



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**LİPOLİSAKKARİT İLE SIÇANLARDA OLUŞTURULAN
SEPTİK ŞOK MODELİNDE NİTRİK OKSİT ARACILIKLI
HİPOTANSİYONA ÜROTENSİN-II RESEPTÖRÜNÜN
KATKISININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUHAMMED AHMED-REDA ELOSMAN

ECZACILIK FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

MERSİN
EKİM-2024

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**LİPOPOLİSAKKARİT İLE SIÇANLARDA OLUŞTURULAN
SEPTİK ŞOK MODELİNDE NİTRİK OKSİT ARACILIKLI
HİPOTANSİYONA ÜROTENSİN-II RESEPTÖRÜNÜN
KATKISININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUHAMMED AHMED-REDA ELOSMAN

**DANIŞMAN
PROF. DR. BAHAR TUNÇTAN**

ECZACILIK FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**MERSİN
EKİM-2024**

ÖZET

LİPOLİSAKKARİT İLE SIÇANLARDA OLUŞTURULAN SEPTİK ŞOK MODELİNDE NİTRİK OKSİT ARACILIKLI HİPOTANSİYONA ÜROTENSİN-II RESEPTÖRÜNÜN KATKISININ ARAŞTIRILMASI

Bu tezde, sıçanlarda lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan septik şok modelinde, ürotensin (*urotensin*; U)-II reseptörü (UT)'nin nitrik oksit (NO) aracılıklı hipotansiyona katkısının *toll* benzeri reseptör (*toll-like receptor*; TLR) 4/miyeloit farklılaşma birincil yanıt proteini (*myeloid differentiation primary response protein*; MyD) 88/nükleer faktör (NF)- κ B/ indüklenbilir NO sentaz (iNOS) yolu ve pro-enflamatuvar sitokin ekspresyonu ile ilişkilendirilerek araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmalarda, sıçana seçici peptit yapısında bir UT antagonisti olan SB-710411 kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan sıçanlar 6 gruba ayrılmıştır: (1) Serum fizyolojik (SF) (4 ml/kg; intraperitoneal [i.p.]) (kontrol grubu), (2) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) (septik şok grubu), (3) SF (4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.01 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.), (4) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.0001 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.), (5) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.001 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) ve (6) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.01 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.). SB-710411, SF veya LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanmıştır. SF veya LPS uygulanmasından önce ve 1, 2, 3 ve 4 saat sonra ortalama arter basıncı (OAB) ve kalp hızı (KH) kayıtları alınmıştır. SF veya LPS enjeksiyonundan 4 saat sonra OAB ve KH ölçümlerinin alınmasının ardından, anestezi edilen sıçanlardan kan alınmış ve torasik aort (TA), renal arter (RA), kalp ile böbrek izole edilmiştir. Kanlardan ayrılan serum örneklerinde U-II düzeylerinin ölçülmesi için *enzyme-linked immunosorbent assay* kiti kullanılmıştır. Serum nitrit düzeyleri diazotizasyon yöntemi ile ölçülmüştür. TA, RA, kalp ve böbrek dokularında U-II, G proteini reseptörü (GPR) 14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS, interleukin (*interleukin*; IL)-1 β , α -düz kas aktini, α -iskelet kası aktini ve β -aktin ulak ribonükleik asit ekspresyonunun belirlenmesi için *real time*-polimeraz zincir tepkimesi yöntemi kullanılmıştır. Sıçanlara LPS enjeksiyonundan 4 saat sonra OAB 44 mm/Hg azalmış, KH 130 atım/dakika artmıştır. LPS uygulanan sıçanların serumlarında U-II ve nitrit düzeylerinin yanı sıra, kardiyovasküler ve renal dokularında U-II, GPR14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS ve IL-1 β ekspresyonu artmıştır. SB-710411 (0.01 mg/kg), serum nitrit düzeyindeki artma dışında, LPS'nin neden olduğu bu değişiklikleri önlemiştir. Bu bulgular, LPS ile sıçanlarda oluşturulan septik şok modelinde, kardiyovasküler ve renal sistem ile ilişkili dokularda pro-enflamatuvar sitokin ekspresyonunda artmanın eşlik ettiği TLR4/MyD88/NF- κ B/iNOS/NO yolu aracılıklı hipotansiyona UT'nin katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Lipopolisakkarit; Septik şok; Hipotansiyon; Ürotensin-II reseptörü; SB-710411; Sıçan

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE CONTRIBUTION OF UROTENSIN-II RECEPTOR TO NITRIC OXIDE-MEDIATED HYPOTENSION IN LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED SEPTIC SHOCK MODEL IN RATS

In this thesis, the contribution of urotensin (U)-II receptor (UT) to nitric oxide (NO)-mediated hypotension in the septic shock model induced by LPS in rats by associating it with the toll-like receptor (TLR) 4/myeloid differentiation primary response protein (MyD) 88/nuclear factor (NF)- κ B/inducible NO synthase (iNOS) pathway and pro-inflammatory cytokine formation was investigated. In the studies to be carried out for this purpose, SB-710411, a UT antagonist in a rat-selective peptide structure, was used. The rats used in the experiments were divided into 6 groups: (1) Saline (4 ml/kg; intraperitoneal [i.p.]) (control group), (2) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) (septic shock group), (3) saline (4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.01 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.), (4) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.0001 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.), (5) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.001 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.), and (6) LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.01 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.). SB-710411 was administered 1 hour after an injection of SF or LPS. Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were recorded from rats that received either saline or LPS before and after 1, 2, 3, and 4 hours. The thoracic aorta (TA), renal artery (RA), heart, and kidney were isolated after blood collection of anesthetized rats, followed by MAP and HR measurements 4 hours after SF or LPS injection. U-II levels in serum samples separated from blood were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay kit. Serum nitrite levels were measured by the diazotization method. To determine messenger ribonucleic acid expression of U-II, G protein receptor (GPR) 14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS, interleukin (IL)-1 β , α -smooth muscle actin, α -skeletal muscle actin, and β -actin in TA, RA, heart, and kidney tissues was used the real time-polymerase chain reaction method. MAP decreased by 44 mmHg, and HR increased by 130 beats/minute 4 hours after LPS injection. In addition to the levels of U-II and nitrite in the sera of rats administered LPS, the expression of U-II, GPR14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS, and IL-1 β increased in their cardiovascular and renal tissues. SB-710411 (0.01 mg/kg) prevented these LPS-induced changes, except for the increased serum nitrite level. These findings suggested that UT may contribute to hypotension mediated by the TLR4/MyD88/NF- κ B/iNOS/NO pathway, accompanied by an increase in pro-inflammatory cytokine expression in tissues related to the cardiovascular and renal systems, in the LPS-induced septic shock model in rats.

Keywords: Lipopolysaccharide; Septic shock; Hypotension; Urotensin-II receptor; SB-710411; Rat

TEŞEKKÜR

Sayın **Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN'a**,

Yüksek lisans eğitimimde ışık tutan, sadece bilgi ve deneyimleriyle değil aynı zamanda insanlığıyla da beni etkileyen değerli hocam, size olan minnettarlığımı ifade etmek için kelimeler yetersiz kalıyor. Her zaman rehberim, yol göstericim oldunuz; bilimsel katkılarınız ve desteklerinizle beni büyüttünüz. İlkeli duruşunuz ve örnek kişiliğinizle hayatıma değer katan bir öğretmensiniz.

Sayın **Prof. Dr. Seyhan ŞAHAN FIRAT'a**,

Ana Bilim Dalı Başkanımız olarak gösterdiğiniz liderlik ve bilgi birikiminizle beni yönlendirdiğiniz için teşekkür ederim. Bilgi ve deneyimlerinize dolu olan bu yolculukta güler yüzünüz ve pozitif enerjiniz benim için ilham kaynağı oldu.

Sayın **Dr. Şefika Pınar ŞENOL'a**,

Laboratuvar deneylerim sırasında gösterdiğiniz yakın ilgi ve yardımlarınız için teşekkür ederim. Profesyonellikle birleşen samimiyetiniz, çalışmalarımı daha verimli ve keyifli kıldı. Her sorumla ilgilendiğiniz ve deneyimlerinizi paylaştığınız için minnettarım.

Sayın **Dr. Dilşah Ezgi YILMAZ'a**,

Size sağlık alanındaki bilgi ve deneyimlerinize katkıda bulunduğunuz için teşekkür ederim. Mesleki bilgilerinizle beni donattınız ve bu süreçte yanımda olduğunuz için minnettarım.

Canım **annem Rajaa HAC MOSA ve babam Ahmed-Reda ELOSMAN'a**,

Tüm yaşamım boyunca varlığınızla bana güç verdiğiniz, sevginizle aydınlattığınız için size minnettarım. Dünyanın en fedakâr anne ve babası olarak, benim yanımda olduğunuz her an için teşekkür ederim. Sizsiz olmazdım.

Canım abim **Dr. Osman ELOSMAN'a**,

Türkiye'ye geldiğim andan itibaren bana her zaman sahip çıkan, maddi ve manevi desteklerini asla esirgemeyen kıymetli abime en içten teşekkürlerimi sunuyorum. Senin varlığın, bu zorlu yolculuğu hem anlamlı hem de katlanılabilir kıldı. Her adımında yanımda olman, zor anlarımda bana güç vermen ve sağladığın destekler için ne kadar teşekkür etsem az. Seninle gurur duyuyor ve her daim yanımda olduğun için minnettarım. İyi ki varsın, iyi ki benim abimsin.

Sevgili **kardeşlerim Razen ve Abdullah'a**,

Bu süreç boyunca yanımda olduğunuz, her anımda desteğinizi hissettiğim için sizlere minnettarım. Sevginiz, bana her zorluğun üstesinden gelmemde güç verdi. Birlikte geçirdiğimiz her an, kalbimde özel bir yere sahip. Sizi çok seviyorum!

Sevgili **arkadaşlarım Ecz. Elif İKİZ, Ecz. Parinaz AMİNİ DIDANİ**, deneylerimdeki destek ve yardımlarınız için hepinize teşekkür ediyorum. Sizinle çalışmak, bu süreci daha kolay ve keyifli hale getirdi. İyi ki varsınız!

Hepinizin katkıları, beni bu önemli aşamaya getirmemde kilit bir rol oynadı. Her birinize minnettarım ve size olan borcumu bir ömür boyu unutmayacağım. Sizlerin sayesinde, kendimi geliştirdim, öğrendim ve büyüdüm.

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminin 2023-2-TP2-4926 ve TÜBİTAK tarafından 224S828 proje numaraları ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	8
2.1. Septik Şok	8
2.1.1. Epidemiyolojisi	12
2.1.2. Etiyolojisi	12
2.1.3. Fiziopatolojisi	14
2.1.4. Tedavisi	16
2.2. Ürotensinerjik Sistem	17
2.2.1. Özellikleri	17
2.2.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi	17
2.2.3. Fiziopatolojik Olaylardaki Rolü	18
2.3. TLR4	22
2.3.1. Özellikleri	22
2.3.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi	22
2.3.3. Fiziopatolojik Olaylardaki Rolü	25
2.4. MyD88	26
2.4.1. Özellikleri	26
2.4.2. Ekspresyonunun Düzenlenmesi	26
2.4.3. Fiziopatolojik Olaylardaki Rolü	27
2.5. NF-κB	29
2.5.1. Özellikleri	29
2.5.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi	30
2.5.3. Fiziopatolojik Olaylardaki Rolü	35

	Sayfa
2.6. iNOS	35
2.6.1. Özellikleri	35
2.6.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi	42
2.6.3. Fiziopatolojik Olaylardaki Rolü	45
2.7. IL-1 β	54
2.7.1. Özellikleri	54
2.7.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi	54
2.7.3. Fiziopatolojik Olaylardaki Rolü	59
3. MATERYAL ve YÖNTEM	60
3.1. Materyal	60
3.1.1. Etik Kurul Onayı	60
3.1.2. Deney Hayvanı	60
3.1.3. Sarf Malzemesi	60
3.1.4. Teçhizat	62
3.2. Yöntem	63
3.2.1. <i>In Vivo</i> Çalışmalar	63
3.2.1.1. Septik Şok Modelinin Oluşturulması, SB-710411 Uygulanması ve SB-710411'in En Düşük Etkili Dozunun Belirlenmesi	63
3.2.1.2. Kan Alınması, TA, RA, Kalp ve Böbrek İzolasyonu, Serum ile Doku Örneklerinin Hazırlanması	65
3.2.2. <i>Ex Vivo</i> Çalışmalar	66
3.2.2.1. Serum U-II ve Nitrit Düzeylerinin Ölçülmesi	66
3.2.2.2. TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında mRNA İzolasyonu ve RT-PCR Çalışmalarının Yapılması	66
3.2.2.3. Verilerin Analizi ve Sonuçların Yorumlanması	67
4. BULGULAR	72
4.1. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların OAB ve KH Değerleri Üzerinde SB-710411'in Etkisi	72
4.2. SF ve/veya LPS ile Birlikte SB-710411 Uygulanan Sıçanlardan İzole Edilen TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen α -Düz Kas Aktini, α -İskelet Kası Aktini ve β -Aktin mRNA Ekspresyonu	75
4.3. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların Serumlarında Ölçülen U-II Düzeyleri ile TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen U-II mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi	77
4.4. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen GPR14 mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi	81
4.5. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen TLR4 mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi	83

	Sayfa
4.6. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen MyD88 mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi	85
4.7. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen NF-κB mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi	87
4.8. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların Serumlarında Ölçülen Nitrit Düzeyleri ile TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen iNOS mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi	89
4.9. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen IL-1β mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi	93
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	95
KAYNAKLAR	99
EKLER (Etik Kurul Onay Belgesi)	129
ÖZGEÇMİŞ	131

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Sepsis-1'e göre, konakta enfeksiyona maruziyet sonucunda başlayan ve ÇOYS'a dek gidebilen durumlar ile ilgili tanımlar	9
Tablo 2.2. Sepsis-3'e göre, SOFA puanları	10
Tablo 2.3. Sepsis-2'ye göre, sepsis, organ işlev bozukluğu ve septik şok ile ilgili tanımlar	11
Tablo 2.4. Memeli NOS izoformlarının bazı özellikleri	37
Tablo 3.1. α -Düz kas aktini, α -iskelet kası aktini, β -aktin, U-II, GPR14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS ve IL-1 β mRNA ekspresyonunun ölçülmesinde kullanılan oligonükleotit dizileri ve termal döngü parametreleri	67
Tablo 4.1. Kontrol ve endotoksemik sıçanların OAB ve KH değerleri üzerinde SB-710411'nin etkisi	73
Tablo 4.2. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen α -düz kas aktini, α -iskelet kası aktini ve β -aktin mRNA ekspresyonu	76
Tablo 4.3. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen U-II düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi	77
Tablo 4.4. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen U-II mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	78
Tablo 4.5. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen GPR14 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	81
Tablo 4.6. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen TLR4 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	83
Tablo 4.7. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen MyD88 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	85
Tablo 4.8. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen NF- κ B mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	87
Tablo 4.9. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen nitrit düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi	89
Tablo 4.10. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen iNOS mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	90
Tablo 4.11. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen IL-1 β mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	93

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Gram-negatif bakteride hücre duvarının yapısı	11
Şekil 2.2. Sepsisin etiyolojisi ve heterojenliğine katkıda bulunan konağa, enfeksiyona, kontrol edilemeyen konak yanıtına ve çoklu organ işlev bozukluğuna ilişkin etkenler	13
Şekil 2.3. Memeli bir konakta enflamasyon ile sonuçlanan LPS/TLR4 aracılıklı sinyal ileti yolu	15
Şekil 2.4. UT'nin etkinleşmesinin ardından tetiklenen karmaşık ve çoklu sinyal ileti yolları	18
Şekil 2.5. U-II'nin pro-enflamatuvar etkisinin mekanizmaları	19
Şekil 2.6. Damar düz kas hücrelerinde intraselüler sinyalleici mekanizmalar ve U-II ile öteki vazodilatör moleküller arasındaki etkileşimler	20
Şekil 2.7. LPS'nin neden olduğu TLR4 kompleks oluşumu	23
Şekil 2.8. LPS'ye yanıt olarak TLR4'e bağımlı pro-enflamatuvar sinyal ileti yolunun etkinleşmesi	24
Şekil 2.9. Lipit A ile TLR4/MD-2 kompleksinin etkinleşmesi ve inhibisyonu	25
Şekil 2.10. TLR4-MD-2 tarafından LPS'nin tanınmasının ardından midozom oluşumu	27
Şekil 2.11. Çeşitli hücrelerin özgül işlevlerine aracılık eden MyD88 sinyal ileti yolları	28
Şekil 2.12. NF-κB ailesi üyelerinin içerdikleri alanlar	29
Şekil 2.13. Klasik ve klasik olmayan NF-κB yolları	31
Şekil 2.14. Klasik ve klasik olmayan NF-κB yollarının biyolojik işlevleri	33
Şekil 2.15. NF-κB etkinliğinin düzenlenmesi	34
Şekil 2.16. Çeşitli organları ve sistemleri etkileyen hastalıkların patojenezinde NF-κB'nin rolü	36
Şekil 2.17. Arjinaz ve NOS aracılıklı yarışmalı arjinin metabolizması	39
Şekil 2.18. L-Arjininin L-arnitin/üre veya L-sitrülin/NO'ya katabolizması, poliaminlerin oluşumu ile prolinin anabolizması ve katabolizması	40
Şekil 2.19. ARG1 ve ARG2 aracılıklı L-arjinin metabolizmasında fizyolojik yollar	41
Şekil 2.20. DDAH1, arjinaz ve NOS yolları	42
Şekil 2.21. iNOS ekspresyonu ve işlevini kontrol eden transkripsiyon, translasyon ve transkripsiyon sonrası mekanizmalar	43
Şekil 2.22. İnsanlarda iNOS ekspresyonu ve iNOS aracılıklı NO oluşumunun düzenlenmesi	44
Şekil 2.23. Değişik aşamalarda iNOS ekspresyonunun ve etkinliğinin düzenlenmesi	45
Şekil 2.24. Kardiyovasküler dokularda NOS-NO sinyal ileti yolu	46
Şekil 2.25. NO ve öteki biyolojik olarak etkili nitrojen türlerinin, siklik GMP'ye bağımlı ve bağımsız sinyal ileti yollarının etkinleşmesi sonucunda ortaya çıkan kardiyovasküler, renal ve metabolik etkiler	47

	Sayfa
Şekil 2.26. NO ve/veya öteki biyolojik olarak etkili nitrojen türlerinin, siklik GMP'den bağımsız sinyal ileti yollarının etkinleşmesi sonucunda ortaya çıkan etkiler	48
Şekil 2.27. Fizyolojik ve patolojik koşullarda NO tarafından kardiyak miyosit işlevinin düzenlenmesi	50
Şekil 2.28. Fizyolojik ve patolojik koşullarda NO tarafından kardiyak miyosit işlevinin düzenlenmesi	51
Şekil 2.29. NO/çGS/siklik GMP sinyal ileti yolunun bozulmasına bağlı olarak gelişen kardiyak ve endotelial işlev bozukluğu	51
Şekil 2.30. Septik miyokardiyal işlev bozukluğunun fizyopatolojisinde iNOS, reaktif nitrojen/oksijen türleri, sitokinler, eikozanoitler ve endotelinlerin rolü	52
Şekil 2.31. Sepsisin neden olduğu akut böbrek zedelenmesinde NO'nun zararlı etkileri	53
Şekil 2.32. NO biyoyararlanımındaki azalmayı düzeltmeye yönelik yaklaşımlar	53
Şekil 2.33. IL-1 ailesi üyelerinin hücrel kaynakları ve konak savunmasındaki rolleri	55
Şekil 2.34. Enflamasyon ve bağışıklık yanıtında IL-1 alt ailesi üyeleri agonistleri ve antagonistleri arasındaki denge	56
Şekil 2.35. LPS'ye yanıt olarak IL-1β'nin sentezi, salıverilmesi ve tetiklediği sinyal ileti yolları	57
Şekil 2.36. IL-1β'nin sentezi ve salıverilmesi	58
Şekil 2.37. IL-1β aracılıklı enflamasyonun hücrel ve moleküler mekanizmaları	59
Şekil 4.1. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) OAB ve (B) KH değerleri üzerinde SB-710411'nin etkisi	74
Şekil 4.2. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen U-II düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi	79
Şekil 4.3. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen U-II mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	80
Şekil 4.4. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen GPR14 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	82
Şekil 4.5. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen TLR4 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	84
Şekil 4.6. Kontrol ve endotoksemik sıçanların arteriyel, kardiyak ve renal dokularında ölçülen MyD88 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	86
Şekil 4.7. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen NF-κB mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	88
Şekil 4.8. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen nitrit düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi	91
Şekil 4.9. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen iNOS mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	92
Şekil 4.10. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen IL-1β mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi	94

Şekil 5.1. Sıçanlarda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde, UT antagonisti SB-710411'in pro-enflamatuvar sitokin ekspresyonunda artmanın eşlik ettiği TLR4/MyD88/NF- κ B/iNOS/NO yolu aracılıklı hipotansiyon üzerindeki etkisi ile ilgili olarak önerilen mekanizma

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simgesi	Tanım
α	Alfa (<i>Alpha</i>)
β	Beta
β_1	β_1 -Adrenerjik reseptör (<i>β_1-Adrenergic receptor</i>)
δ	Delta
γ	Gama (<i>Gamma</i>)
κ	Kapa (<i>Kappa</i>)
ζ	Zeta
μ	Mi (<i>Mi</i>)
20-HETE	20-Hidroksieikozatetraenoik asit
5-HT	5-Hidroksitriptamin (<i>5-Hydroxytryptamine</i>)
A20	Tümör nekrozlaştırıcı faktör alfa ile indüklenen protein 3 (<i>Tumor necrosis factor alpha-induced protein 3</i>)
aa	Amino asit (<i>Amino acid</i>)
ACh	Asetilkolin (<i>Acetylcholine</i>)
AD	Etkinleşme alanı (<i>Activation domain</i>)
ADC	Arjinin dekarboksilaz (<i>Arginine decarboxylase</i>)
ADMA	Asimetrik dimetilarjinin (<i>Asymmetric dimethylarginine</i>)
ADP	Adenozin difosfat (<i>Adenosine diphosphate</i>)
AGAT	L-arjinin:glisin amidinotransferaz (<i>L-Arginine:glycine amidinotransferase</i>)
AGE	İleri glikasyon son ürünleri (<i>Advanced glycation endproducts</i>)
AHR	Hava yolu aşırı tepkisi (<i>Airway hyperreactivity</i>)
Akt	Protein kinaz B (<i>Protein kinase B</i>)
ALI	Akut akciğer zedelenmesi (<i>Acute lung injury</i>)
Ang	Anjiyotensin II (<i>Angiotensin II</i>)
Ang II	Anjiyotensin II (<i>Angiotensin II</i>)
ANKR	C ucu ankirin yinelenmeleri (<i>C-Terminal ankyrin repeats</i>)
AP	Etkinleştirici protein (<i>Activator protein</i>)
ARE	Adenilat-üridilattan zengin element (<i>Adenylate-uridylate-rich element</i>)
ARG	Arjinaz (<i>Arginase</i>)
Arg	Arjinin (<i>Arginine</i>)
ANOVA	Varyans analizi (<i>Analysis of variance; ANOVA</i>)
ASC	Apoptozla ilişkili nokta benzeri protein içeren bir kaspaz biriktirici alan (<i>Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment</i>)

Kısaltma/Simge	Tanım
	<i>domain)</i>
ASL	Arjininosüksinat liyaz (<i>Argininosuccinate synthase</i>)
asRNA	Antisens ribonükleik asit (<i>Antisense ribonucleic acid</i>)
ASS	Arjininosüksinat sentaz (<i>Argininosuccinate lyase</i>)
AT ₁	Anjiyotensin II tip 1 reseptör (<i>Angiotensin II type 1 receptor</i>)
AT ₂	Anjiyotensin II tip 2 reseptör (<i>Angiotensin II type 2 receptor</i>)
ATP	Adenozin trifosfat (<i>Adenosine triphosphate</i>)
AUF	Adenilat-üridilattan zengin element/poli(U)-bağlayıcı/degradasyon faktörü (<i>Adenylate-uridylate-rich element/poly(U)-binding/degradation factor</i>)
BAFF	B hücresi etkinleştirici faktör (<i>B-Cell activating factor</i>)
BAFF-R	B hücresi etkinleştirici faktör reseptörü (<i>B-Cell activating factor receptor</i>)
Bcl	B hücresi lenfoma protein (<i>B-Cell lymphoma protein</i>)
BCL	B hücresi lenfoma protein (<i>B-Cell lymphoma protein</i>)
BCR	Kesme noktası kümesi bölge proteini (<i>Breakpoint cluster region protein</i>)
BH ₂	Dihidrobiyopterin (<i>Dihydrobiopterin</i>)
BH ₄	Tetrahidrobiyopterin (<i>Tetrahydrobiopterin</i>)
BH4	Tetrahidrobiyopterin (<i>Tetrahydrobiopterin</i>)
BLNK	B hücresi bağlayıcısı (<i>B cell linker</i>)
bp	Baz çifti (<i>Base pair</i>)
BTK	Bruton tirozin kinaz (<i>Bruton tyrosine kinase</i>)
C/EBP	CCAAT artırıcı bağlayıcı protein (<i>CCAAT-enhancer-binding protein</i>)
Ca	Kalsiyum (<i>Calcium</i>)
Ca ²⁺	Kalsiyum iyonu (<i>Calcium ion</i>)
Ca ²⁺	Kalsiyum iyonu (<i>Calcium ion</i>)
CAF	Kanser ile ilişkili fibroblastlar (<i>Cancer-associated fibroblasts</i>)
CaMKII	Kalsiyum/kalmoduline bağımlı protein kinaz II (<i>Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II</i>)
CARD	Kaspaz biriktirici ve etkinleştirici alan (<i>Caspase-recruitment and activation domain</i>)
CARMA	Kaspaz biriktirici alan aile üyesi (<i>Caspase recruitment domain family member</i>)
CAT	Katyonik amino asit taşıyıcısı (<i>Cationic amino acid transporter</i>)
Cav	Kaveolin (<i>Caveolin</i>)

Kısaltma/Simge	Tanım
CBP	Siklik adenosin monofosfat yanıt elementi bağlayıcı proteini bağlayıcı protein (<i>Cyclic adenosine monophosphate-response element binding protein-binding protein</i>)
CCL	Kemokin (C-C) motif ligandı (<i>Chemokine [C-C motif] ligand</i>)
CD40L	Farklılaşma kümesi 40 ligandı (<i>Cluster of differentiation 40 ligand</i>)
CD	Farklılaşma kümesi (<i>Cluster of differentiation</i>)
cDNA	Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit (<i>Complementary deoxyribonucleic acid</i>)
cds	Kodlama sırası (<i>Coding sequence</i>)
cGMP	Siklik guanozin monofosfat (<i>Cyclic guanosine monophosphate</i>)
CHIP	Isı şok proteini 70 ile etkileşen proteinin COOH ucu (<i>COOH terminus of heat shock protein 70-interacting protein</i>)
ciAP	Apopitozun hücresel inhibitörü (<i>Cellular inhibitor of apoptosis</i>)
CLP	Çekumun bağlanması ve delinmesi (<i>Cecal ligation and puncture</i>)
CNS	Santral sinir sistemi (<i>Central nervous system</i>)
COPD	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (<i>Chronic obstructive lung disease</i>)
COX	Siklooksijenaz (<i>Cyclooxygenase</i>)
CpG	Guanin rezidüsü (<i>Guanine residue</i>)
CPS	Karbamoil fosfat sentaz (<i>Carbamoyl phosphate synthase</i>)
CREB	Siklik adenosin monofosfat yanıt elementi bağlayıcı protein (<i>Cyclic adenosine monophosphate-response element binding protein</i>)
C-Src	Proto-onkogen tirozin-protein kinaz (<i>Proto-oncogene tyrosine-protein kinase</i>)
CT	C ucu (<i>C-Terminus</i>)
CYBG	Sitogloblin (<i>Cytoglobin</i>)
CYLD	Silindromatöz (<i>Cylindromatosis</i>)
CYP	Sitokrom P450 (<i>Cytochrome P450</i>)
Cys	Sistein (<i>Cysteine</i>)
çGS	Çözünebilir guanilil siklaz
ÇOY	Çoklu organ yetmezliği
ÇOYS	Çoklu organ yetmezliği sendromu
DAG	Diaçilgliserol (<i>Diacylglycerol</i>)
DAMP	Zedelenmeyle ilişkili moleküler patern (<i>Damage-associated molecular pattern</i>)
DAMPs	Zedelenmeyle ilişkili moleküler paternler (<i>Damage-associated molecular patterns</i>)

Kısaltma/Simgesi	Tanım
DC	Dendrit hücresi (<i>Dendritic cell</i>)
DCs	Dendrit hücreleri (<i>Dendritic cells</i>)
DD	Ölüm alanı (<i>Death domain</i>)
DDAH	Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (<i>Dimethylarginine dimethylaminohydrolase</i>)
DNA	Deoksiribonükleik asit (<i>Deoxyribonucleic acid</i>)
DNIC	Dinitrozil-demir kompleksi (<i>Dinitrosyl-iron complex</i>)
dsDNA	Çift sarmallı deoksiribonükleik asit (<i>Double-stranded deoxyribonucleic acid</i>)
dsRNA	Çift sarmallı ribonükleik asit (<i>Double-stranded ribonucleic acid</i>)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
e/nNOS	Endotelial/nöronal nitrik oksit sentaz (<i>Endothelial/neuronal nitric oxide synthase</i>)
EC	Endotel hücresi (<i>Endothelial cell</i>)
EDHF	Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (<i>Endothelium-derived hyperpolarizing factor</i>)
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü (<i>Epidermal growth factor receptor</i>)
EKG	Elektrokardiyogram
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EMT	Epitelial mezenkimal geçiş (<i>Epithelial-mesenchymal transition</i>)
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz (<i>Endothelial nitric oxide synthase</i>)
ERK	Ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz (<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>)
ET	Endotelin
FAD	Flavin adenin dinükleotit (<i>Flavin adenine dinucleotide</i>)
Fe ²⁺	Ferröz katyon (<i>Ferrous cation</i>)
FIIND	İşlev bulma alanı (<i>Function-to-find domain</i>)
FiO ₂	İnspirasyon ile alınan oksijen fraksiyonu
FMN	Flavin mononükleotit (<i>Flavin mononucleotide</i>)
GDH	Glutamat dehidrojenaz (<i>Glutamate dehydrogenase</i>)
GFR	Glomerüler süzülme hızı (<i>Glomerular filtration rate</i>)
GLUTR	Glutamil-taşıyıcı ribonükleik asit redüktaz (<i>Glutamyl-transfer ribonucleic acid reductase</i>)

Kısaltma/Simgesi	Tanım
GM-CSF	Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (<i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>)
GMP	Güanozin monofosfat (<i>Guanosine monophosphate</i>)
GPCR	G proteini ile kenetli reseptör (<i>G-protein coupled receptor</i>)
GPR	G proteini reseptörü (<i>G protein receptor</i>)
GRR	Glisinden zengin bölge (<i>Glycine rich region</i>)
GSDMD	Gasdermin D (<i>Gasdermin D</i>)
GSDME	Gasdermin E (<i>Gasdermin E</i>)
GTP	Güanozin trifosfat (<i>Guanosine triphosphate</i>)
H ₂ O	Dihidrojen oksit (<i>Dihydrogen oxide</i>)
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit (<i>Hydrogen peroxide</i>)
H ₂ S	Hidrojen sülfür (<i>Hydrogen sulfide</i>)
Hb	Hemoglobin (<i>Hemoglobin</i>)
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat (<i>Bicarbonate</i>)
HDAC	Histon deasetilaz (<i>Histone deacetylase</i>)
Hep	Heptoz (<i>Heptose</i>)
HMGB	<i>High mobility group box</i>
hnRNA	Heterojen ribonükleik asit (<i>Heterogeneous nuclear ribonucleic acid</i>)
HR	Kalp hızı (<i>Heart rate</i>)
hsp	Isı şok proteini (<i>Heat shock protein</i>)
HuR	Hu antijen R (<i>Hu antigen R</i>)
IAPs	Apoptoz inhibitörleri (<i>Inhibitors of apoptosis</i>)
ICAM	İnterselüler adezyon molekülü (<i>Intercellular adhesion molecule</i>)
IFN	İnterferon (<i>Interferon</i>)
IκB	κB inhibitörü (<i>Inhibitor of κB</i>)
IKB	κB kinaz inhibitörü (<i>Inhibitor of κB kinase</i>)
IKK	κB kinaz inhibitörü (<i>Inhibitor of κB kinase</i>)
IKKs	κB kinaz inhibitörleri (<i>Inhibitors of κB kinase</i>)
IL	İnterlökin (<i>Interleukin</i>)
IL-18BP	İnterlökin-18 bağlayıcı protein (<i>Interleukin-18-binding protein</i>)
IL-18R	İnterlökin-18 reseptörü (<i>Interleukin-18 receptor</i>)
IL1r	İnterlökin-1 reseptörü (<i>Interleukin-1 receptor</i>)
IL-1r	İnterlökin-1 reseptörü (<i>Interleukin-1 receptor</i>)
IL-1R	İnterlökin-1 reseptörü (<i>Interleukin-1 receptor</i>)

