

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA LİPOLİSAKKARİT İLE OLUŞTURULAN
YANGIDA 15-DEOKSİ-PGJ₂ UYGULAMASININ YANGI
ÖNLEYİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Vet. Hek. Ecem ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Fatma KOCASARI

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0486-YL-17 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2019

KABUL ve ONAY SAYFASI

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Ecem ÖZTÜRK tarafından *Doç. Dr. Fatma KOCASARI* yönetiminde hazırlanan "*Sıçanlarda lipopolisakkarit ile oluşturulan yangıda 15-deoksi-PGJ₂ uygulamasının yangı önleyici etkisinin araştırılması*" başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 03.05.2019



Prof. Dr. Cavit KUM

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Başkan



Prof. Dr. Asım KART

Burdur Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı

Jüri



Doç. Dr. Fatma KOCASARI

Burdur Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı

Jüri

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 24.05.2019 tarih ve 19 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa Doğa TEMİZSOYLU

Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince çok değerli bilgi ve tecrübelerini sabrı, sevgisi ve pozitif enerjisiyle aktaran, her zaman beni doğruya ve iyiye yönlendiren, akademik hayatım dışında da yanımda olduğunu her daim hissettiren kıymetli tez danışmanım Doç. Dr. Fatma KOCASARI'ya, değerli bilgi, tecrübe ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Asım KART, Dr. Şükrü KOCASARI ve Dr. Öğr. Üyesi Erhan KEYVAN'a yardım ve destekleri ile çalışmamıza yön veren Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özlem Özmen'e, her daim yanımda olduğunu sevgisiyle hissettiren, çalışmalarım süresince özverisi ve yardımlarını esirgemeyen kıymetli dostum Arş. Gör. Selinay Başak ERDEMLİ KÖSE'ye, sevgi, anlayış ve desteklerini esirgemeyen ve bu süreçte yanımda olan Merve TAŐBAŐ'a, deneysel aşamalarda yardımları için Zeki EROL'a ve yüksek lisans arkadaşlarıma, hayatımın her aşamasında sınırsız sevgisi ile yanımda olan ve eksikliğini hiç hissettirmeyen biricik kardeşim Eda ÖZTÜRK'e, bana her zaman güvenen, inanan ve her türlü destekleriyle her daim yanımda olan, beni kıymetli değerlerle, koşulsuz sevgi ve fedakarlıkla büyüten, varlıklarıyla bana güç katan annem Nalan ÖZTÜRK ve babam Önder ÖZTÜRK'e, sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ETİK BEYAN

“Sıçanlarda lipopolisakkarit ile oluşturulan yangıda 15-deoksi-PGJ₂ uygulamasının yangı önleyici etkisinin araştırılması” başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Fatma KOCASARI danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığımı beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ecem ÖZTÜRK

Tarih: 03.05.2019

İmza: 

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	<i>i</i>
KABUL VE ONAY	<i>ii</i>
TEŞEKKÜR	<i>iii</i>
ETİK BEYAN	<i>iv</i>
İÇİNDEKİLER	<i>v</i>
ŞEKİLLER	<i>vii</i>
TABLolar	<i>viii</i>
SİMGELER ve KISALTMALAR	<i>ix</i>
TÜRKÇE ÖZET	<i>x</i>
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	<i>xi</i>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Prostaglandinler	2
2.1.1. Biyosentezi	2
2.1.2. Etki Mekanizması	4
2.1.3. Farmakolojik ve Fizyolojik Etkileri	5
2.2. Sikloptenon Prostaglandinler	8
2.2.1. Sentezi ve Kimyasal Yapısı	8
2.2.2. Etki Mekanizması	11
2.2.2.1. G-Proteinine Bağlı Reseptörler	12
2.2.2.2. Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Gamma Reseptör	12
2.2.2.3. Proteinlerin Kovalent Modifikasyonu	14
2.2.3. Metabolizması	18
2.2.4. Sikloptenon Prostaglandinlerin <i>in vivo</i> Varlığı	19
2.2.5. Biyolojik Etkileri	20
2.2.5.1. Yangı Önleyici Etkileri	20
2.2.5.2. Diğer Etkileri	25
2.3. Lipopolisakkaritler	28
2.3.1. Lipopolisakkaritlerin Yapısı	28
2.3.2. Lipopolisakkaritler ile İndüklenen Sinyal Yolağı	29
2.3.2.1. TNF- α	31

2.3.2.2. IL-1 β	33
2.3.2.3. IL-6	34
2.3.2.4. iNOS	35
2.3.2.5. COX-2	36
3. GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1. Gereç	37
3.1.1. Kimyasal Maddeler	37
3.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri	37
3.2. Yöntem	38
3.2.1. Etik	38
3.2.2. Hayvan Materyali	38
3.2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Protokolü	38
3.2.4. Örneklerin Toplanması	39
3.2.5. Kan Analizleri	39
3.2.5.1. Biyokimyasal ve Yangısal Analizler	39
3.2.5.2. Histopatolojik İnceleme	41
3.3. İstatistiksel Hesaplamalar	41
4. BULGULAR	42
4.1. Biyokimyasal Parametreler	42
4.2. Yangısal Parametreler	42
4.3. Histopatolojik Bulgular	50
5. TARTIŞMA	56
5.1. Biyokimyasal Parametreler	56
5.2. Yangısal Parametreler	58
5.2.1. Proinflamatuvar Sitokin Düzeyleri.	58
5.2.2. Proinflamatuvar Enzim Etkinliği	65
5.3. Histopatolojik İncelemeler	69
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	87

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	PG'lerin biyosentez yolları	4
Şekil 2.2.	PGE ₂ reseptörlerinin sinyal yolları	5
Şekil 2.3.	Siklopentenon PG (cyPG)'lerin biyosentez yolları	8
Şekil 2.4.	PGE ₁ , PGE ₂ ve PGD ₂ 'in siklopentan halkasından dehidrasyonu ile cyPG'lerin oluşumu	9
Şekil 2.5.	A ve J serisi bazı cyPG'lerin kimyasal yapıları	10
Şekil 2.6.	cyPG'lerin etki mekanizmaları	11
Şekil 2.7.	15d-PGJ ₂ 'nin hücre içine girişi ve etki mekanizması	12
Şekil 2.8.	Micheal katılma reaksiyonu	15
Şekil 2.9.	Nükleer Faktör Kappa – B (NF-κB)'nin etkinleşmesi	16
Şekil 2.10.	15d-PJ ₂ 'nin yangı gen ekspresyonu ve PG biyosentezinin düzenlenmesinde rolü	21
Şekil 2.11.	15d- PGJ ₂ 'nin NF-κB etkinleşmesini önlenmesi	24
Şekil 2.12.	PGE ₂ ve 15d-PGJ ₂ 'in tümör üzerine etkileri	26
Şekil 2.13.	LPS'nin yapısı	28
Şekil 2.14.	<i>E.coli</i> kaynaklı LPS'nin yapısı	29
Şekil 2.15.	<i>E.coli</i> kaynaklı LPS'nin TLR-4 reseptörleri ile etkileşimi ve reseptör sonrası olaylar	31
Şekil 2.16.	TNF-α'nın yapısı ve etkinliği	32
Şekil 2.17.	IL-1β'nin etkinleşmesi	34
Şekil 4.1.	Araştırma gruplarının serumda ölçülen TNF-α seviyeleri	43
Şekil 4.2.	Araştırma gruplarının serumda ölçülen IL-1β seviyeleri	44
Şekil 4.3.	Araştırma gruplarının serumda ölçülen IL-6 seviyeleri	46
Şekil 4.4.	Araştırma gruplarının serumda ölçülen iNOS seviyeleri	47
Şekil 4.5.	Araştırma gruplarının serumda ölçülen COX-2 seviyeleri	49
Şekil 4.6.	Karaciğer histopatolojisi-4. saat	50
Şekil 4.7.	Karaciğer histopatolojisi-8. Saat	51
Şekil 4.8.	Karaciğer histopatolojisi-24. Saat	52
Şekil 4.9.	Böbrek histopatolojisi-4. Saat	53
Şekil 4.10.	Böbrek histopatolojisi-8. Saat	54
Şekil 4.11.	Böbrek histopatolojisi-24. Saat	55

TABLÖLAR

Tablo 3.1.	Araştırma gruplarına verilen maddeler ve verildiği günler (n:18)	39
Tablo 3.2.	ELISA kitlerinin standart çözelti derişimleri ve kitlerin hassasiyeti	40
Tablo 4.1.	Araştırma gruplarının 24. saatte serum AST, ALT, albümin ve kreatinin seviyeleri	42
Tablo 4.2.	Araştırma gruplarının zamana bağlı serum TNF- α seviyeleri	43
Tablo 4.3.	Araştırma gruplarının zamana bağlı serum IL-1 β seviyeleri	45
Tablo 4.4.	Araştırma gruplarının zamana bağlı serum IL-6 seviyeleri	46
Tablo 4.5.	Araştırma gruplarının zamana bağlı serum iNOS seviyeleri	48
Tablo 4.6.	Araştırma gruplarının zamana bağlı serum COX-2 seviyeleri	49



SİMGELER ve KISALTMALAR

15d-PGJ₂	15-deoksi- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J ₂
ALT	Alanin aminotransferaz
AP-1	Aktivatör protein-1
ARE	Antioksidan yanıt elemanı
AS	Adenilat siklaz
AST	Aspartat aminotransferaz
Cnos	Yapısal nitrik oksit sentaz
COX	Siklooksijenaz enzimi
cyPG	Siklopentenon prostaglandin
DAMP	Hasar ile ilişkili moleküler model
DP	Prostaglandin D reseptörü
EP	Prostaglandin E reseptörü
FP	Prostaglandin F reseptörü
GPI	Glikozilfosfatidilinositol
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S-transferaz
HO-1	Hem oksijenaz – 1
HSF	Isı şoku faktörü
HSP	Isı şoku proteini
ICE	İnterlökin -1 β dönüştürücü enzim
IFNγ	İnterferon gama
IKK	İnhibitör kappa kinaz
IL	İnterlökin
IκB	İnhibitör kappa B
İnos	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KeaP-1	Kelch benzeri eritrofor konsantre edici hormon (ECH) bağlı protein-1
LBP	Lipopolisakkarit bağlayıcı protein
LPS	Lipopolisakkarit
MAPK	Mitojen – aktive eden protein kinaz
MMP	Matriks metalloproteinaz
NFAT	Aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü
NF-Kβ	Nükleer faktör kappa B
NLR	Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon benzeri reseptör
NO	Nitrik oksit
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid kaynaklı 2) ile ilgili faktör 2
PAMP	Patojen ile ilişkili moleküler model
PG	Prostaglandin
PPAR	Peroksizom aktive edici reseptör
PRR	Kalıp tanıma reseptörü
Samp	Siklik adenosin monofosfat
TACE	Tümör nekroz faktör dönüştürücü enzim
TLR	Toll benzeri reseptör
TNF	Tümör nekroz faktör

ÖZET

Sıçanlarda Lipopolisakkarit İle Oluşturulan Yangıda 15-Deoksi-PGJ₂ Uygulamasının Yangı Önleyici Etkisinin Araştırılması

Bu araştırmada sıçanlarda lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan yangıya karşı 15-deoksi- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J₂(15d-PGJ₂)'nin yangı önleyici etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada her grupta 18 adet olmak üzere toplam 72 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlara *ad libitum* pelet yem ve su verildi. Kontrol, 15d-PGJ₂, LPS ve 15d-PGJ₂+LPS olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Kontrol grubuna 4 gün süreyle periton içi (pi) % 0,1 dimetilsülfoksit (DMSO) içeren serum fizyolojik verildi. 15 d-PGJ₂ grubuna 3 gün süreyle pi 40 µg/kg/ca/gün 15d-PGJ₂, LPS grubuna tek doz (4.gün) pi 15 mg/kg/ca LPS uygulandı. 15d-PGJ₂+LPS'nin birlikte verildiği gruba ise 3 gün önceden 40 µg/kg/ca/gün 15d-PGJ₂, 4.gün tek doz LPS 15 mg/kg/ca miktarlarında verildi. Lipopolisakkarit uygulaması sonrasında her gruptan rastgele seçilen 6'şar hayvandan 4., 8. ve 24. saatlerde kan ve karaciğer-böbrek örnekleri alındı. Serum örneklerinde *alanin aminotransferaz* (ALT) ve *aspartat aminotransferaz* (AST), kreatinin, albümin ile tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökin-1beta (IL-1 β), IL-6, indüklenen nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz enzim-2 (COX-2) düzeyleri ölçüldü. Ayrıca karaciğer ve böbrek örneklerinde histopatolojik incelemeler yapıldı. Çalışmada LPS verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında AST, ALT ve kreatinin değerlerinde önemli düzeyde bir artış ($p<0,05$), albümin değerinde ise önemli düzeyde bir düşüş ($p<0,05$) olduğu tespit edildi. 15d-PGJ₂+LPS'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS'nin tek başına uygulandığında artan AST, ALT ve kreatinin değerlerinde önemli düzeyde bir düşüş ($p<0,05$), albümin değerinde ise önemli düzeyde bir artış ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Kan örneklerinde LPS verilen gruplar kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ölçüm yapılan saatlerde TNF- α , IL-1 β , IL-6, iNOS ve COX-2 değerlerinde önemli düzeyde bir artış ($p<0,05$) tespit edildi. 15d-PGJ₂+LPS'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS tek başına verildiğinde artan TNF- α , IL-1 β , IL-6, iNOS ve COX-2 değerlerinde ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde bir düşüş ($p<0,05$) olduğu görüldü. Ayrıca histopatolojik incelemeler sonucunda da LPS'nin karaciğerde nötrofil marginasyon ve infiltrasyonları ve böbreklerde nötrofil infiltrasyonları ile küçük kanama odakları oluşturduğu ancak 15d-PGJ₂ varlığında bu lezyonların belirgin şekilde iyileştiği belirlendi. Sonuç olarak LPS'nin yangısal hasara neden olduğu, LPS ile birlikte 15d-PGJ₂ verilmesinin oluşan yangısal hasar üzerinde koruyucu etki gösterdiği tespit edildi. Bu sonuçlar doğrultusunda, 15d-PGJ₂'nin antiinflamatuvar bir ajan olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: COX-2, iNOS, LPS, Proinflamatuvar sitokinler, Sıçan, 15d-PGJ₂

ABSTRACT

Investigation of The Anti-inflammatory Effect of 15-deoxy-PGJ₂ in the Inflammation Induced by Lipopolysaccharide in Rat

The aim of this study was to investigate the anti-inflammatory effect of 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J₂ (15d-PGJ₂) against inflammation induced by lipopolysaccharide (LPS) in rats. A total of 72 Wistar Albino male rats, 18 in each group were used in the study. The rats were given pellet feed and water *ad libitum*. A total of 4 groups were created including control, 15d-PGJ₂, LPS and 15d-PGJ₂+LPS. The control group was given saline containing 0.1% dimethylsulfoxide (DMSO) intraperitoneally (i.p) for 4 days. 15d-PGJ₂ group was given i.p 40 μ g/kg/b.w/day 15d-PGJ₂ for 3 days, LPS group was given a single dose (on day 4) 15 mg/kg/b.w i.p LPS. 15d-PGJ₂+LPS group was given 40 μ g/kg/b.w/day 15d-PGJ₂ i.p for 3 days and a single dose LPS 15 mg/kg/b.w on day 4. blood, liver and kidney samples were taken from randomly selected animals from each group at the 4th, 8th and 24th hours after the LPS administration. *Alanine aminotransferase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST), creatinine, albumin, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin 1-beta (IL-1 β), interleukin (IL-6), inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase enzyme-2 (COX-2) levels were measured in serum samples. Histopathological examinations were performed in liver and kidney samples. In this study, a significant increase ($p < 0,05$) in AST, ALT and creatinine levels and a significant decrease ($p < 0,05$) in albumin levels were found in the LPS group compared to the control group. In the group 15d-PGJ₂+LPS given together, a significant decrease ($p < 0,05$) in AST, ALT and creatinine and a significant increase ($p < 0,05$) in albumin values were determined compared to the LPS group. In LPS-administered group, a significant increase ($p < 0,05$) in TNF- α , IL-1 β , IL-6, iNOS and COX-2 levels were detected in serum samples compared to the control group. In the group 15d-PGJ₂+LPS given together, a significant decrease ($p < 0,05$) was observed in all measurement times in TNF- α , IL-1 β , IL-6, iNOS and COX-2 levels which were increased ($p < 0,05$) when LPS was administered alone. In addition, as a result of histopathological examination, LPS has produced neutrophil marginations and infiltrations in the liver and neutrophil infiltrations in the kidneys, but in the presence of 15d-PGJ₂ these lesions were healed significantly. As a result, it was found that LPS caused inflammatory damage, and 15d-PGJ₂ administration with LPS had a corrective effect on the inflammatory damage. According to these results, it is concluded that 15d-PGJ₂ can be used as an anti-inflammatory agent.

Key words: COX-2, iNOS, LPS, Pro-inflammatory cytokines, Rat, 15d-PGJ₂

1. GİRİŞ

Prostaglandinler (PG), türlerine ve etki gösterdikleri hedef hücrelerine bağlı olarak biyolojik açıdan çeşitli etkinlik gösteren ve etkin moleküllere sahip lipid yapılı endojen maddelerdir. Siklopentenon prostaglandin (cyPG)'ler, PG'lerin veya prostanooidlerin bir alt üyesidir (Straus ve Glass, 2001). cyPG'ler diğer PG'lerin kendiliğinden sıvı ortamlarda dehidrasyonu sonucu şekillenen doğal eikozonoidlerdir. Bu bileşikler vücut sıvılarında *in vivo* olarak akut ve kronik yangı bölgelerinde tespit edilmiştir (Stamatakis ve ark., 2004). Başlıca cyPG'ler PGA_1 , PGA_2 ve PGJ_2 'dir. cyPG'ler etkilerini diğer PG'lerden farklı olarak G-protein aracılı PG reseptörlerine bağlanarak oluşturmazlar. Bu bileşikler biyolojik etkilerini, çoğu hücresel hedef proteinleri ile etkileşime girerek gösterirler (Straus ve Glass, 2001). PG'lerin yangı başlatıcı etkileri olmasına rağmen (Ricciotti ve FitzGerald, 2001), cyPG'lerin yangı önleyici etkileri olduğu belirtilmiştir. Ayrıca cyPG'lerin tümör önleyici ve virüslara karşı etki göstermelerinin yanı sıra, strese karşı yanıtı ve apoptozisi de uyardığı bildirilmiştir. Son zamanlarda çeşitli hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda 15-deoksi Δ^{12-14} -Prostaglandin J_2 (15d-PG J_2)'nin çeşitli doku hasarlarına karşı yangı önleyici ve hücre koruyucu etkinliği olduğu tespit edilmiştir (Engdahl ve ark., 2007; Fahmi ve ark., 2002; Mouihate ve ark., 2004; Stamatakis ve ark., 2004).

Lipopolisakkarit (LPS)'ler, Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşenidir ve deneysel yangı modeli oluşturmak için kullanılır (Catorce ve Gevorkian, 2016; Olinga ve ark., 2001; Varatharaj ve Galea, 2017; Wahby ve ark., 2015). LPS ile uyarılan yangıya yanıt olarak yangı hücreleri tarafından; çoğunlukla interlökinler (IL-6 ve IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinler ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinler ile indüklenen nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz (COX) gibi enzimler üretilmektedir (Olinga ve ark., 2001).

Bu çalışmada, sıçanlarda LPS ile deneysel olarak oluşturulan yangıya karşı uygulanan 15d-PG J_2 'nin yangı önleyici etkisi araştırılarak kullanılabilirliğinin ortaya konması ve literatüre yeni bilgiler kazandırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostaglandinler

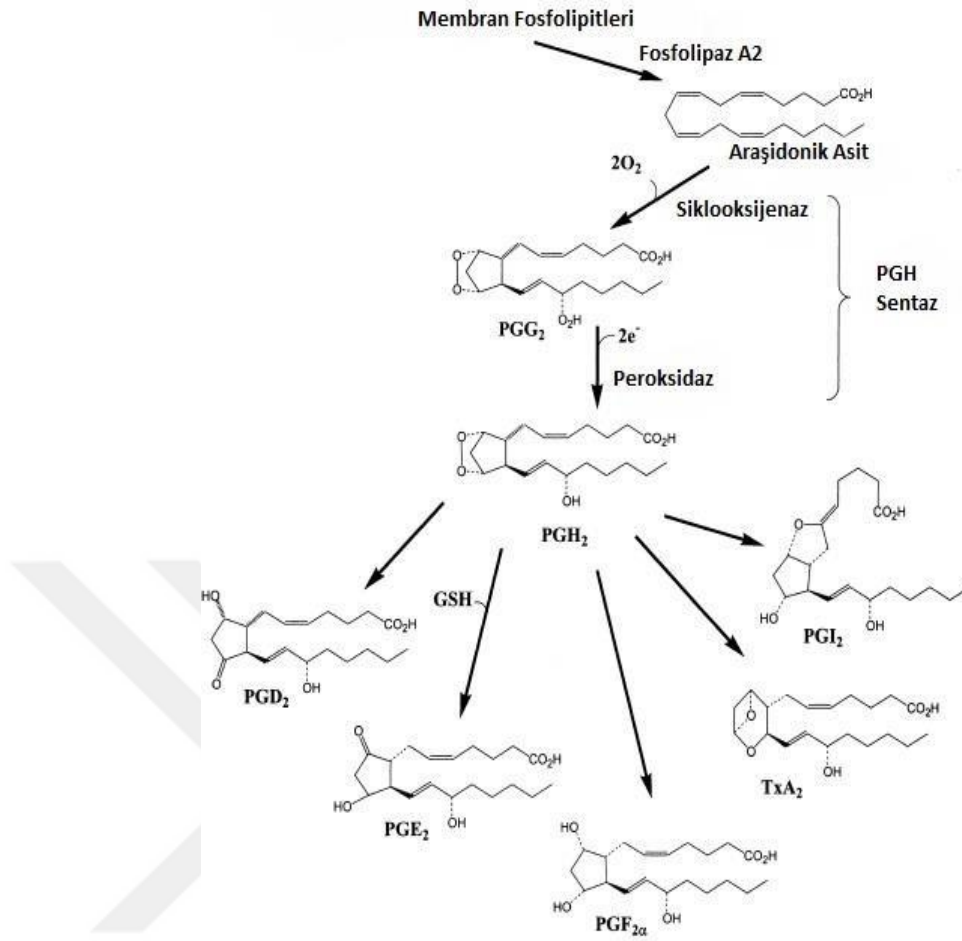
Çeşitli dış uyarılara karşı yanıt olarak hücreler tarafından üretilen PG'ler farklılaşmayı, hücresel büyümeyi ve homeostazı düzenleyen lipid yapılı endojen maddelerdir (Shibata, 2015; Shibata ve ark., 2003). PG'lerin trombosit kümeleşmesi, damar direnci, böbrek fonksiyonu ve üreme üzerine düzenleyici etkileri ile yangı ve kanserde gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi birçok biyolojik etkileri bulunmaktadır. Bu bileşikler 20 karbonlu esansiyel bir yağ asidi olan araşidonik asitten sentezlenirler. Bundan dolayı Yunanca yirmi anlamına gelen “*eicosi*”den türeyen “*eikozonoidler*” olarak da bilinirler (Harris ve ark., 2002; Ricciotti ve FitzGerald, 2001; Stamatakis ve ark., 2004). PG'ler 1930'larda, von Euler ve Goldblatt tarafından insan spermasında keşfedilmiştir. Bu maddenin kaynağı prostat bezi olduğundan “prostaglandin” olarak adlandırıldığına inanılmaktadır (Rishikesh ve Sadhana, 2003).

PG'ler karbon zincirinin ortasında siklopentan halkası bulundurlar. Siklopentan halkasında bulunan grupların durumuna göre A'dan J'ye kadar alt gruplara ayrılırlar. PGD, PGE ve PGF'ler doğrudan siklik endoperoksidlerden oluşurlar ve bu PG'lere “*primer PG*” adı verilir (Pirinçci, 2013; Rishikesh ve Sadhana, 2003). PG'ler fizyolojik olarak vücut sıvılarında pikomolar (pM) ve nanomolar (nM) yoğunluklarda bulunurlar. Fakat enfeksiyon, ateş ve yangı gibi çeşitli uyarılar ve patolojik koşullar altında araşidonik asit metabolizması önemli ölçüde hızlanır ve akut yangı bölgesinde PG yoğunluğu mikromolar (μM) düzeylere kadar ulaşır (Shibata, 2015).

2.1.1. Biyosentezi

Yaralanma, sitokinler ya da vazoaktif peptidler gibi çeşitli uyarılar tarafından hücrenin etkinliği sonucu *fosfolipaz A₂* etkin hale gelir ve hücre zarındaki fosfolipidler üzerine etki ederek araşidonik asit sentezlenir (Harris ve ark., 2002; Stamatakis ve ark., 2004). Araşidonik asit, sırasıyla *siklooksijenaz* (COX) ile PGG₂'ye sonra *peroksidaz* enzimi ile de PGH₂'e dönüşür. *Siklooksijenaz*'ın yapısal (COX-1) ve

indüklenen (COX-2) olmak üzere 2 formu vardır (Straus ve Glass, 2001; Rishikesh ve Sadhana, 2003). Hem COX-1 hem de COX-2 enzimleri hücrelerde zarda bulunurlar. Bu enzimler arasındaki en önemli fark, COX-1'in üretildiği hücrelerde daima sentezlenmesi yani yapısal olması nedeniyle sürekli var olması, COX-2'nin ise uyarılan bir enzim olmasıdır (Harris ve ark., 2002; Maier ve ark., 2015; Rishikesh ve Sadhana, 2003). COX-2 çoğu doku ve hücre tipinde normalde mevcut değildir. Bu enzimin ekspresyonu yangı araçları ve tümör başlatıcı ajanlara karşı tepki olarak güçlü şekilde uyarılır. COX-2'nin uyarılması deri ve kolon kanseri gibi bazı kanser tipleri ve yangı aracılı PG sentezindeki artıştan sorumludur (Straus ve Glass, 2001). Kolonorektal ve bazı kanser türlerinde COX-2'nin uyarılıp PG'lerin sentezlenmesi sonucu, hücrelerin apoptozunu önlediği ve kanser hücrelerinin çoğalmasını tetiklediği tespit edilmiştir. Alzheimer hastalığında da aynı şekilde beyindeki plaklarda COX-2'nin uyarıldığı görülmüştür (Melli ve ark., 2012). Proinflamatuvar sitokinler tarafından COX-2'nin ekspresyonu uyarılır ve *PGE₂*, *PGD₂* ve *PGF_{2a}* sentaz dahil spesifik sentazların etkisi ile PG'ler oluşur. *PGH₂* tromboksan sentaz ile tromboksan *A₂*'ye, *PGI* sentaz ile de prostasiklinlere (PGI) dönüşür (Şekil 2.1) (Straus ve Glass, 2001).



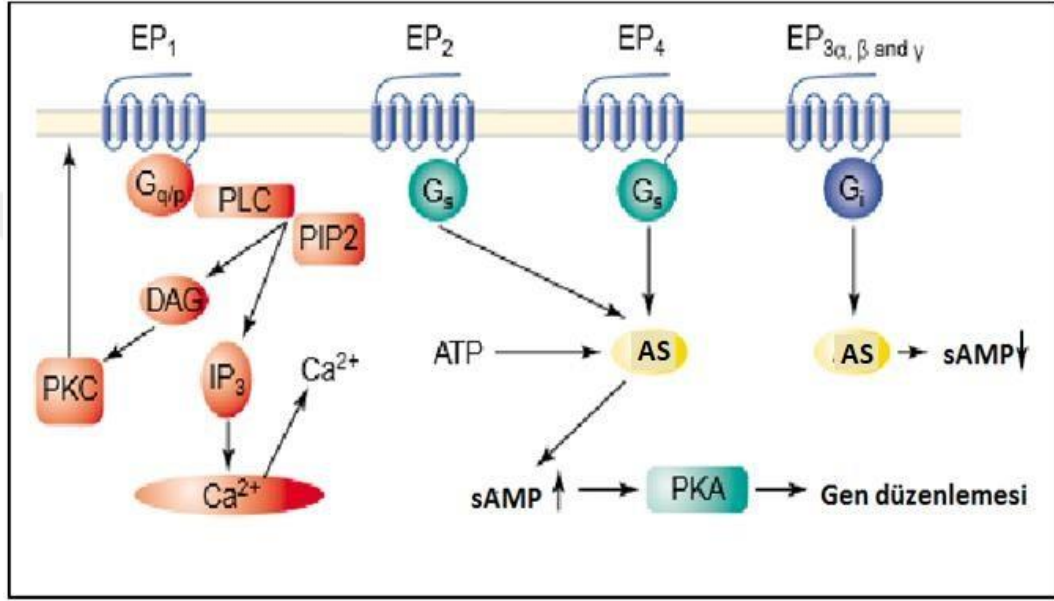
Şekil 2.1. PG'lerin biyosentez yollarları (Straus ve Glass, 2001).

2.1.2. Etki Mekanizması

PG'lerin fizyolojik etkileri, spesifik yüksek affiniteli G proteinine bağlı prostanoid reseptörlerine bağlanarak gerçekleşir. Bu reseptörlerden dört PGE reseptörü (EP₁, EP₂, EP₃ ve EP₄), bir FP olarak adlandırılan PGF reseptörü ve bir de DP olarak adlandırılan PGD reseptörü vardır. Bu reseptörlere ligandın bağlanması, siklik adenozin monofosfat (sAMP)'ın artmasına veya azalmasına ya da *fosfolipaz C*-fosfoinositol sisteminin etkin hale gelmesine yol açar (Straus ve Glass, 2001).

EP₁ reseptörleri Gq proteini aracılığında *fosfolipaz C*'i uyarır ve hücre içi Ca⁺² miktarını artırır. Ayrıca PGE'nin düz kasları kasıcı etkisine aracılık ederler. EP₂ reseptörleri Gs proteini aracılığında *adenilat siklazı* (AS) uyarır ve PGE'nin düz kasları

gevşetici etkisine aracılık ederler. EP₃ reseptörleri ise farklı G proteinlerine (Gi, Gs ve Gq) bağlanırlar, AS uyarırlar ya da baskırlar. Ayrıca bu reseptörler düz kasların kasılması ile nöromediyatörlerin salınımı ve yağ hücrelerinde lipolizin engellenmesi gibi çeşitli etkilere de aracılık eder. EP₄ reseptörleri de Gs proteini aracılığında AS'ı uyarır, damarlarda genişleme yapar ve T-lenfositlerini baskırlar (Melli ve ark., 2012: Rishikesh ve Sadhana, 2003) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. PGE₂ reseptörlerinin sinyal yolları (Harris ve ark., 2002).

2.1.3. Farmakolojik ve Fizyolojik Etkileri

PG'lerin, çok sayıda ve oldukça farklı etkilere sahip oldukları görülmektedir. PGE ve PGF_{2α} gibi PG'lerin etki alanları PGD₂'ye göre daha geniştir (Melli ve ark., 2012). Üzerinde yoğun araştırmaların yapıldığı PG'ler arasında yer alan PGE₂, başlıca fibroblastlar, makrofajlar ve bazı tümör hücreleri tarafından sentezlenmektedir (Harris ve ark., 2002).

PG'lerin çoğu damar düz kaslarını gevşetirken, barsak ve uterus gibi diğer yapıların düz kaslarını kasarlar (Melli ve ark., 2012).

PG'lerin kan basıncı üzerindeki etkileri, damar direncinde oluşturdukları etkilerinden kaynaklanır (Pirinçci, 2013). PGD₂ ve PGE'ler damar genişletici maddelerdir. PGE₁ ve PGE₂'ler kapiller damar geçirgenliğini arttırmalar (Melli ve ark., 2012; Rishikesh ve Sadhana, 2003).

PG'ler insanlarda deri içine enjekte edildiklerinde Lewis'in üçlü cevabını oluştururlar. Beyinde en fazla bulunan PGE₂'dir ve esas olarak hipokampus, eminentia media ve pineal bezde yoğunlaşmıştır. PGE₂ analogları ateş, titreme, sedasyon ve çarpınma önleyici etkilere yol açarlar. PGF_{2α} analogları ise baş ağrısı ve ateş sebep olur, epilepsi hastalarında nöbetleri tetikleyebilir (Melli ve ark., 2012; Pirinçci, 2013).

PGE₁ ve PGD₂ trombositlerin kümeleşmesini güçlü şekilde engellerken, PGE₂ güçlü şekilde uyarır (Melli ve ark., 2012, Shibata, 2015).

PGE₂'ler mide asit salgısını güçlü bir şekilde engelleyici etkiye sahiptir. Hem bazal salgıyı hem de çeşitli faktörler tarafından uyarılmış olan salgıyı azaltırlar. PGE'lerin diğer bir etkisi öncelikle midede sonra diğer dokularda da belirlenen hücre koruyucu etkisidir. PGE ve PGF'ler ayrıca barsak tonus ve hareketlerini artırıcı etkiye sahiptir (Melli ve ark., 2012; Rishikesh ve Sadhana, 2003).

PGE₂'ler ve PGF_{2α} damar içi (Dİ) olarak verildiğinde, gebelik olsun ya da olmasın, uterus tonusu artırıp kasılmalara neden olarak oksitosik etki yaparlar. PGF_{2α}'nın bu etkilere ek olarak, sarı cismin gerilemesine neden olan etkisi de vardır (Melli ve ark., 2012; Rishikesh ve Sadhana, 2003).

PGE₁ ve PGE₂'ler bronş düz kaslarını gevşeterek solunum yollarını genişletir. PGF_{2α} ise bronş düz kaslarında kasarak solunum yollarını daraltır (Melli ve ark., 2012).

