştırılmalıdır (derece 2B).
- 1b. Yoğun bakım birimlerinde şiddetli sepsisi olan hastalarda, ventilatör ile ilişkili pnömoni riskini azaltmak için orofaringeal dekontaminasyon amacıyla oral klorheksidin glukonat kullanılabilir.

---

#### **HEMODİNAMİK DESTEK VE YARDIMCI TEDAVİ**

---

#### **F. Şiddetli sepsiste sıvı tedavisi**

---

1. Şiddetli sepsis ve septik şokun resüsitasyonunda ilk seçenek kristaloitlerdir (derece 1B).
2. Şiddetli sepsis ve septik şokta sıvı resüsitasyonu için hidroksietil nişastaları kullanılmalıdır (derece 1B).
3. Şiddetli sepsis ve septik şokun sıvı resüsitasyonunda hastaların kristaloitlere gereksinimi olduğunda albümin kullanılabilir (derece 2C).
4. Hipovolemiden şüphelenildiği sepsisin neden olduğu doku hipoperfüzyonu olan hastalarda en az 30 ml/kg kristaloit düzeyini (bir miktarı albümine eşdeğer olabilir) sağlamak için başlangıçta sıvı uygulanmalıdır. Bazı hastalarda daha fazla miktarda sıvının hızla uygulanması gerekebilir (derece 1C).
5. Sıvı uygulanmasına ya dinamik (nabız basıncı, vuru hacmi değişikliği vb.) ya da statik (arteriyel basınç, kalp hızı vb.) değişkenler açısından hemodinamik düzelleme sağlanıncaya dek devam edilir (derecelendirilmemiş).

---

#### **G. Vazopresörler**

---

1. OAB'nin 65 mmHg olmasını sağlamak için ilk olarak vazopresör tedavi yapılmalıdır (derece 1C).
  2. İlk seçilecek vazopresör noradrenalindir (derece 1B).
  3. Kan basıncının yeterli düzeyde sürdürebilmesi için bir başka ilaç gerektiğinde, adrenalin eklenebilir veya yerine noradrenalin uygulanabilir (derece 2B).
  4. OAB'yi yükseltmek veya noradrenaline gereksinimi azaltmak amacıyla, vazopresin 0.03 ünite/dk. dozda noradrenaline eklenebilir (derecelendirilmemiş).
  5. Sepsisin neden olduğu hipotansiyon tedavisi için başlangıçta tek ilaç olarak düşük dozda vazopresin önerilmemektedir; vazopresin 0.03-0.04 ünite/dk.'dan yüksek dozlarda kurtarma tedavisinde uygulanmalıdır (derecelendirilmemiş).
  6. Yalnızca seçilmiş hastalarda (takiaritmi ve bradikardi riski düşük olan hastalar vb.) noradrenaline karşı bir başka vazopresör seçenek olarak dopamin kullanılabilir (derece 2C).
  7. Noradrenalin ile ciddi aritmilerin ortaya çıktığı, kalp debisinin yüksek ve kan basıncının sürekli düşük olduğu ve kurtarma tedavisi olarak inotropik/vazopresör ilaçlar ile düşük doz vazopresin birlikte uygulandığında OAB'nin hedeflenen düzeye getirilemediği gibi bazı özel durumlar dışında, fenilefrin septik şok tedavisinde önerilmemektedir (derece 1C).
  8. Düşük dozda dopamin böbrekleri korumak amacıyla kullanılmalıdır (derece 1A).
  9. Eğer kaynaklar yeterliyse, vazopresörlere gerek duyan bütün hastalara olabildiğince kısa sürede bir arteriyel kateter yerleştirilmelidir (derecelendirilmemiş).
-

**Çizelge 2.2. (devam)** Sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için *Surviving Sepsis Campaign*'in yapılmasını şiddetle önerdiği yaklaşımlar (1).

---

### **Ğ. İnotropik tedavi**

1. Yükselmiş kardiyak dolum basıncı ve düşük kalp debisinin olduğu miyokardiyal işlev bozukluğu veya yeterli intravasküler hacim ve OAB sağlanmasına karşın devam eden hipoperfüzyon belirtilerinin olması durumunda, dobutamin 20 µg/kg/dk. dozda infüzyon ile tek başına uygulanabilir veya uygulanmaya başlanmış olan bir vazopresöre eklenebilir (derece 1C).
2. Kardiyak indeksi önceden belirlenmiş normalin üzerindeki değerlere yükseltmek bir strateji olarak kullanılmamalıdır (derece 1B).

---

### **H. Kortikosteroidler**

1. Yeterli sıvı resüsitasyonu ve vazopresör tedavisi ile hemodinamik durumun düzeltilebildiği erişkin septik şoklu hastaların tedavisinde intravenöz hidrokortizon kullanılmamalıdır. Hemodinamik durumun düzeltilemediği durumlarda, günde bir kez 200 mg dozda olmak üzere hidrokortizon tek başına intravenöz yoldan uygulanabilir (derece 2C).
2. Hidrokortizon uygulanması gereken septik şoklu erişkin hastalarda ACTH uyarı testi yapılmamalıdır (derece 2B).
3. Vazopresörlerin kullanımına gerek kalmadığında, tedavi gören hastalarda hidrokortizon dozu giderek azaltılmalıdır (derece 2D).
4. Kortikosteroidler şokun olmadığı sepsis tedavisinde kullanılmamalıdır (derece 1D).
5. Düşük dozda hidrokortizon kullanıldığında, yinelenen bolus enjeksiyonlar yerine, sürekli infüzyon ile uygulanmalıdır (derece 2D).

---

## **ŞİDDETLİ SEPSİSİN TEDAVİSİNDE ÖTEKİ DESTEKLEYİCİ YAKLAŞIMLAR**

---

### **I. Kan ürünü uygulanması**

1. Doku hipoperfüzyonu sağlandığında ve miyokardiyal iskemi, şiddetli hipoksemi, ıveğen hemoraji veya iskemik kalp hastalığı gibi hafifletici durumların yokluğunda, yalnızca erişkinlerde hemoglobin derişimini 7-9 g/dl arasında olmasını sağlamak amacıyla, hemoglobin derişimi < 7 g/dl'ye düştüğünde kırmızı kan hücresi transfüzyonu yapılmalıdır (derece 1B).
2. Şiddetli sepsis ile birlikte olan aneminin özgül bir tedavisi olarak eritropoietin kullanılmamalıdır (derece 1B).
3. Kanama olmaması veya invazif bir girişim tasarlanmaması durumunda, taze dondurulmuş plazma laboratuvar pıhtılaşma anormalliklerini düzeltmek için kullanılmamalıdır (derece 2D).
4. Şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için antitrombin kullanılmamalıdır (derece 1B).
5. Şiddetli sepsisi olan hastalarda, görünürde bir kanama olmaması durumunda eğer sayıları < 10.000 mm<sup>3</sup> (10 x 10<sup>9</sup>/l) ise profilaktik olarak trombosit uygulanmalıdır. Hastada anlamlı bir kanama riski olduğunda, sayıları < 20.000 mm<sup>3</sup> (20 x 10<sup>9</sup>/l) ise ise profilaktik olarak trombosit uygulanmalıdır. Etkin kanama, cerrahi girişim veya girişimsel işlemler için daha yüksek miktarda trombosit sayısı (≥ 50.000 mm<sup>3</sup> [50 x 10<sup>9</sup>/l]) önerilmektedir (derece 2D).

---

### **İ. İmmünoglobulinler**

1. Şiddetli sepsis ve septik şoku olan erişkin hastalarda intravenöz immünoglobulinler kullanılmamalıdır (derece 2B).

---

### **J. Selenyum**

1. Şiddetli sepsis tedavisi için intravenöz selenyum kullanılmamalıdır (derece 2C).

---

### **K. Rekombinant etkinleştirilmiş protein C**

1. Piyasadan çekildiğinden kullanımı için öneride bulunulmamıştır.
-

**Çizelge 2.2. (devam)** Sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için *Surviving Sepsis Campaign*'in yapılmasını şiddetle önerdiği yaklaşımlar (1).

---

#### **L. Sepsisin neden olduğu ARDS için mekanik ventilasyon**

---

1. Sepsisin neden olduğu ARDS'li hastalarda 6 ml/kg (kestirilen vücut ağırlığına göre) tidal hacim hedeflenmelidir (12 ml/kg'a karşı derece 1A).
2. ARDS'li hastalarda plato basınçları ölçülmelidir ve pasif olarak şişirilmiş bir akciğerdeki plato basınçları için başlangıçtaki üst sınır hedefi  $\leq 30$  cm H<sub>2</sub>O olmalıdır (derece 1B).
3. Son ekspirasyonda alveolar kolapstan (atelektotravma) kaçınmak amacıyla pozitif son ekspiratuvar basınç uygulanmalıdır (derece 1B).
4. Sepsisin neden olduğu orta veya şiddetli ARDS'li hastalarda düşük pozitif son ekspiratuvar basınç değerlerinden daha yüksekini temel alan stratejiler kullanılmalıdır (derece 2C).
5. Şiddetli refrakter hipoksemisi olan sepsis hastaları için iyileştirme girişimlerinde bulunulmalıdır (derece 2C).
6. Uygun koşulların sağlanmasında yeterli deneyimin olması durumunda, Pao<sub>2</sub>/Fio<sub>2</sub> değeri  $\leq 100$  mmHg olan sepsisin neden olduğu ARDS'li hastalar yüzüstü yatırılmalıdır (derece 2B).
7. Mekanik olarak solutulan sepsis hastaları, aspirasyon riskini sınırlandırmak ve ventilatör ile birlikte olan pnömoni gelişmesini önlemek amacıyla, baş tarafının 30-45 derece yükseltilmiş olduğu bir yatakta yatırılmalıdır (derece 1B).
8. Yararlı olabileceği düşünülen sepsisin neden olduğu ARDS'li hastaların bazılarında girişimsel olmayan maske solunumu kullanılmalıdır (derece 2B).
9. Uyandırılabilir, hemodinamik açıdan stabil (vazopresör ilaç kullanmaksızın), yeni bir ciddi olası durumun olmadığı, düşük ventilatör ve son ekspiratuvar basınç gereksinimi olan ve bir yüz maskesi ya da nazal kanül aracılığıyla güvenli bir biçimde sağlanan düşük Fio<sub>2</sub> gereksinimi olan mekanik olarak solutulan şiddetli sepsisi olan hastalarda, mekanik ventilasyona devam edilip edilmeyeceğini değerlendirmek amacıyla düzenli olarak kendiliğinden soluma denemeleri yapılmalıdır. Kendiliğinden soluma denemeleri başarılı olursa, tüpün çıkarılması düşünülmelidir (derece 1A).
10. Sepsisin neden olduğu ARDS'li hastalar için pulmoner arter kateteri rutin olarak kullanılmamalıdır (derece 1A).
11. Doku hipoperfüzyonu için kanıt olmayan sepsisin neden olduğu ARDS'li hastalar için serbestten çok, konservatif bir strateji uygulanmalıdır (derece 1C).
12. Bronkospazm gibi özgül endikasyonların olmaması durumunda, sepsisin neden olduğu ARDS tedavisi için  $\beta_2$ -adrenerjik reseptör agonistleri kullanılmamalıdır (derece 1B).

---

#### **M. Sepsiste sedasyon, analjezi ve nöromüsküler blokaj**

---

1. Mekanik olarak solutulan sepsis hastalarında sedasyon, özgül titrasyon sonlanım noktaları hedeflenerek, sürekli veya aralıklı olarak en aza indirilmelidir (derece 1B).
2. Kullanımlarının bırakılmasının ardından uzun süre nöromüsküler blokaj riskinden dolayı, ARDS olmayan septik hastalarda nöromüsküler blokaj yapan ilaçlardan olabildiğince kaçınılmalıdır. Bu ilaçların kullanımının sürdürülmesi gerekiyorsa, ya gerektiği kadar aralıklı bolus olarak ya da blokajın derinliği izlenerek sürekli infüzyonla kullanılmalıdırlar (derece 1C).
3. Erken sepsisin neden olduğu ARDS'li ve Pao<sub>2</sub>/Fio<sub>2</sub> değeri  $< 150$  mmHg olan hastalar için 48 saatten uzun bir süre olmamak üzere nöromüsküler blokaj yapan ilaçlar kullanılabilir (derece 2C).

---

#### **N. Glukoz kontrolü**

---

1. Yoğun bakım birimlerindeki şiddetli sepsisi olan hastaların, eğer ardışık olarak iki kez ölçülen kan glukoz düzeyleri  $> 180$  mg/dl ise, glukoz düzeylerinin kontrolünün sağlanabilmesi için insülin kullanılması gibi belirli bir yaklaşım uygulanmalıdır. Bu yaklaşımda kan glukoz düzeylerinin,  $\leq 110$  mg/dl değil,  $\leq 180$  mg/dl olması hedeflenmelidir (derece 1A).
  2. Kan glukoz değerleri ve insülin infüzyon hızları stabil oluncaya dek, glukoz düzeyleri önce her 1-2 saatte bir, daha sonra her 4 saatte bir ölçülmelidir (derece 1C).
  3. Arteriyel kan veya plazma glukoz düzeylerini tam olarak yansıtmabileceğinden, kapiler kanda glukoz düzeylerinin ölçümü dikkatli bir biçimde yapılmalıdır (derecelendirilmemiştir).
-

**Çizelge 2.2. (devam).** Sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok tedavisi için *Surviving Sepsis Campaign*'in yapılmasını şiddetle önerdiği yaklaşımlar (1).

---

#### **O. Renal replasman tedavisi**

1. Şiddetli sepsisi ve ıveğen böbrek yetmezliği olan hastalarda sürekli renal replasman tedavisi ve aralıklı yapılan hemodiyaliz eődeęerdir (derece 2B).
2. Hemodinamik olarak stabil olmayan septik hastalarda sıvı dengesinin sürdürülmesini kolaylaőtırmak amacıyla sürekli tedavi uygulanmalıdır (derece 2D).

---

#### **. Bikarbonat tedavisi**

1. Hipoperfüzyon sonucunda pH değerinin  $\geq 7.15$  olduğu laktik asidemili hastalarda hemodinamik parametreleri düzeltmek veya vazopresör kullanımını azaltmak amacıyla sodyum bikarbonat tedavisi uygulanmamalıdır (derece 2B).

---

#### **P. Derin ven tromboz profilaksisi**

1. Şiddetli sepsisi olan hastalar venöz tromboembolizme karőtı her gün farmakoprofilaksi tedavisi alırlar (derece 1B). Farmakoprofilaksi günlük olarak subkütan düşük molekül ağırlıklı heparin uygulanmasıyla yapılmalıdır (günde iki kez fraksiyonlanmamıő heparine karőtı derece 1B, günde üç kez fraksiyonlanmamıő heparine karőtı derece 2C). Kreatinin klirensi  $< 30$  ml/dk. ise dalteparin (derece 1A) veya renal metabolizması düşük olan bir baőtka düşük molekül ağırlıklı heparin (derece 2C) ya da fraksiyonlanmamıő heparin (derece 1A) kullanılmalıdır.
2. Şiddetli sepsisi olan hastalar farmakolojik tedavi ile birlikte uygun olduğunda aralıklı (*intermittent*) pnömatik kompresyon aygıtları ile tedavi edilmelidirler (derece 2C).
3. Heparin kullanımı için trombositopeni, şiddetli koagülopati, etkin kanama, yeni geçirilmiő intraserebral hemoraji gibi kontrendikasyon olan septik hastalarda farmakoprofilaksi yapılmamalıdır (derece 1B); ancak, bu hastalara eğer kontrendikasyon yoksa dereceli kompresyon çorapları veya aralıklı (*intermittent*) kompresyon aygıtlarının kullanımı gibi mekanik profilaktik özellikte bir tedavi uygulanabilir (derece 2C). Risk azaldığında farmakoprofilaksiye baőtlanmalıdır (derece 2C).

---

#### **R. Stres lseri profilaksisi**

1. Kanamaya neden olabilecek risk etkenleri olan şiddetli sepsis/septik Şoklu hastalarda stres ülseri profilaksisi H<sub>2</sub>-reseptör blokörü veya proton pompa inhibitörü kullanılarak yapılmalıdır (derece 1B).
2. Stres lseri profilaksisinde H<sub>2</sub>-reseptör blokrlerinden çok proton pompa inhibitörleri yeğlenmelidir (derece 2D).
3. Risk etkeni olmayan hastalara profilaksi uygulanmamalıdır (derece 2B).

---

#### **S. Beslenme**

1. Şiddetli sepsis/septik Şok tanısından sonra ilk 48 saat içinde tam olarak a bırakma veya yalnızca intravenöz glukoz uygulanmasından çok, hastalar tolere edebiliyorsa, oral veya gerekiyorsa enteral yoldan besinler uygulanmalıdır (derece 2C).
2. İlk hafta içinde yüksek kalorili yiyeceklerden kaçınılmalı, ancak tolere edilebiliyorsa düşük kalorili yiyeceklerin (en çok günde 500 kalori olacak biçimde) uygulanması düşünülmelidir (derece 2B).
3. Şiddetli sepsis/septik Şok tanısından sonra ilk 7 gün içinde tek baőtına toplam parenteral beslenme veya enteral uygulama ile birlikte parenteral beslenmeden çok, intravenöz glukoz ve enteral beslenme uygulanmalıdır (derece 2C).
4. Şiddetli sepsisi olan hastalarda baęıŐıklık sistemini düzenlemeye özgü destekleme yerine, baęıŐıklık sistemini düzenlemeye özgül olmayan destekleme ile beslenme uygulanmalıdır (derece 2C).

---

#### **Ő. Bakım amaçlarının düzenlenmesi**

1. Hasta ve ailesi ile bakımın amaçları ve prognoz tartıŐılmalıdır (derece 1B).
2. Uygun olduğunda palyatif bakım prensipleri kullanılarak, bakımın amaçları tedavi ve yaşam sonunun planlanması ile birlikte ele alınmalıdır (derece 1B).
3. Yoğun bakım birimine baŐvurudan sonra 72 saat içinde, ancak daha geç değil, bakımın amaçları belirlenmelidir (derece 2C).

---

Kanıtın özelliğine göre gruplandırma: Derece A, yüksek (randomize klinik denemelere dayanılarak); derece B, orta (*downgraded* randomize klinik denemelere veya *upgraded* gözlemsel çalıŐmalara dayanılarak); derece C, düşük (kontrol randomize klinik denemeler ile birlikte iyi yapılmıő gözlemsel çalıŐmalara dayanılarak); derece D, çok düşük (*downgraded* kontrollü çalışmalar veya baőtka kanıtlara göre uzman görüŐüne dayanılarak). Önerinin gücüne göre gruplandırma: Derece 1, gcl; derece 2, zaıf. *ACTH*, *adrenokortikotropik hormon* (*adrenocorticotropic hormone*); *ARDS*, *ıveğen solunum sıkıntısı sendromu* (*acute respiratory distress syndrome*); *Fio<sub>2</sub>*, *inspirasyonla alınan oksijen fraksiyonu*; *OAB*, *ortalama arter basıncı*; *Pa<sub>CO<sub>2</sub></sub>*, *kan kısmi karbondioksit basıncı*.

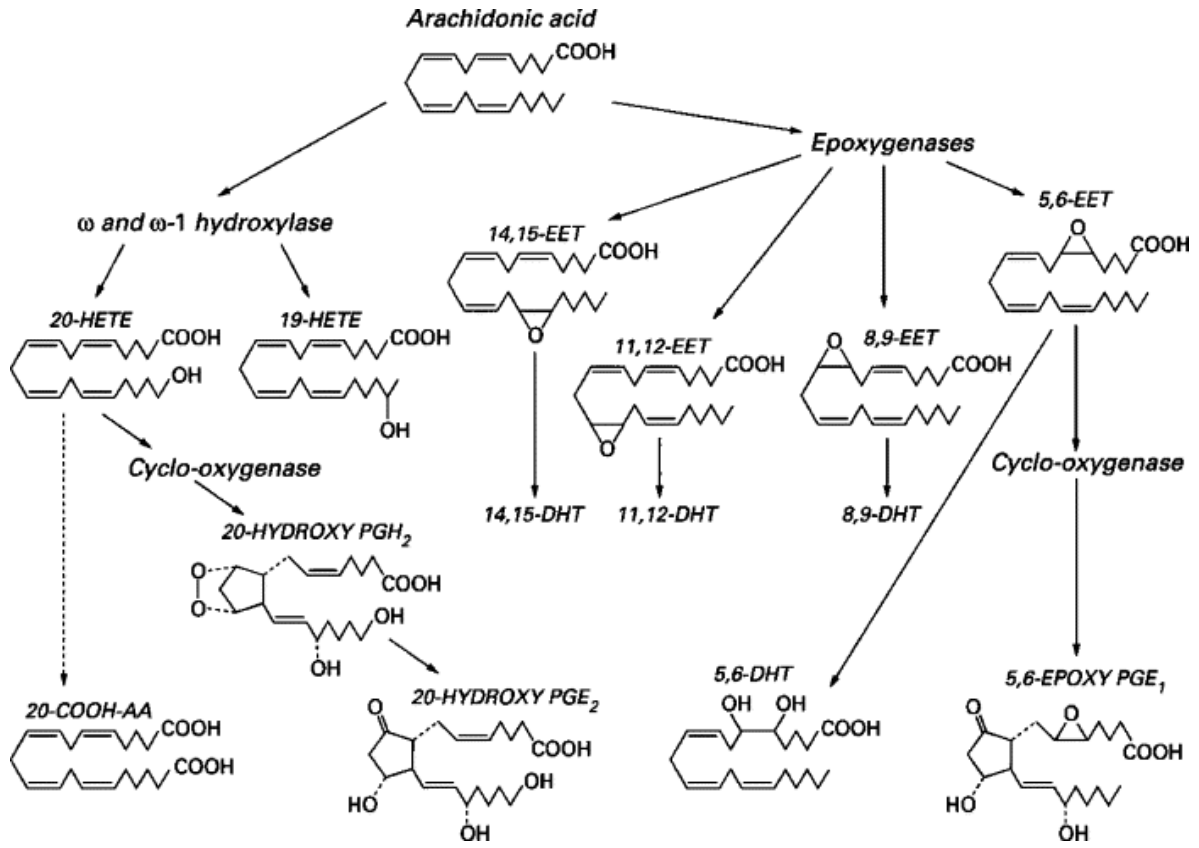
## **2.2. 20-HETE**

### **2.2.1. Özellikleri**

20-HETE, AA'den başlıca CYP4A ve CYP4F enzimleri aracılığıyla  $\omega$ -hidroksilasyon yoluyla oluşur. Böbrek, kalp, karaciğer, beyin, akciğer ve çeşitli damarlarda sentezlenmektedir. Sıçanların çeşitli dokularında CYP4A izoformlarından CYP4A1, CYP4A2, CYP4A3 ve CYP4A8 ile CYP4F izoformlarından CYP4F1, CYP4F4, CYP4F5 ve CYP4F6 enzimlerinin 20-HETE oluşumundan sorumlu oldukları gösterilmiştir. İnsanlarda ise, 20-HETE oluşumunu katalizleyen homolog izoformlar CYP4A11, CYP4A22, CYP4F2 ve CYP4F3'tür. 20-HETE  $\beta$ -oksidasyon sonucunda daha kısa zincir uzunluğunda ve daha az etkili olan ürünlerine metabolize olmaktadır. 20-HETE, ayrıca, vazokonstriktör epoksitler veya vazodilatör prostanoitler oluşturmak üzere COX enzimleri tarafından da metabolize edilebilmektedir (Şekil 2.4) (2, 4, 5, 172-183).

### **2.2.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü**

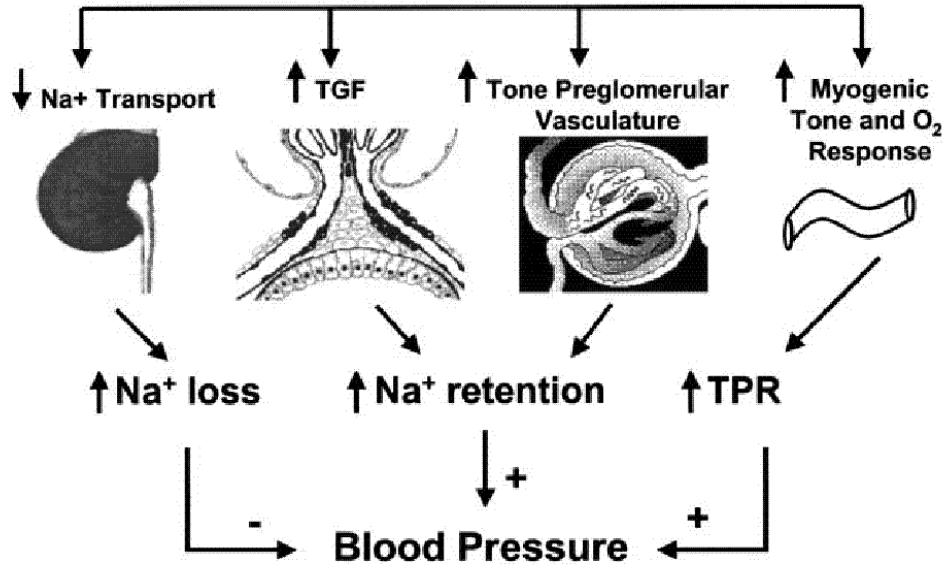
20-HETE damar geriminin düzenlenmesi, böbrek işlevi ve arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Hipertansiyon, iskemik vasküler, serebral, kardiyak ve renal hastalıklar, neovaskülarizasyon, diyabet, enflamasyon, polikistik böbrek hastalıkları, üremi, siroz gibi karaciğer hastalıkları, hepatorenal sendrom, gebelik toksemisi ve kanser gibi çeşitli patolojik durumlarda 20-HETE oluşumunda değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, alkole bağlı karaciğer hastalığı, siklosporin veya sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitede de 20-HETE düzeyleri değişmektedir. Diyet ile alınan sodyum veya potasyum miktarlarının değişmesi ve açlık durumlarında da 20-HETE düzeylerinin değişebildiği bildirilmiştir (2, 4, 5, 28, 172-178, 181-190).



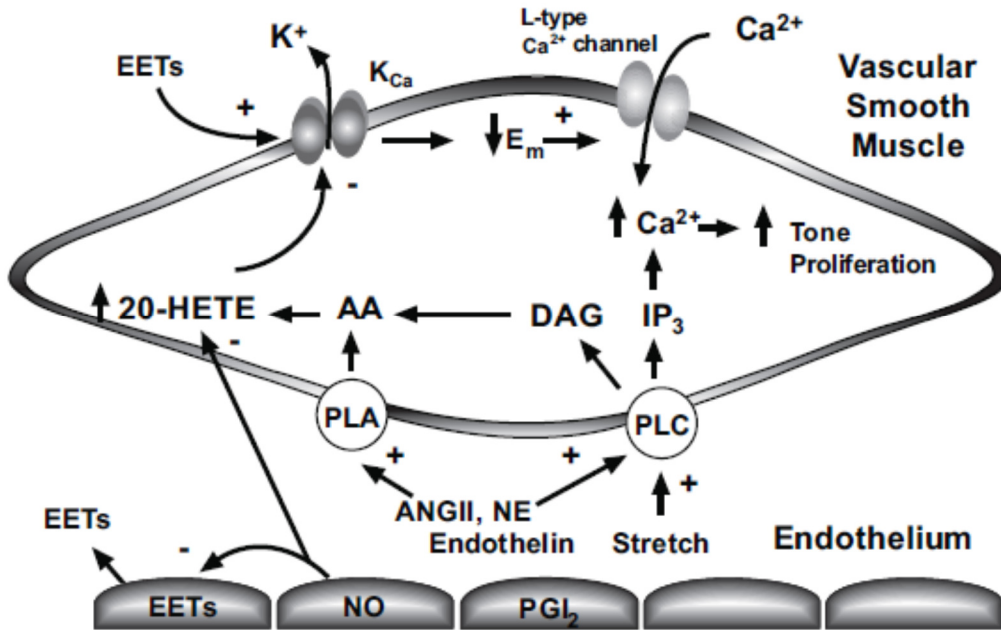
**Şekil 2.4.** Araşidonik asidin CYP'ye bağımlı monooksijenazlar (ω-hidroksilazlar ve epoksijenazlar) tarafından ω- ve ω-1-HETE'ler, epoksitler (EET'ler) ve diollere (DHT'lere) metabolizması (188). AA, arachidonic acid; CYP, cytochrome P450; DHT, dihydroxyeicosatrienoic acid; EET, epoxyeicosatrienoic acid; HETE, hydroxieicosatetraenoic acid; PGE, prostaglandin E; PGH, prostaglandin H.

20-HETE başlıca sistemik damar geriminin sağlanması ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. 20-HETE böbreklerde sodyum kaybını artırarak kan basıncını düşürmesine karşın, tübüloglomerüler geri besleme ve preglomerüler damar yatağının gerimini artırması, ayrıca damarlarda miyojenik gerim ve oksijene verilen yanıtı artırarak toplam periferik damar direncini artırması sonucunda kan basıncını yükseltebilmektedir (Şekil 2.5) (178). 20-HETE'nin damar gerimini düzenleyici etkisinin mekanizması Şekil 2.6'da özetlenmiştir (178).

## Pro- and Anti-Hypertensive Actions of 20-HETE



**Şekil 2.5.** 20-HETE'nin kan basıncını düzenleyici etkisi ile ilgili olarak ileri sürülen mekanizma (178). 20-HETE, 20-hydroxieicosatetraenoic acid; TGF, tubuloglomerular feedback; TPR, total peripheral resistance.



**Şekil 2.6.** CYP aracılığıyla oluşan araşidonic asit metabolitlerinin damar gerimi üzerindeki etkileri ile ilgili olarak ileri sürülen mekanizmalar (178). 20-HETE, 20- hydroxieicosatetraenoic acid; AA, arachidonic acid; AngII, angiotensin II; CYP, cytochrome P450; DAG, diacyl glycerol; EETs, epoxyeicosatrienoic acids; IP<sub>3</sub>, inositol-1,4,5-triphosphate; NE, norepinephrine; NO, nitric oxide; PGI<sub>2</sub>, prostaglandin I<sub>2</sub>; PLA, phospholipase A; PLC, phospholipase C.

20-HETE renal, serebral, aortik, mezenterik ve koroner arterler gibi çeşitli damarlarda vazokonstriksiyona neden olmaktadır (7-11). 20-HETE'nin damar tonüsünü düzenleyici etkisine PKC ile MAPK, MEK ve ERK1/2 gibi kinazların aracılık ettiği bildirilmiştir (9, 12-19). Ayrıca, 20-HETE kalsiyum ile etkinleştirilen potasyum kanalını fosforile ederek etkinliğini azaltmakta, PKC'nin etkinleşmesi sonucunda L türü kalsiyum kanallarının iletkenliğini ve etkinliğini artırarak kalsiyum girişine neden olmakta ve böylece damar düz kasının sürekli depolarizasyonuna neden olmaktadır (11, 15, 19, 20). 20-HETE'nin neden olduğu vazokonstriksiyonun indometasin (8, 10) ve diklofenak (9) gibi COX inhibitörleri veya endoperoksit/tromboksan reseptör antagonisti SQ-29548 (9, 10) ile önlenebildiği bildirilmiştir. Ayrıca, damar endotel hücrelerinde COX aracılığıyla 20-HETE'den oluşan 20-OH-PGG<sub>2</sub> ve 20-OH-PGH<sub>2</sub>'nin de 20-HETE'nin vazokonstriktör etkilerine aracılık ettiği gösterilmiştir (8, 10). Vazokonstriktör etkisinin tersine, 20-HETE'nin renal, koroner, pulmoner ve baziler arterlerde gevşetici etkisinin de olduğu bildirilmiştir (10, 13, 14, 21-23). 20-HETE'nin vazodilatör etkilerine NO salınması (23) 20-HETE'nin COX tarafından 20-OH-PGE<sub>2</sub> ve 20-OH-PGF<sub>2α</sub>'ya dönüşmesi (9, 13, 21) ile PGE<sub>2</sub> (21) ve PGI<sub>2</sub> (13, 14, 21, 22) oluşumundaki artmanın aracılık ettiği ileri sürülmüştür. Ayrıca, insan endotel hücrelerinde 20-HETE'nin ERK1/2 ve NF-κB etkinliği ile proenflamatuvar sitokinlerden IL-4, IL-8 ve IL-13 düzeylerini artırdığı, böylece güçlü bir proenflamatuvar etki gösterdiği de bildirilmiştir (24) Sığır endotel hücrelerinde yapılan bir çalışmada ise, 20-HETE'nin NO oluşumunu inhibe ettiği, ancak NF-κB etkinliğini artırdığı, 20-HETE'nin bu etkilerinin ise MEK1/ERK1/2 yolunun inhibisyonu ile önlenebildiği gösterilmiştir (25) Son yıllarda yapılan çalışmalarda, LPS'nin neden olduğu süregen sistemik enflamasyonda CYP4A ve CYP4F aracılığıyla oluşan 20-HETE'nin rol oynadığı gösterilmiştir (26, 27). Öte yandan, daha önce yapılan çalışmalarda, CYP4A8 izoformu aracılığıyla olan 20-HETE'nin vasküler oluşumunun arttığı durumlarda endotelial işlevsizlik ve hipertansiyon arasında neden/etki ilişkisinin olduğu sonucuna varılmıştır (28). Araştırmacılar, 20-HETE'nin, bütün NOS izoformlarının etkinleştirilmesinde rolü olduğu bilinen hsp90'ın (29-35) eNOS ile etkileşmesini önleyerek NO oluşumunu azaltırken, süperoksit oluşumunu artırabileceği ve böylece endotelial işlevsizliğe neden olabileceğini ve damar gerimini artırabileceğini ileri sürmüşlerdir (36, 37). Ayrıca, 20-HETE'nin süperoksit, gp91<sup>phox</sup>



(NOX2; NADPH oksidazın süperoksit oluşturan katalitik alt birimi), p47<sup>phox</sup> (NOXO2; NOX2 etkinliğinin düzenlenmesinden sorumlu NADPH oksidaz alt birimi) ve nitrozillenmiş proteinlerin vasküler ekspresyonunu artırarak (38) ve endotel hücrelerinde doğrudan etkisi ile (39) de süperoksit oluşumuna neden olabileceği gösterilmiştir. Damar yatağında 20-HETE ile oluşumu artan süperoksidin ise NO'nun biyoyararlanımını azaltabileceği ve böylece endotelial işlevsizlik ve hipertansiyona neden olabileceği ileri sürülmüştür (28).

## 2.3. PPAR Alt Türleri

### 2.3.1. Özellikleri

1990'lı yıllarda Isseman ve Green fibratların ve tiyazolidindionların moleküler hedefleri olan yeni bir steroid hormon süper ailesini tanımlamış ve bunları "PPAR" olarak adlandırmışlardır. Birkaç yıl sonra Latince adlandırması *Xenopus laevis* olan kurbağadan PPAR ortologu ve ek olarak yeni 2 adet yüksek derecede homolog genler klonlanmıştır. Fare PPAR reseptörleri ve *Xenopus'tan* elde edilen 3 reseptör arasındaki benzerliklerin sonucunda adlandırma PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  olarak kabul edilmiştir. Kısa bir süre sonra Dreyer ve ark. (191) birçok grup ile memeli PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  arasında ortolog tanımlamıştır. PPAR $\alpha$  ve PPAR $\gamma$  türler arasında yüksek oranda korunmuş olmasına karşın, PPAR $\beta$  oldukça farklılık göstermekte olup, adlandırmada yaygın olarak PPAR $\beta/\delta$  kullanılmaktadır (191-195).

PPAR'lar grup II nükleer reseptörlerdendir. Ortamda ligant yokken, yani dinlenme durumunda, çekirdek içinde yerleşmişlerdir. PPAR'lar ligant ile etkinleştirilince liganda özgül reseptör proteinin, liganda özgül olmayan RXR ile birleşerek etkin heterodimer biçimine dönmektedir (196, 197).

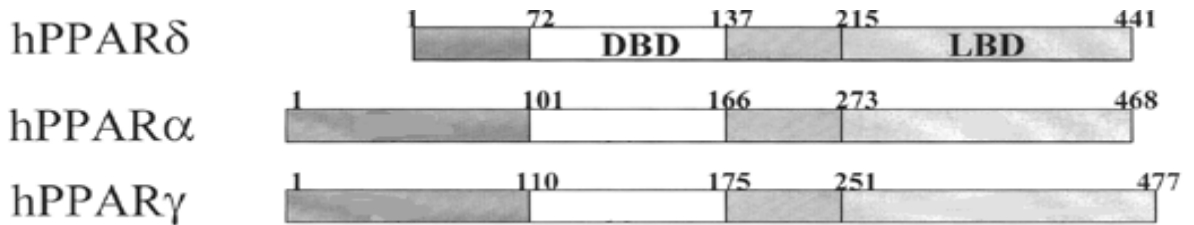
PPAR'ların yapısı 5 bölgeden oluşmaktadır (Şekil 2.7) (198):

- 1) Özelleşmiş PPAR agonistlerinin bağlandığı ligant bağlayan bölge
- 2) Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz ile fosforilasyon yoluyla liganttan bağımsız olarak etkinleşen N ucunda bulunan *activation function* (AF) 1 bölgesi
- 3) PPAR ile etkinleştirilen hedef genlerin promotör bölgesinde bulunan PPRE ile etkileşen bölge
- 4) Ligant bağlanmasına karşılık olarak transkripsiyonel etkinleşme için gerekli olan yapısal değişikliğe uğrayan C ucunda bulunan AF2 bölgesi
- 5) İşlevi tam olarak anlaşılmamış olmasına karşın DNA'ya bağlanma için önemli olduğu düşünülen esnek eklem bölgesi



Şekil 2.7. PPAR reseptörlerinin genel yapısı (198). *AF*, *activation function*.

PPAR reseptörleri farklı genler tarafından eksprese edilmektedir. PPAR alt türlerinin farklı dokularda değişik işlevleri bulunmaktadır. Şekil 2.8'de insan PPAR alt türlerinin yapısı (196), Çizelge 2.3'te ise PPAR alt türlerinin özellikleri (199-201) gösterilmiştir.