Kısaltma/Simge	Tanım
IL-1R1	Tip 1 interlökin-1 reseptörü (<i>Type 1 interleukin-1 receptor</i>)
IL-1ra	İnterlökin-1 reseptör antagonisti (<i>Interleukin-1 receptor antagonist</i>)
IL-1RAcP	İnterlökin-1 yardımcı protein (<i>Interleukin-1 accessory protein</i>)
IL-1RI	Tip I interlökin-1 reseptörü (<i>Type I interleukin-1 receptor</i>)
IL-1RII	Tip II interlökin-1 reseptörü (<i>Type II interleukin-1 receptor</i>)
IL-36R	İnterlökin-36 reseptörü (<i>Interleukin-36 receptor</i>)
IL-36ra	İnterlökin-36 reseptör antagonisti (<i>Interleukin-36 receptor antagonist</i>)
ILC2s	Tip 2 doğal lenfoit hücreler (<i>Type 2 innate lymphoid cells</i>)
Int	Santral bağlayıcı bölge olarak bilinen ara alan (<i>Central linker region known as the intermediate domain</i>)
IP ₃	İnoзитол trifosfat (<i>Inositol triphosphate</i>)
IP3R	İnoзитол trifosfat reseptörü (<i>Inositol triphosphate receptor</i>)
IRAK	İnterlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (<i>Interleukin-1 receptor-associated kinase</i>)
IRF	İnterferon düzenleyici faktör (<i>Interferon regulatory factor</i>)
i.p.	İntraperitoneal
i.v.	İntravenöz
İ/R	İskemi/reperfüzyon
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (<i>Inducible nitric oxide synthase</i>)
JNK	c-Jun N-terminal kinaz (<i>c-Jun N-terminal kinase</i>)
K ⁺	Potasyum iyonu (<i>Potassium ion</i>)
Kdo	3-Deoksi-D-manno-oktulosonik asit (<i>3-Deoxy-D-manno-octulosonic acid</i>)
KG	Ketoglutarik asit (<i>Ketoglutaric acid</i>)
KH	Kalp hızı
KSRP	KH türü birleştirme düzenleyici protein (<i>KH-type splicing regulatory protein</i>)
L-Arg	L-Arjinin (<i>L-Arginine</i>)
LAT	T hücrelerinin etkinleşmesi için bağlayıcı (<i>Linker for activation of T cells</i>)
LBP	Lipit bağlayıcı protein (<i>Lipid-binding protein</i>)
L-Citr	L-Sitrülin (<i>L- Citrulline</i>)
LCK	Lenfosit hücreye özgü protein tirozin kinaz (<i>Lymphocyte cell-specific protein tyrosine kinase</i>)
LDH	Laktat dehidrojenaz
LIGHT	Tümör nekrozlaştırıcı faktör ligant süperaile üyesi 14 (<i>Tumor necrosis factor ligand superfamily member 14</i>)

Kısaltma/Simge	Tanım
L-NMMA	N ^ω -Monometil-L-arjinin (<i>N^ω-Monomethyl-L-arginine</i>)
LPS	Lipopolisakkarit (<i>Lipopolysaccharide</i>)
LRR	Lösinden zengin yinelenenler (<i>Leucine rich repeats</i>)
LT	Lökotrien
LTA	Lenfotoksin alfa (<i>Lymphotoxin alpha</i>)
LTB	Lenfotoksin beta (<i>Lymphotoxin beta</i>)
LTCC	L türü kalsiyum kanalı (<i>L-Type calcium channel</i>)
LTβR	Lenfotoksin β reseptörü (<i>Lymphotoxin β receptor</i>)
LUBAC	Doğrusal ubiquitin zincir montaj kompleksleri (<i>Linear ubiquitin chain assembly complexes</i>)
LYN	LYN proto-onkogen (<i>LYN proto-oncogene</i>)
m ₂	m ₂ -Muskarinik reseptör (<i>m₂-Muscarinic receptor</i>)
MALT	MALT parakaspaz (<i>MALT paracaspase</i>)
MAP	Ortalama arter basıncı (<i>Mean arterial pressure</i>)
MAPK	Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (<i>Mitogen-activated protein kinase</i>)
MAPKs	Mitojen ile etkinleştirilen protein kinazlar (<i>Mitogen-activated protein kinases</i>)
MAPKK	Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz (<i>Mitogen-activated protein kinase kinase</i>)
Mas	G proteini ile kenetli reseptör ailesinin bir üyesi (<i>A member of the G-protein-coupled receptor family</i>)
M-CSF	Makrofaj koloni uyarıcı faktör (<i>Macrophage colony-stimulating factor</i>)
MD	Miyeloit farklılaşma faktörü (<i>Myeloid differentiation factor</i>)
MDSC	Miyeloit kökenli baskılayıcı hücre (<i>Myeloid-derived suppressor cell</i>)
MEK	Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz (<i>Mitogen-activated protein kinase kinase</i>)
MHC	Majör doku uygunluk kompleksi (<i>Major histocompatibility complex</i>)
miR	Mikroribonükleik asit
miRNA	Mikroribonükleik asit (<i>Microribonucleic acid</i>)
MKK	Mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz kinaz (<i>Mitogen-activated protein kinase kinase kinase</i>)
MLC	Miyozin hafif zincir (<i>Myosin light chain</i>)
MLCK	Miyozin hafif zincir kinaz (<i>Myosin light chain kinase</i>)

Kısaltma/Simgesi	Tanım
MLKL	Karışık kökenli kinaz benzeri psödokinaz (<i>Mixed lineage kinase domain-like pseudokinase</i>)
moxLDL	Hafif oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (<i>Mildly oxidized low-density lipoprotein</i>)
mRNA	Ulak ribonükleik asit (<i>Messenger ribonucleic acid</i>)
mTOR	Rapamisin'in memelilerdeki hedefi (<i>Mammalian target of rapamycin</i>)
MYBPC	Miyozin bağlayıcı protein C (<i>Myosin-binding protein C</i>)
MyD	Miyeloit farklılaşma birincil yanıt proteini (<i>Myeloid differentiation primary response protein</i>)
MYD	Miyeloit farklılaşma birincil yanıt proteini (<i>Myeloid differentiation primary response protein</i>)
MYOCD	Miyokardin (<i>Myocardin</i>)
n	Sıçan sayısı
Na ⁺	Sodyum iyonu (<i>Sodium ion</i>)
N ₂ O ₃	Dinitrojen trioksit (<i>Dinitrogen trioxide</i>)
NA	Noradrenalin (<i>Noradrenaline</i>)
NACHT	Santral nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı (<i>Central nucleotide-binding oligomerization domain</i>)
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit (<i>Nicotinamide adenosine dinucleotide</i>)
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (<i>Nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate</i>)
NALP	Nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alan benzeri, lösenden zengin yinelenen ve pirin alanı içeren (<i>Nucleotide-binding oligomerization domain, leucine rich repeat and pyrin domain containing</i>)
NAP	Nitrik oksit sentaz ile ilişkili protein (<i>Nitric oxide synthase-associated protein</i>)
NED	N-1-Naftiletilendiamin dihidroklorür
NEK	<i>Never in mitosis gene A</i> ile ilişkili kinaz (<i>Never in mitosis gene A-related kinase</i>)
NEMO	Nükleer faktör κ B esansiyel düzenleyicisi (<i>Nuclear factor κB essential modulator</i>)
NEP	Nötral endopeptidaz (<i>Neutral endopeptidase</i>)
NET	Nötrofil ekstraselüler tuzaklar (<i>Neutrophil extracellular traps</i>)
NGF	Sinir büyüme faktörü (<i>Nerve growth factor</i>)
NF	Nükleer faktör (<i>Nuclear factor</i>)

Kısaltma/Simge	Tanım
Nf	Nükleer faktör (<i>Nuclear factor</i>)
NH ₃	Amonyak (<i>Ammonia</i>)
NIK	Nükleer faktör κB indükleyici kinaz (<i>Nuclear factor κB-inducing kinase</i>)
NLRP	Nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alan benzeri, lösinden zengin yinelenen ve pirin alanı içeren (<i>Nucleotide-binding oligomerization domain, leucine rich repeat and pyrin domain containing</i>)
NLS	Nükleer yerleşim sinyali veya dizisi (<i>Nuclear localization signal or sequence</i>)
NMDA	N-Metil-D-aspartik asit
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz (<i>Neuronal nitric oxide synthase</i>)
NO	Nitrik oksit (<i>Nitric oxide</i>)
•NO	Nitrik oksit radikali (<i>Nitric oxide radical</i>)
NO•	Nitrik oksit radikali (<i>Nitric oxide radical</i>)
NO ₂ ⁻	Nitrit (<i>Nitrite</i>)
NO ₂ •	Nitrojen dioksit radikali (<i>Nitrogen dioxide radical</i>)
NO ₃	Nitrat (<i>Nitrate</i>)
NOS	Nitrik oksit sentaz (<i>Nitric oxide synthase</i>)
NOX	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase</i>)
Nrf	Nükleer faktör eritroit -1 ile ilişkili faktör (<i>Nuclear factor erythroid 2-related factor</i>)
NT	N ucu (<i>N-Terminus</i>)
NTF	Nörotrofik faktör (<i>Neurotrophic factor</i>)
O ₂	Moleküler oksijen (<i>Molecular oxygen</i>)
O ₂ ⁻	Süperoksit (<i>Superoxide</i>)
O ₂ ⁻	Süperoksit (<i>Superoxide</i>)
O ₂ •	Süperoksit radikali
OAB	Ortalama arter basıncı
OAT	Ornitin aminotransferaz (<i>Ornithine aminotransferase</i>)
ODC	Ornitin dekarboksilaz (<i>Ornithine decarboxylase</i>)
ONOO ⁻	Peroksinitrit (<i>Peroxynitrite</i>)
ONOO-	Peroksinitrit (<i>Peroxynitrite</i>)
OTC	Ornitin transkarbamilaz (<i>Ornithine transcarbamylase</i>)
OTK	Ornitin transkarbamilaz

Kısaltma/Simgesi	Tanım
ox-LDL	Yükseltgenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (<i>Oxidized low density lipoprotein</i>)
P	İstatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi (<i>Probability</i>)
P	Fosforile, fosforilasyon (<i>Phosphorylated, phosphorylation</i>)
P2X7	Pürinerjik reseptör P2X 7 (<i>Purinergic receptor P2X 7</i>)
p38	p38 mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (<i>p38 mitogen-activated protein kinase</i>)
P5C	$\Delta 1$ -Prolin-5-karboksilat sentaz (<i>$\Delta 1$-Pyrroline-5-carboxylate synthase</i>)
p65	Nükleer faktör- κB alt birimlerinden biri (<i>One of the subunits of nuclear factor-κB</i>)
PABP	Poli(A) bağlayıcı protein (<i>Poly(A)-binding protein</i>)
PAI	Plazma plazminojen etkinleştirici inhibitör (<i>Plasma plasminogen activator inhibitor</i>)
PAMP	Patojen ilişkili moleküler kalıp (<i>Pathogen-associated molecular pattern</i>)
PAMPs	Patojen ilişkili moleküler kalıplar (<i>Pathogen-associated molecular patterns</i>)
PaO ₂	Parsiyel oksijen basıncı
PARP	Poli (adenozin difosfat-riboz) polimeraz (<i>Poly [adenosine diphosphate-ribose] polymerase</i>)
PCR	Polimeraz zincir tepkimesi (<i>Polymerase chain reaction</i>)
PD	Programlanmış ölüm (<i>Programmed death</i>)
PDE	Fosfodiesteraz (<i>Phosphodiesterase</i>)
PG	Prostaglandin (<i>Prostaglandin</i>)
PGI ₂	Prostasiklin (<i>Prostacyclin</i>)
pH	Hidrojen iyonu derişiminin negatif logaritması (<i>Negative logarithm of hydrogen ion concentration</i>)
PI(4,5)P ₂	Fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat (<i>Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate</i>)
pI κB	Fosforile κB inhibitörü (<i>Phosphorylated inhibitor of κB</i>)
PI3K	Fosfoinozitol 3-kinaz (<i>Phosphoinositide 3-kinase</i>)
PK	Protein kinaz
PKA	Protein kinaz A (<i>Protein kinase A</i>)
PKC	Protein kinaz C (<i>Protein kinase C</i>)
PLB	Fosfolamban (<i>Phospholamban</i>)
PLC	Fosfolipaz C (<i>Phospholipase C</i>)

Kısaltma/Simgesi	Tanım
PLN/SERCA	Fosfolamban/sarkoplazmik/endoplazmik retikulum kalsiyum-adenozin trifosfataz yolu (<i>Phospholamban/sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium-adenosine triphosphatase pathway</i>)
PMN	Polimorfonükleer lökosit (<i>Polymorphonuclear leukocyte</i>)
pO ₂	Parsiyel oksijen basıncı (<i>Partial oxygen pressure</i>)
PON	Peroksinitrit
PPAR	Peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (<i>Peroxisome proliferator-activated receptor</i>)
PRMT	Protein arjinin metiltransferaz (<i>Protein arginine methyltransferase</i>)
PTB	Polipirimidin yolu bağlayıcı protein (<i>Polypyrimidine tract-binding protein</i>)
PYR	Pirin alanı (<i>Pyrimine domain</i>)
qSOFA	Hızlı Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirmesi (<i>Quick Sequential Organ Failure Assessment</i>)
Ra-LPS	Lipit A ve tam bir oligosakkarit zincirinden oluşan lipopolisakkarit (<i>Lipopolysaccharide consisting of lipid A and a complete oligosaccharide chain</i>)
RA	Renal arter (<i>Renal artery</i>)
RAAS	Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (<i>Renin-angiotensin-aldosterone system</i>)
Rac	Ras ile ilişkili C3 botulinum toksin substratı (<i>Ras-related C3 botulinum toxin substrate</i>)
RANK	Nükleer faktör κB 'nin reseptör etkinleştiricisi (<i>Receptor activator of nuclear factor κB</i>)
RANKL	Nükleer faktör κB ligandının reseptör etkinleştiricisi (<i>Receptor activator of nuclear factor κB ligand</i>)
RHD	Rel homoloji alanı (<i>Rel homology domain</i>)
RhoA	Ras homolog ailesi üyesi A (<i>Ras homolog family member A</i>)
RIP	Reseptör ile etkileşen protein (<i>Receptor-interacting protein</i>)
RIPK	Reseptör ile etkileşen protein kinaz (<i>Receptor-interacting protein kinase</i>)
RNA	Ribonükleik asit (<i>Ribonucleic acid</i>)
ROCK	Rho ile ilişkili protein kinaz (<i>Rho-associated protein kinase</i>)
R-ONO ₂	Nitrat esteri (<i>Nitrate ester</i>)
ROS	Reaktif oksijen türleri (<i>Reactive oxygen species</i>)
ROT	Reaktif oksijen türleri

Kısaltma/Simge	Tanım
RT-PCR	Ters transkriptaz-polimeraz zincir tepkimesi (<i>Reverse transcriptase-polymerase chain reaction</i>)
RXR	Retinoit X reseptörü
RYR	Riyanodin reseptör (<i>Ryanodine receptor</i>)
S	Serin (<i>Serine</i>)
SA	Sülfonilamid
SARM	Steril- α ve armadillo motifi içeren protein (<i>Sterile-α and armadillo motif-containing protein</i>)
SB-710411	Cpa-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Cpa-NH ₂
SERCA	Sarkoplazmik/endoplazmik retikulum kalsiyum-adenozin trifosfataz (<i>Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium-adenosine triphosphatase</i>)
SF	Serum fizyolojik
sIL-1RI	Çözünebilir tip I interlökin-1 reseptörü (<i>Soluble type I interleukin-1 receptor</i>)
sIL-1RII	Çözünebilir tip II interlökin-1 reseptörü (<i>Soluble type II interleukin-1 receptor</i>)
sGC	Çözünebilir guanilil siklaz (<i>Soluble guanylyl cyclase</i>)
sIL-1RAcP	Çözünebilir interlökin-1 yardımcı protein (<i>Soluble interleukin-1 accessory protein</i>)
SIRS	Sistemik enflamatuvar yanıt sendromu (<i>Systemic inflammatory response syndrome</i>)
SIRT	Sirtuin
SLE	Sistemik lupus eritematöz (<i>Systemic lupus erythematosus</i>)
SMC	Düz kas hücresi (<i>Smooth muscle cell</i>)
SNA	Sempatik sinir etkinliği (<i>Sympathetic nerve activity</i>)
SNO	S-Nitrozotiyol (<i>S-Nitrosothiol</i>)
SOFA	Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirmesi (<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>)
SPDS	Spermidin sentaz (<i>Spermidine synthase</i>)
SPMS	Spermin sentaz (<i>Spermine synthase</i>)
SR	Sarkoplazmik retikulum (<i>Sarcoplasmic retikulum</i>)
src	Src kinaz (<i>Src kinase</i>)
SSS	Santral sinir sistemi
sST2	Çözünebilir interlökin-1 reseptörü ile ilişkili protein (<i>Soluble interleukin-1 receptor-related protein</i>)

Kısaltma/Simgesi	Tanım
sST2L	İnterlökin-1 reseptörü ile ilişkili proteinin çözünebilir formu (<i>Soluble form of interleukin-1 receptor-related protein</i>)
ST2	İnterlökin-1 reseptörü ile ilişkili protein (<i>Interleukin-1 receptor-related protein</i>)
ST2L	İnterlökin-1 reseptörü ile ilişkili proteinin tam uzunluktaki transmembranlar formu (<i>Trans-membranes full-length form of interleukin-1 receptor-related protein</i>)
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon etkinleştiricisi (<i>Signal transducer and activator of transcription</i>)
SYK	Dalak ile ilişkili kinaz (<i>Spleen associated tyrosine kinase</i>)
T	Treonin (<i>Threonine</i>)
TA	Torasik aort (<i>Thoracic aorta</i>)
TAB	Dönüştürücü büyüme faktörü β ile etkinleştirilen kinaz bağlayıcı protein (<i>Transforming growth factor β-activated kinase-binding protein</i>)
TAD	Transaktivasyon alanı (<i>Transactivation domain</i>)
TAK	Dönüştürücü büyüme faktörü beta ile etkinleştirilen kinaz (<i>Transforming growth factor beta-activated kinase</i>)
TAM	Tümör ile ilişkili makrofaj (<i>Tumor-associated macrophage</i>)
TBE	Tris-borik asit-etilendiamintetraasetik asit
TBK	Tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptör aile üyesi ile ilişkili faktör nükleer faktör κ B etkinleştiricisi bağlayıcı kinaz (<i>Tumor necrosis factor receptor family member associated nuclear factor κB activator-binding kinase</i>)
TCR	T hücresi reseptörü (<i>T-Cell receptor</i>)
Tfh	T foliküler yardımcı (<i>T follicular helper</i>)
TGF	Tümör büyüme faktörü (<i>Tumor growth factor</i>)
Th	Yardımcı T (<i>T helper</i>)
TH	Yardımcı T (<i>T helper</i>)
TIAR	T hücresi intraselüler antijen-1 ile ilişki protein (<i>T-cell intracellular antigen-1-related protein</i>)
TIR	Translasyon başlatma bölgesi (<i>Translation initiation region</i>)
TIRAP	<i>Toll</i> -interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör protein (<i>Toll/interleukin-1 receptor domain-containing adapter protein</i>)
TLR	<i>Toll</i> benzeri reseptör (<i>Toll-like receptor</i>)
TLRS	<i>Toll</i> benzeri reseptörler (<i>Toll-like receptors</i>)

Kısaltma/Simge	Tanım
TME	Tümör mikro ortamı (<i>Tumor microenvironment</i>)
TNF	Tümör nekrozlaştırıcı faktör (<i>Tumor necrosis factor</i>)
TNFR	Tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü (<i>Tumor necrosis factor receptor</i>)
TnI	Troponin I (<i>Troponin I</i>)
TRADD	Tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü tip 1 ile ilişkili ölüm alanı (<i>Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein</i>)
TRAF	Tümör nekrozlaştırıcı faktör ile ilişkili faktör (<i>Tumor necrosis factor receptor-associated factor</i>)
TRAM	<i>Toll</i> -interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β ile ilişkili adaptör molekül (<i>Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-β-related adaptor molecule</i>)
Treg	Düzenleyici T hücresi (<i>Regulatory T cell</i>)
Tregs	Düzenleyici T hücreleri (<i>Regulatory T cells</i>)
TRIF	<i>Toll</i> -interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β (<i>Toll-interleukin-1 receptorcontaining adapter-inducing interferon-β</i>)
TTP	Tristetraprolin (<i>Tristetraprolin</i>)
U	Ürotensin (<i>Urotensin</i>)
Ub	Ubikuitin (<i>Ubiquitin</i>)
URP	Ürotensin-II ile ilişkili peptit (<i>Urotensin II-related peptide</i>)
UT	Ürotensin-II reseptörü (<i>Urotensin-II receptor</i>)
UTR	Çevrilmemiş bölge (<i>Untranslated region</i>)
UV	Ultraviyole (<i>Ultraviolet</i>)
VASP	Vazodilatör ile uyarılan protein (<i>Vasodilator-stimulated protein</i>)
VCAM	Damar hücresi adezyon molekülü (<i>Vascular cell adhesion molecule</i>)
VSMC	Damar düz kas hücresi (<i>Vascular smooth muscle cell</i>)
XOR	Ksantin oksidoredüktaz (<i>Xanthine oxidoreductase</i>)
YopJ	<i>Yersinia</i> dış proteini J (<i>Yersinia outer protein-J</i>)
ZAP	Tirozin-protein kinaz (<i>Tyrosine-protein kinase ZAP-70</i>)

1. GİRİŞ

Yaşamı tehdit eden bir tıbbi acil durum olarak, *Escherichia coli* (*E. coli*) gibi Gram-negatif bakterilerden açığa çıkan endotoksinlere bağlı olarak gelişen sistemik enflamatuvar yanıt (*systemic inflammatory response syndrome*; SIRS), sepsis, septik şok, çoklu organ yetmezliği (ÇOY) ve ÇOY sendromu (ÇOYS), bütün dünyada morbidite ve mortalitenin en başta gelen nedenlerinden biridir [1-10]. Özellikle beraberinde kalp, böbrek, beyin, akciğer ve karaciğer gibi yaşamsal önemi olan organlarda çeşitli işlev bozuklukları olanlarda mortalite artmaktadır [3, 4, 11]. Mortalitenin artmasının nedenleri arasında, **(1)** antimikrobiyal tedavi, **(2)** hemodinamik destek (oksijenasyon/ventilasyon stratejileri, sıvı/vazopresör kullanımı ve erken hedefe yönelik tedavi gibi), **(3)** bakteriyel virülans faktörleri (antiendotoksin antikorlar ve endotoksin uzaklaştırıcı kolonların kullanılması gibi) ile **(4)** konaktaki yanıt etkenlerini (steroitler, antisitokin ilaçlar ve antikoagülanların kullanılması gibi) hedef alan yaklaşımların yetersiz kalması sayılabilir [4, 7, 8, 12-21].

Ayrıca, sepsis ve septik şok tedavisindeki gelişmeler oldukça yavaş ilerlemektedir. Bu durumun nedenleri arasında, **(1)** septik şok patojenezinin pek çok mediyatörün katkısından dolayı karmaşık olması, **(2)** mediyatörlerin birbirleriyle etkileşimleri ve **(3)** semptomlar ile prognozun bireyler arasında değişkenlik göstermesi bulunmaktadır [3, 23-27]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle nedene yönelik ve moleküler düzeyde özgül terapötik yaklaşımlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu yaklaşımların çoğunda, özellikle *E. coli* gibi Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan ve "endotoksin" olarak da adlandırılan lipopolisakkarit (LPS)'nin lipit A bölümünün konakta tetiklediği sinyal ileti mekanizmaları üzerinde durulmaktadır [5, 14, 22, 24-26, 28-37]. Lipit A, yüksek derecede immünoreaktiftir ve Gram-negatif sepsiste gözlenen toksik etkilerin çoğundan sorumludur. Lipit A'nın başlıca etkisi, makrofajları etkinleştirmesi ve enflamasyona neden olan olayları tetiklemesidir [4, 5, 29, 32, 34-36, 38-40].

Enfeksiyona karşı gelişen yanıtta önemli rol oynayan monositler, makrofajlar, nötrofiller ve endotel hücreleri yüzeyinde bulunan farklılaşma kümesi (*cluster of differentiation*; CD) 14 ve *toll* benzeri reseptör (*toll-like receptor*; TLR) 4, bütün bakteriyi veya LPS gibi bakteriyel ürünleri tanıyan ve onlara bağlanan reseptörlerdir. TLR4 sinyal yolu miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (*myeloid differentiation primary response protein*; MyD) 88 ve *toll*-interlökin (*interleukin*; IL)-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon (*interferon*; IFN)- β (*toll-IL-1 receptor domain-containing adapter-inducing IFN- β* ; TRIF)'e bağlı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır [5, 32, 36, 38-46]: **(1)** MyD88'e bağımlı yolda, uyarı *toll*-IL-1 reseptör alan içeren adaptör protein (*toll/IL-1 receptor domain-containing adapter protein*; TIRAP) aracılığıyla MyD88'e iletilmektedir.

Ardından, nükleer faktör (*nuclear factor*)- κ B ve etkinleştirici protein (*activator protein*; AP) 1 (c-fos/c-jun heterodimeri) gibi transkripsiyon faktörleri etkinleştirilmektedir. Etkinleşen transkripsiyon faktörleri ise, IL-1 reseptörü (*IL-1 receptor*; IL-1R) ile ilişkili kinaz (*IL-1R-associated kinase*; IRAK) 1/4, tümör nekrozlaştırıcı faktör (*tumor necrosis factor receptor*; TNF) ile ilişkili faktör (*TNF-associated factor*; TRAF) 6, dönüştürücü büyüme faktörü beta ile etkinleştirilen kinaz (*transforming growth factor beta-activated kinase*; TAK1, κ B inhibitörü (*inhibitor of κ B*; I κ B) kinaz (I κ B kinase; IKK) $\alpha/\beta/\gamma$ ve mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (*mitogen-activated protein kinase*; MAPK)'ler gibi sinyalleme molekülleri (MAPK kinaz [MEK1], MAPK, MEK1 kinaz [MKK] 3/6 ve MKK4, ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz [*extracellular signal-regulated kinase*; ERK] 1/2, p38 MAPK ve c-Jun N-terminal kinaz [*c-Jun N-terminal kinase*; JNK] 1/2) aracılığıyla çeşitli enflamatuvar mediyatörlerin oluşumunda artmaya neden olmaktadır. **(2)** TRIF'e bağımlı yolda ise, NF- κ B etkinleştirici kinaz ile ilişkili protein 1, TNF reseptör (*TNF receptor*; TNFR) aile üyesi ile ilişkili faktör NF- κ B etkinleştiricisi bağlayıcı kinaz (*TNFR family member associated NF- κ B activator-binding kinase*; TBK) 1, IKKi ve TRAF3 aracılığıyla IRF3 etkinleştirilmektedir. MyD88'e bağımlı yolda, etkinleşen ve çekirdeğe geçen NF- κ B, enflamasyona neden olan çok sayıda molekülün oluşumundan sorumlu olan enzimlerin transkripsiyonel düzeyde ekspresyonlarının artmasına neden olmaktadır. Bu genlerin arasında sepsis ve septik şok patojenezinde önemli rol oynadığı bilinen indüklenabilir indüklenabilir nitrik oksit (NO) sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz (*cyclooxygenase*; COX-2) gibi enzimler, akut faz proteinleri ile IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi pro-enflamatuvar sitokinler yer almaktadır [5, 24-26, 36, 41, 44].

Bunlara ek olarak, antienflamatuvar kardiyoprotektif epoksieikozatrienoik asitlerin oluşumundaki azalmanın yanı sıra [47, 48], hem pro-enflamatuvar hem de antienflamatuvar özellikleri olduğu bildirilen 20-hidroksieikozatetraenoik asit (20-HETE) oluşumundaki değişikliklerin de enflamatuvar yanıtta rol oynadığı gösterilmiştir [47]. Kardiyovasküler ve renal sistemin baskılanmasına ise, özellikle oluşumu artan NO ve prostaglandin (PG) I₂ gibi vazodilatör ürünler [49-58] ile oluşumu azalan 20-HETE gibi vazokonstriktör ürünler [49, 50, 53, 55-62] katkıda bulunmaktadır. Bu bulgular her ne kadar çelişkili gibi görünse de, sonuç olarak, septik şok patojenezinde vazodilatör/vazokonstriktör ve pro-enflamatuvar/antienflamatuvar dengeler, daha çok vazodilatör ve pro-enflamatuvar ürünlerin oluşumunun artışı yönünde bozulmuştur. Bozulan bu dengenin yeniden kurulması için de ürünler ve/veya enzimler düzeyinde birbirlerinin oluşumlarını ve/veya etkilerini önleyecek biçimde etkileşimler de görülmektedir [18, 24-26, 31, 63-67]. Bütün bu olaylar, sepsis ve septik şok hastalarında uygun biçimde yapılan vazokonstriktör tedaviye karşın, geri çevrilemeyen vasküler hiporeaktiviteyi açıklamaktadır.

Daha önce, sıçanlara 10 mg/kg (intraperitoneal; i.p.) (subletal) dozda LPS enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde yaptığımız çalışmalarda, özellikle LPS uygulanmasının ardından gelişen ve mortalite ile sonuçlanabilen süreçte **(1)** TLR4/MyD88/TAK1/IKK β /NF- κ B/iNOS/NO/vazodilatör ile uyarılan protein (*vasodilator-stimulated protein*; VASP), **(2)** TLR4/TRIF/reseptör ile etkileşen protein kinaz (*receptor-interacting protein kinase*; RIPK)1/RIPK3/karışık kökenli kinaz benzeri psödokinaz (*mixed lineage kinase domain-like pseudokinase*; MLKL)/*high mobility group box*; HMGB) 1, **(3)** peroksizom proliferatör ile etkinleştirilen reseptör (*peroxisome proliferator-activated receptor*; PPAR) $\alpha/\beta/\gamma$ /retinoit X reseptörü (RXR) α /sitokrom P450 (*cytochrome P450*; CYP), **(4)** nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*; NADPH) oksidaz (*NADPH oxidase*; NOX) 2/peroksinitrit (PON) ve **(5)** G proteini reseptörü (GPR) 75/G $\alpha_{q/11}$ yollarının yanı sıra, **(6)** nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alan benzeri, lösinden zengin yinelenen ve pirin alanı içeren (*nucleotide-binding oligomerization domain, leucine rich repeat and pyrin domain containing*; NLRP) 3/apoptozla ilişkili nokta benzeri protein içeren bir kaspaz biriktirici alan (*apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain*; ASC)/pro-kaspaz-1 inflamazomu, **(7)** kaspaz-3 ve kaspaz-8 ile **(8)** süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz ve toplam antioksidan etkinlik ile ilişkili proteinlerin/enzimlerin ekspresyonundaki/etkinliğindeki değişikliklere ek olarak mikroribonükleik asit (miR)-150 (hedef genleri NF- κ B, arjinaz 1 ve anjiyopoetin-2 aracılıklı vasküler zedelenme, apoptoz, hastalık şiddeti ve mortalite göstergesi) miR-223 (hedef genleri semaforin 3A ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon etkinleştiricisi (*signal transducer and activator of transcription*; STAT) 3 aracılıklı hastalık şiddeti, kardiyomiyopati ve mortalite göstergesi) ve miR-297 (hedef genleri vasküler endotelial büyüme faktörü, sikline bağımlı kinaz 8 ve transkripsiyonun sinyal ileticisi ve etkinleştiricisi 3 aracılıklı enflamasyon, apoptoz ve mortalite göstergesi) düzeyleri üzerinde çeşitli maddelerin etkileri araştırılmıştır [48-62, 68-73]. Bulgularımız, özellikle seçici iNOS, COX-2 veya ERK1/2 inhibitörleri, 20-HETE mimetikler ya da RXR agonistlerinin, LPS uygulanmasına bağlı olarak gelişen hipotansiyon, taşikardi, vasküler hiporeaktivite, enflamasyon ve/veya doku zedelenmesini önleyebildiklerini göstermiştir. Ayrıca, farelere 10 mg/kg (i.p.) dozda LPS uygulanmasından sonra gözlenen mortaliteyi de, seçici COX-2 inhibitörleri 5,5-dimetil-3-(3-florofenil)-4-(4-metillsülfonil-2(5H)-furanon) veya N-(2-sikloheksiloksi-4-nitrofenil)-metansülfonamid [74] ile 20-HETE mimetik 5,14-N-[20-hidroksieikosa-5(Z),14(Z)-dienoil]glisin [48] önleyebilmektedir.