PG'ler böbreğin hem kabuk hemde öz kısmında sentezlenirler. PGE₂ özellikle intertisyel doku, tubuller ve toplayıcı kanallarda oluşur. PGE₂ ve PGD₂ böbreklerde şiddetli damar genişletici etki gösterirler. PGE₂ genişletici etki yaptığı ve PGE'nin böbrekte renin salgılanmasını arttırdığı, PGF_{2α}'nın ise böbreklerde bu salgılanmayı engellediği görülmüştür (Melli ve ark., 2012; Rishikesh ve Sadhana, 2003). PGE₂ ve

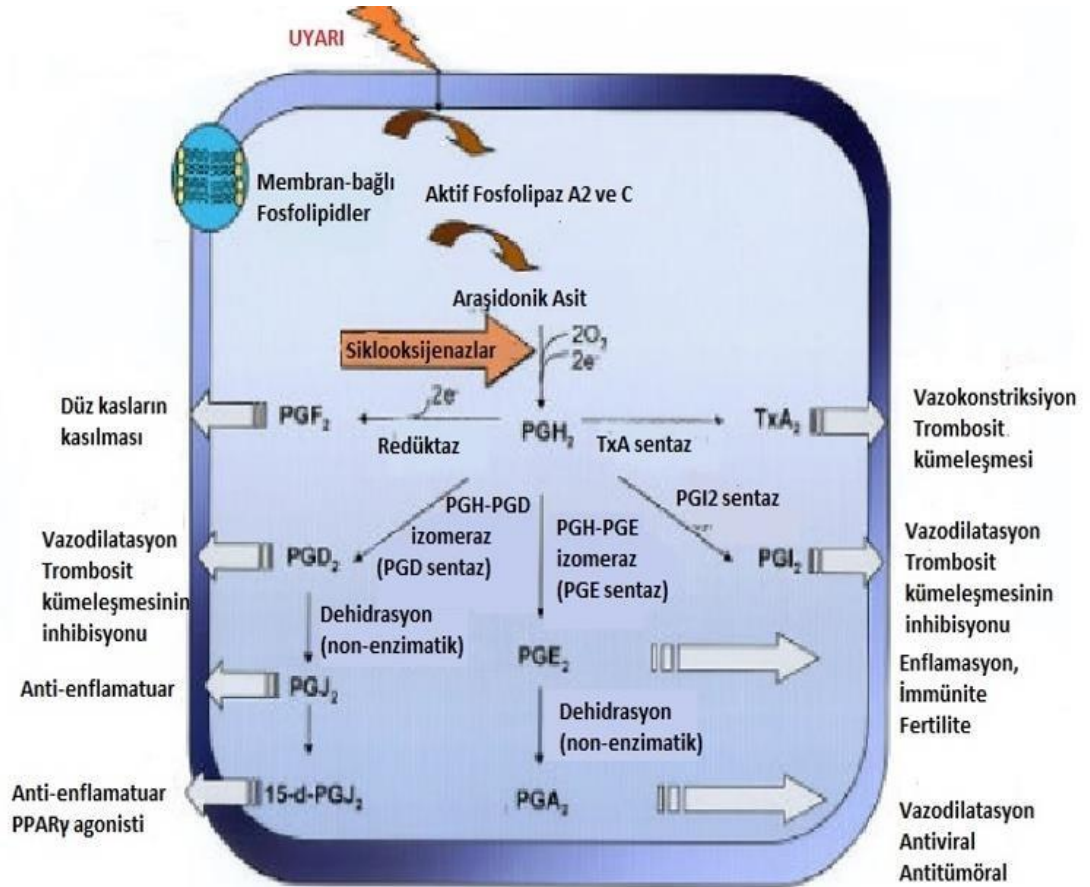
PGF_{2α} iriste önemli miktarda sentezlenirler ve göz sıvısına salıverilirler. Bu PG'ler pupillada daralmaya yol açar (Melli ve ark., 2012).

1970'lerde ve 1980'li yılların başında PG'lerin bazı hücre tiplerinde hücre çoğalmasını uyardığı, diğer bazı hücre tiplerinde ise hücre çoğalmasını engellediği görülmüştür (Straus ve Glass, 2001). Büyüme engelleyici etkilerinin gücü PGE₂>PGE₁>PGA₁>PGA₂>PGB₁=PGB₂>PGF_{1α}=PGF_{2α}=tromboksan şeklinde bulunmuştur. En güçlü bileşik olan PGE₂'nin çok düşük yoğunluklarda bile insan diploid fibroblastlarında önemli ölçüde DNA sentezini engellediği tespit edilmiştir (Straus ve Pang, 1984). Önceleri, PGE₂'nin bazı hücrelerde çoğalmayı önleyici etkilerinin, spesifik yüksek affiniteli PGE reseptörlerine bağlanması sonucunda oluştuğu düşünülmekteyken (Naruyami ve Fukushima, 1986; Naruyami ve ark., 1986), sonraları insan fibroblast hücrelerinden elde edilen sonuçlarda tümör hücrelerinde PGE serilerinin hücre çoğalmasının engelleyici etkilerinin yüksek affiniteli EP reseptörleri aracılığında oluşmadığı belirlenmiştir (Straus ve Pang, 1984). Daha sonraki araştırmalarda, PGE₁ ve PGE₂'nin hücre çoğalmasını engelleyici etkilerini aslında sıvı ortamlarda enzimatik olmayan reaksiyon sonucu oluşan PGA₁ ve PGA₂'den kaynaklandığı belirtilmiştir (Huges-Fulford, 1994; Ikai ve ark., 1987; Kato ve ark., 1986).

2.2. Siklopentenon Prostaglandin (cyPG)'ler

2.2.1. Sentezi ve Kimyasal Yapısı

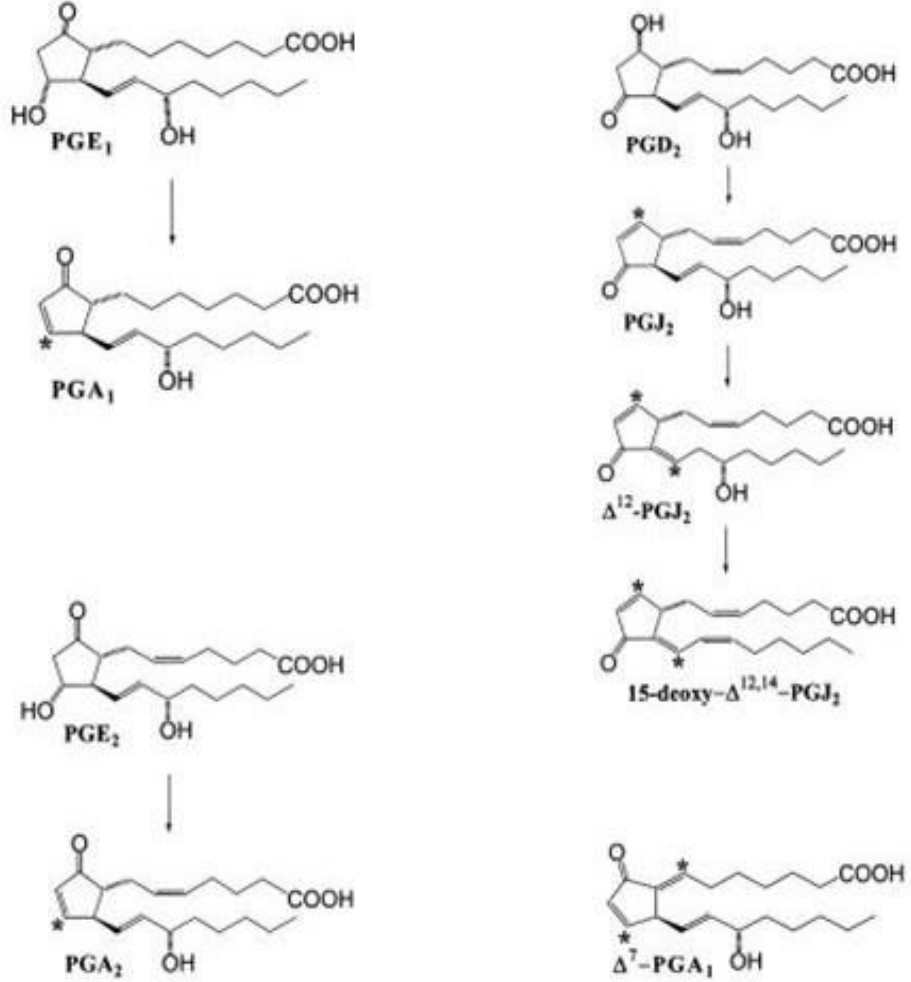
cyPG'ler diğer PG'lerin sıvı ortamda dehidrasyonu sonucu şekillenen doğal eikozonoidlerdir (Stamatakis ve ark., 2004). Bu bileşikler (PGA₁, PGA₂ ve PGJ₂) PGE₁, PGE₂ ve PGD₂'den sentezlenirler (Straus ve Glass, 2001) (Şekil 2.3). PGD₂'nin kendiliğinden dehidrasyonu ile cyPG'lerin J serisi; PGE₁ ve PGE₂'nin dehidrasyonu ile cyPG'lerin A serisi sentezlenir (Oliva ve ark., 2003) (Şekil 2.4).



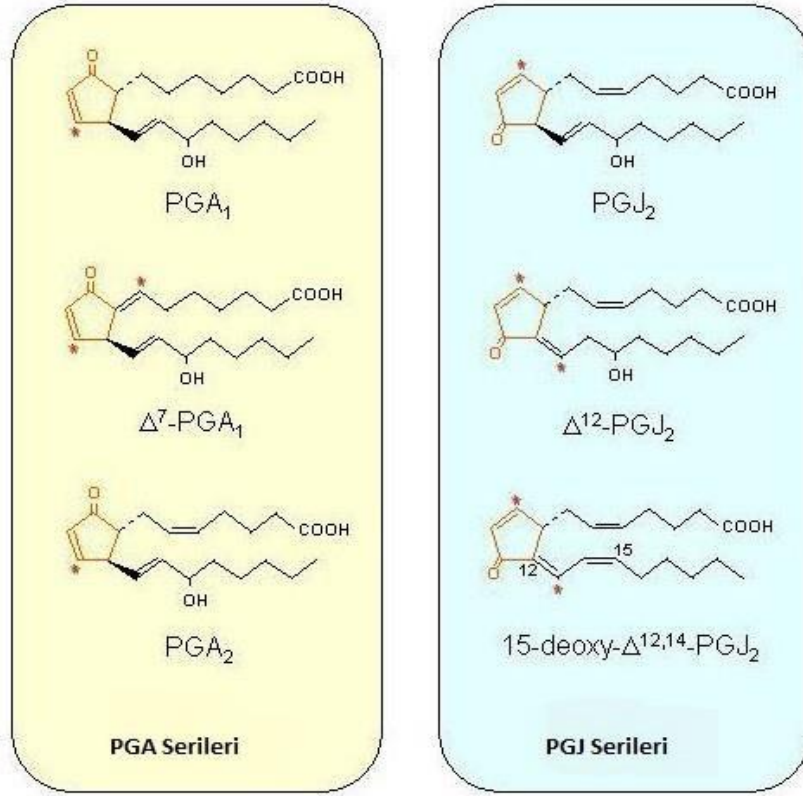
Şekil 2.3. Siklopentenon PG (cyPG)'lerin biyosentez yolları (Stamatakis ve ark., 2004).

cyPG'ler siklopentenon halkasında doymamış bir α,β -karbonil keton grubunun bulunması ile diğer PG'lerden ayrılır (Maier ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2004). Bu

halkada bulunan karbonlar, yapıya güçlü elektrofilik özellik kazandırır. cyPG'lerin biyolojik etkileri için, bu özel yapının bulunması gereklidir. Bu bileşiklerden bazıları, iki elektrofilik karbona sahip dienon yapısı bulundurur (Stamatakis ve ark., 2004) (Şekil 2.4-2.5'te * ile gösterilmiştir).



Şekil 2.4. PGE₁, PGE₂ ve PGD₂'nin siklopentan halkasından dehidrasyonu ile cyPG'lerin oluşumu (Straus ve Glass, 2001).



Şekil 2.5. A ve J serisi bazı cyPG'lerin kimyasal yapıları (Stamatakis ve ark., 2004).

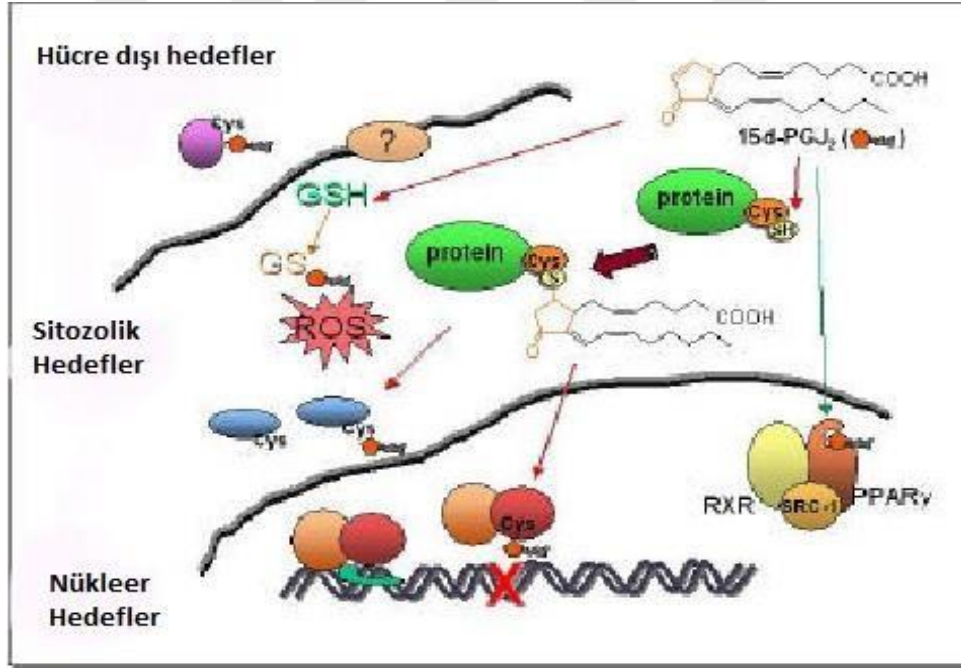
cyPG'lerin birçok farklı biyolojik sıvı ve dokuda bulunduğu bildirilmiştir. PGA₁ ve PGA₂, ilk olarak sırasıyla sperma ve böbreğin öz kısmında keşfedilmiştir (Hamborg ve Sameulsson, 1966; Lee ve ark., 1965). Tavşan böbrek medullasından elde edilen hipotansif bir madde olan "*medulin*"in PGA₂ olduğu bulunmuştur (Lee ve ark., 1967). PGA₂'nin diğer PG'lerin (PGE₂ ve PGF_{2α}) aksine, arteriyol genişlemeye bağlı olarak kan basıncının düşmesine neden olduğu görülmüştür (Lee ve ark., 1965). PGA₂ ve PGA₁'nin hipertansiyonlu insanlarda damarları genişleterek tansiyonu düşürücü etkiye yol açtıkları (Westura ve ark., 1970), ayrıca sıçanlarda yapılan araştırmada sodyum kaybına yol açan bileşikler oldukları bildirilmiştir (Lee ve ark., 1971).

Diğer cyPG'lerden olan PGJ₂, Fukuskiwa ve ark. (1982) tarafından PGD₂'nin tümör önleyici etkinliğinin araştırılması sırasında keşfedilmiştir. PG'lerin J₂ serilerinin PGD₂'nin dehidrasyonu sonucu çeşitli biyolojik sıvılarda (serum albümini, insan plazma ve idrarı) bulunduğu bildirilmiştir (Fitzpatrick ve Wynaldai, 1983; Hirrata ve

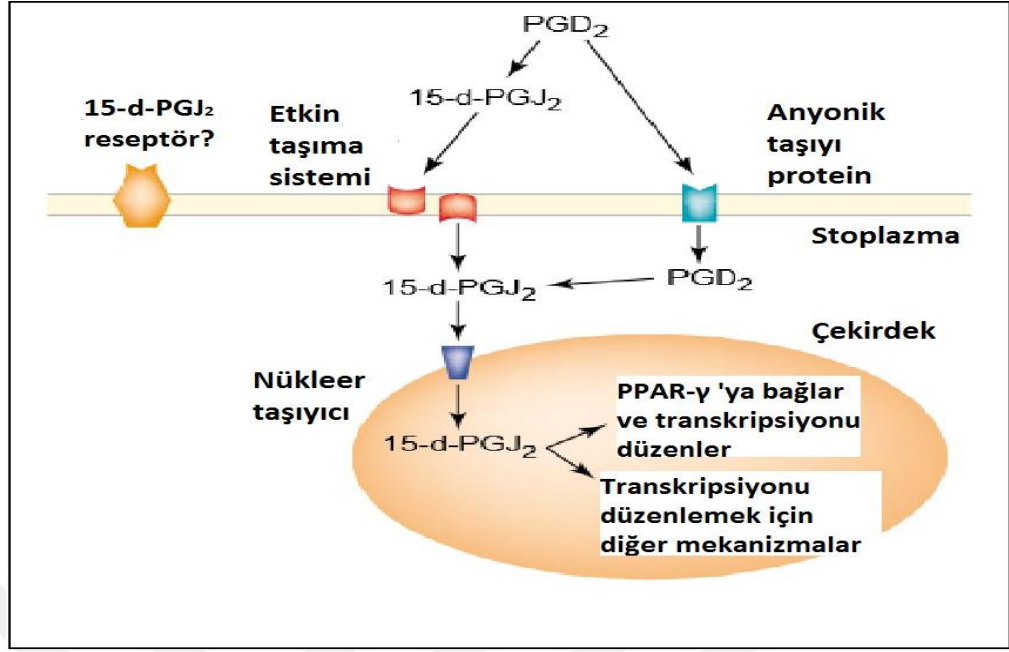
ark., 1988; Kikawa ve ark., 1984). Fitzpatrick ve Wyalda (1983) tarafından 15d-PGJ₂, serum albumini varlığında PGD₂'nin dehidrasyona uğratılmasıyla keşfedilmiştir.

2.2.2. Etki Mekanizması

cyPG'lerin etkin taşıma sistemi ile hücre içine girdiği belirtilmiştir. 15d-PGJ₂'nin hücre içine girmesi ya etkin taşıma sistemi ile ya da PGD₂'nin anyonik taşıt proteinini ile hücre içine girmesi ve ardından 15d-PGJ₂'ye dönüşmesiyle olur (Narumiya ve Fukushima, 1986) (Şekil 2.6). 15d-PGJ₂, PGD₂ geçişine aracılık eden anyonik taşıt proteinine bağlanmaz (Harris ve ark., 2002). Hücre içine giren cyPG'ler çekirdeğe girer ve gen transkripsiyonunu uyarır. cyPG'ler etkilerini çeşitli yollarla gösterdiği için, etki mekanizmaları oldukça karmaşıktır (Stamatakis ve ark., 2004) (Şekil 2.7).



Şekil 2.6. Sikloptenon PG (cyPG)'lerin etki mekanizmaları (Stamatakis ve ark., 2004).



Şekil 2.7. 15d-PGJ₂'nin hücre içine girişi ve etki mekanizması (Harris ve ark., 2002).

2.2.2.1. G-Proteinine Bağlı Reseptörler

PGD₂ metaboliti olan Δ^{12} -PGJ₂, PGD₂'ye göre yaklaşık 100 kat daha düşük afinite ile DP reseptörlerine tutunur. Bu durum Δ^{12} -PGJ₂'nin DP reseptör agonisti olarak yaklaşık 200 ile 300 kat daha düşük etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, Δ^{12} -PGJ₂'nin PGD₂'ye göre oldukça yüksek tümör önleyici etkisi vardır ve bu etkisine DP reseptörlerine bağlanmasının aracılık etmediği anlaşılmaktadır. Ancak *in vivo* olarak gözlemlenen PGJ ve PGA serisi PG'lerin bazı yan etkilerinin, bilinen prostanoit reseptörlere düşük afiniteli bağlanmasıyla oluştuğu belirtilmiştir (Straus ve Grass, 2001).

2.2.2.2. Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Gamma Reseptör

Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör (PPAR)'ler nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesidir ve çekirdek transkripsiyon faktörünü etkinleştiren ligandların bağlandığı reseptörlerdir. Bu reseptörlerin α , β , ve γ olmak 3 alt tipi bulunur. İlk olarak yağ dokuda bulunan PPAR γ , glukoz ve yağ metabolizması ile yağ doku gelişmesinin düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir. Daha sonra bu

reseptörlerin nötrofiller, makrofajlar ile T ve B lenfositleri gibi bağışıklık sistemi hücrelerinde de bulunduğu tespit edilmiştir (Spiegelman, 1998; Straus ve Glass, 2001).

PGA₁, PGJ₂, Δ¹²-PGJ₂ ve 15d-PGJ₂ gibi cyPG'ler PPAR'in agonisti gibi davranırlar. Bu PG'ler içinde PPARγ'yı en güçlü etkinleştiren 15d-PGJ₂'dir (Straus ve Glass, 2001; Shibata, 2015). Bu nedenle çalışmalar 15d-PGJ₂ üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu reseptörlerin hücrel çoğalma ve etkinlik yollarını birçok farklı mekanizma ile engellediği belirtilmiştir. Etkinleşen PPAR, nükleer faktör kappa B (NF-κB), aktivatör protein-1 (AP-1) ve etkinleştirilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) gibi transkripsiyon faktörlerinin etkinliğini koaktivatörlerle (transkripsiyon faktörleri ile beraber çalışıp gen transkripsiyon hızını artıran protein) yarışarak (Li ve ark., 2000), transkripsiyon faktör etkinliğini düzenleyen proteinlerin ekspresyonunu düzenleyerek (Delerive ve ark., 2000) ya da direkt protein-protein etkileşimi (Delerive ve ark., 1999, Chung ve ark., 2003) ile engeller. Tümörlerde NF-κB'nin baskılanmasının hücre çoğalmasını engellediği, hücre siklusunu durdurduğu ve apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (Li ve ark., 2000).

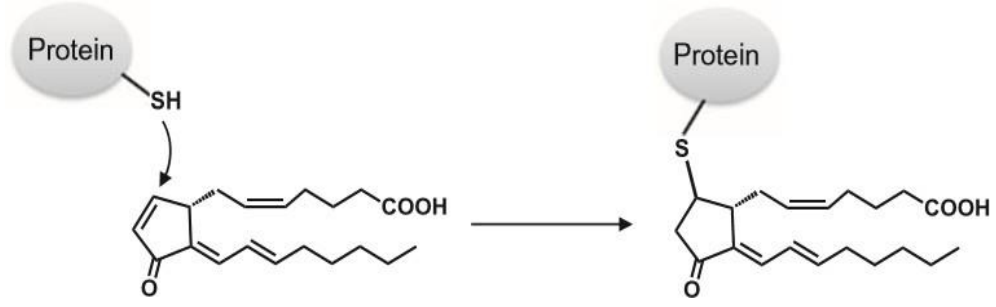
cyPG'ler, direkt PPARγ ile bağlanarak PPAR'ı etkinleştirir, böylece PPARγ yanıtını içeren genlerin transkripsiyonunu uyarır. Bu genler doğrudan ya da dolaylı mekanizmalarla hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde özellikle de 15d-PGJ₂'nin ve diğer cyPG'lerin etkinliğinde büyük rol oynar (Stamatakis ve ark., 2004). Bu durumun sonucunda 15d-PGJ₂, hücre zarı bütünlüğünün bozulmadan sitoplazmik vakuollerin oluşması ve mitokondriyal şişme ile ortaya çıkan "*paraptozis*" olarak adlandırılan programlanmış hücre ölümüne neden olur. 15d-PGJ₂'nin PPARγ etkinliğini artırarak paraptozu uyarması sonucu meme, kolon, prostat ve büyük olasılıkla diğer kanser hücrelerinin büyümesini engellediği düşünülmektedir (Shibata, 2015; Straus ve Glass, 2001).

Son yıllarda yapılan bir araştırmada, cyPG'lerin yangı önleyici etkilerinin sadece PPARγ etkinliğini artırmalarına bağımlı olmadığı ve başka mekanizmalarında rol oynadığı belirtilmiştir (Friedli ve Freigang, 2017).

2.2.2.3. Proteinlerin Kovalent Modifikasyonu

cyPG'ler yapısındaki siklopentenon halkasının, hücrel tiyollerle reaksiyona girebilme özelliklerinin bu maddelerin etki mekanizmalarında önemli bir rol oynadığı, bu yapının PG'lerin bir çok biyolojik etkisi için gerekli olduğu belirtilmiştir (Stamatakis ve ark., 2004). Narumiya ve ark. (Narumiya ve Fukushima, 1986, Narumiya ve ark., 1986, 1987) yaptıkları çalışmalarda, radyoaktif olarak işaretlenmiş cyPG'nin hücrelere girerek hücre çekirdeğinde biriktiğini ve burada bir bölümünün çözünmemiş halde olduğunu belirtmişlerdir. Radyoaktif cyPG, alkali ile muamele edildiğinde ve nükleer kalıntıların proteazlar ile parçalanması ile serbest kaldığı ve cyPG ile kromatin ve/veya çekirdek matriks proteinlerinin kovalent bağlı birleşme ürünleri oluşturdukları belirtilmiştir (Cernuda ve Morollón, 2001).

cyPG'lerin düşük molekül ağırlıklı tiyollerle oluştukları cyPG birleşme ürünlerinin oluşması dönüşümlü olmasına rağmen, proteinler prostanilasyona maruz kaldığında fizyolojik koşullar altında geri dönüşümsüz bir değişim olarak kabul edilmektedir. cyPG'ler-protein birleşme ürünlerinin kararlılığı, cyPG'lerin öncelikli olarak toplandığı hücre çekirdeğinin polimerik biyolojik sistemlerinde moleküler hareketinin azalmasına bağlanmaktadır. Bununla birlikte, cyPG-protein birleşme ürünlerinin kararlılığı cyPG yapısına da bağlı olabilir. Protein prostanilasyonunun kararlılığı değişen sistein kalıntısının bulunduğu bölgeye de bağlı olabileceği ileri sürülmüş ve hangi proteinlerin prostanilasyonuna uğrayacağını belirlemek için önemli olduğu belirtilmiştir. Bu değişim protein hedefleri olarak belirlendiğinden protein prostanilasyonunun önemini vurgulamaktadır (Gayarre ve ark., 2005; Stamatakis ve ark., 2004). Bugüne kadar yaklaşık çok sayıda proteinin, cyPG'yi kovalent olarak bağladığı bildirilmiştir. 15d-PGJ₂'nin proteomiks analizlerinde plazma zarı, hücre sinyali, glikolitik enzim, sito iskelet, şaperon (protein) gibi 368 proteine kovalent bağla bağlandığı tespit edilmiştir. Michael katılma reaksiyonu ile PG'e protein eklenmesi hücrelerde önemli işlevlere sahip hedef proteinlerin etkinliklerinde önemli değişimlere yol açtığı belirtilmiştir (Figueiredo-Pereira ve ark., 2016) (Şekil 2.8).

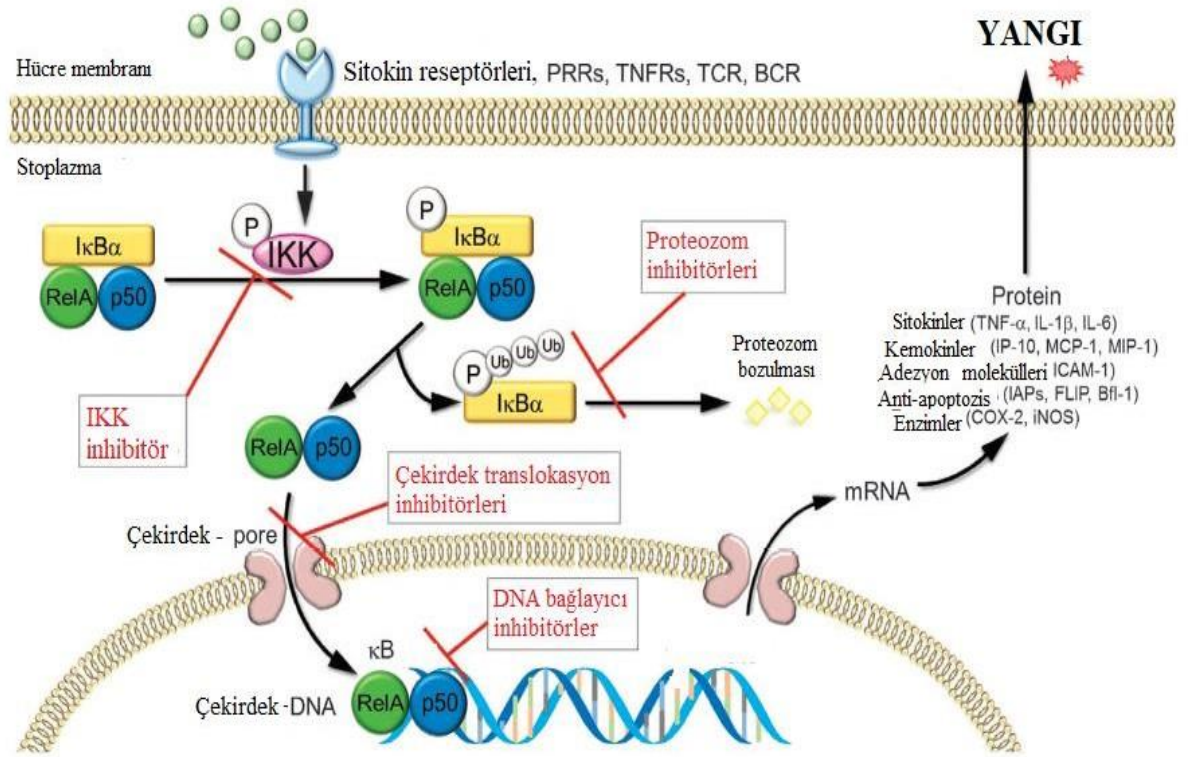


Şekil 2.8. Micheal katılma reaksiyonu (Shibata, 2015).

2.2.2.3.1. İnhibitör Kappa-B (IκB) İnhibitör Kappa Kinaz (IKK) β Alt Birimi

Bu PG'ler yangı önleyici etkilerinin çoğunu Nükleer faktör kappa-B (NF-κB)'nin etkinliğini engelleyerek oluştururlar. Hücrelerin sitoplazmasında bulunan dimerlerden oluşan bir transkripsiyon faktörü olan NF-κB, baskııcı alt birimi IκB'ye bağlanarak etkin olmayan halini korur (Stamatakis ve ark., 2004). Yangı uyarıcıları, IκB'nin fosforile olduğu bir sinyal yolağını başlatır ve bu proteinin yıkımına yol açar ve IKK etkin hale gelir (Stamatakis ve ark., 2004; Straus ve Glass, 2001). Bu da, etkin NF-κB dimerinin hücre çekirdeğinde birikmesine ve DNA'ya bağlanarak transkripsiyonu başlatmasına neden olur (Baeuerle, 1998; Karin 1999) (Şekil 2.9). Etkin NF-κB'nin, TNF-α, IL'ler, adezyon molekülleri ile COX-2 ve iNOS gibi enzimleri içeren çeşitli yangı öncülerinin mRNA ekspresyonunu uyardığı belirtilmiştir (Kallapura ve ark., 2014; Lee ve ark., 2012; Zhao ve ark., 2013).

cyPG'lerin en önemli türevi olan 15d-PGJ₂, IKK etkinliğini engelleyerek IκB'nin parçalanmasını ve NFκB'nin çekirdeğe girmesini önler (Staus ve Glass, 2001). Ayrıca çoğu yangı yanıtında düzenlenen 150'den fazla proteinin transkripsiyonunu uyarır. Bunun sonucunda da yangı önleyici etkileri oluşur (Rossi ve ark., 2000; Surh ve ark., 2011; Wall ve ark., 2012).



Şekil 2.9. Nükleer faktör kappa-B (NFκB)'nin etkinleşmesi (Liu ve ark., 2017).

2.2.2.3.2. Kelch Benzeri Eritrofor Konsantre Edici Hormon Bağlı Protein-1

Kelch Benzeri eritrofor konsantre edici hormon (ECH) bağlı protein-1 (KeaP-1), sisteinden zengin baskıcı sitoplazmik bir proteindir (Stamatakis ve ark., 2004). Etkisini nükleer faktör (eritroid kaynaklı 2) ile ilgili faktör 2 (Nrf2) üzerinden gösterir. Yangı önleyici etkileri olan Nrf2, bir transkripsiyon faktördür ve antioksidan yanıt elemanı (ARE) ile etkileşerek Faz 2 ile antioksidan enzimleri şifreleyen genlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Ishii ve ark., 2000, 2002). Ayrıca oksidanlara maruziyetin fizyolojik ve patofizyolojik sonuçlarını düzenlemek için bir dizi ARE'ye bağımlı genin bazal ve uyarılmış ekspresyonu kontrol etmektedir (Ma, 2013; Zhang ve Hannink, 2003). Yangı olmadığında Nrf2, KeaP-1 tarafından etkisiz halde tutulur ve çekirdeğe giremez (Surh ve ark., 2011; Wall ve ark., 2012). Yangı, KeaP-1'in Nrf2'den ayrılmasını sağlar ve böylece Nrf2 etkin hale gelir. Etkin Nrf2, hücrelerde birçok antioksidan ve detoksifiye edici proteinin ifadenme seviyelerini

düzenler. Çekirdeğe giren Nrf2, ARE içeren genlerin transkripsiyonunu uyarır (Nguyen ve ark., 2003; Surh ve ark., 2011; Wall ve ark., 2012; Zhuang ve ark., 2003).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Keap-1'in cyPG dahil olmak üzere elektrofilik lipid oksidasyon ürünleri ile değişim için bir hedef olduğu gösterilmiştir. Keap1-cyPG birleşme ürününün varlığı, hem 15d-PGJ₂ hem de Δ^{12} -PGJ₂'nin biyotinenmiş analogları kullanılarak kanıtlanmıştır (Itoh ve ark., 2004; Levonen ve ark., 2004). cyPG'ler, Nrf2'nin etkinleşmesi, antioksidan ve Faz 2 enzimlerinin uyarılması ve yangının farklılaşmasında önemli etkilere sahiptir (Stamatakis ve ark., 2004). Bu bileşiklerin, Nrf2'ye bağımlı genlerin transkripsiyonunu teşvik etmeleri yangı önleyici etkilerinin oluşmasına aracılık eder (Friedli ve Freigang, 2017). Ayrıca 15d-PGJ₂ fare peritoneal makrofajlarda Nrf2'yi etkinleştirir ve hemoksijenaz (HO)-1 ve peroksiredoksin-1'in ekspresyonunu tetikler. Bu değişikliklerin yangı yanıtına katkısı vardır (Itoh ve ark., 2004). cyPG'lerin HO-1'i uyarmaları ile iNOS gibi yangı başlatıcı genlerin uyarımı arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmiş (Colville-Nash ve ark., 1998) ve bu etkinin PGJ₂'nin düşük yoğunluklarda yangı önleyici etkileri için gerekli olduğu iddia edilmiştir (Lee ve ark., 2003). Dolayısıyla, cyPG tarafından Keap-1'in değişimi, hücrel antioksidan yanıt ve yangının farklılaşması arasında bağlantı olduğunu göstermektedir (Stamatakis ve ark., 2004)

2.2.2.3.3. Aktivatör Protein-1 (AP-1)

Transkripsiyon faktörü olan AP-1 kanserojenlere karşı hücre çoğalmasının kontrolünde, strese ve yangıya karşı hücrel yanıtta merkezi bir rol oynamaktadır (Karin, 1995).

cyPG'lerin, birçok deneysel çalışmada AP-1'in etkinliğini engellediği gösterilmiştir (Fahmi ve ark., 2001; Ricote ve ark., 1998; Sawano ve ark., 2002). Bu engelleyici etkide birçok mekanizma rol oynamaktadır. 15d-PGJ₂'nin proteine doğrudan kovalent bağlandığı ve DNA bağlanmasını engellediği belirtilmiştir (Pérez-Sala ve ark., 2002). AP-1 proteinlerinin direkt değişimine ek olarak cyPG'ler, AP-1'in bir substrat olduğu tiyoredoksin veya tiyoredoksin redüktazın etkinliğini engelleyerek

ya da hücrel oksidatif stres oluşumu gibi diğer farklı şekillerde de hareket ederek AP-1 etkinliğini engelleyebilir (Stamatakis ve ark., 2004).