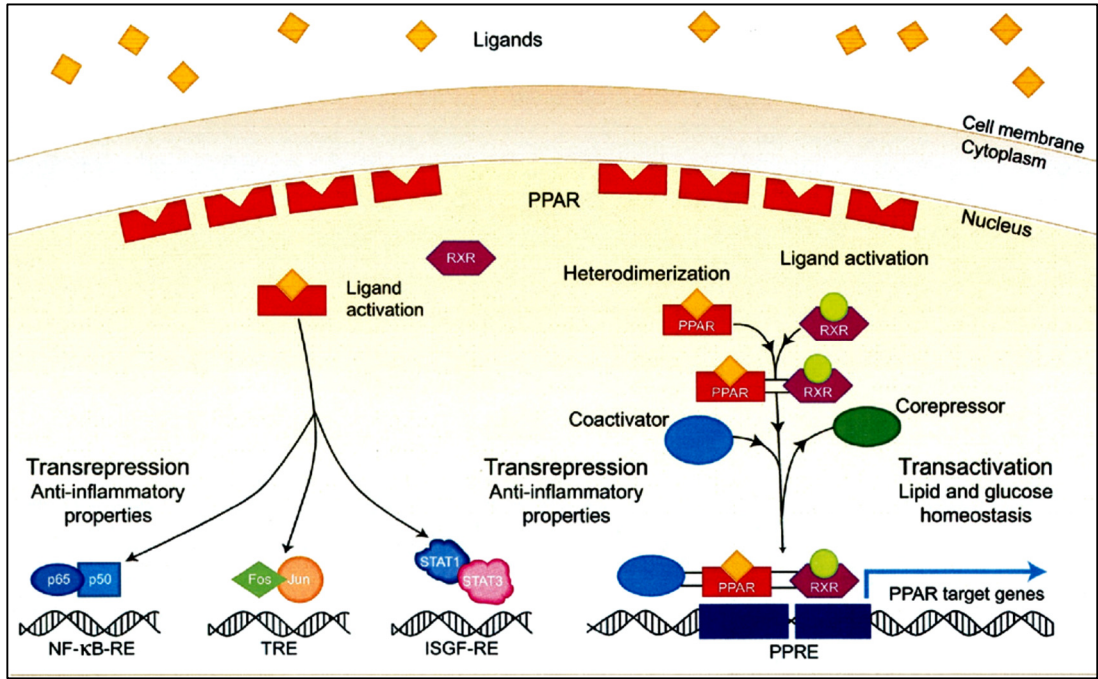
Şekil 2.8. İnsan PPAR alt türlerinin yapısı (196). *DBD*, *DNA binding domain*; *hPPAR*, *human peroxisome proliferator activated receptor*; *LBD*, *ligand binding domain*.

**Çizelge 2.3.** PPAR alt türleri ve özellikleri (199-201).

Alt tür	Birincil dokular	Ligantlar	İşlev	İlişkili hastalıklar ve patojenezler
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	Karaciğer, kalp, kas, damar endoteli ve damar düz kas hücresi, monosit/makrofajlar	Yağ asitleri Fibratlar	Yağ asidi oksidasyonu, Antienflamatuvar	Dislipidemi Diyabet Ateroskleroz Enflamasyon
<b>PPAR<math>\beta/\delta</math></b>	Übikütöz, kas, adipoz	Yağ asitleri Proteinler	Organojenez (prenatal dönem) PPAR $\alpha$ işlevine sinerjistik etki-lipit metabolizmasının düzenlenmesi	Dislipidemi-obezite İnfertilite Ateroskleroz
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Adipoz, kas, kalp, damar endoteli ve damar düz kas hücresi, monosit/makrofajlar	PUFA'lar 15d-PGJ <sub>2</sub> TZD'ler	Adipojenez	İnsülin direnci-obezite Metabolik sendrom Kanser Enflamasyon Hipertansiyon ve retinal hastalıklar

*15d-PGJ<sub>2</sub>, 15-deoksi-delta-12,14-prostaglandin J<sub>2</sub> (15-deoxy-delta-12,14-prostaglandin J<sub>2</sub>); PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (peroxisome proliferator-activated receptor); PUFA, çoklu doymamış yağ asidi (polyunsaturated fatty acid); TZD, tiyazolidindion.*

PPAR'lar ligant tarafından etkinleştirildiğinde gen transkripsiyonunu etkinleştirirler ya da baskırlar. Transaktivasyon PPAR'ların lipit ve glukoz homeostazı üzerindeki etkilerinden sorumlu olan başlıca olaydır. PPRE'lerin asetil koenzim A (*coenzyme A*; CoA) oksidaz, bifonksiyonel peroksimal  $\beta$ -oksidasyon enzimi, CYP4A6 enzimi, fosfoenolpirivat karboksikinaz (*phosphoenolpyruvate carboxykinase*; PEPCK) ve lipoprotein lipaz (*lipoprotein lipase*; LPL) gibi lipit metabolizmasında rol oynayan bir dizi genin yapısında olduğu saptanmıştır. Transaktivasyon, liganda bağlı PPAR ile RXR'nin heterodimerizasyonunu içerir. Bu heterodimer hedef genin promotör bölgesinde bulunan özelleşmiş yanıt elementi PPRE'ye bağlanarak gen transkripsiyonunu sağlamaktadır. Ko-aktivatör ve ko-faktör proteinlerin liganda bağımlı yapılanmaları, gen transkripsiyonunun kontrolünün güçlenmesine yardımcı olmaktadır. PPAR'ların antienflamatuvar etkilerinden başlıca sorumlu olan transrepressyon mekanizması NF- $\kappa$ B ve AP-1 gibi sinyal ileti yolları ile etkileşimi içermektedir. Bu mekanizmada, PPAR'lar DNA'ya bağlanmaksızın doğrudan proteinler ile etkileşmektedir. NF-KB başta iNOS ve COX-2 olmak üzere enflamasyona katkıda bulunan enzimlerin ekspresyonundan, AP-1 ise proenflamatuvar sitokinlerin üretiminden sorumludur (Şekil 2.9) (202, 203).



**Şekil 2.9.** PPAR'ların etki mekanizmaları (203). *ISGFR*, interferon stimulated gen factor response element; *NF-κB-RE*, nuclear factor κB response element; *PPAR*, peroxisome proliferator-activated receptor; *RXR*, retinoid X receptor; *STAT*, signal transducer and activator of transcription; *TRE*, 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetat response element; *PPRE*, peroxisome proliferator-activated receptor response element.

### 2.3.2. PPAR Alt Türlerinin Fizyopatolojik Olaylardaki Rollerini

#### 2.3.2.1. PPAR $\alpha$

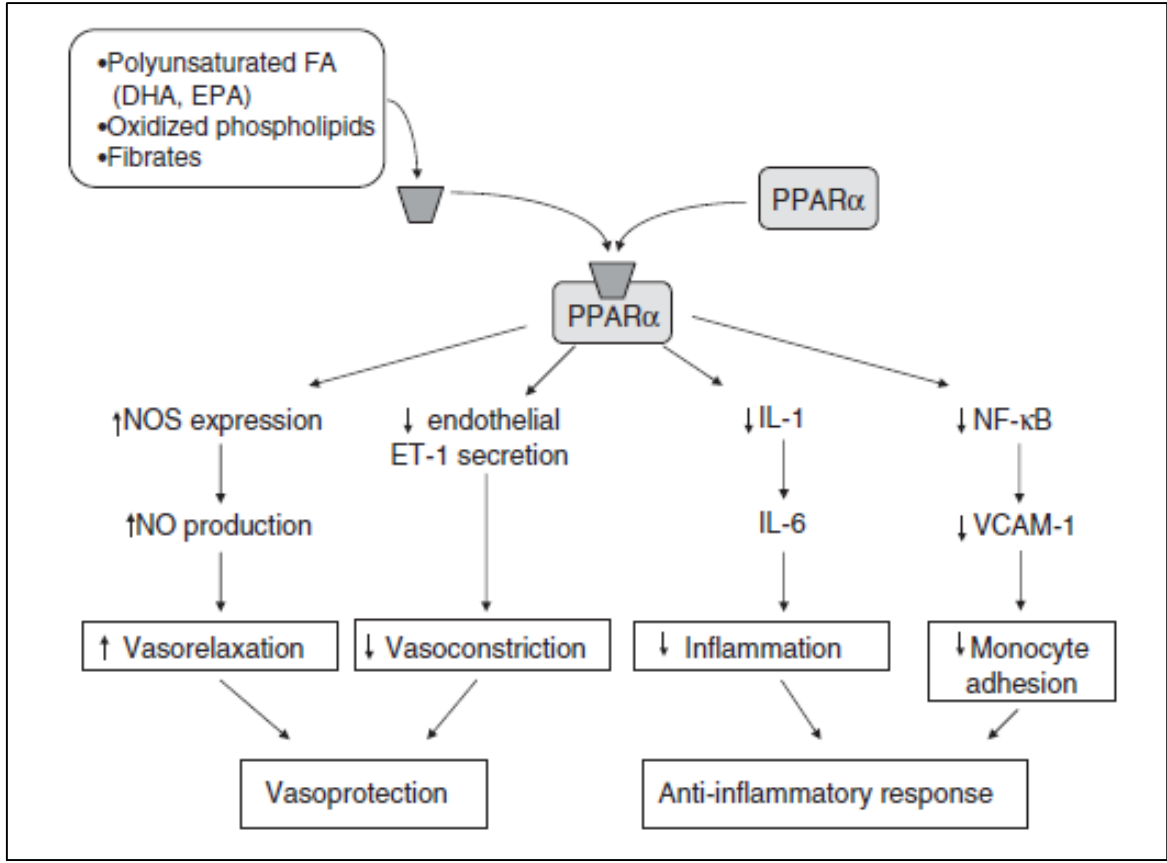
PPAR $\alpha$  adipoz doku, karaciğer, damar endotel ve düz kas hücreleri ile monosit/makrofajlarda yüksek miktarda eksprese edilmektedir (204-207). Başlıca lipid metabolizması ve enflamatuvar sürecin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (192, 208). Yağ asitlerinin alınması, taşınması ve salıverilmesini kontrol etmektedir (209, 210). PPAR $\alpha$  etkinleştğinde yüksek yoğunluklu lipoprotein (YYL), apolipoprotein (apo) A-I ve apoA-II transkripsiyonunu artırarak YYL düzeyini artırmaktadır (211, 212). Aynı zamanda, PPAR $\alpha$  LPL'nin ekspresyonunu indüklemekte ve LPL inhibitörü olan apoCIII'ü engellemektedir (213). Bunlara ek olarak, PPAR $\alpha$  damar hücrelerinde adezyon moleküllerinin ve

proenflamatuvar mediyatörlerin üretiminden sorumlu olan NF- $\kappa$ B'nin ekspresyonunu sınırlayarak enflamatuvar yanıtı azaltmaktadır (214).

PPAR $\alpha$ , peroksizom proliferatörleri ve fibratların hipolipidemik etkilerine pleiotropik yanıtı aracılık etmektedir (213). PPAR $\alpha$  geni çıkarılmış farelerde klofibrat gibi klasik peroksizom proliferatörlerinin etkilerine yanıt alınmadığı bildirilmiştir (215).

PPAR $\alpha$ 'nın immün yanıt düzenlemesi üzerindeki rolünün mekanizmasındaki gizem yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda, bakteri ya da endotoksine maruz bırakılmış hayvanlarda PPAR $\alpha$  etkinleştiricisi olan diyetel çoklu doymamış yağ asidi uygulamasının yaşam süresinde uzamaya neden olduğu gösterilmiştir (216, 217). Bunlara ek olarak, potansiyel PPAR ligandı olan diyet ile alınan yağ asitlerinin endotoksin ile uyarılmış insan periferik kan monositlerinde sitokin üretiminin incelendiği çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre yağ asidi eklentileri proenflamatuvar sitokinlerin (TNF, IL-6 ve IL-1 gibi) kan dolaşımındaki düzeylerini azaltmaktadır (196).

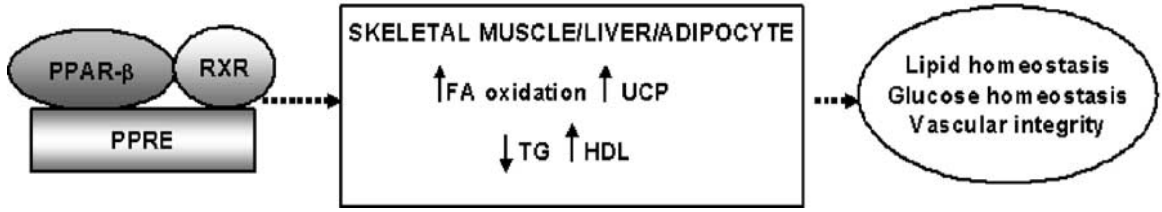
PPAR $\alpha$  agonistine maruziyet sonrası bir çok enflamatuvar genin NF- $\kappa$ B'ye bağlı olarak ekspresyonu azalmaktadır (218). PPAR $\alpha$  agonistleri NF- $\kappa$ B bileşenlerinin bir araya gelmesini engelleyerek veya ekspresyonunu azaltarak ya da NF- $\kappa$ B inhibitörü I $\kappa$ B ile etkileşerek NF- $\kappa$ B'nin etkisini farklı yollar üzerinden engelleyebilmektedir (203). PPAR $\alpha$  agonistleri IL-6, fibrinojen, C-reaktif protein, serum amiloit A, plazminojen,  $\alpha_2$ -makroglobulin, interferon- $\alpha$ , IL-2, TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi enflamatuvar belirteçlerin düzeyini düşürmektedir (219-224). Damar hücrelerinde, PPAR $\alpha$  etkinleştiricileri, NOS ekspresyonunu ve NO salıverilmesini artırmakta ve agonist ile indüklenmiş ET-1 üretimini azaltmaktadır. Bu etki, gevşemeyi artırarak kasılmayı azaltmakta ve böylece endotelial ve damar işlevini korumaktadır. Bunlara ek olarak PPAR $\alpha$ 'nın etkinleşmesi NF- $\kappa$ B'nin inhibisyonu yoluyla sitokin ile indüklenmiş vasküler hücre adezyon molekülü (*vascular cell adhesion protein*; VCAM)-1 düzeyini düşürmektedir. Bu hücrel işlem antienflamatuvar etkiyi desteklemektedir (Şekil 2.10) (225-231).



**Şekil 2.10.** PPAR $\alpha$ 'nın vasküler etkileri (225). *DHA*, docosahexaenoic acid; *EPA*, eicosapentaenoic acid; *FA*, fatty acid; *ET*, endothelin; *IL*, interleukin; *NF- $\kappa$ B*, nuclear factor  $\kappa$ B; *NO*, nitric oxide; *NOS*, nitric oxide synthase; *PPAR*, peroxisome proliferator-activated receptor; *VCAM*, vascular cell adhesion molecule.

### 2.3.2.2. PPAR $\beta$

PPAR $\alpha$  ve PPAR $\gamma$  üzerine yapılan çok sayıda çalışmaya karşın, PPAR $\beta$ 'nin işlevsel kimliği henüz netlik kazanmamıştır; çünkü beyin, adipoz doku ve deri başta olmak üzere hemen her yerde eksprese edilmektedir (232, 233). PPAR $\beta$ 'nin fizyolojik etkileri Şekil 2.11'de özetlenmiştir (201).

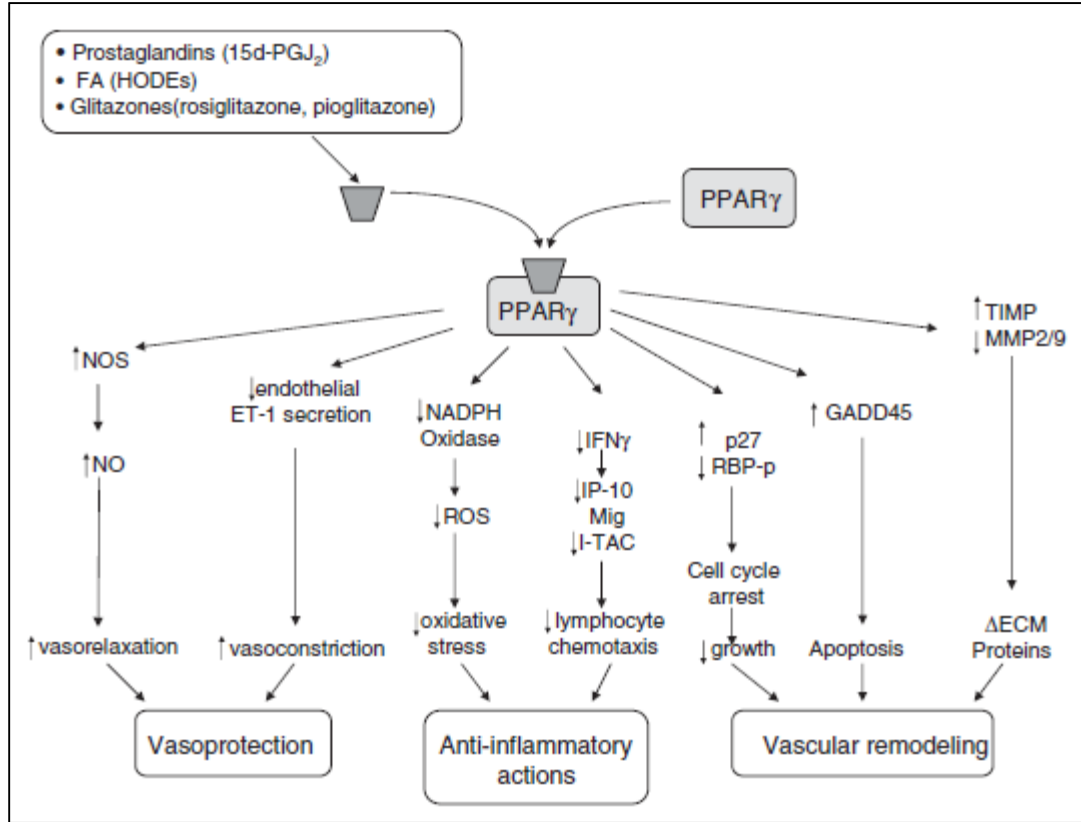


**Şekil 2.11.** PPAR $\beta$ 'nin fizyolojik etkileri (201). *FA*, fatty acid; *HDL*, high density lipoprotein; *PPAR*, peroxisome proliferator-activated receptor; *PPRE*, peroxisome proliferator-activated receptor response element; *RXR*, retinoid X receptor; *UCP*, uncoupling protein; *TG*, triglyceride.

Obez ve diyabetik hayvan modellerinde bu bileşiklerin YYL kolesterolünü artırdığı, beyaz adipoz doku yağ depolarını, trigliseritleri, açlık insülini ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolünü azalttığına gösterilmesi ile PPAR $\beta/\delta$ 'nin hiperlipidemi tedavisinde uygun bir hedef olduğu ileri sürülmüştür (234, 235). Ayrıca, PPAR $\beta/\delta$ 'nin kalp ve iskelet kasında yağ asitlerinin kullanımında yer alan genlerin ekspresyonunu artırarak, iskelet kası fibril türünü glikolitikten oksidatifte değiştirdiği ve böylece yağ asit oksidasyonunu uyardığı bildirilmiştir (235). Sonuç olarak, PPAR $\beta/\delta$  obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yeni bir hedef olarak düşünülmektedir.

### 2.3.2.3. PPAR $\gamma$

PPAR $\gamma$  adiposit proliferasyonu, glukoz homeostazı, lökotrien yıkımının hızlandırılması, hücre döngüsü kontrolü, karsinogenez, ateroskleroz ve enflamasyonda önemli rolü olan düzenleyici bir proteindir. Başlıca bulunduğu dokular, adipoz doku, meme bezi ve bağırsaktır. Ayrıca damar endoteli, düz kas hücresi, monosit/makrofaj ve köpük hücresinde de eksprese edilmektedir (236). Şekil 2.12'de PPAR $\gamma$ 'nin vasküler etkileri gösterilmiştir (225).



**Şekil 2.12.** PPAR $\gamma$ 'nın vasküler etkileri (225). *ET*, Endothelin; *GADD*, growth arrest and deoxyribonucleic acid-damage-inducible protein; *HODE*, hydroxyoctadecadienoic acid; *IFN*, interferon; *IP*, inducible protein; *I-TAC*, inducible T-cell alpha chemoattractant; *NADPH*, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; *NO*, nitric oxide; *NOS*, nitric oxide synthase; *RBP-p*, ribonucleic acid binding protein-p; *ROS*, reactive oxygen species; *TIMP*, metalloproteinase inhibitor 1; *MMP*, matrix metalloproteinases.

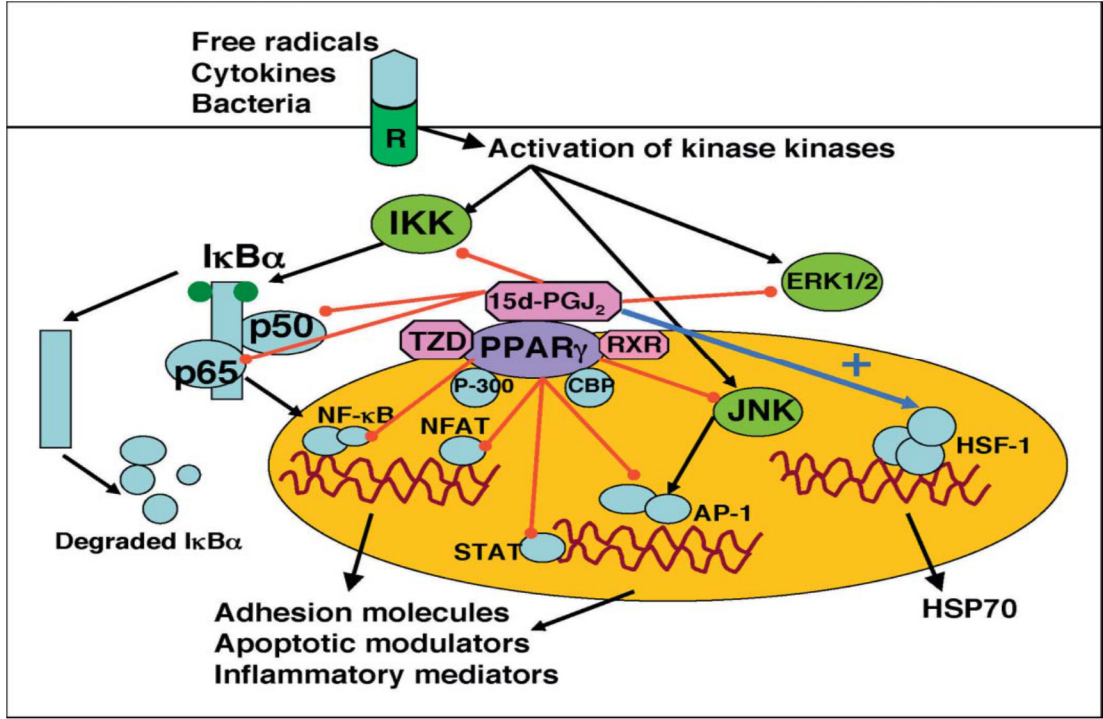
Vasküler hücrelerde, PPAR $\gamma$  etkinleştiricileri, NOS ekspresyonu ve NO salıverilmesini artırırken agonist ile indüklenmiş ET-1 üretimini azaltmaktadır. PPAR $\gamma$  agonistleri reaktif oksijen türlerinin üretimini uyaran NADPH oksidazı azaltarak ve IFN- $\gamma$  ile uyarılmış indüklenebilir protein (*inducible protein*; IP)-10, mig ve indüklenebilir T hücre alfa kemoatraktan (*inducible T-cell alpha chemoattractant*; I-TAC) ekspresyonunu engelleyerek antienflamatuvar etkinlik göstermektedir. PPAR $\gamma$  etkinleştiricileri sikline bağımlı kinaz düzeyini artırarak damar düz kas hücrelerinin büyümesi ve proliferasyonunu engellemektedir (225).



PPAR $\gamma$ , tiyazolidindion (TZD)'ler veya 15-deoksi-delta-12,14-prostaglandin J<sub>2</sub> (15-deoxy-delta-12,14-prostaglandin J<sub>2</sub>; 15d-PGJ<sub>2</sub>) ile etkinleştirildiğinde PPAR $\gamma$ -RXR heterodimeri [siklik adenosin monofosfat (*cyclic adenosine monophosphate*; cAMP) *response element-binding protein* (CREB)] *binding protein* (CBP) ve p-300 için yarışmaktadır. Bu transkripsiyonel ko-aktivatörlerin sınırlı miktarda bulunması AP-1, NF- $\kappa$ B, sinyal dönüştürücüsü ve transkripsiyon etkinleştiricisi (*signal transducer and activator of transcription*; STAT) ve etkinleştirilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü (*nuclear factor of activated T cells*; NFAT) gibi transkripsiyon faktörlerinin etkinleşmesini engellemektedir. Sonuç olarak, proenflamatuvar gen ekspresyonu önlenmektedir. PPAR $\gamma$ -RXR heterodimeri ayrıca NFAT ve NF- $\kappa$ B alt birimleri olan p50 veya p65 ya da JNK üzerinden transrepressyon yoluyla gen ekspresyonunu baskılayabilmektedir. PPAR $\gamma$  ligandı 15d-PGJ<sub>2</sub>, PPAR $\gamma$ 'dan bağımsız bir biçimde I $\kappa$ B kinazın sistein rezidüleri ile NF- $\kappa$ B alt birimlerinde doğrudan modifikasyona neden olarak ve ERK1/2'nin inhibisyonu yoluyla doğrudan antiinflamatuvar etki gösterebilir (Şekil 2.13) (237).

PPAR $\gamma$  DNA'dan bağımsız olarak protein-protein etkileşimini engelleyerek proenflamatuvar gen ekspresyonunu transreprese etmektedir. PKC $\alpha$  sinyalini engelleyen yeni bir PPAR $\gamma$ 'ya bağımlı mekanizma olduğu bildirilmiştir. PPAR $\gamma$ 'nın sitozolik yerleşimi, etkinleşmeye bağımlı azalma için ön koşul olan PKC $\alpha$ 'nın sitozolden hücre zarına translokasyonunu engellemektedir (237).

TZD'ler diyabet tedavisinde endikasyonu olan PPAR $\gamma$  agonistleridir. TZD'ler vd. PPAR $\gamma$  ligantları, adipoz dokuya yağ asitlerinin alınması ve depolanmasını, iskelet kası ve karaciğer gibi adipoz olmayan dokularda ise harcanmamasını tetiklemektedir (238). PPAR $\gamma$  ligantları glukoz homeostazı üzerinde etkili olan adiposit hücrelerinden salgılanan hormonları da düzenlemektedir (239). Bu maddeler, insülin direnci gelişmiş deney hayvan modellerinde karaciğer, çizgili kas ve yağ dokusu hücrelerinde glukoz taşıyıcılarının sayısını artırarak glukoz kullanımını ve insüline duyarlılığı artırır, ayrıca insülin direncini azaltırlar. Ayrıca, yağ depolanmasını artırır ve böylece plazmada serbest yağ asidi düzeyini ve çizgili kasa sunumunu azaltırlar (240).



**Şekil 2.13.** PPAR $\gamma$  ve ligantlarının antienflamatuar etkilerinin önerilen moleküler mekanizmaları (237). *15d-PGJ<sub>2</sub>*, 15-deoxy-delta-12,14-prostaglandin J<sub>2</sub>; AP, activator protein; ERK, extracellular-signal-regulated kinase; HSF, heat shock factor; HSP, heat shock protein; I $\kappa$ B, inhibitor of  $\kappa$ B; IKK, I $\kappa$ B kinase; JNK, c-Jun amino-terminal kinase; NFAT, nuclear factor of activated T cells; NF- $\kappa$ B, nuclear factor  $\kappa$ B; PPAR, peroxisome proliferator-activated receptor; RXR, retinoid X receptor; STAT, signal transducer and activator of transcription; TZD, thiazolidinedione.

## 2.4. RXR

### 2.4.1. Özellikleri

Retinoit X reseptörleri, hücre büyümesi, farklılaşma, yaşam ya da ölüm gibi olayları kontrol eden gen ağının başlıca düzenleyicileri olmalarının yanında, bir çok nükleer reseptör süper ailesi üyeleri ile zorunlu heterodimer oluşturarak bir çok metabolik sistem arasında eşsiz bir düzenleyici ve bütünleştirici rol oynamaktadır. Dokularda farklı RXR alt türlerinin ekspresyon düzeyleri değişiklik göstermektedir. RXR $\beta$  her dokuda sentezlenirken, RXR $\alpha$  başlıca karaciğer, akciğer, kas, böbrek, epidermis ve bağırsakta

sentezlenmektedir ve derideki başlıca RXR alt türüdür. RXR $\gamma$  ise beyin, kalp ve iskelet kasında bulunmaktadır (241).

#### **2.4.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü**

RXR $\gamma$  silinmiş farelerde, metabolizma hızının arttığı, gıda alımının azaldığı ve yabani türdeki (*wild type*) hayvanlar ile karşılaştırıldığında yüksek yağlı diyetle maruz bırakıldığında kilo alımının daha düşük olduğu ve iskelet kasında LPL etkinliğinin arttığı görülmüştür (242-244).

Reksinoitler, özellikle kanser çalışmalarında araştırılan RXR ligantlarıdır (245). Reksinoitler, genetik modellerden elde edilen verilere uyumlu olarak iştahsızlık ve yakıt kullanımı gibi farklı yollar üzerinden enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (246).

RXR $\beta$  ve RXR $\alpha$  alt türlerinin ek olarak enerji dengesinde, trigliserit depolanması ve mobilizasyonunda önemli rolleri olabileceği düşünülmektedir (247, 248).

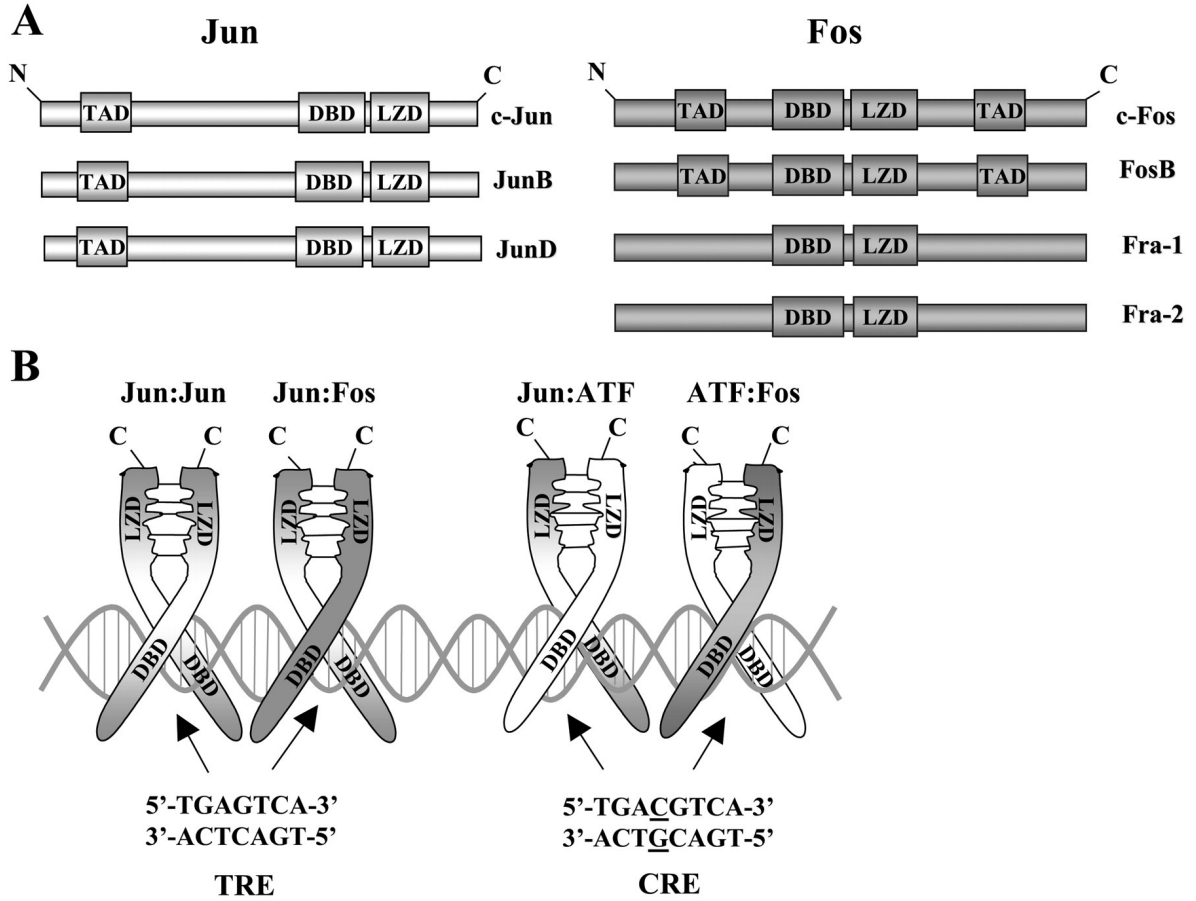
### **2.5. AP-1**

#### **2.5.1. Özellikleri**

*Basic leucine zipper* (bZIP) transkripsiyon faktörlerinden olan AP-1 ailesi proteinleri; proliferasyon, canlılık, büyüme, farklılaşma, apoptoz, hücre göçü ve transformasyonu içeren birçok hücresel sürecin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. AP-1, sekansa özel DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörlerini temsil etmektedir ve memeli hücrelerinde jun (c-jun, junB ve junD) ve fos (c-fos, fosB, fra1 ve fra2) ya da etkinleştirici transkripsiyon faktörü (*activating transcription factor*; AFT) proteinlerinden oluşan homodimer ya da

heterodimerlerdir. Mayada jun homologu, Gcn4p, 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat (*12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate*; TPA) adı verilen DNA yanıt elementini tanımakta ve dimerleşmektedir. AP-1 faktörleri, malign süreçler üzerinde önemli rol oynamaktadır (249).

Jun-ATF dimerleri ya da ATF homodimerleri siklik adenosin monofosfat yanıt elementi (*cyclic adenosine monophosphate response element*; CRE)'ye bağlanmayı yeğlerken, jun-jun ve jun-fos dimerleri tercihen TPA yanıt elementi (*12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate response element*; TRE)'ye bağlanmaktadır (250). Şekil 2.14'te jun ve fos proteinlerinin modüler yapısı, dimerizasyon durumu ve DNA'ya bağlanma biçimleri gösterilmiştir (251).

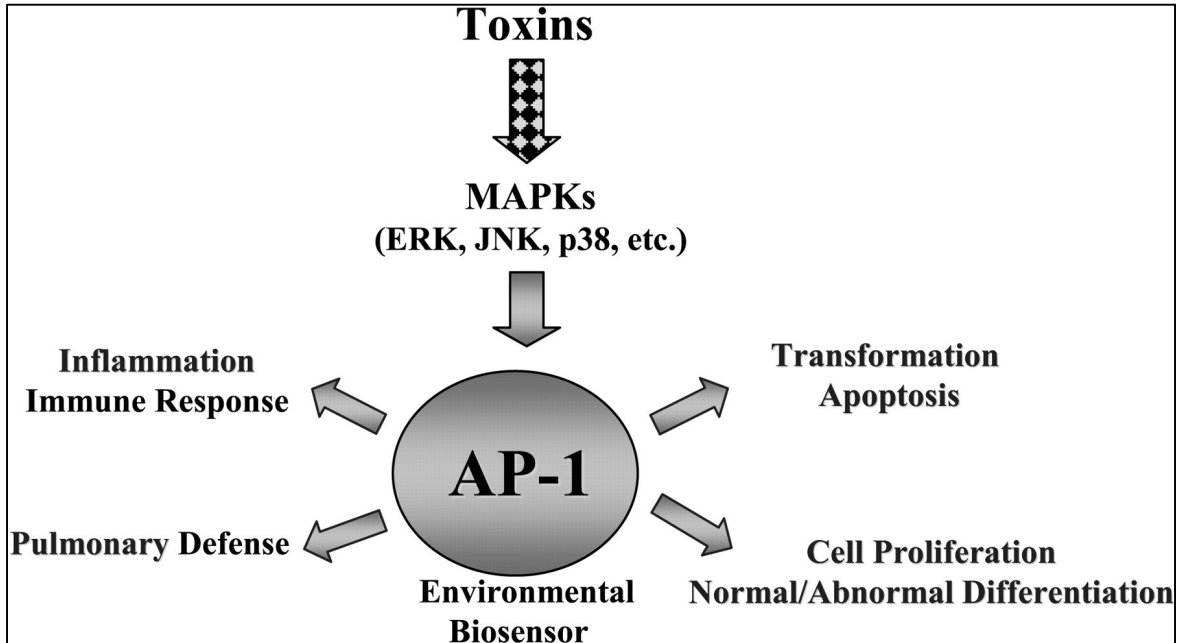


**Şekil 2.14.** AP-1 alt türlerinin yapısı (251). ATF, activating transcription factor; CRE, cyclic adenosine monophosphate response element; DBD, deoxyribonucleic acid binding domain; LZD, leucine-zipper domain; TAD, transcription activation domain; TRE, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate response element.

c-Jun, tüm AP-1 komplekslerinin temel bileşenidir. c-Jun geni, bir çok hücre türünde düşük düzeyde eksprese edilmekte ve büyüme faktörü, sitokinler, ultraviyole iritasyonu gibi bir çok uyarıya yanıt olarak artmaktadır (252). Jun kinazlar, jun proteinlerinin düzenlenmesinden sorumlu ilk ve en önemli MAPK'dir ve c-jun proteinin amino terminal etkinlik alanının delta bölgesi ile etkileşmektedir (253, 254). Ser<sup>73</sup> ve daha az oranda Ser<sup>63</sup> üzerinden fosforillenmesi, transkripsiyonu etkinleştirme yeteneğini artırmaktadır (255).

### 2.5.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

Artmış AP-1 düzeyleri çoğunlukla hedef gen ekspresyonunun transaktivasyonunu artırmaktadır. AP-1 etkinliğinin düzenlenmesi hücre işlevleri için kritik bir öneme sahiptir (256). Şekil 2.15'te AP-1 proteinlerinin toksinler tarafından etkinleştirilmesi ve ortaya çıkan fizyopatolojik durumlar gösterilmiştir (251).



Şekil 2.15. AP-1'in toksinler tarafından etkinleştirilmesi (251). AP, activator protein; ERK, extracellular signal-regulated kinase; JNK, c-Jun N-terminal kinase.