İnsanlarda ürotensinerjik sistem iki endojen peptit olan ürotensin (*urotensin*; U)-II ve U-II ile ilişkili peptit (*urotensin II-related peptide*; URP) ile, bir G proteini ile kenetli reseptör (*G-protein coupled receptor*; GPCR) olan U-II reseptörü (*U-II receptor*; UT)'den oluşmaktadır [75-80]. UT "GPR14", "U-II-R1", "UTR2", "duyusal epiteliyal nöropeptit benzeri reseptör" olarak da bilinmektedir [81-83]. Hücre ve nükleer zarlarda eksprese olduğu gösterilen UT, rodopsin ailesinden bir A grubu GPCR'dir [84, 85]. Endojen bir ligant olarak, insan U-II'nin, bir sıçan yetim reseptörü olan GPR14'e seçici olarak bağlandığı bildirilmiş olup, günümüzde "UT" olarak adlandırılmaktadır [75, 81, 86-88]. UT/GPR14 damar düz kas hücreleri, endotel hücreler, kardiyak miyositler, böbrek, beyin ve omurilikte değişen miktarlarda bulunmaktadır [81, 86, 89-91].

U-II tarafından çeşitli hücrelerdeki UT'nin uyarılması, karmaşık ve çoklu sinyal ileti yollarının etkinleşerek farklı etkilerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır [80, 92, 93]. U-II, memelilerde günümüze dek bilinen, endotelin (ET)-1'den bile güçlü, vazokonstriktör endojen peptitlerden biridir [81, 94]. Öte yandan, Hillier ve ark. [95] hastalardan izole edilen endotel tabakası sağlam olan arterlerde U-II'nin vazokonstriktör etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, U-II'nin insan küçük pulmoner arterinde, abdominal arterlerde ve küçük dirençli damarlarda, vasküler direncin ana belirleyicisi olan güçlü bir vazodilatör olduğu gösterilmiştir [96]. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, U-II'nin etkilerinin arter çapına bağlı olduğu ileri sürülmüştür [97]. Çeşitli araştırmaların sonuçlarına göre, U-II'nin düz kas hücresi üzerindeki vazokonstriktör etkisini dengelemek üzere, küçük çaplı damarların endotel hücrelerinden salıverilen başta NO olmak üzere, endotel kökenli hiperpolarize edici faktör, PGI₂ ve PGE₂ gibi vazodilatör mediyatörlerin oluşumları ve salıverilmeleri kritik bir rol oynamaktadır [91, 98-109]. Bütün bu çalışmaların sonuçlarına göre, U-II'nin karmaşık etkilerinin arter türü, çapı ve endotel hücrelerinin varlığı olduğu kadar, dokudaki UT miktarı veya ikincil bir UT sinyal ileti yolunun etkinleşmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür [79, 97]. Bunlara ek olarak, U-II'nin, LPS/TLR4/MyD88/NF-κB yolu ile p38 MAPK üzerindeki pozitif etkisinin yanı sıra, MyD88'den bağımsız yolda IRF3 aracılıklı IL-1β, IL-8, TNF-α, IFN-γ, IFN-β ve lökotrien (LT) C₄ gibi pro-enflamatuvar mediyatörlerin oluşumuna yol açarak doğal immün ve enflamatuvar yanıtlarda artmaya [110-118], damar düz kas hücrelerinde RhoA/Rho ile ilişkili protein kinaz (*Rho-associated protein kinase*; ROCK) ve NADPH/reaktif oksijen türleri (ROT) ile ilişkili yollar ile epidermal büyüme faktörü reseptörü (*epidermal growth factor receptor*; EGFR)'nin transaktivasyonuna bağlı olarak ET-1, ROT ve ERK1/2 aracılıklı proliferasyona [119-122], damar endotel hücrelerinde fosfoinozitol 3-kinaz (*phosphoinositide 3-kinase*; PI3K)/protein kinaz (PK) B (Akt) yolu ile ERK1/2 aracılıklı anjiyogenez [123] ve kardiyomiyositlerde Akt/glikojen sentaz kinaz-3β,

kalsiyum/kalmoduline bağımlı protein kinaz II (*calcium/calmodulin-dependent protein kinase II*; CaMKII) ve PKA ile EGFR'nin transaktivasyonuna bağılı olarak ERK1/2 ve p38 MAPK aracılıklı hipertrofiye [124-127] neden olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır.

Ürotensinerjik sistem, başta kardiyovasküler ve renal hastalıklar olmak üzere oluşumundaki ve salıverilmesindeki artmaya neden olduğu pro-enflamatuvar sitokinler aracılığıyla gelişen enflamasyon ve doku zedelenmesi ile belirgin çok sayıda hastalığın patojenezinde önemli rol oynamaktadır [77-80, 92, 93, 128]. Bu sistemin rol oynadığı esansiyel hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, renal işlev bozukluğu, renal yetmezlik, metabolik bozukluklar, ateroskleroz ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen ve ürotensinerjik sistemi hedefleyen UT agonistleri ve peptit yapısında olan ve olmayan yarışmalı antagonistler ile yapılan çok sayıda klinik öncesi ve klinik çalışma bulunmaktadır [76, 77, 79, 80, 92, 93, 128, 129].

Klinik öncesi çalışmalarda, özellikle tez konusuyla ilişkili olarak, sıçanlardaki UT için, peptit yapısında bir antagonist olan urantit [130-132], peptit yapısında olmayan bir antagonisti olan palosuran [133] ile özellikle sıçana seçici peptit yapısında bir antagonist olduğu bildirilen Cpa-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Cpa-NH₂ (SB-710411) [130, 134-136] kullanılarak rodentlerde *in vivo* çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Öte yandan, vurgulanması gereken önemli bir konu, urantit, palosuran ve SB-710411 her ne kadar UT/GPR14 reseptör antagonisti olarak bilinseler de, bu maddelerin türe özgü bir biçimde UT için tam veya parsiyel agonist olarak davranabildikleridir [76, 77, 79, 92, 129]. Örneğin, urantidin UT için sıçan torasik aortu (TA)'sında tam antagonist, ancak Çin hamsteri over hücrelerinde agonist olduğu bildirilmiştir [137]. Ayrıca, urantidin insan UT için G_i, G_q ve G_o ekinleşmesine neden olarak bir parsiyel agonist olarak davrandığı gösterilmiştir [131, 132]. Palosuranın, primat UT için seçici, ancak rodentlerde seçici olmayan bir antagonist olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır [133]. SB-710411'in ise, UT için sıçan izole aortunda antagonist [134], maymun izole TA, genel karotit, renal arter (RA) ve süperiyor mezenterik arterde tam agonist olduğu gösterilmiştir [135]. Ayrıca, Behm ve ark. [130] tarafından insan embriyonik böbrek hücreleri ile izole sıçan, kedi ve maymun aorta, femoral arter, RA ile mezenterik arterde yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, urantit ve SB-710411 UT için "düşük efikasili parsiyel agonistler" olarak tanımlanmışlardır. Öte yandan, literatürde urantit, palosuran ve SB-710411 ile çeşitli sepsis modellerinde gerçekleştirilen *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır. Farelerde LPS ile oluşturulan endotoksik şok modelinde yapılan çalışmalardan birinde, urantidin plazma IL-1 β , IL-3 ve IL-6 düzeyleri, böbrek ve karaciğerde NF- κ B ekspresyonundaki artma ile kardiyak işlev bozukluğunu önlemesinin yanı sıra, yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir [138]. Farelerde LPS/D-

galaktozamin ile oluşturulan akut karaciğer yetmezliği modelinde, urantidin serum ve karaciğerde U-II, TNF- α ile IL-1 β düzeyleri, karaciğerde U-II, UT, IL-1 β , TNF- α , IRF3 ve IFN- γ ulak ribonükleik asit (*messenger ribonucleic acid*; mRNA) ekspresyonu, I κ B α fosforilasyonu ile NF- κ B'nin nükleer translokasyonu ile deoksiribonükleik asit (*deoxyribonucleic acid*; DNA)'ya bağlanmasındaki artmayı önlemesinin yanı sıra, yaşam süresini uzattığı bildirilmiştir [114, 116, 118]. Klinik olarak sepsisin taklit edilebildiği farelerde çekumun bağlanması ve delinmesi (*cecal ligation and puncture*; CLP) yöntemi ile oluşturulan polimikrobiyal sepsis modelinde yapılan bir çalışmada, palosuranın akciğerde GPR14, IL-1 β , IL-6, TNF- α ve NF- κ B mRNA ekspresyonunun yanı sıra, malondialdehit düzeyleri, vasküler konjesyon, ödem ve enflamatuvar hücre infiltrasyonundaki artmayı önlediği bildirilmiştir [139]. Aynı modelde yapılan bir başka çalışmada ise, urantit ve palosuran akciğerde U-II, GPR14, IL-1 β , IL-6, TNF- α ve NF- κ B mRNA ekspresyonunun yanı sıra, ödem, alveolar duvar kalınlığı ve enflamatuvar hücre infiltrasyonundaki artmayı önlemişlerdir [140]. Sıçanlarda LPS ile oluşturulan endotoksemi modelinde, urantidin ortalama arter basıncı (OAB), kalp hızı (KH) ve renovasküler dirençteki artmayı önlemediği bildirilmiş olup, hipotansif olmayan endotoksemik sıçanlarda gözlenen renal anormalliklere UT'nin aracılık etmediği ileri sürülmüştür [141]. Her ne kadar bir septik şok modelinde gerçekleştirilmemiş olsa da, literatürde SB-710411 ile yapılan yalnızca iki *in vivo* çalışma bulunmaktadır. İlk olarak, Liu ve ark. [142] tarafından sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan siroz modelinde yapılan bir çalışmada, SB-710411'in plazma U-II düzeyleri ile karaciğerde U-II ve UT ekspresyonundaki artmayı önlediği gösterilmiştir. Luo ve ark. [136] tarafından sıçanlarda oluşturulan iskemi/reperfüzyon (İ/R) modelinde yapılan bir çalışmada ise, SB-710411'in OAB ve KH'de azalma gibi hemodinamik parametrelerdeki değişiklikleri, elektrokardiyogram (EKG)'de ST segmentindeki yükselmeyi, serum laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin kinaz-MB etkinlikleri, kardiyak troponin I düzeyleri ile RhoA etkinliği ve UT, ROCK1 ve ROCK2 protein ekspresyonundaki artmayı önlemesinin yanı sıra, miyokardiyal enfarkt büyüklüğünü, nekrozu, interstisyel ödemi ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Öte yandan, sıçanlarda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde, UT'nin, özellikle septik şok nedeniyle gelişen enflamatuvar değişiklikler nedeniyle, işlevleri bozulan kalp ve böbrek gibi yaşamsal önemi olan organların perfüzyonundan sorumlu TA ve RA gibi ana damarlar üzerindeki etkisinin araştırıldığı herhangi bir *in vivo* çalışma gerçekleştirilmemiştir. Ayrıca, patojenezinde ürotensinerjik sistemin rol oynadığı ve başta kalp ve böbrek olmak üzere çeşitli yaşamsal organların işlevlerinde bozukluklar ile belirgin bakteriyel sepsis, septik şok, ÇOY ve ÇOYS gibi durumlarda bu sistemi hedefleyen klinik araştırma bulunmamaktadır [143].

Güncel literatürden derlenmiş bilgiler ile daha önce yaptığımız çalışmalardan elde ettiğimiz bulgular birlikte değerlendirildiğinde, LPS'nin tetiklediği olaylar sonucunda gelişen hipotansiyonun yanı sıra, vasküler, kardiyak ve renal enflamasyon nedeniyle kalp ve böbrek gibi yaşamsal organların yetmezliğiyle sonuçlanabilen olayların önlenmesinde UT antagonistlerinin yararlı olabileceği düşünülmüştür. Öte yandan, yapılan literatür taramasında, sıçanlarda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde, UT'nin NO aracılıklı hipotansiyona katkısının ne yönde olabileceğine ilişkin herhangi bir *in vivo* çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla araştırma konusuyla ilişkili olarak ilk kez gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, sıçanlarda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde, UT'nin NO aracılıklı hipotansiyona katkısının TLR4/MyD88/NF-κB/iNOS yolu ve pro-enflamatuvar sitokin ekspresyonu ile ilişkilendirilerek araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmalarda, sıçana seçici peptit yapısında bir UT antagonisti olan SB-710411 kullanılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Septik Şok

Şok, vücuttaki yaşamsal organlara ve dokulara yeterli kan ve oksijen sağlanamaması sonucu yaşamı tehdit eden bir durumu ifade etmektedir. Bu durumun başlıca türleri arasında septik şok, enflamatuvar şok, kardiyojenik şok, vazodilatör şok, hemorajik şok, travmatik şok, nörojenik şok ve anafilaktik şok bulunmaktadır [24-26, 37, 144-145].

1992 yılında yayınlanan Sepsis-1 (1991) kılavuzuna göre, konakta enfeksiyona maruziyet sonucunda başlayan ve ÇOYS'a dek gidebilen durumların tanımları Tablo 2.1.'de verilmiştir [146]. 2001 yılında yayınlanan Sepsis-2 (2001) kılavuzunda, şiddetli sepsisin göstergesi olan organ işlev bozukluğunun belirlenebilmesi amacıyla Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirmesi (*Sequential Organ Failure Assessment*; SOFA) için Tablo 2.2.'de belirtildiği biçimde bir puanlama yapılması dışında, tanımlar büyük ölçüde değişmeden bırakılmıştır [10, 147]. Bu kılavuzda, sepsis, şiddetli sepsis ve septik şok terimleri sırasıyla "≥ 2 SIRS kriterleri ve enfeksiyon kuşkusu", "sepsis ve organ işlev bozukluğu (≥ 2 SOFA puanı)" ve "sepsis ve sıvı resüsitasyonuna karşın hipotansiyon veya sıvı resüsitasyonuna karşın laktatemi" olarak tanımlanmıştır. En son 2016 yılında "Sepsis-3 (2016)" olarak yayınlanan kılavuzda ise, şiddetli sepsis terimi çıkarılmış olup, önceki kılavuzlarda geçen sepsis, organ işlev bozukluğu ve septik şoka ilişkin tanımlar güncellenmiştir (Tablo 2.3.) [4, 10, 28, 147-150].

Septik şok genel olarak, özellikle Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı konakta gelişen enflamatuvar ve antienflamatuvar olaylar ile hümmoral ve hüccresel tepkilerin neden olduğu, vazopresör katekolamin düzeylerinin artmasına karşın, vazokonstriktör maddelere karşın hiporeaktivite gösteren ve sıvı uygulamasıyla düzeltilemeyen ileri derecede düşük kan basıncının eşlik ettiği, mikrosirkülasyon işlev bozukluğu ile birlikte kalp, böbrek, akciğer, beyin ve karaciğer gibi yaşamsal organlarda doku perfüzyonu ve oksijen kullanımında bozulmanın sonucu olarak ortaya çıkan bir durumdur. *E. coli* gibi Gram-negatif bakterilerden kaynaklanan ve "endotoksin" olarak da adlandırılan LPS'nin lipit A bölümünün neden olduğu septik şok, "endotoksik şok", "endotoksin şoku" veya "toksik şok" olarak da adlandırılmaktadır (Şekil 2.1.) [4, 5, 24-26, 28-35, 37, 39, 144, 145].

Tablo 2.1. Sepsis-1'e göre, konakta enfeksiyona maruziyet sonucunda başlayan ve ÇOYS'a dökülebilen durumlar ile ilgili tanımlar [146].

Durum	Tanım
Enfeksiyon	Normalde steril olan konakta mikroorganizmanın varlığı veya mikroorganizmanın yayılmasına karşı verilen enflamatuvar yanıt ile belirgin mikrobiyal durum.
Bakteriyemi	Kanda canlı bakteri bulunması durumu.
SIRS	Şiddetli klinik belirtiler ile kendini gösteren sistemik enflamatuvar yanıt. Sayılan durumlardan en az ikisi olmalı: (1) Ateş > 38°C veya < 36°C (2) Kalp hızı > 90 atım/dakika (3) Solunum hızı ≥ 20 solunum/dakika veya $P_{aCO_2} < 32$ mmHg (< 4.3 kPa) (4) Lökosit > 12.000 hücre/mm ³ veya > %10 olgunlaşmamış hücre
Sepsis	Bilinen veya olası bir enfeksiyona karşı verilen sistemik yanıt durumu. Enfeksiyonun sonucu olarak sayılan durumlardan en az ikisi olmalı: (1) Ateş > 38°C veya < 36°C (2) Kalp hızı > 90 atım/dakika (3) Solunum hızı ≥ 20 solunum/dakika veya parsiyel arteriyel karbondioksit basıncı < 32 mmHg (< 4.3 kPa) (4) Lökosit > 12.000 hücre/mm ³ veya > %10 olgunlaşmamış hücre
Sepsisin neden olduğu hipotansiyon	Hipotansiyona neden olabilecek bir durum olmamasına karşın, sistolik kan basıncının 90 mmHg'dan düşük olması ya da sistolik kan basıncında 40 mmHg'den daha çok bir azalma olması durumu.
Şiddetli sepsis	Sepsisin neden olduğu organ işlev bozukluğu veya doku hipoperfüzyonu ile birlikte olan sepsis durumu. Yalnızca sayılanlar ile sınırlı olmayıp, laktik asidoz, mental durum değişikliği ve oligüriyi içerir.
Septik şok	Sepsisin neden olduğu, yeterli sıvı uygulanmasına karşın düzelmeyen hipotansiyon olması durumu. Yalnızca bunlarla sınırlı olmayıp, laktik asidoz, mental durum değişikliği ve oligüriyi içerir. İnotrop veya vazopresör ilaçları alan hastalar, perfüzyon anormalliklerinin ölçüldüğü sırada hipotansif olmayabilir.
ÇOYS	Girişim ile homeostazın sağlanamadığı akut hastalığı olan hastalarda organ işlevinin değişmesi ile belirgin durum.

ÇOYS, Çoklu organ yetmezliği sendromu; SIRS, sistemik enflamatuvar yanıt sendromu (systemic inflammatory response syndrome).

Tablo 2.2. Sepsis-3'e göre, SOFA puanları [10].

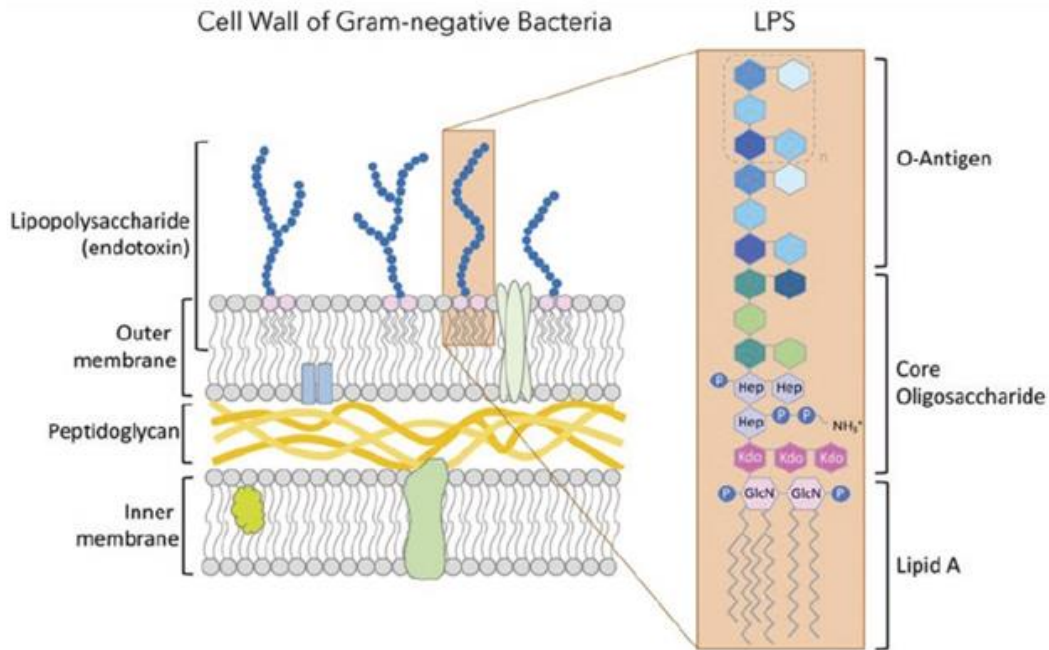
Sistem	Puan				
	0	1	2	3	4
Solunum PaO ₂ /FiO ₂ (kPa/mmHg)	≥ 400 (53.3)	< 400 (53.3)	< 300 (40)	Solunum desteği ile < 200 (26.7)	Solunum desteği ile < 100 (13.3)
Pıhtılaşma Trombositler (x 10 ³ /μl)	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Karaciğer Bilirubin (mg/dl veya μmol/l)	< 1.2 (veya 20)	1.2-1.9 (veya 20-32)	2.0-5.9 (veya 33-101)	6.0-11.9 (veya 102-204)	> 12.0 (veya 204)
Kardiyovasküler	OAB 70 mm/Hg	OAB < 70 mm/Hg	Dopamin < 5 veya dobutamin (herhangi bir doz) ^a	Dopamin 5.1-15 veya adrenalin ≤ 0.1 veya noradrenalin ≤ 0.1 ^a	Dopamin > 15 veya adrenalin > 0.1 ya da noradrenalin > 0.1 ^a
SSS Glasgow Koma Ölçeği ^b	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Renal Kreatinin (mg/dl veya μmol/l)	< 1.2 (veya < 110)	1.2-1.9 (veya 110-170)	2.0-3.4 (veya 171-299)	3.5-4.9 (veya 300-400)	> 5.0 (veya > 440)
İdrar çıkışı (ml/gün)	---	---	---	< 500	< 200

^a, Katekolamin dozları μg/kg/dakika olarak en az 1 saat süreyle verilir; ^b, Glaskow Koma Ölçeği puanı 3-15 arasında değişir, yüksek puan daha iyi bir nörolojik işlev olduğunu gösterir. FiO₂, inspirasyon ile alınan oksijen fraksiyonu; OAB, ortalama arter basıncı; PaO₂; parsiyel oksijen basıncı; SSS, santral sinir sistemi.

Tablo 2.3. Sepsis-2'ye göre, sepsis, organ işlev bozukluğu ve septik şok ile ilgili tanımlar [10].

Sepsis	Konağın enfeksiyona karşı düzensiz tepkisinden kaynaklanan yaşamı tehdit eden organ işlev bozukluğu durumu. Vücudun bir enfeksiyona tepkisinin kendi doku ve organlarına zarar vermesiyle ortaya çıkan, yaşamı tehdit eden bir durum. Enfeksiyon kuşkusu olan ve yoğun bakımda uzun süre kalması veya hastanede ölme olasılığı olan hastalar yatak başında qSOFA ile (mental durumda değişiklik, sistolik kan basıncı ≤ 100 mm/Hg veya solunum hızı ≥ 22 /dakika) değerlendirilebilir.
Organ işlev bozukluğu	Enfeksiyona bağlı olarak toplam SOFA skorunda ≥ 2 puanlık akut değişiklik durumu. Önceden organ işlev bozukluğu olduğu bilinmeyen hastalarda başlangıçtaki SOFA puanının sıfır olduğu varsayılabilir. SOFA puanının ≥ 2 olması, enfeksiyon kuşkusu olan genel hastane popülasyonunda yaklaşık %10'luk genel mortalite riskini yansıtır. Orta derecede işlev bozukluğu olan hastalarda bile durumun daha da kötüleşebilmesi, bu durumun ciddiyeti ile henüz başlatılmamışsa hızlı ve uygun girişimde bulunulmasını vurgulamaktadır.
Septik şok	Alta yatan dolaşım ve hücresel/metabolik anormalliklerin mortaliteyi önemli ölçüde artıracak kadar derin olduğu bir sepsis alt grubu. Septik şoklu hastalar, yeterli hacim resüsitasyonuna karşın > 2 mmol/l (18 mg/dl) serum laktat düzeyine sahip ve OAB değerini ≥ 65 mm/Hg tutmak için vazopresör gerektiren kalıcı hipotansiyonlu klinik bir sepsis durumu. Bu kriterlere göre, hastane mortalitesi %40'ın üzerindedir.

OAB, Ortalama arter basıncı; qSOFA, Hızlı Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirmesi (Quick Sequential Organ Failure Assessment); SOFA, Sıralı Organ Yetmezliği Değerlendirmesi (Sequential Organ Failure Assessment).



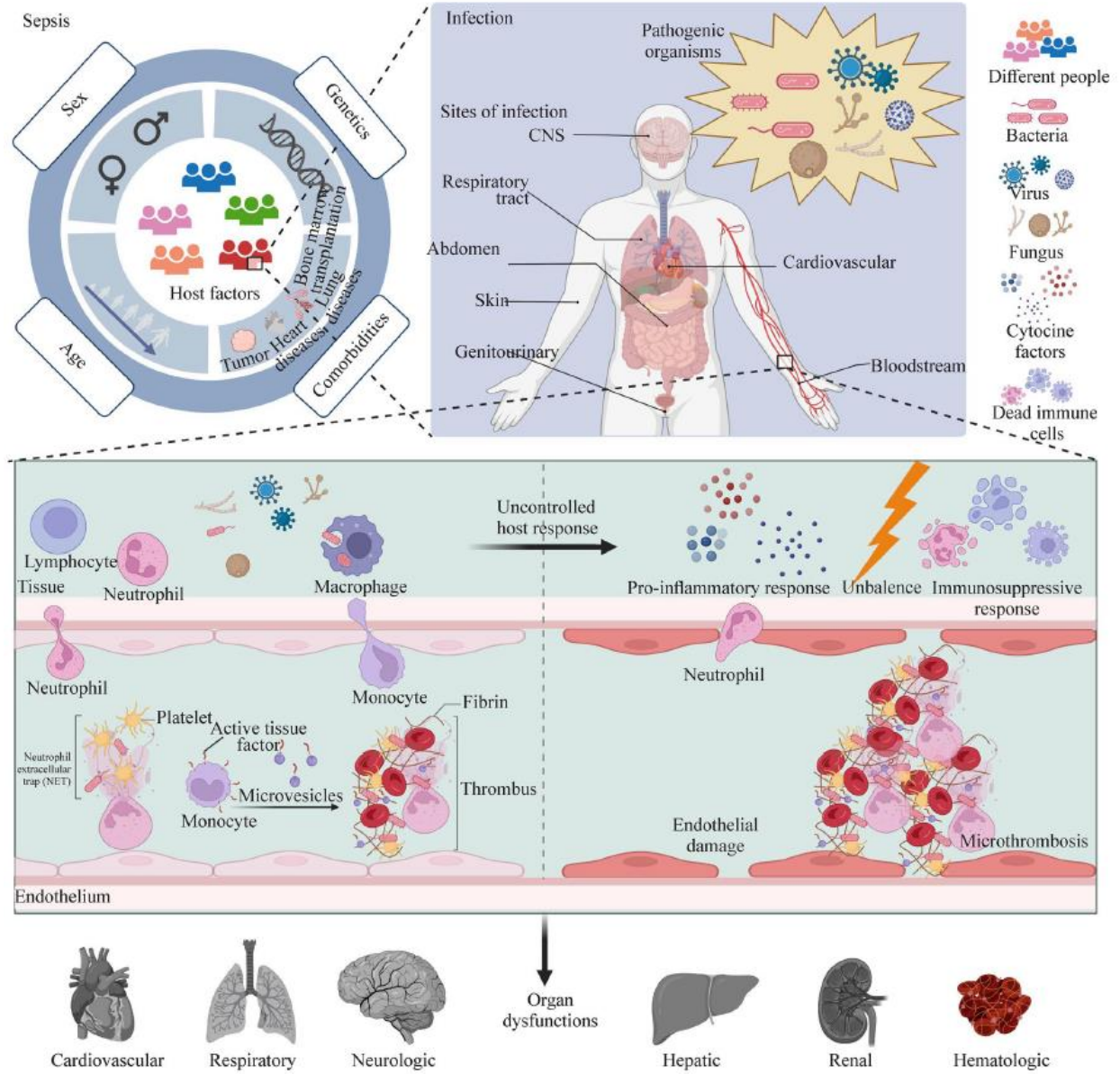
Şekil 2.1. Gram-negatif bakteride hücre duvarının yapısı [34]. LPS, lipopolisakkarit.

2.1.1. Epidemiyolojisi

Sepsis dünya çapında en sık görülen ölüm nedenlerinden biri olmasına karşın, nüfusa dayalı epidemiyolojinin kaydedilmesinde güçlükler yaşandığından, epidemiyolojisine ilişkin güvenilir veriler yalnızca bazı ülkeler için elde edilebildiği bildirilmektedir [1, 3, 4, 8, 9]. 2020 yılında yapılan "*Institute for Health Metrics and Evaluation's Global Burden of Sepsis*" adlı epidemiyolojik bir çalışmanın sonuçlarına göre, 2017 yılında bütün dünyada görülen sepsis olgularının sayısının 48.9 milyon, sepsis ile ilişkili mortalite oranının ise bütün ölümlerin %19.8'u olduğu bildirilmiştir [9]. İyi gelişmiş ülkelerde 2016 yılında yapılan sistematik bir incelemeye göre de, dünya çapında her yıl hastanede tedavi edilen 30 milyondan çok sayıdaki sepsisli hastalardan 5.3 milyonunun sepsis nedeniyle öldüğü bildirilmiştir [151]. Elde edilen epidemiyolojik verilere göre, Dünya Sağlık Örgütü de, 2020 yılında sepsisin dünya çapında bir sağlık önceliği olduğunu doğrulayan bir rapor yayınlamıştır [152].

2.1.2. Etiyolojisi

Sepsisin etiyolojisine katkıda bulunan Gram-negatif bakterilerin başında *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterobacter cloacae* gelmektedir. Gram-pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* sepsisin etiyolojisine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, *Candida albicans* gibi mantarlar ile *Haemophilus influenzae* gibi virüsler de sepsise neden olabilmektedirler. Sıklıkla, bakteriler, virüsler ve mantarların bağırsak, akciğer, deri veya jeniüiner sistem aracılığıyla kan dolaşımına geçmesi sonucunda sepsis ve septik şok nedeniyle çoklu organ işlev bozukluğu gelişebilmektedir (Şekil 2.2.) [3, 27, 153].



Şekil 2.2. Sepsisin etiyolojisi ve heterojenliğine katkıda bulunan konağa, enfeksiyona, kontrol edilemeyen konak yanıtına ve çoklu organ işlev bozukluğuna ilişkin etkenler [27]. *CNS*, Santral sinir sistemi (*central nervous system*).