2.2.3. Metabolizması

PGA ve PGJ serisi PG'ler karbon zincirinin ortasında bir sikloptenon halkası bulundurur (Straus ve Glass, 2001). Bu PG'lerin içerdiği elektrofilik doymamış α - β karbonil grubu, hücre proteinleri ya da glutatyon (GSH)'un sistein kalıntılarındaki serbest sülfidril grupları gibi nukleofilik yapılarla reaksiyona girer (Gayerre ve ark., 2005; Maier ve ark., 2015). Δ^{12} -PGJ₂, 15d-PGJ₂ ve sentetik Δ^7 -PGA₁ yan zincirinin biri üzerinde ikinci güçlü bir reaktif karbon grubu bulunur. GSH ve cyPG bileşme reaksiyonu *glutatyon S-transferaz* (GST) enzimi ile katalize edilir. Bu enzim elektrofilik yapıda olan çeşitli ksenobiyotiklerin vücuttan atılmasında rol oynar (Atsmon ve ark., 1990). cyPG'ler ile GSH arasındaki reaksiyon GST yokluğunda da gerçekleşir, fakat reaksiyon hızı daha düşüktür. GST enziminin alfa, mu, pi ve teta gibi çeşitli tipleri vardır. Bu enzimler farklı genler tarafından kodlanır ve substrat varlığında dokulara dağılımları farklıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda farklı GST enzimlerinin PGA₂ ve PGJ₂'den oluşan GSH konjugatları ile ilgili farklı yapısal seçicilik sergiledikleri belirtilmiştir. PGA₂, enzimin aktif bölgesindeki sistein 47'ye kovalent bağla bağlanarak GST-P1'in etkinliğini önler (Straus ve Glass, 2001).

Δ^{12} -PGJ₂'de sikloptenon halka sisteminde bir elektrofilik karbon atomu bulunur. Bu enzim tarafından katalizlenen GSH ile reaksiyona girer ve GSH konjugatı oluşur. GSH konjugatının oluşumu dönüşümlüdür. Δ^7 -Prostaglandin A₁ metil ester gibi dienon bileşiklerinin GSH konjugatları, PGA₁ metil ester gibi enon bileşiklerinden oluşan konjugatları göre daha az kararlıdır. Bu sebeple, hücredeki serbest ve konjuge bileşiklerin miktarı, dienon bileşiklerinin enon bileşiklerine göre daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Bu durum çeşitli ölçümlerde dienon bileşiklerinin etkinliğinin daha yüksek olarak bulunmasıyla açıklanmaktadır. Bir kez oluştuktan sonra GSH konjugatları hücreden atılır (Straus ve Glass, 2001). Yapılan araştırmalarda, bu durumun ATP-bağımlı GSH-konjugat dışa atım pompası olarak bilinen çoklu ilaç dirençli proteinler (MRP1 ve MRP2) vasıtasıyla gerçekleştiğini göstermiştir (Akimaru ve ark., 1996; Ishikawa ve ark., 1998).

Kimyasal olarak doymamış α - β karbonil grubu, cyPG'lerin biyolojik etkilerinin çoğu için önemlidir. Siklopentenon halka sistemine sahip olmayan diğer PG'ler, benzer bir biyolojik etkinliğe sahip değildirler. Reaktif merkezin GSH ile birleşmesi cyPG etkinliğini ortadan kaldırır. Bu siklopentenon (2-siklopenten-1-on) yapısı cyPG'lerin biyolojik etkinliklerinin çoğunu taklit eder, ancak etkili olabilmesi için 30 ila 100 kat daha yüksek yoğunluklarda olması gerekir. Buna karşılık siklopenten ve siklopentanon türevi bileşiklerde reaktif doymamış α - β karbonil grubu olmadığından biyolojik etkinlikten yoksundurlar (Atsmon ve ark.,1990).

cyPG'lerin biyolojik etkileri için, bu bileşiklerin kimyasal reaktif merkezi ile hücrenel hedef proteinlerinde anahtar rol oynayan sistein kalıntılarını alkilleyebileceği düşünülmektedir. Bu hipoteze göre sistein kalıntılarındaki alkilasyon, hedef noktalarında fonksiyon kaybı ile sonuçlanabilir. Çünkü doymamış α - β karbonil grubu zayıf bir elektrofildir ve DNA gibi diğer makromoleküllerin zayıf nükleofilik bölgelerini alkilasyona uğratma olasılığı çok daha düşüktür. Hücrenel proteinlerde spesifik sistein kalıntılarının ana hedef olduğu hipotezi, 15d-PGJ₂ ile NF- κ B etkinliğinin baskılanması için moleküler mekanizmanın aydınlatılması ile doğrulanmıştır. Bu durumda iki hedef proteinin sistein kalıntısı etkilenmektedir. Bunların biri IKK aktivasyon halkasında bulunur ve NF- κ B etkinliği için gereklidir. Diğer NF- κ B'nin DNA'ya bağlanan bölgesinde yerleşmiştir (Straus ve Glass, 2001).

2.2.4. Siklopentenon Prostaglandin (cyPG)'lerin *in vivo* Varlığı

cyPG'lerle ilgili merak edilen temel soru, normal fizyolojik olaylarda rol oynayıp oynamadıklarıdır. Bu bileşiklerin fizyolojik olaylarda rol oluşturabilmeleri için, *in vivo* olarak biyolojik bir etki oluşturabilecek miktarlarda bulunmaları gerekir. Bu konu üzerinde yapılan çalışmalarda *in vitro* olarak da PGE₂, E₁ ve D₂'nin sırasıyla PGA₂, A₁ ve J₂'ye dönüşmesi sebebiyle oldukça karmaşık görünmektedir. cyPG'lerin *in vivo* olarak varlığını gösteren çok sayıda veri bulunmaktadır (Hirata ve ark., 1988; Straus ve Glass, 2000; Zia ve ark., 1975). Sağlıklı kadınlarda Sulproston'un (PGE₂ analogu) parenteral olarak uygulanması ve ardından metabolizma sonucunda PGA₂ türevleri tespit edilmiştir. Ayrıca, PGA₂'nin biyosentezi veya PGE₂'nin PGA₂'ye dönüştürülmesi farklı hücre kültürlerinde de gözlenmiştir (Straus ve Glass, 2001). Zia

ve ark. (1975) PGA_1 için hassas bir radyoimmunoassay yöntemi (RIA) geliştirmişler ve bu yöntemi kullanarak 27 insandan alınan tam kan örneklerinde ortalama PGA_1 yoğunluğunun $2,5 \pm 1,6$ ng/100 ml olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu yoğunluğun biyolojik etkinlik için gerekenden çok düşük olduğu; ancak, PGA_1 serumda çok kararsız olduğundan, tam kanda tespit edilen miktarda hücre içi yoğunluğunun göz ardı edilmiş olabileceği belirtilmiştir (Suzuki ve ark., 1997).

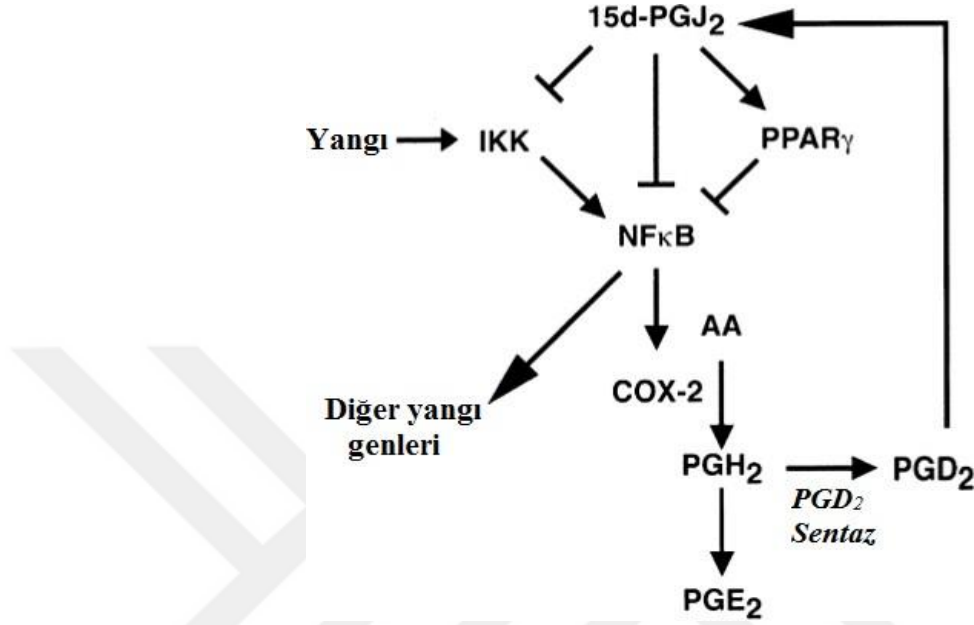
Hirata ve ark. (1988) tarafından Δ^{12} -PGJ₂ için spesifik ELISA yöntemi geliştirilmiş ve bu yöntem kullanılarak, Δ^{12} -PGJ₂'nin insan idrarında önemli miktarlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Maymunlar ve kemirgenler üzerinde yapılan bazı çalışmalar sonucunda Δ^{12} -PGJ₂'nin doğal bir PGD₂ metaboliti olduğu belirtilmiştir (Haberl ve ark., 1998). Daha sonra Gilroy ve ark. (1999) yaptıkları bir çalışmada, ELISA yöntemi ile yangısal sıvılarda 15d-PGJ₂ tespit etmişler ve bu bileşiğin yoğunluğunun yangının iyileşme aşamasında yükseldiğini göstermişlerdir.

2.2.5. Biyolojik Etkileri

2.2.5.1. Yangı Önleyici Etkileri

cyPG'lerden 15d-PGJ₂'nin gen ekspresyonu üzerindeki çeşitli baskılayıcı etkileri moleküler düzeyde açık şekilde aydınlatılmıştır. Yapılan araştırmalar 15d-PGJ₂'nin, PG sentezi ve yangı yanıtının fizyolojik negatif geri bildirim düzenleyicisi olarak işlev gördüğünü ortaya koymuştur (Engdahl ve ark., 2007; Mouihate ve ark., 2004; Thieringer ve ark., 2000). Yangı fazının iyileşmesi esnasında yangısal sıvılarda 15d-PGJ₂ mevcuttur. Bu bağlamda 15d-PGJ₂ hematopoetik *PGD₂ sentaz* yoluyla sentezlenen PGD₂'nin dehidrasyon ürünü olarak üretilir. Etkin makrofajlarda PPAR γ yüksek seviyede sentezlenir ve bu hücrelerin 15d-PGJ₂'nin reseptör bağımsız etkileri ve aynı zamanda reseptör bağımlı etkileri için hedef olmasına yol açar. Ayrıca bu madde, COX-2 sentezini de baskılar ve PG sentezinde negatif bir geri bildirim düzenleyicisi olarak hareket ettiği hipotezi ile uyumlu olan makrofajlar tarafından PGE₂ üretimini engeller. Dolayısıyla, 15d-PGJ₂, yangı mediatörü PGE₂'nin sentezinin yanı sıra, bazı yangısal yanıt geninin (TNF- α , IL-1 β , iNOS gibi) ekspresyonunu

engelleyerek yangı fazının iyileşmesine katkı sağlamaktadır (Straus ve Glass, 2001) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. 15d-PGJ₂'nin yangı gen ekspresyonu ve PG biyosentezinin düzenlenmesindeki rolü (Straus ve Glass, 2001).

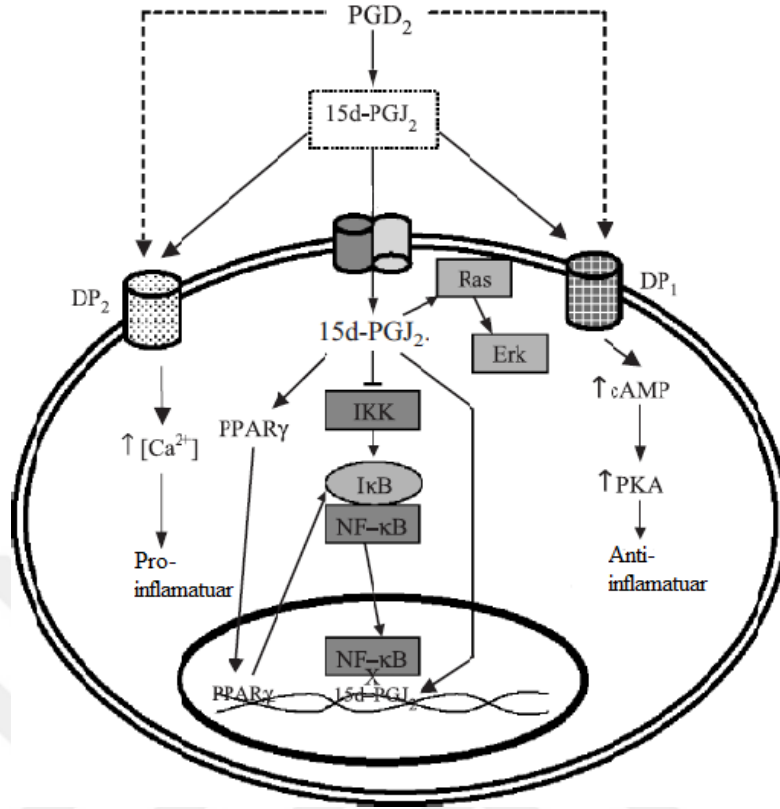
Birçok *in vivo* çalışma 15d-PGJ₂'nin güçlü yangı önleyici bir ajan olarak görev yaptığını göstermiştir (Castrillo ve ark., 2000; Nakajima ve ark., 2001; Rossi ve ark., 2000; Straus ve ark., 2001). 15d-PGJ₂'nin yangıyı azaltmak için güçlü bir mekanizma ile fare T ve B hücrelerinin apoptozunu uyardığı bildirilmiştir (Harris ve Phipps, 2001). Ayrıca 15d-PGJ₂ ve PPAR- γ ligantlarının iskemi-kanlanma hasar modelleri (Nakajima ve ark., 2001) ile kolit (Su ve ark., 1999) ve adjuvan kaynaklı artrit modelinde yangıyı önlediği belirtilmiştir (Harris ve ark., 2002). Buna karşılık, 15d-PGJ₂'nin yangıyı tetikleyebileceğine dair bazı veriler de bulunmaktadır. 15d-PGJ₂'nin, düz kas ve epitel hücrelerinde sırasıyla salgılanan yangı başlatıcı araçlar olan *fosfolipaz A₂* ve COX-2'nin ekspresyonu ile bazı sistemlerde IL-8 ve MAPK gibi yangı başlatıcı araçların sentezini uyardığı bildirilmiştir (Couturier ve ark., 1999; Meade ve ark., 1999).

Makrofajlarda 15d-PGJ₂, iNOS, TNF- α , matriks metalloproteinaz (MMP)-9 ve COX-2'nin etkinleştirdiği çok sayıda yangı oluşturan geni baskılar. Bu gen ekspresyonunun baskılayıcı etkileri, 15d-PGJ₂'nin PPAR γ 'a yüksek affinite ile bağlanması aracılık eder. Dolaşımdaki monositler ve peritoneal yerleşik makrofajlarda PPAR γ çok düşük seviyededir; fakat PPAR γ ekspresyonu etkin haldeki makrofajlarda yüksek seviyelerde uyarılır. Etkin haldeki makrofajlar, interferon- γ (IFN γ) gibi sitokinler ya da bakteriyel LPS'lerin verilmesini takiben yangısal cevabı eksprese eden genleri uyarır. LPS ya da sitokinlerle makrofajlar karşılaştığında yangısal yanıt genleri ve transkripsiyonu etkinleştiren uyarıcı elementlerdeki spesifik dizilere bağlanan NF- κ B ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörleri etkinleşir (Straus ve ark., 2001). Li ve ark. (2000), PGJ₂'nin PPAR γ reseptörü aracılığında NF- κ B ve AP-1'in etkinliğini engellediğini bildirmişlerdir. PPAR α 'nın yangı önleyici etkileri olduğu ve etkilerini, proinflamatuvar olan lipid yapılı mediatörleri yıkımlayan enzimlerin ekspresyonunun artması sonucu olduğu tespit edilmiştir (Devchand ve ark., 1996). Daha sonra, PPAR γ ve ligandı olan 15d-PGJ₂'nin, monositler tarafından salınan proinflamatuvar sitokinlerin ve iNOS gibi temel yangısal enzimlerin gen ekspresyonlarını engelleyerek etki gösterdiği bildirilmiştir (Devchand ve ark., 1996; Stamatakis ve ark., 2004). Ricote ve ark. (1998), makrofajlardaki iNOS ve MMP-9 uyarıcılarının etkinliğinin, 15d-PGJ₂ tarafından güçlü bir şekilde engellendiğini ve bunun PPAR γ varlığında güçlendiğini ortaya koymuşlardır.

15d-PGJ₂'nin PPAR'a bağımlı mekanizmalarla olduğu gibi, bağımsız mekanizmalar ile de gen ekspresyonunu baskılayabileceği belirtilmiştir (Ricote ve ark., 1998; Thieringer ve ark., 2000). Ligand bağımlı gen etkinliğini bozan PPAR γ 'daki mutasyonların, ligand bağımlı iNOS uyarıcılarının baskılamasını engellediği, özellikle koaktivatör uyarıcılar ile liganda bağlı etkileşimi ortadan kaldıran PPAR γ 'daki mutasyonların hem ligand bağımlı transkripsiyonel etkinliği hem de ligand bağımlı baskılamayı ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (Ricote ve ark., 1998). PPAR γ ile koaktivatör kompleksleri arasındaki ligand bağımlı etkileşimde baskıcı bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu sonuçlar 15d-PGJ₂'nin PPAR γ bağımlı NF- κ B ve AP-1 etkinliğini baskıladığını açıkça ortaya koymuştur. Aksine bazı diğer sonuçlar 15d-PGJ₂ tarafından gen ekspresyonunun baskılanması için PPAR γ 'dan bağımsız

mekanizmaların bulunduğunu da göstermiştir (Ricote ve ark., 1998; Straus ve Glass, 2001; Thieringer ve ark., 2000). Bu mekanizmalardan biri 15d-PGJ₂'nin iNOS uyarıcı etkinliğini önlemesidir. Reseptör bağımsız gen etkinliğinin baskılanması için ana hedef noktalardan bir diğeri ise NF-κB'dır (Straus ve Glass, 2001).

cyPG'lerden PGA₁'in NF-κB etkinliğini engelleyici etkisi ilk kez Santoro (1997) tarafından keşfedilmiştir. NF-κB yangı durumunda etkin olan çoğu genin transkripsiyonunun başlamasında anahtar rol oynar. Yangı olmadığında NF-κB sitoplazmada baskıcı bir protein olan IκB ile kenetlenmiş halde bulunur. Yangı durumunda, sitokinler gibi yangı uyarıcıları tarafından IκB'deki iki serin kalıntısı fosforile olur ve IKK etkin hale gelir (Straus ve Glass, 2001). Bu durum NF-κB dimerinin hücre çekirdeğinde birikmesine ve DNA'ya bağlanarak transkripsiyonu başlatmasına yol açar (Baeuerle, 1998; Karin, 1999). 15d-PGJ₂, LPS veya sitokinlere yanıt olarak IKK etkinliğini engeller. Dolayısıyla IκB'nin proteozomlar tarafından parçalanması ve NF-κB'nin çekirdeğe girmesi önlenmiş olur. Bunun sonucunda 15d-PGJ₂'nin yangı önleyici etkileri oluşur (Straus ve Glass, 2001) (Şekil 2.11). 15d-PGJ₂'nin fare ve insan makrofajları tarafından iNOS, TNF-α ve IL-1β üretimini engellediği (Castrillo ve ark., 2000; Rossi ve ark., 2000) ve bu etkilerin MAPK, NF-κB veya IKK'nin etkinliğinin engellenmesi sonucu oluştuğu belirtilmiştir (Harris ve Phipps, 2001). Yapılan *in vivo* çalışmada, cyPG'nin sıçanlarda karregenon ile uyarılan yangının iyileşmesine katkı sağladığı, hayvanlarda güçlü yangı önleyici etki gösterdiği ve bu etkinin NF-κB etkinliğinin engellenmesiyle bağlantılı olduğu vurgulanmıştır (Ianaro ve ark., 2001).



Şekil 2.11. 15d-PGJ₂'nin NFκB etkinleşmesini önlemesi (Scher ve Pillinger, 2005).

Inflamazomlar kaspaz-1'i etkinleştirerek, tehlike sinyallerine yanıt oluşturan sitozolik protein kompleksleridir. İnflamazomların sensör görevi yapan kısımlarının nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alan benzeri reseptör (NLR) protein ailesi olduğu; stresi, tehlike uyarılarını ve patojen ile ilişkili moleküler model (PAMP)'leri tespit ettikleri belirtilmiştir. Kaspaz-1, proteolitik aktivasyona uğrar ve proinflamatuvar sitokinlerden IL-1β ve IL-18'in zimojen formlarına bölünür ve onların olgun şekilleri hücrelerden salgılanır. Kaspaz-1'in uyarılması hücrelerin hızlı bir şekilde parçalanarak ölmesine (proptosis) yol açar (Lamkanfi ve Dixit, 2014). Maier ve ark. (2015) 15d-PGJ₂ ve ilişkili cyPG'lerin kaspaz-1 aktivasyonunu NLR ailesi lösince zengin inflamazom proteinler olan NLRP1 ve NLRP3 aracılığıyla engellediğini belirtmişlerdir. 15d-PGJ₂'nin kaspaz-1 etkinliğini engellemesinin PPARγ'dan bağımsız olarak otoproteolitik aktivasyonunu ve IL-1β'nın olgunlaşmasını engelleyerek gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalar, cyPG veya ilgili bileşiklerin artrit veya glomerülonefrit gibi yangısal durumlar veya patolojik hücre çoğalması durumlarında terapötik maddeler olarak kullanılabileceğini göstermektedir

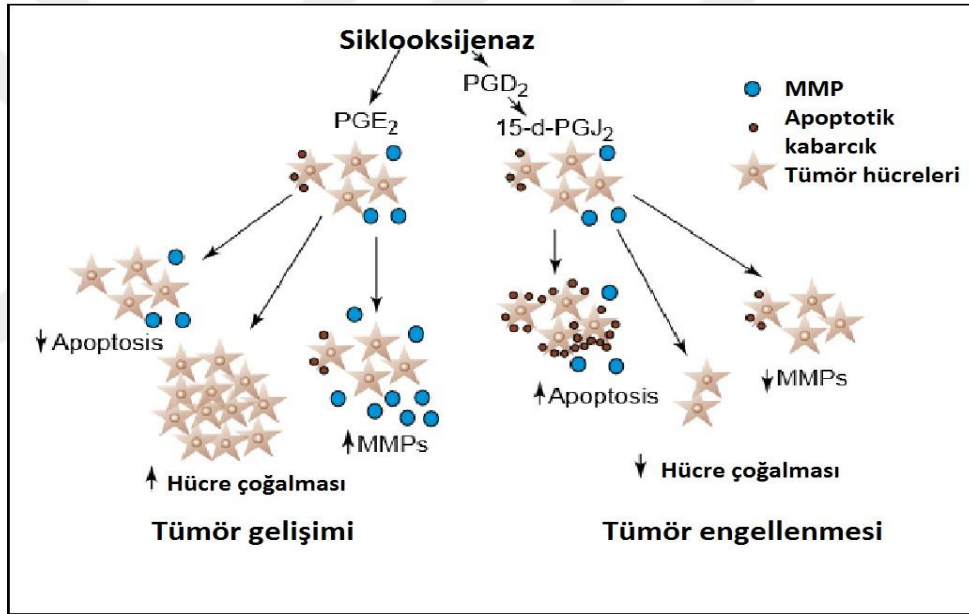
(Fahmi ve ark., 2002; Sawano ve ark., 2002; Straus ve Glass, 2001; Zhang ve ark., 2004).

2.2.5.2. Diğer Etkileri

cyPG'lerin ilk bulunan biyolojik ve farmakolojik etkileri tümör önleyici etkileridir (Stamatakis ve ark., 2004). Kato ve ark. (1986) yaptıkları çalışmada, çeşitli cyPG türevlerinin, farelerde Ehrlich asit tümörlü farelerin ömrünü etkin bir şekilde artırdığını tespit etmişlerdir. PGA₁ ve PGJ₂'nin tümör önleyici etkinliğinin diğer cyPG'lerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir. PGJ₂ ve PGA₁ (Δ^7 -PGA₁ metil ester) gibi bazı cyPG'ler çapraz konjuge dienon sistemlerine sahiptir (Rishikesh ve Sadhana, 2003). Bunlar çekirdek içindeki belli hücre içi hedefleri etkileyerek tümörlerin gelişmesini engeller ve hücre siklusunun G1/S interfazındaki tümörlerde hücre büyümesinin durmasına neden olurlar. PGA₁ ve PGJ₂'nin insan kordon kanında bulunan IL-2'nin uyardığı mononükleer hücrelerin gelişmesini engelleyip, IL-2 aracılı proliferatif yangıyı önleyerek etki gösterdiği belirtilmiştir (Huges-Fulford, 1994).

Sugiura ve ark. (1984), PGE₁, PGA₁, PGD₂ ve PGJ₂ türevlerinin serilerini sentezlemişler ve her bir bileşiği, L1210 lösemisinin ilerlemesini farelerde tümör hücrelerinin gelişmesini engellenme yeteneklerini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada yüksek tümör önleyici etkinlik ile ilişkili birtakım yapısal özelliklerin olduğunu ortaya koymuşlardır. PGA serisindeki en etkin bileşiklerin Δ^7 -PGA₁, 12-epi- Δ^7 -PGA₁ ve 15-deoksi- Δ^7 -PGA₁ olduğunu, PGJ₂ serisinde en etkin bileşiğin ise 15d-PGJ₂ olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca 15d-PGJ₂ etkinliğinin Δ^7 -PGA₁ ile türevlerine yakın olduğu ve akciğer, göğüs, özefagus, prostat, idrar kesesi ve kolon gibi organlarda *in vitro* ve *in vivo* tümör hücresi gelişimini engellediği belirtilmiştir (Kato ve ark., 1986). 15d-PGJ₂'nin doğrudan tümör hücrelerinde hücre çoğalmasını önleyerek, anjiyogenezisi engelleyerek ve apoptozu uyararak etki gösterdiği (Harris ve ark., 2002) ve apoptozu uyarıcı etkilerini genellikle PPAR γ aracılı yolla gösterdiği bildirilmiştir (Straus ve Glass, 2001). Sarraf ve ark. (1999), kolon kanseri hastalarının PPAR γ 'da fonksiyon kaybı mutasyonlara sahip olduğunu ve bu reseptörün tümör büyümesini engelleyici etkisinin daha fazla olduğunu keşfetmiştir. 15d-PGJ₂ ve PPAR γ ligandları, tümör hücrelerinde apoptozisi uyarmasının yanında tümör

hücrelerinin farklılaşmasını uyararak da tümör gelişimini engelleyebilir. Bununla birlikte, 15d-PGJ₂'nin tümör önleyici etkinliği, tümör hücrelerinin doğrudan baskılanması ile sınırlı değildir. *In vivo* olarak anjiyogenezin engellenmesi sonucunda damar endotelial büyüme faktörü reseptörünün ekspresyonunu baskılar. 15d-PGJ₂, damar düz kas hücrelerinde MMP-9 ekspresyonunu azaltır ve bu da doku tahribatını engeller ve hücrelerin metastazını önleyici bir etki ile sonuçlanır (Harris ve ark., 2002). Yapılan çalışmalarda, cyPG'lerin tümör önleyici etkinliklerini, PPAR γ 'yı uyararak, MMP üretimini düşürerek, malign hücre çoğalmasını engelleyerek ve apoptozu uyararak gösterdiği vurgulanmıştır (Harris ve ark., 2002; Stamatakis ve ark., 2004; Straus ve Glass, 2001) (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. PGE₂ ve 15d-PGJ₂'in tümör üzerine etkileri (Harris ve ark., 2002).

cyPG'lerin virüslara karşı etkinliği Santoro (1997) tarafından bulunmuştur. Bu etkilerinin altında ısı şoku proteini (HSP)'ni uyarmaları ve/veya NF- κ B'yı baskılamaları yatmaktadır (Santoro, 1997). Ayrıca cyPG'lerin virüslara karşı etkinliğinde çeşitli moleküler mekanizmaların rol oynadığı bildirilmiştir (Straus ve Glass, 2001). Bu bileşiklerin en kapsamlı olarak incelenen etkilerinden biri de, birçok hücre tipinde kanıtlanmış olan bir ısı şoku yanıtını başlatmasıdır. HSP çoğu strese karşı koruyucu bir rol oynar ve cyPG'ler HSP70'in ekspresyonu ile ısı şoku faktörü (HSF)-

1'in etkinliğini artırarak viral enfeksiyonlarda ve hipertermide hücre koruyucu etki gösterirler. Isı şoku yanıtının uyarılması transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'nin, I κ B α baskılayıcı alt-biriminin ekspresyonu sonucu ortaya çıkmaktadır (Stamatakis ve ark., 2004). Bazı çalışmalarda PGA₁'in I κ B α ekspresyonunu uyardığı ve böylece HSF-1'in etkinliği ile NF- κ B'nin baskılanması arasında koordineli bir bağlantının olduğu belirtilmiştir (De Marco ve ark., 1998; Santoro, 1997). Santoro (1997) PG'lerin viral protein sentezinin seçici olarak önlemesinin, bu bileşikler tarafından HSP70 sentezinin artmasına bağlı olarak oluştuğunu belirtmiştir. PGA ve PGJ serisi PG'lerin çeşitli DNA ve RNA virüsleri, herpes simpleks, influenza, ensefalomiyokardit, poliovirüs ve insan immün yetmezlik virüsüne (HIV)-1 karşı etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (De Marco ve ark., 1998; Stamatakis ve ark., 2004; Straus ve Glass, 2001). cyPG'lerin siklopentan halkasında bulunan doymamış α - β karbonil grubu, kovalent olarak spesifik proteinlere bağlanması ve hücresel nükleofiller ile Michael katılma ürünleri oluşmasını sağlar. Bu moleküler yapı virüslara karşı etkinlik için gereklidir (Santoro, 1997). Bu kapsamda cyPG'lerin virüs yaşam döngüsü boyunca farklı hedefleri etkileyebilecek yeni antiviral ilaçların geliştirilmesi için ilginç bir model olabileceği vurgulanmıştır (Santoro, 1997; Stamatakis ve ark., 2004).

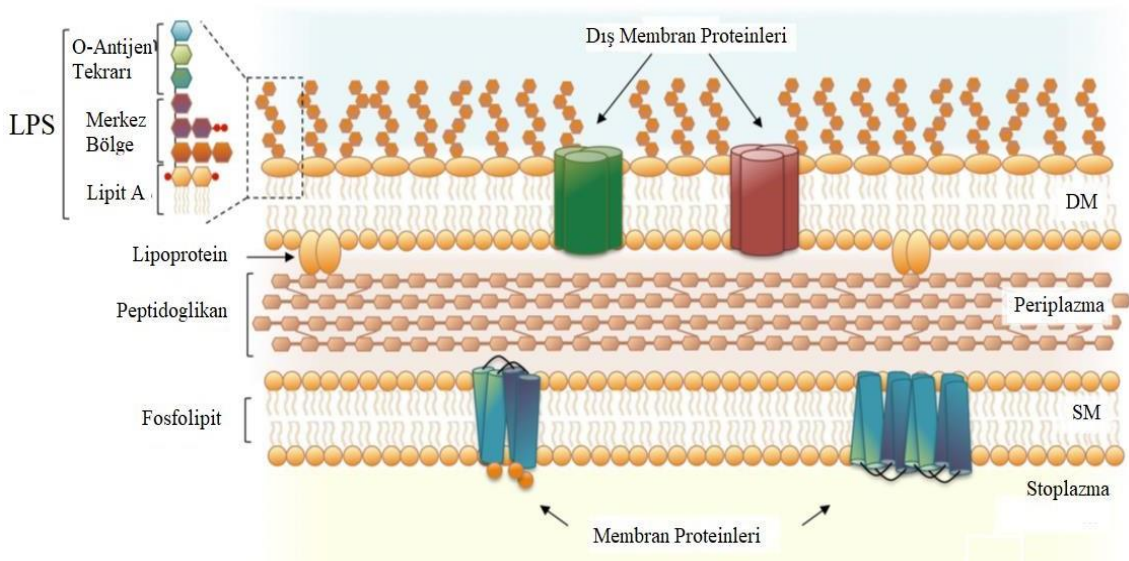
15d-PGJ₂'nin sıçanda dinitrobenzen sülfonik asit tarafından uyarılan kolon hasarının gelişimini zayıflattığı (Cuzzocera ve ark., 2003a), miyokard infarktüs boyutunu azalttığı (Wayman ve ark., 2002) ve karaciğer hasarı ile endotoksik şokta çoklu organ yetmezliğini azalttığı belirtilmiştir (Collin ve Thiemermann, 2003; Collin ve ark., 2004). Ayrıca 15d-PGJ₂'nin bağırsak ve böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı (Cuzzocera ve ark., 2003b; Sivarajah ve ark., 2003) ile iskemik akut böbrek yetmezliği (Chatterjee ve ark., 2004) gibi birkaç doku hasarına karşı koruyucu etkinliği olduğu da kanıtlanmıştır. Ayrıca Zhuang ve ark. (2003) siklopentenon yapısına sahip bileşiklerin sinir hücreleri üzerinde koruyucu etkileri olduğunu, ileride felç ve Alzheimer hastalığındaki etkileri için hayvan modelleri üzerinde çalışılması gerektiğini belirtmişlerdir.