## 2.6. İmportin- $\alpha$ 3

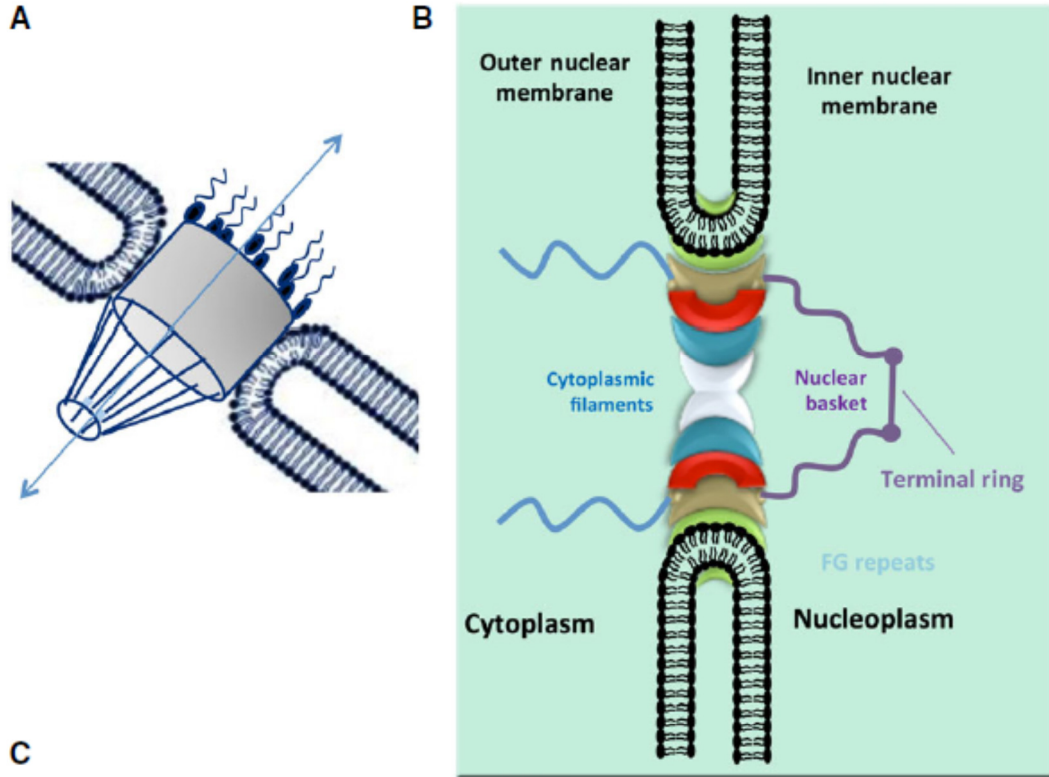
### 2.6.1. Özellikleri

Ökaryotik hücrelerde çekirdekdeki transkripsiyonel makine bir zar ile sitozolden ayrılmaktadır. Nükleus zarı nükleus ile sitoplazma arasındaki trafiğe aracılık eden nükleer por kompleksleri (*nuclear pore complex*; NPC) içermektedir (257-261). NPC'ler çapı 9 nm'den küçük molekülleri pasif difüzyon yoluyla geçirirken, özelleşmiş *import* ve *export* sinyalleri içeren büyük moleküllerin nükleostoplazmik geçişini sınırlamaktadır (Şekil 2.16 ve Şekil 2.17) (259, 261).

Günümüze dek insanlarda tanımlanmış olan importin alt grupları şunlardır: (1) İmportin- $\alpha$ P (importin- $\alpha$ 1), (2) importin- $\alpha$ Q (importin- $\alpha$ 3 ve - $\alpha$ 4), (3) importin- $\alpha$ S (importin- $\alpha$ 5, - $\alpha$ 6 ve - $\alpha$ 7) ve (4) importin- $\beta$  (importin- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3, importin-7, -8 ve -12). Öte yandan, importin-4, -9, -11, -13 ve transportin-2 henüz herhangi bir importin alt grubuna alınamamıştır (259-263).

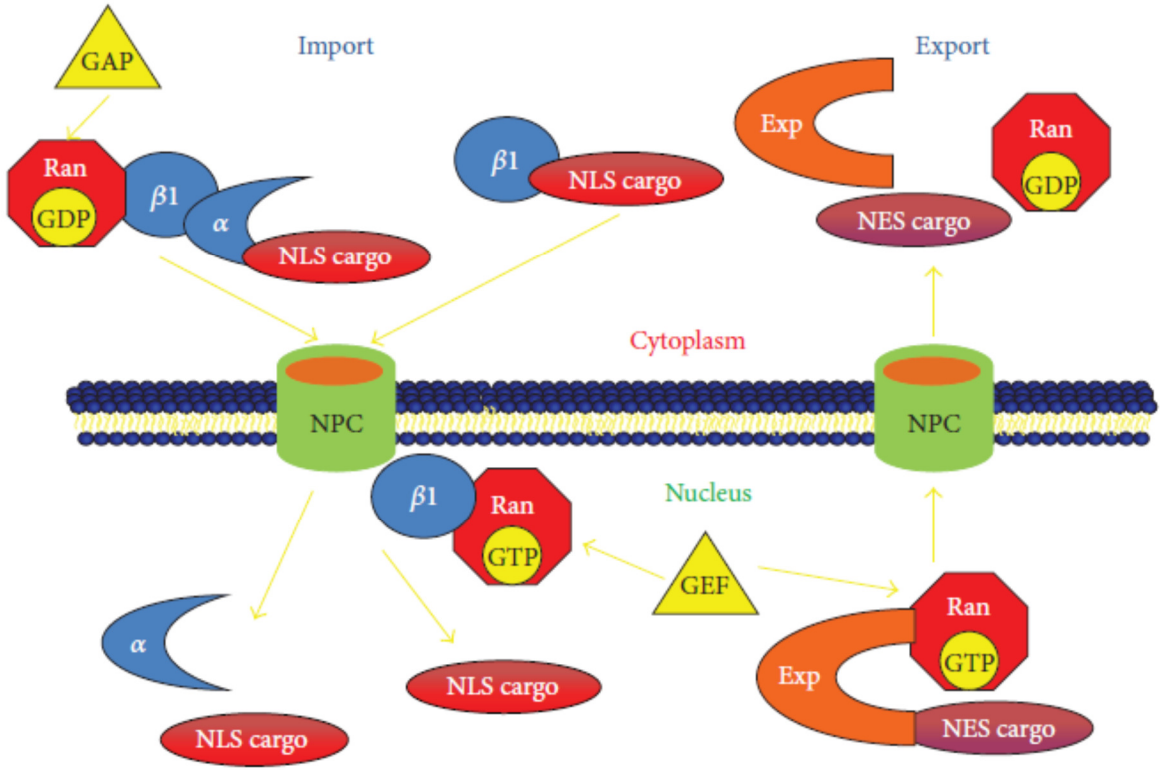
### 2.6.2. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

Özellikle NF- $\kappa$ B protein ailesinden p52 ve RelB ile STAT'lar gibi arjinin-lizinden zengin nükleer yerleşim bölgeleri içeren moleküllerin nükleusa taşınması importin- $\alpha/\beta$  yolu aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.18) (260, 267). Bütün importin- $\alpha$  izoformlarının nükleer yerleşim bölgesi içeren substratların nükleusa girişine aracılık etme yeteneği bulunmaktadır. İmportin- $\alpha$  ile birlikte olan importin- $\beta$  ise, nükleer por kompleksleri aracılığıyla importin-kargo kompleksinin translokasyonunun ardından, nükleer por komplekslerinin sitoplazmik tarafına yerleştirilmesinden (*docking*) sorumludur (260, 267).



Symmetric Nups		Asymmetric Nups																																				
<p><b>POMs (transmembrane ring)</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Yeast</th> <th>Human</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>NDC1</td> <td>NDC1</td> </tr> <tr> <td>POM34</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>POM152</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>Gp210</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>POM121</td> </tr> </tbody> </table>		Yeast	Human	NDC1	NDC1	POM34	...	POM152	...	...	Gp210	...	POM121	<p><b>Channel Nucleoporins (Central FG-Nups)</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Yeast</th> <th>Human</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Nsp1</td> <td>Nup62</td> </tr> <tr> <td>Nup57</td> <td>Nup54</td> </tr> <tr> <td>Nup49</td> <td>Nup58</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Nup45</td> </tr> </tbody> </table>		Yeast	Human	Nsp1	Nup62	Nup57	Nup54	Nup49	Nup58		Nup45													
Yeast	Human																																					
NDC1	NDC1																																					
POM34	...																																					
POM152	...																																					
...	Gp210																																					
...	POM121																																					
Yeast	Human																																					
Nsp1	Nup62																																					
Nup57	Nup54																																					
Nup49	Nup58																																					
	Nup45																																					
<p><b>Adaptor nucleoporins (Inner and Linker Nups)</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Yeast</th> <th>Human</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Nic96</td> <td>Nup93</td> </tr> <tr> <td>Nup192</td> <td>Nup205</td> </tr> <tr> <td>Nup188</td> <td>Nup188</td> </tr> <tr> <td>Nup157</td> <td rowspan="2">Nup155</td> </tr> <tr> <td>Nup170</td> </tr> <tr> <td>Nup53</td> <td>Nup35</td> </tr> <tr> <td>Nup59</td> <td>Nup53</td> </tr> </tbody> </table>		Yeast	Human	Nic96	Nup93	Nup192	Nup205	Nup188	Nup188	Nup157	Nup155	Nup170	Nup53	Nup35	Nup59	Nup53	<p><b>Coat nucleoporins (Outer ring NUPs)</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Yeast</th> <th>Human</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Seh1</td> <td>seh1</td> </tr> <tr> <td>Nup85</td> <td>Nup75/Nup85</td> </tr> <tr> <td>Nup120</td> <td>Nup160</td> </tr> <tr> <td>Sec13</td> <td>Sec13</td> </tr> <tr> <td>Nup145c</td> <td>Nup96</td> </tr> <tr> <td>Nup84</td> <td>Nup107</td> </tr> <tr> <td>Nup133</td> <td>Nup133</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>Nup37</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>Nup43</td> </tr> </tbody> </table>		Yeast	Human	Seh1	seh1	Nup85	Nup75/Nup85	Nup120	Nup160	Sec13	Sec13	Nup145c	Nup96	Nup84	Nup107	Nup133	Nup133	...	Nup37	...	Nup43
Yeast	Human																																					
Nic96	Nup93																																					
Nup192	Nup205																																					
Nup188	Nup188																																					
Nup157	Nup155																																					
Nup170																																						
Nup53	Nup35																																					
Nup59	Nup53																																					
Yeast	Human																																					
Seh1	seh1																																					
Nup85	Nup75/Nup85																																					
Nup120	Nup160																																					
Sec13	Sec13																																					
Nup145c	Nup96																																					
Nup84	Nup107																																					
Nup133	Nup133																																					
...	Nup37																																					
...	Nup43																																					
		<p><b>Nuclear FG-Nups &amp; the Basket</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Yeast</th> <th>Human</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Nup1</td> <td>Nup153</td> </tr> <tr> <td>Nup2</td> <td>Nup50</td> </tr> <tr> <td>Mlp1</td> <td rowspan="2">TPR</td> </tr> <tr> <td>Mlp2</td> </tr> <tr> <td>Nup60</td> <td>...</td> </tr> </tbody> </table>		Yeast	Human	Nup1	Nup153	Nup2	Nup50	Mlp1	TPR	Mlp2	Nup60	...																								
Yeast	Human																																					
Nup1	Nup153																																					
Nup2	Nup50																																					
Mlp1	TPR																																					
Mlp2																																						
Nup60	...																																					
		<p><b>Cytoplasmic FG-Nups &amp; filaments</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Yeast</th> <th>Human</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>...</td> <td>Nup358</td> </tr> <tr> <td>Nup82</td> <td>Nup88</td> </tr> <tr> <td>Nup159</td> <td>Nup214</td> </tr> <tr> <td>Nup42</td> <td>CG1/Nlp1</td> </tr> <tr> <td>Gle2</td> <td>Rae1</td> </tr> <tr> <td>Nup116</td> <td rowspan="3">Nup98</td> </tr> <tr> <td>Nup100</td> </tr> <tr> <td>Nup145N</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>ALADIN</td> </tr> </tbody> </table>		Yeast	Human	...	Nup358	Nup82	Nup88	Nup159	Nup214	Nup42	CG1/Nlp1	Gle2	Rae1	Nup116	Nup98	Nup100	Nup145N	...	ALADIN																	
Yeast	Human																																					
...	Nup358																																					
Nup82	Nup88																																					
Nup159	Nup214																																					
Nup42	CG1/Nlp1																																					
Gle2	Rae1																																					
Nup116	Nup98																																					
Nup100																																						
Nup145N																																						
...	ALADIN																																					

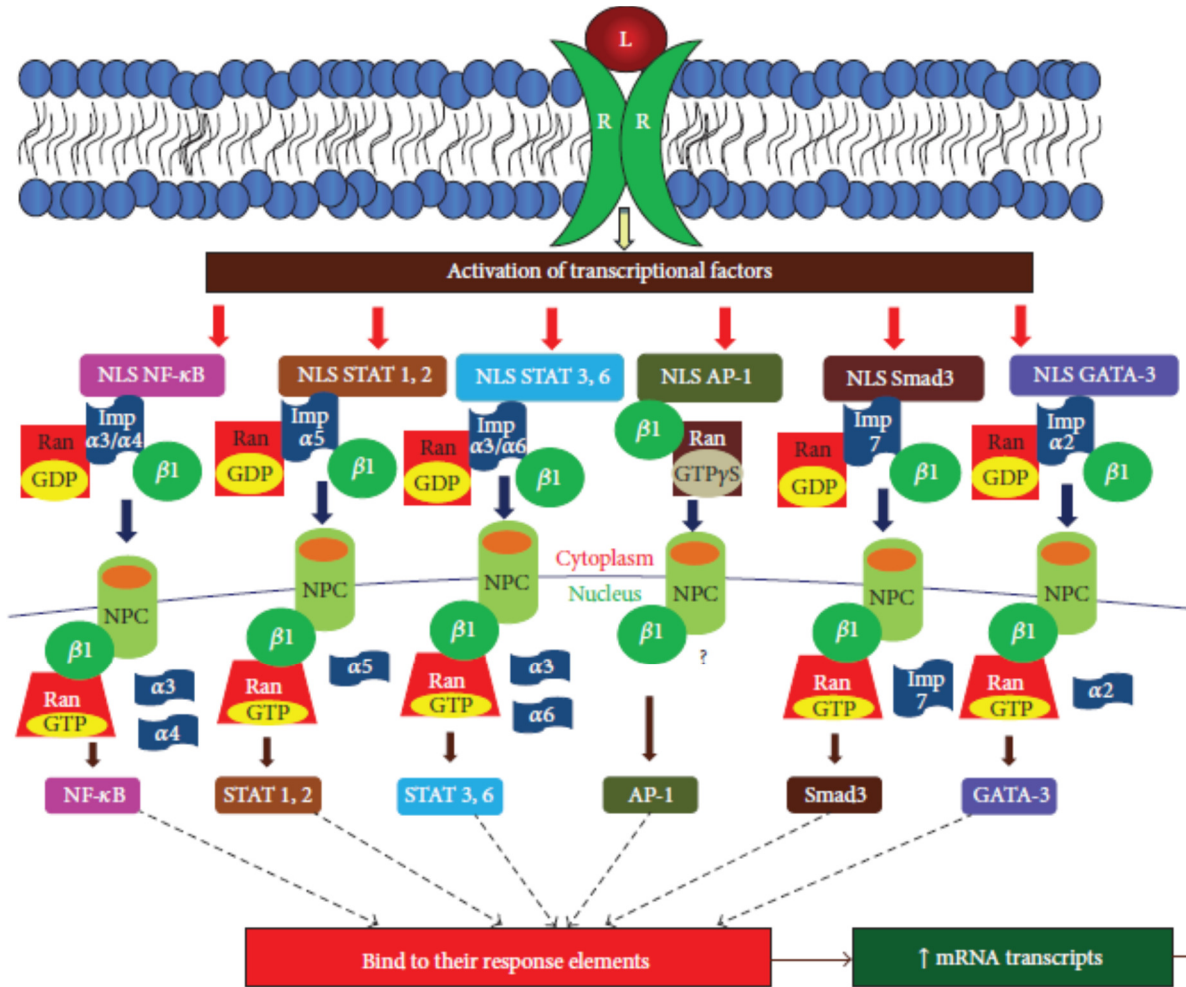
**Şekil 2.16.** NPC'lerin (A) yapısının ve (B) moleküler bileşiminin şematik olarak gösterimi. (C) Listelenmiş olan her bir NPC alt yapısını oluşturduğu bilinen maya ve omurgalı homolog nükleoproteinler (259). *FG*, phenylalanineglycine; *NPC*, nuclear pore complex; *Nups*, nucleoproteins; *POMs*, pore membrane proteins.



**Şekil 2.17.** İmportin-eksportin yolu aracılığıyla makromoleküllerin nükleositoplazmik taşınması (260). *Exp*, exportin; *GAP*, guanosine triphosphatase activating protein; *GDP*, guanosine diphosphate; *GEF*, guanine nucleotide exchange factor; *GTP*, guanosine triphosphate; *NES*, nuclear export signal; *NLS*, nuclear localization signal; *NPC*, nuclear pore complex.

TNF- $\alpha$ 'nın neden olduğu p50/p65 heterodimerinin (veya p50/p50 homodimerinin) nükleusa girişine importin- $\alpha$ 3 ve daha az derecede olmak üzere importin- $\alpha$ 4'ün aracılık ettiği gösterilmiştir (267, 269). p65 veya p50 üzerindeki nükleer yerleşim bölgeleri doğrudan importin- $\alpha$ 3'ün nükleer yerleşim bölgelerine bağlanmakta ve böylece NF- $\kappa$ B dimerlerinin nükleer translokasyonuna neden olmaktadır (267, 269). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mitokondriyal işlev ve protein katlanması (*fold*ing), çoğalmanın kontrolü, onkojenezin baskılanması ve transkripsiyonun düzenlenmesi gibi çeşitli hücrel olaylarda rolü olduğu gösterilen prohibitin 1'in de TNF- $\alpha$ 'nın neden olduğu p65'in nükleusa girişi, NF- $\kappa$ B/DNA bağlanması ve NF- $\kappa$ B aracılıklı transkripsiyonel etkinleşmeyi importin- $\alpha$ 3 ekspresyonunu azaltarak önlediği gösterilmiştir (270).





**Şekil 2.18.** Özgül importin moleküllerinin transkripsiyon faktörlerine bağlanması (260). AP, activator protein; GDP, guanosine diphosphate; GTP, guanosine triphosphate; Imp, importin; L, ligand; mRNA, messenger ribonucleic acid; NF-κB, nuclear factor κB; NLS, nuclear localization signal; NPC, nuclear pore complex; R, receptor; STAT, signal transducer and activator of transcription.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Deney Hayvanı

Deneyleerde 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodunda senkronize edilen 200-350 g ağırlığında 24 adet erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanları Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından sağlanmıştır. Bu tezde sıçanlar üzerinde yapılan tüm işlemler için Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulundan onay alınmıştır (Kurulun 03/07/2014 tarihli ve 2014/15 sayılı kararı).

##### 3.1.2. Sarf Malzemesi

$\beta$ -Gliserofosfat (G9891, Sigma)

$\beta$ -Merkaptoetanol (A1108, AppliChem)

5,14-HEDGE (Department of Biochemistry University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas, Amerika)

Akrilamit 4K çözeltisi (%30) (161-0157, Bio-Rad)

Amonyum persülfat (A2941, AppliChem)

Aprotinin (A2132, AppliChem)

Asetik asit (64-197, Climax)

Askorbik asit (1.00127, Merck)

Ayırıcı cam (*spacer plate*) (10.1 x 8.2 cm, 1.5 mm) (165-3312, Bio-Rad)

Benzamidin (B6506, Sigma)

Bradford reajanı (B6916, Sigma)

Bromfenol mavisi (A3640, AppliChem)

Coomassie *brilliant blue* R 250 (1.12553, Merck)

Disodyum hidrojen fosfat, 12 sulu ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) (1.06566, Merck)

Ditiyotreytol (*dithiothreitol*; DTT) (A2948, AppliChem)

DNA saklama kutusu (81 gözlü) (3122278, Greiner)

Düz tabanlı, 96 kuyucuklu kültür plağı (655160, Greiner)

Etanol (%96) (3221, Riedel-de Haen)

Etilendiamintetraasetik asit (*ethylenediaminetetraacetic acid*; EDTA) (A2937, AppliChem)

Filtre kağıdı (*Whatman grade no 3MM chr chromatography paper, cellulose*) (3030-917, Whatman)

Fosforile j-cun proteini için primer antikor (*p-c-Jun Antibody [Ser 63/73]*) (sc-16312, Santa Cruz)

Gliserol (A2926, AppliChem)

Glisin (A1067, AppliChem)

HEPES (A3724, AppliChem)

Hidroklorik asit (*hydrochloric acid*; HCl) (100314, Merck)

İmportin- $\alpha 3$  proteini için primer antikor (*KPNA3 Antibody*) (PA5-21035, ThermoFisher Scientific)

İzobütanol (A1150, AppliChem)

Kısa cam (*short plate*) (10.1 x 7.3 cm) (165-3308, Bio-Rad)

Kloroform (1.02431, Merck)

Kriyopreservasyon tüpü (*cryo's sterile*, 1 ml, 12, 5/38 mm, *Skirt*) (3123278, Greiner)

Kriyopreservasyon tüpü (*cryo's sterile*, 2 ml, 12, 5/38 mm, *Skirt*) (3122278, Greiner)

Kültür plağı (*microplate*) (655160, Greiner)

Kültür plağı için yapışkanlı kapak (676001, Greiner)

Löpeptin (L9783, Sigma)

LPS (*Escherichia coli* lipopolisakaridi, O111:B4) (LPS) (L4130, Sigma)

Metanol (1.06008, Merck)

Mikrosantrifüj tüpü (*microcentrifuge tube*) (1.5 ml) (616201, Greiner)

Molekül ağırlığı belirteci (*rainbow marker, full-range*) (RPN 800E, Amersham)

N,N,N',N'-Tetrametiletilediamin (*N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine*; TEMED) (A1148, AppliChem, Almanya)

Nitroselüloz membran (*nitrocellulose membrane*) (162-0112, Bio-Rad)

Nükleer ekstraksiyon kiti (*Nuclear Extraction Kit*) (10009277, Cayman)

Pipet ucu (3685290, Greiner)

Pipet ucu (3686290, Greiner)

Pipet ucu (685290, Greiner)

Pipet ucu (686290, Greiner)

Pipet ucu (770291, Greiner)

Polistiren tüp (15 ml) (188271, Greiner)

Polistiren tüp (50 ml) (227261, Greiner)

Ponceau S (A1405, AppliChem)

Potasyum dihidrojen fosfat (*potassium dihydrogen phosphate*;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (1.04873, Merck)

Potasyum klorür (*potassium chloride*;  $\text{KCl}$ ) (1.04936, Merck)

PPAR $\alpha$  proteini için primer antikor (*PPAR $\alpha$  Antibody [H-98]*) (sc-9000, Santa Cruz)

PPAR $\beta$  proteini için primer antikor (*PPAR $\beta$  Antibody [F-10]*) (sc-74517, Santa Cruz)

PPAR $\gamma$  proteini için primer antikor (*PPAR $\gamma$  Antibody [E-8]*) (sc-7273, Santa Cruz)

Primer antikorlara özgü sekonder antikor (*goat anti-rabbit IgG-horseradish peroxidase*) (RPN4301)

Primer antikorlara özgü sekonder antikor (*sheep anti-mouse IgG-horseradish Peroxidase*) (RPN4201)

Proteinleri görüntüleme çözültüsü (*ECL Prime Western Blotting Detection Reagent*) (RPN2232, Amersham, İngiltere)

RXR $\alpha$  proteini için primer antikor (*RXR Antibody [ $\Delta$ N 197]*) (sc-774, Santa Cruz)

Serum fizyolojik (Eczacıbaşı-Baxter)

Sığır serum albümini (*bovine serum albumin*; SSA) (A7906, Sigma)

Sodyum bikarbonat (*sodium bicarbonate*;  $\text{NaHCO}_3$ ) (1.02405, Merck)

Sodyum dodesil fosfat (*sodium dodecyl sulfate*; SDS) (A2263, AppliChem)

Sodyum klorür (*sodium chloride*;  $\text{NaCl}$ ) (1.06404, Merck)

Sodyum ortovanadat (A2196, AppliChem)

Sodyum pirofosfat (A2197, AppliChem)

Sülfosalisilik asit (A0416, AppliChem)  
Trikloroasetik asit (A1431, AppliChem)  
Tris baz (A2264, AppliChem)  
Tris HCl (A3452, AppliChem)  
Tween 20 (A4974, AppliChem)  
Yağsız kurutulmuş süt tozu (*non-fat dry milk*) (YKST) (A0830, AppliChem, Almanya)  
 $\alpha$ -Düz kas aktin proteini için primer antikor (*Anti- $\alpha$  Smooth Muscle Actin Mouse Monoclonal IgG*) (A2547, Sigma)

### 3.1.3. Teçhizat

Çalkalayıcı (*red rotor orbital shaker*) (PR500-176, Hofer)  
Derin dondurucu (dik tip, 410 L, -80°C) (Model U410, New Brunswick)  
Derin donduruculu buzdolabı (Model 1060 T, Arçelik)  
Derin donduruculu buzdolabı (Model 4240 T FH, Arçelik)  
Elektroforez sistemi (*mini-protean tetra 1 mm*) (165-8001, Biorad)  
Güç desteği (*power supply*) (*EV 265 consort power supply, 230 VAC*) (PS265-230V, Hofer)  
Güç kaynağı (1 KVA)  
Güç kaynağı (3 KVA)  
Hassas terazi (Model APX 200, Denver)  
Homojenizatör (Ultra-Turrax, T25, Ika)  
Jel dökümentasyon ve analiz sistemi (*EC3-CHEMI HR Imaging System*) (Ultra-Violet Products, UVP)  
Kan basıncı kayıt sistemi ve ısıtıcılı bölme (*Indirect Blood Pressure Recorder System, Model BPHR 9610, Commat İletişim Ltd.*)  
Manyetik karıştırıcı (BOE 8056500 *magnetic stirrer*) (MMS-3000, ACAdapter 220V, Boeco)  
pH metre (*Orion 3 Star, Thermo, Amerika*)

Plak okuma aygıtı (405, 450, 490, 550 ve 630 nm olmak üzere beş adet filtreli)  
(ELX800, Biotek)

Soğutmalı santrifüj (Model Mikro 22R, Hettich)

Ultrasonik banyo (ısıtmalı, frekans ayarlı) (Elmasonic S 40 / (H), Elma)

Üstten kefeli terazi (Model SPB 52, Scaltec)

Yarı-kuru transfer birimi (*TE 77X semi-dry transfer unit*) (TE77X, Hofer)

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. *In Vivo* Çalışmalar

Endotoksik şok modeli daha önce tarafımızdan kullandığımız yöntemle göre oluşturularak (77), aşağıda belirtilen gruplara ayrılan sıçanlarda *in vivo* çalışmalar yapılmıştır:

Grup 1: Serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) (n= 6)

Grup 2: LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik şok grubu) (n= 6)

Grup 3: Serum fizyolojik + 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) (n= 6)

Grup 4: LPS + 5,14-HEDGE (n= 6)

OAB ve KH'nin kaydı için, sıçanların kuyruğundan ölçüm yapılmasına olanak veren kan basıncı kayıt sistemi kullanılmıştır. Sodyum fosfat tamponu (100 mM, pH 9) içinde çözülerek hazırlanan 5,14-HEDGE, sıçanlara serum fizyolojik veya serum fizyolojik içinde çözülerek hazırlanan LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır (68, 81, 86, 87, 90). Serum fizyolojik veya LPS enjeksiyonundan önce ve 4 saat sonra OAB kaydı alınmıştır. Deneyler sonunda, sıçanların başı sert bir zemine hızla vurularak sersemletildikten sonra hızla boyunlarından kanatılarak ötanazi yapılmasının ardından böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterleri alınmıştır. İzole edilen böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerden hemen sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanarak toplam protein düzeyleri ile PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun,

fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$  ve  $\alpha$ -düz kas aktini ile nükleer RXR $\alpha$  protein düzeyleri ölçülmesi amacı ile -80°C'de saklanmıştır. Doku örneklerinde ölçülen parametreler Çizelge 3.1'de özetlenmiştir.

**Çizelge 3.1.** Böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arter örneklerinde ölçülen parametreler.

Ölçülen Parametre	Böbrek	Kalp	Torasik Aort	Süperiyör Mezenterik Arter
<b>Protein ekspresyonu</b>				
<b>Protein ekspresyonu</b>	+	+	+	+
Sitozolik/nükleer PPAR $\alpha$	+	+	+	+
Sitozolik/nükleer PPAR $\beta$	+	+	+	+
Sitozolik/nükleer PPAR $\gamma$	+	+	+	+
Sitozolik/nükleer c-jun	+	+	+	+
Sitozolik/nükleer fosforile c-jun	+	+	+	+
Sitozolik/nükleer importin- $\alpha 3$	+	+	+	+
Sitozolik/nükleer $\alpha$ -düz kas aktini	+	+	+	+
Nükleer RXR $\alpha$	+	+	+	+

(+), Ölçüm yapıldı. PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör; RXR, retinoit X reseptörü.

### 3.2.2. Doku Örneklerinde Toplam Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Doku örneklerinde toplam protein düzeyi Coomassie mavisı yöntemi ile ölçülmüştür (77, 271). Kısaca, standart olarak kullanılan SSA'nın %1 (ağırlık/hacim) biçiminde distile suda hazırlanan stok çözeltisinden, 0-50  $\mu$ l SSA içeren dizi dilüsyonları (0-50  $\mu$ g/ml) hazırlanmış ve toplam hacimleri distile su ile 800  $\mu$ l'ye ayarlanmıştır. Aynı biçimde, 5  $\mu$ l süpernatant üzerine 795  $\mu$ l distile su eklenerek 800  $\mu$ l hacimde çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler üzerine 200  $\mu$ l Bradford reajanı eklenmiş, bu çözeltilerden alınan 100  $\mu$ l örnek (aynı örnekten 2 kez olmak üzere) kültür plağına aktarılmış ve örneklerin verdikleri absorbanslar, kültür plağı okuyucuda, 630 nm'de okunmuştur. SSA derişimlerine karşı elde edilen absorbanslardan yararlanılarak, doğrusal regresyon yöntemi ile, SSA'nın kalibrasyon doğru denklemleri belirlenmiştir. Bu denklemlerden yararlanılarak, örneklerde okunan absorbans değerlerinden protein düzeyleri bulunmuştur.

### 3.2.3. Doku örneklerinde sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$ ve $\alpha$ -düz kas aktini ile nükleer RXR $\alpha$ protein düzeylerinin ölçülmesi

Doku örneklerinde sitozolik ve nükleer fraksiyonlar *Nuclear Extraction Kit* adlı kitin prospektüsünde yazıldığı biçimde hazırlanmıştır (90). Kısaca, dokular tartılarak, küçük parçalara ayrılmış ve önceden soğutulmuş cam-teflon homojenizasyon tüplerine konularak, buz içinde bekletilmiştir. 1 g doku üzerine 3 ml soğuk DTT ve Nonidet P-40 içeren 1X *hypotonic buffer* eklendikten sonra, dokular cam-teflon homojenizatörde homojenize edilerek, 15 dakika buzda inkübe edilmiştir. Homojenatlar önceden soğutulmuş mikrosantrifüj tüplerine aktarıldıktan sonra tüplerin 4°C'de 300 x g'de 10 dakika santrifüj edilmesinin ardından süpernatantlar önceden soğutulmuş ve "tüp 1" olarak kodlanan mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Pelletlerin üzerine 500  $\mu$ l 1X *hypotonic buffer* eklendikten sonra pipet ile resüspande edilmiş ve örnekler 15 dakika buzda inkübe edilmiştir. Örneklerin üzerine 50  $\mu$ l Nonidet P-40 (%10) eklenerek pipet ile karıştırıldıktan sonra, tüpler 4°C'de 14.000 x g'de 30 saniye santrifüj edilmiştir. Sitozolik fraksiyonu içeren süpernatantlar üzerinde "Tüp 1" yazan mikrosantrifüj tüplerine küçük hacimlerde aktarıldıktan sonra -80°C'de saklanmıştır. Sitozolik fraksiyon elde edilen pelletlerin üzerine 50  $\mu$ l soğuk 1X *nuclear extraction buffer* eklendikten sonra pipet ile resüspande edilmiş ve 15 saniye en yüksek devirde vorteks ile karıştırılmıştır. Buz içindeki tüpler 15 dakika çalkalayıcıda inkübe edilmiş, 30 saniye en yüksek devirde vorteks ile karıştırılmış, 15 dakika çalkalayıcıda inkübe edilmiş ve 4°C'de 14.000 x g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Nükleer fraksiyonu içeren süpernatantlar önceden soğutulmuş mikrosantrifüj tüplerine küçük hacimlerde aktarıldıktan sonra -80°C'de saklanmıştır.

Sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$  ve  $\alpha$ -düz kas aktini ile nükleer RXR $\alpha$  protein düzeyleri daha önce tanımlanan yöntemlere göre ölçülmüştür (68, 81, 86, 87, 90). Çalışmalarda alt jel olarak 6.7 ml %30'luk akrilamit 4K çözeltisi, 5 ml tris çözeltisi (1.5 M, pH 8.8), 0.2 ml %10'luk SDS çözeltisi, 7.9 ml distile su, 0.2 ml %10'luk amonyum persülfat çözeltisi ve 0.008 ml TEMED, üst jel olarak da 1.7 ml %30'luk akrilamit 4K çözeltisi, 1.25 ml tris çözeltisi (1 M, pH 6.8), 0.1 ml



%10'luk SDS çözeltisi, 6.8 ml distile su, 0.1 ml %10'luk amonyum persülfat çözeltisi ve 0.01 ml TEMED kullanılmıştır. Üst jelde oluşturulan çukurlardan birinci çukura 5 µl molekül ağırlığı belirteci, onuncu çukura ise 10 µl Laemmli örnek tamponu eklenmiştir. Elektroforez tampon çözeltisi olarak 500 ml distile su içinde 15 g tris, 72 g glisin ve 5 g SDS içeren bir çözelti (pH 8.3) hazırlanmış ve kullanılmadan hemen önce 1/10 oranında seyreltilerek pH değeri 8.3'e ayarlanmıştır.

25-40 µl HEPES tamponu içinde 10-120 µg toplam protein ve 5 µl Laemmli örnek tamponu (5 ml tris çözeltisi [0.5 M, pH 6.8], 4 ml gliserol, 40 mg bromfenol mavisi, 0.8 g SDS ve 0.8 ml β-merkaptöetanol 10 ml distile su içinde) içeren doku homojenatlarından hazırlanan ve -80°C'de dondurulmuş olan örnekler çözündükten sonra 2 dakika kaynar su içinde bekletilmiş, 4°C'de 23.910 x g'de 10 dakika santrifüj edilmiş, 20-30 µl'de 8-90 µg toplam protein olacak biçimde üst jelde oluşturulan çukurlara eklenmiş ve %10 SDS-poliakrilamid jel elektroforez yöntemi ile yaklaşık 2 saatlik bir sürede ayrılmıştır.

Jeldaki proteinler ise yarı-kuru aktarma (*semi-dry transfer*) yöntemi ile 4.5 saatlik bir sürede nitroselüloz membrana aktarılmıştır. Bu işlem için 800 ml distile su içinde 5.8 g tris, 2.9 g glisin ve 0.37 g SDS içeren bir çözelti (pH 8.3) hazırlanmış ve kullanılmadan hemen önce pH değeri 8.3'e ayarlanarak üzerine 200 ml metanol (%20) eklenmiştir.

Jelden proteinlerin nitroselüloz membrana ne derecede aktarıldığının anlaşılabilmesi için, jeller proteinleri özgül olmayan bir biçimde geri dönüşümsüz olarak bağlayan Coomassie mavisi boyama yöntemi ile boyanmıştır (68, 86, 87, 90). Coomassie mavisi çözeltisi (1 litre distile su içinde 0.25 g Coomassie *brilliant blue* R 250, 400 ml metanol ve 70 ml asetik asit) içinde 4°C'de 12 saat inkübe edilen jeller, boyasızlaştırma çözeltisi I (*destaining solution* I) (20 ml metanol, 3.5 ml asetik asit ve 26.5 ml distile su) içinde 30 dakika inkübe edildikten sonra, boyasızlaştırma çözeltisi II (*destaining solution* II) (3.5 ml asetik asit, 2.5 ml metanol, 44 ml distile su ve 0.5 ml gliserol) içinde inkübe edilmiştir. Jelin zeminindeki mavi renk açılıncaya dek boyasızlaştırma çözeltisi II 1 veya 2 kez değiştirilmiştir. Ayrıca, jelden proteinlerin

nitroselüloz membrana ne derecede aktarıldığının anlaşılabilmesi için membranlar proteinleri geri dönüşümlü olarak bağlayan Ponceau S boyası (100 ml distile su içinde 2 g Ponceau S, 30 g trikloroasetik asit, 30 g sülfosalisilik asit; kullanılmadan hemen önce 1/10 oranında distile su ile seyreltilmiştir) ile boyanmış ve distile su ile yıkanmıştır (273).

Proteinlerin jelden membrana aktarımının sağlandığı görüldükten sonra, membranlar Tris tampon çözeltisi (TTÇ) (3 g tris, 8 g NaCl, 2 g KCl ve 0.5 ml Tween 20 [%0.05] 1 litre distile içinde, pH 7.4) ile 1 kez 5 dakika yıkanmış, %5 YKST içeren TTÇ ile oda sıcaklığında 1 saat bloke edilmiş ve TTÇ ile 5 kez 10 dakika süre ile yıkanmış, ardından da primer antikolar ile 4°C'de 12 saat inkübe edilmiştir. Membranlar, bağlanmamış proteinler TTÇ ile 3 kez 5 dakika yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra, sekonder antikolar ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiş, ardından da TTÇ ile 3 kez 10 dakika süre ile yıkanmıştır. Bazı deneylerde PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$  ve RXR $\alpha$  proteinleri için kullanılan membranlar, TTÇ ile 1 kez 5 dakika süre ile yıkandıktan sonra, %2 YKST + %2 SSA karışımı ile oda sıcaklığında 1 saat bloke edilmiş, TTÇ ile 5 kez 10 dakika süre ile yıkanmış ve c-jun ile  $\alpha$ -düz kas aktini proteinleri için primer ve sekonder antikolar ile inkübe edilmeye hazır duruma getirilmiştir. Bu membranlar primer antikolar ile oda sıcaklığında 2 saat veya 4°C'de 12 saat inkübe edilerek bağlanmamış proteinler TTÇ ile 3 kez 5 dakika yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra, sekonder antikolar ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiş ardından da TTÇ ile 3 kez 10 dakika süre ile yıkanmıştır.

PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$ , RXR $\alpha$  ve  $\alpha$ -düz kas aktini protein ekspresyonlarının en iyi biçimde ölçülebilmesi için yapılan işlemler ve kullanılan antikoların özellikleri Çizelge 3.4'te özetlenmiştir.

**Çizelge 3.2.** Sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$  ve  $\alpha$ -düz kas aktini ile nükleer RXR $\alpha$  protein düzeylerinin ölçülmesinde yapılan işlemler ve kullanılan antikorların özellikleri.