2.1.3. Fizyopatolojisi

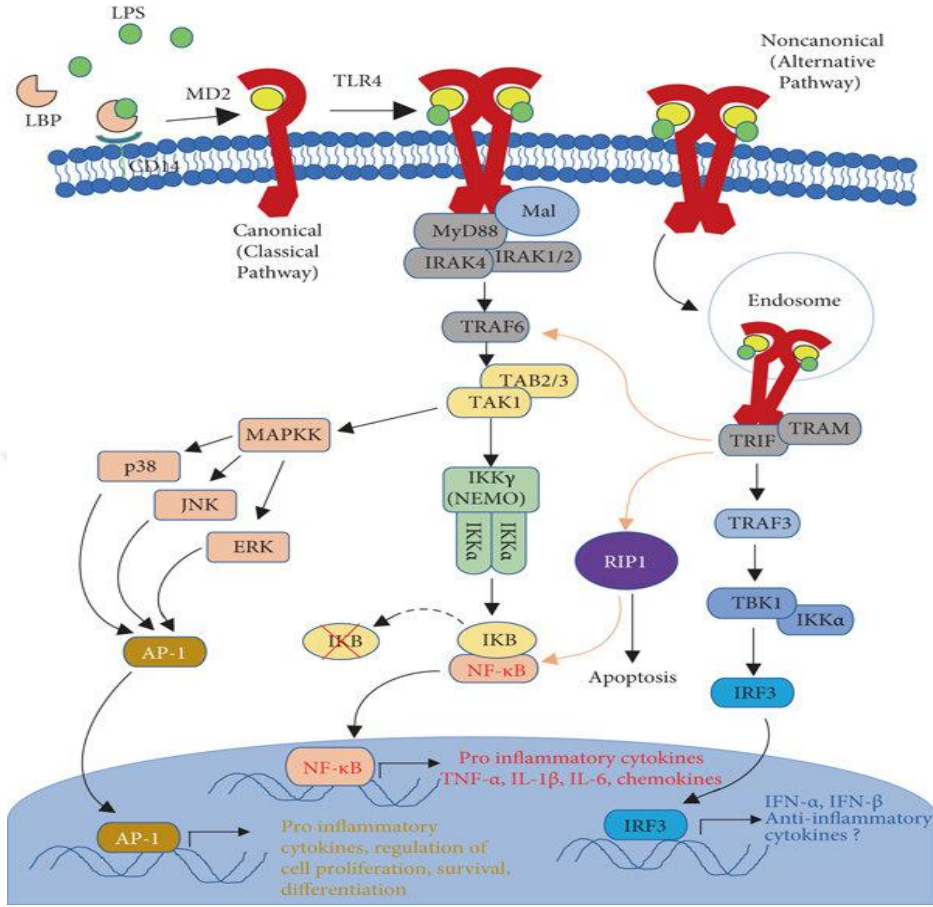
E. coli gibi Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan lipit A, yüksek derecede immünoreaktiftir ve Gram-negatif sepsiste gözlenen toksik etkilerin bir çoğundan sorumludur. Lipit A'nın başlıca etkisi, makrofajları etkinleştirmesi ve enflamasyona neden olan olayları tetiklemesidir [4, 5, 29, 32, 34-36, 38, 40].

Enfeksiyona karşı gelişen yanıtta önemli rol oynayan monositler, makrofajlar, nötrofiller ve endotel hücreleri yüzeyinde bulunan CD14 ve TLR4, bütün bakteriyi veya LPS gibi bakteriyel ürünleri tanıyan ve onlara bağlanan reseptörlerdir. Hepatositler tarafından sentezlenen bir serum proteini olan lipit bağlayıcı protein (LBP)'nin bakteriyel LPS'yi CD14'e transfer etmesinin ardından, LPS molekülleri CD14 tarafından biriktirilmekte ve LPS monomerleri MyD-2 ve TLR4 reseptör kompleksine sunulmaktadır. TLR4 aracılıklı enflamatuvar yol etkinliğinin bir göstergesi olarak, LPS ile bağlı olan miyeloid farklılaşma faktörü (*myeloid differentiation factor*; MD)-2/TLR4 kompleksi (LPS-MD-2-TLR4)₂ reseptör multimerine dönüştürülmektedir [5, 32, 36, 38-46].

TLR4 sinyal yolu MyD88 ve TRIF'e bağlı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2.3.) [5, 32, 36, 38-46]:

(1) MyD88'e bağımlı olan klasik (*canonical*) yolda, uyarı TIRAP aracılığıyla MyD88'e iletilmektedir. Ardından, NF-κB ve AP1 (c-fos/c-jun heterodimeri) gibi transkripsiyon faktörleri etkinleştirilmektedir. Etkinleşen transkripsiyon faktörleri ise, IRAK1/4, TRAF6, TAK1, IKKα/β/γ ve MAPK'ler gibi sinyalleyici moleküller (MEK1, MAPK, MKK3/6 ve MKK4, ERK1/2, p38 MAPK ve JNK 1/2) aracılığıyla çeşitli enflamatuvar mediyatörlerin oluşumunda artmaya neden olmaktadır.

(2) TRIF'e bağımlı klasik olmayan (*noncanonical*) yolda ise, NF-κB etkinleştirici kinaz ile ilişkili protein 1, TBK1, IKKi ve TRAF3 aracılığıyla IFN-β ve IFN ile indüklenebilen genleri *up*-regüle etmek üzere IRF3 etkinleştirilmektedir. MyD88'e bağımlı yolda, etkinleşen NF-κB çekirdeğe geçmeden önce etkin olmayan durumda kalmasını sağlayan IκB molekülünden ayrılmaktadır. Çekirdeğe geçen NF-κB, enflamasyona neden olan çok sayıda molekülün oluşumundan sorumlu olan enzimlerin transkripsiyonel düzeyde ekspresyonlarının artmasına neden olmaktadır. Bu genlerin arasında sepsis ve septik şok patojenezinde önemli rol oynadığı bilinen iNOS ve COX-2 gibi enzimler, akut faz proteinleri ile IFN-γ, IL-1β, IL-6, IL-8 ve TNF-α gibi pro-enflamatuvar sitokinler yer almaktadır.



Şekil 2.3. Memeli bir konakta enflamasyon ile sonuçlanan LPS/TLR4 aracılıklı sinyal ileti yolu [38].

AP, Etkinleştirici protein (activator protein); ERK, ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz (extracellular signal-regulated kinase); IFN, interferon; IKK, κ B kinase inhibitörü (inhibitor of κ B kinase); IL, interlökin (interleukin); IRAK, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (interleukin-1 receptor-associated kinase); IRF, interferon düzenleyici faktör (interferon regulating factor); JNK, c-jun N-terminal kinaz (c-jun N-terminal kinase); LBP, lipit bağlayıcı protein (lipid-binding protein); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); MAPKK, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz (mitogen-activated protein kinase); MD, miyeloid farklılaşma faktörü (myeloid differentiation factor); MyD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); NF, nükleer faktör (nuclear factor); p38, p38 mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (p38 mitogen-activated protein kinase); RIP, reseptör ile etkileşen protein (receptor-interacting protein); TAB, dönüştürücü büyüme faktörü β ile etkinleştirilen kinaz bağlayıcı protein (transforming growth factor β -activated kinase-binding protein); TAK, dönüştürücü büyüme faktörü β ile etkinleştirilen kinaz (transforming growth factor β -activated kinase); TBK, tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptör aile üyesi ile ilişkili faktör nükleer faktör κ B etkinleştiricisi bağlayıcı kinaz (tumor necrosis factor receptor family member associated nuclear factor κ B activator-binding kinase); TLR, toll-like receptor; TNF, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor); TRAF, tümör nekrozlaştırıcı faktör ile ilişkili faktör (tumor necrosis factor receptor-associated factor); TRAM, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β ile ilişkili adaptör molekül (toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon- β -related adaptor molecule); TRIF, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β (toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon- β).

Bunlara ek olarak, antienflamatuvar kardiyoprotektif epoksieikozatrienoik asitlerin oluşumundaki azalmanın yanı sıra [47, 48], hem pro-enflamatuvar hem de antienflamatuvar özellikleri olduğu bildirilen 20-HETE oluşumundaki değişikliklerin de enflamatuvar yanıtta rol oynadığı gösterilmiştir [47]. Kardiyovasküler ve renal sistemin baskılanmasına ise, özellikle oluşumu artan NO ve PGI₂ gibi vazodilatör ürünler [49-58] ile oluşumu azalan 20-HETE gibi vazokonstriktör ürünler [49, 50, 53, 55-58, 59-62] katkıda bulunmaktadır. Bu bulgular her ne kadar çelişkili gibi görünse de, sonuç olarak, septik şok patojenezinde vazodilatör/vazokonstriktör ve pro-enflamatuvar/antienflamatuvar dengeler, daha çok vazodilatör ve pro-enflamatuvar ürünlerin oluşumunun artışı yönünde bozulmuştur. Bozulan bu dengenin yeniden kurulması için de ürünler ve/veya enzimler düzeyinde birbirlerinin oluşumlarını ve/veya etkilerini önleyecek biçimde etkileşimler de görülmektedir [18, 24-26, 31, 63-67]. Bütün bu olaylar, sepsis ve septik şok hastalarında uygun biçimde yapılan vazokonstriktör tedaviye karşın, geri çevrilemeyen vasküler hiporeaktiviteyi açıklamaktadır.

2.1.4. Tedavisi

Septik şok tedavisinin temel hedeflerinin başında patojenin zamanında tanımlanması, enfeksiyon kaynağının ortadan kaldırılması, septik şoka neden olabilecek olayların zincirinin engellenmesi ve organlardaki işlev bozukluklarının düzeltilmesi gelmektedir. Dolayısıyla, septik şok tedavisinde başlıca **(1)** antimikrobiyal tedavi, **(2)** hemodinamik destek (oksijenasyon/ventilasyon stratejileri, sıvı/vazopresör kullanımı ve erken hedefe yönelik tedavi gibi), **(3)** bakteriyel virülans faktörleri (antiendotoksin antikorlar ve endotoksin uzaklaştırıcı kolonların kullanılması gibi) ile **(4)** konaktaki yanıt etkenlerini (glukortikoidler, antisitokin ilaçlar ve antikoagülanların kullanılması gibi) hedef alan yaklaşımlara başvurulmaktadır [4, 7, 8, 12-21]. Ayrıca, erişkin ve pediyatrik hastalarda sepsis, septik şok ve organ işlev bozukluğunun tedavisi için *Surviving Sepsis Campaign*'in uygulanmasını önerdiği kanıta dayalı yaklaşımlar sürekli güncellenmektedir [14, 154].

Her ne kadar gereksinimlere göre tedavi yaklaşımları güncellense de, septik şok patojenezinde çok sayıda mediyatörün rol oynaması ve bu mediyatörler arasındaki etkileşimlerden dolayı, uygulanan tedaviler başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir. Bu durumun nedenleri arasında septik şok patojenezinin pek çok mediyatörün katkısından dolayı karmaşık olması, mediyatörlerin birbirleriyle etkileşimleri ile semptomlar ve prognoz bireyler arasında değişkenlik göstermesi bulunmaktadır [3, 22-26]. Dolayısıyla, sistemik enfeksiyon ve enflamasyona bağlı olarak gelişebilecek septik şok nedeniyle görülen mortalitenin azaltılabilmesi ve yaşam süresinin uzatılabilmesi için, bozulmuş olan vazodilatör/vazokonstriktör ve pro-enflamatuvar/antienflamatuvar dengelerin yeniden kurulabilmesine yönelik özgül tedavi

yaklaşımlarına gerek duyulmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle nedene yönelik ve moleküler düzeyde özgül terapötik yaklaşımlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu yaklaşımların çoğunda, özellikle LPS'nin lipit A bölümünün konakta tetiklediği sinyal ileti mekanizmaları üzerinde durulmaktadır [5, 14, 22, 24-26, 28-37].

2.2. Ürotensinerjik Sistem

2.2.1. Özellikleri

İnsanlarda ürotensinerjik sistem iki endojen peptit olan U-II ve URP ile, bir GPCR olan UT'den oluşmaktadır [75-80]. Bir siklik dodekapeptit olan U-II ilk kez *gobiid teleost Gillichthys mirabilis*'in ürofiziyal ekstraktlarından izole edilmiş [155] ve saflaştırılmıştır [156]. Daha sonraki yıllarda, balık [157] ve amfibi [81] U-II tamamlayıcı deoksiribonükleik asit (*complementary DNA*; cDNA)'larının klonlanması ardından, insan (11 rezidü) [81, 158], fare ve sıçan (14 rezidü) [159] ile domuz (12 rezidü) [87] memeli izoformları da tanımlanmıştır. UT için endojen bir ligant olarak tanımlanan URP ise, ilk kez sıçan beyin ekstraktından izole edilmiştir [160, 161]. U-II ile ilişkili peptidin siklik hekzapeptit dizisinin, günümüze dek araştırılan tüm türlerde aynı olduğu bildirilmiştir [162-166].

"GPR14", "UII-R1", "UTR2", "duyusal epiteliyal nöropeptit benzeri reseptör" olarak da bilinen UT [81-83], rodopsin ailesinden bir A grubu GPCR'dir [84, 85]. UT'nin amino asit dizilimi somatostatin reseptörü 4 ile %27 benzerlik) ve opioit reseptörleri (κ reseptörü ile %25 benzerlik, μ ve δ ile %26 benzerlik) ile yüksek benzerlik paylaşır [82]. Amino asit sayısı insan, fare ve sıçanda 389, 385 ve 386 olan UT, insanda 17q25.3 kromozomu üzerindeki UTS2R [81], farede ve sıçanda sırasıyla 11 E2 [167] ve 10q32.3 [82, 83] kromozomları üzerindeki *Uts2r* geni tarafından kodlanmaktadır [168]. İntronsuz olan bu gen, yapısının %75'ini fare reseptörü ile paylaşan, 389 rezidüden oluşan bir protein üretir [81]. Endojen bir ligant olarak, insan U-II'nin, bir sıçan yetim reseptörü olan GPR14'e seçici olarak bağlandığı bildirilmiş olup, günümüzde "UT" olarak adlandırılmaktadır [75, 81, 86-88].

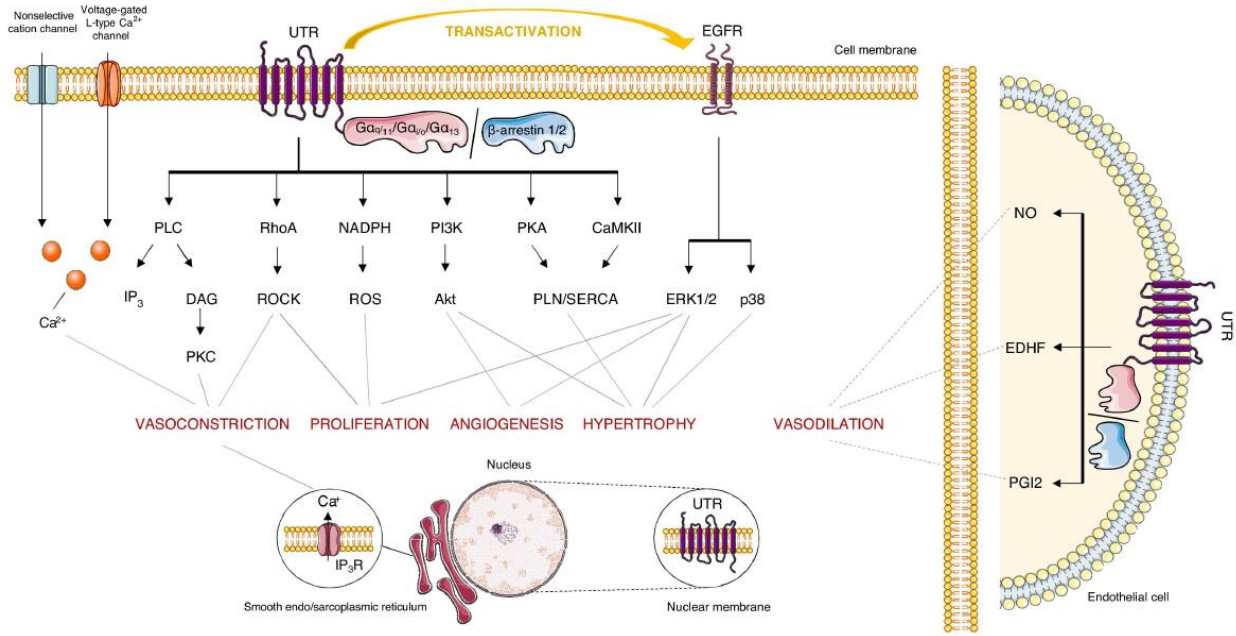
2.2.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi

U-II ve URP atriyal ve ventriküler kardiyomiyositler, damar endotel hücreleri, böbrek tübül epitel hücreleri, beyin, omurilik, karaciğer, dalak, timus, ince bağırsak, mide, prostat, overler, pankreas, adrenal bez ve iskelet kası gibi çeşitli insan, maymun, sıçan ve fare hücreleri ile dokularında eksprese edilmektedir [89, 158, 169-174]. Öte yandan, U-II çeşitli hücrelerdeki ve dokulardaki dağılımının türe özgü olduğunu da bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [92]. Hücre ve nükleer zarlarda eksprese olduğu gösterilen UT/GPR14 ise, damar düz kas hücreleri, endotel

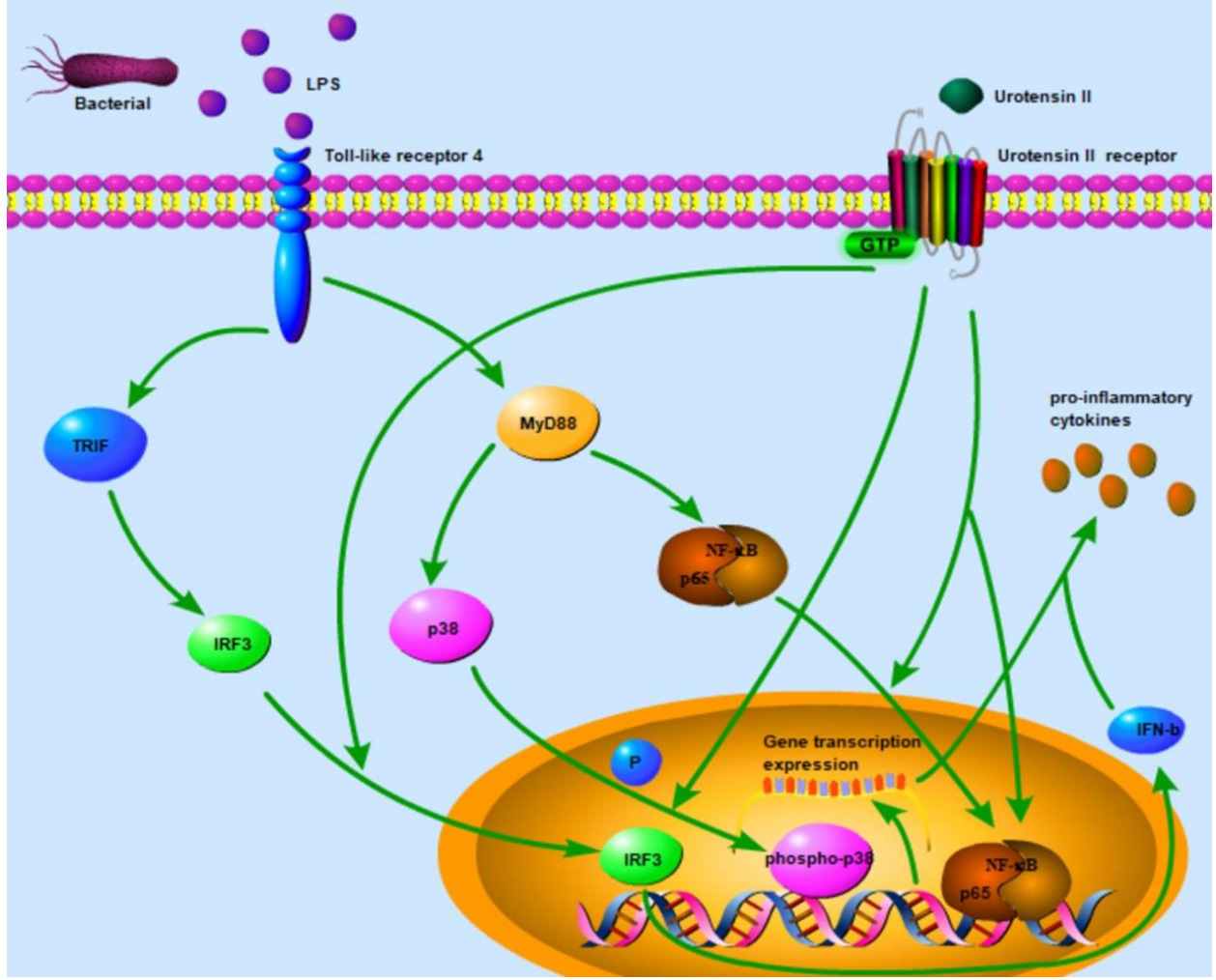
hücreler, kardiyak miyositler, böbrek, beyin ve omurilikte değişen miktarlarda bulunmaktadır [81, 86, 89-91].

2.2.3. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

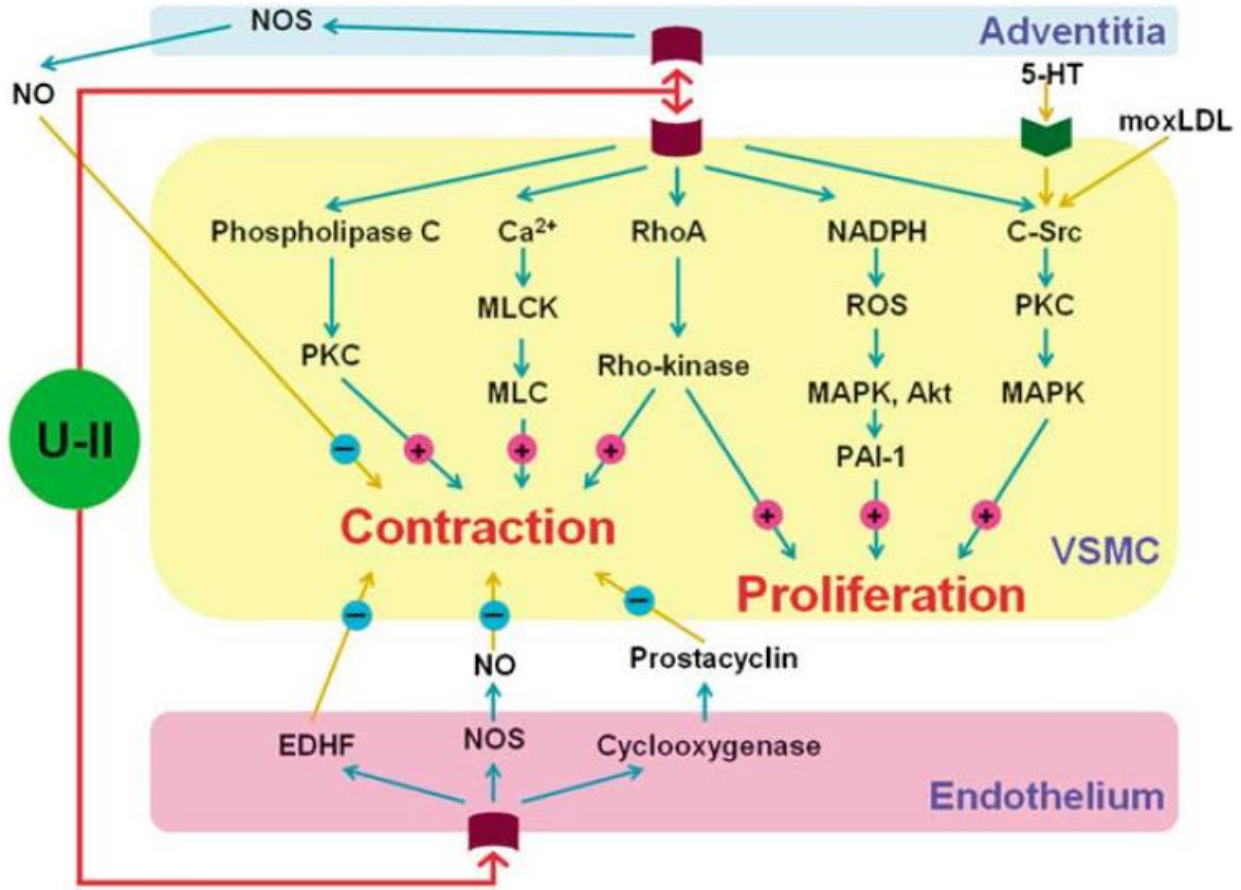
Seçici endojen ligantları olan U-II ve URP tarafından UT'nin uyarılması, karmaşık ve çoklu sinyal ileti yollarının etkinleşerek farklı etkilerin ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Şekil 2.4., Şekil 2.5. ve Şekil 2.6.) [80, 91-93].



Şekil 2.4. UT'nin etkinleşmesinin ardından tetiklenen karmaşık ve çoklu sinyal ileti yolları [92]. Akt, Protein kinaz B (protein kinase B); Ca^{2+} , kalsiyum iyonu (calcium ion); CaMKII, kalsiyum/kalmoduline bağımlı protein kinaz II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II); DAG, diasilgliserol (diacylglycerol); EDHF, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (endothelium-derived hyperpolarizing factor); EGFR, epidermal büyüme faktörü reseptörü (epidermal growth factor receptor); ERK, ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz (extracellular signal-regulated kinase); IP_3 , inozitol trifosfat (inositol triphosphate); IP_3R , inozitol trifosfat reseptörü (inositol triphosphate receptor); MAPK, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (mitogen-activated protein kinase); NADPH, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate); p38, p38 mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (p38 mitogen-activated protein kinase); PGI₂, prostasiklin (prostacyclin); PI3K, fosfoinozitol 3-kinaz (phosphoinositide 3-kinase); PKA, protein kinaz A (protein kinase A); PKC, protein kinaz C (protein kinase C); PLC, fosfolipaz C (phospholipase C); PLN/SERCA, fosfolamban/sarkoplazmik/endoplazmik retikulum kalsiyum-adenozin trifosfataz yolu (phospholamban/sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium-adenosine triphosphatase pathway); RhoA, Ras homolog ailesi üyesi A (Ras homolog family member A); ROCK, Rho ile ilişkili protein kinaz (Rho-associated protein kinase); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species); UTR, ürotensin-II reseptörü (urotensin-II receptor).



Şekil 2.5. U-II'nin pro-enflamatuvar etkisinin mekanizmaları [93]. *GTP*, Guanozin trifosfat (guanosine triphosphate); *IFN*, interferon (interferon); *IRF*, interferon düzenleyici faktör (interferon regulatory factor); *LPS*, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); *MyD*, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); *NF*, nükleer faktör (nuclear factor); *P*, fosforile (phosphorylated); *p38*, p38 mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (p38 mitogen-activated protein kinase); *p65*, nükleer faktör-κB alt birimlerinden biri (one of the subunits of nuclear factor-κB); *TRIF*, Toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon-β (toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon-β); *UT*, ürotensin.



Şekil 2.6. Damar düz kas hücrelerinde intraselüler sinyalleme mekanizmaları ve U-II ile öteki vazoaktif moleküller arasındaki etkileşimler [91]. 5-HT, 5-Hidroksitriptamin (5-hydroxytryptamine); Akt, Protein kinaz B (protein kinase B); Ca²⁺, kalsiyum iyonu (calcium ion); C-Src, proto-onkogen tirozin-protein kinaz (proto-oncogene tyrosine-protein kinase); EDHF, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (endothelium-derived hyperpolarizing factor); MAPK, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (mitogen-activated protein kinase); MLC, miyozin hafif zincir (myosin light chain); MLCK, miyozin hafif zincir kinaz (myosin light-chain kinase); moxLDL, hafif oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (mildly oxidized low-density lipoprotein); NADPH, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate); NO, nitrik oksit (nitric oxide); NOS, nitrik oksit sentaz (nitric oxide synthase); PAI, plazma plazminojen etkinleştirici inhibitör (plasma plasminogen activator inhibitor); PKC, protein kinaz C (protein kinase C); RhoA, Ras homolog ailesi üyesi A (Ras homolog family member A); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species); U-II, ürotensin II (urotensin II); VSMC, damar düz kas hücresi (vascular smooth muscle cell).

U-II, memelilerde günümüze dek bilinen, ET-1'den bile güçlü, vazokonstriktör endojen peptitlerden biridir [81, 100]. Yapılan ilk çalışmalarda, insan U-II'nin sıçanlar ve maymunlardan izole edilen arterler üzerinde, GPR14 aracılığıyla, güçlü bir vazokonstriktör etki oluşturduğu gösterilmiştir [81]. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise, U-II'nin endotel tabakası uzaklaştırılmış insan koroner arteri ile meme ve radyal arterlerinde güçlü bir vazokonstriktör etkisi olduğu

bulunmuştur [89, 175]. U-II, ayrıca, endotel tabakası sağlam ve/veya uzaklaştırılmış sıçan ve tavşan aortunda $G\alpha_{GPR}$ /fosfolipaz C/diaçilgliserol/protein kinaz (PK) C ve RhoA/ Rho ile ilişkili protein kinaz (*Rho-associated protein kinase*; ROCK) yolları aracılıklı vazokonstriksiyona neden olmaktadır [176-178]. Öte yandan, Hillier ve ark. [95] hastalardan izole edilen endotel tabakası sağlam olan arterlerde U-II'nin vazokonstriktör etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, U-II'nin insan küçük pulmoner arterinde, abdominal arterlerde ve küçük dirençli damarlarda, vasküler direncin ana belirleyicisi olan güçlü bir vazodilatör olduğu gösterilmiştir [96]. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, U-II'nin etkilerinin arter çapına bağlı olduğu ileri sürülmüştür [97]. Örneğin, U-II'ye karşı 0.07 mm çapındaki izole pulmoner arterlerde güçlü bir vazodilatör yanıt ve 0.07-0.25 mm çapındaki arterlerde hafif bir vazodilatör yanıt elde edilirken, 0.25 mm çapındakilerde yanıt alınamamaktadır [96, 108, 179]. U-II'nin neden olduğu vazodilatasyonun, çapı küçük olan damarlarda endotel, çapı büyük olan damarlarda ise damar düz kas hücresi aracılıklı olduğu ileri sürülmüştür [97]. Çeşitli araştırmaların sonuçlarına göre, U-II'nin düz kas hücresi üzerindeki vazokonstriktör etkisini dengelemek üzere, küçük çaplı damarların endotel hücrelerinden salıverilen başta NO olmak üzere, endotel kökenli hiperpolarize edici faktör, PGI_2 ve PGE_2 gibi vazodilatör mediyatörlerin oluşumu ve salıverilmesi kritik bir rol oynamaktadır [91, 98-109]. Örneğin, UT-II'nin sıçan aortundan izole edilen adventisiyada L-arjinin/NOS/NO yolunu etkinleştirmesi sonucunda vazodilatasyona neden olduğu bildirilmiştir [107]. Ayrıca, U-II'nin vazodilatör etkisine izole RA'da endotelial NO oluşumundaki artmanın aracılık ettiği gösterilmiştir [109]. Bütün bu çalışmaların sonuçlarına göre, U-II'nin karmaşık etkilerinin arter türü, çapı ve endotel hücrelerinin varlığı olduğu kadar, dokudaki UT miktarı veya ikincil bir UT sinyal ileti yolunun etkinleşmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür [79, 97]. Bunlara ek olarak, U-II, LPS/TLR4/MyD88/NF- κ B yolu ile p38 MAPK üzerindeki üzerindeki pozitif etkisinin yanı sıra, MyD88'den bağımsız yolda IRF3 aracılıklı IL-1 β , IL-8, TNF- α , IFN- γ , IFN- β ve LTC $_4$ gibi pro-enflamatuvar mediyatörlerin oluşumuna yol açarak doğal immün ve enflamatuvar yanıtlarda artmaya [110-118], damar düz kas hücrelerinde RhoA/ROCK ve NADPH/ROT ile ilişkili yollar ile EGFR'nin transaktivasyonuna bağlı olarak ET-1, ROT ve ERK1/2 aracılıklı proliferasyona [119-122], damar endotel hücrelerinde PI3K/Akt yolu ile ERK1/2 aracılıklı anjiyogeneze [123] ve kardiyomiyositlerde Akt/glikojen sentaz kinaz-3 β , CaMKII ve PKA ile EGFR'nin transaktivasyonuna bağlı olarak ERK1/2 ve p38 MAPK aracılıklı hipertrofiye [124-127] yol açabilmektedir.

Ürotensinerjik sistem, başta kardiyovasküler ve renal hastalıklar olmak üzere oluşumundaki ve salıverilmesindeki artmaya neden olduğu pro-enflamatuvar sitokinler aracılığıyla gelişen enflamasyon ve doku zedelenmesi ile belirgin çok sayıda hastalığın patojenezinde önemli rol oynamaktadır [77-80, 92, 93, 128]. Bu sistemin rol oynadığı esansiyel hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, renal işlev bozukluğu, renal yetmezlik, metabolik bozukluklar, ateroskleroz ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen ve ürotensinerjik sistemi hedefleyen UT agonistleri ve peptit yapısında olan ve olmayan yarışmalı antagonistler ile yapılan çok sayıda klinik öncesi ve klinik çalışma bulunmaktadır [76, 77, 79, 80, 92, 93, 128, 129].