2.3. Lipopolisakkarit (LPS)'ler

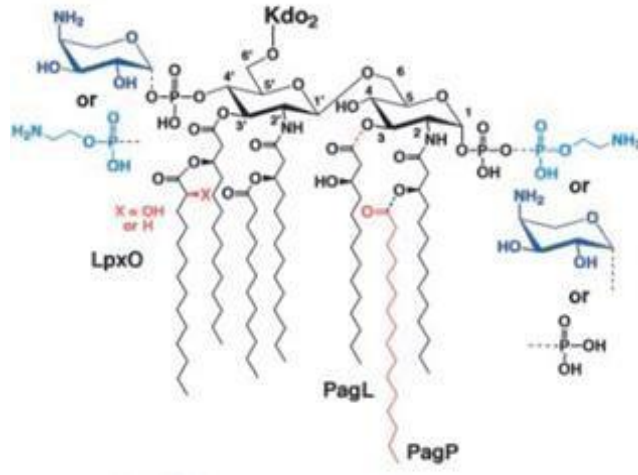
Konak durumundaki organizmalar, prokaryotik patojenlerde bulunan bazı spesifik yapılara karşı yangısal reaksiyon gösterebilir. Bu yapılar genellikle PAMP'lar olarak bilinirler ve lipopeptidler, peptidoglikanlar ile teikoik asitler gibi çeşitli bakteri hücre duvarı bileşenlerini içerirler. PAMP'lar patojenin biyolojisinde önemli role sahiptirler. Bu nedenle yüksek düzeyde mutasyona uğramazlar ve dolayısıyla etkilerini nesiller boyunca korurlar (Kallapura ve ark., 2014).

2.3.1. Lipopolisakkarit (LPS)'lerin Yapısı

PAMP'ların ana üyelerinden biri olan LPS *Escherichia* ve *Salmonella* türleri gibi Gram-negatif bakterileri hücre duvarının bir glikolipid bileşenidir (Halawa ve ark., 2013; Kallapura ve ark., 2014). Endotoksinin adı, bakterinin canlı organizmaya girdikten sonra LPS tarafından uyarılan biyolojik etkinliğine bağlı olarak değişiklik gösterir. LPS, LPS'nin toksik proinflatuar özelliklerinden sorumlu olan lipit A ve polisakkarit yan zincir parçasından oluşur. Polisakkarit yan zincirinde bir oligosakkarit çekirdeği ve O-spesifik zincir antijeni bulunur (Maldonado ve ark., 2016) (Şekil 2.13). LPS'nin bu serolojik özgünlüğünü ve bakterinin serotipini belirler (Halawa ve ark., 2013; Raetz ve Whitfield, 2002) (Şekil 2.14).



Şekil 2.13. LPS'nin yapısı (Maldonado ve ark., 2016).



Şekil 2.14. *E. coli* kaynaklı LPS'nin yapısı (Raetz ve Whitfield, 2002).

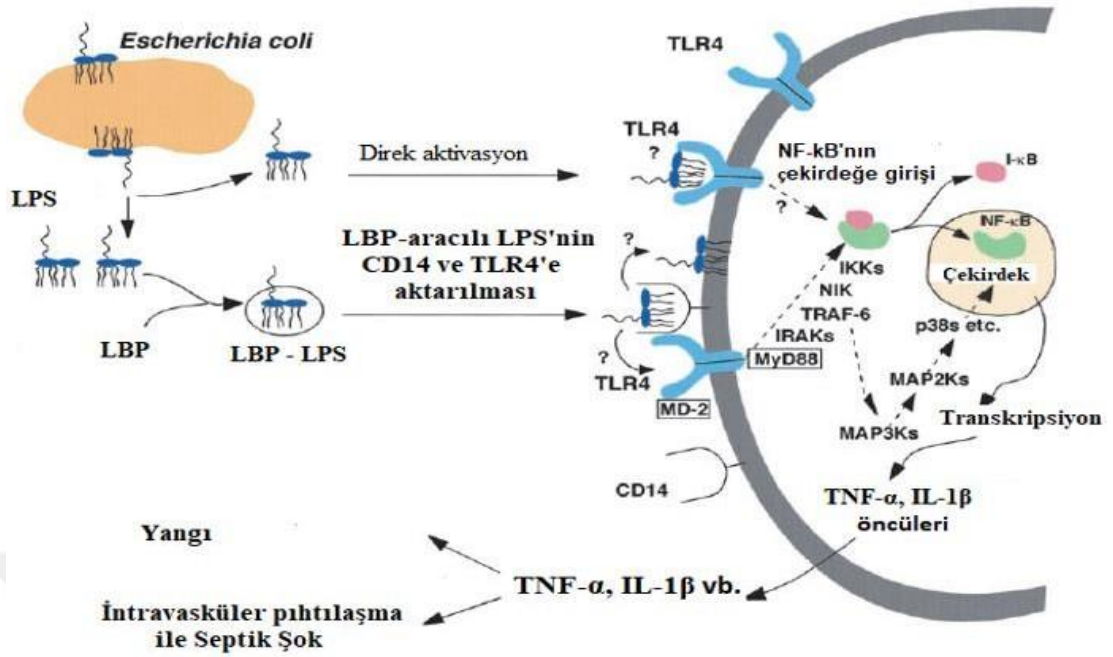
2.3.2. Lipopolisakkarit (LPS)'ler ile İndüklenen Sinyal Yolağı

LPS ile ilişkili sinyal transdüksiyon yolağındaki ilk aşama, bağışıklık sisteminin spesifik hücreleri tarafından LPS molekülünün tanınmasıdır. LPS, bağlayıcı protein (LBP) olarak bilinen bir serum proteinine bağlanır. Küçük miktarlarda LPS veya Gram-negatif bakteriler tarafından yangısal yanıtın hızlı oluşması için LBP gereklidir. LPS LBP'ye bağlandığında, LPS-LBP kompleksi reseptörüne bağlanır ve farklı hücreleri etkinleştirir. Spesifik LPS'ler kapsamında endotoksinler için çoklu hücre bağlı reseptörler, β_2 -integrinler, CD11/CD18, asetillenmiş LDL için makrofaj tutucu reseptör, L-selektin ve CD14 tanımlanmıştır. CD14 reseptörünün, ana reseptör olarak zar CD14 (mCD14) ve çözünür CD14 (sCD14) olmak üzere iki farklı formu tespit edilmiştir. mCD14, glikozilfosfatidilinositol (GPI) ile bağlantılı zar glikoproteini olarak işlev gören miyeloid soylu hücrelerin yüzeyinde bulunur. sCD14 ise GPI ile bağlantılı değildir; ancak, mCD14 olmayan hücrelerin etkinleştirilmesi için LPS'ye bağlanabilir. Yapılan çalışmalarda, CD14'ün sadece LPS için bir ligand bağlayıcı protein veya LPS-LBP kompleksine yönelik işlev gördüğü tespit edilmiştir. Ayrıca hücre içi sitoplazmik bölgesinin olmaması nedeniyle sinyal iletimini başlatamadığı da saptanmıştır (Kallapura ve ark., 2014).

Son yıllarda, LPS-LBP kompleksinin GPI-bağlantılı mCD14 ile bağlanmasının ardından ortaya çıkan proinflatuar sinyal iletim yolunun etkinleşmesini içeren Toll

Benzeri Reseptör (TLR)'leri ile ilgili önemli gelişmeler açığa çıkmıştır. TLR'ler, PAMP'leri tanıyan reseptör homolog ailesidir (Kallapura ve ark., 2014; Lee ve ark., 2012; Schroder ve ark., 2004). Şimdiye kadar 10 üye tanımlanmış ve bunların doğuştan gelen bağışıklık ve yangı tepkilerinden sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Bu üyeler arasında TLR4'ün, LPS'nin ana kaynağı olan Gram-negatif bakterilere karşı yangısal cevabın oluşmasında rol oynayan başlıca reseptör olduğu ve monositler, makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücreler gibi birçok bağışıklık hücresinin yüzeyinde bulunduğu belirtilmiştir (Kallapura ve ark., 2014; Wang ve Quinn 2010). TLR4'ün LPS'yi doğrudan tanımasının aksine, CD14 LPS'yi doğrudan tanıyamamakta ve LPS'yi TLR4/MD-2 reseptör kompleksine sunmaktadır (Kallapura ve ark., 2014).

LPS, NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu düzenleyen TLR'lerin sinyal yolağının aşırı uyarılmasıyla toksin olarak etkinleşir. Bunun sonucu olarak TNF α , IL-1 β ve IL-6 gibi patojenik yangısal yanıtla cevap olarak oluşan proinflamatuvar sitokinlerin sırasıyla transkripsiyonunu, üretimini ve salımını uyarır (Halawa ve ark., 2013; Kallapura ve ark., 2014). NF- κ B etkinleşmesi proinflamatuvar gen transkripsiyonuna yol açar. NF- κ B'nin etkinleşmesi I κ B inhibitörü tarafından düzenlenir. IKK'nın aktivasyonu, I κ B'nin fosforilasyonuna yol açar. Bu da sırasıyla NF- κ B'nin proteolitik bozunması ve NF- κ B'nin spesifik DNA bağlama bölgeleri ile birleştiği çekirdeğe translokasyonu ile sonuçlanır ve burada gen transkripsiyonunu başlatan spesifik DNA bağlama bölgeleri ile birleşir. Etkin NF- κ B 50 kDa (NF- κ B1/p50) ve 65 kDa (RelA/p65)'luk iki polipeptitten oluşan heterodimerdir. Etkin NF- κ B'nin, TNF- α , IL'ler, adezyon molekülleri ile COX-2 ve iNOS gibi enzimler içeren çeşitli proinflamatuvarların mRNA ekspresyonunu uyardığı belirtilmiştir (Kallapura ve ark., 2014; Lee ve ark., 2012; Raetz ve Whitfield, 2002; Zhao ve ark., 2013) (Şekil 2.15).



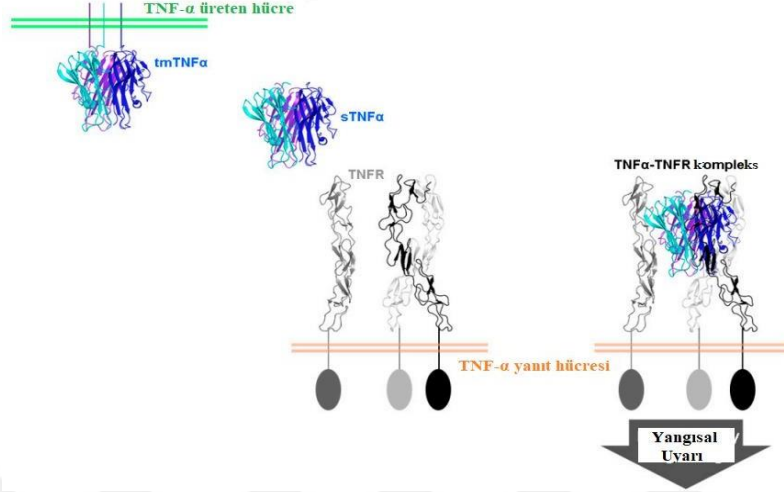
Şekil 2.15. *E.coli* kaynaklı LPS'nin TLR4 reseptörleri ile etkileşimi ve reseptör sonrası olaylar (Raetz ve Whitfield, 2002).

2.3.2.1. Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)

TNF- α , çeşitli hücreler üzerinde pleiotropik etkiler yapan güçlü proinflatuar bir sitokindir. Bu sitokin akut ve kronik yangı, otoimmün hastalıklar ve kansere bağlı yangı olaylarının patogeneğinde rol oynamaktadır (Chu, 2013; Horiuchi ve ark., 2010). Ayrıca fizyolojik süreçlerde önemli rol oynayan bu sitokin, tümör erimesi, apoptoz ve akut faz reaksiyonunun başlatılmasında da sorumludur (Chu, 2013).

TNF- α , makrofajlar ve diğer proinflatuar hücrelerin aktivasyonunu takiben kanda en erken saptanan sitokinlerden biridir, birçok önemli fizyolojik ve patolojik olayda rol oynarlar (Chu, 2013).1980'lerin sonunda, çeşitli araştırmalarda zara bağlı TNF- α 'nın aracılık ettiği sitotoksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Dinarello ve ark., 1986; Fast ve ark., 1989). İnsan makrofajları ve lenfositleri, IFN- γ veya forbol miristat gibi ajanlarla uyarıldığında zara bağlı ve çözünür TNF- α 'nin ekspres edildiği tespit edilmiştir (Engdahl ve ark., 2007). TNF- α 'nın en önemli biyolojik görevi konağı bakteriyel, viral ve parazitik etkenlere karşı korumaktır. Ayrıca endojen pirojenlere

karşı vücut ısısında artışa neden olduğu belirtilmiştir (Chu, 2013; Olmos ve Lladó, 2014).



Şekil 2.16. TNF- α 'nın yapısı ve etkinliği (Lim ve ark., 2018).

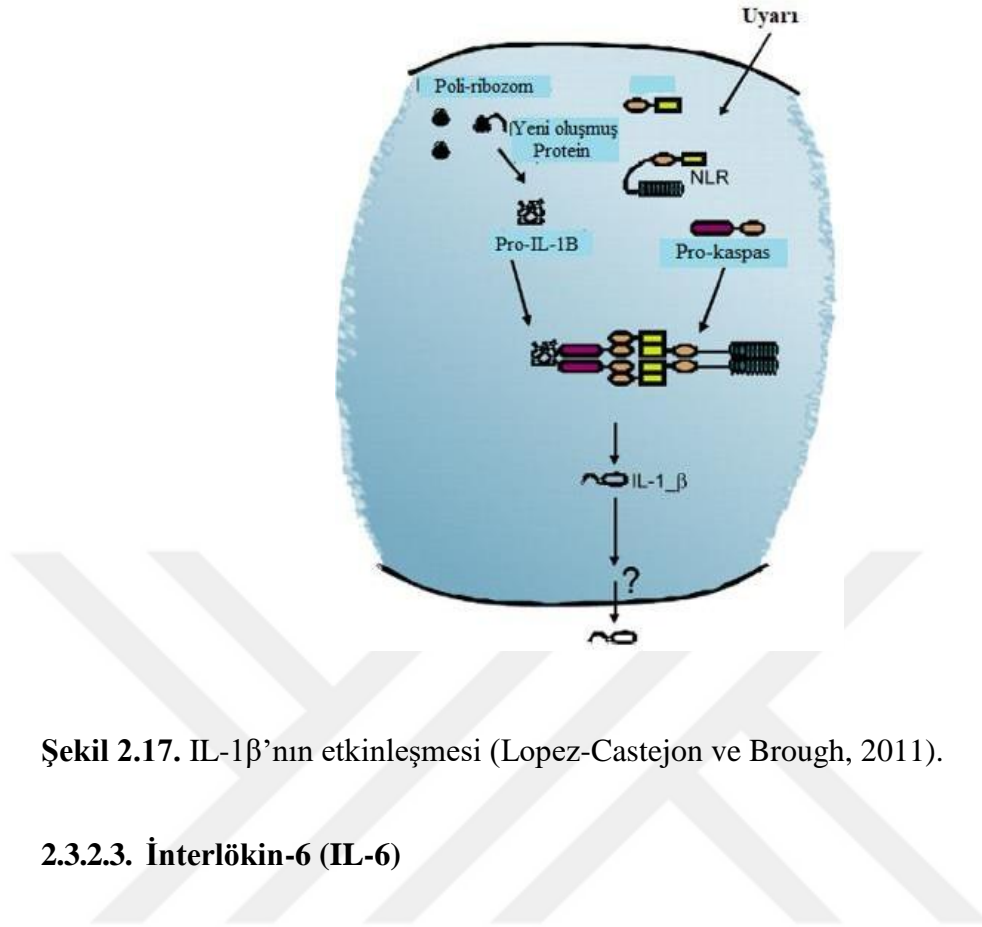
TNF- α makrofajlar tarafından, TNF- β ise lenfositler tarafından üretilir. Diğer hücrelerden de düşük düzeylerde TNF- α ve TNF- β sentezlenmektedir. TNF- β 'nin sadece çözünebilir formu bulunurken, TNF- α 'nın zara bağlı ve çözünebilir formu olmak üzere 2 formu bulunmaktadır (Chu, 2013). Zara bağlı TNF- α biyolojik fonksiyonunu sentezlendiği hücrelerde gösterirken, çözünebilir TNF- α ise sentezlendiği hücrelerden uzak alanlarda etki gösterir (Horiuchi ve ark., 2010; Lim ve ark., 2018) (Şekil 2.16). Çözünebilir TNF- α , 17-kDa bölünmüş monomerlerin bir homotrimeridir; zara bağlı TNF- α ise 26 kDa bölünmemiş monomerlerin bir homotrimeridir. Zara bağlı TNF- α TNF-R1 ve TNF-R2 reseptörlerine bağlanır, fakat biyolojik etkinliklerine özellikle TNF-R2'nin aracılık ettiği düşünülmektedir. TNF- α , 26 kDa ağırlığında 233 amino asit kalıntısından oluşan hücre yüzeyi tip II polipeptidlerinden olan zara bağlı-TNF- α olarak adlandırılan bir öncü form olarak üretilir. Metalloproteinaz enzim grubuna bağlı TNF- α dönüştürücü enzim (TACE) ile 157 amino asitlik çözünebilir TNF- α 'ya dönüşür (Horiuchi ve ark., 2010). TNF- α türler arasında birbirine benzerdir. Örneğin, insan ve fare TNF- α moleküllerinin benzerlik oranı % 80'dir. Zara bağlı TNF- α insanda 157 amino asit (ilk 76 aa'lık kısmı etkin), farede ise 156 aa (ilk 76 aa'lık kısmı etkin) dizisi içerir (Chu, 2013).

2.3.2.2. İnterlökin-1 β (IL-1 β)

Akut ve kronik yangı ile otoimmün hastalıklarda önemli bir proinflamatuvar sitokin olan IL-1 β , organizmada beslenme, uyku ve ısının düzenlenmesi gibi önemli homeostatik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynar. Bununla birlikte, IL-1 β 'nın aşırı üretilmesi, romatoid artrit, nöropatik ağrı, yangısal barsak hastalığı, osteoartrit, vasküler hastalık, multiple skleroz ve Alzheimer hastalığı gibi çeşitli hastalıklara sebep olur. IL-1 β , çoğunlukla monositler, makrofajlar ve lenfositler gibi doğal bağışıklık sistemi hücrelerinde üretilmesine rağmen, çeşitli hücreler (keratinositler, fibroblastlar sinoviyositler, endotelial hücreler, astrositler, mikroglia ve Schwann hücreleri gibi glial hücreler gibi) tarafından da üretilir ve salgılanır (Lopez-Castejon ve Brough, 2011; Piccioli ve Rubartelli, 2013; Ren ve Torres, 2008).

IL-1 β , NF- κ B ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörleri ile düzenlenen birçok genin ekspresyonunu uyararak yangısal sinyal yolağını başlatabilir (Kowluru ve Odenbach, 2004). Bu sitokin PAMP'lere yanıt olarak üretilir ve PAMP'ler, makrofajlardaki TLR içeren kalıp tanıma reseptörlerini (PRR'ler) uyarır. TLR'lerin uyarılması sonucu NF- κ B etkinleşir ve böylece önemli proinflamatuvar sitokinlerden olan pro-IL-1 β üretimi başlar (Fettelschoss ve ark., 2011; Lopez-Castejon ve Brough, 2011). Bu genellikle ilk basamak olarak adlandırılır ve yetersiz bir uyarıcı olarak kabul edilir. Pro-IL-1 β , 31 kDa ağırlığındadır ve etkin değildir. Pro-IL-1 β 'nın etkin hale gelebilmesi için başka bir PAMP ile uyarılması gerekir (Lopez-Castejon ve Brough, 2011). Etkin IL-1 β salgılanması, kaspaz-1 ve inflamazom gibi ilave uyarıcılara bağlıdır (Fettelschoss ve ark., 2011).

İnflamazom, kaspaz-1 ve IL-1 β oluşumunu etkinleştiren hücre içi çok proteinli komplekslerdir. Kaspaz-1 hücrelerde öncül olarak bulunan pro-IL-1 β 'ı proteolitik olarak etkin IL-1 β 'a dönüştürebilen "*IL-1 β dönüştürücü enzim*" (ICE) olarak tanımlanmıştır (Lopez-Castejon ve Brough 2011; Piccioli ve Rubartelli, 2013). Kaspaz-1 ile etkin hale gelen 17 kDa ağırlığında bir glikoprotein olan IL-1 β , yangısal yanıt olarak çeşitli hücrelerden salgılanmaya başlar (Kowluru ve Odenbach, 2004; Lopez-Castejon ve Brough, 2011) (Şekil 2.17).



Şekil 2.17. IL-1 β 'nin etkinleşmesi (Lopez-Castejon ve Brough, 2011).

2.3.2.3. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6 önceleri B-hücre farklılaşma faktörü olarak tanımlanmıştır. Ancak diğer bir çok sitokinde olduğu gibi IL-6'nın sadece bağışıklıkta rol oynayan bir faktör olmadığı, sinir sistemi de dahil olmak üzere çoğu fizyolojik sistemlerde görev yaptığı anlaşılmıştır (Erta ve ark., 2012). IL-6 bağışıklık sistemi üzerinde geniş etki yelpazesine sahip bir sitokindir ve hormon benzeri özelliklere sahip olduğu için homeostatik süreci etkileyebilir. Hem antiinflamatuvar hem de proinflamatuvar özelliklere sahip olduğu için klinik müdahalelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Naseem ve ark., 2016). Enfeksiyonlara ve doku yaralanmalarına yanıt olarak hızlı ve geçici olarak üretilen IL-6, akut faz yanıtları, hematopoez ve bağışıklık sisteminin uyarılması yoluyla konak savunmasına katkıda bulunur (Tanaka ve ark., 2014). IL-6 eksikliğinin viral, paraziter ve bakteriyel enfeksiyona karşı doğal ve edinilmiş bağışıklık sisteminin bozulmasına neden olduğu belirtilmiştir (Hunter ve Jones, 2015).

IL-6, B hücrelerinde yangının oluşması ve ilerlemesi sırasında etkinleşir ve pirojen gibi davranarak enfeksiyona bağlı olan ve olmayan hastalıklar ile oto-immün

hastalıklarda vücut ısısında artışa neden olabilir. IL-6, enfeksiyona bağlı gelişen bir durumda tüm vücuda bir uyarı sinyali gönderir. Bunun için öncelikle PAMP'ler enfekte olmuş dokuda, monositler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin PRR'leri tarafından tanınmaktadır. Retinoik aside uyarılabilir gen-1 benzeri reseptör, TLR, NLR ve DNA reseptörlerini içeren PRR'ler, NF-κB dahil olmak üzere çeşitli sinyal yollarını uyarır. Bu uyarı sonucu, TNF-α, IL-1β ve IL-6 gibi yangısal sitokinlerin mRNA transkripsiyonu artar. Ayrıca TNF-α ve IL-1β birlikte IL-6'yı üretmek için transkripsiyon faktörlerini etkinleştirir (Tanaka ve ark., 2014). Travmatik yaralanma ve yanma gibi enfeksiyona bağlı olmayan yangı durumlarında ise, hasar ile ilişkili moleküler modeller (DAMP) IL-6'yı üretmek için TLR'leri etkinleştirir. Dinlenme evresinde, IL-6 reseptörleri hepatik ve miyeloid hücreler ile etkin B hücreleri ve normal T-lenfositlerde bulunur. Konak savunmasında akut IL-6 ekspresyonu, farklı hücrelerin etkinleşmesinde rol oynar (Naseem ve ark., 2016). IL-1β ve TNF-α, IL-6 ekspresyonunun ana etkinleştiricileri iken, TLR'ler, PG'ler, adipokinler ve diğer sitokinler de IL-6'nın sentezini uyarabilir (Hunter ve Jones, 2015).

2.3.2.4. Nitrik Oksit Sentetaz (NOS)

Yangı ve endotoksemi ile uyarılan karaciğer hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olan nitrit oksit (NO) akut yangı ve sepsiste çok önemli bir faktördür (Olinga ve ark., 2001). NO, NOS tarafından sentezlenmektedir. NOS fizikokimyasal ve kinetik özelliklerine göre; yapısal nitrik oksit sentetaz (cNOS) ve uyarılan nitrik oksit sentetaz (iNOS) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Yapısal NOS özellikle damar endoteli, idrar yolu dokuları ile merkezi ve çevresel sinir sisteminde yoğunlaşmıştır (Palmer ve ark., 1988). Bu dokularda genellikle inaktif haldedir. Hücre içinde iyonize Ca^{+2} yoğunluğu arttığında Ca^{+2} kalmodulin ile birleşir, NOS enzimini etkinleştirerek L-arjininden NO sentezi gerçekleşir. Hücre içi iyonize Ca^{+2} yoğunluğu azalmaya başladığında ise enzim inaktif duruma geçer ve NO sentezi durur. Sentez süresinin çok kısa olması, sentezlenen NO miktarının da çok düşük olmasına neden olmaktadır. Kalmodulin, cNOS'un aksine iNOS'un bir alt birimi olarak ona sıkıca bağlanır. Bu durum, iNOS'un neden Ca^{+2} 'a bağımsız olduğunu açıklar (Moncada ve ark., 1991; Türköz ve Özerol, 1997).

iNOS hücre içi patojenlere ve tümör hücrelerine karşı konakçının savunmasında önemli olduğu düşünülmektedir (Jorens ve ark., 1995). Bu enzim hücre içinde bulunmayıp, özellikle makrofaj (monosit, nötrofil, hepatosit vb.) ve damar endotel hücrelerinde sentezlenmektedir. Bu hücrelerin spesifik sitokinlerle etkin hale gelmesi, NOS'un uyarılmasına ve NO'in sentezine neden olur. Özellikle bakteri LPS'leri ve IFN γ veya yüksek yoğunluklarda LPS ile uyarılan makrofajlar, çok miktarda NO üreterek sitotoksik etki meydana getirir (Türköz ve Özerol, 1997). Uzun süre aşırı miktarda NO sentezi toksik olabilir ve makrofaj ile normal dokularda hasara neden olabilir (Kimura ve ark., 1998; Türköz ve Özerol, 1997). Klinik olarak romatoid artrit, multiple skleroz, astım ve tip 1 diyabet gibi birçok kronik yangısal ve otoimmün hastalıkta iNOS protein ekspresyonu ve NO seviyesinde artış olduğu tespit edilmiştir (McAdam ve ark., 2012).

2.3.2.5. Siklooksijenaz-2 (COX-2)

Yaygın olarak COX olarak adlandırılan *PGH sentaz*, araşidonik asidin PG'lere dönüşümü için gerekli olan bir anahtar enzimdir (Turini ve DuBois, 2002). *PGH sentaz* (COX)'in yapısal formu (*PGH sentaz 1* ya da COX-1) ve uyarılan formu (*PGH sentaz 2* ya da COX-2) olmak üzere 2 formu vardır (Rishikesh ve Sadhana, 2003; Shibata, 2015; Straus ve Glass, 2001). Her iki enzim de hücrelerde zarda bulunur. Bu enzimler arasındaki en önemli fark, COX-1'in üretildiği hücrelerde daima sentezlenmesi yani yapısal olması nedeniyle sürekli var olması, COX-2'nin ise uyarılan bir enzim olmasıdır (Maier ve ark., 2015; Rishikesh ve Sadhana, 2003; Harris ve ark., 2002).

COX-2, çoğu doku ve hücre tipinde normalde mevcut değildir (Straus ve Glass, 2001). Ancak, COX-2'nin ekspresyonu büyüme faktörleri ve LPS de dahil olmak üzere pro-inflamatuar uyarıcılar ve etkin onkojenler tarafından güçlü bir şekilde uyarılır (Eliopoulos ve ark., 2002). COX-2'nin uyarılması deri ve kolon kanseri gibi bazı kanser tipleri ve yangı aracılı PG sentezindeki artıştan sorumludur (Straus ve Glass, 2001). Bu enzim inhibitörleri, PGE₂ sentezini engeller, böylece yangı önleyici ve ağrı kesici etki oluşturur. Bu durum COX-2'nin PG sentezi ve yangıda önemli rol oynadığı göstermektedir (Eliopoulos ve ark., 2002).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Kimyasal Maddeler

15 d-PGJ₂ (Cayman 1-800-364-9897),
COX-2 kiti (Rat PTGS2/COX-2 ELISA Kit E-EL-R0792),
Disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) (Merck 106580),
Dimetil sülfoksit (DMSO) (Tekkim 201790.01000),
Formaldehit (Merck 103999),
Hidrojen peroksit (H₂O₂) (Merck 107209).
IL-1 β kiti (Rat IL-1 β ELISA Kit E-EL-R0012),
IL-6 kiti (Rat IL-6 ELISA Kit E0135Ra)
iNOS kiti (Rat NOS2/iNOS ELISA Kit E-EL-R0520),
İsofluran (Adeka),
Lipopolisakkarit (*E.coli* O127: BB),
Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) (Merck 104873),
Sodyum klorür (NaCl) (Merck 106400),
TNF- α kit (Rat TNF- α ELISA Kit E-EL- R0019),
Yapıştırıcı (Entellan-Merck 107961).

3.1.2. Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

Analitik terazi (Shimadzu AY-220),
ELISA okuyucu (ELx800, Biotek),
Hassas terazi (BX 4200H),
Homojenizatör (IKA),
Işık Mikroskobu (Olympus CX21),
Kamera (Olympus DP26),
Magnetik karıştırıcı (IKA-RH Basic 2),
Mikrotom (Leica 2155 rotary),
Otoanalizör (GesamChem-200),
Ototeknikon (Leica ASP300S),

pH metre (Metrohm 704),
Soğutmalı santrifüj (Eppendorf-5810R),
Su banyosu (Memmert WNB 14),
Vorteks (Yellowline TTS2).

3.2. Yöntem

3.2.1. Etik

Araştırma, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 06/12/2017 tarihli toplantısında alınan 357 no'lu karar doğrultusunda gerçekleştirildi.

3.2.2. Hayvan Materyali

Araştırmada hayvan materyali olarak kullanılan sıçanlar Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulamalar gerçekleştirildi.

3.2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Protokolü

Bu araştırmada kontrol, LPS, 15d-PGJ₂ ve 15d-PGJ₂+LPS'nin birlikte verildiği olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Her bir grupta 18 adet olmak üzere toplam 72 adet (yaklaşık 200-300 g ağırlığında 10-12 haftalık) Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı (Tablo 3.1). Hayvanlar 12 saat ışık/karanlık siklusu ayarlanabilir odalarda % 60-80 nem ve 21-23 °C ısıda tutuldu. Deneme süresi boyunca hayvanlara % 24 ham protein, % 6,19 ham selüloz ve 3100 kcal/kg metabolik enerji içeren sıçan pelet yemi kullanıldı. Tüm hayvanlara *ad libitum* pelet yem ve su verildi.

Hayvanlara verilen 15d-PGJ₂'nin dozu Cuzzocrea ve ark. (2003), LPS'nin dozu ise Al-Amri ve ark. (2013) yaptıkları araştırmalardan yararlanılarak belirlendi. 15d-PGJ₂ % 0,1'lik DMSO içeren % 0,9'luk NaCl'de, LPS ise distile suda çözündürüldü ve maddeler hayvanlara periton içi (pi) olarak uygulandı.

Tablo 3.1. Araştırma gruplarına verilen maddeler ve verildiği günler (n:18).

Deney Grupları	Verilen maddeler - Verildiği günler
Kontrol	% 0,1'lik DMSO pi (2 ml/kg ca/gün)-4 gün (1-4.)
15d-PGJ ₂	40 µg/kg ca 15d-PGJ ₂ pi (% 0,1'lik DMSO'de)-3 gün (2-4.)
LPS	15 mg/kg/ca LPS pi (tek doz)-4.gün
15d-PGJ ₂ + LPS	40 µg/kg ca 15d-PGJ ₂ pi-3 gün (1-3.) + 15 mg/kg/ca LPS pi (tek doz)-4.gün

3.2.4. Örneklerin Toplanması

Çalışmanın 4. günü maddelerin verilmesini takiben 4., 8. ve 24. saatlerde her gruptan rastgele 6'ar adet sıçan % 2-3 oranında izofluran (inhalasyon) ile anesteziye alınarak kalpten kan alma işlemi gerçekleştirildi. Hayvanlar anestezi altındayken servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi. Karaciğer ve böbrek örnekleri alındı.