Protein	Molekül Ağırlığı (kDa)	Membran Blokajı	Primer Antikor	Sekonder Antikor
c-Jun	39	---	<i>c-Jun Antibody (H-79)</i> (sc-1694, Santa Cruz) %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:500) oranında, 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Goat Anti-Rabbit IgG-Horseradish Peroxidase</i> (RPN4301, Amersham) %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama
Fosforile c-Jun	39	%5 YKST içeren TTÇ içinde, oda sıcaklığında 1 saat; 4 kez 10 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>p-c-Jun Antibody (Ser 63/73)</i> (sc-16312; Santa Cruz) %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:500) oranında, 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Goat Anti-Rabbit IgG-Horseradish Peroxidase</i> (RPN4301, Amersham) %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama
PPAR $\alpha$	55	%5 YKST içeren TTÇ içinde, oda sıcaklığında 1 saat; 4 kez 10 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>PPAR<math>\alpha</math> Antibody (H-98)</i> (sc-9000, Santa Cruz) %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:500) oranında, 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Goat Anti-Rabbit IgG-Horseradish Peroxidase</i> (RPN4301, Amersham) %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama
PPAR $\beta$	52	%5 YKST içeren TTÇ içinde, oda sıcaklığında 1 saat; 4 kez 10 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>PPAR<math>\beta</math> Antibody (F-10)</i> (sc-74517, Santa Cruz) %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:500) oranında, 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Sheep Anti-Mouse IgG-Horseradish Peroxidase</i> (RPN 4201, Amersham) %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama
PPAR $\gamma$	67	%5 YKST içeren TTÇ içinde, oda sıcaklığında 1 saat; 4 kez 10 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>PPAR<math>\gamma</math> Antibody (E-8)</i> (sc-7273, Santa Cruz) %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:500) oranında, 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Sheep Anti-Mouse IgG-Horseradish Peroxidase</i> (RPN 4201, Amersham) %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama
İmportin- $\alpha 3$	~ 58	%5 YKST içeren TTÇ içinde, oda sıcaklığında 1 saat; 4 kez 10 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>KPNA3 Antibody (PA5-21035, ThermoFisher Scientific)</i> %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:500) oranında, 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Goat Anti-Rabbit IgG-Horseradish Peroxidase</i> (RPN4301, Amersham) %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama

**Çizelge 3.2. (devam)** Sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, fosforile c-jun, importin- $\alpha 3$  ve  $\alpha$ -düz kas aktini ile nükleer RXR $\alpha$  protein düzeylerinin ölçülmesinde yapılacak olan işlemler ve kullanılacak antikorların özellikleri.

Protein	Molekül Ağırlığı (kDa)	Membran Blokajı	Primer Antikor	Sekonder Antikor
$\alpha$ -Düz kas aktini	45	---*	<i>Anti-<math>\alpha</math> Smooth Muscle Actin Mouse Monoclonal IgG (A2547, Sigma)</i> %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Sheep Anti-Mouse IgG-Horseradish Peroxidase (RPN 4201, Amersham)</i> %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama
RXR $\alpha$	50-54	%5 YKST içeren TTÇ içinde, oda sıcaklığında 1 saat; 4 kez 10 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>RXR Antibody (<math>\Delta N</math> 197) (sc-774, Santa Cruz)</i> %5 SSA içeren TTÇ içinde (1:500) oranında), 4°C'de 12 saat inkübasyon; 3 kez 5 dakika süre TTÇ ile yıkama	<i>Goat Anti-Rabbit IgG-Horseradish Peroxidase (RPN4301, Amersham)</i> %0.1 SSA içeren TTÇ içinde (1:1.000 oranında), oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon; 3 kez 10 dakika TTÇ ile yıkama

\* Daha önce kullanılıp da yeniden kullanıma hazır duruma getirilen membranlar kullanılmıştır. PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör; RXR, retinoit X reseptörü; SSA, sığır serum albümini; TTÇ, tris tampon çözeltisi; YKST, yağsız kurutulmuş süt tozu.

### 3.2.4. İmmünoreaktif Proteinlerin Analizi

Coomassie mavisi boyama yöntemi ile boyanan jeller doğrudan, nitroselüloz membranda bulunan immünoreaktif proteinler ise membranların görüntüleme çözeltisi ile inkübe edilmesinin ardından jel dökümentasyon ve analiz sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Jel dokümantasyon ve analiz sistemi ile görüntülenen immünoreaktif proteinlerin yoğunluk analizi bir yazılım programı (*NIH image software; ImageJ 1.46r, Wayne Rasband, National Institute of Health, Bethesda, MD, USA*) kullanılarak yapılmıştır.

### 3.2.5. Verilerin Analizi

Sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası biçiminde gösterilmiştir. Kullanılan sıçan sayısı  $n$  ile ifade edilmiştir. İstatistiksel karşılaştırmalar için tek-yönlü varyans analizi (*analysis of variance*; ANOVA) ve ardından Student-Newman-Keuls çoklu karşılaştırmalar testi veya Kruskal-Wallis testi ve ardından Dunns çoklu karşılaştırmalar testi ile Student  $t$  testi veya Mann-Whitney  $U$  testleri kullanılmıştır. Bu testler *GraphPad Prism version 5.01 for Windows* (*GraphPad Software*, San Diego California USA, <http://www.graphpad.com>) programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel olarak 0.05'ten küçük  $P$  değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. 5,14-HEDGE'nin LPS'ye Verilen Kardiyovasküler Yanıt Üzerindeki Etkisi

Şıçanlara serum fizyolojik ve/veya LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanan 5,14-HEDGE ile OAB ve KH'de oluşan değişiklikler ile ilgili bulgular Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

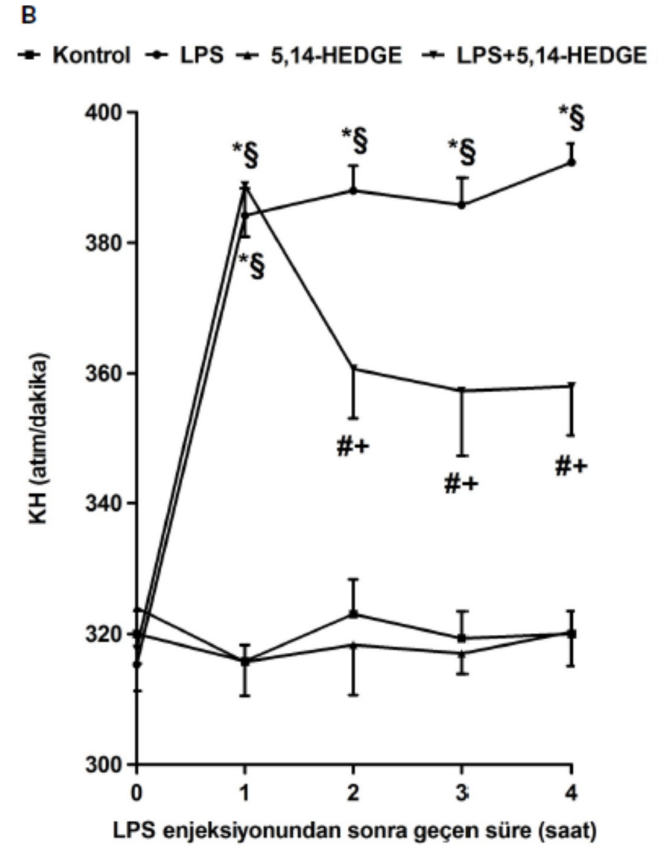
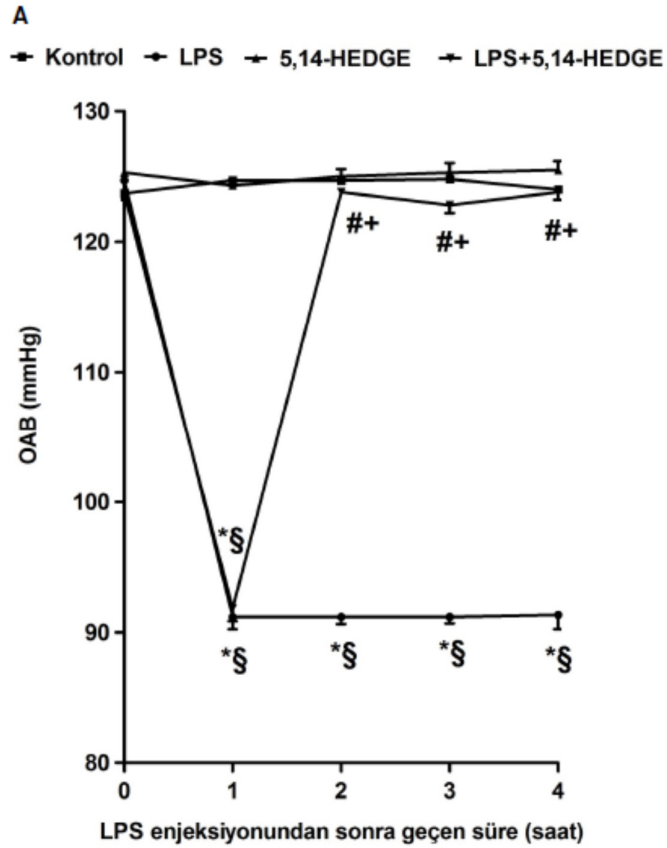
5,14-HEDGE tek başına uygulandığında OAB ve KH değerlerinde bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ). LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanan grupta, LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra azalan OAB ve artan KH, 5,14-HEDGE uygulanmasından sonraki birinci, ikinci ve üçüncü saatlerde önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanan grup, LPS grubu ile karşılaştırıldığında ise 5,14-HEDGE'nin, LPS'nin neden olduğu OAB'deki azalmayı ve KH'deki artmayı ikinci, üçüncü ve dördüncü saatlerde önlediği görülmüştür ( $P < 0.05$ ). LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanan grupta ölçülen OAB ve KH değerleri arasındaki farklılık birinci saat değerleri dışında kontrol grubundan farklı değildir ( $P > 0.05$ ).

Bu bulgular, LPS uygulanmasından 1 saat sonra oluşan hipotansiyon ve takikardiye endojen olarak 20-HETE oluşumundaki azalmanın katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımız, ayrıca, LPS'nin OAB ve KH'de neden olduğu değişikliklerin 5,14-HEDGE ile önlenebileceğini göstermektedir.

**Çizelge 4.1.** Kontrol ve endotoksemik sıçanlarda 5,14-HEDGE'nin OAB ve KH üzerindeki etkisi.

	LPS uygulanmasından sonra geçen süre (saat)				
	0	1	2	3	4
<b>Kontrol</b>					
<b>OAB</b>	123.70±0.49 (n= 6)	124.70±0.42 (n= 6)	124.70±0.21 (n= 6)	124.80±0.17 (n= 6)	124.00±0.26 (n= 6)
<b>KH</b>	320.00±3.51 (n= 6)	315.80±2.50 (n= 6)	323.00±5.34 (n= 6)	319.30±4.12 (n= 6)	320.00±3.45 (n= 6)
<b>LPS</b>					
<b>OAB</b>	124.70±0.21 (n= 6)	91.17±0.95 <sup>*§</sup> (n= 6)	91.17±0.54 <sup>*§</sup> (n= 6)	91.17±0.48 <sup>*§</sup> (n= 6)	91.33±1.09 <sup>*§</sup> (n= 6)
<b>KH</b>	315.30±4.81 (n= 6)	384.20±4.14 <sup>*§</sup> (n= 6)	388.00±3.80 <sup>*§</sup> (n= 6)	385.80±4.17 <sup>*§</sup> (n= 6)	392.30±2.91 <sup>*§</sup> (n= 6)
<b>5,14-HEDGE</b>					
<b>OAB</b>	125.30±0.21 (n= 6)	124.30±0.42 (n= 6)	125.00±0.58 (n= 6)	125.30±0.72 (n= 6)	125.50±0.67 (n= 6)
<b>KH</b>	324.00±12.74 (n= 6)	315.70±5.18 (n= 6)	318.30±7.66 (n= 6)	317.00±3.14 (n= 6)	320.30±5.23 (n= 6)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>					
<b>OAB</b>	123.70±0.33 (n= 6)	91.83±0.98 <sup>*§</sup> (n= 6)	123.80±0.17 <sup>#+</sup> (n= 6)	122.80±0.60 <sup>#+</sup> (n= 6)	123.80±0.60 <sup>#+</sup> (n= 6)
<b>KH</b>	317.70±2.23 (n= 6)	388.80±7.89 <sup>*§</sup> (n= 6)	360.70±7.60 <sup>#+</sup> (n= 6)	357.30±10.08 <sup>#+</sup> (n= 6)	358.00±7.64 <sup>#+</sup> (n= 6)

5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; KH, kalp hızı; LPS, lipopolisakkarit, OAB, ortalama arter basıncı. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. OAB değerleri mmHg ve KH değerleri atım/dakika olarak ortalama±ortalamaların standart hatası biçiminde gösterilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol, # LPS, § 0. ve + 1. saat değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek-yönlü ANOVA ve ardından Student-Newman-Keuls çoklu karşılaştırmalar testi ya da Kruskal-Wallis testi ve ardından Dunns testi;  $P < 0.05$ ).



**Şekil 4.1.** Kontrol ve endotoksemik sıçanlarda 5,14-HEDGE'nin (A) OAB ve (B) KH üzerindeki etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; KH, kalp hızı; LPS, lipopolisakkarit, OAB, ortalama arter basıncı. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. OAB değerleri mmHg ve KH değerleri atım/dakika olarak ortalama±ortalamaların standart hatası biçiminde gösterilmiştir. \* Kontrol, # LPS, § 0. ve + 1. saat değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek-yönlü ANOVA ve ardından Student-Newman-Keuls çoklu karşılaştırmalar testi ya da Kruskal-Wallis testi ve ardından Dunns testi;  $P < 0.05$ ).



#### **4.2. 5,14-HEDGE'nin Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların Böbrek, Kalp, Torasik Aort ve Süperiyor Mezenterik Arterlerinde Aktin Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi**

Sıçanlara serum fizyolojik ve/veya LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanmasından sonra izole edilen böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerin sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında  $\alpha$ -düz kas aktini protein ekspresyonundaki değişiklikler ile ilgili bulgular Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Serum fizyolojik, LPS ve/veya 5,14-HEDGE uygulanan sıçanlardan izole edilen dokuların sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında  $\alpha$ -düz kas aktini protein ekspresyonunda oluşan değişiklikler bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ).

**Çizelge 4.2.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer  $\alpha$ -düz kas aktini protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

	Sitozolik $\alpha$ -düz kas aktini protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/mg toplam protein)	Nükleer $\alpha$ -düz kas aktini protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/mg toplam protein)
<b>Böbrek</b>		
<b>Kontrol</b>	11345±365 (n= 4)	44799±1821 (n= 4)
<b>LPS</b>	11128±445 (n= 4)	45204±487 (n= 4)
<b>5,14-HEDGE</b>	11025±265 (n= 4)	44454±1110 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	10827±634 (n= 4)	43241±1910 (n= 4)
<b>Kalp</b>		
<b>Kontrol</b>	10203±637 (n= 4)	56948±6681 (n= 4)
<b>LPS</b>	9446±1178 (n= 4)	58866±5382 (n= 4)
<b>5,14-HEDGE</b>	9958±1116 (n= 4)	59635±5251 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	9876±1001 (n= 4)	61502±4829 (n= 4)
<b>Torasik aort</b>		
<b>Kontrol</b>	17882±611 (n= 4)	31009±1172 (n= 4)
<b>LPS</b>	18435±701 (n= 4)	30009±2117 (n= 4)
<b>5,14-HEDGE</b>	19606±993 (n= 4)	36698±3099 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	20729±244 (n= 4)	40165±877 (n= 4)
<b>Süperiyor mezenterik arter</b>		
<b>Kontrol</b>	28761±851 (n= 4)	70999±4344 (n= 4)
<b>LPS</b>	30205±879 (n= 4)	75104±4613 (n= 4)
<b>5,14-HEDGE</b>	31612±1779 (n= 4)	75884±4208 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	30040±1695 (n= 4)	77657±2518 (n= 4)

5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. Sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir.

### 4.3. 5,14-HEDGE'nin Sitolik ve Nükleer PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$ ve PPAR $\gamma$ Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi

Sıçanlara serum fizyolojik ve/veya LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanmasından sonra izole edilen böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerin sitolitik ve nükleer fraksiyonlarında PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  protein ekspresyonu ile ilgili bulgular Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4 ile Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de verilmiştir.

LPS uygulanmasından 4 saat sonra sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin sitolitik ve nükleer fraksiyonlarında PPAR $\alpha$  (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2), PPAR $\beta$  (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3) ve PPAR $\gamma$  (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4) protein ekspresyonunda azalma olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). LPS'nin PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  protein ekspresyonunda neden olduğu azalma 5,14-HEDGE ile önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 5,14-HEDGE tek başına uygulandığında doku PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  protein ekspresyonunda bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ). Bu bulgulara ek olarak, LPS uygulanan sıçanların renal, kardiyak ve vasküler dokularında ölçülen nükleer/sitolik PPAR $\alpha$  (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.5), PPAR $\beta$  (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.6) ve PPAR $\gamma$  (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7) protein oranlarının azaldığı gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). LPS'nin nükleer/sitolik PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  protein oranlarında neden olduğu azalma 5,14-HEDGE ile önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 5,14-HEDGE tek başına uygulandığında doku nükleer/sitolik PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  protein oranlarında bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Bu bulgular, LPS uygulanmasından 4 saat sonra böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterin sitolitik ve nükleer fraksiyonlarında PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  proteinlerinin ekspresyonu ile nükleer translokasyonunun azaldığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, LPS'nin neden olduğu sitolitik ve nükleer PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  proteinlerinin ekspresyonu ile nükleer translokasyonundaki azalma 5,14-HEDGE ile önlenmektedir.

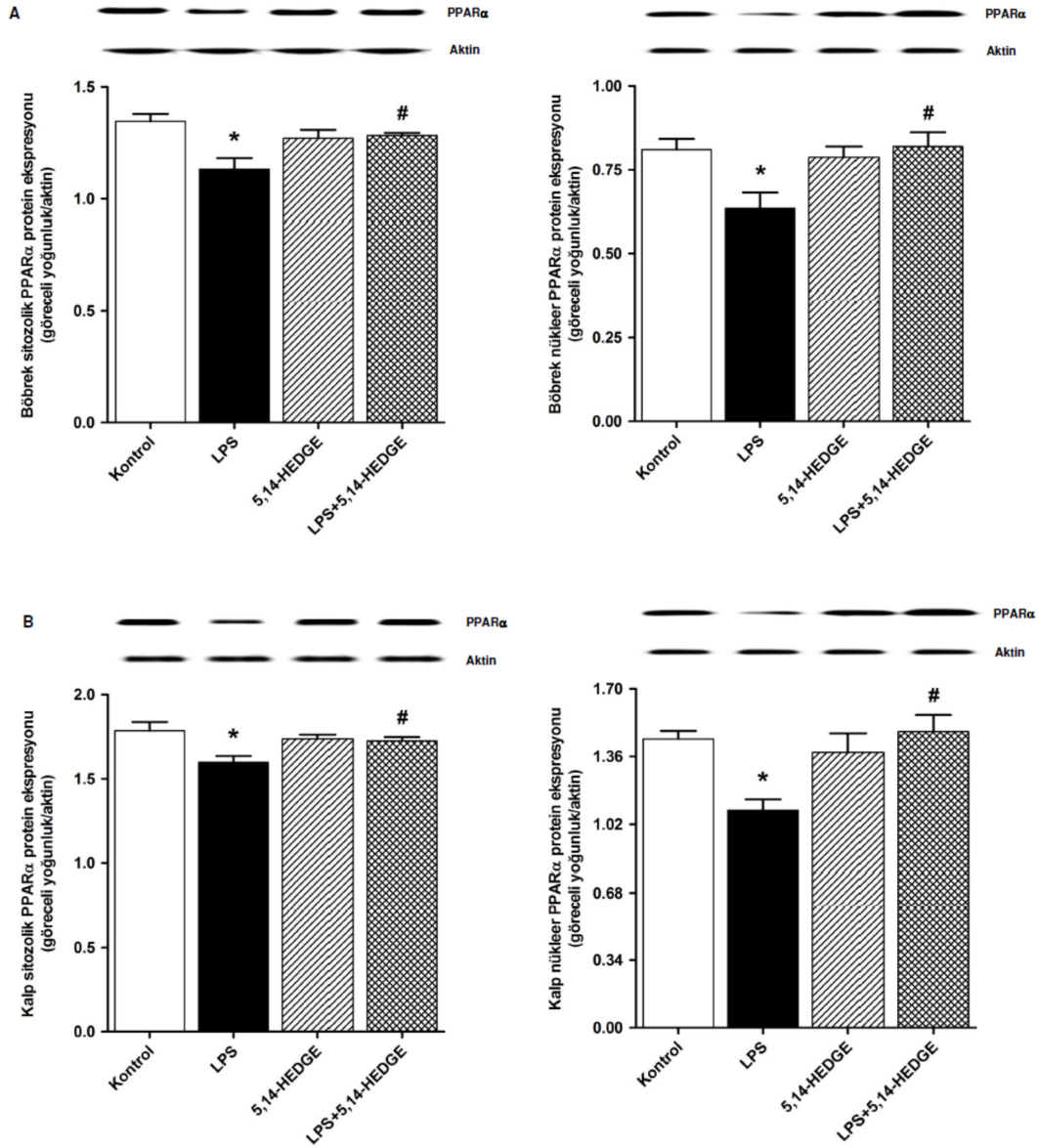
**Çizelge 4.3.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  proteinlerinin ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

	PPAR $\alpha$ protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	PPAR $\beta$ protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	PPAR $\gamma$ protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)
<b>Böbrek</b>			
<i>Sitozolik</i>			
<b>Kontrol</b>	1.345 $\pm$ 0.034 (n= 4)	1.050 $\pm$ 0.020 (n= 4)	1.258 $\pm$ 0.043 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.133 $\pm$ 0.048 (n= 4)*	0.933 $\pm$ 0.020 (n= 4)*	1.025 $\pm$ 0.023 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.270 $\pm$ 0.038 (n= 4)	1.020 $\pm$ 0.016 (n= 4)	1.240 $\pm$ 0.053 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.283 $\pm$ 0.012 (n= 4) <sup>#</sup>	1.058 $\pm$ 0.025 (n= 4) <sup>#</sup>	1.213 $\pm$ 0.065 (n= 4) <sup>#</sup>
<i>Nükleer</i>			
<b>Kontrol</b>	0.810 $\pm$ 0.032 (n= 4)	1.013 $\pm$ 0.025 (n= 4)	1.088 $\pm$ 0.033 (n= 4)
<b>LPS</b>	0.635 $\pm$ 0.047 (n= 4)*	0.850 $\pm$ 0.050 (n= 4)*	0.920 $\pm$ 0.026 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	0.789 $\pm$ 0.032 (n= 4)	0.928 $\pm$ 0.048 (n= 4)	1.093 $\pm$ 0.034 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	0.820 $\pm$ 0.041 (n= 4) <sup>#</sup>	1.000 $\pm$ 0.023 (n= 4) <sup>#</sup>	1.065 $\pm$ 0.044 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Kalp</b>			
<i>Sitozolik</i>			
<b>Kontrol</b>	1.785 $\pm$ 0.052 (n= 4)	1.188 $\pm$ 0.046 (n= 4)	2.190 $\pm$ 0.064 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.598 $\pm$ 0.037 (n= 4)*	0.915 $\pm$ 0.041 (n= 4)*	1.783 $\pm$ 0.092 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.738 $\pm$ 0.025 (n= 4)	1.100 $\pm$ 0.049 (n= 4)	2.058 $\pm$ 0.077 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.725 $\pm$ 0.023 (n= 4) <sup>#</sup>	1.095 $\pm$ 0.037 (n= 4) <sup>#</sup>	2.085 $\pm$ 0.044 (n= 4) <sup>#</sup>
<i>Nükleer</i>			
<b>Kontrol</b>	1.448 $\pm$ 0.041 (n= 4)	1.185 $\pm$ 0.026 (n= 4)	0.970 $\pm$ 0.061 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.090 $\pm$ 0.055 (n= 4)*	1.050 $\pm$ 0.011 (n= 4)*	0.610 $\pm$ 0.090 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.380 $\pm$ 0.096 (n= 4)	1.120 $\pm$ 0.014 (n= 4)	0.943 $\pm$ 0.063 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.485 $\pm$ 0.084 (n= 4) <sup>#</sup>	1.218 $\pm$ 0.045 (n= 4) <sup>#</sup>	0.880 $\pm$ 0.050 (n= 4) <sup>#</sup>

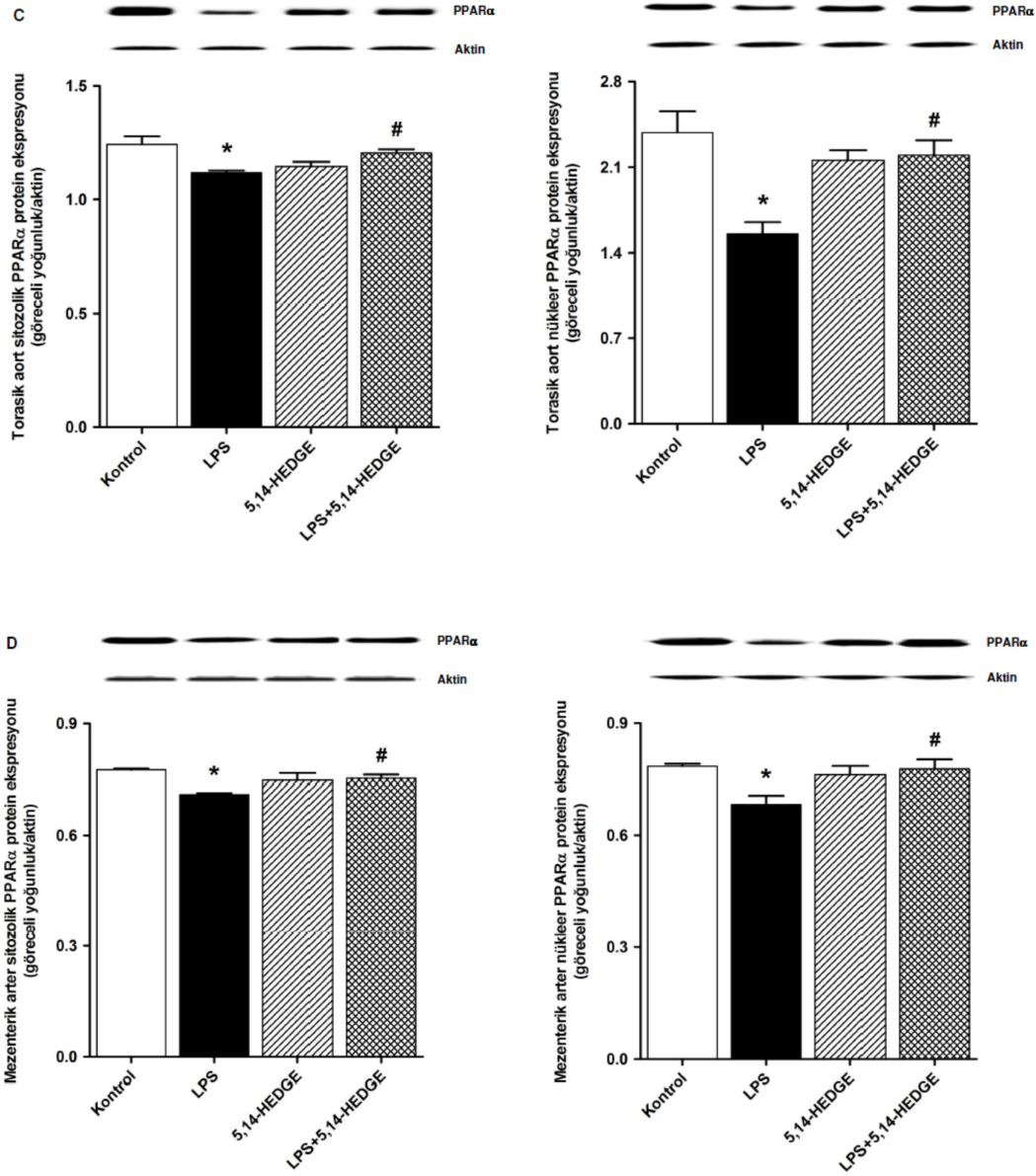
**Çizelge 4.3. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  proteinlerinin ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

	PPAR $\alpha$ protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	PPAR $\beta$ protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	PPAR $\gamma$ protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)
<b>Torasik aort</b>			
<i>Sitozolik</i>			
Kontrol	1.243±0.035 (n= 4)	1.715±0.067 (n= 4)	1.020±0.039 (n= 4)
LPS	1.118±0.010 (n= 4)*	1.448±0.015 (n= 4)*	0.858±0.021 (n= 4)*
5,14-HEDGE	1.145±0.021 (n= 4)	1.603±0.031 (n= 4)	1.080±0.020 (n= 4)
LPS+5,14-HEDGE	1.205±0.016 (n= 4) <sup>#</sup>	1.660±0.054 (n= 4) <sup>#</sup>	0.990±0.044 (n= 4) <sup>#</sup>
<i>Nükleer</i>			
Kontrol	2.383±0.174 (n= 4)	4.263±0.215 (n= 4)	1.710±0.092 (n= 4)
LPS	1.555±0.096 (n= 4)*	3.370±0.062 (n= 4)*	1.383±0.063 (n= 4)*
5,14-HEDGE	2.158±0.081 (n= 4)	3.810±0.145 (n= 4)	1.695±0.067 (n= 4)
LPS+5,14-HEDGE	2.198±0.122 (n= 4) <sup>#</sup>	4.213±0.264 (n= 4) <sup>#</sup>	1.758±0.025 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Süperiyör mezenterik arter</b>			
<i>Sitozolik</i>			
Kontrol	0.775±0.003 (n= 4)	1.103±0.012 (n= 4)	1.053±0.010 (n= 4)
LPS	0.710±0.004 (n= 4)*	1.030±0.015 (n= 4)*	0.948±0.016 (n= 4)*
5,14-HEDGE	0.748±0.019 (n= 4)	1.075±0.013 (n= 4)	1.028±0.019 (n= 4)
LPS+5,14-HEDGE	0.753±0.010 (n= 4) <sup>#</sup>	1.093±0.015 (n= 4) <sup>#</sup>	1.053±0.021 (n= 4) <sup>#</sup>
<i>Nükleer</i>			
Kontrol	0.785±0.007 (n= 4)	1.108±0.003 (n= 4)	0.925±0.016 (n= 4)
LPS	0.683±0.023 (n= 4)*	1.008±0.005 (n= 4)*	0.810±0.007 (n= 4)*
5,14-HEDGE	0.763±0.023 (n= 4)	1.075±0.023 (n= 4)	0.895±0.007 (n= 4)
LPS+5,14-HEDGE	0.778±0.026 (n= 4) <sup>#</sup>	1.078±0.019 (n= 4) <sup>#</sup>	0.900±0.008 (n= 4) <sup>#</sup>

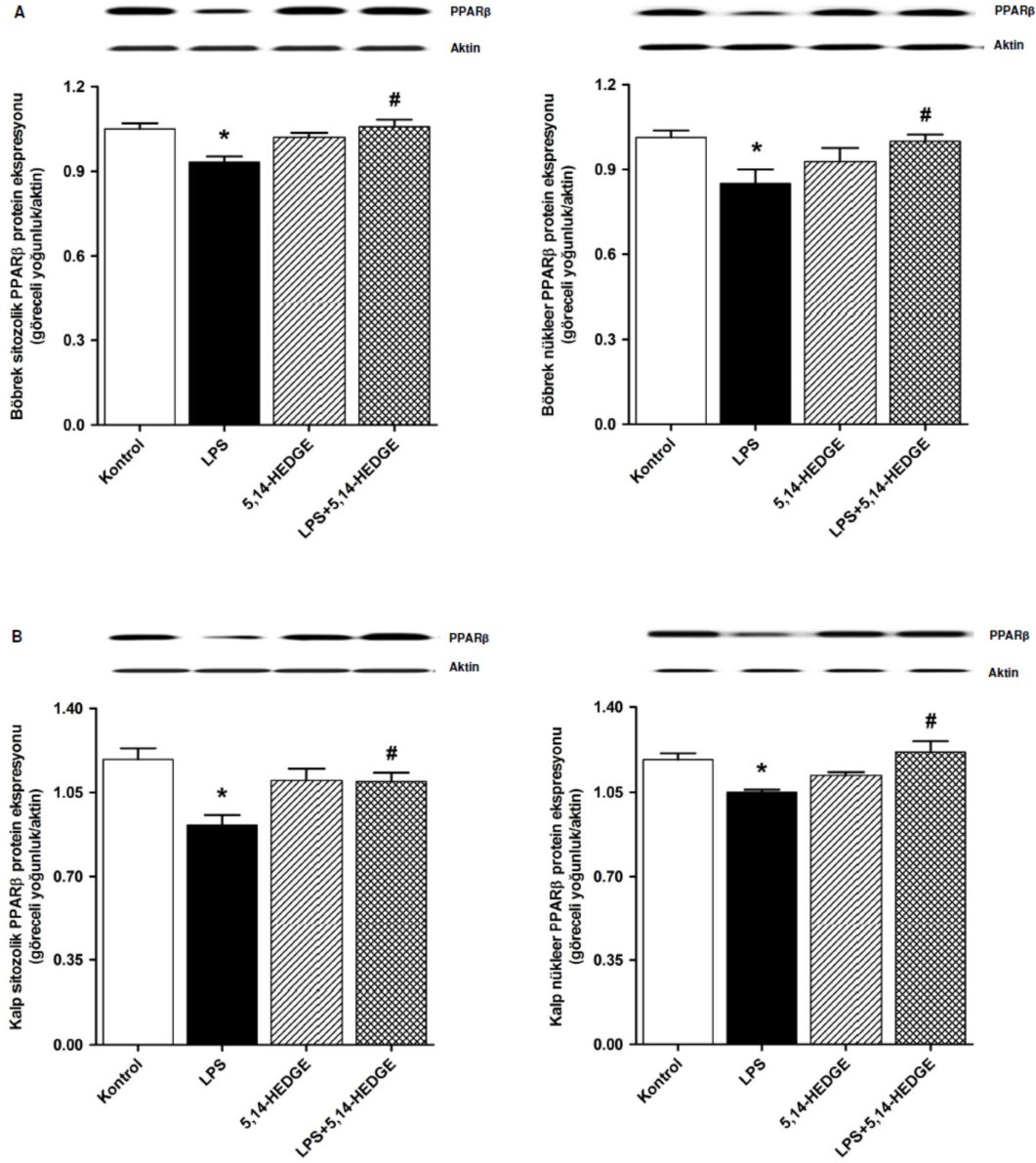
5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve <sup>#</sup> LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi; *P* < 0.05).