2.3. TLR4

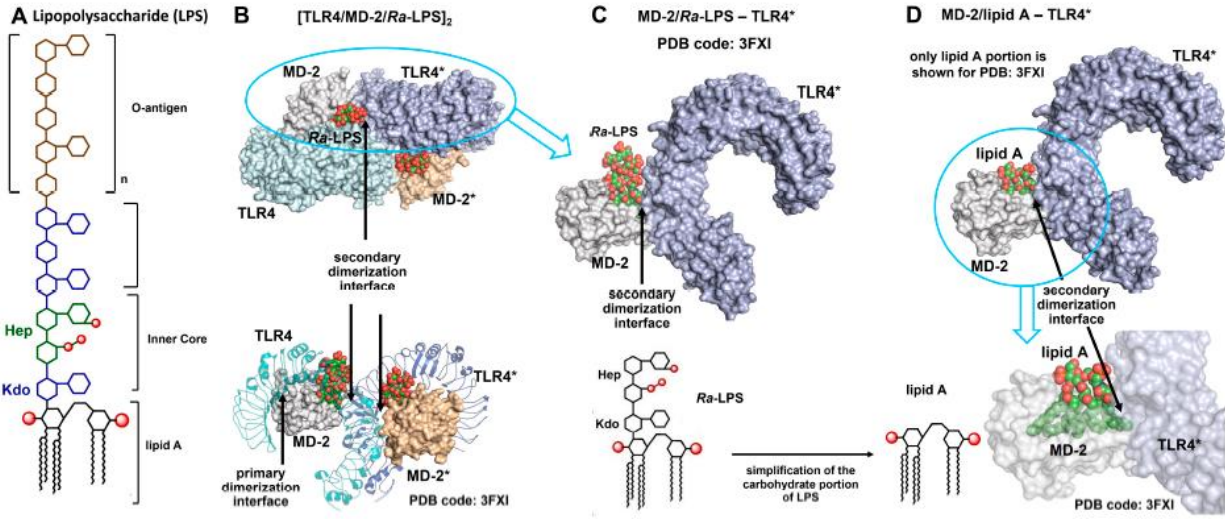
2.3.1. Özellikleri

TLR'ler, çok sayıda patojen ilişkili moleküler kalıp (*pathogen-associated molecular pattern*; PAMP) ile etkinleştirilmelerinin ardından doğal bağışıklık sistemi yanıtı ile enflamasyonu başlatan tip 1 transmembranal proteinlerdir. Günümüze dek, insanlarda 11, farelerde ise 13 TLR tanımlanmıştır. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 ve TLR10 hücre yüzeyinde bulunurken, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, TLR11, TLR12 ve TLR13 intraselüler olarak endozomlarda yerleşmişlerdir. Bu proteinlerde baskın olarak lösinden zengin yinelenen alanlar, tekil transmembranal parçalar ve sitoplazmik TIR yapısal alanları bulunmaktadır. TLR'lerin etkinleşmesi, TLR4/MyD88/TAK1/TRAF6/MAPK/IRAKs/NF-κB-NLRP3/NF eritroit -1 ile ilişkili faktör (*NF erythroid 2-related factor*; Nrf) 2/sirtuin (SIRT) 1, TLR4/TRIF-JNK/IRF3/NF-κB-NLRP3/Nrf2/SIRT1, TLR4/PI-3k/Akt ve TLR4/KK/NF-κB gibi çeşitli intraselüler yollar aracılığıyla, doğal bağışıklık yanıtlarını tetiklemelerinin yanı sıra, pro- ve antienflamatuvar özellikleri olan çok sayıda molekülün oluşumunda artma ile sonuçlanmaktadır [32, 39, 40, 42, 43, 45, 180, 181].

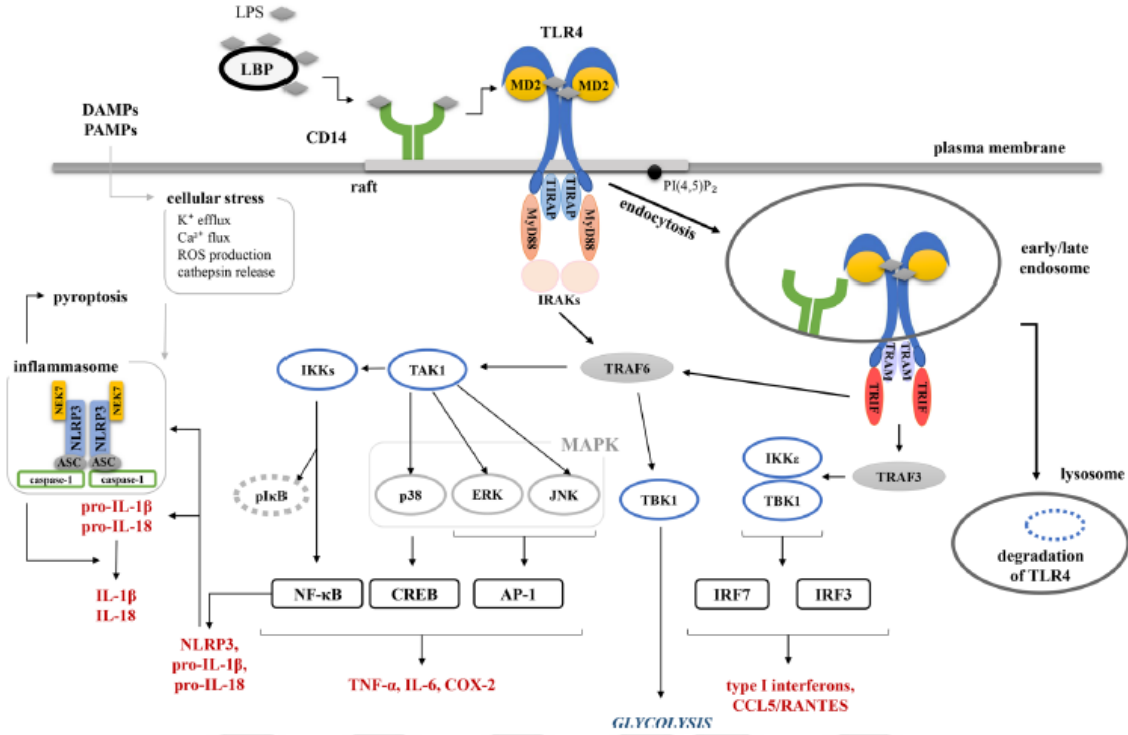
2.3.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi

"LPS için hücre yüzeyi reseptörü" olarak tanımlanan TLR4, başta damar düz kas hücreleri, endotel hücreleri, monositler, makrofajlar, nötrofiller, miyeloid dendrit hücreleri, mast hücreleri, T ve B lenfositler, sinoviyal fibroblast benzeri hücreler ile epitel hücreleri olmak üzere, bakteriyel LPS'ler, viral ribonükleik asit (RNA), doymuş yağ asitleri ile HMGB1, ısı şok proteini (*heat shock protein*; hsp) 60 ve hsp70 gibi zedelenmeyle ilişkili moleküler kalıp (*damage-associated molecular pattern*; DAMP)'ları tanıyan çeşitli hücrelerde eksprese edilmektedir [42, 45, 181].

Sistemik dolaşımdaki LPS'nin TLR4 reseptör sistemi tarafından tanınması, hücre zarında reseptör dimerizasyonunun ardından pro-enflamatuvar sitokinler ile IFN'lerin oluşmasına yol açan bir dizi protein-protein etkileşiminin başlatılmasının ardından, enflamatuvar ve bağışıklık sistemine ilişkin yanıtların tetiklenmesi ile sonuçlanmaktadır. LPS'ye doğrudan bağlanamayan TLR4, LPS'nin lipofilik bölümünü tanıyan bir adaptör protein olan MD-2 ile ayrı bir kompleks oluşturmaktadır. Bu kompleksin kovalan olmayan bağlarla TLR4'e bağlanarak (LPS/MD-2/TLR4)₂ heterodimerinin oluşturulmasının ardından sinyal hücre içine aktarılmaktadır (Şekil 2.7. ve Şekil 2.8.) [32, 39-43, 45, 46].



Şekil 2.7. LPS'nin neden olduğu TLR4 kompleks oluşumu [32]. *Hep*, Heptoz (heptose); *Kdo*, 3-deoksi-D-manno-oktulosonik asit (3-deoxy-D-manno-octulosonic acid); *LPS*, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); *MD*, miyeloid farklılaşma faktörü (myeloid differentiation factor); *Ra-LPS*, lipit A ve tam bir oligosakkarit zincirinden oluşan lipopolisakkarit (lipopolysaccharide consisting of lipid A and a complete oligosaccharide chain); *TLR*, toll benzeri reseptör (toll-like receptor).

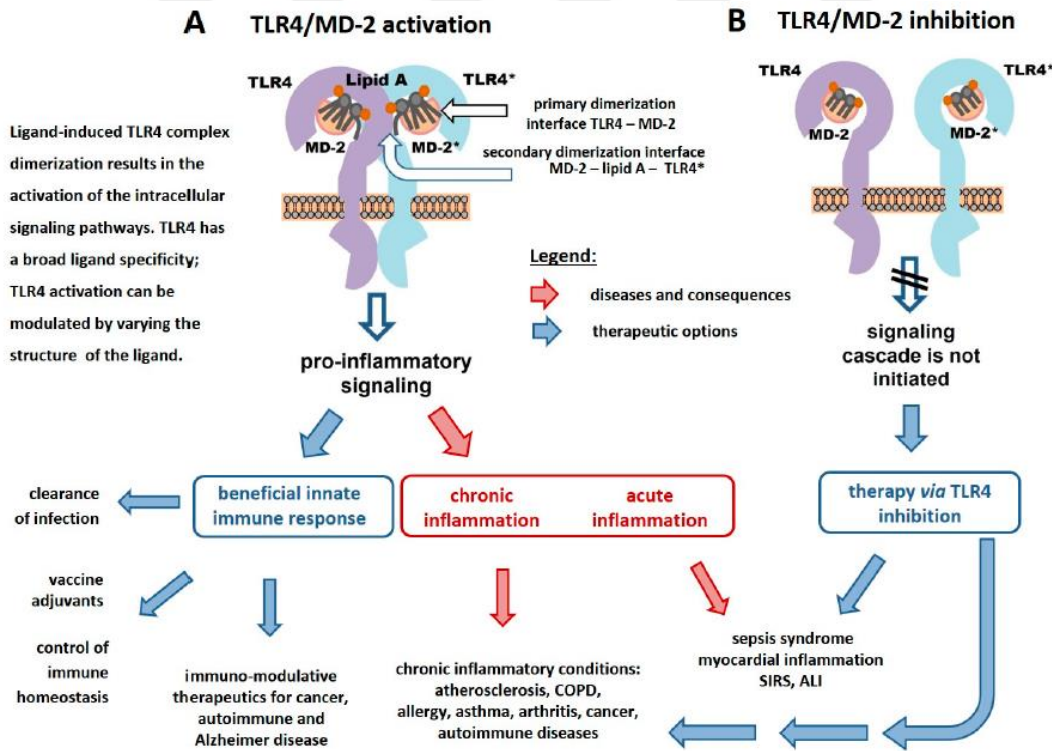


Şekil 2.8. LPS'ye yanıt olarak TLR4'e bağımlı pro-enflamatuvar sinyal ileti yolunun etkinleşmesi [41]. AP, etkinleştirici protein (activator protein); ASC, apoptozla ilişkili nokta benzeri protein içeren bir kaspaz biriktirici alan (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain); Ca²⁺, kalsiyum iyonu (calcium ion); CCL, kemokin (C-C) motif ligandı (chemokine [C-C motif] ligand); CD, farklılaşma kümesi (cluster of differentiation); COX, siklooksijenaz (cyclooxygenase); CREB, siklik adenosin monofosfat yanıt elementi bağlayıcı protein (cyclic adenosine monophosphate-response element binding protein); DAMP, zedelenmeyle ilişkili moleküler kalıp (damage-associated molecular pattern); ERK, ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz (extracellular signal-regulated kinase); IKKs, κB kinaz inhibitörleri (inhibitors of κB kinase); IL, interlökin (interleukin); IRAK, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (interleukin-1 receptor-associated kinase); IRF, interferon düzenleyici faktör (interferon regulatory factor); JNK, c-Jun N-terminal kinaz (c-Jun N-terminal kinase); K⁺, potasyum iyonu (potassium ion); LBP, lipopolisakkarit bağlayıcı protein (lipopolysaccharide-binding protein); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); MAPK, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (mitogen-activated protein kinase); MD, miyeloid farklılaşma faktörü (myeloid differentiation factor); MEK, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz kinaz (mitogen-activated protein kinase kinase); MyD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); NEK, never in mitosis gene A ile ilişkili kinaz (never in mitosis gene A-related kinase); NF, nükleer faktör (nuclear factor); NLRP3, nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alan benzeri, lösenden zengin yinelenen ve pirin alanı içeren (nucleotide-binding oligomerization domain, leucine rich repeat and pyrin domain containing); PAMP, patojen ilişkili moleküler kalıp (pathogen-associated molecular pattern); PI(4,5)P₂, fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate); pIκB, fosforile κB inhibitörü (phosphorylated inhibitor of κB); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species); TAK, dönüştürücü büyüme faktörü β ile etkinleştirilen kinaz (transforming growth factor β-activated kinase); TBK, tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptör aile üyesi ile ilişkili faktör nükleer faktör κB etkinleştiricisi bağlayıcı kinaz (tumor necrosis factor family member associated nuclear factor κB activator-binding kinase); TIRAP, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör protein (toll/interleukin-1 receptor domain-containing

adapter protein); TLR, toll benzeri reseptör (*toll-like receptor*); TNF, tümör nekrozaştırıcı faktör (*tumor necrosis factor*); TRAF, tümör nekrozaştırıcı faktör reseptörü ile ilişkili faktör (*tumor necrosis factor receptor-associated factor*); TRAM, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β ile ilişkili adaptör molekül (*toll-interleukin-1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon- β -related adaptor molecule*); TRIF, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β (*toll-interleukin-1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon- β*).

2.3.3. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

TLR4 sinyal ileti yolu etkinliğindeki değişikliklerin, hem MyD88'e bağımlı hem de bağımlı olmayan yollar aracılığıyla, başta SIRS, sepsis, kalp yetmezliği, miyokart enfarktüsü, ateroskleroz, tromboz, akut böbrek yetmezliği, iskemik inme, travmatik beyin zedelenmesi, multipl skleroz, Alzheimer hastalığı, amiotrofik lateral skleroz, romatoid artrit, akut karaciğer zedelenmesi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, astım, yağlı karaciğer hastalığı, pankreatit, ağrı, alerji, kaşıntı ve çeşitli kanser türleri olmak üzere, çok sayıdaki enflamatuvar hastalığın patojenezinde rol oynadığının bildirildiği çalışmalar bulunmaktadır (Şekil 2.9.) [32, 39, 41-43, 45, 181-189].



Şekil 2.9. Lipit A ile TLR4/MD-2 kompleksinin etkinleşmesi ve inhibisyonu [32]. ALI, akut akciğer zedelenmesi (*acute lung injury*); COPD, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (*chronic obstructive lung disease*); MD, miyeloid farklılaşma faktörü (*myeloid differentiation factor*); SIRS, sistemik enflamatuvar yanıt sendromu (*systemic inflammatory response syndrome*); TLR, toll benzeri reseptör (*toll-like receptor*).

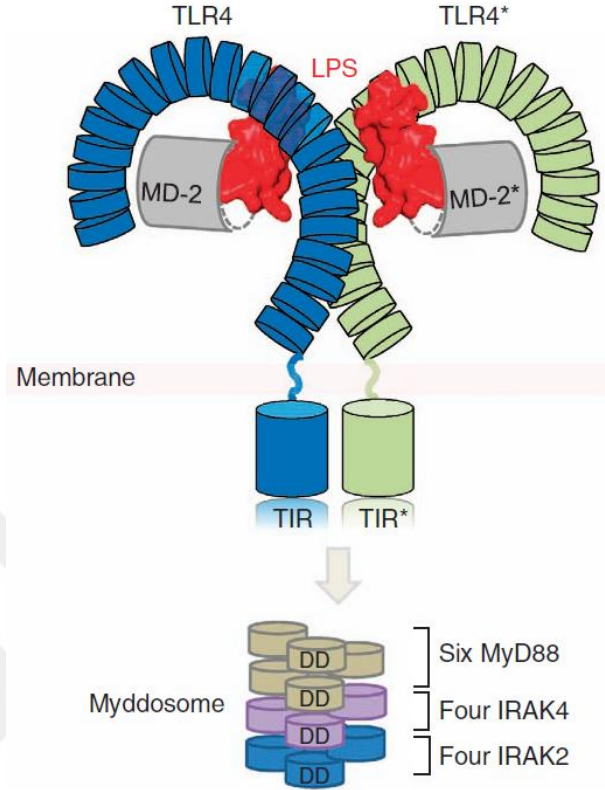
2.4. MyD88

2.4.1. Özellikleri

MyD88, pro-enflamatuvar mediyatörler olduğu kadar, bakteriyel veya viral enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen bağışıklık sistemi yanıtları ile doğal bağışıklık sistemini düzenleyen ve neredeyse tüm dokularda bulunan adaptör bir proteindir. TLR'ler ve IL-1R'ler, endojen ligantları veya mikroorganizmaları tanıyarak MyD88'e bağımlı sinyal ileti yolunun etkinleşmesi için gerekli olan MyD88 moleküllerini ilgili yerde toplamaktadır. MyD88, C-terminal ucu aracılığıyla TIR bölgesi taşıyan proteinlerle etkileşimde bulunurken, N-terminal ucu *homotipik death domain* (DD) etkileşimi yoluyla IRAK ailesi üyeleriyle etkileşmektedir. Bu etkileşme, DD'nin aşırı ekspresyonu NF- κ B ve JNK'nin kendiliğinden etkinleşmesi ile sonuçlanmaktadır. MyD88'in orta bölgesi, TIR ile DD bölgelerini birleştirilmesinden sorumludur. Bu bölge, söz konusu etkileşmelerde doğrudan rol oynamasa da, IRAK4'ün etkinleştirilmesi için önemlidir [190-195].

2.4.2. Ekspresyonunun Düzenlenmesi

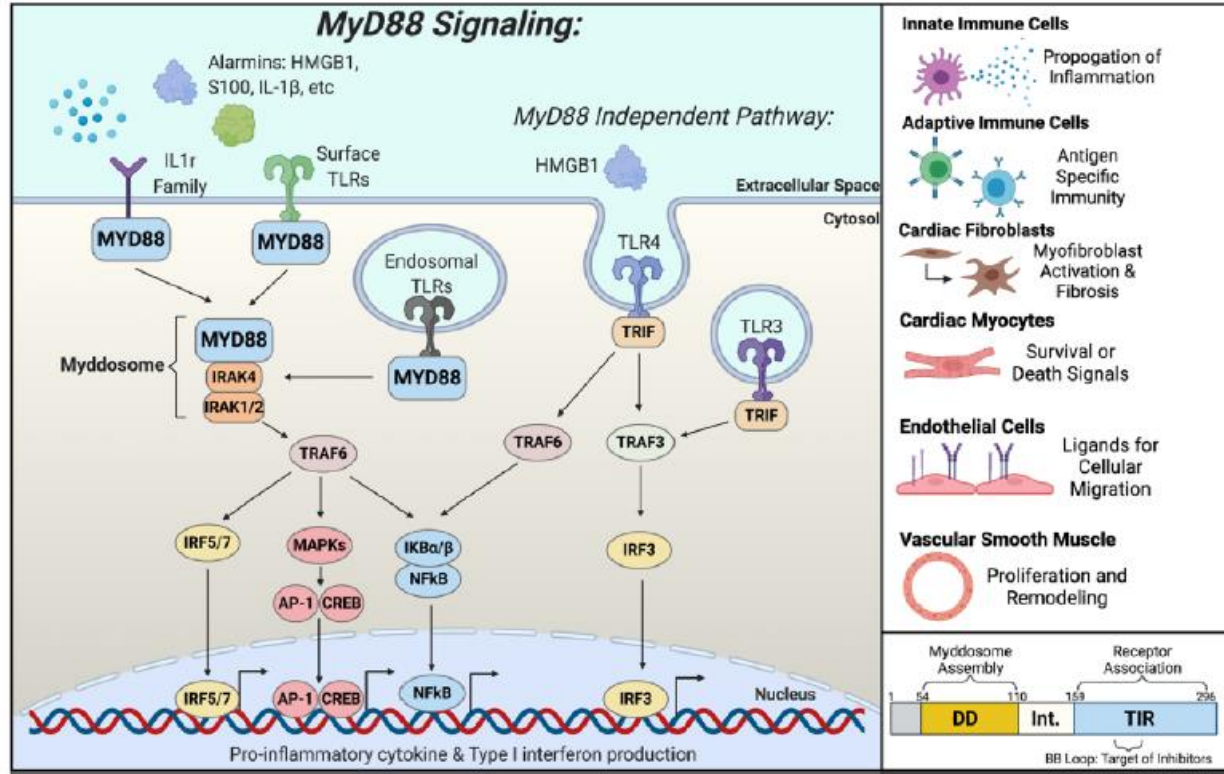
MyD88, TLR'ler veya IL-1R'ler ligantları ile etkileştiklerinde dimerleşmektedir. Dimerleşen MyD88, daha sonra DD bölgesi aracılığıyla IRAK ailesi üyeleri ile homofilik etkileşime girerek "middozom" adı verilen ve 6 MyD88, 4 IRAK2 ile 4 IRAK4 molekülünü içeren bir kompleks oluşturmaktadır (Şekil 2.10.) [40]. Bu kompleks ise, sırasıyla MAPK'ler ile nükleer transkripsiyon faktörlerinin etkinleşmesine katkıda bulunarak enflamatuvar süreci başlatmaktadır (Şekil 2.11.) [190, 191, 193, 194, 196]. MyD88'den bağımsız bir yol olan TLR sinyal ileti yolunda rol oynayan bir adaptör protein olan TRAF3, TRIF kompleksindeki rolüne ek olarak, MyD88 kompleksine de katılmaktadır. TRAF3, MyD88 kompleksine katıldığında ise, kompleks degradasyona uğramaktadır. Bu durum, TRIF'e bağımlı sinyal ileti yolunun etkinliğini artırmasının yanı sıra, MyD88'e bağımlı sinyal ileti yolunu baskılayıcı bir rol oynadığını da göstermektedir. Ayrıca, bir E3 ubiquitin ligaz olan *ring finger protein 41*, MyD88'e bağlanarak onun ubiquitinlenmesine yol açarak MyD88'in parçalanması sonucu pro-enflamatuvar sitokin oluşumunu azaltmaktadır [197, 198]. Antijen sunan hücrelerdeki *major histocompatibility complex* grup II moleküler bir kostimülör molekül olan CD40 aracılığıyla Bruton tirozin kinazının etkinleşmesini sağlamaktadır. Etkinleşen kinaz ise, MyD88 ve TRIF ile etkileşerek MyD88 ve TRIF'e bağımlı yolları etkinleştirerek sırasıyla pro-enflamatuvar sitokin ile tip I IFN'lerin oluşumuna neden olmaktadır [199, 200].



Şekil 2.10. TLR4-MD-2 tarafından LPS'nin tanınmasının ardından midozom oluşumu [40]. DD, Ölüm alanı (death domain); IRAK, interleukin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (interleukin-1 receptor-associated kinase); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); MD, miyeloid farklılaşma faktörü (myeloid differentiation factor); MyD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); TIR, translasyon başlatma bölgesi (translation initiation region); TLR, toll benzeri reseptör (toll-like receptor).

2.4.3. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

MyD88 eksikliği durumunda, birçok viral, fungal veya parazitik enfeksiyona karşı anormal bir duyarlılık gözlenmemesine karşın, MyD88 eksikliği pirojenik bakteriyel enfeksiyonların gelişmesine yol açabilmekte ve yaşamı tehlikeye sokabilmektedir. MyD88'den bağımsız sinyal yolları, özellikle virüsler gibi birçok patojene karşı ortaya çıkan doğal ve adaptif bağışıklık sistemi yanıtlarını tetikleyerek MyD88 eksikliğini dengeleyebilmektedirler. TLR/MyD88 sinyal ileti yolu etkinliğindeki artmanın, yalnızca enfeksiyonlar ile değil, aynı zamanda romatoit artrit, akut enflamatuvar sepsis, septik şok, böbrek, akciğer ve karaciğer zedelenmesi, hipertansiyon, kardiyak airtmiler, kalp yetmezliği, miyokart enfarktüsü, miyokardit, vaskülit, ateroskleroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, sistemik lupus eritematöz, epilepsi, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, multipl skleroz ve kanser gibi enflamasyon ile belirgin hastalıklar ile de ilişkili olduğunun bildirildiği çalışmalar bulunmaktadır [190, 192-195, 201-207].

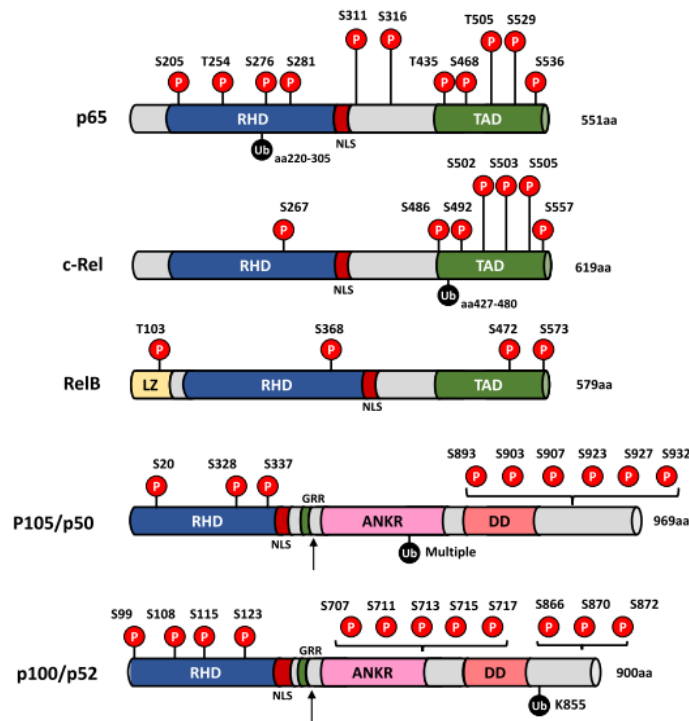


Şekil 2.11. Çeşitli hücrelerin özgül işlevlerine aracılık eden MyD88 sinyal ileti yolları [190]. AP, Etkinleştirici protein (activator protein); CREB, siklik adenosin monofosfat yanıt elementi bağlayıcı protein (cyclic adenosine monophosphate-response element binding protein); DD, ölüm alanı (death domain); HMGB, high mobility group box; IKK, κ B kinase inhibitörü (inhibitor of κ B kinase); IL, interlökin (interleukin); IL1r, interlökin-1 reseptörü (interleukin-1 receptor); Int, santral bağlayıcı bölge olarak bilinen ara alan (central linker region known as the intermediate domain); IRAK, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (interleukin-1 receptor-associated kinase); IRF, interferon düzenleyici faktör (interferon regulatory factor); MAPK, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (mitogen-activated protein kinase); MyD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); MYD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); Nf, nükleer faktör (nuclear factor); TIR, translasyon başlatma bölgesi (translation initiation region); TLR, toll benzeri reseptör (toll-like receptor); TRAF, tümör nekrozlaştırıcı faktör ile ilişkili faktör (tumor necrosis factor receptor-associated factor); TRIF, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β (toll-interleukin-1 receptorcontaining adapter-inducing interferon- β).

2.5. NF- κ B

2.5.1. Özellikleri

Transkripsiyonel proteinlerin bir grubu olan NF- κ B, NF- κ B/Rel ailesindeki proteinlerin çeşitli kombinasyonlarını içeren dimerleri oluşturan, yapısal olarak retroviral onkoprotein v-Rel ile homoloji göstermektedir. Memeli hücrelerinde NF- κ B ailesindeki proteinlerin ilk grubunda NF- κ B1 (geni NFKB1 olan ve p105 öncül proteininden oluşan p50) ve NF- κ B2 (geni NFKB2 olan p100 öncül proteininden oluşan p52), ikinci grubunda ise, RelA (geni RELA olan p65), RelB (geni RELB) ile c-Rel (geni REL) bulunmaktadır. NF- κ B ailesindeki proteinlerden yalnızca RelA, RelB ve c-Rel transaktivasyon bölgeleri içermektedir; transkripsiyonel olarak etkili olan NF- κ B dimerlerinde de bu üç transkripsiyon faktöründen biri bulunmaktadır. NF- κ B ailesindeki proteinler arasındaki etkileşimler, başka yapıda bir NF- κ B dimerinin oluşmasına yol açabilmektedir. Oluşan NF- κ B dimerleri ise, homodimer veya heterodimer olabilmektedir. NF- κ B'nin baskın olan biçimi ise, p50/p65 heterodimeridir (Şekil 2.12.) [208-211].

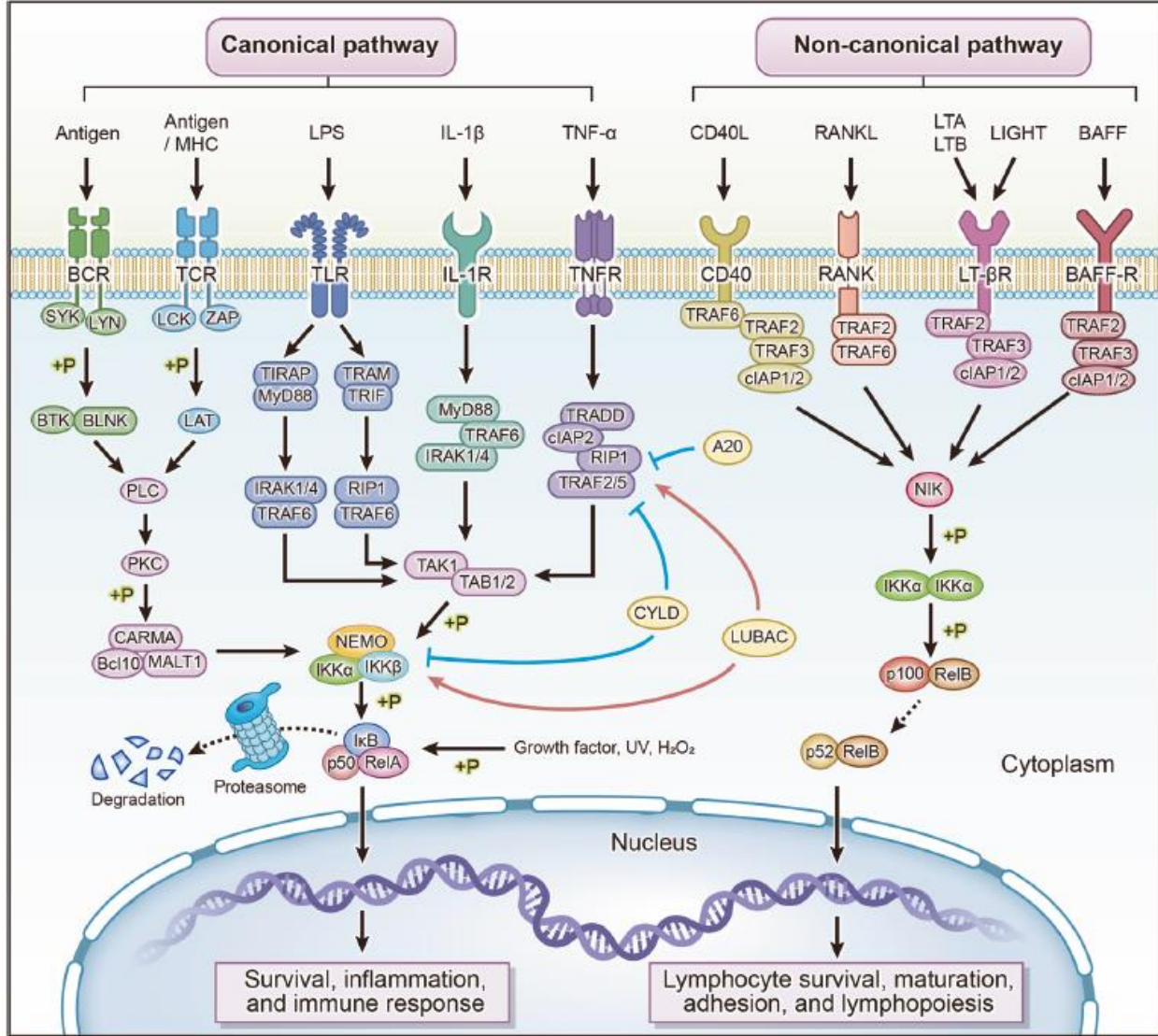


Şekil 2.12. NF- κ B ailesi üyelerinin içerdikleri alanlar [210]. aa, Amino asit (amino acid); AD, etkinleşme alanı (activation domain); ANKR, C ucu ankirin yinelenmeleri (C-terminal ankyrin repeats); DD, ölüm alanı (death domain); GRR, glisinden zengin bölge (glycine rich region); NF, nükleer faktör (nuclear factor); NLS, nükleer yerleşim sinyali veya dizisi (nuclear localization signal or sequence); P, fosforile (phosphorylated); RHD, Rel homoloji alanı (Rel homology domain); S, serin (serine); T, treonin (threonine); TAD, transaktivasyon alanı (transactivation domain); Ub, ubikuitin (ubiquitin).