3.2.5. Kan Analizleri

Direkt olarak tüplere alınan kanlar 4000 rpm/dk hızda 10 dakika santrifüj edildi ve serum örnekleri ayrıldı. Serumda *aspartat aminotransferaz* (AST), *alanin aminotransferaz* (ALT), albümin ve kreatinin değerleri otoanalizör ile ölçüldü. Serum örnekleri analizler (iNOS, TNF α , IL-1 β , IL-6 ve COX-2) yapıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.5.1. Biyokimyasal ve Yangısal Analizler

Serum örneklerinde COX-2, iNOS, IL-1 β , IL-6, TNF α analizleri ticari kitler (sırasıyla Rat PTGS2/COX-2 ELISA Kit E-EL-R0792, Rat NOS2/iNOS ELISA Kit E-EL-R0520, Rat IL-1 β ELISA Kit E-EL-R0012, Rat TNF- α ELISA Kit E-EL-R0019) kullanılarak yapıldı. Analizler kitlerde belirtilen prosedüre göre gerçekleştirildi. Bu amaçla standart solüsyonlardan ve serum örneklerinden kuyucuklara 100 µl konuldu ve mikrolept 37 °C'de 90 dakika bekletildi. Sonra kuyucuklar boşaltıldı ve her bir kuyucuğa 100 µl biotinlenmiş antikor çözeltisi ilave

edildi. Mikropleyt 37 °C’de 1 saat bekletildi. Kuyucuklar yıkama çözeltisi ile 3 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat çözeltisi ilave edildi ve 37 °C’de 30 dakika bekletildi. Kuyucuklar tekrar boşaltılarak 5 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı. Ardından her bir kuyucuğa 90 µl substrat çözeltisi eklendi ve 37 °C’de 15 dakika bekletildi. Daha sonra kuyucuklara 50 µl stop çözeltisi konuldu ve 450 nm’de okundu.

Serum örneklerinde, IL-6 analizi ticari kiti (Rat Interleukin 6 ELISA Kit E0135Ra) kullanılarak yapıldı. Analizler kitlerde belirtilen prosedüre göre gerçekleştirildi. Bunun için kuyucuklara 50 µl standart solüsyonlar ve 40 µl serum örnekleri + 10 µl IL-6 antikoru koyuldu. Tüm kuyucuklara 50 µl konjugat çözeltisi ilave edildi. Mikropleyt 37 °C’de 60 dakika bekletildi. Kuyucuklar boşaltılarak 5 kez yıkama çözeltisi ile yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl A Substrat ve 50 µl B Substrat çözeltisi ilave edildi. Mikropleyt 37 °C’de 10 dakika bekletildi. Daha sonra kuyucuklara 50 µl Stop çözeltisi konuldu ve 450 nm’de okundu.

Her bir parametre için aşağıda belirtilen standart derişimleri (Tablo 3.2) ve bu standartlar için ölçülen absorbans değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizildi ve sonuçlar hesaplandı.

Tablo 3.2. ELISA kitlerinin standart çözelti derişimleri ve kitlerin hassasiyeti.

Kit	Standart Çözelti Derişimleri	Kit Hassasiyeti
COX-2	4000; 2000; 1000; 500; 250; 125; 0 (pg/mL)	75,00 (pg/mL)
iNOS	10; 5; 2,5; 1,25; 0,63; 0,31; 0 (ng/mL)	0,19 (ng/mL)
IL-1β	1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 0 (pg/mL)	18,75 (pg/mL)
IL-6	24; 12; 6; 3; 1,5; 0 (ng/L)	0,052 (ng/L)
TNF-α	2500; 1250; 625; 312,5; 156,25; 78,13; 0 (pg/mL)	46,88 (pg/mL)

3252 Histopatolojik İnceleme

Mikroskopik inceleme için sıçanlardan alınan karaciğer ve böbrek örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Trimlenen doku parçaları takip kasetlerine alındı. Gece boyu takip cihazında düşük oranlı alkollerden yüksek oranlı alkollere geçirilerek suları alınan dokular, daha sonra iki adet ksilolden geçirilerek yağı alındı. Sıcak parafinden geçirilerek doku boşluklarına parafin dolması sağlandı. Rutin patolojik takipte Leica ASP300S model ototeknikon kullanıldı. Ertesi gün sabah dokular parafine gömülerek blokaj işlemi yapıldı. Bloklardan 4-5 saat soğutulmanın ardından Leica 2155 rotary mikrotomda, 5 mikron kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler normal lamlara ve polilizinli lamlara alındı. Bir gece oda ısısında kurutulan kesitler ertesi gün boyamaya alındı. Normal lamlara alınan doku kesitleri 30'ar dakika süreyle 3 ayrı ksilol serisinden geçirilerek parafin tabakası uzaklaştırıldı. Daha sonra sırasıyla % 100, 96, 90, 80 ve 70'lik olmak üzere alkol serisinden geçirilerek dokulara su verildi. Ardından dokular hematoksilinle (15 dakika) ve eozinle (3 dakika) boyandı (Demir ve ark., 2001). Boyama işleminin ardından sırasıyla % 70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkollerden geçirilerek dokuların suyu alındı. Parlatmak için ksilolden geçirilen dokuların üzerine entellan damlatılarak lamel yapıştırıldı. Olympus CX21 model ışık mikroskopunda incelenen preparatlar Olympus DP26 model kamera ile mikroskopik dijital fotoğraflar çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı.

3.3. İstatistiksel Hesaplamalar

Sonuçlar aritmetik ortalama \pm standart hata (SE) ile ifade edildi. Elde edilen verilerin öncelikli olarak Kolmogorov-Smirnov testi ile parametrik-nonparametrik olup olmadıkları analiz edildi. İstatistiksel yöntem olarak One-Way ANOVA uygulandı. Gruplar ve ölçüm yapılan saatler arasındaki farklılıklar Duncan testi ile belirlendi ve $p < 0,05$ altındaki değerler anlamlı kabul edildi (Özdamar, 2003)

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Parametreler

LPS verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum AST, ALT ve kreatinin değerlerinde önemli düzeyde ($p<0,05$) artış, albümin değerinde ise önemli düzeyde düşüş tespit edildi. 15d-PGJ₂+LPS'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS tek başına verildiğinde artan AST, ALT ve kreatinin değerlerinde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir düşüş, albümin değerinde ise önemli bir artış olduğu belirlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Araştırma gruplarının 24. saatte serum AST, ALT, albümin ve kreatinin seviyeleri (n:6).

Parametreler	Gruplar			
	Kontrol	LPS	15d-PGJ ₂	LPS+15d-PGJ ₂
AST	173,83±1,71 ^a	333,77±25,91 ^c	148,02±4,23 ^a	237,93±11,27 ^b
ALT	80,00±5,24 ^a	222,17±16,34 ^c	82,50±3,67 ^a	137,00±5,16 ^b
Albümin	4,12±0,01 ^b	3,92±0,05 ^a	4,65±0,06 ^d	4,31±0,04 ^c
Kreatinin	0,69±0,01 ^a	1,23±0,02 ^c	0,68±0,02 ^a	0,96±0,01 ^b

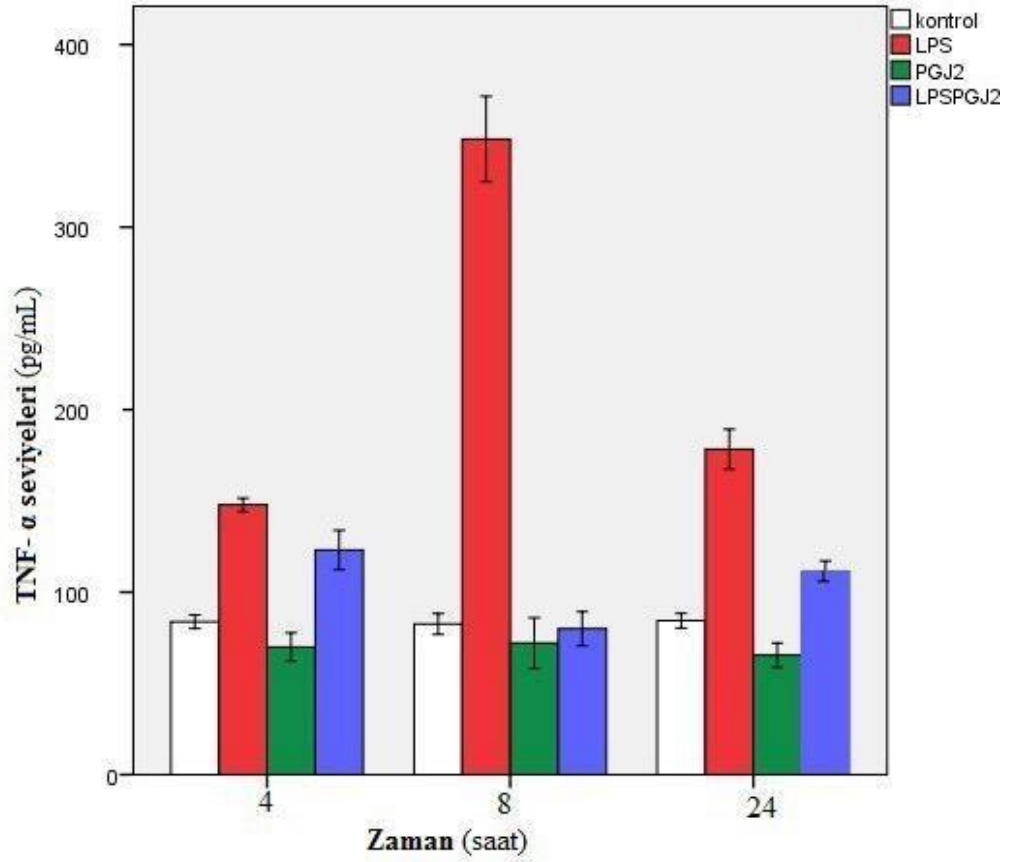
Değerler aritmetik ortalama ± standart hatayı ifade eder.

a, b, c, d Aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

ALT: U/L, AST: U/L, Albümin: g/dl, Kreatinin: mg/dl.

4.2. Yangısal Parametreler

Serumda TNF- α LPS verilen grupta 4. saatte artmaya başladığı, 8. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı ve 24. saatte daha düşük (8. saate göre) değerlerde olduğu belirlendi. LPS verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serumda ölçüm yapılan saatlerde TNF- α değerinde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir artış; LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS'nin tek başına verildiğinde artan TNF- α değerinde ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir düşüş olduğu belirlendi. 15d-PGJ₂'nin tek başına verildiği grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TNF- α değerinde 4. ve 24. saatlerde önemli ($p<0,05$), 8. saatte ise bu farkın önemli olmadığı ($p>0,05$) görüldü (Şekil 4.1) (Tablo 4.2).



Şekil 4.1. Araştırma gruplarının serumda ölçülen TNF- α seviyeleri.

Tablo 4.2. Araştırma gruplarının zamana bağlı serum TNF- α seviyeleri (pg/ml).

Gruplar	Zaman		
	4. saat	8. saat	24. saat
Kontrol	83,81±1,47 ^{Ab}	82,58±2,24 ^{Aa}	84,45±1,57 ^{Ab}
LPS	147,81±1,45 ^{Ad}	348,29±9,12 ^{Cb}	178,34±4,26 ^{Bd}
15d-PGJ ₂	70,00±3,04 ^{Aa}	72,09±5,41 ^{Aa}	65,51±2,56 ^{Aa}
LPS+15d-PGJ ₂	123,12±4,21 ^{Cc}	79,95±3,64 ^{Aa}	111,48±2,19 ^{Bc}

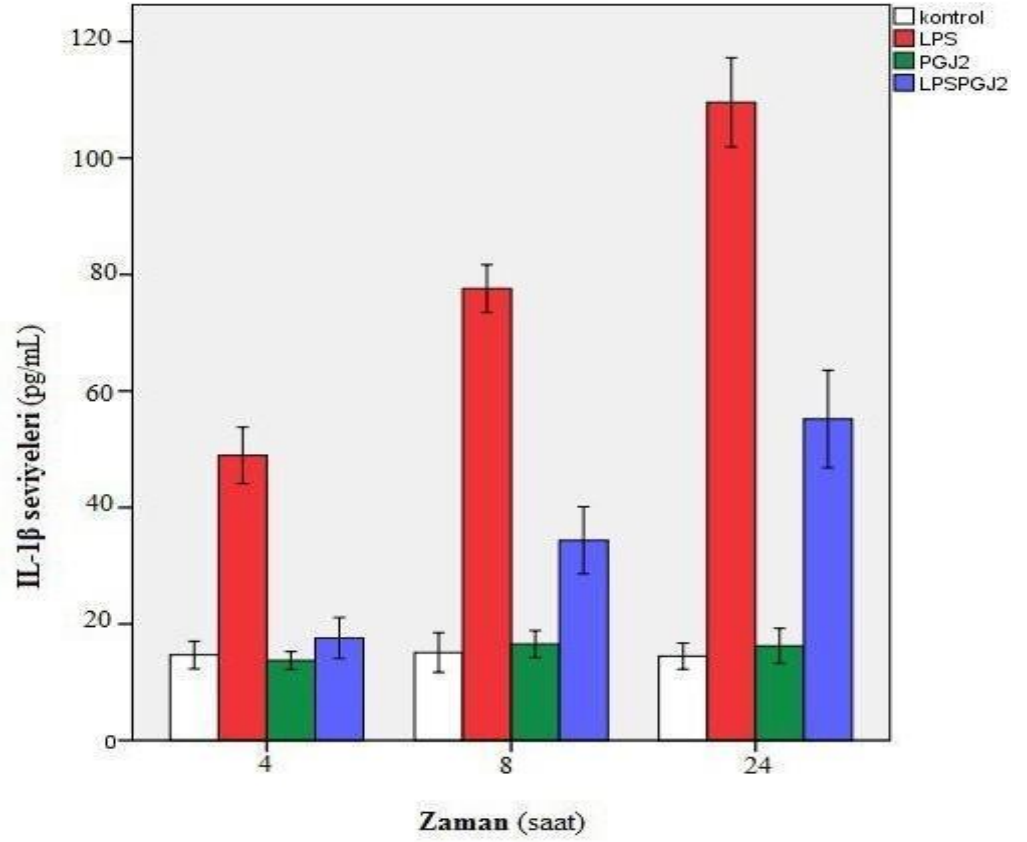
Değerler aritmetik ortalama \pm standart hatayı ifade eder.

A, B, C Aynı satırda farklı işaretleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

a, b, c, d Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Serumda IL-1 β 'nin LPS verilen grupta 4. saatte artmaya başladığı, 8. saatte artmaya devam ettiği ve 24. saatte ise en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edildi. LPS

verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serumda ölçüm yapılan saatlerde IL-1 β değerinde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir artış; LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS'nin tek başına verildiğinde artan IL-1 β değerlerinde ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir düşüş olduğu belirlendi. 15d-PGJ₂'nin tek başına verildiği grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IL-1 β düzeyinde herhangi bir farklılık olmadığı ($p>0,005$) görüldü (Şekil 4.2) (Tablo 4.3).



Şekil 4.2. Araştırma gruplarının serumda ölçülen IL-1 β seviyeleri.

Tablo 4.3. Araştırma gruplarının zamana bağlı göre serum IL-1 β seviyeleri (pg/mL).

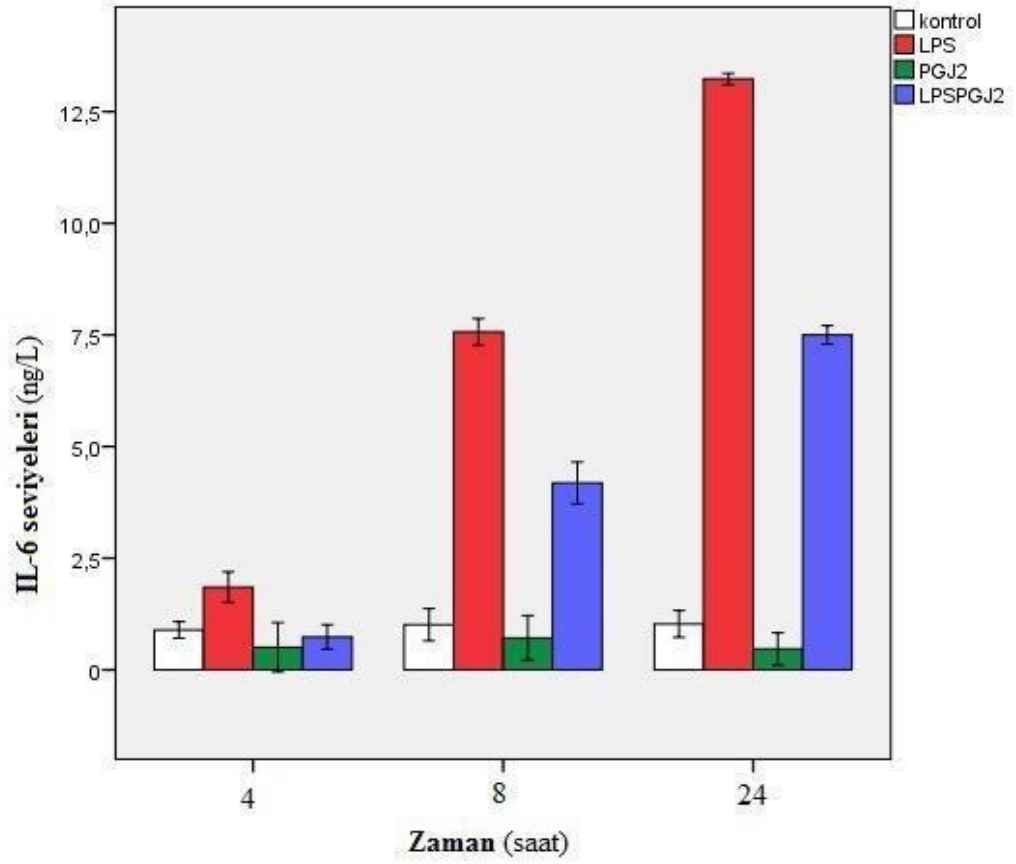
Gruplar	Zaman		
	4. saat	8. saat	24. saat
Kontrol	14,67 \pm 0,92 ^{Aa}	15,08 \pm 1,32 ^{Aa}	14,46 \pm 0,88 ^{Aa}
LPS	48,94 \pm 1,89 ^{Ab}	77,58 \pm 1,59 ^{Bc}	109,56 \pm 2,98 ^{Cc}
15d-PGJ ₂	13,73 \pm 0,60 ^{Aa}	16,54 \pm 0,90 ^{Aa}	16,23 \pm 1,17 ^{Aa}
LPS+15d-PGJ ₂	17,58 \pm 1,36 ^{Aa}	34,35 \pm 2,24 ^{Bb}	55,19 \pm 3,26 ^{Cb}

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hatayı ifade eder.

A, B, C Aynı satırda farklı işaretleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

a, b, c Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Serumda IL-6'nın LPS verilen grupta 4. saatte tespit edildiği, 8. saatte arttığı ve 24. saatte ise en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edildi. LPS verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serumda ölçüm yapılan saatlerde IL-6 değerinde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir artış; LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS'nin tek başına verildiğinde artan IL-6 değerinde ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir düşüş olduğu belirlendi. 15d-PGJ₂'nin tek başına verildiği grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IL-6 değerinde sadece 24. saatte önemli düzeyde ($p<0,05$) bir farklılık olduğu görüldü (Şekil 4.3) (Tablo 4.4).



Şekil 4.3. Araştırma gruplarının serumda ölçülen IL-6 seviyeleri.

Tablo 4.4. Araştırma gruplarının zamana bağlı serum IL-6 seviyeleri (ng/L).

Gruplar	Zaman		
	4. saat	8. saat	24. saat
Kontrol	0,89±0,07 ^{Aa}	1,01±0,14 ^{Aa}	1,03±0,12 ^{Ab}
LPS	1,85±0,13 ^{Ab}	7,57±0,12 ^{Bc}	13,23±0,05 ^{Cd}
15d-PGJ ₂	0,50±0,22 ^{Aa}	0,72±0,19 ^{Aa}	0,47±0,14 ^{Aa}
LPS+15d-PGJ ₂	0,74±0,11 ^{Aa}	4,19±0,18 ^{Bb}	7,50±0,08 ^{Cc}

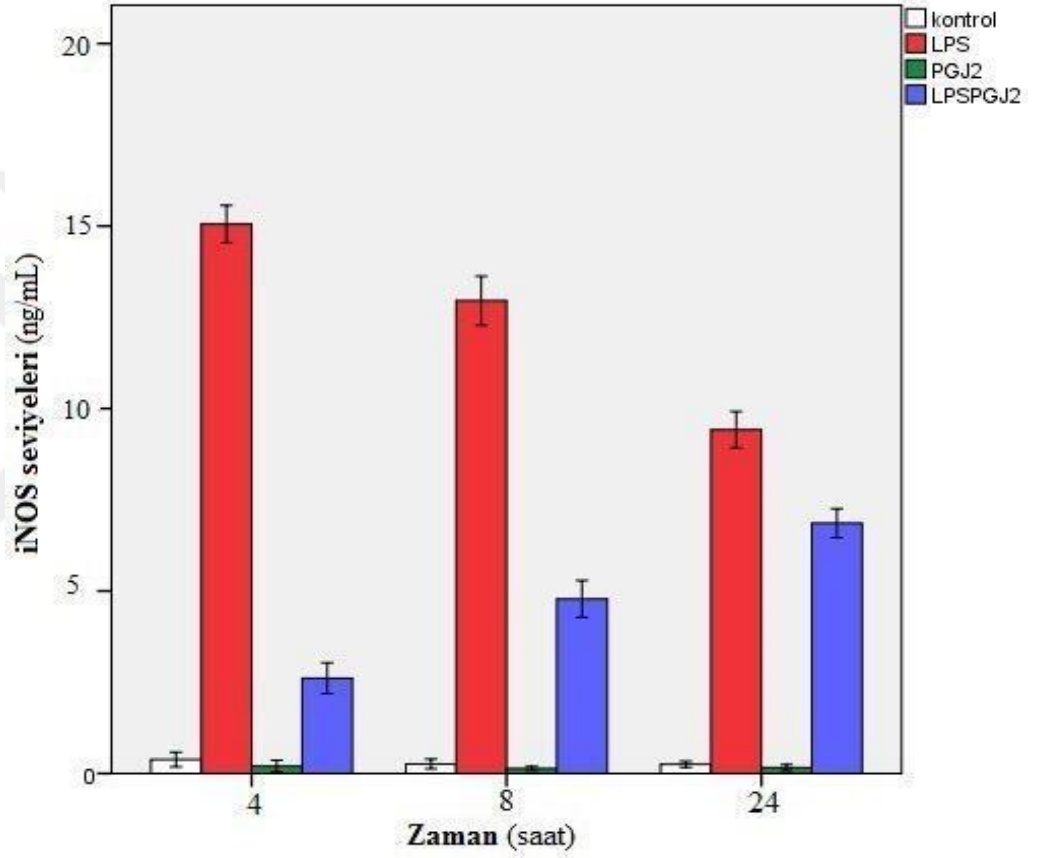
Değerler aritmetik ortalama ± standart hatayı ifade eder.

A, B, C Aynı satırda farklı işaretleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

a, b, c, d Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Serumda iNOS'un LPS verilen grupta 4. saatte en yüksek seviyede olduğu, 8. saatte azaldığı ve 24. saatte en düşük seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. LPS verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kanda ölçüm yapılan saatlerde iNOS

etkinliğinde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir artış; LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS'nin tek başına verildiğinde artan iNOS etkinliğinde ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde ($p<0,05$) bir düşüş olduğu belirlendi. 15d-PGJ₂'nin tek başına verildiği grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iNOS etkinliğinde bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) görüldü (Şekil 4.4) (Tablo 4.5).



Şekil 4.4. Araştırma gruplarının serumda ölçülen iNOS seviyeleri.

Tablo 4.5. Araştırma gruplarının zamana bağlı serum iNOS seviyeleri (ng/mL).

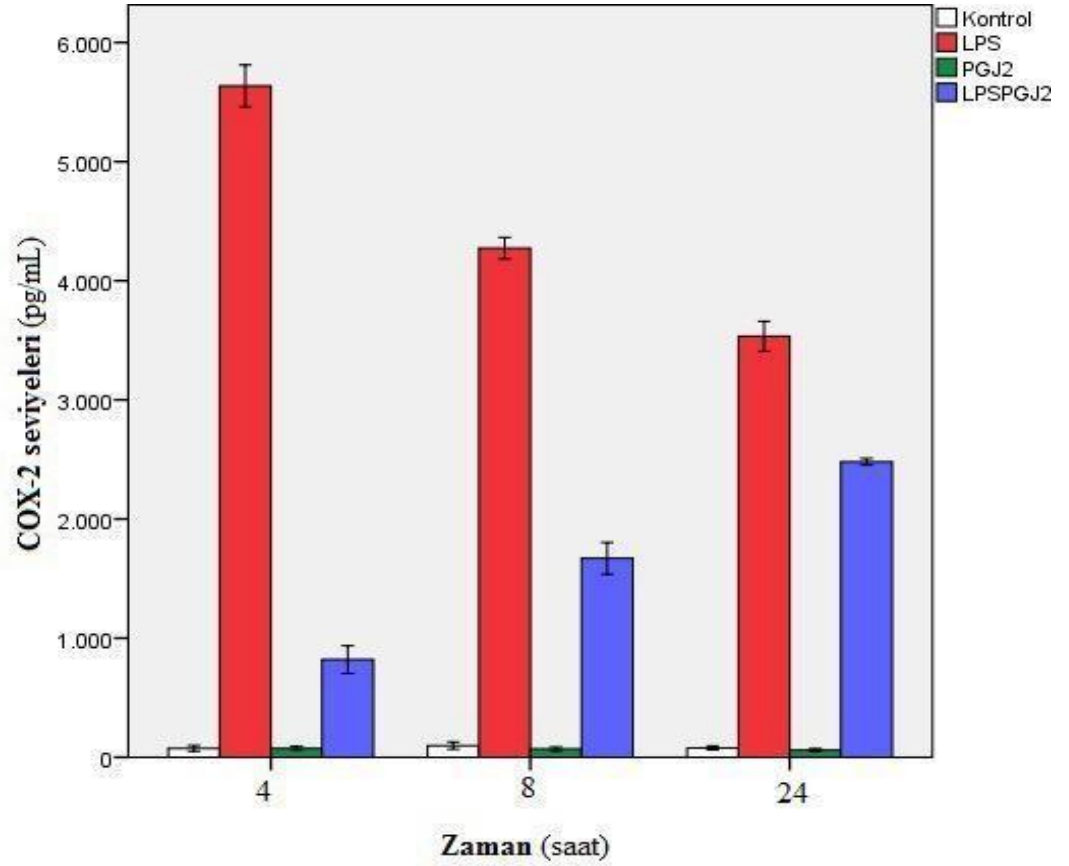
Gruplar	Zaman		
	4. saat	8. saat	24. saat
Kontrol	0,38±0,08 ^{Aa}	0,26±0,05 ^{Aa}	0,26±0,03 ^{Aa}
LPS	15,06±0,20 ^{Cc}	12,95±0,26 ^{Bc}	9,42±0,19 ^{Ac}
15d-PGJ ₂	0,20±0,06 ^{Aa}	0,14±0,02 ^{Aa}	0,16±0,03 ^{Aa}
LPS+15d-PGJ ₂	2,61±0,16 ^{Ab}	4,78±0,20 ^{Bb}	6,86±0,15 ^{Cb}

Değerler aritmetik ortalama ± standart hatayı ifade eder.

A, B, C Aynı satırda farklı işaretleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

a, b, c Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Serumda COX-2'nin LPS verilen grupta 4. saatte en yüksek seviyede olduğu, 8. saatte azaldığı ve 24. saatte en düşük seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. LPS verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serumda ölçüm yapılan saatlerde COX-2 etkinliğinde önemli ($p<0,05$) düzeyde bir artış; LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS'nin tek başına verildiğinde artan COX-2 etkinliğinde ölçüm yapılan saatlerde önemli ($p<0,05$) düzeyde bir düşüş olduğu belirlendi. 15d-PGJ₂'nin tek başına verildiği grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında COX-2 düzeyinde bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) görüldü (Şekil 4.5) (Tablo 4.6).



Şekil 4.5. Araştırma gruplarının serumda ölçülen COX-2 seviyeleri.

Tablo 4.6. Araştırma gruplarının zamana bağlı serum COX-2 seviyeleri (pg/mL).

Gruplar	Zaman		
	4. saat	8. saat	24. saat
Kontrol	74,58±9,25 ^{Aa}	97,92±11,73 ^{Aa}	78,33±6,67 ^{Aa}
LPS	5635,83±68,41 ^{Cc}	4273,75±34,67 ^{Bc}	3534,17±48,59 ^{Ac}
15d-PGJ ₂	74,58±6,75 ^{Aa}	69,58±6,37 ^{Aa}	59,17±5,27 ^{Aa}
LPS+15d-PGJ ₂	819,58±4,05 ^{Ab}	1670,00±52,12 ^{Bb}	2479,58±11,04 ^{Cb}

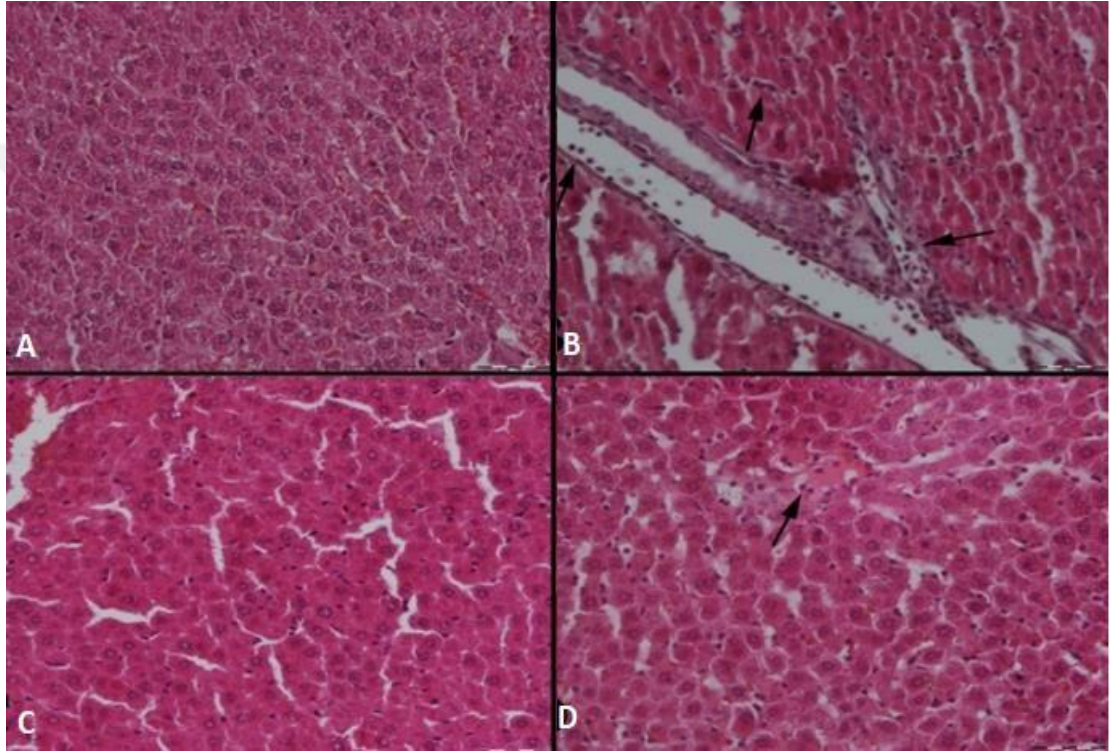
Değerler aritmetik ortalama ± standart hatayı ifade eder.

A, B, C Aynı satırda farklı işaretleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

a, b, c Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

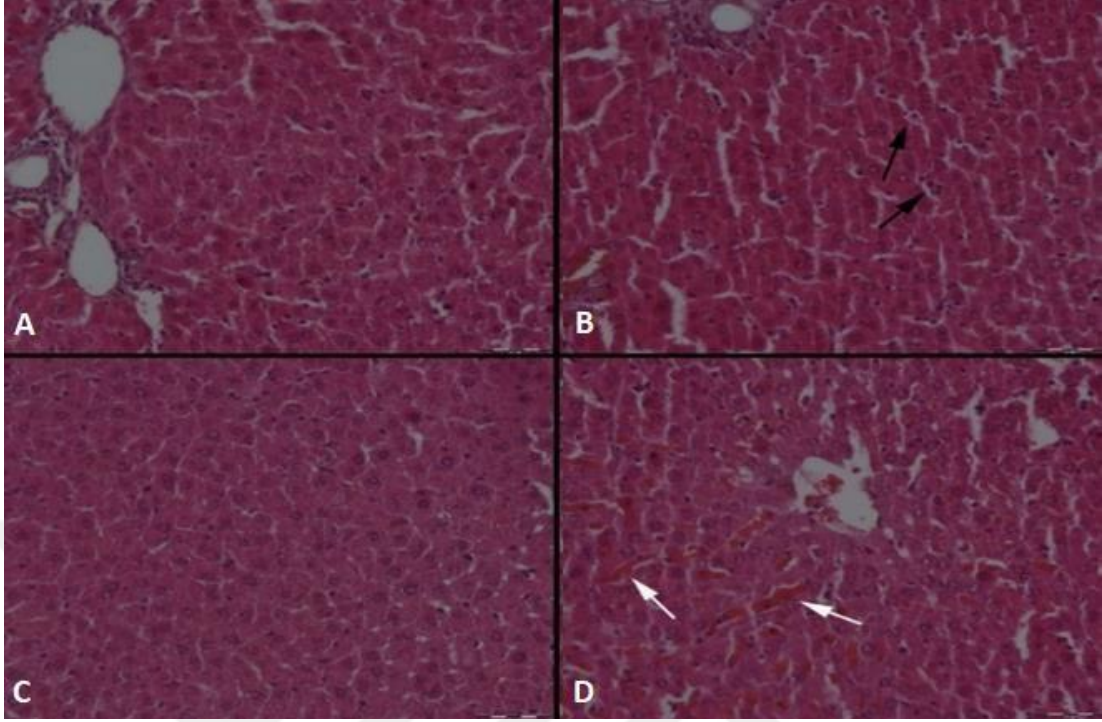
4.3. Histopatolojik Bulgular

Karaciğerlerin histopatolojik incelemesinde 4. saatte kontrol ve 15d-PGJ₂ gruplarında normal histolojik yapı gözlenirken, LPS grubunda karaciğer damarlarında şiddetli hiperemi dikkat çekti. Ayrıca çoğu damarda nötrofil marginasyonu görüldü. 15d-PGJ₂+LPS grubunda ise yangısal reaksiyonlarda belirgin bir azalma gözlendi (Şekil 4.6).