**Şekil 4.2.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\alpha$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakarit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

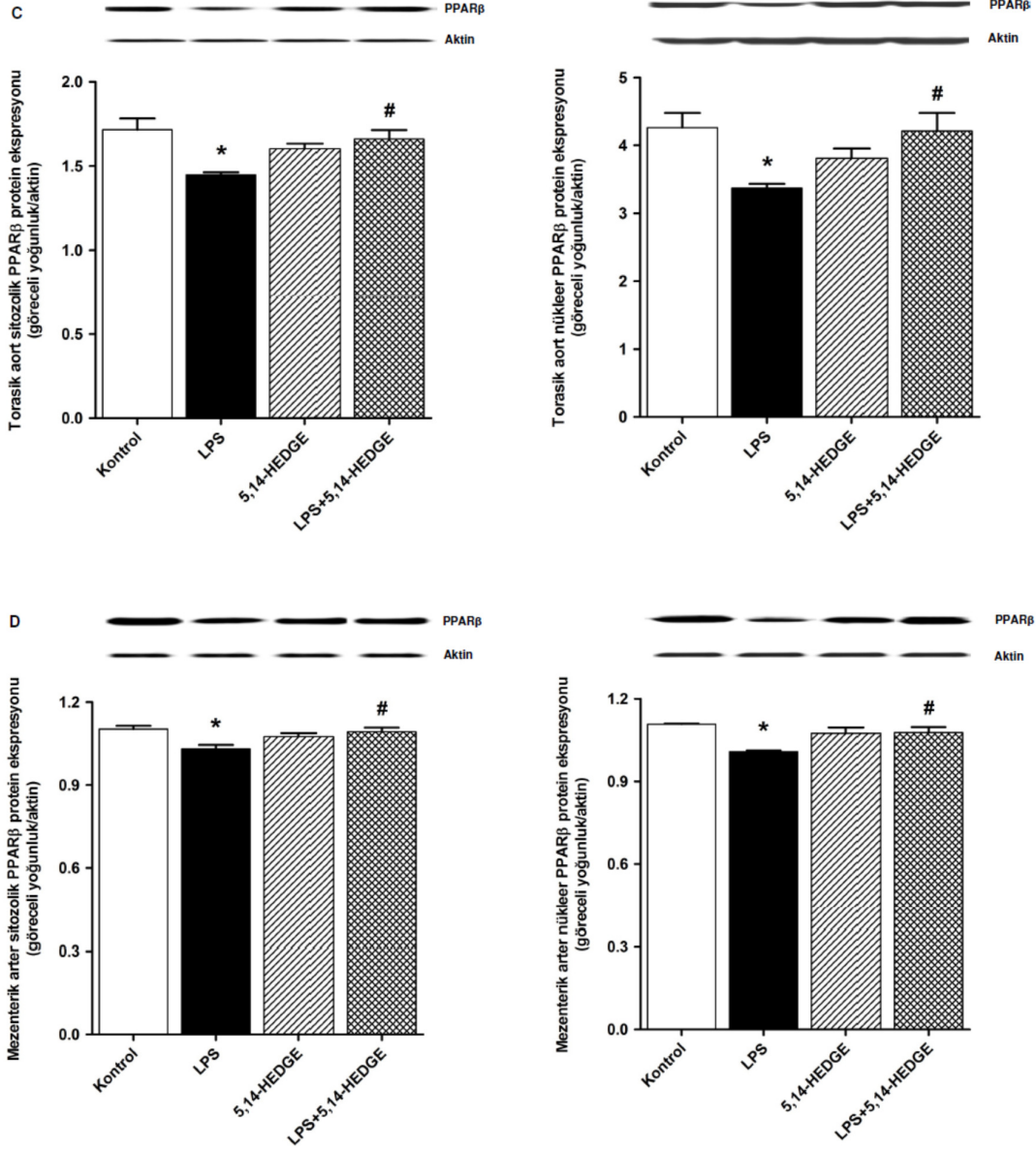


**Şekil 4.2. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\alpha$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksiiekoza-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

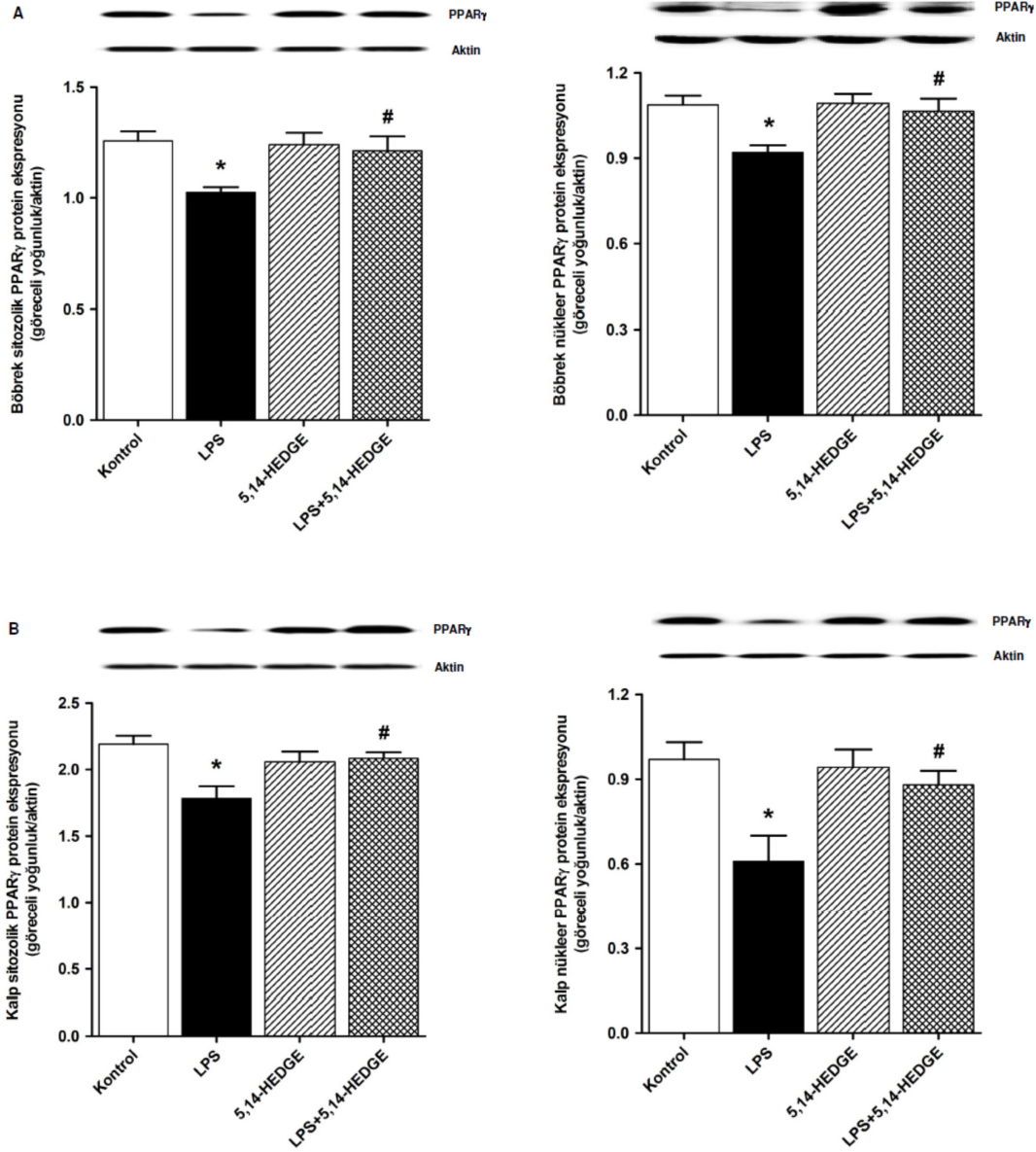


**Şekil 4.3.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\beta$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

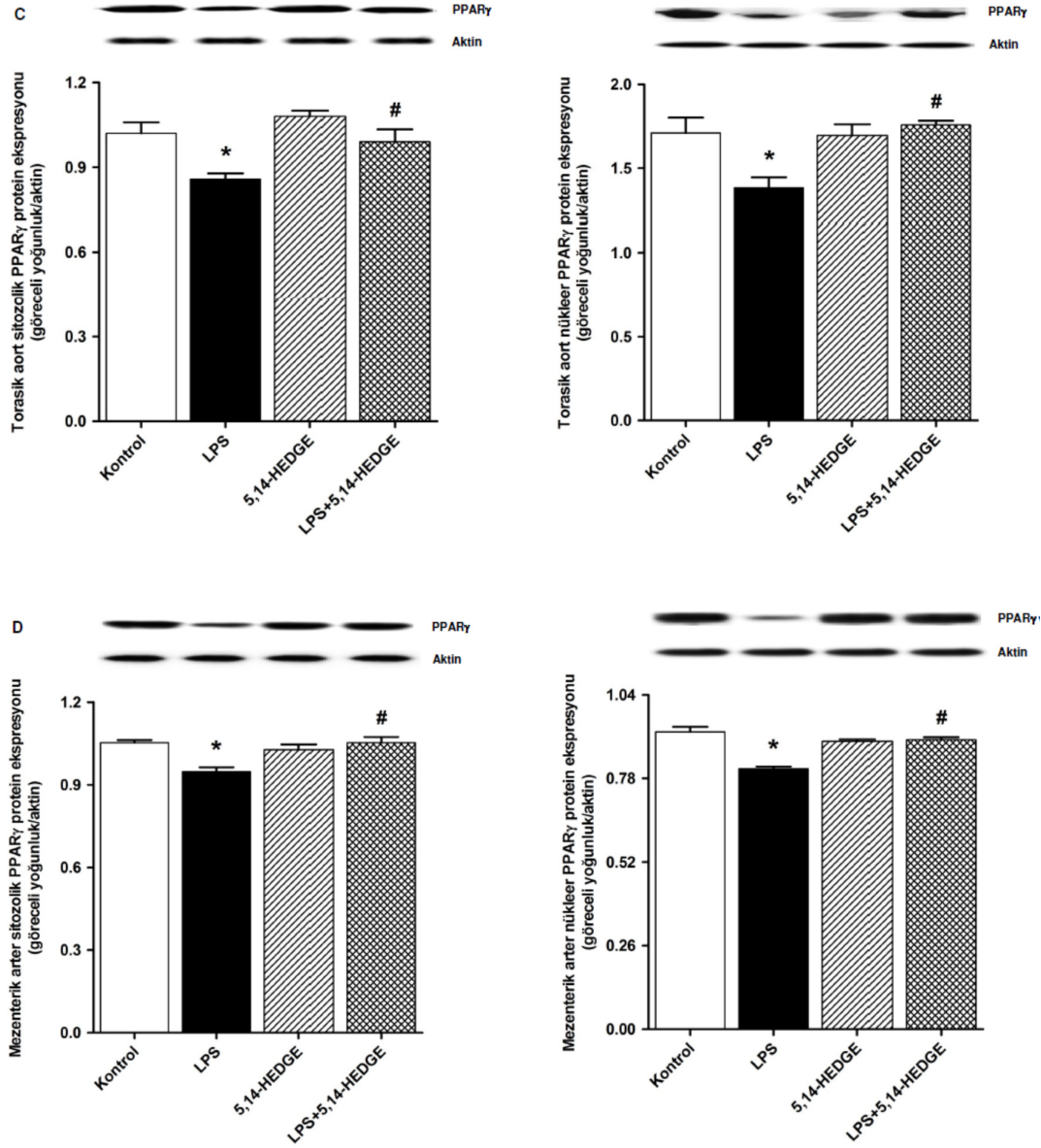




**Şekil 4.3. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyör mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\beta$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).



**Şekil 4.4.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyör mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\gamma$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi; P < 0.05).

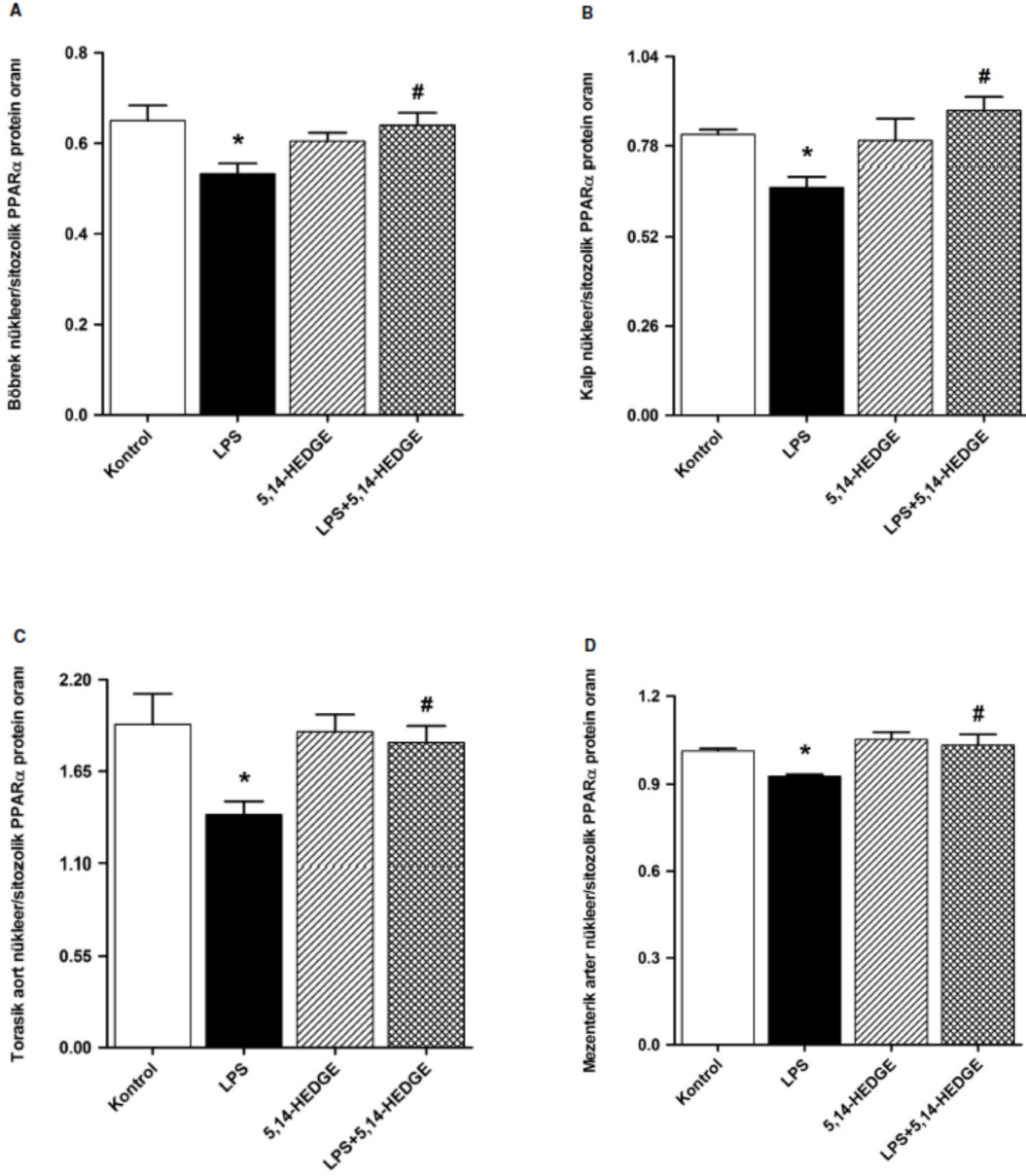


**Şekil 4.4. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer PPAR $\gamma$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksiiekoza-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

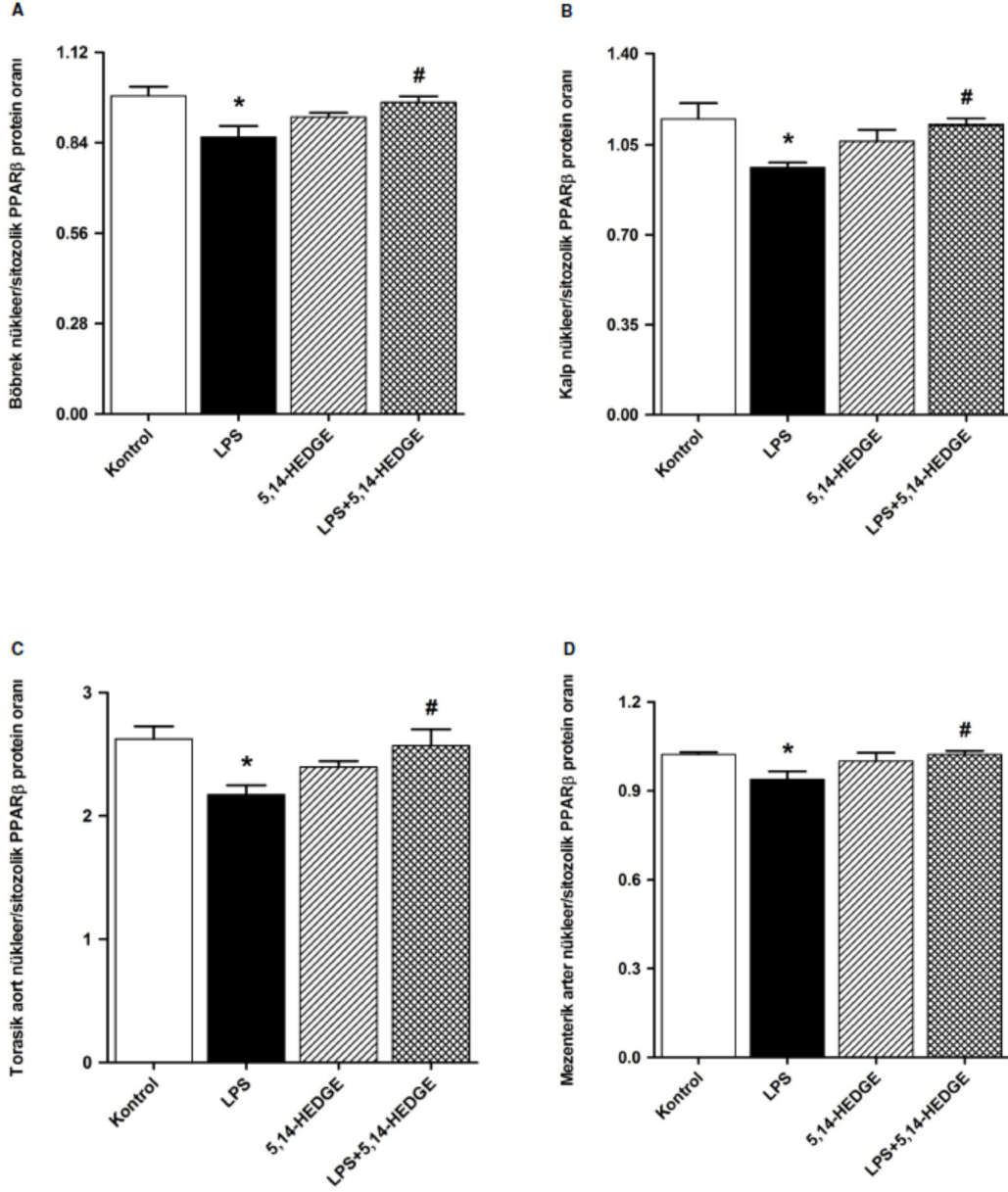
**Çizelge 4.4.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  ve PPAR $\gamma$  proteinlerinin hesaplanan oranları üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

	Nükleer/sitozolik PPAR $\alpha$ protein oranı	Nükleer/sitozolik PPAR $\beta$ protein oranı	Nükleer/sitozolik PPAR $\gamma$ protein oranı
<b>Böbrek</b>			
<b>Kontrol</b>	0.650 $\pm$ 0.033 (n= 4)	0.985 $\pm$ 0.029 (n= 4)	0.905 $\pm$ 0.027 (n= 4)
<b>LPS</b>	0.533 $\pm$ 0.023 (n= 4)*	0.858 $\pm$ 0.034 (n= 4)*	0.785 $\pm$ 0.019 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	0.605 $\pm$ 0.019 (n= 4)	0.920 $\pm$ 0.013 (n= 4)	0.888 $\pm$ 0.049 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	0.640 $\pm$ 0.027 (n= 4) <sup>#</sup>	0.965 $\pm$ 0.019 (n= 4) <sup>#</sup>	0.965 $\pm$ 0.041 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Kalp</b>			
<b>Kontrol</b>	0.813 $\pm$ 0.014 (n= 4)	1.145 $\pm$ 0.061 (n= 4)	0.480 $\pm$ 0.020 (n= 4)
<b>LPS</b>	0.663 $\pm$ 0.031 (n= 4)*	0.963 $\pm$ 0.019 (n= 4)*	0.313 $\pm$ 0.034 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	0.795 $\pm$ 0.064 (n= 4)	1.065 $\pm$ 0.044 (n= 4)	0.428 $\pm$ 0.021 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	0.883 $\pm$ 0.040 (n= 4) <sup>#</sup>	1.125 $\pm$ 0.133 (n= 4) <sup>#</sup>	0.453 $\pm$ 0.022 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Torasik aort</b>			
<b>Kontrol</b>	1.930 $\pm$ 0.185 (n= 4)	2.623 $\pm$ 0.104 (n= 4)	1.780 $\pm$ 0.066 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.390 $\pm$ 0.080 (n= 4)*	2.173 $\pm$ 0.076 (n= 4)*	1.445 $\pm$ 0.046 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.188 $\pm$ 0.102 (n= 4)	2.395 $\pm$ 0.047 (n= 4)	1.650 $\pm$ 0.023 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.823 $\pm$ 0.100 (n= 4) <sup>#</sup>	2.570 $\pm$ 0.132 (n= 4) <sup>#</sup>	1.788 $\pm$ 0.099 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Süperiyor mezenterik arter</b>			
<b>Kontrol</b>	1.015 $\pm$ 0.009 (n= 4)	1.023 $\pm$ 0.008 (n= 4)	0.910 $\pm$ 0.011 (n= 4)
<b>LPS</b>	0.928 $\pm$ 0.006 (n= 4)*	0.938 $\pm$ 0.028 (n= 4)*	0.830 $\pm$ 0.009 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.055 $\pm$ 0.025 (n= 4)	1.000 $\pm$ 0.028 (n= 4)	0.873 $\pm$ 0.020 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.035 $\pm$ 0.037 (n= 4) <sup>#</sup>	1.023 $\pm$ 0.012 (n= 4) <sup>#</sup>	0.895 $\pm$ 0.013 (n= 4) <sup>#</sup>

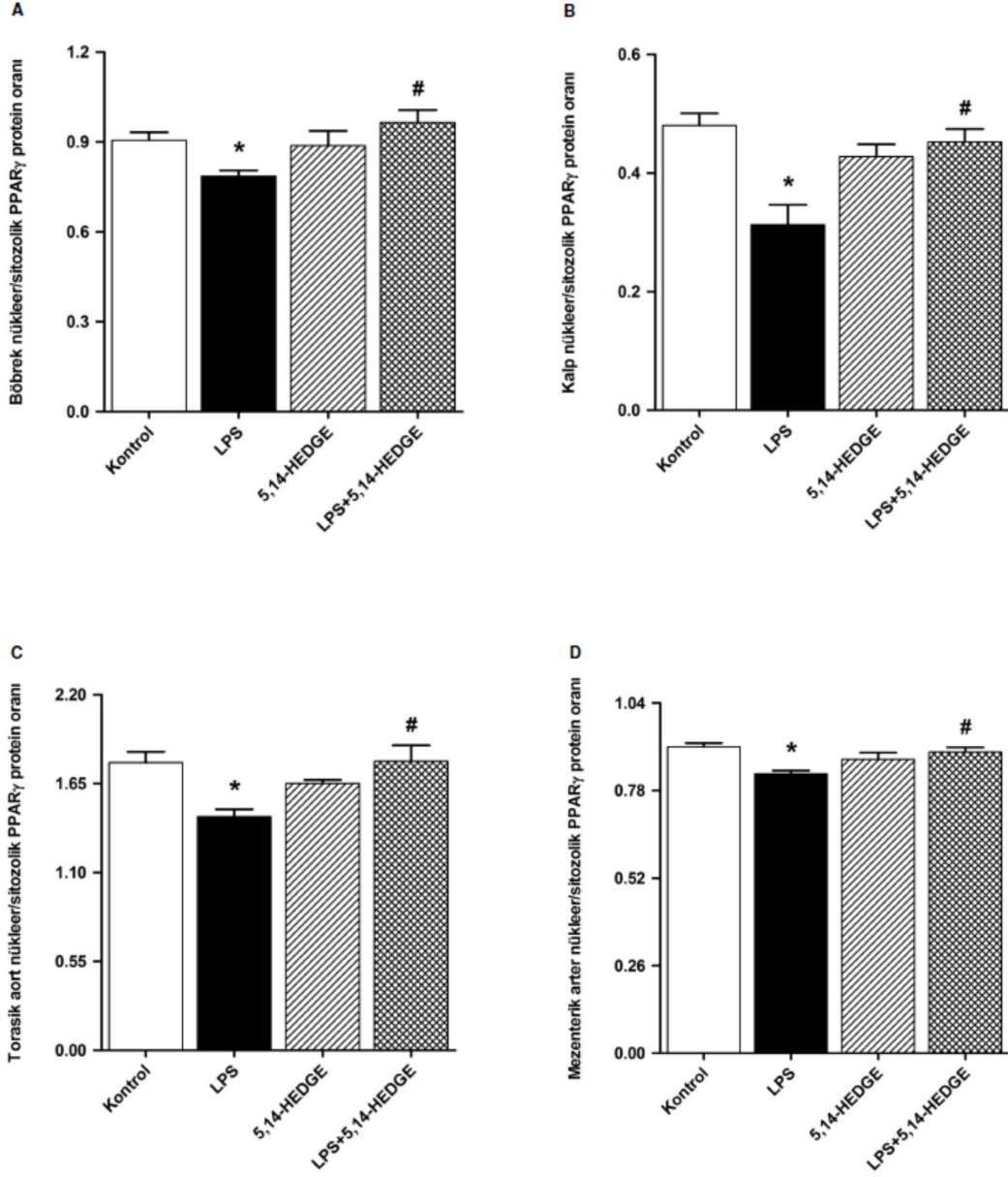
5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve <sup>#</sup> LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi; *P* < 0.05).



**Şekil 4.5.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyör mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik PPAR $\alpha$  proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalamalar ve standart hataları olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi; P < 0.05).



**Şekil 4.6.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyör mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik PPAR $\beta$  proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi; P < 0.05).



**Şekil 4.7.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyör mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik PPAR $\gamma$  proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamalardan standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

#### 4.4. 5,14-HEDGE'nin Sitozolik ve Nükleer c-Jun Protein Ekspresyonu ile Fosforilasyonu Üzerindeki Etkisi

Sıçanlara serum fizyolojik ve/veya LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanmasından sonra izole edilen böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerin sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında c-jun protein ekspresyonu ile fosforilasyonu ile ilgili bulgular Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6 ile Şekil 4.8 ve 4.9'da verilmiştir.

LPS uygulanmasından 4 saat sonra sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında c-jun ve fosforile c-jun protein ekspresyonu ile fosforile cjun/c-jun protein oranının arttığı gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.8). LPS'nin c-jun ve fosforile c-jun protein ekspresyonu ile fosforile c-jun/c-jun protein oranında neden olduğu artma 5,14-HEDGE ile önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 5,14-HEDGE tek başına uygulandığında doku c-jun ve fosforile c-jun protein ekspresyonu ile fosforile c-jun/c-jun protein oranında bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ). Bu bulgulara ek olarak, LPS uygulanan sıçanların renal, kardiyak ve vasküler dokularında ölçülen nükleer/sitozolik c-jun protein oranı ile nükleer/sitozolik fosforile c-jun protein oranının arttığı gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.9). LPS'nin nükleer/sitozolik c-jun protein oranı ile nükleer/sitozolik fosforile c-jun protein oranında neden olduğu artma 5,14-HEDGE ile önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 5,14-HEDGE tek başına uygulandığında doku nükleer/sitozolik c-jun protein oranı ile nükleer/sitozolik fosforile c-jun protein oranında bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Bu bulgular, LPS uygulanan sıçanların renal, kardiyak ve vasküler dokularının sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında AP-1'in alt birimlerinden biri olan c-jun ekspresyon ve etkinliği ile c-jun ve fosforile c-jun'un nükleer translokasyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, LPS'nin neden olduğu sitozolik/nükleer c-jun ekspresyon ve etkinliği ile c-jun ve fosforile c-jun'un nükleer translokasyonundaki artma 5,14-HEDGE ile önlenebilmektedir.



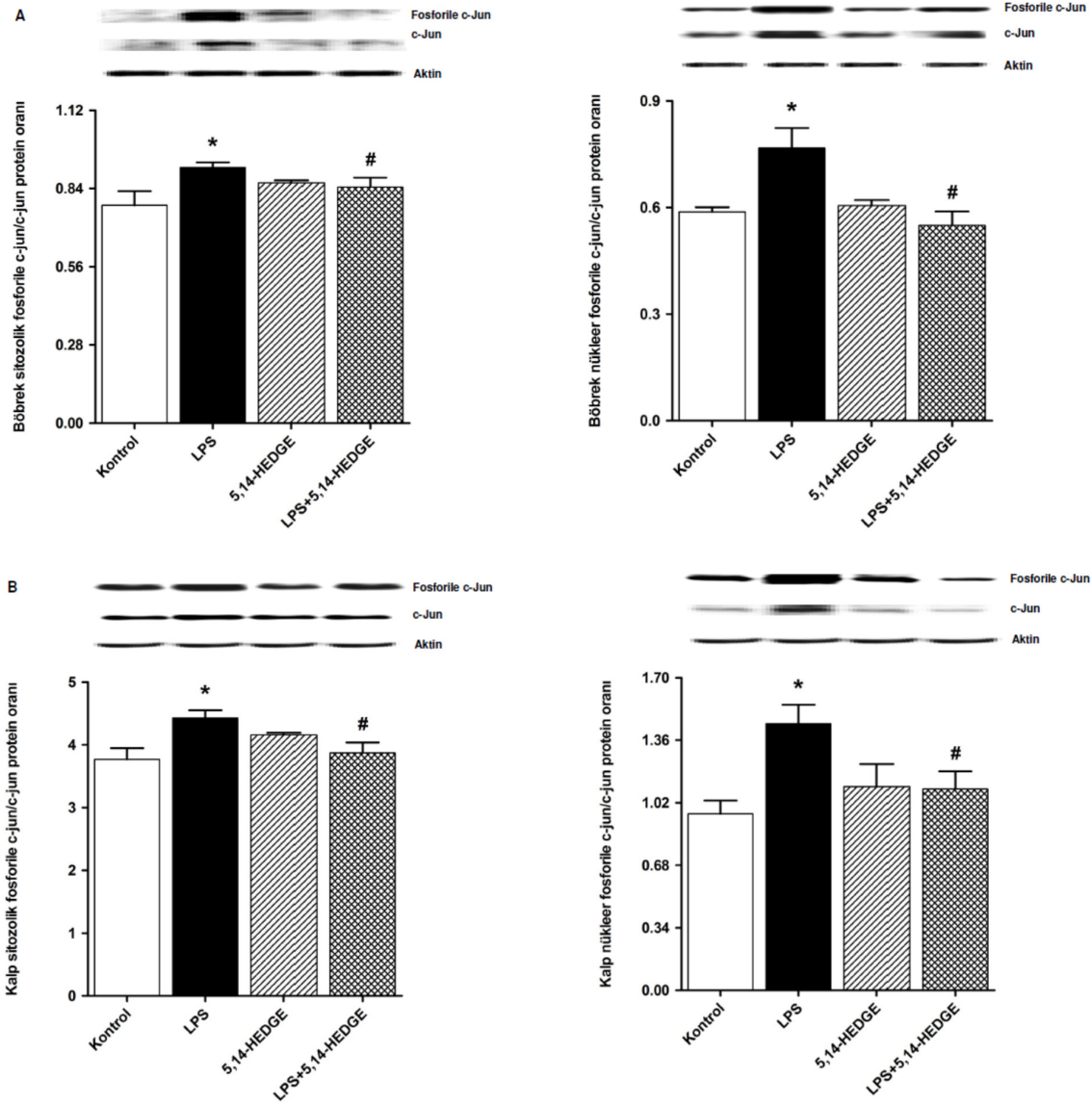
**Çizelge 4.5.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer c-jun protein ekspresyonu ve fosforilasyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

	<b>c-Jun protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)</b>	<b>Fosforile c-jun protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)</b>	<b>Fosforile c-jun/c-jun protein oranı</b>
<b>Böbrek</b>			
<i>Sitozolik</i>			
<b>Kontrol</b>	1.788±0.013 (n= 4)	1.400±0.091 (n= 4)	1.400±0.091 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.920±0.016 (n= 4)*	1.753±0.024 (n= 4)*	1.753±0.024 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.748±0.017 (n= 4)	1.503±0.021 (n= 4)	1.503±0.021 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.780±0.022 (n= 4)#	1.503±0.048 (n= 4)#	1.503±0.048 (n= 4)#
<i>Nükleer</i>			
<b>Kontrol</b>	1.573±0.179 (n= 4)	1.100±0.024 (n= 4)	0.588±0.013 (n= 4)
<b>LPS</b>	2.018±0.005 (n= 4)*	1.245±0.025 (n= 4)*	0.768±0.056 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.803±0.095 (n= 4)	1.088±0.034 (n= 4)	0.605±0.016 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.893±0.019 (n= 4)#	1.043±0.064 (n= 4)#	0.550±0.039 (n= 4)#
<b>Kalp</b>			
<i>Sitozolik</i>			
<b>Kontrol</b>	1.145±0.059 (n= 4)	1.145±0.059 (n= 4)	3.768±0.180 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.390±0.040 (n= 4)*	1.390±0.040 (n= 4)*	4.428±0.122 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.240±0.037 (n= 4)	1.240±0.037 (n= 4)	4.158±0.034 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.183±0.044 (n= 4)#	1.180±0.044 (n= 4)#	3.873±0.165 (n= 4)#
<i>Nükleer</i>			
<b>Kontrol</b>	0.688±0.100 (n= 4)	0.800±0.077 (n= 4)	0.960±0.072 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.085±0.107 (n= 4)*	1.118±0.067 (n= 4)*	1.450±0.103 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	0.818±0.096 (n= 4)	0.875±0.075 (n= 4)	1.108±0.123 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	0.740±0.083 (n= 4)#	0.880±0.044 (n= 4)#	1.095±0.095 (n= 4)#

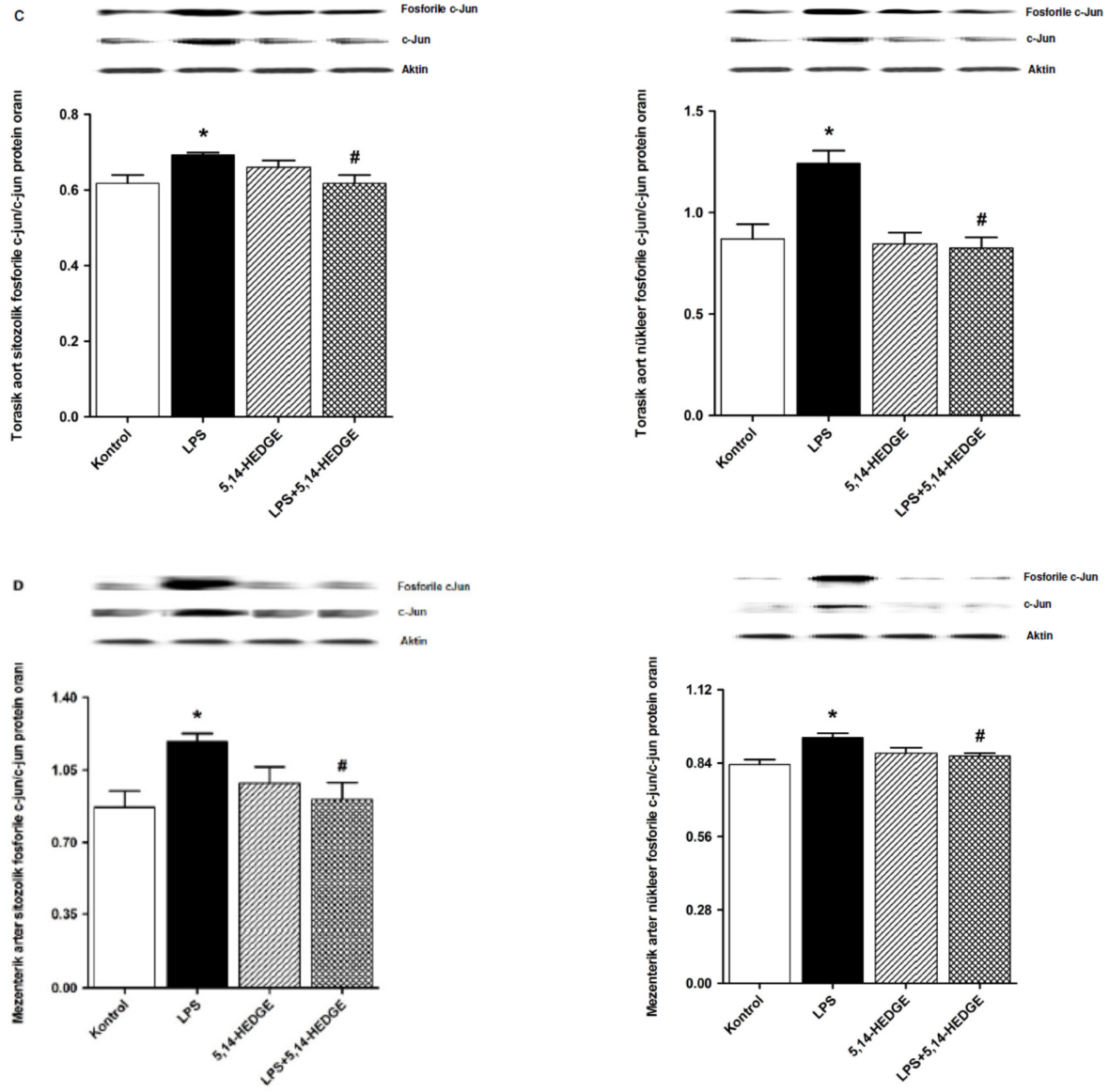
**Çizelge 4.5. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer c-jun protein ekspresyonu ve fosforilasyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

	<b>c-Jun protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)</b>	<b>Fosforile c-jun protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)</b>	<b>Fosforile c-jun/c-jun protein oranı</b>
<b>Torasik aort</b>			
<i>Sitozolik</i>			
<b>Kontrol</b>	1.553±0.040 (n= 4)	0.990±0.030 (n= 4)	0.618±0.022 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.818±0.080 (n= 4)*	1.125±0.009 (n= 4)*	0.693±0.006 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.533±0.053 (n= 4)	1.013±0.021 (n= 4)	0.660±0.018 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.498±0.064 (n= 4)#	0.988±0.026 (n= 4)#	0.618±0.022 (n= 4)#
<i>Nükleer</i>			
<b>Kontrol</b>	2.585±0.304 (n= 4)	2.415±0.165 (n= 4)	0.870±0.072 (n= 4)
<b>LPS</b>	3.563±0.099 (n= 4)*	3.010±0.040 (n= 4)*	1.243±0.062 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	2.613±0.231 (n= 4)	2.655±0.125 (n= 4)	0.845±0.056 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	2.698±0.200 (n= 4)#	2.393±0.166 (n= 4)#	0.825±0.052 (n= 4)#
<b>Süperiyor mezenterik arter</b>			
<i>Sitozolik</i>			
<b>Kontrol</b>	1.673±0.105 (n= 4)	1.513±0.144 (n= 4)	0.870±0.079 (n= 4)
<b>LPS</b>	2.073±0.020 (n= 4)*	2.363±0.073 (n= 4)*	1.188±0.039 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.813±0.081 (n= 4)	1.808±0.210 (n= 4)	0.989±0.078 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.883±0.074 (n= 4)#	1.720±0.218 (n= 4)#	0.908±0.082 (n= 4)#
<i>Nükleer</i>			
<b>Kontrol</b>	2.258±0.031 (n= 4)	1.928±0.046 (n= 4)	0.835±0.019 (n= 4)
<b>LPS</b>	2.383±0.031 (n= 4)*	2.100±0.022 (n= 4)*	0.938±0.017 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	2.218±0.030 (n= 4)	1.960±0.040 (n= 4)	0.878±0.021 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	2.160±0.032 (n= 4)#	1.930±0.035 (n= 4)#	0.868±0.010 (n= 4)#

5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi; *P* < 0.05).