2.5.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi

Ekspresyonu yalnızca lenfoid dokular ile sınırlı olan RelB dışındaki NF- κ B proteinleri, bütün hücre türlerinde yapısal olarak eksprese edilmektedirler. NF- κ B dimerlerinin çoğunun transkripsiyon etkinleştiricileri olmalarına karşın, p52/p52, p50/p50 ve p65/p65 homodimerleri transkripsiyon baskılayıcısıdır. Histon deasetilaz ile bir kompleks oluşturduktan sonra DNA'ya bağlanan p50 veya p65 homodimeri, NF- κ B'ye bağımlı gen ekspresyonunun baskılanmasına neden olmaktadır. Ayrıca, RelB/p50 veya RelB/p52 dimeri bir transkripsiyonel etkinleştirici gibi etki gösterirken, p65/RelB heterodimeri gen transkripsiyonunu baskılayabilmektedir [209, 210, 212, 213].

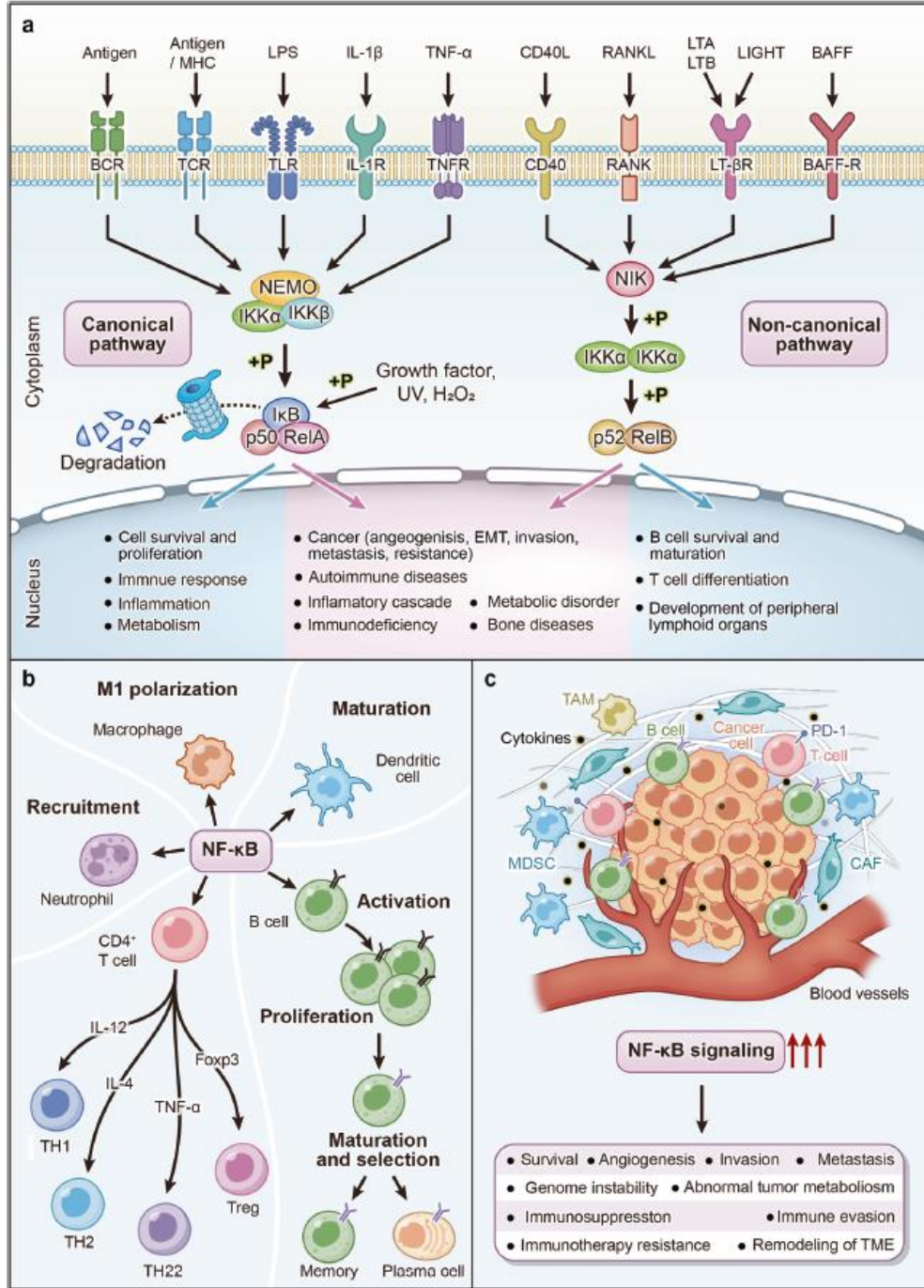
Fiziksel, kimyasal, çevresel, oksidatif ve fizyolojik gibi çeşitli stres durumlarının yanı sıra, reseptör ligantları, mitojenler, fizyolojik ve patolojik mediyatörler, modifiye proteinler, apoptotik moleküller, bakteriler, mantarlar, virüsler ve parazitler ile onların ürünleri, enflamatuvar sitokinler ve çeşitli patolojik durumlarda NF- κ B etkinleşebilmektedir. NF- κ B etkinliği, başlıca I κ B ailesindeki proteinlerden I κ B- α , I κ B- β , I κ B- γ , I κ B- ϵ , I κ B- ζ , B hücresi lenfoma protein (*B-cell lymphoma protein*; Bcl)-3, p105, p100 ve *molecule possessing ankyrin-repeats induced by lipopolysaccharide* tarafından düzenlenmektedir. NF- κ B'nin etkinleşmesinde "klasik (*canonical*) NF- κ B yolu" ve "klasik (*noncanonical*) olmayan NF- κ B yolu" yol olmak üzere iki yol tanımlanmıştır (Şekil 2.13. ve Şekil 2.14.) [209]. Klasik NF- κ B yoluna kesme noktası kümesi bölge proteini (*breakpoint cluster region protein*; BCR), T hücresi reseptörü (*T-cell receptor*; TCR), TLR, IL-1R ve TNFR, klasik olmayan NF- κ B yoluna ise, CD40, NF- κ B'nin reseptör etkinleştiricisi (*receptor activator of NF- κ B*; RANK), lenfotoksin α 1 β 2 reseptörü ve B hücresi etkinleştirici faktör reseptörü (*B-cell activating factor receptor*; BAFF-R) aracılık etmektedir. Klasik ve klasik olmayan NF- κ B yollarının etkinleşmesi sonucunda ise, başta sağkalım, enflamasyon ve proliferasyon olmak üzere çeşitli olayların düzenlenmesine katkıda bulunan IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α ve IFN- γ gibi sitokinler, IFN- γ ile indüklenen protein ve monosit kemoatraktan protein-1 gibi kemokinler, iNOS ve COX-2 gibi enzimler ile interselüler adezyon molekülü (*intercellular adhesion molecule*; ICAM-1) gibi adezyon moleküllerinin yanı sıra, NF- κ B, apoptozun hücresel inhibitörü (*cellular inhibitor of apoptosis*; cIAP) 1, cIAP2, Bcl-2 ve Bcl-xL gibi hücre sağkalımı ile ilişkili genlerin de ekspresyonlarının artmasına yol açmaktadır (Şekil 2.15.) [209, 210, 214-217].



Şekil 2.13. Klasik ve klasik olmayan NF-κB yolları [209]. A20, Tümör nekrozlaştırıcı faktör alfa ile indüklenen protein 3 (tumor necrosis factor alpha-induced protein 3); BAFF, B hücresi etkinleştirici faktör (B-cell activating factor); BAFF-R, B hücresi etkinleştirici faktör reseptörü (B-cell activating factor receptor); Bcl, B hücresi lenfoma protein (B-cell lymphoma protein); BCR, kesme noktası kümesi bölge proteini (breakpoint cluster region protein); BLNK, B hücresi bağlayıcısı (B cell linker); BTK, Bruton tirozin kinaz (Bruton tyrosine kinase); CARMA, kaspaz biriktirici alan aile üyesi (caspase recruitment domain family member); CD, farklılaşma kümesi (cluster of differentiation); CD40L, Farklılaşma kümesi 40 ligandı (cluster of differentiation 40 ligand); cIAP, apoptozun hücrel inhibitörü (cellular inhibitor of apoptosis); CYLD, silindromatöz (cylindromatosis); H₂O₂, hidrojen peroksit (hydrogen peroxide); IκB, κB inhibitörü (inhibitor of κB); IKK, κB kinase inhibitörü (inhibitor of κB kinase); IL, interlökin (interleukin); IL-1R, interlökin-1 reseptörü (interleukin-1 receptor); IRAK, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (interleukin-1 receptor-associated kinase); LAT, T hücrelerinin etkinleşmesi için bağlayıcı (linker for activation of T cells); LCK, lenfosit hücreye özgü protein tirozin kinaz (lymphocyte cell-specific protein tyrosine kinase); LIGHT, tümör nekrozlaştırıcı faktör ligant süperaile üyesi 14 (tumor necrosis factor ligand superfamily member 14); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); LTA, lenfotoksin alfa (lymphotoxin alpha); LTB, lenfotoksin

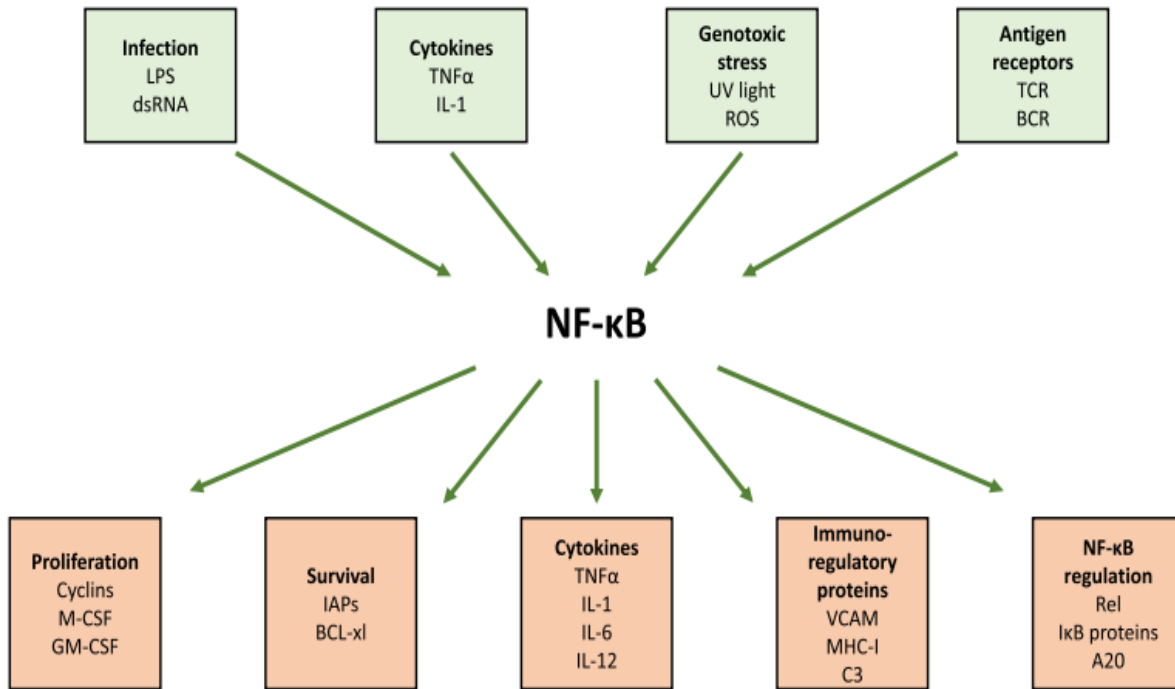
beta (lymphotoxin beta); LT- β R, lenfotoksin β reseptörü (lymphotoxin β receptor); LUBAC, doğrusal ubiquitin zincir montaj kompleksleri (linear ubiquitin chain assembly complexes); LYN, LYN proto-onkogen (LYN proto-oncogene); MALT, MALT parakaspaz (MALT paracaspase); MHC, majör doku uygunluk kompleksi (major histocompatibility complex); MyD, miyeloit farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); NEMO, nükleer faktör κ B esansiyel düzenleyicisi (nuclear factor κ B essential modulator); NF, nükleer faktör (nuclear factor); NIK, nükleer faktör κ B indükleyici kinaz (nuclear factor κ B-inducing kinase); P, fosforilasyon (phosphorylation); PKC, protein kinaz C (protein kinase C); PLC, fosfolipaz C (phospholipase C); RANK, nükleer faktör κ B'nin reseptör etkinleştiricisi (receptor activator of nuclear factor κ B); RANKL, nükleer faktör κ B ligandının reseptör etkinleştiricisi (receptor activator of nuclear factor κ B ligand); RIP, reseptör ile etkileşen protein (receptor-interacting protein); SYK, dalak ile ilişkili kinaz (spleen associated tyrosine kinase); TAB, dönüştürücü büyüme faktörü β ile etkinleştirilen kinaz 1 bağlayıcı protein (transforming growth factor β -activated kinase-binding protein); TAK, dönüştürücü büyüme faktörü beta ile etkinleştirilen kinaz (transforming growth factor beta-activated kinase); TCR, T hücresi reseptörü (T-Cell receptor); TIRAP, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör protein (toll/interleukin-1 receptor domain-containing adapter protein); TLR, toll benzeri reseptör (toll-like receptor); TNF, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor); TNFR, tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü (tumor necrosis factor receptor); TRADD, tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü tip 1 ile ilişkili ölüm alanı (tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein); TRAF, tümör nekrozlaştırıcı faktör ile ilişkili faktör (tumor necrosis factor receptor-associated factor); TRAM, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β ile ilişkili adaptör molekül (toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter-inducing interferon- β -related adaptor molecule); TRIF, toll-interlökin-1 reseptör alan içeren adaptör indükleyici interferon- β (toll-interleukin-1 receptorcontaining adapter-inducing interferon- β); UV, ultraviyole (ultraviolet); ZAP, tirozin-protein kinaz (tyrosine-protein kinase ZAP-70).

NF- κ B sinyal ileti yolu, etkinleştiren reseptörlere bağlanan "tuzak reseptörleri"nin indüklemesi yoluyla negatif olarak düzenlenebilmektedir. Bu transmembran tuzaklarının, ligantları bağlamalarına karşın, intraselüler alanlarının olmamasından dolayı, sinyalleri hedef proteinlere iletememektedirler. Çözünür tuzak reseptörleri, ekstraselüler bir alan içeren TLR4'ün salgılanabilen bir biçimi olan çözünebilir TLR4'ü içermekte olup, LPS ile uyarılmaya yanıt olarak çözünebilir TLR4 ekspresyonu artmaktadır. Ayrıca, LPS, sekestrasyon veya TLR4 ve MD-2 reseptörleri ile CD14 arasındaki etkileşimi engelleyerek NF- κ B'nin etkinleşmesini önleyebilmektedir [210, 218]. Beş memeli translasyon başlatma bölgesi (*translation initiation region*; TIR) alanı içinde en son tanımlanan steril- α ve armadillo motifi içeren protein (*sterile- α and armadillo motif-containing protein*; SARM), TRIF'a bağımlı NF- κ B sinyal ileti yolunun negatif bir düzenleyicisidir. Mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, SARM ekspresyonu, LPS ile uyarılmanın ilk 1 saati içinde hızla artmaktadır ve TRIF ile etkileşime girerek NF- κ B ekspresyonunu azaltmaktadır [219]. Çoğu TRAF ailesi üyesinin tersine, ekspresyonu TNF- α , IL-1 ve LPS gibi pro-enflamatuvar sitokinler tarafından indüklenebilen ve NF- κ B'ye bağlanabilen TRAF1'in, NF- κ B sinyal yolundaki etkisi net olmamakla birlikte, hem olumlu hem de olumsuz rolü olduğu düşünülmektedir [210, 219, 220].



Şekil 2.14. Klasik ve klasik olmayan NF- κ B yollarının biyolojik işlevleri [209]. BAFF, B hücresi etkinleştirici faktör (B-cell activating factor); BAFF-R, B hücresi etkinleştirici faktör reseptörü (B-cell activating factor receptor); BCR, kesme noktası kümesi bölge proteini (breakpoint cluster region protein); CAF, kanser ile ilişkili fibroblastlar (cancer-associated fibroblasts); CD, farklılaşma kümesi (cluster of differentiation); CD40L, farklılaşma kümesi 40 ligandı (cluster of differentiation 40 ligand); EMT, epiteliyal mezenkimal geçiş (epithelial-mesenchymal transition); H₂O₂, hidrojen peroksit (hydrogen peroxide); I κ B, κ B inhibitörü (inhibitor of κ B); IKK, κ B kinase inhibitörü (inhibitor of κ B kinase); IL, interlökin (interleukin); IL-1R, interlökin-1 reseptörü (interleukin-1 receptor); LIGHT,

tümör nekrozlaştırıcı faktör ligant süperaile üyesi 14 (tumor necrosis factor ligand superfamily member 14); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); LTA, lenfotoksin alfa (lymphotoxin alpha); LTβ, lenfotoksin beta (lymphotoxin beta); MHC, majör doku uygunluk kompleksi (major histocompatibility complex); MDSC, miyeloit kökenli baskılayıcı hücre (myeloid-derived suppressor cell); NEMO, nükleer faktör κB esansiyel düzenleyicisi (nuclear factor κB essential modulator); NF, nükleer faktör (nuclear factor); NIK, nükleer faktör κB indükleyici kinaz (nuclear factor κB-inducing kinase); P, fosforilasyon (phosphorylation); PD, programlanmış ölüm (programmed death); RANK, nükleer faktör κB'nin reseptör etkinleştiricisi (receptor activator of nuclear factor κB); RANKL, nükleer faktör κB ligandının reseptör etkinleştiricisi (receptor activator of nuclear factor κB ligand); TAM, tümör ile ilişkili makrofaj (tumor-associated macrophage); TCR, T hücresi reseptörü (T-Cell receptor); TH, yardımcı T (T helper); TLR, toll benzeri reseptör (toll-like receptor); TNF, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor); TNFR, tümör nekrozlaştırıcı faktör reseptörü (tumor necrosis factor receptor); UV, ultraviyole (ultraviolet).



Şekil 2.15. NF-κB etkinliğinin düzenlenmesi [210]. BCL, B hücresi lenfoma protein (B-cell lymphoma protein); BCR, kesme noktası kümesi bölge proteini (breakpoint cluster region protein); dsRNA, çift sarmallı ribonükleik asit (double-stranded ribonucleic acid); GM-CSF, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); IκB, κB inhibitörü (inhibitor of κB); IAPs, apoptoz inhibitörleri (inhibitors of apoptosis); IL, interlökin (interleukin); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); M-CSF, makrofaj koloni uyarıcı faktör (macrophage colony-stimulating factor); MHC, majör doku uygunluk kompleksi (major histocompatibility complex); NF, nükleer faktör (nuclear factor); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species); TCR, T hücresi reseptörü (T-cell receptor); TNF, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor); UV, ultraviyole (ultraviolet); VCAM, damar hücresi adezyon molekülü (vascular cell adhesion molecule).

2.5.3. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

Son yıllarda, klasik ve klasik olmayan NF- κ B yollarının, başta sepsis, septik şok, kalp yetmezliği, miyokart enfarktüsü, ateroskleroz, böbrek zedelenmesi, astım, diyabet, romatoid artrit, osteoartrit, gut, sistemik lupus eritematöz, beyin ve omurilik zedelenmesi, inme, multipl skleroz, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, çölyak hastalığı, ülseratif kolit ve bazı kanser türleri olmak üzere, çok sayıdaki enflamatuvar, nörodejeneratif ve otoimmün hastalığın patojenezinde önemli rol oynadığının bildirildiği çalışmaların sayısı giderek artmaktadır (Şekil 2.16.) [209, 215, 221-225].

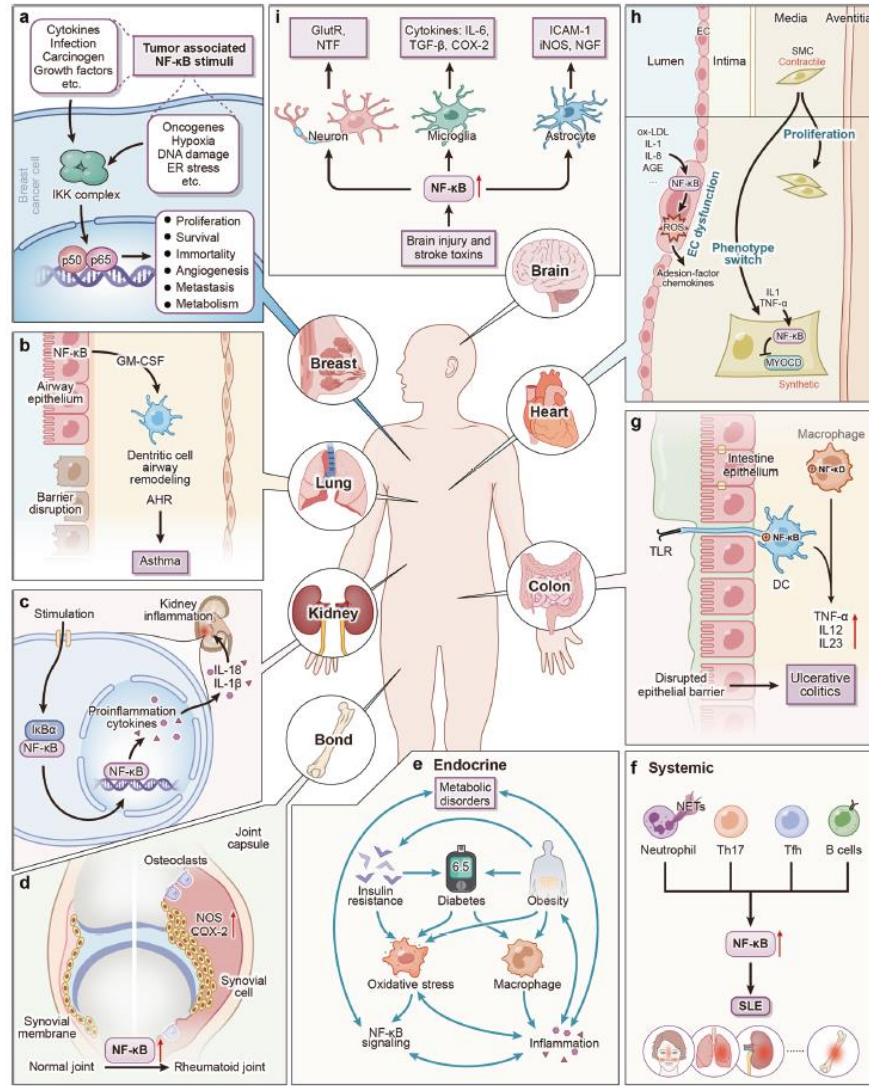
2.6. iNOS

2.6.1. Özellikleri

NOS enziminin nöronal NOS (nNOS) (NOS1, NOS I), iNOS (NOS2, NOS II) ve endotelial NOS (eNOS) (NOS3, NOS III) olmak üzere 3 değişik izoformu bulunmaktadır. Memelilerde bulunan NOS izoformlarının özellikleri Tablo 2.4.'te özetlenmiştir [226-235].

NOS'lar substrat olarak L-arjinini kullanarak NO ve sitrülün oluşumuna neden olan enzimlerdir. L-arjinin, yalnızca eNOS, iNOS ve eNOS enzimleri aracılığıyla NO sentezi değil, aynı zamanda PON, ornitin, prolin, poliaminler, kreatin ve dolayısıyla fosfokreatin ve agmatin gibi çok sayıda biyolojik olarak etkili bileşiğin oluşumu için gerekli yarı esansiyel bir amino asittir (Şekil 2.17., Şekil 2.18., Şekil 2.19. ve Şekil 2.20.) [227, 236-247].

Ayrıca, iNOS, dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) 1/2 ve arjinaz-1/2 sırasıyla **(1)** L-arjinin/iNOS/NO/L-sitrülün/arjinosüksinat liyaz (ASL)/arjinosüksinat sentaz (ASS) 1/L-arjinin, **(2)** L-arjinin/asimetrik dimetilarjinin (ADMA)/DDAH1/2/L-sitrülün/ASL/ASS1/L-arjinin ve **(3)** L-arjinin/arjinaz-1/2/L-ornitin/ornitin transkarbamilaz (OTK)/L-sitrülün/ASL/ASS1/L-arjinin döngüleri aracılığıyla L-arjininden NO, L-sitrülün, ADMA, PON, L-ornitin ve üre oluşumunu düzenleyen başlıca enzimlerdir [227, 236, 239, 240, 244, 245].



Şekil 2.16. Çeşitli organları ve sistemleri etkileyen hastalıkların patojenezinde NF-κB'nin rolü [209]. AGE, İleri glikasyon son ürünleri (advanced glycation endproducts); AHR, hava yolu aşırı tepkisi (airway hyperreactivity); COX, siklooksijenaz (cyclooxygenase); DC, dendrit hücresi (dendritic cell); DNA, deoksiribonükleik asit (deoxyribonucleic acid); EC, endotel hücresi (endothelial cell); GLUTR, glutamil-taşıyıcı ribonükleik asit redüktaz (glutamyl-transfer ribonucleic acid reductase); GM-CSF, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); IκB, κB inhibitörü (inhibitor of κB); ICAM, interselüler adezyon molekülü (intercellular adhesion molecule); IL, interlökin (interleukin); iNOS, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); MYOCD, miyokardin (myocardin); NETs, nötrofil ekstraselüler tuzaklar (neutrophil extracellular traps); NF, nükleer faktör (nuclear factor); NGF, sinir büyüme faktörü (nerve growth factor); NOS, nitrik oksit sentaz (nitric oxide synthase); NTF, nörotrofik faktör (neurotrophic factor); ox-LDL, yükseltgenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (oxidized low density lipoprotein); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species); SLE, sistemik lupus eritematöz (systemic lupus erythematosus); SMC, düz kas hücresi (smooth muscle cell); Tfh, T foliküler yardımcı (T follicular helper); TGF, tümör büyüme faktörü (tumor growth factor); Th, yardımcı T (T helper); TNF, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor).

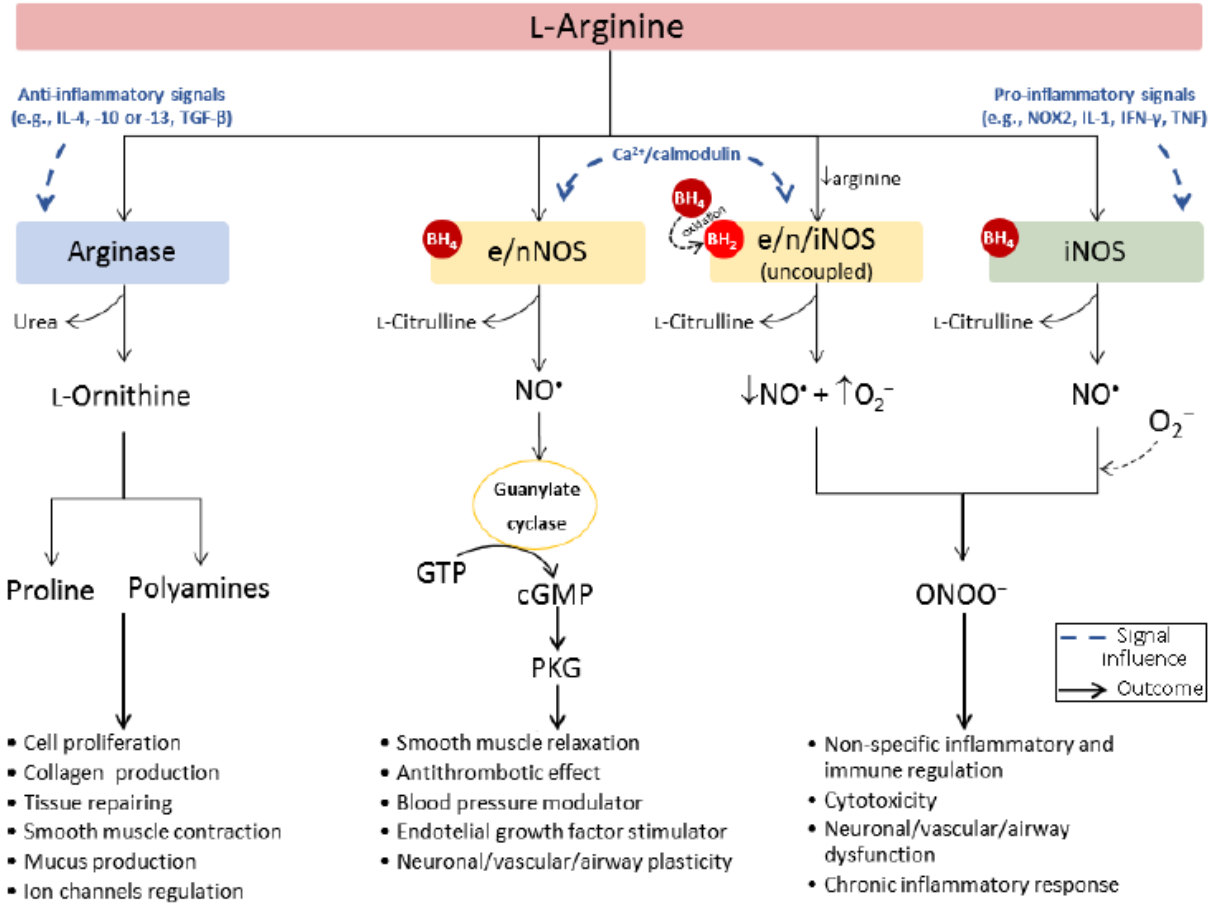
Tablo 2.4. Memeli NOS izoformlarının bazı özellikleri [226-235].