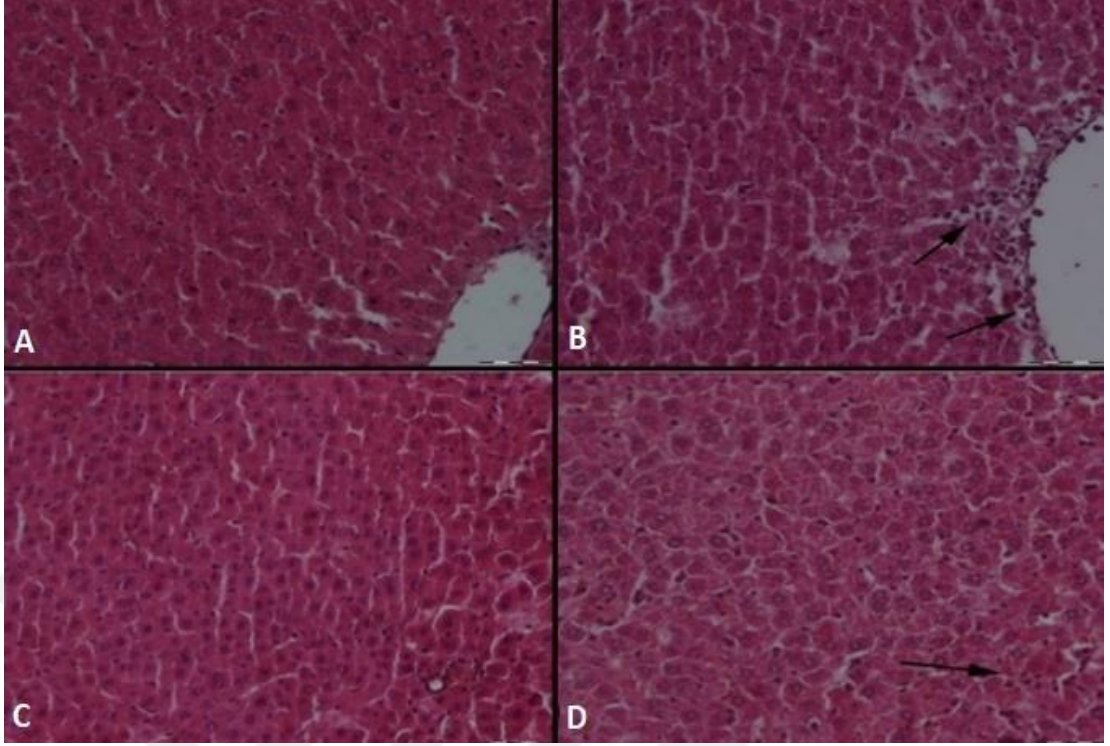
Şekil 4.6. Karaciğer histopatolojisi 4. saat, (A) Kontrol grubunda normal karaciğer görünümü, (B) LPS grubundaki bir karaciğerde damarlarda nötrofil marginasyonu ve infiltrasyonları (oklar), (C) 15d-PGJ₂ grubunda normal karaciğer görünümü, (D) 15d-PGJ₂+LPS grubunda azalmış nötrofil infiltrasyonları (ok), HE, Barlar=50µm.

Karaciğerlerin 8. saatteki histopatolojik incelemesinde kontrol ve 15d-PGJ₂ grubunda patolojik bulgu gözlenmezken, LPS grubundaki karaciğerlerdeki özellikle sinüzoidlerde belirgin olmak üzere nötrofil infiltrasyonları dikkat çekti. 15d-PGJ₂+LPS grubunda ise infiltrasyonların belirgin şekilde azaldığı ve belirgin bir hipereminin bulunduğu gözlendi (Şekil 4.7).



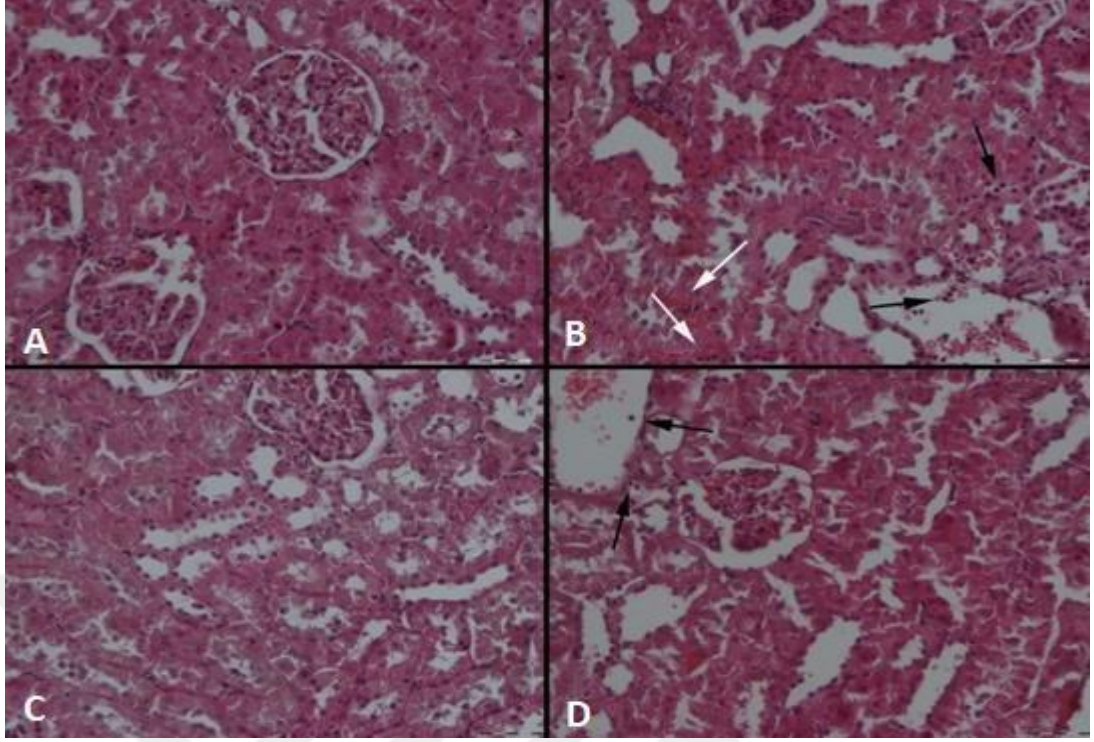
Şekil 4.7. Karaciğer histopatolojisi 8. saat, (A) Kontrol grubundaki normal karaciğer görünümü, (B) LPS grubunda karaciğerde belirgin nötrofil infiltrasyonları (oklar), (C) 15d-PGJ₂ grubunda normal karaciğer görünümü, (D) 15d-PGJ₂+LPS grubunda azalmış nötrofil infiltrasyonları ve sinüzoidlerde hiperemi (oklar), HE, Barlar=50µm.

Karaciğerlerin 24. saatteki histopatolojik incelemesinde kontrol ve 15d-PGJ₂ grubunda normal histoloji gözlenirken, LPS grubunda özellikle *vena sentralis*ler çevresinde belirgin nötrofil infiltrasyonları dikkat çekti. 15d-PGJ₂+LPS grubunda ise çok az sayıda nötrofile rastlandığı ve yangısal reaksiyonun önemli ölçüde azaldığı saptandı (Şekil 4.8).



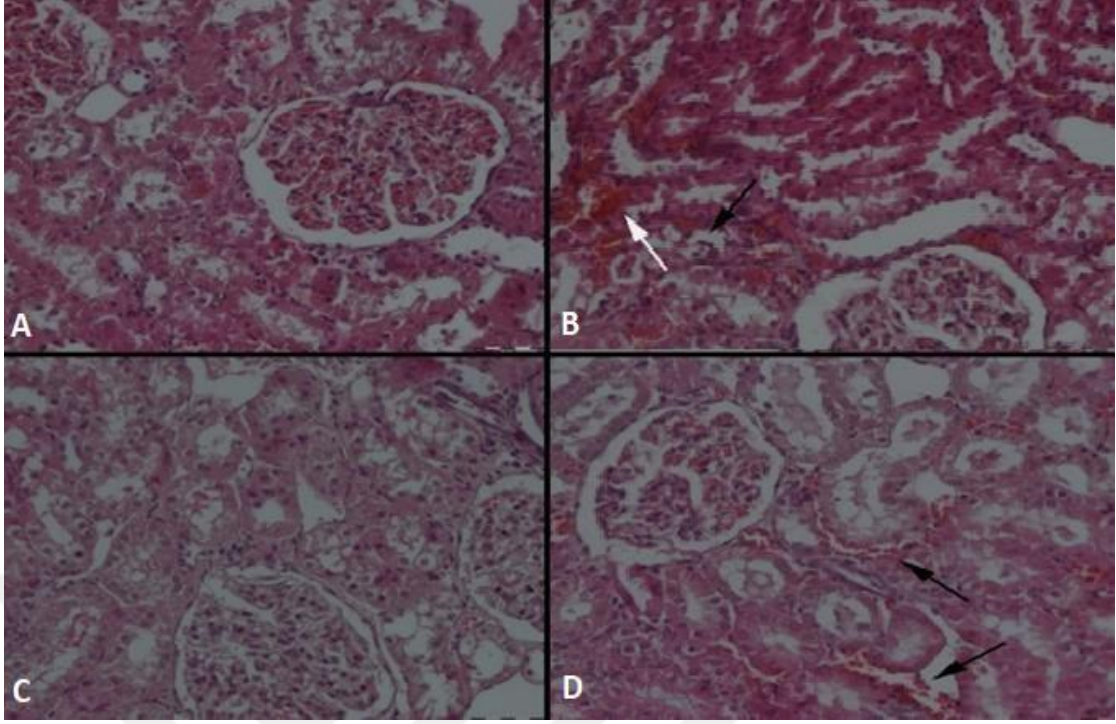
Şekil 4.8. Karaciğer histopatolojisi 24. saat, (A) Kontrol grubunda normal karaciğer görünümü, (B) LPS grubunda karaciğerde belirgin nötrofil infiltrasyonları (oklar), (C) 15d-PGJ₂ grubunda normal karaciğer görünümü, (D) 15d-PGJ₂+LPS grubunda azalmış nötrofil infiltrasyonları (ok), HE, Barlar=50µm.

Böbreklerin histopatolojik incelemesinde 4. saatte kontrol ve 15d-PGJ₂ grubunda normal mikroskopik görünüm saptanırken, LPS grubundaki ratların böbreklerinde nötrofil lökosit infiltrasyonları dikkati çekti. 15d-PGJ₂+LPS grubunda ise yangısal reaksiyonda belirgin bir azalma gözlenirken çok az sayıda nötrofil lökosit infiltrasyonları ve damarlarda hiperemi görüldü (Şekil 4.9).



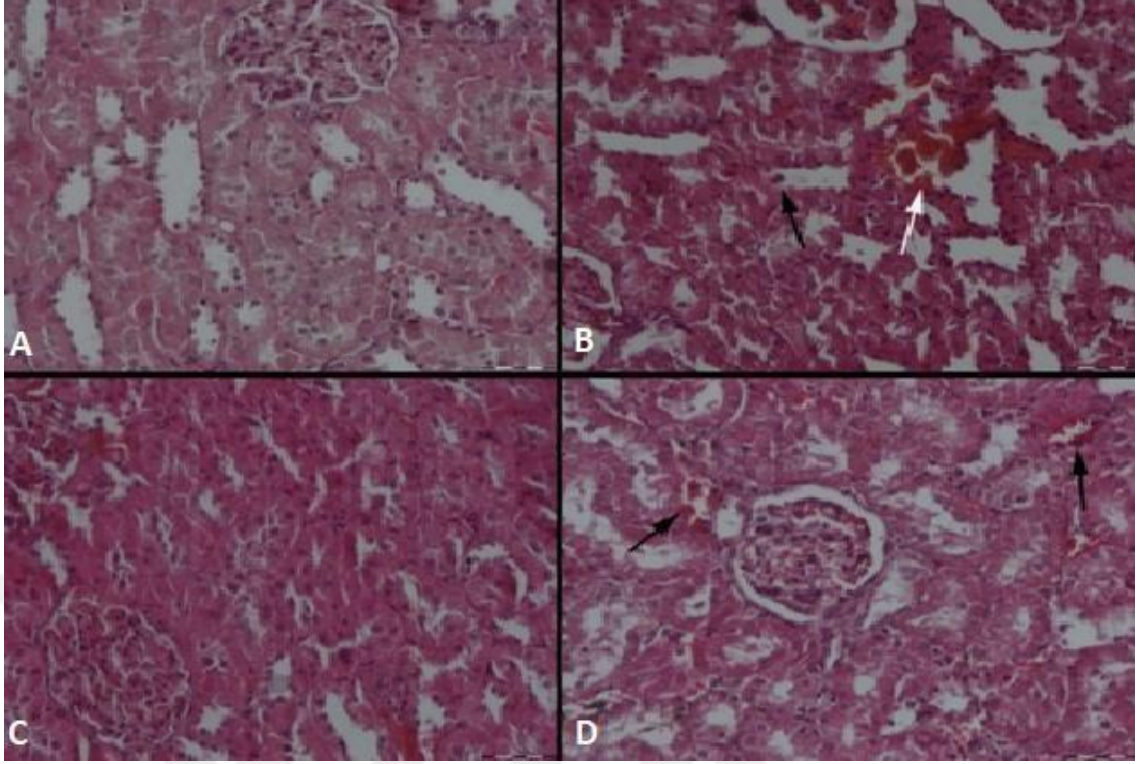
Şekil 4.9. Böbrek histopatolojisi 4.saat, (A) Kontrol grubunda normal böbrek görünümü, (B) LPS grubunda böbreklerde şiddetli hiperemi (beyaz oklar) ve damarlarda nötrofil marginasyonu ve parankimde nötrofil infiltrasyonları (siyah oklar), (C) 15d-PGJ₂ grubunda normal böbrek görünümü, (D) 15d-PGJ₂+LPS grubunda azalmış nötrofilik reaksiyon (oklar), HE, Barlar=50µm

Çalışmada 8. saatte böbreklerin mikroskopik incelemesinde kontrol ve 15d-PGJ₂ grubunda patolojik bulgu saptanmazken, LPS grubunda böbreklerde nötrofil infiltrasyonları ve yer yer kanama odakları dikkati çekti. 15d-PGJ₂+LPS grubunda ise yangısal reaksiyonda belirgin bir azalma gözlenirken, damarlarda hiperemi dışında önemli bir bulgu saptanmadı (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Böbrek histopatolojisi 8. saat, (A) Kontrol grubundaki normal böbrek görünümü, (B) LPS grubunda böbreklerde kanama (beyaz ok) ve hafif nötrofil infiltrasyonları (siyah ok), (C) 15d-PGJ₂ grubunda normal böbrek görünümü, (D) 15d-PGJ₂+LPS grubunda hafif hiperemi (oklar), HE, Barlar=50µm.

Çalışmada 24. saatte böbreklerin histopatolojik incelemesinde kontrol ve 15d-PGJ₂ grubunda patoloji bulgu gözlenmezken, LPS grubundaki ratların böbreklerinde nötrofil infiltrasyonları ve küçük kanama odakları dikkati çekti. 15d-PGJ₂+LPS grubunda ise yangısal reaksiyonda belirgin bir azalma gözlendi, damarlarda hiperemi dışında önemli bir bulgu saptanmadı (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Böbrek histopatolojisi 24 saat, (A) Kontrol grubundaki normal böbrek görünümü, (B) LPS grubunda böbreklerde kanama (beyaz oklar) ve hafif nötrofil infiltrasyonları (siyah ok), (C) 15d-PGJ₂ grubunda normal böbrek görünümü, (D) 15d-PGJ₂+LPS grubunda hafif hiperemi (oklar), HE, Barlar=50µm

5. TARTIŞMA

Sitokinler, çeşitli uyaranlara cevap olarak hücreler tarafından üretilen düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir (Feldman, 2008). Hücre-hücre etkileşimlerine aracılık eden sitokinler, vücudun fizyolojik faaliyetlerinin devam ettirilmesi yanında, esas olarak patojenlere ve çeşitli doku hasarlarına karşı savunma reaksiyonlarının oluşumunda ve düzenlenmesinde de rol oynamaktadır (Abramova ve ark., 2013). Yangıyı teşvik eden sitokinler, "proinflamatuvar sitokinler" olarak adlandırılır (Kumolosasi ve ark., 2014). Akut yangıda rol oynayan ana yangı hücreleri nötrofiller ve makrofajlardır. Bu yangı hücreleri, *in vivo* yangı aracılarının temel kaynağıdır. LPS kaynaklı yangıda nötrofiller, makrofajlar ile lenfositler etkileşirler ve yangı alanında toplanırlar. Ayrıca TNF- α , IL-1 β , IL-18, IL-6 ve IL-17'yi içeren proinflamatuvar sitokinler, yangı sırasında oluşan ana faktörlerdir ve bunların etkinleşmesi çeşitli hastalıkların ve hasarların oluşmasında rol oynar (Dong ve Yuan, 2018).

NF- κ B transkripsiyon faktörünün etkinliği LPS, reaktif oksijen türleri, TNF- α , IL-1 β , viral enfeksiyonlar, UV ışınları, forbol esterleri ve NO dahil olmak üzere çeşitli ajanlar tarafından uyarılır (Muller ve ark., 1993). NF- κ B'nin etkinliğini engelleyen yangı önleyici ve antioksidan etkinliği olan çok sayıda madde bulunmaktadır (Haenen ve ark., 1997; Kanno ve ark., 2003, 2004; Ng ve ark., 2000; Pahan ve ark., 1998; Ziegler-Heitbrock ve ark., 1993). Son yıllarda özellikle doku hasarlarına karşı yangı önleyici ve hücre koruyucu etkinlikleri başta olmak üzere çeşitli biyolojik etkinlikleriyle dikkat çeken maddelerden biri de 15d-PGJ₂'dir. LPS ile uyarılan yangıda 15d-PGJ₂'nin IL-1 β , iNOS, TNF- α ve COX-2 gibi proinflamatuvar sitokinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Engdahl ve ark., 2007; Fahmi ve ark., 2002; Mouihate ve ark., 2004; Thieringer ve ark., 2000).

5.1. Biyokimyasal Parametreler

Biyokimyasal parametrelerle ilgili değerlerde görülen değişimler, genellikle organ yetmezliği veya hasarlarında oluşmaktadır. Serum ALT ve AST enzim seviyelerindeki artışlar, karaciğer hasarının hassas göstergeleridir. Serum AST ve ALT

seviyelerindeki değişiklikler karaciğer hasarını, kreatinin ve üre seviyelerindeki değişiklikler ise böbrek hasarını düşündürmektedir (Yazar ve ark., 2004). Albümin de karaciğer fonksiyonunun bir göstergesidir ve karaciğerde sentezlenir. Albümin miktarı travma, enfeksiyon ve yetersiz beslenme ile azalmaktadır (Aw, 2010). Yazar ve ark. (2004) tavşanlarda pentoksifilin biyokimyasal parametrelere etkisini inceledikleri çalışmada, 400 µg/kg damar içi uygulanan LPS'nin, AST ve ALT seviyelerinde yaklaşık 2,5 kat, kreatinin seviyesinde yaklaşık 1,5 kat artışa yol açtığı, albümin miktarında ise önemli bir düzeyde düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Coşkun ve ark.(2000) deneysel olarak LPS (*E. coli* 0:157:H7 kaynaklı 0,5 ml pi) ile endotoksemi oluşturulan sıçanlarda LPS'nin ALT ve AST seviyelerinde yaklaşık 2 kat bir artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Koohi ve ark. (2017) sıçan izole karaciğerlerine 300 µg/kg LPS uygulamasının ALT ve AST seviyelerinde artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. El-Kamouni ve ark. (2017) farelerde 5 mg/kg pi LPS ile indüklenen karaciğer hasarına karşı zeytinyağı ve argan yağının etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmada, LPS verilen grupta kontrol grubuna göre dolaşımdaki transaminazlarda (AST ve ALT) artışların olduğunu belirtmişlerdir. Wu ve ark. (2018) farelerde selastrolün LPS kaynaklı sepsis ve organ yaralanmaları üzerindeki terapötik etkilerini araştırmak amacıyla farelere 10 mg/kg pi LPS uygulamışlar ve serum ALT, AST ve kreatinin değerlerinde önemli düzeyde bir artış olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda, diğer araştırmacıların çalışmalarıyla (Coşkun ve ark. 2000; El-Kamouni ve ark., 2017; Koohi ve ark., 2017; Yazar ve ark., 2004; Wu ve ark. 2018) benzer şekilde LPS verilen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum AST ve ALT değerlerinde önemli düzeyde bir artış ($p<0,05$) olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada LPS verilmesini takiben kontrole göre kreatinin değerlerinde Yazar ve ark. (2004) ile Wu ve ark. (2018)'nin yaptıkları çalışmalara benzer şekilde önemli düzeyde bir artış ($p<0,05$); albümin değerinde ise Wu ve ark. (2018)'nin yaptıkları çalışmaya benzer şekilde önemli düzeyde bir düşüş ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir. Chen ve ark. (2014) farelerde konkanavalin A ile oluşturdukları yangısal karaciğer hasarı üzerine 15d-PGJ₂'nin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda, daha önce 15d-PGJ₂ verilen grupta, konkanavalin A kaynaklı akut hepatitin hafiflediğini, artan serum ALT ve AST değerlerinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Chen ve ark. (2014)'nin araştırmaları ile uyumlu olacak

şekilde 15d-PGJ₂+LPS'nin birlikte verildiği grupta, LPS tek başına verildiğinde artan AST ve ALT değerlerinde önemli düzeyde bir düşüş (p<0,05) saptanmıştır. Ayrıca 15d-PGJ₂+LPS'nin birlikte verildiği grupta, LPS tek başına verildiğinde artan kreatinin değerinde önemli düzeyde bir düşüş(p<0,05), LPS tek başına verildiğinde azalan albümin değerinde ise önemli bir artış (p<0,05) olduğu belirlenmiştir.

5.2. Yangısal Parametreler

5.2.1. Proinflamatuvar Sitokin Düzeyleri

TNF- α endotoksin kaynaklı sistemik inflamasyonda birincil yangısal aracı olarak rol oynar ve IL-1 β , IL-6 ve IL-10 gibi sitokinlerin salgılanmasını uyarır (Kanno ve ark., 2004). Öldürücü şokta etkili ana patojenik sebebin LPS ile etkinleşen makrofajlar tarafından üretilen TNF- α olduğu düşünülmektedir (Beutler ve Cerami, 1988; Old, 1985; Tracey ve ark., 1986). Ishikawa ve ark. (1998) farelere 300 μ g/kg LPS'yi pi yolla uygulamışlar ve uygulamadan sonra 90. dakikada TNF- α 'nın en yüksek seviyeye ulaştığını tespit etmişlerdir. Olinga ve ark. (2001) karaciğer parenkimal ve parenkimal olmayan hücre kültürleri üzerine çeşitli yoğunluklarda LPS (*E. coli* serotipi B55: O55; 0, 0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 μ g/ml) uygulamışlar ve 24 saat sonra sadece 100 μ g/ml yoğunluğunda LPS uygulanan hücre kültürlerinde kontrol grubuna göre TNF- α değerlerinin arttığını belirtmişlerdir. Kanno ve ark. (2004) da farelere 300 μ g/kg LPS'nin pi verilmesinden 90 dakika sonra TNF- α değerlerinin kontrole göre önemli düzeyde arttığını saptamışlardır. Dutta ve Bishayi (2009) hiperlipidemik ve sağlıklı farelere 1 μ g/kg *E.coli* kaynaklı endotoksini pi yolla vermişler ve LPS verilen grupta TNF- α değerlerinin her iki grupta da arttığını belirtmişlerdir. Nishio ve ark. (2013) LPS ile insan akciğer kanser hücrelerinde (A549) uyarılan sitotoksositeye karşı çeşitli tokoferollerin yangı önleyici etkilerini incelemişler ve 0,6 mg/ml miktarında LPS'ye maruz bırakılan insan akciğer kanser hücrelerinde 6 saat sonra TNF- α değerinin kontrole göre 10 kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Al-amri ve ark. (2013) sıçanlarda LPS (LPS 15 mg/kg tek doz pi) ile uyarılan Parkinson hastalığında yangısal araçılar üzerine epigallokatekin-3 gallatın etkisini araştırmışlardır. LPS verilen grubun beyin dokularında TNF- α değerlerinde kontrole göre artış olduğunu tespit etmişlerdir. LPS uygulamasını takiben TNF- α 'nın

4. saatte artmaya başladığı, 24. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı, 3. ve 7. günlerde ise azaldığını belirtmişlerdir. Kostadinov ve ark. (2015) 250 µg/kg pi LPS ile uyarılan yangı üzerine fluoksetinin yangı önleyici etkinliğini araştırmışlar, LPS'nin TNF-α değerinin 500 pg/ml seviyelere kadar yükselmesine neden olduğunu bildirmişlerdir. El-Kamouni ve ark. (2017) LPS (5 mg/kg pi) ile uyarılan hasara karşı zeytinyağı ve argan yağının etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmada, TNF-α değerlerinin LPS verilen grupta kontrole göre 2 kat daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Lapara ve Kelly (2010) fare makrofaj hücre kültürleri üzerine 100 ng/ml LPS uygulamışlar ve bazı sitokinlerin 2., 8. ve 19. saatlerdeki kinetiğini araştırmışlardır. LPS uygulanan grupta TNF-α'nın 2. saatte artmaya başladığını, 8. saatte en yüksek seviyeye ulaştığını ve 19. saatte daha düşük seviyelerde (2. saate göre) bulunduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar TNF-α değerlerinin LPS verilen grupta kontrol grubuna göre ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Lapara ve Kelly (2010)'nin yaptıkları çalışmaya benzer şekilde, LPS verilen grupta serumda TNF-α seviyesi 4. saatte artmaya başlamış, 8. saatte en yüksek değere ulaşmış ve 24. saatte daha düşük değerde bulunmuştur. Ayrıca TNF-α değerlerinin diğer araştırmacıların (Al-amri ve ark., 2013; Dutta ve Bishayi, 2009; El-Kamouni ve ark., 2017; Kanno ve ark., 2004; Kostadinov ve ark., 2015; Lapara ve Kelly, 2010; Nishio ve ark., 2013; Olinga ve ark., 2001) sonuçlarına benzer şekilde LPS verilen grupta kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı (p<0,05) saptanmıştır. Thieringer ve ark. (2000) *S. minnesota* R595 ve *E. coli* K235'ten elde edilen LPS'yi RAW 264.7 ve insan periferik kan monosit hücreleri üzerine uygulamışlar ve 15d-PGJ₂'nin de aralarında bulunduğu farklı PPARγ agonistlerinin etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla araştırmacılar insan periferik kan monosit hücrelerine 0,1 ng/ml LPS ve 1,56-100 µM aralığında değişen dozlarda 15d-PGJ₂; RAW 264.7 hücrelerine ise 0,1 ng/ml LPS ve 0,78-50 µM aralığında değişen dozlarda 15d-PGJ₂ uygulamışlardır. TNF-α değerlerinin sadece LPS verilen gruplara göre, 15d-PGJ₂'nin yüksek dozlarında önemli derecede düştüğünü tespit etmişlerdir. LPS varlığında oluşan yangıda, 15d-PGJ₂ hariç uygulanan diğer PPARγ agonistlerinin etkili olmadığını, 15d-PGJ₂'nin diğer PPARγ agonistlerinden farklı bir yolak üzerinden yangı önleyici etkinlik gösterdiğini vurgulamışlardır. Engdahl ve ark. (2007) LPS'ye maruz bırakılan insan monositik hücre kültürleri üzerine 15d-PGJ₂'nin etkilerini incelemişler ve bu amaçla

insan akut monosit lösemi hücreleri (THP-1) ile monositleri (forbol 12-miristat 13-asetat ile) makrofajlara farklılaştırdıkları hücreleri kullanmışlardır. Araştırmacılar hücrelerin bir kısmına sadece 1 µg/ml miktarında LPS, bir kısmına 15d-PGJ₂+LPS (hücrelere 2 saat önce 1, 5 ve 10 µM 15d-PGJ₂ ardında 1 µg/ml LPS) uygulamışlardır. LPS uygulamasından 4 saat sonra TNF-α mRNA ekspresyonunda farklılaşmış THP-1 hücreleri ve normal THP-1 hücrelerinde sırasıyla 10-15 kat ve 5-6 kat artışa neden olduğunu ve önceden 15d-PGJ₂ uygulanan hücrelerde, TNF-α ekspresyonunun neredeyse bazal seviyelere kadar gerilediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca yüksek yoğunluklardaki 15d-PGJ₂'nin mRNA ekspresyonunu daha iyi engellediğini saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da Thieringer ve ark. (2000) ile Engdahl ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmalara benzer şekilde, LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta, LPS'nin tek başına verildiği grupta artan TNF-α seviyelerinde önemli düzeyde bir düşüş (p<0,05) sağladığı belirlenmiştir.

IL-1β enfeksiyon, yangı, hücre yaralanması ve toksinler gibi çeşitli hücre dışı uyarılara yanıt olarak çeşitli hücreler tarafından salınan, proinflamatuvar ve bağışıklık sistemini düzenleyici bir sitokindir (Sawano ve ark., 2002). IL-1β hücre çoğalması, hücrelerin farklılaşması ve vücut ısısının yükselmesinde önemli rol oynar (Kumolosasi ve ark., 2014). Olinga ve ark. (2001) karaciğer parenkimal ve parenkimal olmayan hücre kültürleri üzerine LPS'nin (*E. coli* serotipi B55:O55; 0, 0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 µg/ml dozlarında) yangısal etkinliğini araştırmışlar ve sadece 100 µg/ml dozunda LPS uygulanan grupta 24 saat sonra hücre kültürlerinde kontrol grubuna göre IL-1β değerinin arttığını belirtmişlerdir. Lapara ve Kelly (2010) fare makrofaj hücre kültürleri üzerine 100 ng/ml LPS uygulamışlar, LPS uygulanan grupta IL-1α'nın 2. saatte artmaya başladığını, 8. Saatte bu artışın devam ettiğini ve 19. saatte ise en yüksek seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar IL-1α seviyelerinin LPS verilen grupta kontrol grubuna göre ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Lapara ve Kelly (2010)'nin yaptıkları çalışmaya benzer şekilde, LPS verilen grupta serumda IL-1β'nin 4. saatte artmaya başladığı, 8. saatte artmaya devam ettiği ve 24. saatte ise en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. IL-1β seviyeleri LPS verilen grupta kontrol grubuna göre ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde bir artış (p<0,05) görülmüştür. LPS+15d-PGJ₂'nin

birlikte verildiği grupta, LPS'nin yalnız verildiği grupta artan IL-1 β seviyelerinde ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde bir düşüş ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

IL-6 akut faz proteinlerinin sentezi ile T ve B lenfositlerinin olgunlaşmasında anahtar rol oynayan önemli bir sitokindir. Ayrıca yanıklardan sonra sürekli olarak arttığı tespit edilmiştir (Agay ve ark., 2008; Faunce ve ark., 1998). Dutta ve Bishayi (2009) hiperlipidemik ve sağlıklı farelere 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *E.coli* kaynaklı endotoksini pi yolla vermişler, LPS verilen her iki grupta IL-6 değerlerinin arttığını bildirmişlerdir. Endotoksin verilmesini takiben sitokinlerin (TNF- α ve IL-6) salgılandığını ve hiperlipidemi sırasında yangının ilerleyişini hızlandırdıklarını saptamışlardır. Dokladny ve ark. (2010) HSP70'in yüksek ekspresyonunun LPS kaynaklı sitokin seviyeleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, LPS (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dozda pi) uygulamasından 4 saat sonra plazma IL-6 değerinin yaklaşık olarak beş kat arttığını tespit etmişlerdir. El-Kamouni ve ark. (2017) LPS (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pi) ile uyarılan hasara karşı zeytinyağı ve argan yağının etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmada, IL-6 değerlerinin LPS verilen grupta kontrole göre 16 kat daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Lapara ve Kelly (2010) Fare makrofaj hücre kültürleri üzerine 100 ng/ml LPS uygulama sonrası ve 2., 8. ve 19. saatlerde bazı sitokinlerin kinetiğini araştırmışlardır. LPS uygulanan grupta IL-6'nın 8. saatte önemli düzeyde artış gösterdiğini, 19. saatte ise en yüksek seviyeye ulaştığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar IL-6 değerlerinin LPS verilen grupta kontrol grubuna göre ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Lapara ve Kelly (2010)'nin yaptıkları çalışmaya benzer şekilde, LPS verilen grupta serumda IL-6'nın 4. saatte artmaya başladığı, 8. saatte artmaya devam ettiği ve 24. saatte en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca IL-6 değerlerinin diğer araştırmacıların (Dokladny ve ark., 2010; Dutta ve Bishayi, 2009; El-Kamouni ve ark., 2017; Lapara ve Kelly, 2010) sonuçlarına benzer şekilde LPS verilen grupta kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Thieringer ve ark. (2000) *S.minnesota* R595 ve *E.coli* K235'ten elde edilen LPS'yi RAW 264.7 ve insan periferel kan monosit hücreleri üzerine uygulamışlar ve 15d-PGJ₂'nin de aralarında bulunduğu farklı PPAR γ agonistlerinin etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu amaçla araştırmacılar insan periferel kan monosit hücrelerine 0,1 ng/ml LPS ve 1,56-100 μM

aralığında değişen dozlarda 15d-PGJ₂; RAW 264.7 hücrelerine ise 0,1 ng/ml LPS ve 0,78-50 µM aralığında değişen dozlarda 15d-PGJ₂ uygulamışlardır. IL-6 değerlerinin sadece LPS verilen gruplara göre, 15d-PGJ₂'nin yüksek dozlarında önemli derecede düştüğünü tespit etmişlerdir. 15d-PGJ₂ hariç diğer PPARγ agonistlerinin, LPS varlığında oluşan yangıda etkili olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Thieringer ve ark. (2000) ile Engdahl ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmalara benzer şekilde, LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta, LPS'nin yalnız verildiği grupta artan IL-6 değerlerinde önemli düzeyde bir düşüş (p<0,05) saptanmıştır.