**Şekil 4.8.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer c-jun protein ekspresyonu ve fosforilasyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

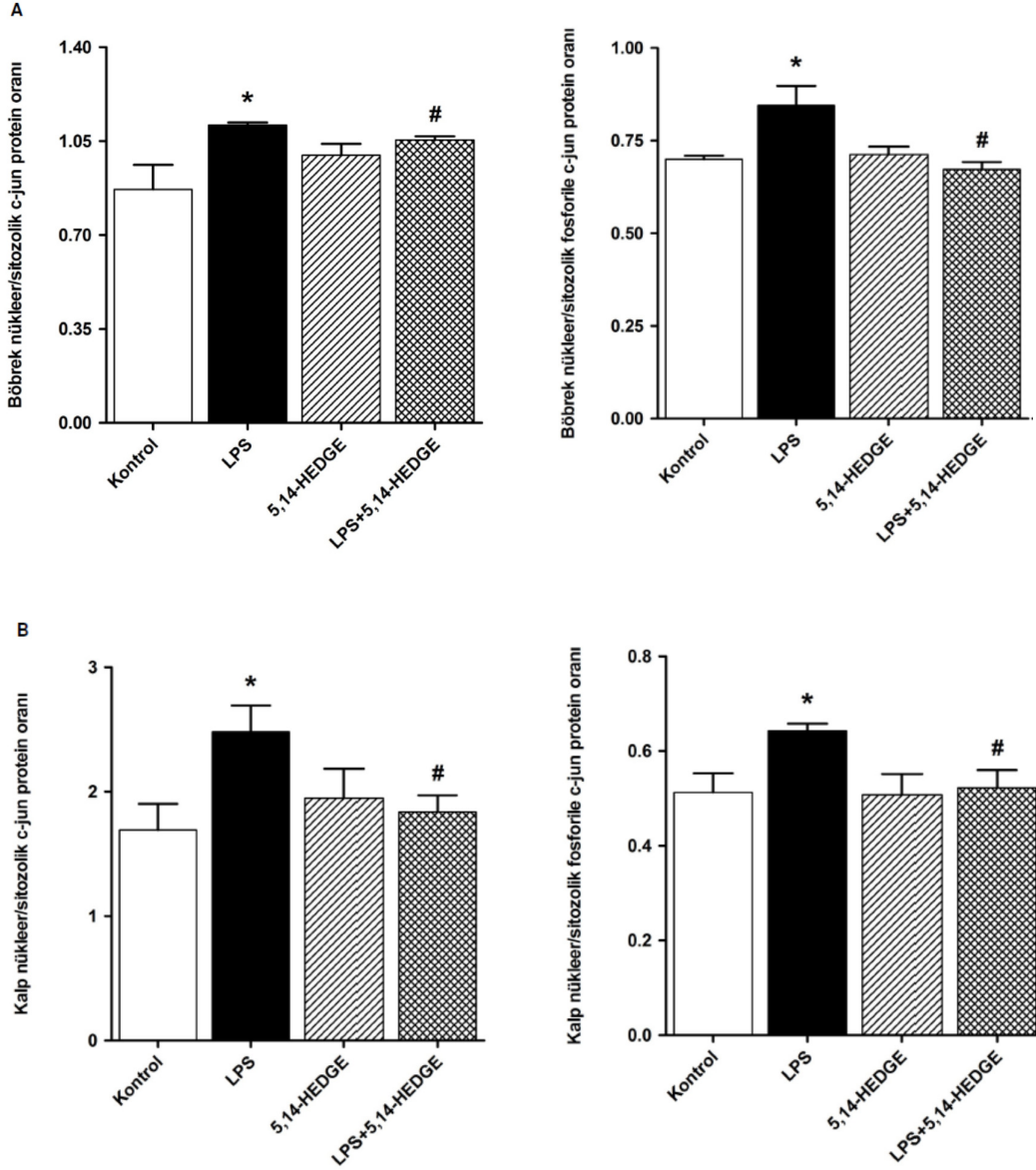


**Şekil 4.8. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer c-jun protein ekspresyonu ve fosforilasyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksiikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

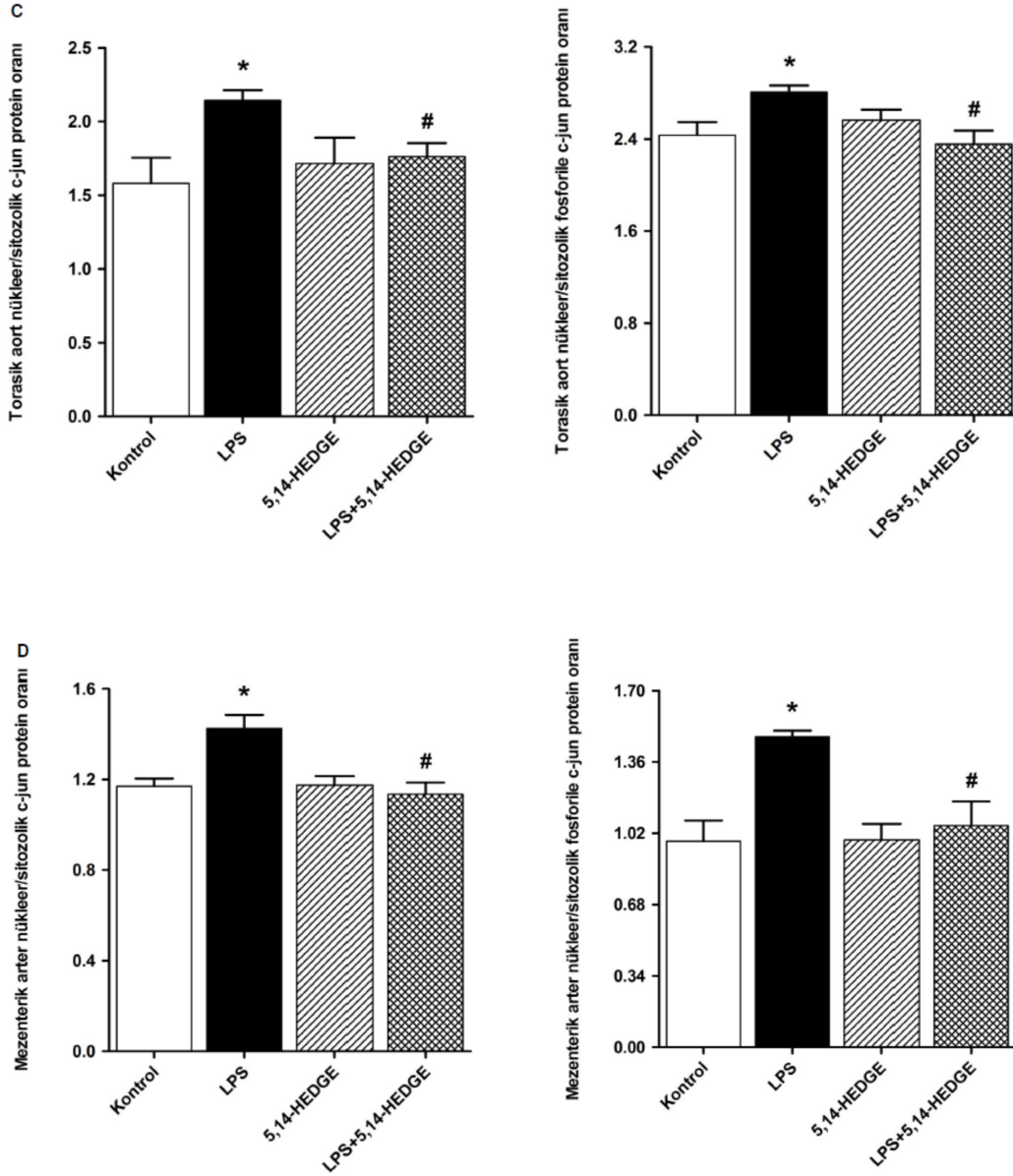
**Çizelge 4.6.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik c-jun ve nükleer/sitozolik fosforile c-jun proteinlerinin hesaplanan oranları üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

	Nükleer/sitozolik c-jun protein oranı (göreceli yoğunluk/aktin)	Nükleer/sitozolik fosforile c-jun protein oranı (göreceli yoğunluk/aktin)
<b>Böbrek</b>		
<b>Kontrol</b>	0.870±0.092 (n= 4)	0.700±0.009 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.110±0.009 (n= 4)*	0.845±0.052 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	0.998±0.043 (n= 4)	0.713±0.021 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.055±0.013 (n= 4)#	0.673±0.020 (n= 4)#
<b>Kalp</b>		
<b>Kontrol</b>	1.693±0.209 (n= 4)	0.513±0.041 (n= 4)
<b>LPS</b>	2.480±0.212 (n= 4)*	0.643±0.016 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.948±0.236 (n= 4)	0.508±0.044 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.838±0.133 (n= 4)#	0.523±0.037 (n= 4)#
<b>Torasik aort</b>		
<b>Kontrol</b>	1.580±0.174 (n= 4)	2.433±0.114 (n= 4)
<b>LPS</b>	2.143±0.070 (n= 4)*	2.808±0.057 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.715±0.175 (n= 4)	2.563±0.093 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.763±0.092 (n= 4)#	2.355±0.116 (n= 4)#
<b>Süperiyor mezenterik arter</b>		
<b>Kontrol</b>	1.170±0.034 (n= 4)	0.983±0.098 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.425±0.060 (n= 4)*	1.480±0.029 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.175±0.040 (n= 4)	0.988±0.078 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.135±0.051 (n= 4)#	1.058±0.114 (n= 4)#

5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi; *P* < 0.05).



**Şekil 4.9.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik c-jun ve nükleer/sitozolik fosforile c-jun proteinlerinin hesaplanan oranları üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi; P < 0.05).



**Şekil 4.9. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik c-jun ve nükleer/sitozolik fosforile c-jun proteinlerinin hesaplanan oranları üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

#### 4.5. 5,14-HEDGE'nin Sitolik ve Nükleer İmportin- $\alpha$ 3 Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi

Sıçanlara serum fizyolojik ve/veya LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanmasından sonra izole edilen böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerin sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu ile ilgili bulgular Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8 ile Şekil 4.10 ve Şekil 11'de verilmiştir.

LPS uygulanmasından 4 saat sonra sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.10). LPS'nin importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonunda neden olduğu artma 5,14-HEDGE ile önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 5,14-HEDGE tek başına uygulandığında doku importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonunda bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ). Bu bulgulara ek olarak, LPS uygulanan sıçanların renal, kardiyak ve vasküler dokularında ölçülen nükleer/sitolik importin- $\alpha$ 3 protein oranının arttığı gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.11). LPS'nin nükleer/sitolik importin- $\alpha$ 3 protein oranında neden olduğu artma 5,14-HEDGE ile önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 5,14-HEDGE tek başına uygulandığında doku nükleer/sitolik importin- $\alpha$ 3 oranında bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ).

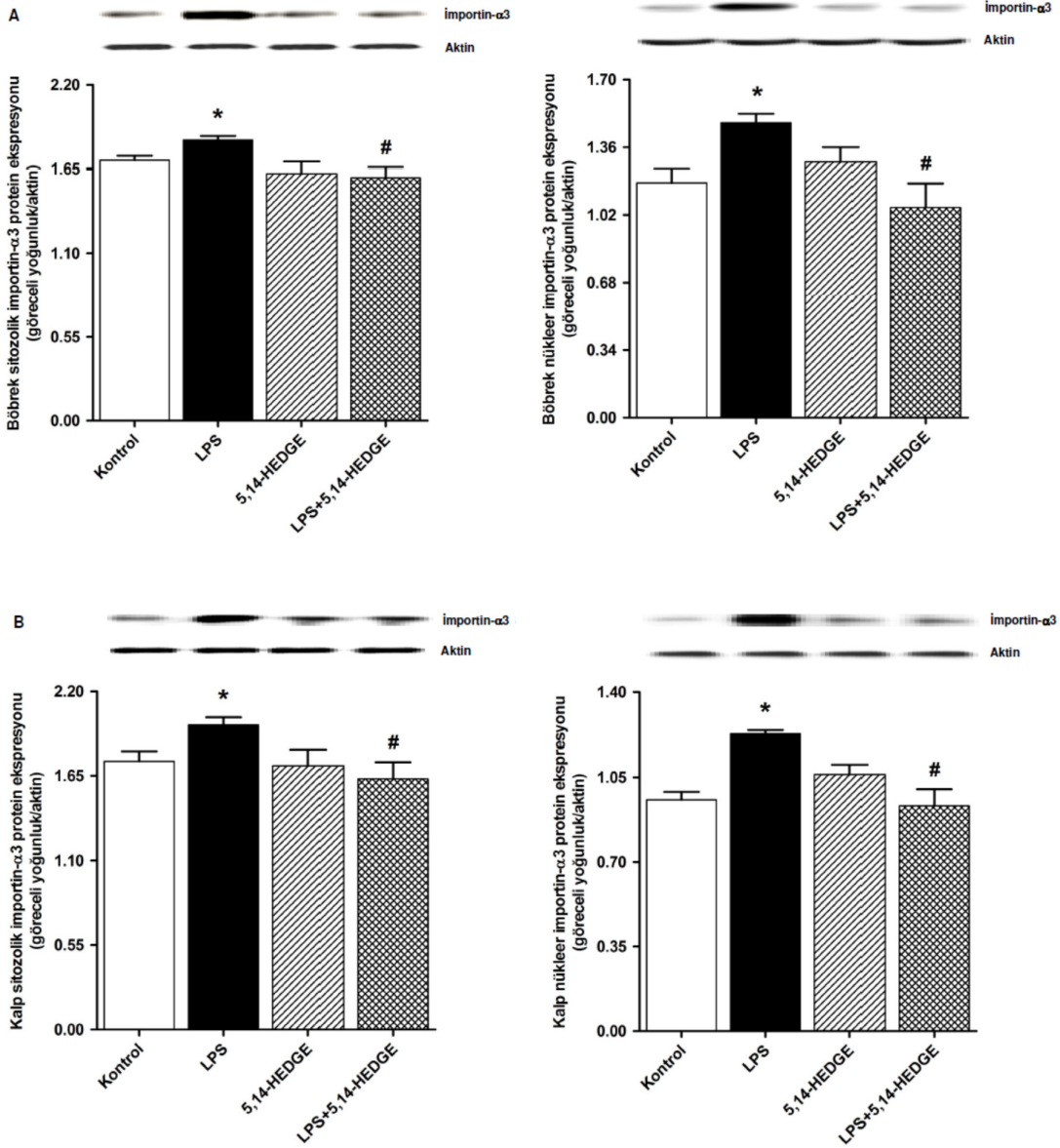
Bu bulgular, LPS uygulanmasından 4 saat sonra böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterin sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında transkripsiyon faktörlerinin nükleusa taşınmasından sorumlu taşıyıcı bir protein olan importin- $\alpha$ 3'ün proteinin ekspresyonu ve nükleer translokasyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, LPS'nin neden olduğu sitozolik ve nükleer importin- $\alpha$ 3 proteininin ekspresyonu ile nükleer translokasyonundaki artma 5,14-HEDGE ile önlenmektedir.



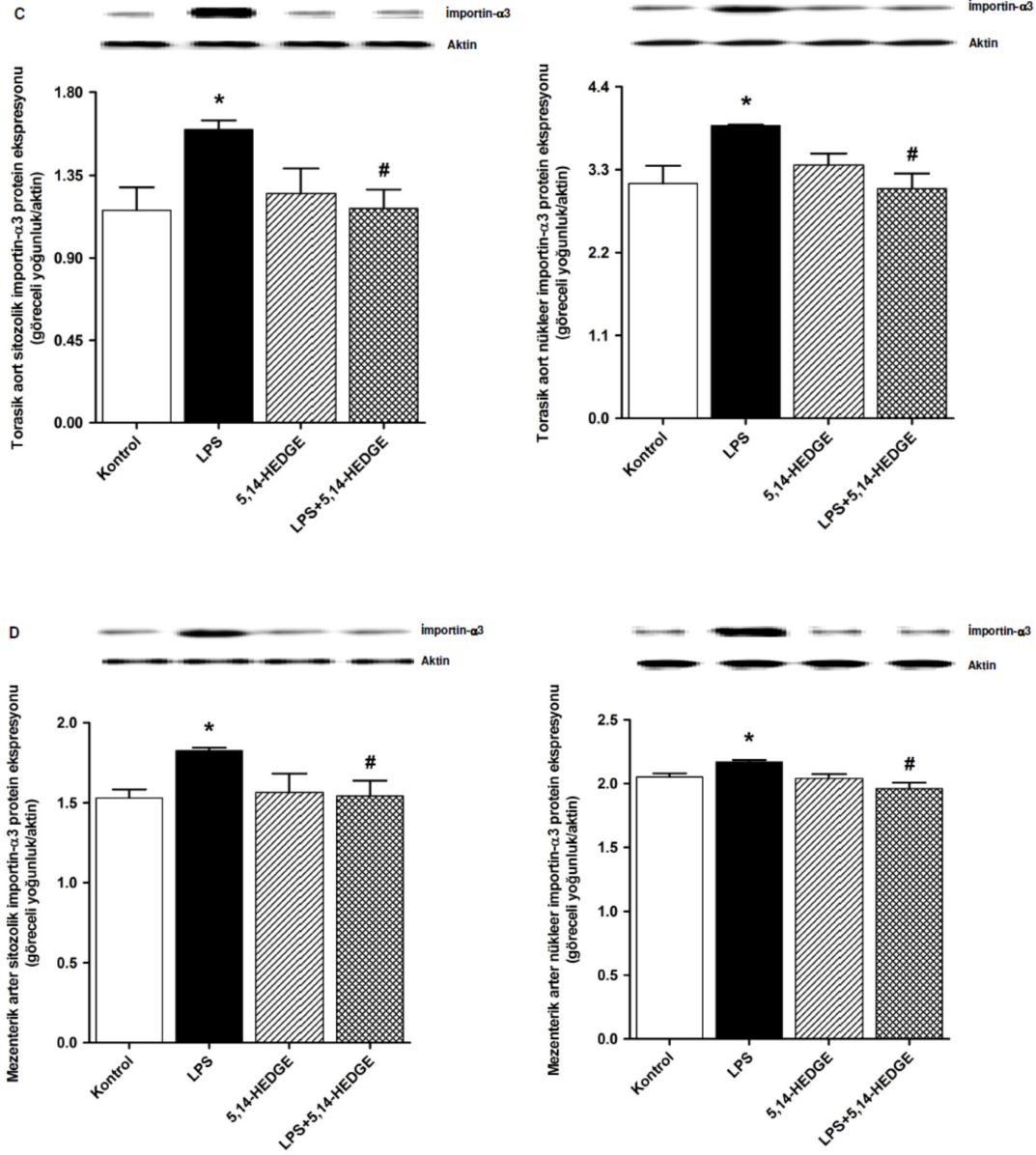
**Çizelge 4.7.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

İmportin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)		İmportin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	
<b>Böbrek</b>		<b>Torasik aort</b>	
<i>Sitozolik</i>		<i>Sitozolik</i>	
<b>Kontrol</b>	1.705±0.030 (n= 4)	<b>Kontrol</b>	1.160±0.125 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.838±0.026 (n= 4)*	<b>LPS</b>	1.600±0.045 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.620±0.077 (n= 4)	<b>5,14-HEDGE</b>	1.253±0.136 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.595±0.066 (n= 4)#	<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.170±0.103 (n= 4)#
<i>Nükleer</i>		<i>Nükleer</i>	
<b>Kontrol</b>	1.180±0.072 (n= 4)	<b>Kontrol</b>	3.115±0.236 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.483±0.046 (n= 4)*	<b>LPS</b>	3.883±0.014 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.288±0.073 (n= 4)	<b>5,14-HEDGE</b>	3.360±0.155 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.058±0.121 (n= 4)#	<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	3.048±0.201 (n= 4)#
<b>Kalp</b>		<b>Süperiyor mezenterik arter</b>	
<i>Sitozolik</i>		<i>Sitozolik</i>	
<b>Kontrol</b>	1.745±0.064 (n= 4)	<b>Kontrol</b>	1.530±0.053 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.983±0.048 (n= 4)*	<b>LPS</b>	1.825±0.020 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.715±0.104 (n= 4)	<b>5,14-HEDGE</b>	1.565±0.117 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.630±0.109 (n= 4)#	<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.543±0.096 (n= 4)#
<i>Nükleer</i>		<i>Nükleer</i>	
<b>Kontrol</b>	0.958±0.033 (n= 4)	<b>Kontrol</b>	2.053±0.028 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.228±0.015 (n= 4)*	<b>LPS</b>	2.170±0.015 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.063±0.040 (n= 4)	<b>5,14-HEDGE</b>	2.040±0.034 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	0.933±0.069 (n= 4)#	<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.960±0.046 (n= 4)#

5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi; *P* < 0.05).



**Şekil 4.10.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamalarn standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi;  $P < 0.05$ ).

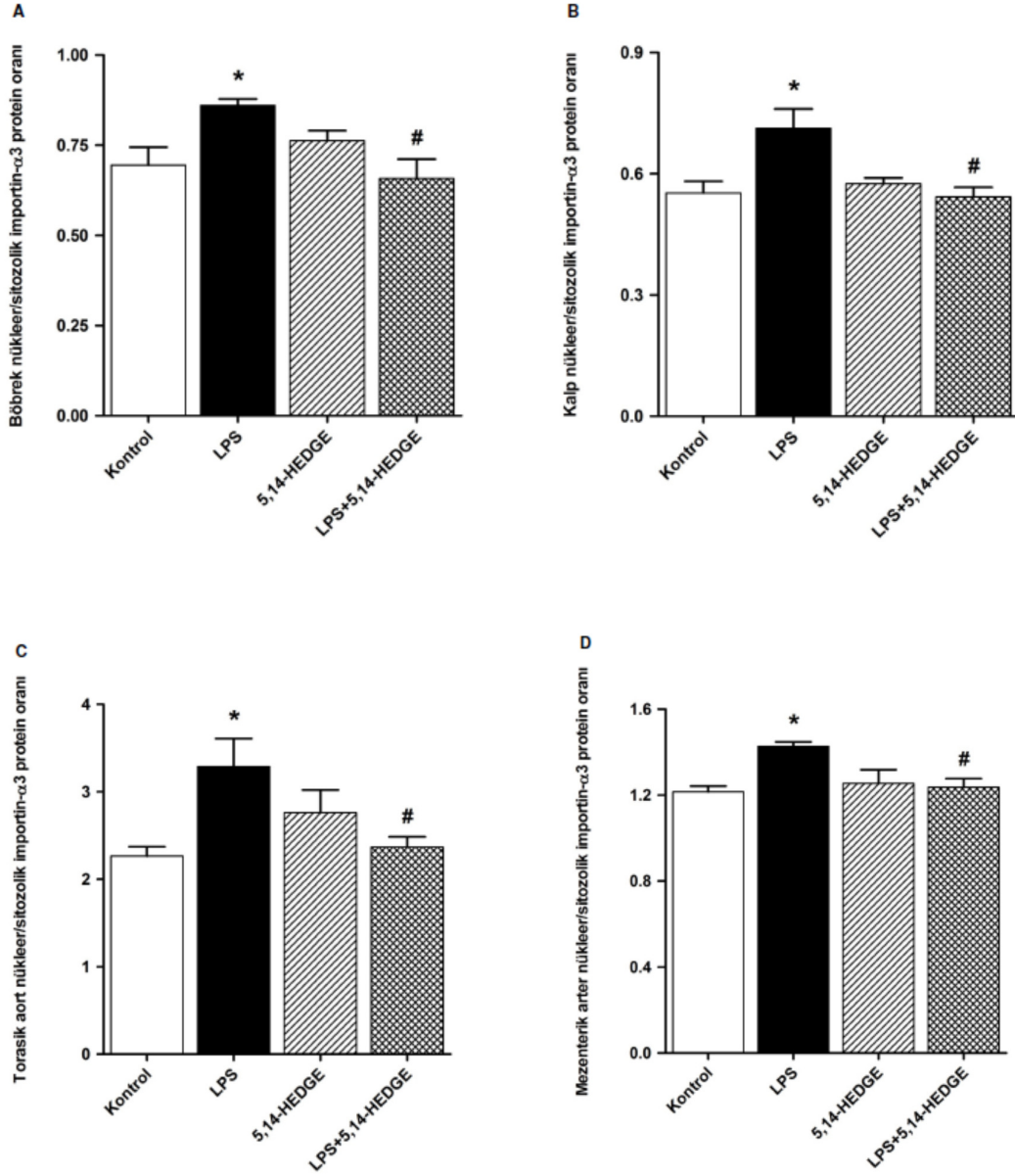


**Şekil 4.10. (devam)** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyör mezenterik arterlerinde sitozolik ve nükleer importin- $\alpha$ 3 protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

**Çizelge 4.8.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik importin- $\alpha$ 3 proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

<b>Nükleer/sitozolik importin-<math>\alpha</math>3 protein oranı</b>	
<b>Böbrek</b>	
<b>Kontrol</b>	0.695 $\pm$ 0.050 (n= 4)
<b>LPS</b>	0.860 $\pm$ 0.018 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	0.763 $\pm$ 0.028 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	0.658 $\pm$ 0.054 (n= 4)#
<b>Kalp</b>	
<b>Kontrol</b>	0.553 $\pm$ 0.029 (n= 4)
<b>LPS</b>	0.713 $\pm$ 0.048 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	0.575 $\pm$ 0.014 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	0.543 $\pm$ 0.024 (n= 4)#
<b>Torasik aort</b>	
<b>Kontrol</b>	2.265 $\pm$ 0.107 (n= 4)
<b>LPS</b>	3.288 $\pm$ 0.321 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	2.763 $\pm$ 0.259 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	2.368 $\pm$ 0.116 (n= 4)#
<b>Süperiyor mezenterik arter</b>	
<b>Kontrol</b>	1.215 $\pm$ 0.027 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.428 $\pm$ 0.020 (n= 4)*
<b>5,14-HEDGE</b>	1.255 $\pm$ 0.063 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.238 $\pm$ 0.039 (n= 4)#

5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi; *P* < 0.05).



**Şekil 4.11.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer/sitozolik importin-α3 proteininin hesaplanan oranı üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksiheksa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).

#### 4.6. 5,14-HEDGE'nin Nükleer RXR $\alpha$ Protein Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi

Sıçanlara serum fizyolojik ve/veya LPS ile birlikte 5,14-HEDGE uygulanmasından sonra izole edilen böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerin nükleer fraksiyonlarında RXR $\alpha$  protein ekspresyonu ile ilgili bulgular Çizelge 4.9 ve Şekil 4.12'de verilmiştir.

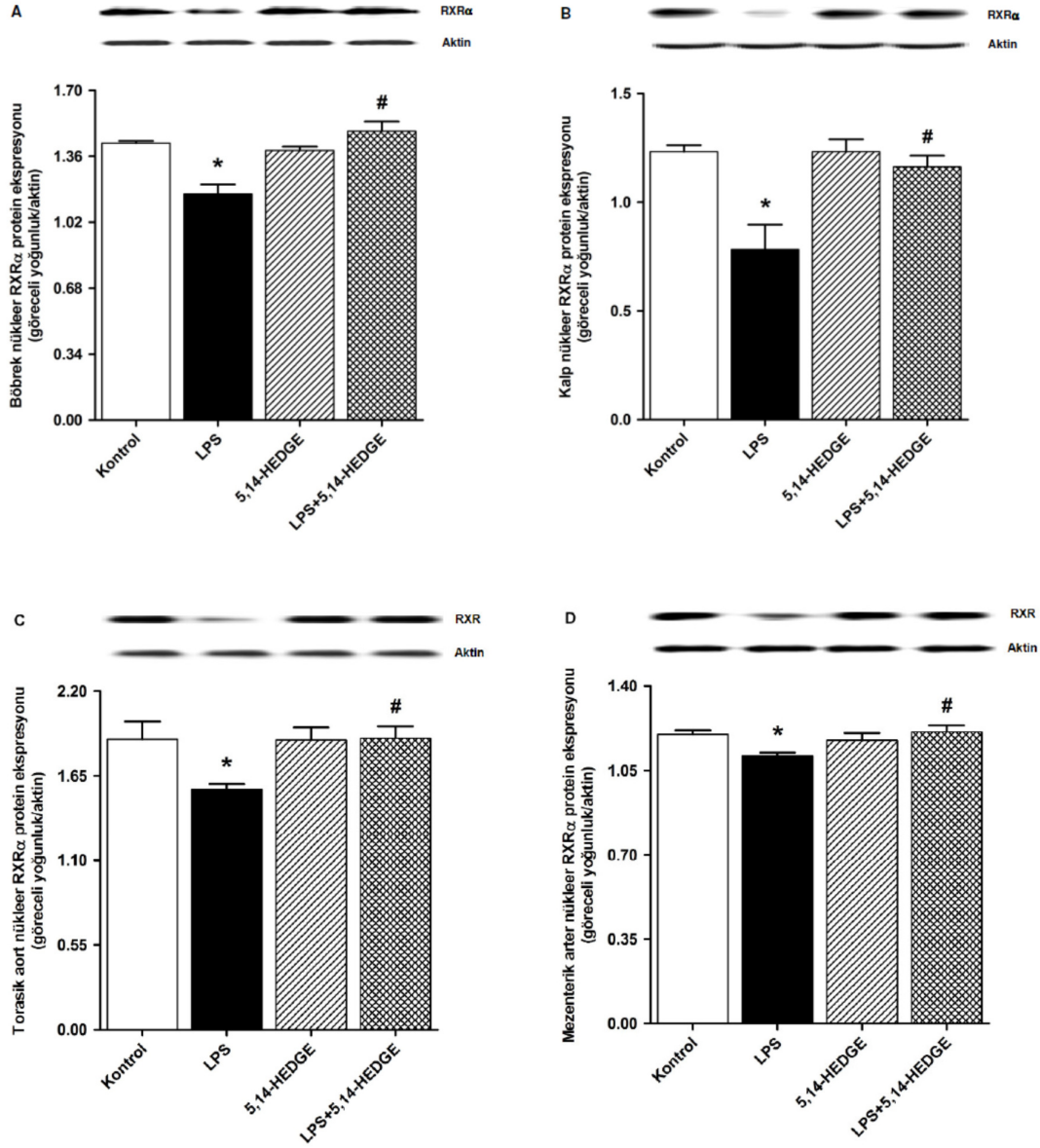
LPS uygulanmasından 4 saat sonra sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin nükleer fraksiyonlarında RXR $\alpha$  protein ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). LPS'nin RXR $\alpha$  protein ekspresyonunda neden olduğu azalma 5,14-HEDGE ile önlenmiştir ( $P < 0.05$ ). 5,14-HEDGE tek başına uygulandığında doku RXR $\alpha$  protein ekspresyonunda bir değişiklik oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Bu bulgular, LPS uygulanmasından 4 saat sonra böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterin nükleer fraksiyonlarında liganda bağımlı transkripsiyon faktörü olarak görev yapan nükleer bir reseptör olan RXR $\alpha$  protein ekspresyonunun azaldığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, LPS'nin neden olduğu nükleer RXR $\alpha$  protein ekspresyonundaki azalma 5,14-HEDGE ile önlenmektedir.

**Çizelge 4.9.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinde nükleer RXR $\alpha$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi.

<b>RXR<math>\alpha</math> protein ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)</b>	
<b>Böbrek</b>	
<b>Kontrol</b>	1.428 $\pm$ 0.011 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.165 $\pm$ 0.049 (n= 4) <sup>*</sup>
<b>5,14-HEDGE</b>	1.390 $\pm$ 0.020 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.490 $\pm$ 0.049 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Kalp</b>	
<b>Kontrol</b>	1.233 $\pm$ 0.030 (n= 4)
<b>LPS</b>	0.783 $\pm$ 0.114 (n= 4) <sup>*</sup>
<b>5,14-HEDGE</b>	1.233 $\pm$ 0.057 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.163 $\pm$ 0.051 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Torasik aort</b>	
<b>Kontrol</b>	1.888 $\pm$ 0.116 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.560 $\pm$ 0.037 (n= 4) <sup>*</sup>
<b>5,14-HEDGE</b>	1.883 $\pm$ 0.082 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.895 $\pm$ 0.077 (n= 4) <sup>#</sup>
<b>Süperiyor mezenterik arter</b>	
<b>Kontrol</b>	1.200 $\pm$ 0.016 (n= 4)
<b>LPS</b>	1.110 $\pm$ 0.015 (n= 4) <sup>*</sup>
<b>5,14-HEDGE</b>	1.175 $\pm$ 0.030 (n= 4)
<b>LPS+5,14-HEDGE</b>	1.210 $\pm$ 0.027 (n= 4) <sup>#</sup>

5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksieikosa-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakarit; RXR, retinoit X reseptörü. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. *In vivo* deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's *t* veya Mann-Whitney *U* testi; *P* < 0.05).



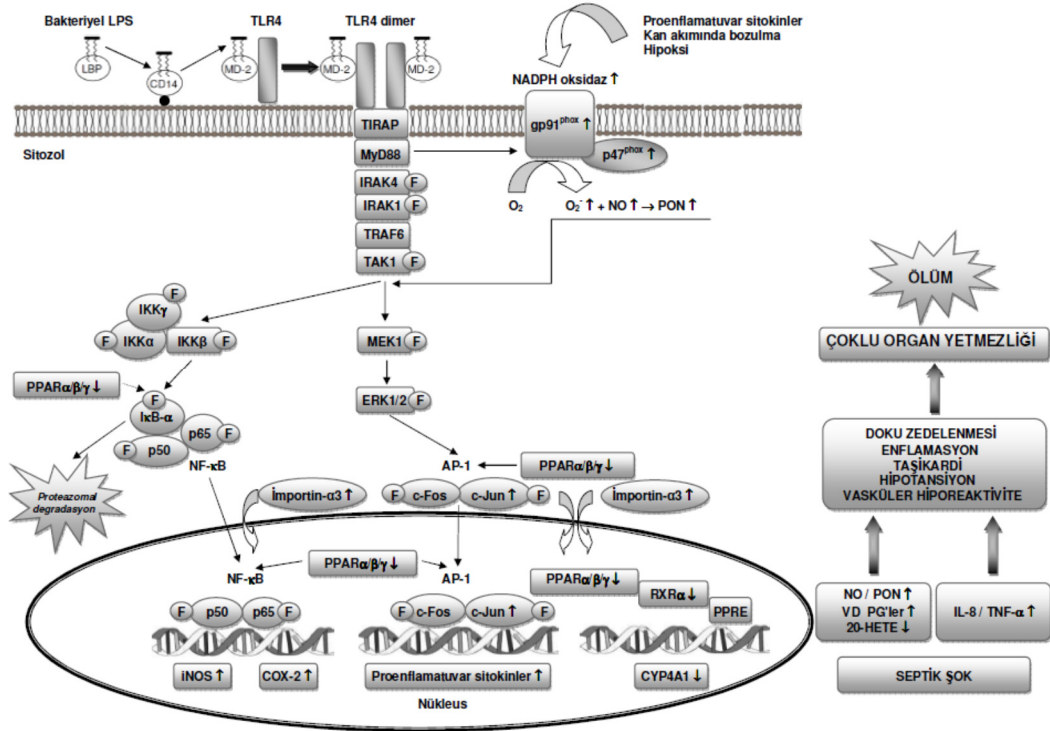
**Şekil 4.12.** Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) böbrek, (B) kalp, (C) torasik aort ve (D) süperiyör mezenterik arterlerinde nükleer RXR $\alpha$  protein ekspresyonu üzerinde 5,14-HEDGE'nin etkisi. 5,14-HEDGE, *N*-(20-hidroksiiekoza-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; LPS, lipopolisakkarit; retinoit X reseptörü. 5,14-HEDGE (30 mg/kg, s.k.) serum fizyolojik (4 ml/kg, i.p.) (kontrol grubu) veya LPS (10 mg/kg, i.p.) (endotoksemik grup) enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. In vivo deneyler sonunda öldürülen sıçanların böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyör mezenterik arterlerinin izole edilmelerinin ardından sitozolik ve nükleer fraksiyonlar hazırlanmıştır. 4 adet sıçandan elde edilen sonuçlar ortalamalardan standart hatası olarak verilmiştir. n kullanılan sıçan sayısını ifade etmektedir. \* Kontrol ve # LPS değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (Student's t veya Mann-Whitney U testi;  $P < 0.05$ ).



## 5. TARTIŞMA

Sıçanlarda oluşturulan deneysel septik şok modelinde, 20-HETE mimetik 5,14-HEDGE'nin renal ve kardiyovasküler sistem ile mortalite üzerindeki yararlı etkilerinin mekanizmasının, PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun, importin- $\alpha 3$  ve RXR $\alpha$  ekspresyonundaki değişikliklerin, MyD88/TAK1/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B ile MyD88/TAK1/MEK1/ERK1/2 yolları aracılığıyla gelişen olaylar sonucunda vazoaktif ve proenflamatuvar mediyatörlerin oluşumu ile ilişkilendirilerek araştırıldığı bu çalışmada elde edilen veriler, daha önce yaptığımız çalışmaların bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, 5,14-HEDGE'nin vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi, enflamasyon, doku zedelenmesi, çoklu organ yetmezliği ve mortaliteye karşı koruyucu etkisine (1) transkripsiyon faktörleri ailesinden sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  proteinlerinin ekspresyonu ve nükleer translokasyonundaki artma, (2) transkripsiyon faktörlerinden AP-1'in alt birimlerinden biri olan sitozolik/nükleer c-jun/fosforile c-jun proteinlerinin ekspresyonu ile nükleer translokasyonundaki azalma, (3) transkripsiyon faktörlerinin nükleusa taşınmasından sorumlu taşıyıcı bir protein olan sitozolik/nükleer importin- $\alpha 3$  proteininin ekspresyonu ve nükleer translokasyonundaki azalma ve (4) liganda bağımlı transkripsiyon faktörü olarak görev yapan nükleer bir reseptör olan nükleer RXR $\alpha$  ekspresyonundaki artmanın katkıda bulunduğunu göstermektedir (Şekil 5.1).