Özellikleri	nNOS (NOS1, NOS I)	iNOS (NOS2, NOS II)	eNOS (NOS3, NOS III)
Yerleşim	Sinir ve iskelet kası hücreleri	Makrofaj, lökosit, kondrosit, hepatosit, astrosit, fibroblast, nötrofil, eozinofil, lenfosit ve keratinositler ile damar düz kası, endotel, endokart/miyokart, mast, mikrogliya, lenfoit/miyeloit dendritik, Langerhans, Kupffer, bronş epiteli, mezengiyal, Schwann ve sinir hücreleri	Trombositler ile endotel ve endokart/miyokart hücreleri
Hücre içi yerleşim	Membrana bağımlı	Sitozolik	Membrana bağımlı (etkisiz) veya sitozolik (etkin)
Molekül ağırlığı	161 kDa ^a	131 kDa ^a	133 kDa ^a
Gen yapısı ve büyüklüğü	29 exon, 28 intron, > 200 kbp ^a	26 exon, 25 intron, 37 kbp ^a	26 exon, 25 intron, 21-22 kbp ^a
Kromozomal yerleşim	12 numaralı kromozom üzerinde 12q24.2-12q24.3 ^a	7 numaralı kromozom üzerinde 17cen-q11.2 ^a	7 numaralı kromozom üzerinde 7q35-7q36 ^a
Predominant durumda amino asit sayısı	1434 ^a	1153 ^a	1203 ^a
İndüklenebilirlik	Yapısal	İndüklenebilir	Yapısal
Yardımcı faktörler	BH ₄ , FAD, FMN, hem, çinko	BH ₄ , FAD, FMN, hem, çinko	BH ₄ , FAD, FMN, hem, çinko
Substratlar	L-Arjinin, NADPH, oksijen	L-Arjinin, NADPH, oksijen	L-Arjinin, NADPH, oksijen
Kalsiyuma bağımlılık	Bağımlı	Bağımsız gibi görünmekte, ancak bazı hücrelerde < %20 veya %50-70 oranında bağımlı	Bağımlı
Kalmoduline bağımlılık	Bağımlı	Bağımsız gibi görünmekte, ancak bazı hücrelerde %50 oranında bağımlı	Bağımlı

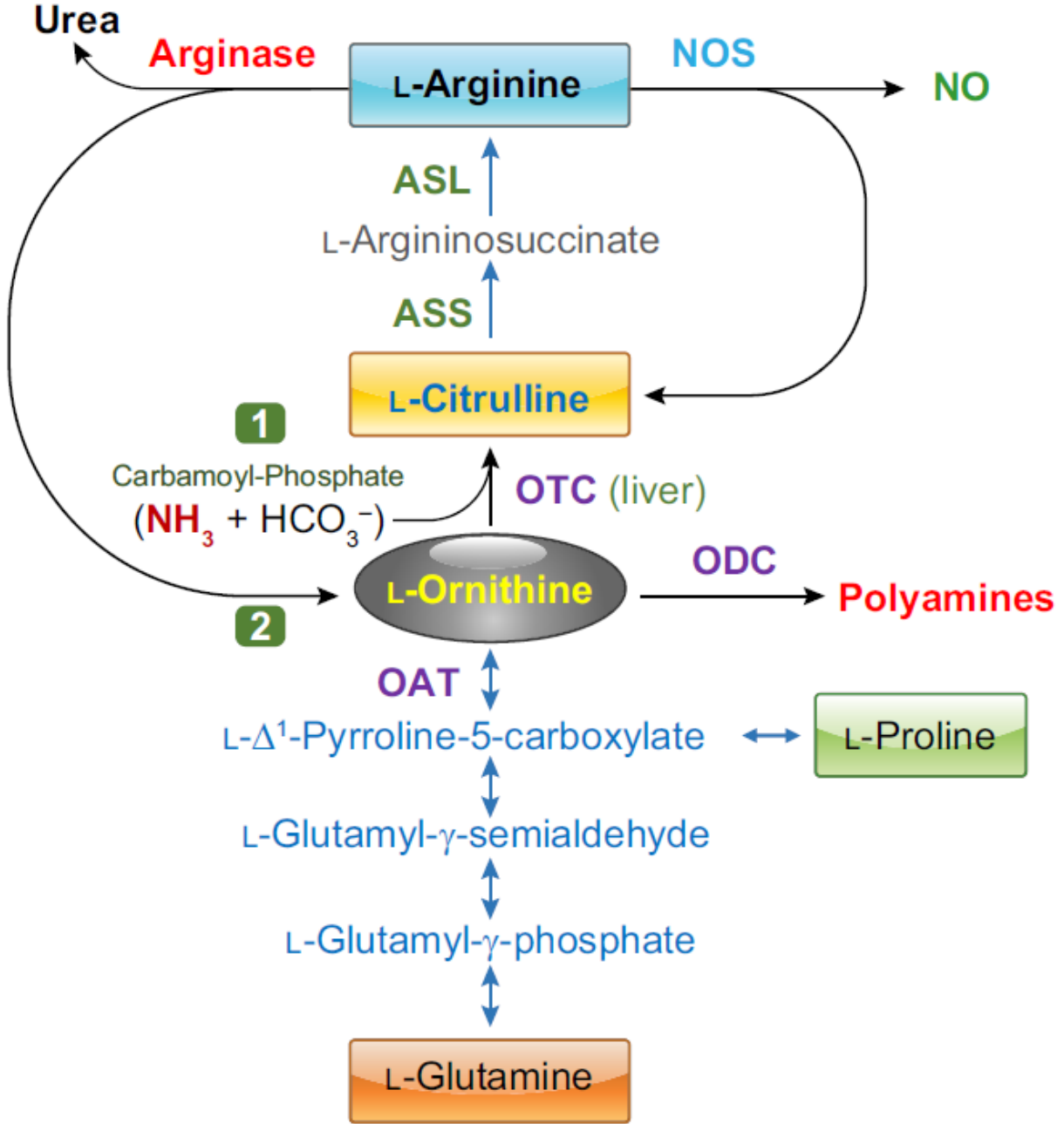
Tablo 2.4. (devamı) Memeli NOS izoformlarının bazı özellikleri [226-235].

Özellikleri	nNOS (NOS1, NOS I)	iNOS (NOS2, NOS II)	eNOS (NOS3, NOS III)
Protein varyasyonu	Dokuya özgü μ , α , β ve γ izoformları	---	---
$O_2^\bullet$ oluşturma kaynakları	Hem <i>domain</i> , redüktaz <i>domain</i>	Genellikle redüktaz <i>domain</i>	Genellikle hem <i>domain</i>
Uyaranları	Eksitator amino asitler (glutamat, NMDA ve ark.)	Endotoksin ve sitokinler	Asetilkolin, ATP, ADP, bradikinin, trombin, <i>shear stress</i>
Salıverilme	Dakikalar içinde, geçici (pM düzeyde)	Uzun süreli, sürekli, büyük miktarlarda (μ M düzeyde)	Dakikalar içinde, geçici (pM düzeyde)
Başlıca fizyolojik işlevi	Sinirsel aşırım	Sitotoksosite	Vazodilatasyon

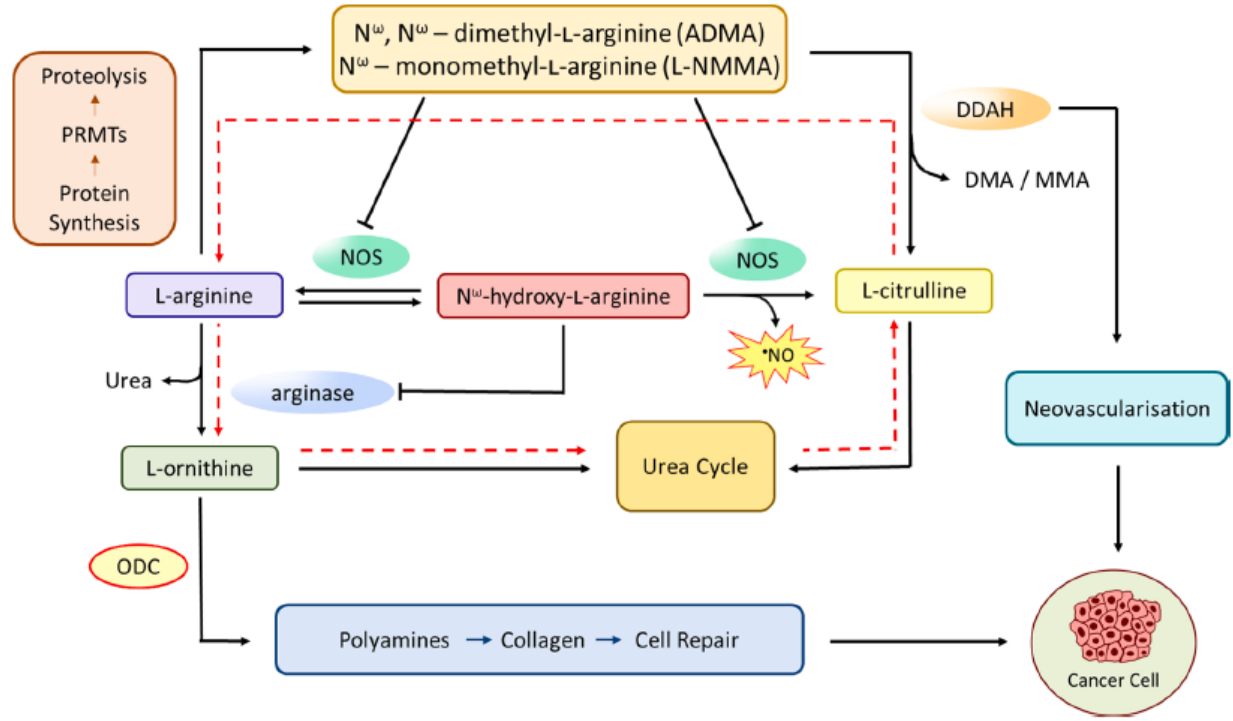
^a İnsan için. ADP, adenzin difosfat (adenosine diphosphate); ATP, adenzin trifosfat (adenosine triphosphate); BH_4 , tetrahidrobiyopterin; eNOS, endotelial nitrik oksit sentaz; FAD, flavin adenin dinükleotit; FMN, flavin adenin mononükleotit; iNOS, indüklenbilir nitrik oksit sentaz; NADPH, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate); NMDA, N-metil-D-aspartik asit; NOS, nitrik oksit sentaz; nNOS, nöronal nitrik oksit sentaz; $O_2^\bullet$, süperoksit radikali.



Şekil 2.17. Arjinaz ve NOS aracılıklı yarışmalı arjinin metabolizması [227]. *BH₄*, tetrahidrobiyopterin (tetrahydrobiopterin); *cGMP*, siklik guanozin monofosfat (cyclic guanosine monophosphate); *e/nNOS*, endoteliyal/nöronal nitrik oksit sentaz (endothelial/neuronal nitric oxide synthase); *GTP*, guanozin trifosfat (guanosine triphosphate); *IL*, interleukin (interleukin); *iNOS*, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); *NO•*, nitrik oksit radikali (nitric oxide radical); *NOX*, nikotinamit adenin dinükleotit fosfat oksidaz (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase); *IFN*, interferon (interferon); *O₂⁻*, süperoksit (superoxide); *ONOO⁻*, peroksinitrit (peroxynitrite); *PKG*, protein kinaz G (protein kinase G); *TGF*, tümör büyüme faktörü (tumor growth factor); *TNF*, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor).



Şekil 2.18. L-Arjininin L-arnitin/üre veya L-sitrülin/NO'ya katabolizması, poliaminlerin oluşumu ile prolinin anabolizması ve katabolizması [236]. ASL, Arjininosüksinat liyaz (argininosuccinate synthase); ASS, arjininosüksinat sentaz (argininosuccinate lyase); HCO_3^- , bikarbonat (bicarbonate); NH_3 , amonyak (ammonia); NO, nitrik oksit (nitric oxide); NOS, nitrik oksit sentaz (nitric oxide synthase); OAT, ornitin aminotransferaz (ornithine aminotransferase); ODC, ornitin dekarboksilaz (ornithine decarboxylase); OTC, ornitin transkarbamilaz (ornithine transcarbamylase).

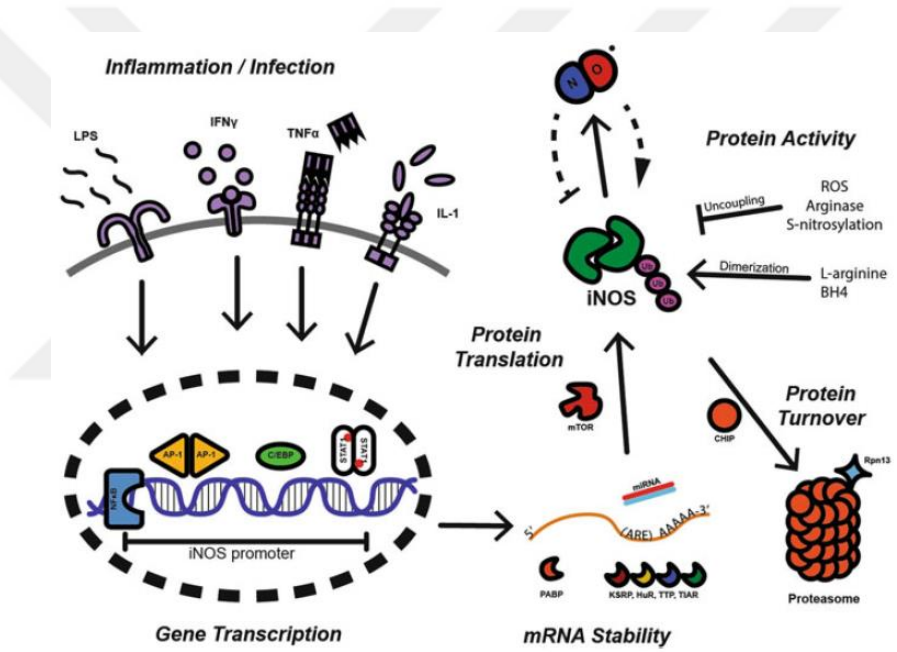


Şekil 2.20. DDAH1, arjinaz ve NOS yolları [240]. *NO, Nitrik oksit radikali (nitric oxide radical); ADMA, asimetrik dimetilarjinin (asymmetric dimethylarginine); DDAH, dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (dimethylarginine dimethylaminohydrolase); L-NMMA, N^ω-monometil-L-arjinin (N^ω-monomethyl-L-arginine); NOS, nitrik oksit sentaz (nitric oxide synthase); ODC, ornitin dekarboksilaz (ornithine decarboxylase); PRMT, protein arjinin metiltransferaz (protein arginine methyltransferase).

2.6.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi

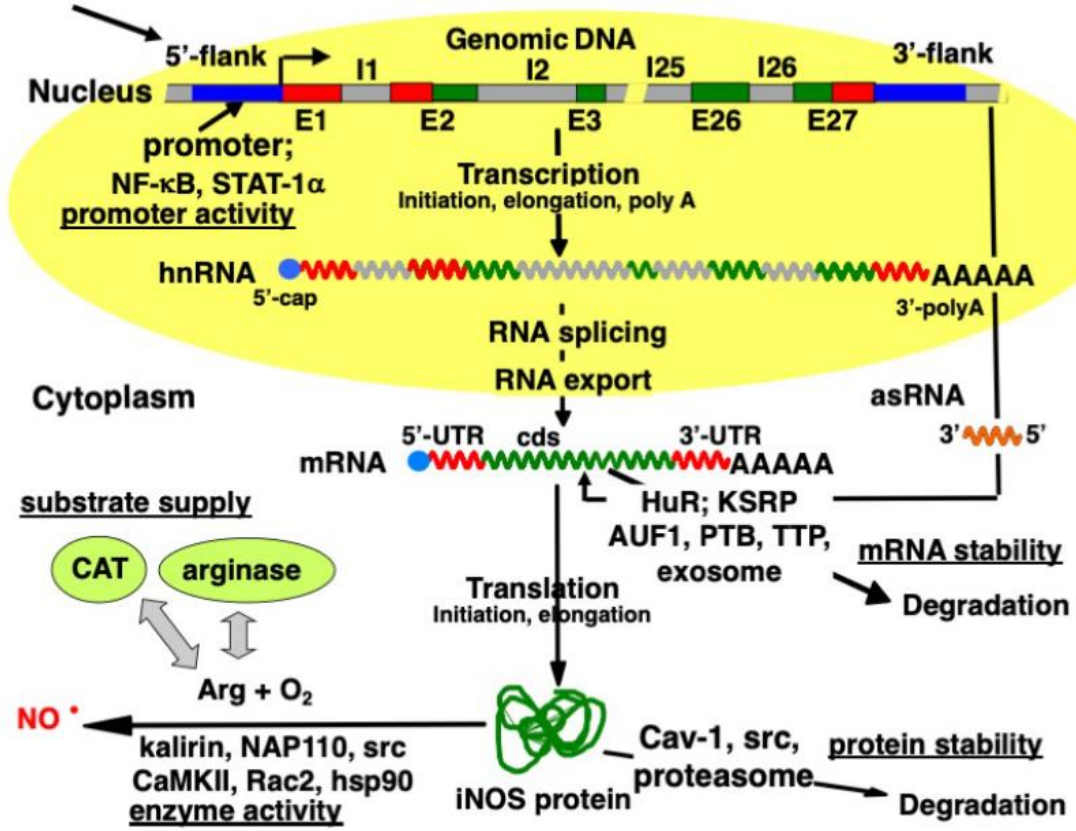
iNOS ekspresyonunun ve etkinliğinin düzenlenmesinde rolü olan transkripsiyon, translasyon ve transkripsiyon sonrası mekanizmalar Şekil 2.21., Şekil 2.22. ve Şekil 2.23.'te özetlenmiştir [230, 232]. iNOS ekspresyonunu düzenleyen fizyolojik ve patofizyolojik uyarılar arasında, LPS gibi bakteriyel ürünler, NF-κB, PPAR, interferon düzenleyici faktör 1, STAT-1α-1α, STAT-3, siklik adenosin monofosfat yanıt elementini bağlayıcı protein, sitozin-sitozin-adenozin-adenozin-timidin artırıcı bağlayıcı protein, hipoksi ile indüklenen faktör-1, AP-1, *Forkhead box 3* ve tümör baskılayıcı p53 geni gibi transkripsiyon faktörleri bulunmaktadır. Ayrıca, gebelik, ultraviyole-A/B ışığı, *heat shock*, oksidatif stres, NO vericileri, PON, PKC'ler, ileri glikosilasyon son ürünleri, etanol, glukoz, hipoksi, TNF-α, interferonlar (IFN-γ ve IFN-β gibi), interlökinler (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13 ve IL-17 gibi), hormonlar (glukokortikoidler, insülin, glukagon, östrojen ve progesteron gibi), otakoidler (anjiyotensin II ve ET-1 gibi), prostaglandinler (PGI₂, PGD₂ ve PGE₂ gibi) ile siklosporin A, statinler ve steroid yapıda olmayan antienflamatuarlar gibi çeşitli

ilaçlar da iNOS ekspresyonunu ve/veya etkinliğini değiştirebilmektedirler. iNOS etkinliği, fosforilasyon ve doğrudan (inhibitör proteinlerden kalirin ve NOS ile ilişkili protein 110 ile uyarıcı proteinlerden Rac guanozin trifosfatazlar, kaveolin-1 ve ezrin-radiksin-moezin bağlayıcı fosfoprotein 50 ile) ya da dolaylı (NF- κ B ve STAT proteinleri ile) olarak protein-protein etkileşimleri gibi olaylar ile de düzenlenebilmektedir [226, 230-232, 235]. eNOS tarafından oluşturulan NO'nun, kısmen NF- κ B'nin etkinleşmesi yoluyla, LPS'nin neden olduğu iNOS indüksiyonunu düzenlemesinin yanı sıra [248], LPS ile iNOS indüksiyonunun, başlıca NO oluşumunun düzenlenmesi yoluyla, eNOS ve nNOS aracılığıyla oluşan NO'nun neden olduğu vazodilatasyonu azalttığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [249].

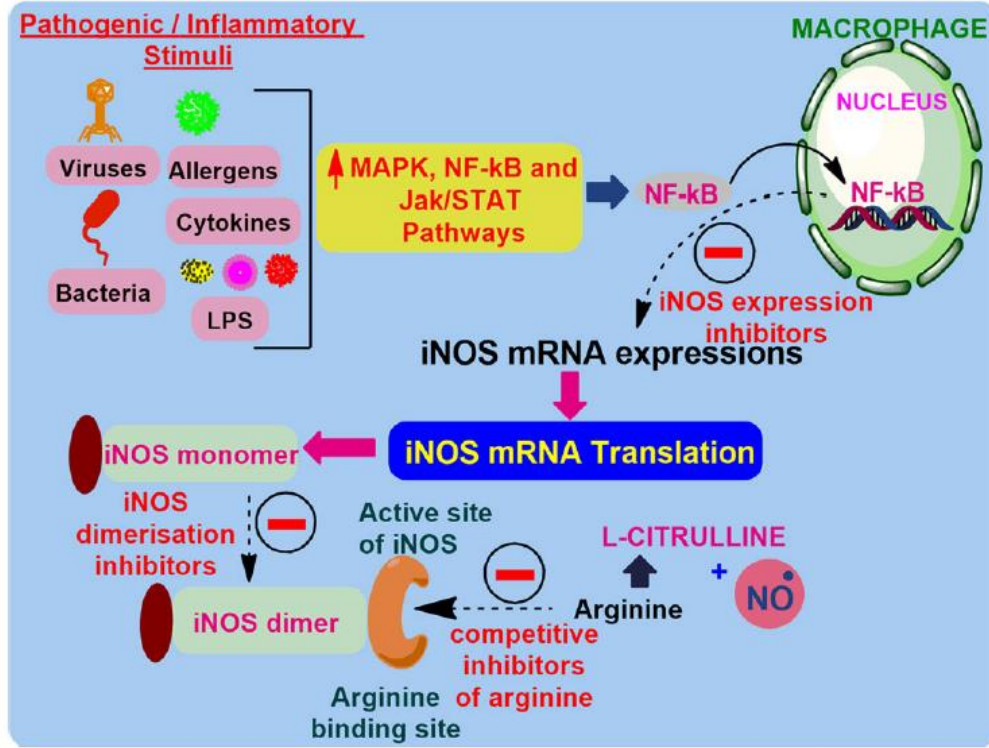


Şekil 2.21. iNOS ekspresyonu ve işlevini kontrol eden transkripsiyon, translasyon ve transkripsiyon sonrası mekanizmalar [230]. AP, Etkinleştirici protein (activator protein); ARE, adenilat-üridilattan zengin element (adenylate-uridyate-rich element); BH4, tetrahydrobiopterin (tetrahydrobiopterin); C/EBP, CCAAT artırıcı bağlayıcı protein (CCAAT-enhancer-binding protein); CHIP, ısı şok proteini 70 ile etkileşen proteinin COOH ucu (COOH terminus of heat shock protein 70-interacting protein); HuR, Hu antijen R (Hu antigen R); IFN, interferon (interferon); IL, interlökin (interleukin); iNOS, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); KSRP, KH türü birleştirme düzenleyici protein (KH-type splicing regulatory protein); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); miRNA, mikroribonükleik asit (microribonucleic acid); mRNA, ulak ribonükleik asit (messenger ribonucleic acid); mTOR, rapamisin'in memelilerdeki hedefi (mammalian target of rapamycin); NF, nükleer faktör (nuclear factor); PABP, poli(A) bağlayıcı protein (poly(A)-binding protein); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species); Rpn, adenosin trifosfataz olmayan düzenleyici parçacık (regulatory particle non-adenosine triphosphatase); STAT, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon etkinleştiricisi (signal transducer and activator of transcription); TIAR, T hücresi intraselüler antijen-1 ile ilişki protein (T-cell intracellular antigen-1-related protein); TNF, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor); TTP, tristetraprolin (tristetraprolin).

CpG methylation; histone acetylation (HDAC1, CBP/p300); PARP1



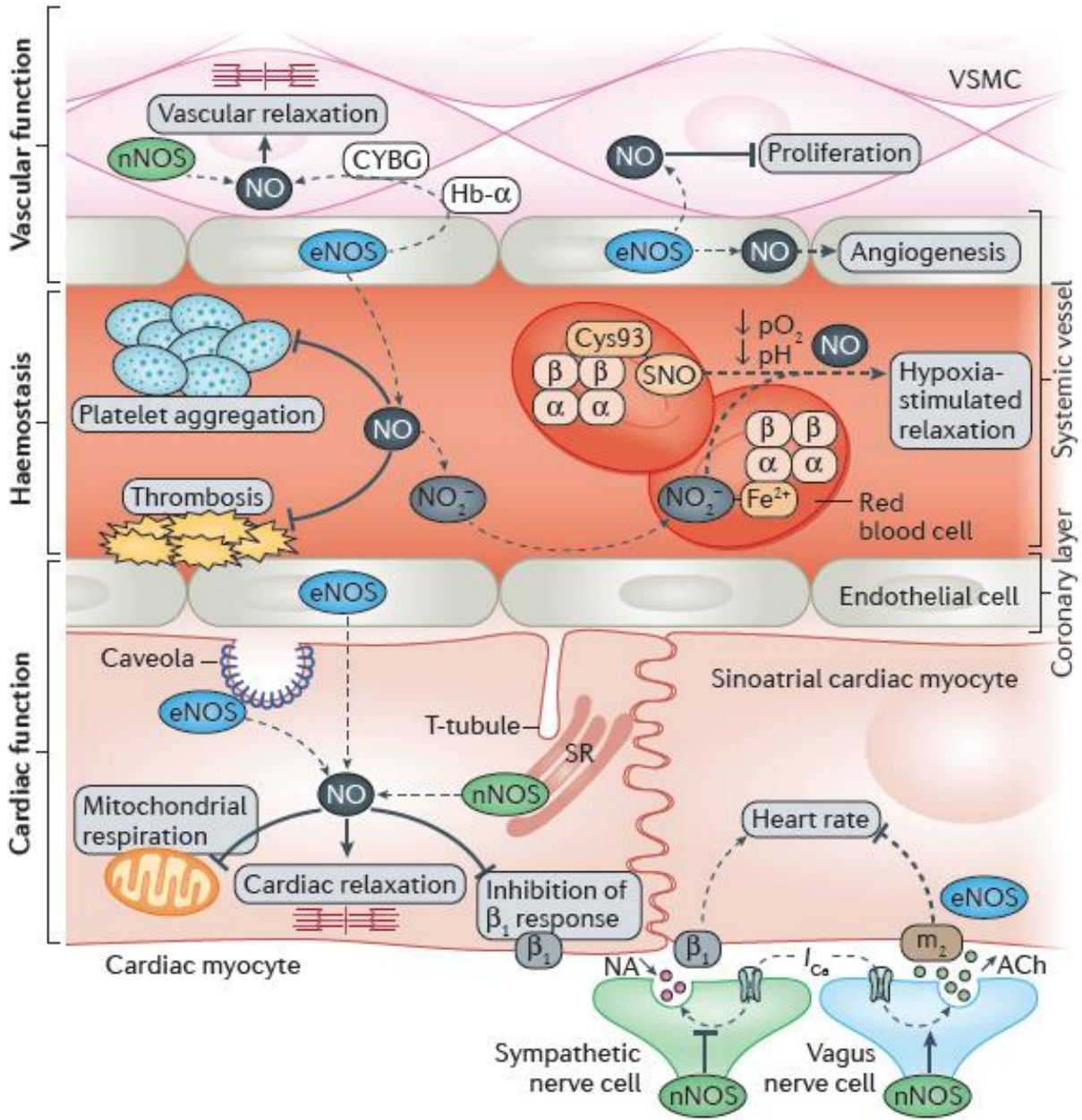
Şekil 2.22. İnsanlarda iNOS ekspresyonu ve iNOS aracılıklı NO oluşumunun düzenlenmesi [232]. Arg, Arjinin (arginine); asRNA, antisens ribonükleik asit (antisense ribonucleic acid); AUF, adenilat-üridilattan zengin element/poli(U)-bağlayıcı/degradasyon faktörü (adenylate-uridyate-rich element/poly(U)-binding/degradation factor); CaMKII, kalsiyum/kalmoduline bağımlı protein kinaz II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II); CAT, katyonik amino asit taşıyıcısı (cationic amino acid transporter); Cav, kaveolin (caveolin); CBP, siklik adenosin monofosfat yanıt elementi bağlayıcı proteini bağlayıcı protein (cyclic adenosine monophosphate-response element binding protein-binding protein); cds, kodlama sırası (coding sequence); CpG, guanin rezidüsü (guanine residue); DNA, deoksiribonükleik asit (deoxyribonucleic acid); HDAC, histon deasetilaz (histone deacetylase); hnRNA, heterojen ribonükleik asit (heterogeneous nuclear ribonucleic acid); hsp, ısı şok proteini (heat shock protein); HuR, Hu antijen R (Hu antigen R); iNOS, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); KSRP, KH türü birleştirme düzenleyici protein (KH-type splicing regulatory protein); mRNA, ulak ribonükleik asit (messenger ribonucleic acid); NAP, nitrik oksit sentaz ile ilişkili protein (nitric oxide synthase-associated protein); NF, nükleer faktör (nuclear factor); NO[•], nitrik oksit radikali (nitric oxide radical); O₂, moleküler oksijen (molecular oxygen); PARP, poli (adenozin difosfat-riboz) polimeraz (poly [adenosine diphosphate-ribose] polymerase); PTB, polipirimidin yolu bağlayıcı protein (polypyrimidine tract-binding protein); Rac, Ras ile ilişkili C3 botulinum toksin substratı (Ras-related C3 botulinum toxin substrate); RNA, ribonükleik asit (ribonucleic acid); src, src kinaz (src kinase); STAT, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon etkinleştiricisi (signal transducer and activator of transcription); TTP, tristetraprolin (tristetraprolin); UTR, çevrilmemiş bölge (untranslated region).



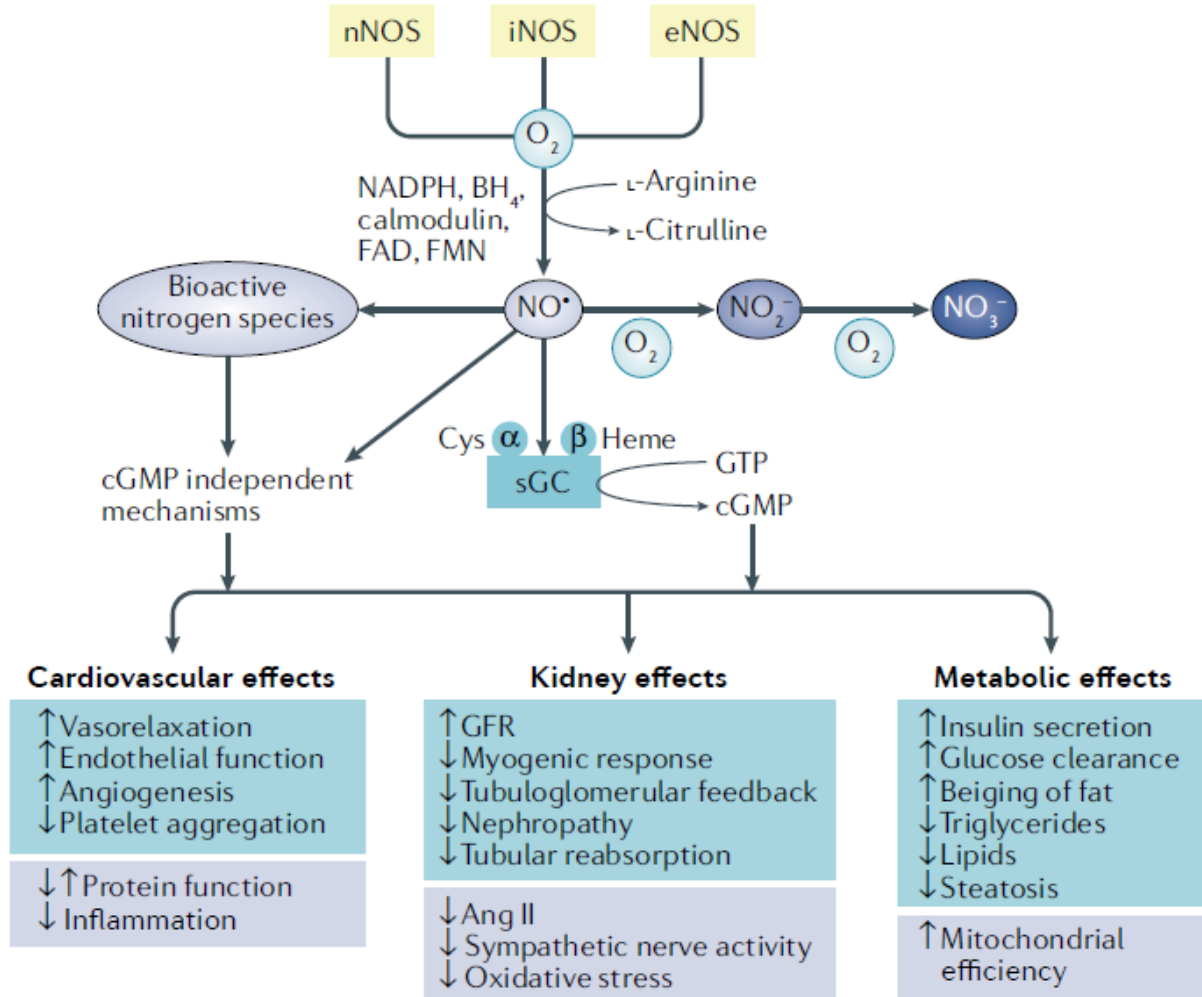
Şekil 2.23. Değişik aşamalarda iNOS ekspresyonunun ve etkinliğinin düzenlenmesi [231]. *iNOS*, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (*inducible nitric oxide synthase*); *LPS*, lipopolisakkarit (*lipopolysaccharide*); *MAPK*, mitojen ile etkinleştirilen protein kinaz (*mitogen-activated protein kinase*); *mRNA*, ulak ribonükleik asit (*messenger ribonucleic acid*); *NF*, nükleer faktör (*nuclear factor*); *NO•*, nitrik oksit radikali (*nitric oxide radical*); *STAT*, sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon etkinleştiricisi (*signal transducer and activator of transcription*).