Miller ve ark. (1997) sitokinlerin kinetiğini değerlendirmek için sıçanlarda oluşturdukları hava kesesine deri altı olarak 100 pg/kg LPS uygulamışlar ve hayvanlardan 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4 ve 5 saatlerde kan örnekleri ve uygulanan bölgeden eksudat, ayrıca sitokin uyarımını karşılaştırmak için sistemik LPS (100 µg/kg pi) uyguladıktan sonra 0., 0.5., 1., 1.5., 2., 3., 4. ve 6. saatlerde plazma örnekleri incelemişler ve alınan tüm örneklerde TNF-α, IL-1β ve IL-6 değerlerini araştırmışlardır. LPS uygulamasından sonra hava kesesi içinde IL-1β'nin 1. saatte önemli ölçüde yükseldiğini, 3. saatte en yüksek seviyeye ulaştığını, 4-6. saatlerde yüksek seviyede seyrettiğini tespit etmişlerdir. Deri altı hava kesesine LPS enjekte edilen sıçanların plazmasında tespit edilen en yüksek IL-1β değerinin, 0. saatte toplanan örnekler ile aradaki farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. LPS sonrası IL-6 değerinin eksudatta 0,5. saatte, plazmada ise 1,5. saatte önemli bir artış olduğunu, IL-6'nın eksudatta 3. saatte en yüksek seviyeye ulaştığını ve 2. saatte tespit edilen plazma IL-6 değerinden 25 kat daha büyük olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar eksudatta IL-6 düzeyinin, plazmadakinden daha yüksek olmasını, IL-6'nın dolaşıma daha yavaş şekilde geçmesine bağlamışlardır. LPS uygulamasından 0,5 saat sonra, eksudatta TNF-α değerinin yaklaşık 1000 kat arttığını, 1 saat sonra en yüksek seviyeye ulaştığını ve 5 saat sonra belirgin bir şekilde yükselmeye devam ettiğini tespit etmişlerdir. Bu hayvanların plazmasında tespit edilen TNF-α değerinde önemli artış görülmediğini ve 0. saatte ölçülen düzeylerle karşılaştırıldığında aralarında önemli farklılıkların olmadığını saptamışlardır. LPS'nin 100 µg/kg pi uygulanmasından sonra plazma TNF-α değerinin 0,5-4 saat aralığında önemli ölçüde arttığını ve 1,5 saatte en yüksek düzeye ulaştığını belirtmişlerdir. TNF-α salınımının hızlı olmasını, önceden

mevcut mRNA'nın transkripsiyonunda hızlı bir artış olmasına ve TNF- α 'nin doku depolarından salınmasına bağlamışlardır. Hızla serbest bırakılan TNF- α 'nın ana kaynağının mast hücreleri olduğunu ve bu hücrelerin akut bakteriyel enfeksiyona karşı savunma sisteminde öncü olarak rol oynadığını vurgulamışlardır. Yao ve ark. (2005) erkek farelere 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ LPS'yi pi uygulamışlar ve hayvanların submandibular bezlerinde TNF- α , IL-1 β ve IL-6 değerlerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar TNF- α , IL-1 β ve IL-6 mRNA ekspresyonlarının LPS uygulamasından 3 saat sonra artmaya başladığını, 3-6. saatte en yüksek seviyeye ulaştığını ve 24. saatte tekrar eski seviyelerine döndüğünü tespit etmişlerdir. Bison ve ark. (2009) sıçanlara 1 ile 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ doz aralığında (1, 5, 15, 50 ve 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$) *E.coli* 0111:B4 suşundan elde edilen LPS'yi pi uygulamışlar ve 2 saat sonra LPS'nin çeşitli sitokinler üzerine etkilerini serumda araştırmışlardır. TNF- α değerlerindeki artışların LPS'nin tüm dozlarında, IL-1 β ve IL-6 değerlerindeki artışların ise 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve üzerindeki dozlarda görüldüğünü bildirmişlerdir. Zuckerman ve ark. (1989)'da benzer şekilde LPS'nin düşük dozlarında TNF- α 'nın serumda hızlı arttığını, IL-6 ve IL-1 β değerlerindeki artışın ise daha yavaş olduğunu; LPS'nin yüksek dozlarında ise, IL-6 ve IL-1 β pikleriyle eş zamanlı olarak TNF- α 'nın da pik yaptığını tespit etmişlerdir. Lee ve ark. (2012) sıçanlarda tek doz LPS (5 mg/kg pi) ile uyarılan hasara karşı *Pulsatilla koreana* özütünün yangı önleyici etkinliğini araştırdıkları çalışmada, LPS uygulamasından sonra 2. ve 5. saatlerde kan örneklerinde LPS uygulamasından sonra, plazma IL-1 β değerinin 5. saatte katlanarak arttığını, plazma IL-6 değerinin ise 5. saatte neredeyse üç kat katlanarak yükselen bir artış gösterdiğini, plazma TNF- α değerinin ise 2. saatte iki kat bir artış gösterdiğini ve sabit kaldığını bildirmişlerdir. Doursout ve ark. (2013) sıçanlarda LPS ile deneysel olarak oluşturulan nörodejenerasyonda 1., 3., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde sitokin düzeylerini araştırmışlardır. TNF- α , IL-1 β ve IL-6 değerlerindeki artış ile ilişkili olarak sistemik yangısal yanıtın ortaya çıktığını, ölçülen tüm sitokin düzeylerinin LPS uygulamasından yaklaşık 3 saat sonra en yüksek düzeye ulaştığını bildirmişlerdir. TNF- α değerinde ise 24-48 saat aralığında ortaya çıkan ikincil bir artış ile iki fazlı bir tepki oluştuğunu tespit etmişlerdir. Kumolosasi ve ark. (2014) insan kanlarını *Salmonella enterica* kaynaklı 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LPS ile muamele etmişler ve 4., 8., 12., 16., 20. ve 24. saatlerde bazı sitokinlerin kinetiğini incelemişler ve kontrol grubunda IL-6 değerinin 20. saatte pik yaptığı ve TNF- α 'nın ise 24 saat sonra düşük düzeylerde

seyrettiği belirtilmiştir. LPS uygulanan grupta IL-6 değerinin diğer sitokinlere göre daha yüksek bulunduğu, 8. ve 20. saatlerde olmak üzere iki ayrı pik yaptığı ve 20. saatte en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. LPS uygulanan grupta TNF- α ve IL-1 β 'nın ise 12. saatte pik yaptığını ve TNF- α düzeyinin IL-1 β 'ya göre yüksek olduğunu, TNF- α ve IL-6 yüksek düzeylerde ve doğrudan salınırken, IL-1 β kademeli olarak salındığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun, sitokinlerin farklı fonksiyonlara sahip olmaları ve farklı yollar üzerinden salgılanmalarından kaynaklandığını vurgulamışlardır (Kumolosasi ve ark., 2014). Makrofajlarda, LPS ile uyarılan TLR4 aracılığıyla tip II transmembran öncü pro-TNF hızlı bir şekilde Golgi'de sentezlenir ve hücre yüzeyine iletilir. Sonra TNF- α dönüştürücü enzim (TACE) ile pro-TNF- α 'dan TNF sentezlenir (Black ve ark., 1997; Lieu ve ark., 2008; Murray ve ark., 2005). LPS ile uyarı makrofajlarda TNF- α 'ya benzer şekilde Golgi kompleksinde IL-6'nın da sentezlenip depolanmasına neden olur. LPS ile uyarıyı takiben makrofajlarda hem TNF- α , hem de IL-6 depolandıkları ribozomlardan hücre yüzeyine transfer edilirler. Bu iki sitokin ribozomların farklı alt birimlerinde lokalize olurlar ve hücre yüzeyindeki farklı noktalardan salınırlar. Buna ek olarak, TNF- α ve IL-6 yapılarındaki aminoasit grupların hidrofobik özelliklerinden dolayı, supernatant içine salınırlar (Kumolosasi ve ark. 2014; Manderson ve ark., 2007). Buna karşılık, IL-1 β , sitoplazmada sentezlenen bir dizi sitokin gibi, endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi gibi geleneksel organellerden geçmeden plazma zarı boyunca TNF- α ve IL-6'dan farklı bir yol ile salınır. Bir sinyal peptidinden yoksun olan IL-1 β sitoplazmada serbest ribozomlar üzerinde üretilir ve inflamazomlardaki kaspaz-1 aracılığıyla salıverilir. Bununla birlikte, bu sitokinlerin hücrelerden nasıl salındığı hala gizemini korumaktadır. TNF- α ve IL-1 β çok sayıda biyolojik aktiviteyi paylaşmalarına rağmen, aralarındaki en belirgin fark, TNF- α 'nın lenfosit çoğalması üzerinde direkt bir etkisinin olmaması ve daha yavaş salıverilmesidir. IL-6 ve IL-1 β ateşin uyarılması ve akut faz proteinlerinin üretimi dahil bazı biyolojik etkinlikleri açısından benzer olmakla birlikte, akut faz proteinlerinin sentezinde IL-6'nın en önemli uyarıcı olduğu düşünülmektedir. Bu yangısal etkilerine zıt olarak IL-6'nın, TNF- α ve IL-1 β sentezini engelleyerek ve yangı kaskadının düzenlenmesini sonlandırarak yangı önleyici etkilere de aracılık ettiği belirtilmektedir. LPS ile uyarılma sonrası, IL-6 değerinin diğer sitokinlerden daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bunun sebebi, TNF- α ve IL-1 β

gibi sitokinlerin IL-6'nın salınımını uyarmasıdır (Feghali ve Wright, 1997; Kumolosasi ve ark., 2014). Dong ve Yuan (2018) farelerde LPS ile deneysel olarak oluşturdukları akut akciğer hasarı üzerine sentetik bir retinoid olan ST1926'nın yangı önleyici etkinliklerini araştırmışlardır. LPS uygulanan farelerde diğer gruplara göre serumda TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-5, IL-18 ve IL-17 değerlerinde anlamlı düzeyde bir artış tespit etmişlerdir. Çalışmada TNF- α , IL-1 β , IL-18, IL-6 ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinlerin yangısal tepkiye neden olan ana faktörler olduğu, bu sitokinlerin düzeylerindeki artışların hastalığın ilerlemesini hızlandırdığı vurgulanmıştır. Lapara ve Kelly (2010) fare makrofaj hücre kültürleri üzerine 100 ng/ml LPS uygulamışlar ve 2., 8. ve 19. saatlerde bazı sitokinlerin kinetiğini araştırmışlardır. LPS uygulanan grupta TNF- α 'nın 8. saatte, IL-1 α ve IL-6'nın ise 19. saatte en yüksek düzeye ulaştığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bu sitokinlerin seviyelerinin LPS verilen grupta kontrol grubuna göre ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda diğer araştırmacılarla (Bison ve ark., 2009; Dong ve Yuan, 2018; Kumolosasi ve ark., 2014; Lapara ve Kelly, 2010; Lee ve ark., 2012; Miller ve ark., 1997; Yao ve ark., 2005) benzer şekilde LPS verilen grupta serumda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 değerlerinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde bir artış ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir. Bu proinflamatuvar sitokinlerin serumda yüksek düzeylerde bulunması yangının varlığını ortaya koymaktadır. LPS verilen grupta serumda TNF- α düzeyinin 8. saatte, IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin ise 24. saatte pik yaptığı tespit edilmiştir. Yangı durumunda organizmada ilk olarak proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α artmakta, IL-1 β ise kademeli olarak salınmaktadır. TNF- α ve IL-1 β , IL-6 salınımını indüklemektedir. Bu nedenle çalışmamızda, önce TNF- α 'da artış gözlenmiş, sonrasında TNF- α ve IL-1 β birlikte, IL-6 salınımının 24. saatte en yüksek düzeye ulaşmasını sağlamıştır. LPS+15d-PGJ₂ verilen grupta, LPS verilen grupta artan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 değerlerinde ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde bir düşüş ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

5.2.2. Proinflamatuvar Enzim Etkinliği

Hücre içi patojenlere ve tümör hücrelerine karşı konağın savunmasında önemli rol oynayan iNOS, makrofaj ve damar endotel hücreleri başta olmak üzere monosit, nötrofil, hepatosit gibi hücrelerde sentezlenmektedir (Jorens ve ark., 1995). Bu

hücrelerin spesifik sitokinlerle etkin hale gelmesi, NOS'ın uyarılmasına ve sonuçta NO'nun sentezlenmesine yol açmaktadır (Türköz ve Özerol, 1997). Bakteriye LPS veya sitokinlere yanıt olarak üretilen yüksek NO düzeyi endotoksemi ve yangıda önemli bir rol oynamaktadır (Stoclet ve ark., 1998). iNOS gen ekspresyonunu ve enzim etkinliğini baskılayarak NO üretimini engelleyen ilaçların, sepsis tedavisinde faydalı terapötik etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Suh ve ark., 1998). Okamoto ve ark. (1998) LPS'nin beyinde iNOS ekspresyonunu ve iNOS'tan sentezlenen NO metabolitlerinin beyin hiperemisine ne derece yol açtığını değerlendirmek için sıçanlarda farklı deney grupları oluşturularak beyin içi ventriküllere LPS uygulamasından sonra, deney hayvanlarının bölgesel beyin kan akımını 4 saat süreyle lazer-Doppler akış ölçer ile izlemişler ve serebral kortikal doku sıvısında iNOS'a ait mRNA ve protein seviyelerini ölçmüşlerdir. LPS uygulamasından 2 saat sonra, iNOS mRNA seviyelerinin biraz yükseldiğini, LPS uygulamasından 4 saat sonra ise iNOS etkinliğinde daha büyük bir artış olduğunu ve iNOS enzim aktivitesi ile iNOS protein seviyelerinin de önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Hori ve ark. (2001) sıçan bağırsaklarında LPS'nin iNOS indüksiyonu üzerindeki etkisini incelemek için erkek Wistar sıçanlardan alınan ileum kas dokularını *in situ* LPS'ye (100 µg/ml) maruz bırakmışlardır. LPS'e maruz bırakılan dokularda kontrole kıyasla iNOS mRNA düzeylerinin güçlü bir şekilde eksprese olduğunu, iNOS etkinliğinin 90.dakikada artmaya başladığını ve 4. saatte en yüksek değere ulaştığını bildirmişlerdir. Choi ve ark. (2012) LPS uygulanan sıçanların böbrek dokularında iNOS'un ekspresyonunu araştırmışlar ve bu amaçla LPS (10 mg/kg *E.coli* ve 20 mg/kg *K. pneumoniae*) pi uygulamışlardır. Uygulamadan 1, 3, 6, 8, 12 ve 18 saat ve 1, 3 ve 7 gün sonra hayvanlardan kan örnekleri almışlardır. iNOS mRNA indüksiyonunun, LPS uygulamasından 1 saat sonra başladığını, 6 ile 8 saat arasında en yüksek düzeye ulaştığını ve daha sonra hızla azaldığını saptamışlardır. Doursout ve ark. (2013) sıçanlarda LPS ile deneysel olarak oluşturulan nörodejenerasyonda 1., 3., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde iNOS'un doku içeriğinde ciddi ve hızlı artışlar gösterdiğini ve NO düzeyinin LPS uygulamasını takiben 1. saate artmaya başladığını, 6. saate en yüksek düzeye ulaştığını, 12. saate bir miktar düştüğünü ve 48. saate önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Steven ve ark. (2017) fare ve sıçanlarda karşılaştırmalı olarak LPS (10 mg/kg pi) ile indüklenen endotoksemide oksidatif stres ve

inflamasyonda oluşan parametrelerin zamana bağlı (0., 3., 6., 9., 12. saat) yanıtını incelediklerinde, LPS uygulamasından sonra, hayvanlarda iNOS etkinliğinin 3. saatte artmaya başladığını, 6. saatte en yüksek düzeye ulaştığını ve 9. saatte azalmaya başladığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda serumda iNOS etkinliğinin LPS verilen grupta 4. saatte en yüksek olduğu, 8. saatte azaldığı ve 24. saatte en düşük seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. iNOS etkinliği diğer araştırmalara benzer şekilde (Choi ve ark., 2012; Doursout ve ark., 2013; Hori ve ark., 2001; Okamoto ve ark., 1998; Steven ve ark. 2017) LPS verilen grupta kontrol grubuna göre ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde ($p < 0,05$) artmıştır. LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta ise, LPS ile artan iNOS etkinliği önemli ölçüde ($p < 0,05$) düşmüştür.

PG sentezinde proinflamatuvar ajanlara yanıt veren uyarılabilir bir enzim olan COX-2, doku ve hücrelerde normalde mevcut değildir (Font-Nieves ve ark., 2012; Straus ve Glass, 2001; Sawano ve ark., 2002). Ancak LPS dahil olmak üzere yangı uyarıcı ajanlar, büyüme faktörleri ve bazı etkin onkojenler tarafından COX-2'nin ekspresyonu güçlü bir şekilde uyarılır (Eliopoulos ve ark., 2002). Okamoto ve ark. (1998) LPS'nin beyinde COX-2 ekspresyonunu ve COX-2'den sentezlenen COX metabolitlerinin beyin hiperemisine olan etkilerini araştırmışlar ve bu amaçla sıçanlarda beyin içi ventriküllere LPS uygulamasından sonra, deney hayvanlarının bölgesel beyin kan akımını 4 saat süreyle lazer-Doppler ile izlemişler ve serebral kortikal sıvıda COX-2 mRNA ve protein seviyelerini ölçmüşlerdir. LPS uygulamasından 2 saat sonra COX-2 mRNA seviyelerinin biraz yükseldiğini, 4 saat sonra ise COX-2 mRNA seviyelerinde daha büyük bir artış görüldüğünü ve COX enzim aktivitesinin önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Hori ve ark. (2001) sıçan bağırsaklarında LPS'nin COX-2 indüksiyonu üzerindeki etkisini incelemişler ve bu amaçla erkek Wistar sıçanlardan alınan ileum kas dokularına *in situ* LPS (100 µg/ml) uygulamışlardır. LPS uygulanan dokularda kontrole kıyasla COX-2 mRNA'larının güçlü bir şekilde eksprese olduğunu, COX-2 mRNA düzeyinin 30. dakikada artmaya başladığını ve 1. saatte en yüksek düzeye ulaştığını bildirmişlerdir. Lugarini ve ark. (2002) LPS (100 µg/kg pi) ile oluşturulan anoreksiyada COX-2 ekspresyonunun arttığını bildirmişlerdir. Kanno ve ark. (2006) RAW 264.7 makrofajlarda 0,01, 0,1 ve 1 mg/ml LPS ile oluşturdukları endotoksik şok durumunda doza bağımlı olarak LPS ile RAW 264.7 hücrelerinde COX-2 etkinliğinin arttığını bildirmişlerdir. Font-Nieves

ve ark. (2012) LPS ile uyarımdan sonra COX-2 indüksiyonu ve LPS'nin prostanooidlerin oluşumundaki rolünü araştırdıkları çalışmada, sıçan ve farelere LPS'yi (1 µg/mL çözeltiden sıçanlara 5 µL, farelere 0,7 µL) stereotaksik olarak uygulamışlardır. Araştırmacılar kemirgenlerde LPS'nin beyin içi uygulamasının, özellikle astroglia ve mikrogliya'da COX-2'yi güçlü bir şekilde indüklediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda serumda COX-2 etkinliğinin LPS verilen grupta 4. saatte en yüksek olduğu, 8. saatte azaldığı ve 24. saatte en düşük olduğu tespit edilmiştir. COX-2 etkinliği diğer çalışmalara benzer şekilde (Font-Nieves ve ark. 2012; Kanno ve ark. 2006; Lugarini ve ark., 2002) LPS verilen grupta kontrol grubuna göre ölçüm yapılan saatlerde önemli düzeyde ($p < 0,05$) artmıştır. Fahmi ve ark. (2002) insan osteoartritik kondrositlerinde 15d-PGJ₂'nin COX-2 ve PGE₂ üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için 3 deney grubu oluşturmuşlardır. Araştırmacılar 1. grupta hücrelerin bir kısmına sadece IL-1β (100 pg/ml), bir kısmına da IL-1β ve 15d-PGJ₂ (15 dakika önceden 1, 5, 10 µM); 2. grupta hücrelere sadece 15d-PGJ₂ (1, 5, 10µM); 3. grupta ise hücrelere 15d-PGJ₂ ve 10 µM araşidonik asiti ilave ederek 18 saat süreyle inkübe etmişlerdir. COX-2 ekspresyonunun uyarılmamış hücrelerde çok düşük düzeylerde olduğunu, IL-1β varlığında ise uyarımın daha şiddetli olduğunu tespit etmişlerdir. 15d-PGJ₂ eklenmesinin, IL-1β kaynaklı COX-2 ekspresyonunu doza bağlı olarak inhibe ettiğini saptamışlardır. Yüksek yoğunlukta 15d-PGJ₂'nin IL-1β kaynaklı COX-2 üretimini % 72 oranında azalttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca herhangi bir COX-2 indükleyicinin yokluğunda, 15d-PGJ₂'nin, COX-2 ekspresyonunu arttırdığı ve 15d-PGJ₂'nin, COX-2 üretimi üzerinde ikili bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Janabi (2002) insan astrosit hücre kültüründe sitokin uyarımını takiben uygulanan 15d-PGJ₂'nin COX-2 ekspresyonunu engellediğini bildirmiştir. Sawano ve ark. (2002) sıçan mezangial hücreleri 30 dakika 15d-PGJ₂'ye ve daha sonra IL-1β'ya maruz bıraktıkları bir çalışmada ilk önce mezangial hücrelerde IL-1β'nın indüklediği COX-2 ekspresyonunu incelemişler ve 1-4 saat aralığında doza bağlı olarak COX-2 mRNA düzeyinde artış görüldüğünü, 8. saatte COX-2 protein sentezinin en yüksek düzeye ulaştığını ve 24. saatte yüksek bir uyarımla ekspresyon yaptığını saptamışlardır. 15d-PGJ₂ uygulamasının COX-2 ekspresyonunu önemli bir şekilde baskıladığı tespit etmişlerdir. Kim ve ark. (2008) bağırsak epitel hücrelerinde PPARγ agonistlerinin yangı üzerine olan etkilerini gözlemleyebilmek için insan kolonik HT-29 epitel

hücreleri üzerine 24 saat boyunca tek başına LPS (20 µg/ml) ve LPS (20 µg/ml) ile birlikte 15d-PGJ₂ (10 µM) uygulamışlar ve HT-29 hücrelerine tek başına LPS uygulandığında, COX-2 mRNA düzeylerinin kontrole kıyasla arttığını, buna karşılık hem LPS hem de 15d-PGJ₂ uygulanan hücrelerde oluşan uyarımın, tek başına uygulanan LPS uyarımına kıyasla, COX-2 mRNA ekspresyonlarını azalttığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalarla (Janabi 2002; Kim ve ark. 2008; Sawano ve ark. 2002) benzer şekilde LPS+15d-PGJ₂'nin birlikte verildiği grupta, LPS'nin yalnız verildiği grupta artan COX-2 seviyeleri ölçüm yapılan saatlerde önemli ölçüde (p<0,05) düştüğü tespit edilmiştir.

5.3. Histopatolojik İncelemeler

Yaptığımız çalışmanın histopatolojik incelemesinde, tek başına LPS uygulanan grupta, karaciğer ve böbreklerde şiddetli hiperemi, bazı bölgelerde kanama odakları ve özellikle perivasküler olarak çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu, nötrofil lökositlerin de bulunduğu yangısal hücre migrasyonu ve infiltrasyonlarına rastlanmıştır. 15d-PGJ₂+LPS uygulanan grupta ise tek başına LPS uygulanan gruptaki karaciğer ve böbrekte oluşan bulguların belirgin şekilde oluşmadığı ve yangısal reaksiyonlarda azalma olduğu tespit edilmiştir. 15d-PGJ₂'nin yalnız verildiği grupta, karaciğer ve böbreklerin normal histolojik görünümde olduğu ve patolojik bir bulguya rastlanmadığı görülmüştür. Chen ve ark. (2016) farelerde LY294002'nin LPS kaynaklı hepatiti önleme yeteneğini araştırmışlar ve bu amaçla farelere pi LPS (100 µl) uygulamışlardır. Histopatolojik incelemede karaciğerde lökosit infiltrasyonlarıyla seyreden yangısal reaksiyonlar oluştuğunu bildirmişlerdir. Liu ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada sıçanlara pi LPS (10 mg/kg) uygulamasının hepatositlerde ödem ve yangısal hücre infiltrasyonunda artış tespit etmişlerdir. Bunun sonucunda karaciğerde yangısal faktörlerin salınımının karaciğer hasarına neden olduğunu bildirmişlerdir. Yine Fang ve ark. (2018) sıçanlara damar içi LPS (2mg/kg) uyguladıkları çalışmada, karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik incelemede böbreklerde tübüler hücrelerin vakuolar dejenerasyonu ile sinüzoidal dilatasyon, karaciğerde ise eritrosit konjesyonu gibi ciddi organ hasarlarının oluştuğunu tespit etmişlerdir. Wu ve ark. (2018) farelerde selastrolün LPS kaynaklı sepsis ve organ yaralanmaları üzerindeki terapötik etkilerini değerlendirmek için farelere pi LPS (10

mg/kg) uygulamışlar ve histopatolojik olarak böbreklerde tübüler hasarlar ile karaciğerde hafif hücresel nekroz ve hepatosit şişmesi gibi değişikliklerin oluştuğunu belirtmişlerdir. Chen ve ark. (2016), Liu ve ark. (2016) ile Fang ve ark. (2018)'nın yaptıkları araştırmaların sonuçları bizim araştırmamızın bulguları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

PG'lerin bir alt üyesi olan cyPG'ler diğer PG'lerin kendiliğinden sıvı ortamlarda dehidrasyonu sonucu şekillenen doğal eikozonoidlerdir. cyPG'ler etkilerini, diğer PG'lerin aksine G-proteine bağlı PG reseptörler aracılığında göstermezler. cyPG'ler siklopentenon halkasında doymamış bir α,β -karbonil keton grubunun bulunması ile diğer PG'lerden ayrılır. Bu halkada bulunan karbonlar yapıya güçlü elektrofilik özellik kazandırır. cyPG'lerin biyolojik etkileri için, bu özel yapının bulunması gereklidir. Bu bileşiklerin biyolojik etkilerinin çoğu hücresel hedef proteinleri ile etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bazı etkilerini de PPAR γ aracılığında gösterirler. cyPG vücut sıvıları ile kronik ve akut yangı bölgelerinde *in vivo* olarak tespit edilmiştir. Son yıllarda özellikle doku hasarlarına karşı yangı önleyici ve hücre koruyucu etkinlikleri başta olmak üzere çeşitli biyolojik etkinlikleriyle dikkat çeken maddelerden biri 15d-PGJ₂'dir.

Bu çalışmada, araştırılan yangısal ve biyokimyasal parametreler ile histopatolojik bulgular, *E.coli* kaynaklı LPS'nin uygulanan dozda yangıya yol açtığını göstermiştir. LPS ile oluşturulan yangıya karşı, 15d-PGJ₂'nin TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyeleri ile iNOS ve COX-2 gibi proinflamatuvar enzimlerin etkinliğinde önemli düzeyde azalma sağlayarak yangı fazının iyileşmesine katkı sağladığı tespit edilmiştir. Ayrıca 15d-PGJ₂'nin biyokimyasal parametreler ile histopatolojik değişiklikler üzerinde koruyucu etkileri olduğu belirlenmiştir. Endotoksinlerle özellikle LPS aracılığıyla oluşan yangısal olaylara karşı 15d-PGJ₂'nin yangı önleyici bir ajan olarak kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abramova AY, Pertsov SS, Kozlov AY, Nikenina EV, Kalinichenko LS, Dudnik EN, Alekseeva IV (2013).** Cytokine levels in rat blood and brain structures after administration of lipopolysaccharide. *Bull. Exp. Biol. Med.*, **155(4)**, 417-420.
- Agay D, Andriollo-Sanchez M, Claeysen R, Touvard L, Denis J, Rouse AM, Chancerelle Y (2008).** Interleukin-6, TNF-alpha and interleukin-1 beta levels in blood and tissue in severely burned rats. *Eur. Cytokine Netw.*, **19(1)**, 1-7.
- Akimaru K, Kuo MT, Furuta K, Suzuki M, Noyori R, Ishikawa T (1996).** Induction of MRP/GS-X pump and cellular resistance to anticancer prostaglandins. *Cytotechnology*, **19(3)**, 221-227.
- Al-Amri JS, Hagraas MM, Mujallid MI (2013).** Effect of epigallocatechin-3-gallate on inflammatory mediators release in LPS-induced Parkinson's disease in rats. *Indian J. Exp. Biol.*, **51(5)**, 357-362.
- Atsmon J, Freeman ML, Meredith MJ, Sweetman BJ, Roberts II LJ (1990).** Conjugation of 9-deoxy- $\Delta^9\Delta^{12}$ (E)-prostaglandin D₂ with intracellular glutathione and enhancement of its anti-proliferative activity by glutathione depletion. *Cancer Res.*, **50(6)**, 1879-1885.
- Aw T (2010).** Liver function tests (LFTs). *POSH*, **19(1)**, 80-82.
- Baeuerle PA (1998).** Pro-inflammatory signaling: Last pieces in the NF- κ B puzzle? *Curr. Biol.*, **8(1)**, R19-R22.
- Beutler B, Cerami A (1988).** Tumor necrosis, cachexia, shock, and inflammation: a common mediator. *Annu. Rev. Biochem.*, **57**, 505-518.
- Bison S, Carboni L, Arban R, Bate S, Gerrard PA, Razzoli M (2009).** Differential behavioral, physiological, and hormonal sensitivity to LPS challenge in rats. *Int. J. Interferon Cytokine Mediat. Res.*, **1**, 1-13.
- Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, Castner BJ, Stocking KL, Reddy P, Srinivasan S (1997).** A metalloproteinase disintegrin that releases tumor necrosis factor alpha from cells. *Nature*, **385(6618)**, 729-733.
- Castrillo A, Díaz-Guerra MJM, Hortelano S, Martín-Sanz P, Bosca L (2000).** Inhibition of I κ B kinase and I κ B phosphorylation by 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ prostaglandin J₂ in activated murine macrophages. *Mol. Cell Biol.*, **20(5)**, 1692-1698.
- Catorce MN, Gevorkian G (2016).** LPS-induced murine neuroinflammation model: Main features and suitability for pre-clinical assessment of nutraceuticals. *Curr. Neuropharmacol.*, **14(2)**, 155-164.

Cernuda-Morollón E, Pineda-Molina E, Cañada FJ, PérezSala D (2001). 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 inhibition of NF- κ B DNA binding through covalent modification of the p50 subunit. *J. Biol. Chem.*, **276(38)**, 35530-35536.

Chatterjee PK, Patel NS, Cuzzocrea S, Brown PA, Stewart KN, Mota-Filipe H, Britti D, Eberhardt W, Pfeilschifter J, Thiemermann C (2004). The cyclopentenone prostaglandin 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 ameliorates ischemic acute renal failure. *Cardiovasc. Res.*, **61**, 630-643.

Chen K, Li J, Wang J, Xia Y, Dai W, Wang F, Shen M, Cheng P, Yan Zhang Y, Wang C, Yang Y, Zhu R, Zhang H, Zheng Y, Lu J, Fan Z, Zhou Y, Guo C (2014). 15-Deoxy- $\gamma^{12,14}$ -prostaglandin J_2 reduces liver impairment in a model of ConA-induced acute hepatic inflammation by activation of PPAR γ and reduction in NF- κ B activity. *PPAR Research*, Article ID 215631, 1-10.
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/215631>.

Chen Z, Liu H, Lei S, Zhao B, Xia Z (2016). LY294002 prevents lipopolysaccharide-induced hepatitis in a murine model by suppressing I κ B phosphorylation. *Mol. Med. Rep.*, **13**, 811-816.

Chu WM (2013). Tumor necrosis factor. *Cancer Lett.*, **328(2)**, 222–225.

Chung SW, Kang BY, Kim TS (2003). Inhibition of interleukin-4 production in CD4+ T cells by peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) ligands: involvement of physical association between PPAR- γ and the nuclear factor of activated T cells transcription factor. *Mol. Pharmacol.*, **64(5)**, 1169-1179.

Collin M, Patel N, Dugo L, Thiemermann C (2004). Role of peroxisome proliferator-activated receptor- γ in the protection afforded by 15-deoxy $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 against the multiple organ failure caused by endotoxin. *Crit. Care Med.*, **32**, 826-831.

Collin M, Thiemermann C (2003). The PPAR- γ ligand 15deoxy $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 reduces the liver injury in endotoxic shock. *Eur. J. Pharmacol.*, **476**, 257-258.

Colville-Nash PR, Qureshi SS, Willis D, Willoughby DA (1998). Inhibition of inducible nitric oxide synthase by peroxisome proliferator-activated receptor agonists: correlation with induction of heme oxygenase 1. *J. Immunol.*, **161**, 978-984.

Choi JY, Nam SA, Jin DC, Kim J, Cha JH (2012). Expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated rat kidneys. *J. Histochem. Cytochem.*, **60(4)**, 301-315.

Coşkun Ö, Yakan B, Öztaş E, Sezen Ş, Günaydın AA (2000). Antioxidant and hepatoprotective activity of vitamin E and EGb 761 in experimental endotoxemic rats. *Turk. J. Med. Sci.*, **30**, 427-432.