Bu çalışmada, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterde sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun/fosforile c-jun ve importin- $\alpha 3$  ile nükleer RXR $\alpha$  protein ekspresyonu ölçülmüştür. OAB'deki düşme ve KH'deki artma, LPS uygulanmasının ardından 1 saat içerisinde başlamış ve 4 saat sürmüştür. 5,14-HEDGE, uygulanmasının ardından 1 saat sonra LPS'nin neden olduğu OAB'deki düşmeyi ve KH'deki artmayı önlemiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda,



**Şekil 5.1.** 5,14-HEDGE'nin endotoksinin neden olduğu vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi, enflamasyon, doku zedelenmesi, çoklu organ yetmezliği ve mortaliteye karşı koruyucu etkisinin mekanizması ile ilgili olarak ileri sürülen mekanizma. *Bu tez çalışmasında elde edilen veriler ile daha önce yaptığımız çalışmaların bulgularına göre, sepsis ve septik şok patojenezinin en güçlü mikrobiyal mediyatörü olarak bilinen LPS'nin lipit A bölümü olan endotoksinin renal ve kardiyovasküler dokularda neden olduğu MyD88/TAK1/IKKβ/1κB-α/NF-κB ile MyD88/TAK1/MEK1/ERK1/2 yollarının ekspresyon/kinliğindeki artma sonucunda NO, PG'ler ve 20-HETE gibi vazoaktif moleküllerin üretimi ile nitrozatif ve oksidatif stres gelişmesinden sorumlu iNOS, COX-2 ve CYP4A1 enzimlerinin transkripsiyon, translasyon ve/veya translasyon sonrası düzeyde düzenlenmesine ve proenflamatuvar mediyatörlerin oluşmasına (1) transkripsiyon faktörleri ailesinden sitozolik/nükleer PPARα/β/γ proteinlerinin ekspresyonu ve nükleer translokasyonundaki azalma, (2) transkripsiyon faktörlerinden AP-1'in alt birimlerinden biri olan sitozolik/nükleer c-jun ve fosforile c-jun proteinlerinin ekspresyonu ve nükleer translokasyonundaki artma, (3) transkripsiyon faktörlerinin nükleusa taşınmasından sorumlu taşıyıcı bir protein olan sitozolik/nükleer importin-α3 proteininin ekspresyonu ve nükleer translokasyonundaki artma ve (4) liganda bağımlı transkripsiyon faktörü olarak görev yapan nükleer bir reseptör olan nükleer RXRα ekspresyonundaki azalma katkıda bulunmaktadır. Endotoksinin neden olduğu bütün bu olaylar vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi, enflamasyon, doku zedelenmesi, çoklu organ yetmezliği ve ölüm ile sonuçlanmaktadır. LPS'den 1 saat sonra sistemik yoldan uygulanan dayanıklı bir 20-HETE analogu olan ve endojen olarak oluşan 20-HETE'nin etkilerini taklit ettiği bilinen 5,14-HEDGE, endotoksemik sıçanlarda gözlenen bu değişikliklerin tümünü önlemekte ve yaşam süresini uzatmaktadır. 20-HETE, 20-hidroksieikozatetraenoik asit; 5,14-HEDGE, N-(20-hidroksieikoz-5[Z],14[Z]-dienoil)glisin; AP, etkinleştirici protein; CD, cluster of differentiation; COX, siklooksijenaz; CYP, sitokrom P450; ERK, ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz; F, fosforile; IκB, κB inhibitörü; IKK, IκB kinaz; IL, interlökin; IRAK, interlökin-1 reseptör ile ilişkili kinaz; iNOS, indüklenebilir nitrik oksit sentaz; LBP, lipit bağlayıcı protein; MEK, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz; MyD, miyeloid farklılaşma faktörü; NADPH, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat; NF-κB, nükleer faktör κB; NO, nitrik oksit; PG, prostaglandin; PON, peroksinitrit; PPAR, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör; PPRE, peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör yanıt elementi; RXR, retinoit X reseptörü; TAK, değiştirici büyüme faktörü ile etkinleştirilen kinaz; TIRAP, toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein; TLR, toll-like receptor; TNF, tümör nekrozaştırıcı faktör; TRAF, tümör nekrozaştırıcı faktör reseptörü ile ilişkili faktör; VD, vazodilatör. ( ↑ ), arttı; ( ↓ ), azaldı.*

renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin etkinleşmesi, baroreseptör refleks mekanizmaların duyarlılığı, fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi etkinleştirdiği, doku lipidlerinden AA salıverilmesini uyardığı ve böylece prostaglandin sentezini artırdığı bilinen endotelin-1 ve katekolaminler gibi mediyatörler ile reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumundaki artma gibi kompensatuvar mekanizmaların, endotoksemi sırasında LPS'nin neden olduğu kan basıncının düşmesine katkıda bulunabilecek vazoregülatör moleküllerin oluşumundaki değişikliklerden sorumlu olabileceği bildirilmiştir (2). Enflamasyon ve septik şok gibi pek çok fenomenin geliştiği durumlarda NF-κB'nin önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir (142, 145). Özellikle, LPS ile uyarılan CD14/MD-2/TLR4/MyD88/TAK1 yolunda, TIRAP aracılığıyla MyD88'e iletilen uyarı IRAK1/4, TRAF6, TAK1, IKKα, IKKβ, IKKγ ve MAPK'ler gibi sinyalleyici moleküller (MEK1, MKK3/6 ve MKK4; ERK1/2, p38 MAPK ve JNK1/2) aracılığıyla çeşitli enflamasyona neden olan mediyatörlerin oluşumundan sorumlu genlerin ekspresyonunu uyararak NF-κB ve AP-1 transkripsiyon faktörleri etkinleştirilmektedir. Ekspresyonu uyarılan bu genlerin arasında sepsis ve septik şok patojenezinde önemli rol oynayan iNOS ve COX-2 gibi enzimler, akut faz proteinleri ile IFN-γ, IL-1β, IL-6, IL-8 ve TNF-α gibi enflamatuvar sitokinler yer almaktadır (4, 106, 112, 119, 142, 143, 145, 146, 150, 154, 155, 274). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, pek çok genin ekspresyonunun düzenlenmesinden sorumlu olan ve antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı özellikle septik şok patojenezinde rol oynadıkları bilinen transkripsiyon faktörlerinden PPAR'ler için (40-44) yanıt elementi (PPRE) taşıyan CYP4A izoformlarının RXR aracılığıyla indüklenebilmeleri ile 20-HETE oluşumunun artabilmesi ve 20-HETE'nin etkilerini oluşturabilmesi için PPARα ve PPARγ'nın gerekli olduğuna ilişkin çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (45-50, 53). Öte yandan, her ne kadar sıçanlara LPS uygulanmasından sonra PPARγ ekspresyonunun arttığı bildirilmiş olsa da (51, 52), PPARγ ekspresyonunun azaldığını (53-55) ve PPARα/γ/β agonistlerinin ya da PPARα/γ/β düzeylerini artıran maddelerin sepsis ve septik şokta görülen organ zedelenmesini, işlev bozukluğunu ve çoklu organ yetmezliğini önlediğini gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (56-65). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, NF-κB p65 gibi PPARα/β/γ (91-93) ve AP-1'in alt birimlerinin (93-96, 275) de çeşitli importinler

veya eksportinler aracılığıyla sitozolden nükleusa ya da nükleustan sitozole taşındıklarını gösterilmiştir. Ayrıca, PPAR $\gamma$ 'nın nükleusa giriş ve çıkışına MEK1 ve ERK1/2 (276-279) ile COX-2 aracılığıyla oluşan protaglandinlerden PGD<sub>2</sub> ve 15d-PGJ<sub>2</sub> (280), PPAR $\alpha$ 'nın nükleusa girişine ise COX-2 aracılığıyla oluşan protaglandinlerden PGI<sub>2</sub>'nin (280) aracılık ettiği bildirilmiştir. Bunlara ek olarak, RAW264.7 hücrelerinde LPS, TNF- $\alpha$  veya peroksinitrit tarafından nitratlanması sonucunda PPAR $\gamma$ 'nın nükleer translokasyonunun azaldığını (281), endotoksinin ise NF- $\kappa$ B ve importin- $\alpha$ 3'ün nükleer translokasyonu ile I $\kappa$ B- $\alpha$ 'nın degradasyonunu artırdığını (282) bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Daha önce endotoksemik sıçanlarda *in vivo* olarak yaptığımız çalışmaların sonuçlarına göre, subletal dozda (10 mg/kg; i.p.) LPS (*E. coli* LPS O111:B4) enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde gelişen vasküler hiporeaktivite ve hipotansiyona serum, böbrek, kalp, akciğer, dalak, beyin, torasik aort, süperiyor mezenterik arter ve/veya femoral arterde çEH, MEK1, ERK1/2, IKK $\beta$ , I $\kappa$ B- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p65, iNOS, çGS, PKG ve/veya COX-2 ekspresyon/etkinliği, katalaz etkinliği, TNF- $\alpha$  ve IL-8 oluşumunda artmaya, aynı zamanda CYP2C23, AA epoksijenazlar, CYP4A1/A3 ve eNOS ekspresyon/etkinliğinde azalma eşlik etmektedir. Ayrıca, LPS uygulanan sıçanların serumlarında miR-150, miR-223 ve miR-297 ekspresyon düzeyleri ile dokularının sitozolik fraksiyonlarında MyD88 ekspresyonu ile fosforile TAK1/TAK1 ve fosforile I $\kappa$ B- $\alpha$ /I $\kappa$ B- $\alpha$  oranı, sitozolik ve nükleer fraksiyonlarında fosforile NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 oranı ile nükleer/sitozolik NF- $\kappa$ B p65 ve nükleer/sitozolik fosforile NF- $\kappa$ B p65 oranı artmaktadır (89, 90). Bunlara ek olarak, apopitozun göstergelerinden biri olan kaspaz-3 etkinliği ile oksidatif stresin göstergelerinden toplam antioksidan etkinlik, SOD etkinliği, glutatyon redüktaz ve glutatyon peroksidaz etkinliği ile indirgenmiş glutatyon düzeyleri azalmaktadır. Seçici iNOS inhibitörü fenilen-1,3-bis(etan-2-izotiyoure) dihidrobromür (*phenylene-1,3-bis[ethane-2-isothiourea] dihydrobromide*; 1,3-PBIT) (10 mg/kg, i.p.) veya MEK1 tarafından ERK1/2 fosforilasyonunun seçici inhibitörü 1,4-diamino-2,3-disiyano-1,4-bis[2-aminofeniltiyo]bütadien (*1,4-diamino-2,3-dicyano-1,4-bis[2-amino-phenylthio]butadien*; U0126) (5 mg/kg, i.p.) ile MEK1/ERK1/2/iNOS yolu (70-80) ve/veya seçici olmayan COX inhibitörü indometasin, daha çok COX-1'e seçici COX inhibitörü piroksikam ya da seçici COX-2 inhibitörü N-(2-

sikloheksiloksi-4-nitrofenil)-metansülfonamid (*N*-[2-cyclohexyloxy-4-nitrophenyl]-methansulphonamide; NS-398) COX-1/2 inhibisyonu (66-67, 79, 84, 85, 88) ya da endojen olarak oluşan 20-HETE'nin etkilerini taklit ettiği bilinen dayanıklı 20-HETE analogu 5,14-HEDGE (68, 69, 81, 82, 86, 87, 89, 90) uygulanması sonucunda sıçanların serumları, böbrek, kalp ve/veya damarlarında miR-150, miR-223 ve miR-297 ekspresyon düzeylerine ek olarak enflamatuvar sitokinlerden IL-8 ve TNF- $\alpha$  oluşumu ile birlikte artmış olan  $\chi$ EH, MyD88, TAK1, MEK1, ERK1/2, IKK $\beta$ , I $\kappa$ B- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B p65, iNOS, hsp90,  $\chi$ GS, PKG, COX-2, gp91<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> ve/veya 3-nitrotirozin ekspresyon/etkinliği ile azalmış olan CYP2C23, AA epoksijenazlar ve CYP4A1 ekspresyon/etkinliği ile apoptoz, oksidan/antioksidan durum, lipit peroksidasyonu ve enflamasyon ile ilgili değişiklikler normal düzeylere getirilebilmekte, ayrıca güçlü bir vazokonstriktör olan 20-HETE oluşumunun artması ile vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi ve enflamasyon düzeltilenilmekte, farelerde mortalite önlenilebilmektedir. Ayrıca, 20-HETE'nin vazokonstriktör etkilerinin yarışmalı antagonisti olan 20-HEDE (30 mg/kg, s.k.; LPS'den 1 saat sonra) ise, 5,14-HEDGE'nin endotoksemik sıçanlarda kan basıncı, KH, fosforile VASP, COX-2, CYP4A1, gp91<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> ve 3-nitrotirozin protein ekspresyonu, iNOS-hsp90 kompleks oluşumu ve NOS etkinliği ile siklik GMP, 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , 20-HETE ve nitrotirozin düzeyleri üzerindeki etkisini geri çevirebilmektedir. Daha önce yaptığımız çalışmaların bulgularından yola çıkılarak yapılan bu tez çalışmasının sonuçlarına göre, LPS uygulanmasından 4 saat sonra böbrek, kalp, torasik aort ve süperiyor mezenterik arterde sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  ve nükleer RXR $\alpha$  proteinlerinin ekspresyonu ile nükleer translokasyonu azalmakta, sitozolik/nükleer c-jun/fosforile c-jun (Ser<sup>63/73</sup>) ve importin- $\alpha$ 3 proteinlerinin ekspresyonu ile nükleer translokasyonu artmaktadır. Bulgularımız, sitozolik/nükleer PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  ekspresyonundaki azalmanın, sitozolik ve nükleer fraksiyonlarda NF- $\kappa$ B p65 ile AP-1'in ekspresyon ve etkinliği ile özellikle importin- $\alpha$ 3 aracılığıyla nükleer translokasyonunun artması sonucunda iNOS ve COX-2 ekspresyonu ile proenflamatuvar sitokinlerin oluşumunda artmaya, ayrıca RXR $\alpha$  ekspresyonun azalması sonucunda PPRE taşıyan CYP4A1 ekspresyonu ile 20-HETE oluşumunda azalmaya neden olabileceğini düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalarımızın sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde bu bulgular, 5,14-HEDGE'nin,

endotoksemi sırasında görülen vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi, enflamasyon, doku zedelenmesi, çoklu organ yetmezliği ve mortaliteye karşı koruyucu etkisine miR-150, miR-223 ve miR-297 ekspresyon düzeylerinde neden olduğu azalma ile birlikte MyD88/TAK1/MEK1/ERK1/2/AP-1 ve MyD88/TAK1/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B yollarının ekspresyon ve etkinliğindeki azalma olduğu kadar, PPAR $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$  ve RXR $\alpha$  ekspresyonu/etkinliğindeki artma olduğu ile c-jun ve importin- $\alpha$ 3 ekspresyonu/etkinliğindeki azalmanın katkıda bulunduğunu ve böylece septik şok tedavisinde yararlı olabileceğini gösterdi.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Endojen olarak oluşan 20-HETE'nin etkilerini taklit ettiği bilinen dayanıklı bir 20-HETE analogu 5,14-HEDGE uygulanan kontrol ve endotoksemik sıçanların renal, kardiyak ve vasküler dokularının sitozolik ve/veya nükleer fraksiyonlarında transkripsiyon faktörleri ailesinden PPAR $\alpha/\beta/\gamma$ , c-jun/fosforile c-jun (transkripsiyon faktörlerinden AP-1'in alt birimlerinden biri) ve importin- $\alpha 3$  (transkripsiyon faktörlerinin nükleusa taşınmasından sorumlu taşıyıcı bir protein) ile RXR $\alpha$  (liganda bağımlı transkripsiyon faktörü olarak görev yapan nükleer bir reseptör) protein ekspresyonunun ne yönde değiştiğinin araştırıldığı bu çalışmada, 5,14-HEDGE'nin hipotansiyon, taşikardi ve enflamasyona karşı koruyucu etkisine PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  ve RXR $\alpha$  ekspresyon/etkinliğindeki artma olduğu kadar, AP-1 ve importin- $\alpha 3$  ekspresyon/etkinliğindeki azalmanın katkıda bulunduğu gösterilmiştir.

Bulgularımız, endotoksemi sırasında düzeylerinin azaldığı gösterilen 20-HETE'nin parenteral yoldan uygulanabilen dayanıklı analoglarından yola çıkılarak enteral yoldan da kolaylıkla uygulanabilecek biçimde geliştirilecek ilaçlar, başta yoğun bakım birimleri olmak üzere başka kliniklerde de vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi, enflamasyon, doku zedelenmesi ile çoklu organ yetmezliğinin eşlik ettiği ve yaşam süresinde kısalma ile sonuçlanabilen renal ve kardiyovasküler sistemlerdeki bozukluklardan dolayı ortaya çıkabilen çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen veriler NF- $\kappa$ B, PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerinin nükleusa girişinde rol oynayan importin- $\alpha 3$  gibi importinlerin yanında, bu moleküllerin nükleustan çıkışında rol oynayan Crm1 gibi eksportinlerin ekspresyonlarının ne yönde değiştiğinin ve bu değişiklikler üzerinde 20-HETE mimetiklerin etkisinin, özellikle MyD88/TAK1/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B ile MyD88/TAK1/MEK1/ERK1/2/AP-1 yolları ile ilişkilendirilerek, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda moleküler düzeyde araştırılması gerektiğini düşündürmektedir. Bunlara ek olarak, PPAR $\alpha/\beta/\gamma$  ile RXR $\alpha$  ekspresyonunu artıran ve/veya NF- $\kappa$ B ile AP-1 ekspresyonunu azaltan seçici yeni moleküllerin geliştirilmesi de sözü edilen durumların tedavisindeki başarı şansını artırabilecektir.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R.** The surviving sepsis campaign guidelines committee including the pediatric subgroup, surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*, **2013**; 41:580-637.
2. **Tunctan B.** 20-HETE Mimetics or inhibitors in the treatment of cancer patients with sepsis and septic shock. *Int J Cancer Stud Res*, **2013**; 2:101-8.
3. **Tunctan B.** Biology of nitric oxide, nitric oxide synthase inhibitors: From animal studies to clinical implications. In: Tunctan B, Cuzzocrea S, Yokoyama M Eds *Transworld Research Network*, India: Kerala, **2012**:9.
4. **Tunctan B, Korkmaz B, Sari AN, Kacan M, Unsal D, Serin MS, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Schunck WH, Falck JR, Malik KU.** A novel treatment strategy for sepsis and septic shock based on the interactions between prostanoids, nitric oxide, and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem*, **2012**; 11:121-50.
5. **Alexanian A, Sorokin A.** Targeting 20-HETE producing enzymes in cancer-rationale, pharmacology, and clinical potential. *Onco Targets Ther*, **2013**; 6:243-55.
6. **Wu CC, Gupta T, Garcia V, Ding Y, Schwartzman ML.** 20-HETE and blood pressure regulation: clinical implications. *Cardiol Rev*, **2014**; 22:1-12.
7. **Escalante B, Omata K, Sessa W, Lee SG, Falck JR, Schwartzman ML,** 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid is an endothelium-dependent vasoconstrictor in rabbit arteries. *Eur J Pharmacol*, **1993**; 235:1-7.
8. **Escalante B, Sessa WC, Falck JR, Yadagiri P, Schwartzman ML.** Vasoactivity of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid is dependent on metabolism by cyclooxygenase. *J Pharmacol Exp Ther*, **1989**; 248:229-32.
9. **Randriamboavonjy V, Busse R, Fleming I.** 20-HETE-induced contraction of small coronary arteries depends on the activation of Rho-kinase. *Hypertension*, **2003**; 41:801-6.
10. **Schwartzman ML, Falck JR, Yadagiri P, Escalante B.** Metabolism of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid by cyclooxygenase: formation and identification of novel endothelium-dependent vasoconstrictor metabolites. *J Biol Chem*, **1989**; 264:11658-62.
11. **Zou AP, Fleming JT, Falck JR, Jacobs ER, Gebremedhin D, Harder DR, Roman RJ.** 20-HETE is an endogenous inhibitor of the large-conductance Ca(2+)-activated K<sup>+</sup> channel in renal arterioles. *Am J Physiol*, **1996**; 270:R228-37.



12. **Akbulut T, Regner KR, Roman RJ, Avner ED, Falck JR, Park F.** 20-HETE activates the Raf/MEK/ERK pathway in renal epithelial cells through an EGFR- and C-Src-dependent mechanism. *Am J Physiol*, **2009**; 297:F662-70.
13. **Carroll MA, Capparelli MF, Doumand AB, Cheng MK, Jiang H, McGiff JC.** Renal vasoactive eicosanoids: Interactions between cytochrome P450 and cyclooxygenase metabolites during salt depletion. *Am J Hypertens*, **2001**; 14:159A.
14. **Carroll MA, Garcia MP, Falck JR, McGiff JC.** Cyclooxygenase dependency of the renovascular actions of cytochrome P450-derived arachidonate metabolites. *J Pharmacol Exp Ther*, **1992**; 260, 104-9.
15. **Lange A, Gebremedhin D, Narayanan J, Harder D.** 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid-induced vasoconstriction and inhibition of potassium current in cerebral vascular smooth muscle is dependent on activation of protein kinase C. *J Biol Chem*, **1997**; 272:27345-52.
16. **Nowicki S, Chen SL, Aizman O, Cheng XJ, Li D, Nowicki C, Nairn A, Greengard P, Aperia A.** 20-Hydroxyeicosa-tetraenoic acid (20 HETE) activates protein kinase C. Role in regulation of at renal Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase. *J Clin Invest*, **1997**; 99:1224-30.
17. **Obara K, Koide M, Nakayama K.** 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid potentiates stretch-induced contraction of canine basilar artery via PKC alpha-mediated inhibition of KCa channel. *Br J Pharmacol*, **2002**; 137:1362-70.
18. **Ponnoth DS, Nayeem MA, Kunduri SS, Tilley SL, Zeldin DC, Ledent C, Mustafa SJ.** Role of ω-hydroxylase in adenosine-mediated aortic response through MAP kinase using A2A-receptor knockout mice. *Am J Physiol*, **2012**; 302:R400-8.
19. **Sun CW, Falck JR, Harder DR, Roman RJ.** Role of tyrosine kinase and PKC in the vasoconstrictor response to 20-HETE in renal arterioles. *Hypertension*, **1999**; 33:414-8.
20. **Gebremedhin D, Lange AR, Narayanan J, Aebly MR, Jacobs ER, Harder DR.** Cat cerebral arterial smooth muscle cells express cytochrome P450 4A2 enzyme and produce the vasoconstrictor 20-HETE which enhances L-Type Ca<sup>2+</sup> current. *J Physiol*, **1998**; 507:771-81.
21. **Fang X, Faraci FM, Kaduce TL, Harmon S, Modrick ML, Hu S, Moore SA, Falck JR, Weintraub NL, Spector AA.** 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid is a potent dilator of mouse basilar artery: Role of cyclooxygenase. *Am J Physiol*, **2006**; 291:H2301-7.
22. **Pratt PF, Falck JR, Reddy KM, Kurian JB, Campbell WB.** 20-HETE relaxes bovine coronary arteries through the release of prostacyclin. *Hypertension*, **1998**; 31:237-41.
23. **Yu M, McAndrew RP, Al-Saghir R, Maier KG, Medhora M, Roman RJ, Jacobs ER.** Nitric oxide contributes to 20-HETE-induced relaxation of pulmonary arteries. *J Appl Physiol*, **2002**; 93:1391-9.

24. **Ishizuka T, Cheng J, Singh H, Vitto MD, Manthathi VL, Falck JR, Laniado-Schwartzman M.** 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid stimulates nuclear factor-kappaB activation and the production of inflammatory cytokines in human endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther*, **2008**; 324:103-10.
25. **Cheng J, Wu CC, Gotlinger KH, Zhang F, Falck JR, Narsimhaswamy D, Schwartzman ML.** 20-Hydroxy-5,8,11,14-eicosatetraenoic acid mediates endothelial dysfunction via IKappaB kinase-dependent endothelial nitric-oxide synthase uncoupling. *J Pharmacol Exp Ther*, **2010**; 332:57-65.
26. **Anwar-Mohamed A, Zordoky BN, Aboutabl ME, El-Kadi AO.** Alteration of cardiac cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolism in response to lipopolysaccharide-induced acute systemic inflammation. *Pharmacol Res*, **2010**; 61:410-8.
27. **Theken KN, Deng Y, Kannon MA, Miller TM, Poloyac SM, Lee CR.** Activation of the acute inflammatory response alters cytochrome P450 expression and eicosanoid metabolism. *Drug Metab Dispos*, **2011**; 39:22-9.
28. **Roman RJ, Lombard JH.** Does 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid contribute to sex differences in cardiovascular risk by increasing oxidative stress. *Hypertension*, **2007**; 50:37-8.
29. **Harris MB, Blackstone MA, Ju H, Venema VJ, Venema RC.** Heat-induced increases in endothelial NO synthase expression and activity and endothelial NO release. *Am J Physiol*, **2003**; 285:H333-40.
30. **Ilangovan G, Osinbowale S, Bratasz A, Bonar M, Cardounel AJ, Zweier JL, Kuppusamy P.** Heat shock regulates the respiration of cardiac H9c2 cells through upregulation of nitric oxide synthase. *Am J Physiol*, **2004**; 287:C1472-81.
31. **Kone BC, Kuncewicz T, Zhang W, Yu ZY.** Protein interactions with nitric oxide synthases: Controlling the right time, the right place, and the right amount of nitric oxide. *Am J Physiol*, **2003**; 285:F178-90.
32. **Novoselova EG, Glushkova OV, Cherenkov DA, Parfenyuk SB, Novoselova TV, Lunin SM, Khrenov MO, Guzhova IV, Margulis BA, Fesenko EE.** Production of heat shock proteins, cytokines, and nitric oxide in toxic stress. *Biochemistry*, **2006**; 71:376-83.
33. **Venema RC, Venema VJ, Ju H, Harris MB, Snead C, Jilling T, Dimitropoulou C, Maragoudakis ME, Catravas JD.** Novel complexes of guanylate cyclase with heat shock protein 90 and nitric oxide synthase. *Am J Physiol*, **2003**; 285:H669-H678.
34. **Vo PA, Lad B, Tomlinson JA, Francis S, Ahluwalia A.** Autoregulatory role of endothelium-derived nitric oxide (NO) on lipopolysaccharide-induced vascular inducible NO synthase expression and function. *J Biol Chem*, **2004**; 280:7236-43.
35. **Yoshida M, Xia Y.** Heat shock protein 90 as an endogenous protein enhancer of inducible nitric-oxide synthase. *J Biol Chem*, **2003**; 278:36953-8.

36. **Chen Y, Medhora M, Falck JR, Pritchard KA Jr, Jacobs ER.** Mechanisms of activation of eNOS by 20-HETE and VEGF in bovine pulmonary artery endothelial cells. *Am J Physiol*, **2006**; 291:L378-85.
37. **Wang JS, Singh H, Zhang F, Ishizuka T, Deng H, Kemp R, Wolin MS, Hintze TH, Abraham NG, Nasjletti A, Laniado-Schwartzman M.** Endothelial dysfunction and hypertension in rats transduced with CYP4A2 adenovirus. *Circ Res*, **2006**; 98:962-9.
38. **Singh H, Cheng J, Deng H, Kemp R, Ishizuka T, Nasjletti A, Schwartzman ML.** Vascular cytochrome P450 4A expression and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid synthesis contribute to endothelial dysfunction in androgen-induced hypertension. *Hypertension*, **2007**; 50:123-9.
39. **Guo AM, Arbab AS, Falck JR, Chen P, Edwards PA, Roman RJ, Scicli AG.** Activation of VEGF through ROS mediates 20-HETE-induced endothelial cell proliferation. *J Pharmacol Exp Ther*, **2007**; 321:18-27.
40. **Abbas A, Blandon J, Rude J, Elfar A, Mukherjee D.** PPAR- $\gamma$  agonist in treatment of diabetes: cardiovascular safety considerations. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, **2012**; 10:124-34.
41. **Neher MD, Weckbach S, Huber-Lang MS, Stahel PF.** New insights into the role of peroxisome proliferator-activated receptors in regulating the inflammatory response after tissue injury. *PPAR Res*, **2012**; 2012:728461.
42. **Rosenson RS, Wright RS, Farkouh M, Plutzky J.** Modulating peroxisome proliferator-activated receptors for therapeutic benefit? Biology, clinical experience, and future prospects. *Am Heart J*, **2012**; 164:672-80.
43. **VonKnechten A, Soller M, Brüne B.** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) and sepsis. *Arch Immunol Ther Exp*, **2007**; 55:19-25.
44. **Wahli W, Michalik L.** PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation. *Trends Endocrinol Metab*, **2012**; 23:351-63.
45. **Barclay TB, Peters JM, Sewer MB, Ferrari L, Gonzalez FJ, Morgan ET.** Modulation of cytochrome P-450 gene expression in endotoxemic mice is tissue specific and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha dependent. *J Pharmacol Exp Ther*, **1999**; 290:1250-7.
46. **Ishizuka T, Ito O, Tan L, Ogawa S, Kohzuki M, Omata K, Takeuchi K, Ito S.** Regulation of cytochrome P-450 4A activity by peroxisome proliferator-activated receptors in the rat kidney. *Hypertens Res*, **2003**; 26:929-36.
47. **Ito O, Nakamura Y, Tan L, Ishizuka T, Sasaki Y, Minami N, Kanazawa M, Ito S, Sasano H, Kohzuki M.** Expression of cytochrome P-450 4 enzymes in the kidney and liver: regulation by PPAR and species-difference between rat and human. *Mol Cell Biochem*, **2006**; 284:141-8.

48. **Lee DL, Wilson JL, Duan R, Hudson T, El-Marakby A.** Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activation decreases mean arterial pressure, plasma interleukin-6, and COX-2 while increasing renal CYP4A expression in an acute model of DOCA-salt hypertension. *PPAR Res*, **2011**; 502631.
49. **Liang CJ, Tseng CP, Yang CM, Ma YH.** 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid inhibits ATP-induced COX-2 expression via peroxisome proliferator activator receptor- $\alpha$  in vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol*, **2011**; 163:815-25.
50. **Ng VY, Huang Y, Reddy LM, Falck JR, Lin ET, Kroetz DL.** Cytochrome P450 eicosanoids are activators of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Drug Metab Dispos*, **2007**; 35:1126-34.
51. **Feng AW, Gao W, Zhou GR, Yu R, Li N, Huang XL, Li QR, Li JS.** Berberine ameliorates COX-2 expression in rat small intestinal mucosa partially through PPAR $\gamma$  pathway during acute endotoxemia. *Int Immunopharmacol*, **2012**; 12:182-8.
52. **Feng AW, Yu C, Mao Q, Li N, Li QR, Li JS.** Berberine hydrochloride attenuates cyclooxygenase-2 expression in rat small intestinal mucosa during acute endotoxemia. *Fitoterapia*, **2011**; 82:976-82.
53. **Zhou Y, Luo P, Chang HH, Huang H, Yang T, Dong Z, Wang CY, Wang MH.** Colfibrate attenuates blood pressure and sodium retention in DOCA-salt hypertension. *Kidney Int*, **2008**; 74:1040-8.
54. **Lv X, Song JG, Li HH, Ao JP, Zhang P, Li YS, Song SL, Wang XR.** Decreased hepatic peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  contributes to increased sensitivity to endotoxin in obstructive jaundice. *World J Gastroenterol*, **2011**; 17:5267-73.
55. **Suliburk JW, Ward JL, Helmer KS, Adams SD, Zuckerbraun BS, Mercer DW.** Ketamine-induced hepatoprotection: the role of heme oxygenase-1. *Am J Physiol*, **2009**; 296:G1360-9.
56. **Collin M, Murch O, Thiemermann C.** Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma antagonists GW9662 and T0070907 reduce the protective effects of lipopolysaccharide preconditioning against organ failure caused by endotoxemia. *Crit Care Med*, **2006**; 34:1131-8.
57. **Dugo L, Collin M, Cuzzocrea S, Thiemermann C.** 15d-Prostaglandin J2 reduces multiple organ failure caused by wall-fragment of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Eur J Pharmacol*, **2004**; 498:295-301.
58. **Hill MR, Clarke S, Rodgers K, Thornhill B, Peters JM, Gonzalez FJ, Gimble JM.** Effect of peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators on tumor necrosis factor expression in mice during endotoxemia. *Infect Immun*, **1999**; 67:3488-93.
59. **Kaplan JM, Cook JA, Hake PW, O'Connor M, Burroughs TJ, Zingarelli B.** 15-Deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J(2) (15D-PGJ(2)), a peroxisome proliferator activated receptor gamma ligand, reduces tissue leukosequestration and mortality in endotoxic shock. *Shock*, **2005**; 24:59-65.

60. Kapoor A, Shintani Y, Collino M, Osuchowski MF, Busch D, Patel NS, Sepodes B, Castiglia S, Fantozzi R, Bishop-Bailey D, Mota-Filipe H, Yaqoob MM, Suzuki K, Bahrami S, Desvergne B, Mitchell JA, Thiernemann C. Protective role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\beta/\delta$  in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*, **2010**; 182:1506-15.
61. Miksa M, Wu R, Cui X, Dong W, Das P, Simms HH, Ravikumar TS, Wang P. Vasoactive hormone adrenomedullin and its binding protein: anti-inflammatory effects by up-regulating peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *J Immunol*, **2007**; 179:6263-72.
62. Wiel E, Lebuffe G, Robin E, Gasan G, Corseaux D, Tavernier B, Jude B, Bordet R, Vallet B. Pretreatment with peroxysome proliferator-activated receptor alpha agonist fenofibrate protects endothelium in rabbit Escherichia coli endotoxin-induced shock. *Intensive Care Med*, **2005**; 31:1269-79.
63. Wu WT, Lee CC, Lee CJ, Subeq YM, Lee RP, Hsu BG. Rosiglitazone ameliorates endotoxin-induced organ damage in conscious rats. *Biol Res Nurs*, **2011**; 13:38-43.
64. Zingarelli B, Sheehan M, Hake PW, O'Connor M, Denenberg A, Cook JA. Peroxisome proliferator activator receptor-gamma ligands, 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J2 and ciglitazone, reduce systemic inflammation in polymicrobial sepsis by modulation of signal transduction pathways. *J Immunol*, **2003**; 171:6827-37.
65. Zingarelli B1, Piraino G, Hake PW, O'Connor M, Denenberg A, Fan H, Cook JA. Peroxisome proliferator-activated receptor {delta} regulates inflammation via NF-{kappa}B signaling in polymicrobial sepsis. *Am J Pathol*, **2010**; 177:1834-1847.
66. Buharalioglu CK, Korkmaz B, Cuez T, Sahan-Firat S, Sari AN, Malik KU, Tunctan B. Piroxicam reverses endotoxin-induced hypotension in rats: contribution of vasoactive eicosanoids and nitric oxide. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **2011**; 109:186-94.
67. Buharalioglu CK, Sari AN, Kaçan M, Gilik D, Korkmaz B, Cuez T, Şahan Fırat S, Malik KU, Tunctan B. Endotoksemik sıçanlarda piroksikamin hipotansiyonu önleyici etkisine MEK1/ERK1/2/iNOS/NADPH oksidaz yolunun katkısı. XXI. Ulusal Farmakoloji Kongresi. Eskişehir, 19-22 Ekim **2011**: s. 169.
68. Cuez T, Korkmaz B, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Falck J, Malik KU, Tunctan B. A synthetic analog of 20-HETE, 5,14-HEDGE, reverses endotoxin-induced hypotension via increased 20-HETE levels associated with decreased iNOS protein expression and vasodilator prostanoid production in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **2010**; 106:378-88.
69. Cuez T. 20-HETE agonisti N-[20-hidroksieikosa-5(Z),14(Z)-dienoil]glisininin endotoksin ile oluşan hipotansiyonu önleyici etkisinin mekanizmasının araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin, **2010**.
70. Korkmaz B, Buharalioglu K, Sahan-Firat S, Cuez T, Demiryurek TA, Tunctan B. Activation of MEK1/ERK1/2/iNOS/sGC/PKG pathway associated with peroxynitrite formation contributes to hypotension and vascular hyporeactivity in endotoxemic rats. *Nitric Oxide: Biol Chem*, **2011**; 24:160-72.

71. **Korkmaz B, Cuez T, Buharalioglu CK, Demiryurek AT, Sahan-Firat S, Sari AN, Tunctan B.** Contribution of MEK1/ERK1/2/iNOS pathway to oxidative stress and decreased caspase-3 activity in endotoxemic rats. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem*, **2012**; 11:243-52.
72. **Korkmaz B, Ozveren E, Buharalioglu, CK, Tunctan B.** Extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) contributes to endotoxin-induced hyporeactivity via nitric oxide and prostacyclin production in rat aorta. *Pharmacology*, **2006**; 78:123-8.
73. **Korkmaz B.** Endotoksemik sıçanlarda ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz 1/2 ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz yolu aracılıklı vasküler hiporeaktivitenin mekanizmalarının araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin, **2009**.
74. **Sahan-Firat S, Canacankatan N, Korkmaz B, Yildirim H, Tamer L, Buharalioglu CK, Sari AN, Tunctan B.** Differential regulation of oxidative stress by NO in vascular and nonvascular tissues of endotoxemic rats. *FASEB J*, **2008**; 22:912.24.
75. **Sahan-Firat S, Canacankatan N, Korkmaz B, Yildirim H, Tamer L, Buharalioglu CK, Sari AN, Kacan M, Unsal D, Tunctan B.** Increased production of nitric oxide mediates selective organ-specific effects of endotoxin on oxidative stress. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem*, **2012**; 11:161-72.
76. **Sahan-Firat S, Korkmaz B, Cuez T, Ayaz L, Tamer L, Buharalioglu CK, Sari AN, Tunctan B.** Prostaglandins contribute to endotoxin-induced increase in lipid peroxidation via nitric oxide production during endotoxemia in rats. *FASEB J*, **2009**; 23:LB368.
77. **Tunctan B, Korkmaz B, Yildirim H, Tamer L, Atik U, Buharalioglu C.** Increased production of nitric oxide contributes to renal oxidative stress in endotoxemic rat. *Am J Infect Dis*, **2005**; 1:111-5.
78. **Tunctan B, Korkmaz B, Yildirim H, Tamer L, Atik U, Buharalioglu C.** Reversal of endotoxin-induced hypotension by inhibition of inducible nitric oxide synthase activity is associated with improved oxidative status in rat heart, aorta and mesenteric artery. *Turkish J Med Sci*, **2006**; 36:71-80.
79. **Tunctan B, Yaghini FA, Estes A, Malik KU.** Inhibition by nitric oxide and cyclooxygenase of cytochrome P450 4A Expression and activity contributes to endotoxin-induced hypotension in rats. *Nitric Oxide: Biol Chem*, **2006**; 14:51-7.
80. **Tunctan B, Korkmaz B, Dogruer ZN, Tamer L, Atik U, Buharalioglu CK.** Inhibition of extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) activity reverses endotoxin-induced hypotension via decreased nitric oxide production in rats. *Pharmacol Res*, **2007**; 56:56-4.
81. **Tunctan B, Korkmaz B, Buharalioglu CK, Sahan Firat S, Anjaiah S, Falck J, Roman RJ, Malik KU.** A 20-HETE agonist, N-[20-hydroxyeicosa-5(Z),14(Z)-dienoyl]glycine, opposes the fall in blood pressure and vascular reactivity in endotoxin-treated rats. *Shock*, **2008**; 30:329-35.

82. **Tunctan B, Korkmaz B, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Anjaiah S, Falck JR, Yildirim H, Tamer L, Roman RJ, Malik KU.** 20-HETE agonist, N-[20-hydroxyeicosa-5(Z),14(Z)-dienoyl]glycine, opposes the endotoxin-induced fall in blood pressure and the decrease in vascular reactivity and lipid peroxidation and increased catalase activity via inhibition of NO production in rats. *FASEB J*, **2008**; 22:1128.1.
83. **Tunctan B, Yaghini FA, Estes A, Malik KU.** Prostaglandins inhibit cytochrome P450 4A activity and contribute to endotoxin-induced hypotension in rats via nitric oxide production. *Arch Pharm Res*, **2008**; 31:856-65.
84. **Tunctan B, Korkmaz B, Cuez T, Sahan-Firat S, Yildirim H, Tamer L, Buharalioglu K, Falck JR, Malik KU.** Increased production of 20-HETE contributes to the effects of COX inhibitors to prevent the decrease in lipid peroxidation and increase in catalase activity during endotoxemia. *FASEB J*, **2009**; 23:937.13.
85. **Tunctan B, Korkmaz B, Cuez T, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Falck J, Malik KU.** Contribution of vasoactive eicosanoids and nitric oxide production to the effect of selective cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398, on endotoxin-induced hypotension in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **2010**; 107:877-82.
86. **Tunctan B, Korkmaz B, Sari AN, Kacan M, Unsal D, Serin MS, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Cuez T, Schunck WH, Manthathi VL, Falck JR, Malik KU.** Contribution of iNOS/sGC/PKG pathway, COX-2, CYP4A1, and gp91phox to the protective effect of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, against vasodilation, hypotension, tachycardia, and inflammation in a rat model of septic shock. *Nitric Oxide*, **2013**; 33:18-41.
87. **Tunctan B, Korkmaz B, Sari AN, Kacan M, Unsal D, Serin MS, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Cuez T, Schunck WH, Falck JR, Malik KU.** 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, reverses hypotension and improves survival in a rodent model of septic shock: contribution of soluble epoxide hydrolase, CYP2C23, MEK1/ERK1/2/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B pathway, and proinflammatory cytokine formation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2013**; 102-103:31-41.
88. **Tunctan B, Sari AN, Kacan M, Unsal D, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Korkmaz B, Falck JR, Malik KU.** NS-398 reverses hypotension in endotoxemic rats: contribution of eicosanoids, NO, and peroxynitrite. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2013**; 104-105:93-108.
89. **Sari AN, Korkmaz B, Serin MS, Kacan M, Unsal D, Buharalioglu CK, Sahan-Firat S, Manthathi VL, Falck JR, Malik KU, Tunctan B.** Effects of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, on lipopolysaccharide-induced changes in MyD88/TAK1/IKK $\beta$ /I $\kappa$ B- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B pathway and circulating miR-150, miR-223, and miR-297 levels in a rat model of septic shock. *Inflam Res*, **2014**; 63:741-56.
90. **Sari AN.** Endotoksemik sıçanlarda 20-HETE analogu 5,14-HEDGE'nin sistemik miR-150, miR-223 ve miR-297 düzeyleri üzerindeki etkisinin MyD88/TAK1/NF- $\kappa$ B yolu etkinliği ile ilişkilendirilerek araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin, **2013**.
91. **Iwamoto F, Umamoto T, Motojima K, Fujiki Y.** Nuclear transport of peroxisome-proliferator activated receptor  $\alpha$ . *J Biochem*, **2011**; 149:311-9.