Couturier C, Brouillet A, Couriaud C, Koumanov K, Béréziat G, Andréani M. (1999). Interleukin-1 β induces type-II-secreted phospholipase A(2) gene in vascular smooth muscle cells by a nuclear factor κ B and peroxisome proliferator-activated receptor-mediated process. *J. Biol. Chem.*, **274**, 23085-23093.

Cuzzocrea S, Ianaro A, Wayman NS, Mazzon E, Pisano B, Dugo L, Serraino I, Di Paola R, Chatterjee PK, Di Rosa M, Caputi AP, Thiemermann C (2003a). The cyclopentenone prostaglandin 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ attenuates the development of colon injury caused by dinitrobenzene sulphonic acid in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, **138**, 678-688.

Cuzzocrea S, Pisano B, Dugo L, Ianaro A, Patel NS, Di Paola R, Genovese T, Chatterjee PK, Di Rosa M, Caputi AP, Thiemermann C (2003b). Rosiglitazone and 15-deoxy $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂, ligands of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ), reduce ischaemia/reperfusion injury of the gut. *Br. J. Pharmacol.*, **40**, 366-376.

De Marco A, Carattoli A, Rozera C, Fortini D, Giorgi C, Belardo G, Amici C, Santoro MG (1998). Induction of the heat-shock response by antiviral prostaglandins in human cells infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur. J. Biochem.*, **256**, 334-341.

Deliverie P, Bosscher KD, Besnard S, Berghe WV, Peter JM, Gonzalez FJ, Fruchart J-C, Tedgui A, Haegeman G, Staels B (1999). Peroxisome proliferator-activated receptor α negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF- κ B and AP-1. *J. Biol. Chem.*, **274**, 32048-32054.

Deliverie P, Gervois P, Fruchart JC, Staels B(2000). Induction of I κ B α expression as a mechanism contributing to the antiinflammatory activities of peroxisome proliferator-activated receptor- α activators. *J. Biol. Chem.*, **275**, 36703-36707.

Demir R, Yilmazer S, Öztürk M, Üstünel İ, Demir N, Korgun ET, Akkoyunlu G (2001). Editör: Demir R. Histolojik Boyama Teknikleri. 1 Baskı. Palme Yayıncılık. Ankara.

Devchand PR, Keller H, Peters JM, Vazquez M, Gonzalez FJ, Wahli W (1996). The PPAR α -leukotriene B₄ pathway to inflammation control. *Nature*, **384**, 39-43.

Dinarello CA, Cannon JG, Wolff SM, Bernheim HA, Beutler B, Cerami A, Figari IS, Palladino MA, O'Conner JV (1986). Tumor Necrosis Factor (Cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production interleukin 1. *J. Exp. Med.*, **163**, 1433-1450.

Dokladny K, Lobb R, Wharton W, Ma TY, Moseley PL (2010). LPS-induced cytokine levels are repressed by elevated expression of HSP70 in rats: possible role of NF- κ B. *Cell Stress Chaperones*, **15**, 153-163.

Dong Z, Yuan Y (2018). Accelerated inflammation and oxidative stress induced by LPS in acute lung injury: Inhibition by ST1926. *Int. J. Mol. Med.*, **41(6)**, 3405-3421.

Doursout MF, Schurdell MS, Young LM, Osuagwu U, Hook DM, Poindexter BJ, Schiess MC, Bick DLM, Bick RJ (2013). Inflammatory cells and cytokines in the olfactory bulb of a rat model of neuroinflammation; insights into neurodegeneration? *J. Interferon Cytokine Res.*, **33(7)**, 376-383.

Dutta K, Bishayi B (2009). *Escherichia coli* lipopolysaccharide administration alters antioxidant profile during hypercholesterolemia. *Indian J. Clin. Biochem.*, **24** (2), 179-183.

El Kamouni S, El Kebbjaj R, Andreoletti P, El Ktaibi A, Rharrassi I, Essamadi A, El Kebbjaj MS, Mandard S, Latruffe N, Joseph Vamecq J, Nasser B, Cherkaoui-Malki M (2017). Protective effect of argan and olive oils against LPS-induced oxidative stress and inflammation in mice livers. *Int. J. Mol. Sci.*, **18**(10), 1-15.

Eliopoulos AG, Dumitru CD, Wang C, Cho J, Tsihchlis PN (2002). Induction of COX-2 by LPS in macrophages is regulated by Tpl2-dependent CREB activation signals. *The EMBO Journal*, **21**(18), 4831-4840.

Engdahl R, Monroy MA, Daly JM (2007). 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ (15d-PGJ₂) mediates repression of TNF- α by decreasing levels of acetylated Histone H₃ and H₄ at its promoter. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **359**(1), 88-93.

Erta M, Quintana A, Hidalgo J (2012). Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *Int. J. Biol. Sci.*, **8**(9), 1254-1266.

Fahmi H, Di Battista JA, Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, Martel-Pelletier J (2001). Peroxisome proliferator-activated receptor γ activators inhibit interleukin-1 β -induced nitric oxide and matrix metalloproteinase 13 production in human chondrocytes. *Arthritis Rheum.*, **44**, 595-607.

Fahmi H, Pelletier JP, Mineau F, Martel-Pelletier JJ (2002). 15d-PGJ₂ is acting as a 'dual agent' on the regulation of COX-2 expression in human osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*, **10**, 845-848.

Fang H, Liu A, Chen X, Cheng W, Dirsch O, Dahmen U (2018). The severity of LPS induced inflammatory injury is negatively associated with the functional liver mass after LPS injection in rat model. *J. Inflamm.*, **15**(21), 1-9.

Fast DJ, Schlievert PM, Nelson RD (1989). Toxic shock syndrome-associated staphylococcal and streptococcal pyrogenic toxins are potent inducers of tumor necrosis factor production. *Infect. Immun.*, **57**(1), 291-294.

Faunce DE, Gregory MS, Kovacs EJ (1998). Acute ethanol exposure prior to thermal injury results in decreased T-cell responses mediated in part by increased production of IL-6. *Shock*, **10**(2), 135-140.

Feghali CA, Wright TM (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front. Biosci.*, **2**, 12-26.

Feldman M (2008). Many cytokines are very useful therapeutic targets in disease. *J. Clin. Invest.*, **118**, 3533-3536.

Fettelschoss A, Kistowska M, LeibundGut-Landmann S, Beer H, Johansen P, Senti G, Contassot E, Bachmann MF, French LE, Oxenius A, Kündig TM (2011). Inflammasome activation and IL-1 β target IL-1 α for secretion as opposed to surface expression. *PNAS*, **108(44)**, 18055-18060.

Figueiredo-Pereira ME, Corwin C, Babich J (2016). Prostaglandin J₂: A potential target for halting inflammation-induced neurodegeneration. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1363**, 125-137.

Fitzpatrick FA, Wynalda MA (1983). Albumin-catalyzed metabolism of prostaglandin D₂: Identification of products formed in vitro. *J. Biol. Chem.*, **258**, 11713-11718.

Font-Nieves M, Sans-Fons MG, Gorina R, Bonfill-Teixidor E, Salas-Pérdomo A, Márquez-Kisinousky L, Santalucia T, Planas AM (2012). Induction of COX-2 and down regulation of COX-1 expression by LPS control prostaglandin E₂ production in astrocytes. *J. Biol. Chem.*, **287(9)**, 6454-6468.

Friedli O, Freigang S (2017). Cyclopentenone containing oxidized phospholipids and their isoprostanes as pro-resolving mediators of inflammation. *Biochim Biophys Acta*, **1862**, 382-392.

Gayarre J, Stamatakis K, Renedo M, Pérez-Sala D (2005). Differential selectivity of protein modification by the cyclopentenone prostaglandins PGA₁ and 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂: Role of glutathione. *FEBS Lett.*, **579**, 5803-5808.

Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willis D, Chivers J, Paul-Clark MJ, Willoughby DA (1999). Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nature Med.*, **5**, 698-701.

Haberl C, Hultner L, Flugel A, Falk M, Geuenich S, Wilmanns W, Denzlinger C (1998). Release of prostaglandin D₂ by murine mast cells: importance of metabolite formation for antiproliferative activity. *Mediators Inflamm.*, **7**, 79-84.

Haenen GR, Paquay JB, Korthouwer RE, Bast A (1997). Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **236**, 591-593.

Halawa AA, El-Adi MA, Hamed MF, Balboula AZ, Elmetwally M (2013). Lipopolysaccharide prompts oxidative stress and apoptosis in rats' testicular tissue. *JVHC*, **1(3)**, 20-31.

Hamberg M, Samuelsson B (1966). Prostaglandins in human seminal plasma. Prostaglandins and related factors 46. *J. Biol. Chem.*, **241**, 257-263.

Harris SG, Padilla J, Koumas L, Ray D, Phipps RP (2002). Prostaglandins as modulators of immunity. *TRENDS Immunol.*, **23(3)**, 144-150.

Harris, SG, Phipps, RP (2001). The nuclear receptor PPAR- γ is expressed by mouse T lymphocytes and PPAR- γ agonists induce apoptosis. *Eur. J. Immunol.*, **31**, 1098-1105.

Hirata Y, Hayashi H, Ito S, Kikawa Y, Ishibashi M, Sudo M, Miyazaki H, Fukushima M, Narumiya S, Hayaishi O (1988). Occurrence of 9-deoxy- Δ , $\Delta^{12,13,14}$ -dihydroprostaglandin D₂ in human urine. *J. Biol. Chem.*, **263**, 16619-16625.

Hori M, Kita M, Torihashi S, Miyamoto S, Won KJ, Sato K, Ozaki H, Karaki H (2001). Upregulation of iNOS by COX-2 in muscularis resident macrophage of rat intestine stimulated with LPS. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **280**, G930-G938.

Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, Tsukamoto H, Shimoda T (2010). Transmembrane TNF- α : Structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*, **49**, 1215-1228.

Huges-Fulford M (1994). Cell cycle arrest by PGA₁ at the G1/S phase interphase with up-regulation of oncogenes in S49 cyc cells. *J. Cell Biochem.*, **54**, 265-272.

Hunter CA, Jones SA (2015). IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunol.*, **16(5)**, 448-457.

Ianaro A, Ialenti A, Maffia P, Pisano B, Di Rosa M (2001). Role of cyclopentenone prostaglandins in rat carrageenin pleurisy. *FEBS Lett.*, **508**, 61-66.

Ikai K, Ujihara M, Kashihara M, Fukushima M (1987). Inhibition of the proliferation of transformed epidermal cells in culture by various prostaglandins. *J. Invest. Dermatol.*, **89**, 69-72.

Ishii T, Itoh K, Takahashi S, Sato H, Yanagawa T, Katoh Y, Bannai S, Yamamoto M (2002). Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J Biol Chem.*, **275**, 16023-16029.

Ishii T, Itoh K, Yamamoto M (2000). Roles of Nrf2 in activation of antioxidant enzyme genes via antioxidant responsive elements. *Methods Enzymol.*, **348**, 182-190.

Ishikawa M, Kanno S, Takayanagi M, Takayanagi Y, Sasaki K (1998). Thalidomide promotes the release of tumor necrosis factor-alpha (TNFalpha) and lethality by lipopolysaccharide in mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 638-640.

Ishikawa T, Akimaru K, Nakanishi M, Tomokiyo K, Furuta K, Suzuki M, Noyori R (1998). Anti-cancerprostaglandin-induced cell-cycle arrest and its modulation by an inhibitor of the ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump (GS-X pump). *Biochem. J.*, **336**, 569-576.

Itoh K, Mochizuki M, Ishii Y, Ishii T, Shibata T, Kawamoto Y, Kelly V, Sekizawa K, Uchida K, Yamamoto M (2004). Transcription factor Nrf2 regulates inflammation by mediating the effect of 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂. *Mol. Cell Biol.*, **24**, 36-45.

Janabi N, (2002). Selective inhibition of cyclooxygenase-2 expression by 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ in activated human astrocytes, but not in human brain macrophages. *J. Immunol.*, **168(9)**, 4747-4755.

Jorens PG, Matthys KE, Bultc H (1995). Modulation of nitric oxide synthase activity in macrophages. *Mediators Inflamm.*, **4**, 75-89.

Kallapura G, Pumford NR, Hernandez-Velasco X, Hargis BM, Tellez G (2014). Mechanisms involved in lipopolysaccharide derived ROS and RNS oxidative stress and septic shock. *J. Microbiol. Res. Rev.*, **2(1)**, 6-11.

Kanno S, Shouji A, Asou K, Ishikawa M (2003). Effects of naringin on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and apoptosis in p388 cells. *J. Pharmacol. Sci.*, **92**, 166-170.

Kanno S, Shouji A, Hirata R, Asou K, Ishikawa M (2004). Effects of naringin on cytosine arabinoside (Ara-C)-induced cytotoxicity and apoptosis in P388 cells. *Life Sci.*, **75**, 353-365.

Kanno S, Shouji A, Tomizawa A, Hiura T, Osanai Y, Ujibe M, Obara Y, Nakahata N, Ishikawa M (2006). Inhibitory effect of naringin on lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxin shock in mice and nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. *Life Sci.*, **78**, 673 – 681.

Karin M (1995). The regulation of AP-1 activity by mitogenactivated protein kinases. *J. Biol. Chem.*, **270**, 16483-16486.

Karin M (1999). How NF- κ B is activated: the role of the I κ B kinase (IKK) complex. *Oncogene*, **18**, 6867-6874.

Kato T, Fukushima M, Kurozumi S, Noyori R (1986). Antitumor activity of Δ^7 -prostaglandin A₁ and Δ^{12} prostaglandin J₂ *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res.*, **46**, 3538-3542.

Kikawa Y, Narumiya S, Fukushima M, Wakatsuka H, Hayaishi O (1984). 9-deoxy- $\Delta^9, \Delta^{12-(13,14)}$ -dihydroprostaglandin D₂, a metabolite of prostaglandin D₂ formed in human plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **81**, 1317-1321.

Kim EH, Na HK, Kim DH, Park SA, Kim HN, Song NY, Surh YJ (2008). 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ induces COX-2 expression through Akt-driven AP-1 activation in human breast cancer cells: a potential role of ROS. *Carcinogenesis*, **29(4)**, 688-695.

Kimura H, Hokari R, Miura S, Shigematsu T, Hirokawa M, Akiba Y, Kurose I, Higuchi H, Fujimori H, Tsuzuki Y, Serizawa H, Ishii H (1998). Increased expression of an inducible isoform of nitric oxide synthase and the formation of peroxynitrite in colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis. *Gut*, **42**, 180-187.

Koohi MK, Staji H, Hayati F, Ghazi-Khansari M, Jamshidi R, Shahroozian E (2017). Co-exposure effects of LPS with various Aflatoxin B₁ doses in isolated perfused rat liver model. *Iranian J. Toxicol.*, **11(1)**, 27-32.

Kostadinov I, Delev D, Petrova A, Stanimirova I, Draganova K, Kruzliak P, Kostadinova I, Murdjeva M (2015). Study on anti-inflammatory and immunomodulatory effects of fluoxetine in rat models of inflammation. *Eur. J. Inflamm.*, **13(3)**, 173-182.

Kowluru RA, Odenbach S (2004). Role of interleukin-1 β in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.*, **88**, 1343-1347.

Kumolosasi E, Salim E, Jantan I, Ahmad W (2014). Kinetics of intracellular, extracellular and production of pro-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated human peripheral blood mononuclear cells. *Trop. J. Pharm. Res.*, **13(4)**, 536-543.

Lamkanfi M, Dixit VM (2014). Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*, **157**, 1013-1022.

Lee J, Kannegiesser H, O'Toole J, Westura E (1971). Hypertension and the renomedullary prostaglandins: A human study of the antihypertensive effects of PGA₁. *Annals N.Y. Acad Sci.*, **180**, 218-240.

Lee JB, Covino BG, Takman BH, Smith ER (1965). Renomedullary vasodepressor substance, medulin: isolation, chemical characterization and physiological properties. *Circ. Res.*, **17**, 57-77.

Lee JB, Crowshaw K, Takman BH, Attrep KA, Gougoutas JZ (1967). The identification of prostaglandin E₂, F_{2 α} and A₂ from rabbit kidney medulla. *Biochem J.*, **105**, 1251-1260.

Lee SH, Lee E, Young Tag Ko YT (2012). Anti-inflammatory effects of a methanol extract from *Pulsatilla koreana* in lipopolysaccharide-exposed rats. *BMB Reports*, 371-376.

Lee T, Tsai H, Chau L (2003). Induction of heme oxygenase-1 expression in murine macrophages is essential for the antiinflammatory effect of low dose 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂. *J. Biol. Chem.*, **278**, 19325-19330.

Levonen AL, Landar A, Ramachandran A, Ceaser EK, Dickinson DA, Zanoni G, Morrow JD, Darley-Usmar VM (2004). Cellular mechanisms of redox cell signaling: the role of cysteine modification in controlling antioxidant defenses in response to electrophilic lipid oxidation products. *Biochem. J.*, **378**, 373-382.

Liu Y, Li F, Zhang L, Wu J, Wang Y, Yu H (2017). Taurine alleviates lipopolysaccharide-induced liver injury by anti-inflammation and antioxidants in rats. *Mol. Med. Rep.*, **16**, 6512-6517.

Li M, Pascual G, Glass CK (2000). Peroxisome proliferatoractivated receptor γ -dependent repression of the inducible nitric oxide synthase gene. *Mol. Cell Biol.*, **20**, 4699-4707.

- Lieu ZZ, Lock JG, Hammond LA, La Gruta NL, Stow JL, Gleeson PA (2008).** A trans-golgi network golgi is required for the regulated secretion of TNF in activated macrophages *in vivo*. *Proc. Natl. Acad Sci. USA.*, **105**, 3351-3356.
- Lim H, Lee SH, Lee HT, Lee JU, Son JY, Shin W, Heo YS (2018).** Structural biology of the TNF- α antagonists used in the treatment of rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 1-14.
- Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC (2017).** NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.*, **2**, 1-9.
- Lopez-Castejon G, Brough D (2011).** Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine Growth Factor Rev.*, **22**, 189-195.
- Lugarini F, Hrupka BJ, Schwartz GJ, Plata-Salaman CR, Langhans W (2002).** A role for cyclooxygenase-2 in lipopolysaccharide-induced anorexia in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **283**, 862-868.
- Ma Q (2013).** Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **53**, 401-426.
- Maier NK, Leppla SH, Moayeri M (2015).** The cyclopentenone prostaglandin 15d-PGJ₂ inhibits the NLRP1 and NLRP3 inflammasomes. *J. Immunol.*, **194**, 2776-2785.
- Maldonado RF, Sa-Correia I, Valvano MA (2016).** Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. *FEMS Microbiol Rev.*, **40**, 480-493.
- Manderson AP, Kay JG, Hammond LA, Brown DL, Stow JL (2007).** Subcompartments of the macrophage recycling endosome direct the differential secretion of IL-6 and TNF alpha. *J. Cell Biol.*, **178**, 57-69.
- McAdam E, Haboubi HN, Forrester G, Eltahir Z, Spencer-Harty S, Davies C, Griffiths AP, Baxter JN, Jenkins GJS (2012).** Inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitric oxide (NO) are important mediators of reflux-induced cell signalling in esophageal cells. *Carcinogenesis*, **33(11)**, 2035-2043.
- Meade EA, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM (1999).** Peroxisome proliferators enhance cyclooxygenase-2 expression in epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, **274**, 8328-8334.
- Melli M, Türker RK, Kayaalp SO (2012).** *Eikozanoidler (Araşidonik asit metabolitleri) ve diğer otakoidler*. Editör: KAYAALP S. O. Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13 Baskı. Pelikan Yayıncılık. Ankara, s:1327-1344.
- Miller AJ, Luheshi GN, Rothwell NJ, L Hopkins SJ (1997).** Local cytokine induction by LPS in the rat air pouch and its relationship to the febrile response. *Am. J. Physiol.*, **272(3)**, 857-861.

- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A (1991).** Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.*, **43(9)**, 109-137.
- Mouihate A, Boisse L, Pittman QJ (2004).** A novel antipyretic action of 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J₂ in the rat brain. *J. Neurosci.*, **24(6)**, 1312-1318.
- Muller JM, Ziegler-Heitbrock HW, Baeuerle PA (1993).** Nuclear factor kappa B, a mediator of lipopolysaccharide effects. *Immunobiology*, **187**, 233 -256.
- Murray RZ, Kay JG, Sangermani DG, Stow JL (2005).** A role for the phagosome in cytokine secretion. *Science*, **310**, 1492-1495.
- Nakajima A, Nakajima A, Wada K, Miki H, Kubota N, Nakajima N, Terauchi Y, Ohnishi S, Saubermann LJ, Kadowaki T, Blumberg RS, Nagai R, Matsuhashi N (2001).** Endogenous PPAR- γ mediates anti-inflammatory activity in murine ischemia-reperfusion injury. *Gastroenterology*, **120**, 460-469.
- Narumiya S, Fukushima M (1986).** Site and mechanism of growth inhibition by prostaglandins. I. Active transport and intracellular accumulation of cyclopentenone prostaglandins, a reaction leading to growth inhibition. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **239**, 500-505.
- Narumiya S, Ohno K, Fujiwara M, Fukushima M (1986).** Site and mechanism of growth inhibition by prostaglandins. II. Temperature-dependent transfer of a cyclopentenone prostaglandin to nuclei. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **239**, 506-511.
- Narumiya S, Ohno K, Fukushima M, Fujiwara M (1987).** Site and mechanism of growth inhibition by prostaglandins. III. Distribution and binding of prostaglandin A₂ and Δ^{12} prostaglandin J₂ in nuclei. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **242**, 306-311.
- Naseem S, Iqba R, Munir T (2016).** Role of interleukin-6 in immunity: A Review. *Int. J. Life. Sci. Res.*, **4**, 268-274.
- Ng TB, Liu F, Wang ZT (2000).** Antioxidative activity of natural products from plants. *Life Sci.*, **66**, 709-723.
- Nguyen T, Sherratt PJ, Pickett CB (2003).** Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, **43**, 233-260.
- Nishio K, Horie M, Akazawa Y, Shichiri M, Iwahashi H, Hagihara Y, Yoshida Y, Niki E (2013).** Attenuation of lipopolysaccharide (LPS)-induced cytotoxicity by tocopherols and tocotrienols. *Redox Biol.*, **1**, 97-103.
- Okamoto H, Ito O, Roman RJ, Antal G, Hudetz AG (1998).** Role of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in endotoxin-induced cerebral hyperemia. *Stroke*, **29**, 1209-1218.
- Old LJ (1985).** Tumor necrosis factor (TNF). *Science*, **230**, 630-632.

Olinga P, Merema MT, de Jager MH, Derks F, Melgert BN, Moshage H, Slooff MJH, Meijer DKF, Poelstra K, Groothuis GMM (2001). Rat liver slices as a tool to study LPS-induced inflammatory response in the liver. *J. Hepatol.*, **35**, 187-194.

Oliva JL, Pérez-Sala D, Castrillo A, Martínez N, Cañada FJ, Bosca L, Rojas JM (2003). The cyclopentenone 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J_2 binds to and activates H-Ras. *PNAS*, **100(8)**, 4772-4777.

Olmos G, Lladó J (2014). Tumor necrosis factor alpha: a link between neuroinflammation and excitotoxicity. *Med. Inflamm.*, Article ID 861231, 1-12.

Özdamar K (2003). SPSS ile Biyoistatistik. 5.Baskı. Kaan Kitapevi. Eskişehir.

Pahan K, Sheikh FG, Namboodiri AM, Singh I (1998). N-acetyl cysteine inhibits induction of NO production by endotoxin or cytokine stimulated rat peritoneal macrophages, C6 glial cells and astrocytes. *Free Radic. Biol. Med.*, **24**, 39-48.

Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S (1988). Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, **333**, 664-666.

Pérez-Sala D, Cernuda-Morollón E, Pineda-Molina E, Cañada FJ (2002). Contribution of covalent protein modification to the antiinflammatory effects of cyclopentenone prostaglandins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **973**, 533-536.

Piccioli P, Rubartelli A (2013). The secretion of IL-1 β and options for release. *Sem. Immunol.*, **25**, 425-429.

Pirinçci İ (2013). *Prostanoidler*. Editör: Kaya S. Veteriner Farmakoloji. 5 Baskı. Medisan Yayınevi. Ankara, s:15-26.

Raetz CRH, Whitfield C (2002). Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.*, **71**, 635-700

Ren K, Torres R (2009). Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. *Brain Res. Rev.*, **60(1)**, 57-64.

Ricciotti E, FitzGerald GA (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, **31(5)**, 986-1000.

Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK (1998). The peroxisome proliferator-activated receptor- γ is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, **391**, 79-82.

Rishikesh MK, Sadhana SS (2003). Prostaglandins and cyclooxygenase: Their probable role in cancer. *Indian J. Pharmacol.*, **35**, 3-12.

Rossi A, Kapahi P, Natoli G, Takahashi T, Chen Y, Karin M, Santoro MG (2000). Anti-inflammatory cyclopentenone prostaglandins are direct inhibitors of I κ B kinase. *Nature*, **403**, 103-108.

- Santoro MG (1997).** Antiviral activity of cyclopentenone prostanoids. *Trends Microbiol.*, **5**, 276-281.
- Sarraf P, Mueller E, Smith WM, Wright HM, Kum JB, Aaltonen LA, Chapelle A, Spiegelman BM, Eng C (1999).** Loss-of-function mutations in PPAR- γ associated with human colon cancer. *Mol Cell*, **3**, 799-804.
- Sawano H, Haneda M, Sugimoto T, Inoki K, Koya D, Kikkawa R (2002).** 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ inhibits IL-1 β -induced cyclooxygenase-2 expression in mesangial cells. *Kidney Int.*, **61**, 1957-1967.
- Scher JU, Pillinger MH (2005).** 15d-PGJ₂: The anti-inflammatory prostaglandin? *Clin. Immunol.*, **114**, 100-109.
- Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA (2004).** Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.*, **75**, 163-189.
- Shibata T (2015).** 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ as an electrophilic mediator. *Biosci Biotechnol. Biochem.*, **79**(7), 1044-1049.
- Shibata T, Yamada T, Ishii T, Kumazawa S, Nakamura H, Masutani H, Yodoi J, Uchida K (2003).** Thioredoxin as a molecular target of cyclopentenone prostaglandins. *J. Biol. Chem.*, **278**, 26046-26054.
- Sivarajah A, Chatterjee PK, Patel NS, Todorovic Z, Hattori Y, Brown PA, Stewart KN, Mota-Filipe H, Cuzzocrea S, Thiemermann C (2003).** Agonists of peroxisome-proliferator activated receptor- γ reduce renal ischemia/reperfusion injury. *Am. J. Nephrol.*, **23**, 267-276.
- Spiegelman BM (1998).** PPAR- γ : Adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*, **47**, 507-514.
- Stamatakis K, Sánchez-Gómez FJ, Pérez-Sala D (2004).** Protein modification by cyclopentenone prostaglandin addition: Biological actions and therapeutic implications. *Gene Ther. Mol. Biol. Vol.*, **8**, 241-258.
- Steven S, Dib M, Roohani S, Kashani F, Münzel T, Daiber A (2017).** Time response of oxidative/nitrosative stress and inflammation in LPS-induced endotoxaemia-a comparative study of mice and rats. *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, 1-12.
- Stoclet JC, Muller B, Andriantsitohaina R, Kleschyov A (1998).** Overproduction of nitric oxide in pathophysiology of blood vessels. *Biochemistry (Mosc)*, **63**, 826-832.
- Straus DS, Glass CK (2001).** Cyclopentenone prostaglandins: New insights on biological activities and cellular targets. *Med. Res. Rev.*, **21**(3), 185-210.
- Straus DS, Pang KJ (1984).** Effects of bradykinin on DNA synthesis in resting NIL8 hamster cells and human fibroblasts. *Exp. Cell. Res.*, **151**, 87-95.

Su, CG, Wen X, Bailey ST, Jiang W, Rangwala SM, Keilbaugh SA, Flanigan A, Murthy S, Lazar MA, Wu GD (1999). A novel therapy for colitis utilizing PPAR- γ ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. *J. Clin. Invest.*, **104**, 383-389.

Sugiura S, Toru T, Tanaka T, Hazato A, Okamura N, Bannai K, Manabe K, Kurozumi S, Noyori R (1984). Synthesis of new antineoplastic prostaglandins. *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4658-4661.

Suh N, Honda T, Finlay HJ, Barchowsky A, Williams C, Benoit NE, Xie Q, Nathan C, Gribble GW, Sporn MB (1998). Novel triterpenoids suppress inducible nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in mouse macrophages. *Cancer Res.*, **58**, 717-723.

Surh YJ, Na HK, Park JM, Lee HN, Kim W, Yoon IS, Kim DD(2011). 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂, an electrophilic lipid mediator of anti-inflammatory and pro-resolving signaling. *Biochem. Pharmacol.*, **82(10)**, 1335-1351.

Suzuki M, Kiho T, Furuta K, Fukushima S, Takeuchi Y, Noyori R(1997). Δ^7 -Prostaglandin C₁: A primary metabolite of antitumor Δ^7 -prostaglandin A₁ in sera. *Tetrahedron*, **53**, 17009-17014.

Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold. Spring Harb Perspect. Biol.*, **6(10)**, 1-16.

Thieringer R, Fenyk-Melody JE, Le Grand CB, Shelton BA, Detmers PA, Somers EP, Carbin L, Moller DE, Wright SD, Berger J (2000). Activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ does not inhibit IL-6 or TNF- α responses of macrophages to lipopolysaccharide in vitro or in vivo. *J. Immunol.*, **164**, 1046-1054.

Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, Hariri RJ, Fahey TJ III, Zentella A, Albert JD, Shires GT, Cerami A (1986). Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science*, **234**, 470-474.

Turini ME, DuBois RN (2002). Cyclooxygenase-2: A therapeutic target. *Annu. Rev. Med.*, **53**, 35-57.

Türköz Y, Özerol E (1997). Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*, **4(4)**, 453-461.

Varatharaj A, Galea I (2017). The blood-brain barrier in systemic inflammation. *Brain Behav. Immun.*, **60**, 1-12.

Wahby MM, Yacout G, Kandeel K, Awad D (2015). LPS-induced oxidative inflammation and hyperlipidemia in male rats: The protective role of *Origanum majorana* extract. *JBAS*, **4**, 291-298.

Wall SB, Oh JY, Diers AR, Landar A (2012). Oxidative modification of proteins: an emerging mechanism of cell signaling. *Front. Physiol*, **3(369)**, 1-8.

Wang X and Quinn PJ (2010). Endotoxins: Lipopolysaccharides of gram-negative bacteria. *Subcell Biochem.*, **53**, 3-25.

Wayman NS, Hattori Y, McDonald MC, Mota-Filipe H, Cuzzocrea S, Pisano B, Chatterjee PK, Thiemermann C (2002). Ligands of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR- γ and PPAR- α) reduce myocardial infarct size. *Faseb J.*, **16**, 1027-1040.

Westura EE, Kannegiesser H, O'Toole JD, Lee JB (1970). Antihypertensive effects of prostaglandin A₁ in essential hypertension. *Circ Res.*, **27**, 1, I131-I140.

Wu M, Chen W, Yu X, Ding D, Zhang W, Hua H, Xu M, Meng X, Zhang X, Zhang Y, Zhang A, Jia Z, Songming Huang S (2018). Celastrol aggravates LPS- induced inflammation and injuries of liver and kidney in mice. *Am. J. Transl. Res.*, **10(7)**, 2078-2086.

Yao C, Li X, Murdiastuti K, Kosugi-Tanaka C, Akamatsu T, Kanamori N and Hosoi K (2005). Lipopolysaccharide-induced elevation and secretion of interleukin-1b in the submandibular gland of male mice. *Immunology*, **116**, 213-222.

Yazar E, Col R, Uney K, Atalay B, Elmas M, Tras B (2004). Effect of pentoxifylline on biochemical parameters in endotoxaemic New Zealand White Rabbits. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, **48**, 297-299.

Zhang DD, Hannink M (2003). Distinct cysteine residues in KeaP1 are required for KeaP1-dependent ubiquitination of Nrf2 and for stabilization of Nrf2 by chemopreventive agents and oxidative stress. *Mol Cell Biol.*, **23**, 8137-8151.

Zhang X, Lu L, Dixon C, Wilmer W, Song H, Chen X, Rovin BH (2004). Stress protein activation by the cyclopentenone prostaglandin 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ - prostaglandin J₂ in human mesangial cells. *Kidney Int.*, **65**, 798-810.

Zhao G, Yu R, Deng J, Zhao Q, Li Y, Joo M, Van Breemen RB, Christman JW, Xiao L (2013). Pivotal role of reactive oxygen species in differential regulation of lipopolysaccharide-induced prostaglandins production in macro-phages. *Mol. Pharmacol.*, **83**, 167-178.

Zhuang H, Pin S, Li X, Doré S (2003). Regulation of heme oxygenase expression by cyclopentenone prostaglandins. *Exp. Biol. Med.*, **228(5)**, 499-505.

Zia P, Golub M, Horton R (1975). A radioimmunoassay for prostaglandin A₁ in human peripheral blood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **41**, 245-252.

Ziegler-Heitbrock HW, Sternsdorf T, Liese J, Belohradsky B, Weber C, Wedel A, Schreck R, Bauerle P, Strobel M (1993). Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits NF-kappa B mobilization and TNF production in human monocytes. *J. Immunol.*, **151**, 6986-6993.

Zuckerman SH, Shellhaas J, Butler LD (1989). Differential regulation of lipopolysaccharide-induced interleukin 1 and tumor necrosis factor synthesis: effects of endogenous and exogenous glucocorticoids and the role of the pituitary-adrenal axis. *Eur. J. Immunol.*, **19**, 301-305.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ecem Öztürk
Doğum Yeri ve Yılı : Menemen / İZMİR – 1993
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce (YÖKDİL : 65)
Uyruğu : T.C.
Telefon No : 0 537 045 77 54
Elektronik Posta : eccemozturkk@gmail.com
İletişim Adresi : Mansuroğlu mah. 273/1 sok. 36/4 B
Daire: 4, Bayraklı / İZMİR



Eğitim Durumu

Lisans : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Yüksek Lisans : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü
Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Ege Süslü Et (Kasım 2017-Nisan 2018)
2. Funtastic Aquariums (Ağustos 2018-Kasım 2018)