92. **Umamoto T, Fujiki Y.** Ligand-dependent nucleo-cytoplasmic shuttling of peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$ . *Genes Cells*, **2012**; 17:576-96.
93. **VonKnethen A, Tzieply N, Jennewein C, Brüne B.** Casein-kinase-II-dependent phosphorylation of PPAR $\gamma$  provokes CRM1-mediated shuttling of PPAR $\gamma$  from the nucleus to the cytosol. *J Cell Sci*, **2010**; 123:192-201.
94. **Schreck I, Al-Rawi M, Mingot JM, Scholl C, Diefenbacher ME, O'Donnell P, Bohmann D, Weiss C.** c-Jun localizes to the nucleus independent of its phosphorylation by and interaction with JNK and vice versa promotes nuclear accumulation of JNK. *Biochem Biophys Res Commun*, **2011**; 407:735-40.
95. **Waldmann I, Wälde S, Kehlenbach RH.** Nuclear import of c-Jun is mediated by multiple transport receptors. *J Biol Chem*, **2007**; 282:27685-892.
96. **Xu K, Tao T, Jie J, Lu X, Li X, Mehmood MA, He H, Liu Z, Xiao X, Yang J, Ma JX, Li W, Zhou Y, Liu Z.** Increased importin 13 activity is associated with the pathogenesis of pterygium. *Mol Vis*, **2013**; 19:604-13.
97. **Perez J, Dellinger P.** Sepsis definitions. In: Eichacker PQ, Pugin J. Eds. *Evolving Concepts in Sepsis and Septic Shock*. ABD: Kluwer Academic Publishers, **2001**:1-15.
98. **Thijs LG, Dhainaut J-F.** Definitions and epidemiology. In: Dhainaut JF, Thijs LG, Park G. Eds. *Septic Shock*, Philadelphia: WB Saunders, **2000**:3-18.
99. **Vincent JL.** Clinical sepsis and septic shock-definition, diagnosis and management principles. *Langenbecks Arch Surg*, **2008**; 393:817-24.
100. **Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR.** Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*, **2001**; 29:1303-10.
101. **Cavaillon JM, Adib-Conquy M, Fitting C, Adrie C, Payen, D.** Scand. Cytokine cascade in sepsis. *J Infect Dis*, **2003**; 35:535-44.
102. **Martin JB, Wheeler AP.** Approach to the patient with sepsis. *Clin Chest Med*, **2009**; 30:1-16.
103. **Morrell MR, Micek ST, Kollef MH.** The management of severe sepsis and septic shock. *Infect Dis Clin North Am*, **2009**; 23:485-501.
104. **Silva E, Passos Rda H, Ferri MB, de Figueiredo LF.** Sepsis: from bench to bedside. *Clinics (Sao Paulo)*, **2008**; 63:109-20.



105. **Sutton SS.** Sepsis and septic shock. In: Chisholm-Burns MA, Wells BG, Schwinghammer TL, Malone PM, Kolesar JM, Rotschafer JC, Dipiro JT. Eds. *Pharmacotherapy: Principles & Practice*. ABD: The McGraw-Hill Companies, Inc., **2008**; 1185-97.
106. **Brown J, Wang H, Hajishengallis GN, Martin M,** TLR-signaling networks: An integration of adaptor molecules, kinases and cross-talk. *J Dent Res*, **2011**; 90:417-27.
107. **Gao H, Evans TW, Finney S.** Bench-to-bedside review: sepsis, severe sepsis and septic shock - does the nature of the infecting organism matter? *J Crit Care*, **2008**; 12:213.
108. **Gustot, T.** Multiple organ failure in sepsis: prognosis and role of systemic inflammatory response. *Curr Opin Crit Care*, **2011**; 17:153-9.
109. **Kellum JA, Kong L, Fink MP, Weissfeld LA, Yealy DM, Pinsky MR, Fine J, Krichevsky A, Delude RL, Angus DC.** GenIMS Investigators. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the genetic and inflammatory markers of sepsis (GenIMS) study. *Arch Intern Med*, **2007**; 167:1655-63.
110. **Latto C.** An overview of sepsis. *Dimens Crit Care Nurs*, **2008**; 27:195-200.
111. **Levy B, Collin S, Sennoun N, Ducrocq N, Kimmoun A, Asfar P, Perez P, Meziani F.** Vascular hyporesponsiveness to vasopressors in septic shock: from bench to bedside. *Intensive Care Med*, **2010**; 36: 2019-29.
112. **Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS.** LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*, **2008**; 42(2):145-51.
113. **Martins PS, Brunialti MK, da Luz Fernandes M, Martos LS, Gomes NE, Rigato O, Salomao R.** Bacterial recognition and induced cell activation in sepsis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, **2006**; 6:183-91.
114. **Nduka OO, Parrillo JE.** The pathophysiology of septic shock. *Crit Care Nurs Clin North Am*, **2011**; 23:41-66.
115. **Opal SM.** Endotoxins and other sepsis triggers. *Contrib Nephrol*, **2010**; 167:14-24.
116. **Rudiger A, Stotz M, Singer M.** Cellular processes in sepsis. *Swiss Med Wkly*, **2008**; 138:629-34.
117. **Appelmek BJ, Lynn WA.** The cause of sepsis: bacterial cell components that trigger the cytokine cascade. In: Dhainaut JF, Thijs LG, Park G. Eds. *Septic shock*, 1<sup>st</sup> Ed. Çin: W.B Saunders Co, **2000**:21-6.
118. **Draing C, Sigel S, Deininger S, Traub S, Munke R, Mayer C, Hareng L, Hartung T, von Aulock S, Hermann C.** Cytokine induction by Gram-positive bacteria. *Immunobiology*, **2008**; 213:285-96.

119. **Inagawa H, Kohchi C, Soma G.** Oral administration of lipopolysaccharides for the prevention of various diseases: benefit and usefulness. *Anticancer Res*, **2011**; 31:2431-6.
120. **Majcherczyk PA, Langen H, Heumann D, Fountoulakis M, Glauser MP, Moreillon P.** Digestion of streptococcus pneumoniae cell walls with its major peptidoglycan hydrolase releases branched stem peptides carrying proinflammatory activity. *Biol Chem*, **1999**; 274:12537-43.
121. **Rietschel ET, Kirikae T, Schade FU, Mamat U, Schmidt G, Loppnow H, Ulmer AJ, Zahringer U, Seydel U, Di Padova F, Schreier M, Brade H.** Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *FASEB J*, **1994**; 8:217-25.
122. **Seydel U, Oikawa M, Fukase K, Kusumoto S, Brandenburg K.** Intrinsic conformation of lipid A is responsible for agonistic and antagonistic activity. *Eur J Biochem*, **2000**; 267:3032-9.
123. **Nijland R, Hofland T, Van Strijp JAG.** Recognition of LPS by TLR4: Potential for anti-inflammatory therapies. *Mar Drugs*, **2014**; 12:4260-73.
124. **Nolan GP, Ghosh S, Liou HC, Tempst P, Baltimore D.** DNA binding and I kappa B inhibition of the cloned p65 subunit of NF-kappa B, a rel-related polypeptide. *Cell*, **1991**; 64:961-9.
125. **Hayden MS, Ghosh S.** Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev*, **2004**; 18:2195-2224.
126. **Birbach A, Gold P, Binder BR, Hofer E, de Martin R, Schmid JA.** Signaling molecules of the NF-kappa B pathway shuttle constitutively between cytoplasm and nucleus. *J Biol Chem*, **2002**; 277:10842-51.
127. **Huang TT, Kudo N, Yoshida M, Miyamoto S.** A nuclear export signal in the N-terminal regulatory domain of IkappaBalpha controls cytoplasmic localization of inactive NF-kappaB/IkappaBalpha complexes. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2000**; 97:1014-9.
128. **Johnson C, Van Antwerp D, Hope TJ.** An N-terminal nuclear export signal is required for the nucleocytoplasmic shuttling of IkappaBalpha. *EMBO J*, **1999**; 18:6682-93.
129. **Shirakawa F, Mizel SB.** In vitro activation and nuclear translocation of NF-kappa B catalyzed by cyclic AMP-dependent protein kinase and protein kinase C. *Mol Cell Biol*, **1989**; 9:2424-30.
130. **Ghosh S, Karin M.** Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell*, **2002**; 109:S81-96.
131. **Weiss K.** Regulating access to the genome: nucleocytoplasmic transport throughout the cell cycle. *Cell*, **2003**; 112:441-51.
132. **Fagerlund R, Kinnunen L, Köhler M, Julkunen I, Melen K.** NF- $\kappa$ B is transported into the nucleus by importin  $\alpha$ 3 and importin  $\alpha$ 4. *J Biol Chem*, **2005**; 280:15942-51.

133. **Fagerlund R, Melén K, Cao X, Julkunen I.** NF-kappaB p52, RelB and c-Rel are transported into the nucleus via a subset of importin alpha molecules. *Cell Signal*, **2008**; 20:1442-51.
134. **Theiss AL, Jenkins AK, Okoro NI, Klapproth JM, Merlin D, Sitaraman SV.** Prohibitin inhibits tumor necrosis factor alpha-induced nuclear factor-kappa B nuclear translocation via the novel mechanism of decreasing importin alpha3 expression. *Mol Biol Cell*, **2009**; 20:4412-23.
135. **Moorthy AK, Ghosh G.** p105.Ikappa B gamma and prototypical Ikappa Bs use a similar mechanism to bind but a different mechanism to regulate the subcellular localization of NF-kappa B. *J Biol Chem*, **2003**; 278:556-66.
136. **Chen Y, Vallee S, Wu J, Vu D, Sondek J, Ghosh G.** Inhibition of NF-kappaB activity by IkappaBbeta in association with kappaB-Ras. *Mol Cell Biol*, **2004**; 24:3048-56.
137. **Yamazaki S, Muta T, Takeshige K.** A novel IkappaB protein, IkappaB-zeta, induced by proinflammatory stimuli, negatively regulates nuclear factor-kappaB in the nuclei. *J Biol Chem*, **2001**; 276:27657-62.
138. **Harhaj EW, Sun SC.** Regulation of RelA subcellular localization by a putative nuclear export signal and p50. *Mol Cell Biol*, **1999**; 19:7088-95.
139. **Zerfaoui M, Errami Y, Naura AS, Suzuki Y, Kim H, Ju J, Liu T, Hans CP, Kim JG, Abd Elmaged ZY, Koochekpour S, Catling A, Boulares AH.** Poly(ADP-ribose) polymerase-1 is a determining factor in Crm1-mediated nuclear export and retention of p65 NF-kappa B upon TLR4 stimulation. *J Immunol*, **2010**; 185:1894-902.
140. **Abd Elmaged ZY, Naura AS, Errami Y, Zerfaoui M.** The poly(ADP-ribose) polymerases (PARPs): new roles in intracellular transport. *Cell Signal*, **2012**; 24:1-8.
141. **Dyson HJ, Komives EA.** Role of disorder in IκB-NFκB interaction. *IUBMB Life*, **2012**; 64:499-505.
142. **Gupta SC, Sundaram C, Reuter S, Aggarwal BB.** Inhibiting NF-κB activation by small molecules as a therapeutic strategy. *Biochim Biophys Acta*, **2010**; 1799:775-87.
143. **Haddad JJ, Abdel-Karim NE.** NF-κB cellular and molecular regulatory mechanisms and pathways: therapeutic pattern or pseudoregulation? *Cell Immunol*, **2011**; 271:5-14.
144. **Li X, Jiang S, Tapping RI.** Toll-like receptor signaling in cell proliferation and survival. *Cytokine*, **2010**; 49:1-9.
145. **Liu SF, Malik AB.** NFκ-B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2006**; 290:L622-45.

146. **Oeckinghaus A, Ghosh S.** The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, **2009**; 1:a000034.
147. **Sun SC.** Non-canonical NF-κB signaling pathway. *Cell Res*, **2011**; 21:71-85.
148. **Wan F, Lenardo MJ.** The nuclear signaling of NF-kappaB: current knowledge, new insights, and future perspectives. *Cell Res*, **2010**; 20:24-33.
149. **Wertz IE, Dixit VM.** Signaling to NF-κB: regulation by ubiquitination. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, **2010**; 2:a003350.
150. **Park SH, Kim ND, Jung JK, Lee CK, Han SB, Kim Y.** Myeloid differentiation 2 as a therapeutic target of inflammatory disorders. *Pharmacol Ther*, **2012**; 133:291-8.
151. **Razani B, Reichardt AD, Cheng G.** Non-canonical NF-κB signaling activation and regulation: principles and perspectives. *Immunol Rev*, **2011**; 244:44-54.
152. **Schmid JA, Birbach A.** IkappaB kinase beta (IKKbeta/IKK2/IKBKB)--a key molecule in signaling to the transcription factor NF-kappaB. *Cytokine Growth Factor Rev*, **2008**; 19:157-65.
153. **Sudhahar V, Shaw S, Imig JD.** Epoxyeicosatrienoic acid analogs and vascular function. *Curr Med Chem*, **2010**; 17:1181-90.
154. **Van der Heiden K, Cuhlmann S, Luong le A, Zakkar M, Evans PC.** Role of nuclear factor kappaB in cardiovascular health and disease. *Clin Sci*, **2010**; 118:593-605.
155. **Wittebole X, Castanares-Zapatero D, Laterre PF.** Toll-like receptor 4 modulation as a strategy to treat sepsis. *Mediators Inflamm*, **2010**; 2010:568396.
156. **Cuzzocrea S, Mazzone E, Di Paola R, Esposito E, Macarthur H, Matuschak GM, Salvemini D.** A Role for nitric oxide-mediated peroxynitrite formation in a model of endotoxin-induced shock. *J Pharmacol Exp Ther*, **2006**; 319:73-81.
157. **Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D.** Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev*, **2001**; 53:135-59.
158. **Flora SJ.** Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cell Mol Biol*, **2007**; 53:1-2.
159. **Sakaguchi S, Furusawa S.** Oxidative stress and septic shock: metabolic aspects of oxygen-derived free radicals generated in the liver during endotoxemia. *FEMS Immunol Med Microbiol*, **2006**; 47:167-77.

160. **Salvemini D, Cuzzocrea, S.** Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med*, **2002**; 33:1173-85.
161. **Carney DE, Matsushima K, Frankel HL.** Treatment of sepsis in the surgical intensive care unit. *Isr Med Assoc J*, **2011**; 13:694-9.
162. **Cohen J.** Non-antibiotic strategies for sepsis. *Clin Microbiol Infect*, **2009**; 15:302-7.
163. **Cross AS, Opal SM.** A new paradigm for the treatment of sepsis: is it time to consider combination therapy? *Ann Intern Med*, **2003**; 138:502-5.
164. **De Backer D.** Treatment of shock. *Acta Clin Belg*, **2011**; 66:438-42.
165. **Havel C, Arrich J, Losert H, Gamper G, Müllner M, Herkner H.** Vasopressors for hypotensive shock. *Cochrane Database Syst Rev*, **2011**; 5:CD003709.
166. **Kanji Z, Dumaresque C.** Time to effective antibiotic administration in adult patients with septic shock: a descriptive analysis. *Intensive Crit Care Nurs*, **2012**; 28:288-93.
167. **May CN, Calzavacca P, Ishikawa K, Langenberg C, Wan L, Ramchandra R, Bellomo R.** Novel targets for sepsis-induced kidney injury: the glomerular arterioles and the sympathetic nervous system. *Exp Physiol*, **2012**; 97:1168-77.
168. **Patel GP, Balk RA.** Systemic steroids in severe sepsis and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*, **2012**; 185:133-9.
169. **Puskarich MA.** Emergency management of severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care*, **2012**; 18:295-300.
170. **Rivers EP, Katranji M, Jaehne KA, Brown S, Abou Dagher G, Cannon C, Coba V.** Early interventions in severe sepsis and septic shock: a review of the evidence one decade later. *Minerva Anesthesiol*, **2012**; 78(6):712-24.
171. **Yarema TC, Yost S.** Low-dose corticosteroids to treat septic shock: a critical literature review. *Crit Care Nurse*, **2011**; 31:16-26.
172. **Alsaad AM, Zordoky BN, Tse MM, El-Kadi AO.** Role of cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolites in the pathogenesis of cardiac hypertrophy. *Drug Metab Rev*, **2013**; 45:173-95.
173. **Edson KZ, Rettie AE.** CYP4 enzymes as potential drug targets: Focus on enzyme multiplicity, inducers and inhibitors and therapeutic modulation of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) synthase and fatty acid  $\omega$ -hydroxylase activities. *Curr Top Med Chem*, **2013**; 13:1429-40.

174. **Feletou M.** Calcium-activated potassium channels and endothelial dysfunction: therapeutic options? *Br J Pharmacol*, **2009**; 156:545-62.
175. **Imig JD, Simpkins AN, Renic M, Harder DR.** Cytochrome P450 eicosanoids and cerebral vascular function. *Expert Rev Mol Med*, **2011**; 13:e7.
176. **Kroetz DL, Xu F.** Regulation and inhibition of arachidonic acid omega-hydroxylases and 20-HETE formation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **2005**; 45:413-38.
177. **Miyata N, Roman RJ.** Role of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) in vascular system. *J Smooth Muscle Res*, **2005**; 41:175-93.
178. **Roman RJ.** P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev*, **2002**; 82:131-85.
179. **Fan F, Muroya Y, Roman RJ.** Cytochrome P450 eicosanoids in hypertension and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **2015**; 24:37-46.
180. **Chen L, Ackerman R, Guo AM.** 20-HETE in neovascularization. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2012**; 98:63-8.
181. **Williams JM, Murphy S, Burke M, Roman RJ.** 20-hydroxyeicosatetraenoic acid: a new target for the treatment of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*, **2010**; 56:336-44.
182. **Wu CC, Schwartzman ML.** The role of 20-HETE in androgen-mediated hypertension. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2011**; 96:45-53.
183. **Zordoky BN, El-Kadi AO.** Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular diseases. *Pharmacol Ther*, **2010**; 125:446-63.
184. **Harder DR, Narayanan J, Gebremedhin D.** Pressure-induced myogenic tone and role of 20-HETE in mediating autoregulation of cerebral blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2011**; 300:H1557-65.
185. **Regner KR, Roman RJ.** Role of medullary blood flow in the pathogenesis of renal ischemia-reperfusion injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **2012**; 21:33-8.
186. **Seubert JM, Zeldin DC, Nithipatikom K, Gross GJ.** Role of epoxyeicosatrienoic acids in protecting the myocardium following ischemia/reperfusion injury. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2007**; 82:50-9.
187. **Wu CC, Gupta T, Garcia V, Ding Y, Schwartzman ML.** 20-HETE and blood pressure regulation: Clinical implications. *Cardiol Rev*, **2014**; 22:1-12.

188. **Sacerdoti D, Gatta A, McGiff JC.** Role of cytochrome P450-dependent arachidonic acid metabolites in liver physiology and pathophysiology. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2003**; 72:51-71.
189. **Fleming I.** Cytochrome p450 and vascular homeostasis. *Circ Res*, **2001**; 89:753-62.
190. **Medhora M, Dhanasekaran A, Gruenloh SK, Dunn LK, Gabrilovich M, Falck JR, Harder DR, Jacobs ER, Pratt PF.** Emerging mechanisms for growth and protection of the vasculature by cytochrome P450-derived products of arachidonic acid and other eicosanoids. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, **2007**; 82:19-29.
191. **Dreyer C, Krey G, Keller H, Givel F, Helftenbein G, Wahli W.** Control of the peroxisomal  $\beta$ -oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell*, **1992**; 68:879-87.
192. **Isseman I, Green S.** Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxysome proliferators. *Nature*, **1990**; 347:645-50
193. **Zhu Y ,Alvares K, Huang Q, Rao MS, Reddy JK.** Cloning of a new member of the peroxisome proliferator- activated receptor gene family from mouse liver. *J Biol Chem*, **1993**; 268:26817-20.
194. **Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM.** PPAR $\gamma$  2: tissue- specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev*, **1994**; 8:1224-34.
195. **Kliwer SA, Forman BA, Blumberg B, Ong ES, Borgmeyer U, Mangelsdorf DJ, Umesono K, Evans RM.** Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator-activated receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1994**; 91:7355-9.
196. **Grygiel-Górniak B.** Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications-a review. *Nutr J*, **2014**; 13:17.
197. **Wright MB1, Bortolini M, Tadayyon M, Bopst M.** Mini review: challenges and opportunities in development of PPAR agonists. *Mol Endocrinol*, **2014**; 28:1756-68.
198. **Glass CK, Ogawa S.** Combinatorial roles of nuclear receptors in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*, **2006**; 6:44-55.
199. **Aydogan HY, Kurt O, Kurnaz O, Teker BA, Kucukhuseyin O.** Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) isoforms in coronary heart disease *Turk J Biochem*, **2013**; 38:372-84.
200. **Kiec-Wilk B, Dembinska-Kiec A, Olszanecka A, Bodzioch M, Kawecka-Jaszcz K.** The selected pathophysiological aspects of PPARs activation. *J PhysiolPharmacol*, **2005**; 56:149-62.
201. **Kota BP, Huang TH, Roufogalis BD.** An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research*, **2005**; 51:85-94.

202. **Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Heyman R, Briggs M, Caayet D, Deeb S, Staels B, Auwerx J.** PPAR alpha and PPAR gamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. *EMBO J*, **1996**; 15:5336-48.
203. **Libby P, Plutzky J.** Inflammation in diabetes: Role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  and receptor- $\gamma$  agonists. *Am J Cardiol*, **2007**; 19:27B-40B.
204. **Chinetti G, Griglio S, Antonucci M, Torra IP, Delerive P, Majd Z, Fruchart JC, Chapman J, Najib J, Staels B.** Activation of proliferator activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$  induces apoptosis of human monocyte derived macrophages. *J BiolChem*, **1998**; 273:25573-80.
205. **Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, Tedgui A.** Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR $\alpha$  but not by PPAR $\gamma$  activators. *Nature*, **1998**; 393:790-3.
206. **Delerive P, Martin-Nizard F, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, Najib J, Duriez P, Staels B.** Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit thrombin-induced endothelin-1 production in human vascular endothelial cells by inhibiting the activator protein-1 signaling pathway. *Circ Res*, **1999**; 85:394-402.
207. **Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J.** PPAR $\alpha$  activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation*, **1999**; 99:3125-31.
208. **Tugwood JD, Issemann I, Anderson RG, Bundell KR, McPheat WL, Green S.** The mouse peroxysome proliferator- activated receptor recognizes a response element in the 50 flanking sequence of the rat acyl coA oxidase gene. *EMBO J*, **1992**; 11:433-9.
209. **Plutzky J.** Macrovascular effects and safety issues of therapies for type 2 diabetes. *Am J Cardiol*, **2011**; 108:25B-32B.
210. **Plutzky J.** The PPAR-RXR transcriptional complex in the vasculature: energy in the balance. *Circ Res*, **2011**; 108:1002-6.
211. **Oyekan A.** PPARs and their effects on the cardiovascular system. *Clin Exp Hypertens*, **2011**; 33:287-93.
212. **Schultze AE, Alborn WE, Newton RK, Konrad RJ.** Administration of a PPARalpha agonist increases serum apolipoprotein A-V levels and the apolipoprotein A-V/apolipoprotein C-III ratio. *J Lipid Res*, **2005**; 46:1591-5.
213. **Schoonjans K, B. Staels, and J. Auwerx.** The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta*, **1996**; 1302:93-109.



214. Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPARalpha activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation*, **1999**; 99:3125-31.
215. Wang YX, Lee CH, Tiep S, Yu RT, Ham JKang H, Evans RM. Peroxisome- proliferator-activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*, **2003**; 113:159-70.
216. Blok, WL, Katan MB, and van der Meer JW. Modulation of inflammation and cytokine production by dietary (n-3) fatty acids. *J Nutr*, **1996**; 126:1515-33.
217. Whelan, J. Antagonistic effects of dietary arachidonic acid and n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Nutr*, **1996**; 126:1086S–1091S.
218. Delerive P, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Endocrinol*, **2001**; 169:453-9.
219. Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, Tedgui A. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR $\alpha$  but not by PPAR $\gamma$  activators. *Nature*, **1998**; 393:790-3.
220. Despres JP, Lemieux I, Pascot A, Almeras N, Dumont M, Nadeau A, Bergeron J, Prud'homme D. Gemfibrozil reduces plasma C-reactive protein levels in abdominally obese men with the atherogenic dyslipidemia of the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2003**; 23:702-3.
221. Gervois P, Kleemann R, Pilon A, Percevault F, Koenig W, Staels B, Kooistra T. Global suppression of IL-6-induced acute phase response gene expression after chronic in vivo treatment with the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator fenofibrate. *J Biol Chem*, **2004**; 279:16154-60.
222. Okopien B, Krysiak R, Kowalski J, Madej A, Belowski D, Zielinski M, Labuzek K, Herman ZS. The effect of statins and fibrates on interferon- $\alpha$  and interleukin-2 release in patients with primary type II dyslipidemia. *Atherosclerosis*, **2004**; 176:327-35.
223. Sebestjen M, Keber I, Zegura B, Simcic S, Bozic M, Fressart MM, Stegnar M. Statin and fibrate treatment of combined hyperlipidemia: the effects on some novel risk factors. *Thromb Haemost*, **2004**; 92:1129-35.
224. Okopien B, Krysiak R, Kowalski J, Madej A, Belowski D, Zielinski M, Herman ZS. Monocyte release of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1 $\beta$  in primary type IIa and IIb dyslipidemic patients treated with statins or fibrates. *J Cardiovasc Pharmacol*, **2005**; 46:377-86.
225. Touyz RM, Schiffrin EL. Peroxisome proliferator-activated receptors in vascular biology-molecular mechanisms and clinical implications. *Vascular Pharmacology*, **2006**; 45:19-28.

226. **Kowalski J, Okopien B, Madej A, Zielinski M, Belowski D, Kalina Z, Herman ZS.** Effects of atorvastatin, simvastatin, and fenofibrate therapy on monocyte chemoattractant protein-1 secretion in patients with hyperlipidemia. *Eur J Clin Pharmacol*, **2003**; 59:189-93.
227. **Madej A, Okopien B, Kowalski J, Zielinski M, Wysocki J, Szygula B, Kalina Z, Herman ZS.** Effects of fenofibrate on plasma cytokine concentrations in patients with atherosclerosis and hyperlipoproteinemiaIIb. *Int J Clin Pharmacol Ther*, **1998**; 36:345-9.
228. **Empen K, Frost RJ, Geiss HC, Otto C, Parhofer KG.** Differential effects of fenofibrate versus atorvastatin on the concentrations of E-selectin and vascular cellular adhesion molecule-1 in patients with type 2 diabetes mellitus and mixed hyperlipoproteinemia: a randomized cross-over trial. *Cardiovasc Diabetol*, **2003**; 2:17.
229. **Marchesi S, Lupattelli G, Lombardini R, Roscini AR, Siepi D, Vaudo G, Pirro M, Sinzinger H, Schillaci G, Mannarino E.** Effects of fenofibrate on endothelial function and cell adhesion molecules during post-prandial lipemia in hypertriglyceridemia. *J Clin Pharm Ther*, **2003**; 28:419-24.
230. **Koh KK, Han SH, Quon MJ, YealAhn J, Shin EK.** Beneficial effects of fenofibrate to improve endothelial dysfunction and raise adiponectin levels in patients with primary hypertriglyceridemia. *Diabetes Care*, **2005**; 28:1419-24.
231. **Frost RJ, Otto C, Geiss HC, Schwandt P, Parhofer KG.** Effects of atorvastatin versus fenofibrate on lipoprotein profiles, low-density lipoprotein subfraction distribution, and hemorheologic parameters in type 2 diabetes mellitus with mixed hyperlipoproteinemia. *Am J Cardiol*, **2001**; 87:44-8.
232. **Berger J, Moller DE.** The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med*, **2002**; 53:409-35.
233. **Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W.** Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology*, **1996**;137:354-66.
234. **Leibowitz MD, Fievet C, Hennuyer N, Peinado-Onsurbe J, Duez H, Bergera J, Cullinan CA, Sparrow CP, Baffic J, Berger GD, Santini C, Marquis RW, TolmanRL, Smith RG, Moller DE, Auwerx J.** Activation of PPAR delta alters lipid metabolism in db/db mice. *FEBS Lett*, **2000**; 473:333-6.
235. **Wang YX, Zhang CL, Yu RT, Cho HK, Nelson MC, Bayuga-Ocampo CR, Ham J, Kang H, Evans RM.** Regulation of Muscle Fiber Type and Running Endurance by PPARdelta. *PLoS Biol*, **2004**; 2:e294.
236. **Rocchi S, Auwerx J.** Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: a versatile metabolic regulator. *Ann Med*, **1999**; 31:342-51.
237. **Zingarelli B, Cook JA.** Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a new therapeutic target in sepsis and inflammation. *Shock*, **2005**; 23(25):393-9.

238. **Semple RK, Chatterjee VKK, O’Rahilly S.** PPAR $\gamma$  and human metabolic disease. *J Clin Invest*, **2006**; 116:581-9.
239. **Rangwala SM, Lazar MA.** Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in diabetes and metabolism. *Trends Pharmacol Sci*, **2004**; 25:331-6.
240. **Plutzky J.** PPARs and Cardiovascular Disease Risk Reduction in Patients with Type 2 Diabetes. Erişim: <http://www.medscape.org/viewarticle/765568> **2012**. Erişim tarihi: 01.10.2014.
241. **Germain P, Chambon P, Eichele G, Evans RM, Lazar MA, Leid M, De Lera AR, Lotan R, Mangelsdorf DR, Gronemeyer H.** The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily. Retinoid x receptors (RXRs), *Pharmacol Rev*, **2006**; 58:760-72.
242. **Haugen BR, Jensen DR, Sharma V, Pulawa LK, Hays WR, Krezel W, Chambon P, Eckel RH.** Retinoid X receptor-deficient mice have increased skeletal muscle lipoprotein lipase activity and less weight gain when fed a high-fat diet. *Endocrinology*, **2004**; 145:3679-85.
243. **Ross AW, Bell LM, Littlewood PA, Mercer JG, Barrett P, Morgan PJ.** Temporal changes in gene expression in the arcuate nucleus precede seasonal responses in adiposity and reproduction. *Endocrinology*, **2005**; 146:1940-7.
244. **Brown NS, Smart A, Sharma V, Brinkmeier ML, Greenlee L, Camper SA, Jensen DR, Eckel RH, Krezel W, Chambon P, Haugen BR.** Thyroid hormone resistance and increased metabolic rate in the RXR-gamma-deficient Mouse. *J Clin Invest*, **2000**; 106:73-9.
245. **Boehm MF, Zhang L, Zhi L, McClurg MR, Berger E, Wagoner M, Mais DE, Suto CM, Davies PJA, Heyman RA, Nadzan AM.** Design and synthesis of potent retinoid X receptor selective ligands that induce apoptosis in leukemia cells. *J Med Chem*, **1995**; 38:3146-55.
246. **Perez E, Bourguet W, Gronemeyer H, de Lera AR.** Modulation of RXR function through ligand design. *Biochim Biophys Acta*, **2012**; 1821:57-69.
247. **Krezel W, Dupe V, Mark M, Dierich A, Kastner P, Chambon P.** RXR gamma null mice are apparently normal and compound RXR $\alpha$ +/-/RXR $\gamma$ -/-/RXR $\gamma$ -/- mutant mice are viable. *Proc Natl Acad Sci*, **1996**; 93:9010-9014.
248. **Imai T, Jiang M, Chambon P, Metzger D.** Impaired adipogenesis and lipolysis in the mouse upon selective ablation of the retinoid X receptor  $\alpha$  mediated by a tamoxifen-inducible chimeric Cre recombinase (Cre-ERT2) in adipocytes, *Proc Natl Acad Sci*, **2001**; 98:224-8.
249. **Vesely PW, Staber PB, Hoefler G, Kenner L.** Translational regulation mechanisms of AP-1 proteins. *Mutat Res*, **2009**; 682:7-12.
250. **Eferl R, Wagner EF.** AP-1: a double-edged sword in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer*, **2003**; 3:859-68.

251. **Hai T, Curran T.** Cross-family dimerization of transcription factors Fos/Jun and ATF/CREB alters DNA binding specificity. *Proc Natl Acad Sci*, **1991**; 88:3720-4.
252. **Reddy SP, Mossman BT.** Role and regulation of activator protein-1 in toxicant-induced responses of the lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **2002**; 283:1161-78.
253. **Karin M.** The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem*, **1995**; 270:16483-6.
254. **Hibi M, Lin A, Smeal T, Minden A, Karin M.** Identification of an oncoprotein- and UV-responsive protein kinase that binds and potentiates the c-Jun activation domain. *Genes Dev*, **1993**; 7:2135-48.
255. **Derijard B, Hibi M, Wu IH, Barrett T, Su B, Deng T, Karin M, Davis R J.** JNK1: a protein kinase stimulated by UV light and H-Ras that binds and phosphorylates the c-Jun activation domain. *Cell*, **1994**; 76:1020-8.
256. **Smeal T, Hibi M, Karin M.** Altering the specificity of signal transduction cascades: positive regulation of c-Jun transcriptional activity by protein kinase A. *EMBO J*, **1994**; 13:6006-10.
257. **Allen TD, Cronshaw JM, Bagley S, Kiseleva E, Goldberg MW.** The nuclear pore complex: mediator of translocation between nucleus and cytoplasm. *J Cell Sci*, **2000**; 113:1651-9.
258. **Ohno M, Fornerod M, Mattaj IW.** Nucleocytoplasmic transport: the last 200 nanometers. *Cell*, **1998**; 92: 327-36.
259. **Cautain B, Hill R, de Pedro N, Link W.** Components and regulation of nuclear transport processes. *FEBS J*, **2014**; Nov 27.
260. **Aggarwal A, Agrawal DK.** Importins and exportins regulating allergic immune responses. *Mediators Inflamm*, **2014**; 2014:476357.
261. **Tran EJ, King MC, Corbett AH.** Macromolecular transport between the nucleus and the cytoplasm: Advances in mechanism and emerging links to disease. *Biochim Biophys Acta*, **2014**; 1843:2784-95.
262. **Cortes P, Ye ZS, Baltimore D.** RAG-1 interacts with the repeated amino acid motif of the human homologue of the yeast protein SRP1. *Proc Natl Acad Sci*, **1994**; 91:7633-7.
263. **Cuomo CA, Kirch SA, Gyuris J, Brent R, Oettinger MA Oettinger.** Rch1, a protein that specifically interacts with the RAG-1 recombination-activating protein. *Proc Natl Acad Sci*, **1994**; 91: 6156.

264. **Kohler M, Ansieau S, Prehn S, Leutz A, Haller H, Hartmann E.** Cloning of two novel human importin-alpha subunits and analysis of the expression pattern of the importin-alpha protein family. *FEBS Lett*, **1997**; 417:104.
265. **Kohler M, Speck C, Christiansen M, Bischoff FR, Prehn S, Haller H, Gorlich D, Hartmann E.** Evidence for distinct substrate specificities of importin alpha family members in nuclear protein import. *Mol Cell Biol*, **1999**; 19:7782.
266. **Seki S, Tada S, Katada T, Enomoto T.** Cloning of a cDNA encoding a novel importin-alpha homologue, Qip1: discrimination of Qip1 and Rch1 from hSrp1 by their ability to interact with DNA helicase Q1/RecQL. *Biochem Biophys Res Commun*, **1997**; 234: 48.
267. **Fagerlund R, Melén K, Cao X, Julkunen I.** NF-kappaB p52, RelB and c-Rel are transported into the nucleus via a subset of importin alpha molecules. *Cell Signal*, **2008**; 20:1442-51.
268. **Weiss K.** Regulating access to the genome: nucleocytoplasmic transport throughout the cell cycle. *Cell*, **2003**; 112:441-51.
269. **Fagerlund R, Kinnunen L, Köhler M, Julkunen I, Melen K.** NF- $\kappa$ B is transported into the nucleus by importin  $\alpha$ 3 and importin  $\alpha$ 4. *J BiolChem*, **2005**; 280:15942-51.
270. **Theiss AL, Jenkins AK, Okoro NI, Klapproth JM, Merlin D, Sitaraman SV.** Prohibitin inhibits tumor necrosis factor alpha-induced nuclear factor-kappa B nuclear translocation via the novel mechanism of decreasing importin alpha3 expression. *Mol Biol Cell*, **2009**; 20:4412-23.
271. **Bradford MM.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, **1976**; 72:248-54.
272. **Wilson CM.** Staining of proteins on gels: comparison of dyes and procedures. *Methods in Enzymol*, **1983**; 91:236-47.
273. **Salinovich O, Montelano RC.** Reversible staining and peptide mapping of proteins transferred to nitrocellulose after separation by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal Biochem*, **1986**; 156:341-7.
274. **Landstrom M.** The TAK1-TRAF6 signalling pathway. *Int J Biochem Cell Biol*, **2010**; 42:585-9.
275. **Forwood JK, Lam MH, Jans DA.** Nuclear import of Creb and AP-1 transcription factors requires importin-beta 1 and Ran but is independent of importin-alpha. *Biochemistry*, **2001**; 40:5208-17.
276. **Burgermeister E, Friedrich T, Hitkova I, Regel I, Einwächter H, Zimmermann W, Röcken C, Perren A, Wright MB, Schmid RM, Seger R, Ebert MP.** The Ras inhibitors caveolin-1 and docking protein 1 activate peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  through spatial relocalization at helix 7 of its ligand-binding domain. *Mol Cell Biol*, **2011**; 31:3497-510.

277. **Kawai M, Green CB, Lecka-Czernik B, Douris N, Gilbert MR, Kojima S, Ackert-Bicknell C, Garg N, Horowitz MC, Adamo ML, Clemmons DR, Rosen CJ.** A circadian-regulated gene, Nocturnin, promotes adipogenesis by stimulating PPAR-gamma nuclear translocation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2010**; 107:10508-13.
278. **Ramer R, Walther U, Borchert P, Laufer S, Linnebacher M, Hinz B.** Induction but not inhibition of COX-2 confers human lung cancer cell apoptosis by celecoxib. *J Lipid Res*, **2013**; 54:3116-29.
279. **Ramer R, Heinemann K, Merkord J, Rohde H, Salamon A, Linnebacher M, Hinz B.** COX-2 and PPAR- $\gamma$  confer cannabidiol-induced apoptosis of human lung cancer cells. *Mol Cancer Ther*, **2013**; 12:69-82.
280. **Chen HH, Chen TW, Lin H.** Pravastatin attenuates carboplatin-induced nephrotoxicity in rodents via peroxisome proliferator-activated receptor alpha-regulated heme oxygenase-1. *Mol Pharmacol*, **2010**; 78:36-45.
281. **Shibuya A, Wada K, Nakajima A, Saeki M, Katayama K, Mayumi T, Kadowaki T, Niwa H, Kamisaki Y.** Nitration of PPARgamma inhibits ligand-dependent translocation into the nucleus in a macrophage-like cell line, RAW 264. *FEBS Lett*, **2002**; 525:43-7.
282. **Xue H, Chen B, Fan Y, Palikhe M, Li Y.** The inhibitory effect of polypeptide cSN50 on alcoholic hepatic injuries through blocking the binding of NF- $\kappa$ B to importin  $\alpha$ . *Scand J Gastroenterol*, **2011**; 46:931-40.

## ÖZ GEÇMİŞ

Şefika Pınar ŞENOL 06/04/1988 yılında Niğde'de doğmuştur. İlköğrenimini Adana Mimar Kemal ilkokulunda, orta ve lise öğrenimini Çukurova Sanayi İlköğretim Okulu ve Abdulkerim Bengi Anadolu Lisesinde tamamlamıştır. 2012 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden mezun olmuştur. 2012-2014 yılları arasında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Disiplinlerarası Klinik Eczacılık Ana Bilim Dalında "Talasemi ve orak hücreli anemi hastalarında demir şelatörlerinin tedaviye uyum açısından karşılaştırılması" adlı Yüksek Lisans Tezi'ni tamamlamıştır. 17/12/2014 tarihinden itibaren Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak görevini sürdürmektedir. İngilizce bilmektedir.