2.6.3. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

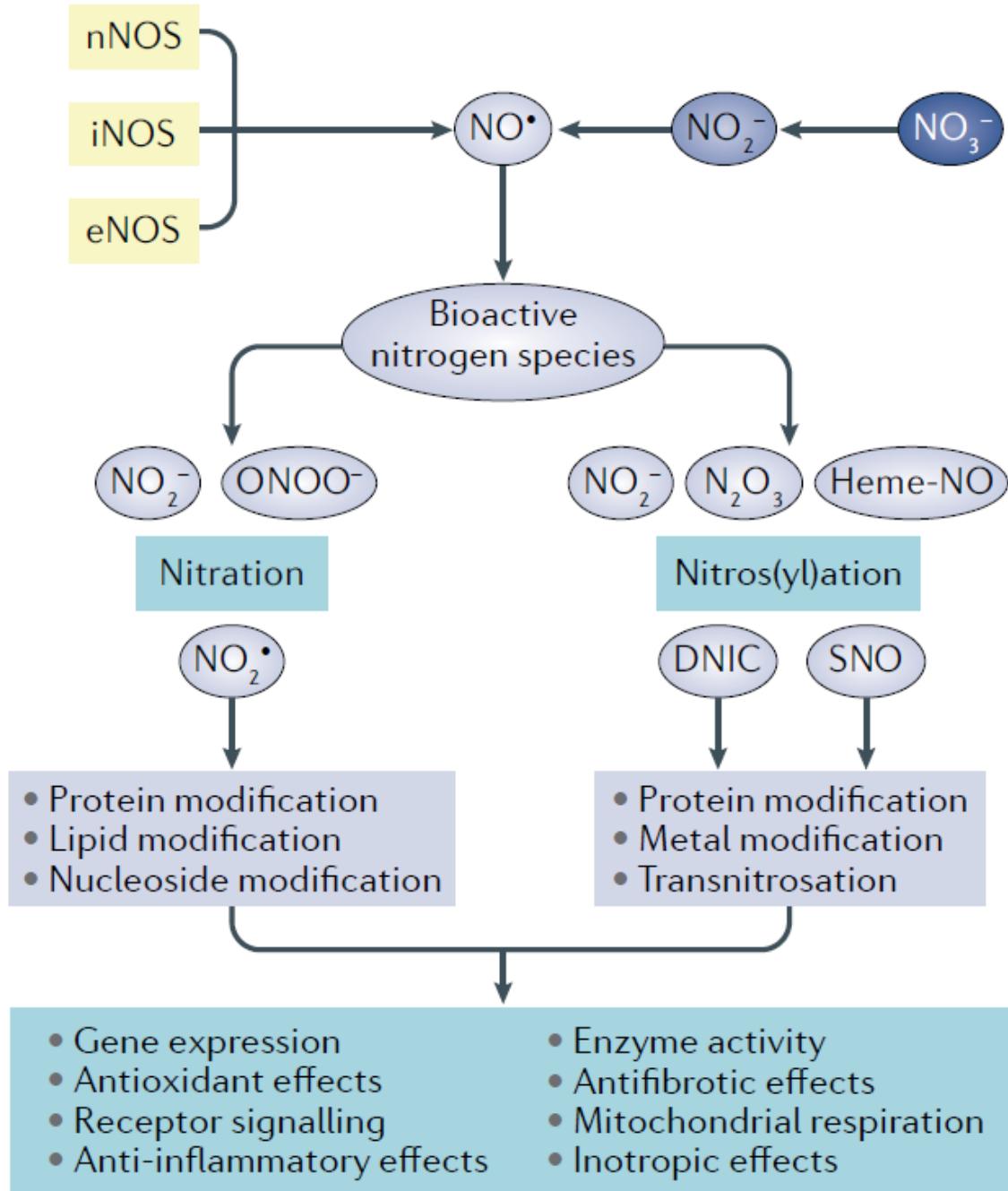
Endojen olarak NOS enzimleri aracılığıyla oluşan NO ve/veya öteki biyolojik olarak etkili nitrojen türleri, siklik guanozin monofosfat (*guanosine monophosphate*; *GMP*)'ye bağımlı ve bağımsız sinyal ileti yollarının etkinleşmesine yol açarak, yararlı olduğu kadar, zararlı etkiler de oluşturabilmektedirler (Şekil 2.24., Şekil 2.25. ve Şekil 2.26.) [237, 250-254].



Şekil 2.24. Kardiyovasküler dokularda NOS-NO sinyal ileti yolu [251]. β_1 , β_1 -Adrenerjik reseptör (β_1 -adrenergic receptor); ACh, asetilkolin (acetylcholine); Ca, kalsiyum (calcium); CYBG, sitogloblin (cytoglobin); Cys, sistein (cysteine); eNOS, endotelial nitrik oksit sentaz (endothelial nitric oxide synthase); Fe²⁺, ferröz katyon (ferrous cation); Hb, hemoglobin (hemoglobin); m₂, m₂-muskarinik reseptör (m₂-muscarinic receptor); NA, noradrenalin (noradrenaline); nNOS, nöronal nitrik oksit sentaz (neuronal nitric oxide synthase); NO, nitrik oksit (nitric oxide); NO₂⁻, nitrit (nitrite); pH, hidrojen iyonu derişiminin negatif logaritması (negative logarithm of hydrogen ion concentration); pO₂, parsiyel oksijen basıncı (partial oxygen pressure); SNO, S-nitrozotiyol (S-nitrosothiol); SR, sarkoplazmik retikulum (sarcoplasmic retikulum); VSMC, damar düz kas hücresi (vascular smooth muscle cell).



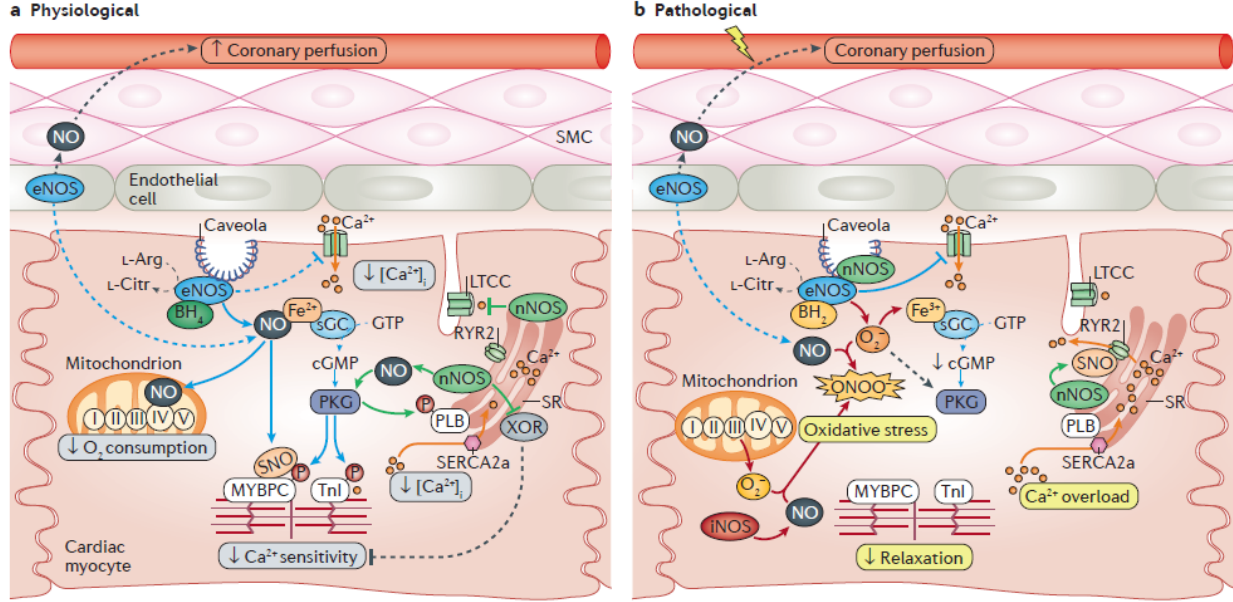
Şekil 2.25. NO ve öteki biyolojik olarak etkili nitrojen türlerinin, siklik GMP'ye bağımlı ve bağımsız sinyal ileti yollarının etkinleşmesi sonucunda ortaya çıkan kardiyovasküler, renal ve metabolik etkiler [237]. *Ang II*, Anjiyotensin II (angiotensin II); *cGMP*, siklik guanozin monofosfat (cyclic guanosine monophosphate); *Cys*, sistein (cysteine); *eNOS*, endotelial nitrik oksit sentaz (endothelial nitric oxide synthase); *GMP*, guanozin monofosfat (guanosine monophosphate); *FAD*, flavin adenin dinükleotit (flavin adenine dinucleotide); *FMN*, flavin mononükleotit (flavin mononucleotide); *GFR*, glomerüler süzülme hızı (glomerular filtration rate); *GTP*, guanozin trifosfat (guanosine triphosphate); *iNOS*, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); *NADPH*, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (nicotinamide adenine dinucleotide phosphat); *nNOS*, nöronal nitrik oksit sentaz (neuronal nitric oxide synthase); *NO*, nitrik oksit (nitric oxide); *NO•*, nitrik oksit radikali (nitric oxide radical); *NO₂⁻*, nitrit (nitrite); *NO₃⁻*, nitrat (nitrate); *O₂*, moleküler oksijen (molecular oxygen); *sGC*, çözünebilir guanilil siklaz (soluble guanylyl cyclase).



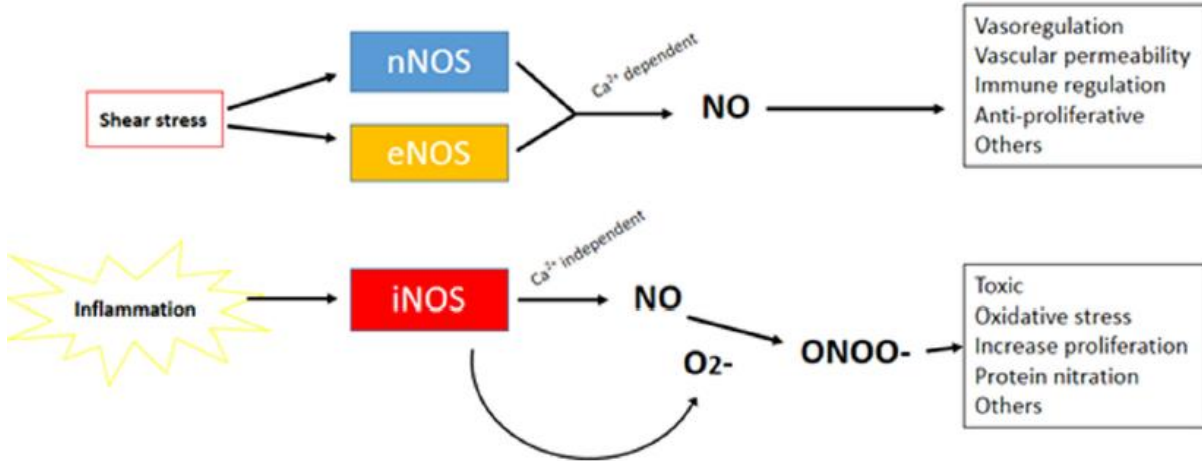
Şekil 2.26. NO ve/veya öteki biyolojik olarak etkili nitrojen türlerinin, siklik GMP'den bağımsız sinyal ileti yollarının etkinleşmesi sonucunda ortaya çıkan etkiler [237]. DNIC, Dinitrozil-demir kompleksi (dinitrosyl-iron complex); eNOS, endotelial nitrik oksit sentaz (endothelial nitric oxide synthase); GMP, guanozin monofosfat (guanosine monophosphate); iNOS, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); N₂O₃, dinitrojen trioksit (dinitrogen trioxide); nNOS, nöronal nitrik oksit sentaz (neuronal nitric oxide synthase); NO, nitrik oksit (nitric oxide); NO•, nitrik oksit radikali (nitric oxide radical); NO₂•, nitrojen dioksit radikali (nitrogen dioxide radical); NO₂, nitrit (nitrite); NO₃, nitrat (nitrate); ONOO-, peroksinitrit (peroxynitrite); SNO, S-nitrozotiyol (S-nitrosothiol).

Ayrıca, NO, başta kardiyovasküler ve renal sistemler olmak üzere, çeşitli sistemlerin fizyolojik işlevlerinin gerçekleştirilmesinin yanı sıra, bu sistemlerin işlev bozukluğu ile ilişkili hastalıkların patojenezinde önemli rol oynamaktadır (Şekil 2.27., Şekil 2.28., Şekil 2.29., Şekil 2.30. ve Şekil 2.31.) [231, 237, 250-256]. Örneğin, septik şok patojenezinde, L-arjinin/iNOS/NO/L-sitrülin/ASL/ASS1/L-arjinin, L-arjinin/ADMA/DDAH1/2/L-sitrülin/ASL/ASS1/L-arjinin ve L-arjinin/arjinaz-1/2/L-ornitin/OTK/L-sitrülin/ASL/ASS1/L-arjinin döngüleri aracılığıyla oluşumu artan iNOS kaynaklı NO, kardiyak, renal, pulmoner, hepatik, makrovasküler ve hücrel işlev bozukluklarından sorumludur. Öte yandan, vasküler endotelial hücrelerde, arjinaz-1/2 ekspresyonunun/etkinliğinin artması sonucunda eNOS tarafından kullanılacak olan L-arjinin miktarının azalmasına (eNOS *uncoupling*) bağlı olarak gelişen NO biyoyararlanımındaki azalma sonucunda oluşumu artan süperoksit ve PON ise, mikrovasküler işlev bozukluğu ve enflamasyondan sorumlu tutulmaktadır. ADMA, NOX'u etkinleştirerek süperoksit oluşumunda neden olduğu artma sonucunda, NO biyoyararlanımını da azaltabilmektedir. Süperoksit oluşumunun artması, ayrıca, daha çok nNOS ve eNOS eksprese eden hücrelerde baskın olan sırasıyla DDAH1 ve DDAH2 enzimlerini etkisizleştirilmesi sonucunda ADMA klirensinin azalmasına bağlı olarak, daha çok miktarda ADMA oluşabilmektedir. ADMA düzeylerinin artması, NO biyoyararlanımındaki azalmaya ek olarak, doğrudan endotel işlev işlev bozukluğu, mikrovasküler konstriksiyon, tromboist agregasyonu, eritrosit adezyonu, enflamasyon, mitokondriyal ROT ve PON oluşumu ile sempatik etkinlikte artmaya yol açmaktadır [17, 144, 145, 221, 227, 236-240, 242, 245-247, 257-280]. Ayrıca, sepsisli ve septik şoklu hastalarda düzeyi artan endojen NOS inhibitörlerin biri olan ADMA'nın doğrudan eNOS *uncoupling*'ine neden olarak daha az miktarda NO ve daha çok miktarda süperoksit oluşmasına neden olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [281-290].

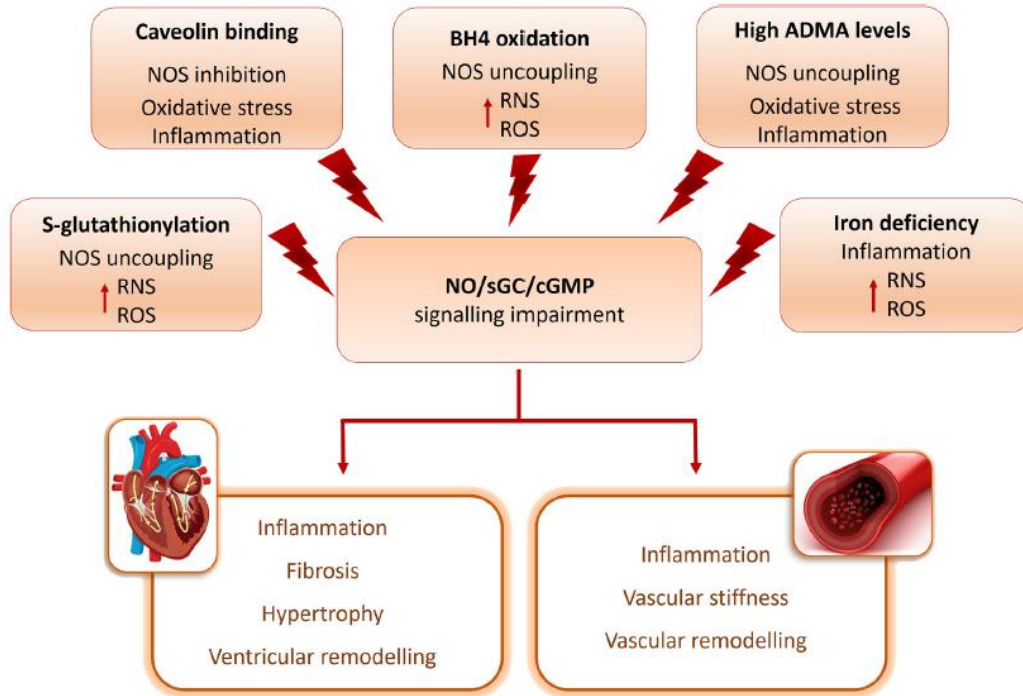
Özellikle, septik şokun önlenmesi ve tedavisinde iNOS, ADMA, DDAH1/2, NOX ile arjinaz-1/2'yi hedefleyen, böylece aşırı miktarda NO oluşumunun önlenmesinin yanı sıra, NO biyoyararlanımının artırılarak vasküler ve yaşamsal organlarda gelişen işlev bozukluğunun düzeltilebilmesi ve mortalitenin azaltılmasına yönelik olarak çeşitli farmakolojik yaklaşımlar üzerinde durulmaktadır (Şekil 2.32.) [13-18, 20, 22, 24-26, 30, 31, 33, 36, 144, 145, 221, 227, 237, 239, 240, 242, 245-247, 257, 258, 268, 271, 277, 280, 291].



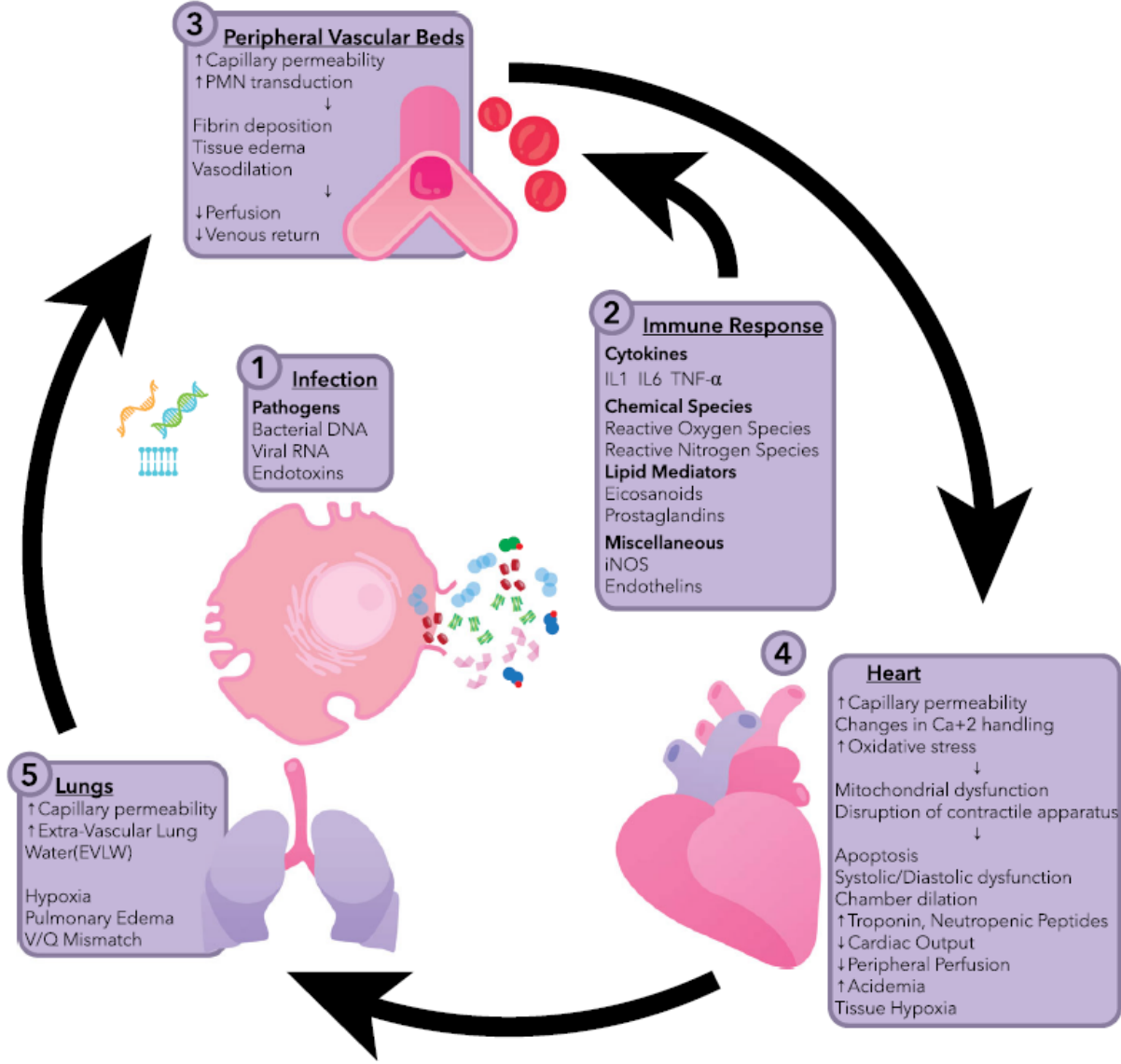
Şekil 2.27. Fizyolojik ve patolojik koşullarda NO tarafından kardiyak miyosit işlevinin düzenlenmesi [251]. *BH₂*, Dihidrobiyopterin (dihydrobiopterin); *BH₄*, tetrahidrobiyopterin (tetrahydrobiopterin); *Ca²⁺*, kalsiyum iyonu (calcium ion); *cGMP*, siklik guanozin monofosfat (cyclic guanosine monophosphate); *eNOS*, endotelial nitrik oksit sentaz (endothelial nitric oxide synthase); *Fe²⁺*, ferröz kation (ferrous cation); *GTP*, guanozin trifosfat (guanosine triphosphate); *L-Arg*, L-arjinin (L-arginine); *L-Citr*, L-sitrülin (L- citrulline); *LTCC*, L türü kalsiyum kanalı (L-type calcium channel); *MYBPC*, miyozin bağlayıcı protein C (myosin-binding protein C); *nNOS*, nöronal nitrik oksit sentaz (neuronal nitric oxide synthase); *NO*, nitrik oksit (nitric oxide); *O₂*, moleküler oksijen (molecular oxygen); *O₂⁻*, süperoksit (superoxide); *ONOO⁻*, peroksinitrit (peroxynitrite); *P*, fosforile (phosphorylated); *PKG*, protein kinaz G (protein kinase G); *PLB*, fosfolamban (phospholamban); *RYR*, riyanodin reseptör (ryanodine receptor); *SERCA*, sarkoplazmik/endoplazmik retikulum kalsiyum-adenozin trifosfataz (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium-adenosine triphosphatase); *sGC*, çözünebilir guanilil siklaz (soluble guanylyl cyclase); *SMC*, düz kas hücresi (smooth muscle cell); *SNO*, S-nitrozotiyol (S-nitrosothiol); *SR*, sarkoplazmik retikulum (sarcoplasmic reticulum); *TnI*, troponin I (troponin I); *XOR*, ksantin oksidoredüktaz (xanthine oxidoreductase).



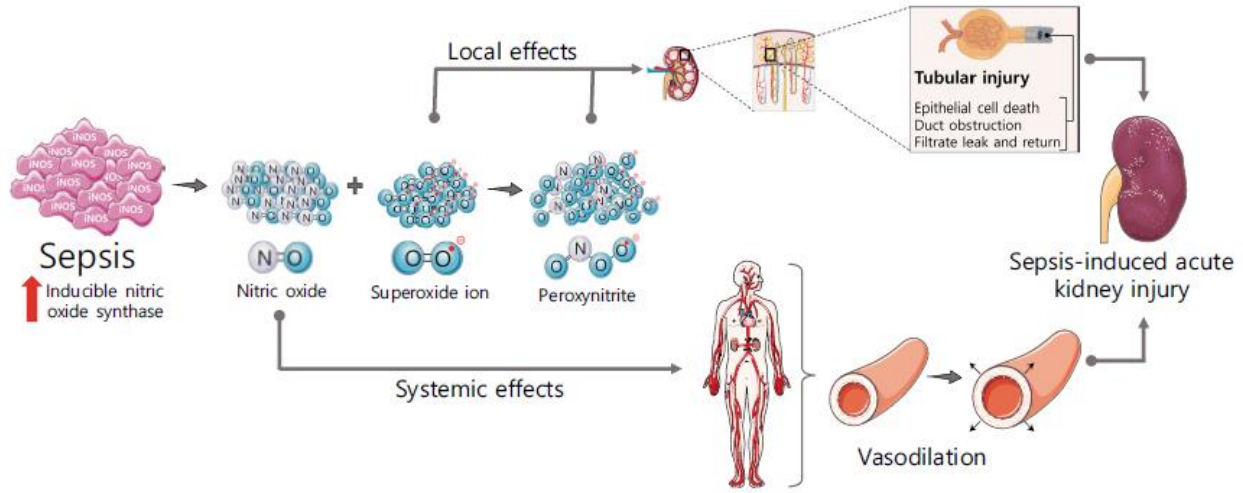
Şekil 2.28. Fizyolojik ve patolojik koşullarda NO tarafından kardiyak miyosit işlevinin düzenlenmesi [252]. Ca^{2+} , Kalsiyum iyonu (calcium ion); eNOS, endotelial nitrik oksit sentaz (endothelial nitric oxide synthase); iNOS, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); nNOS, nöronal nitrik oksit sentaz (neuronal nitric oxide synthase); NO, nitrik oksit (nitric oxide); O_2^- , süperoksit (superoxide); ONOO-, peroksinitrit (peroxynitrite).



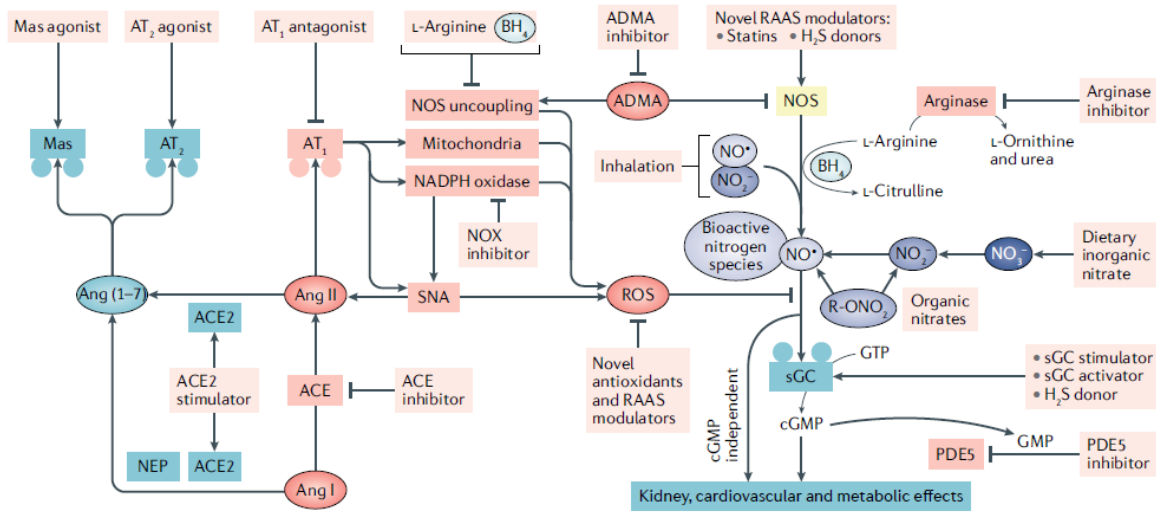
Şekil 2.29. NO/çGS/siklik GMP sinyal ileti yolunun bozulmasına bağlı olarak gelişen kardiyak ve endotelial işlev bozukluğu [253]. ADMA, Asimetrik dimetilarjinin (asymmetric dimethylarginine); BH_4 , tetrahidrobiyopterin (tetrahydrobiopterin); cGMP, siklik guanozin monofosfat (cyclic guanosine monophosphate); çGS, çözünebilir guanilil siklaz; GMP, guanozin monofosfat (guanosine monophosphate); NO, nitrik oksit (nitric oxide); NOS, nitrik oksit sentaz (nitric oxide synthase); RNS, reaktif nitrogen türleri (reactive nitrogen species); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygenspecies); sGC, çözünebilir guanilil siklaz (soluble guanylyl cyclase).



Şekil 2.30. Septik miyokardiyal işlev bozukluğunun fizyopatolojisinde iNOS, reaktif nitrojen/oksijen türleri, sitokinler, eikozanoitler ve endotelinlerin rolü [250]. *Ca²⁺*, Kalsiyum iyonu (calcium ion); *DNA*, deoksiribonükleik asit (deoxyribonucleic acid); *IL*, interlökin (interleukin); *iNOS*, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); *PMN*, polimorfonükleer lökosit (polymorphonuclear leukocyte); *RNA*, ribonükleik asit (ribonucleic acid); *TNF*, tümör nekrozlaştırıcı faktör (tumor necrosis factor).



Şekil 2.31. Sepsisin neden olduğu akut böbrek zedelenmesinde NO'nun zararlı etkileri [254]. NO, Nitrik oksit.



Şekil 2.32. NO biyoyararlanımındaki azalmayı düzeltmeye yönelik yaklaşımlar [237]. ACE, Anjiyotensin dönüştürücü enzim (angiotensin converting enzyme); ADMA, Asimetrik dimetilarjinin (asymmetric dimethylarginine); Ang, anjiyotensin II (angiotensin II); AT₁, anjiyotensin II tip 1 reseptör (angiotensin II type 1 receptor); AT₂, anjiyotensin II tip 2 reseptör (angiotensin II type 2 receptor); BH₄, tetrahidrobiopterin (tetrahydrobiopterin); cGMP, siklik guanozin monofosfat (cyclic guanosine monophosphate); GTP, guanozin monofosfat (guanosine triphosphate); H₂S, hidrojen sülfür (hydrogen sulfide); Mas, G proteini ile kenetli reseptör ailesinin bir üyesi (a member of the G-protein-coupled receptor family); NADPH, nikotinamit adenin dinükleotit fosfat (nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate); NEP, nötral endopeptidaz (neutral endopeptidase); NO, nitrik oksit (nitric oxide); NO[•], nitrik oksit radikali (nitric oxide radical); NO₂, nitrit (nitrite); NO₃, nitrat (nitrate); NOS, nitrik oksit sentaz (nitric oxide synthase); NOX, nikotinamit adenin dinükleotit fosfat oksidaz (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase); PDE, fosfodiesteraz (phosphodiesterase); RAAS, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (renin-angiotensin-aldosterone system); R-ONO₂, nitrat esteri (nitrate ester); ROS, reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species); sGC, çözünebilir guanilil siklaz (soluble guanylyl cyclase); SNA, sempatik sinir etkinliği (sympathetic nerve activity).

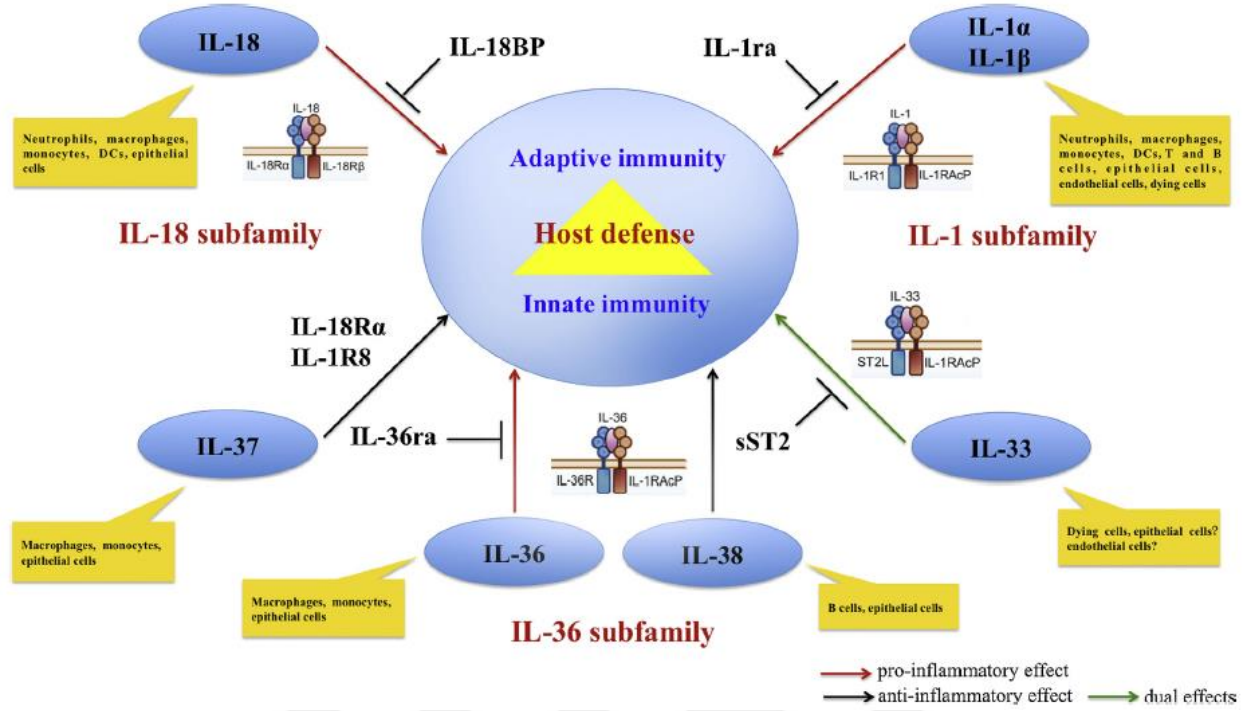
2.7. IL-1 β

2.7.1. Özellikleri

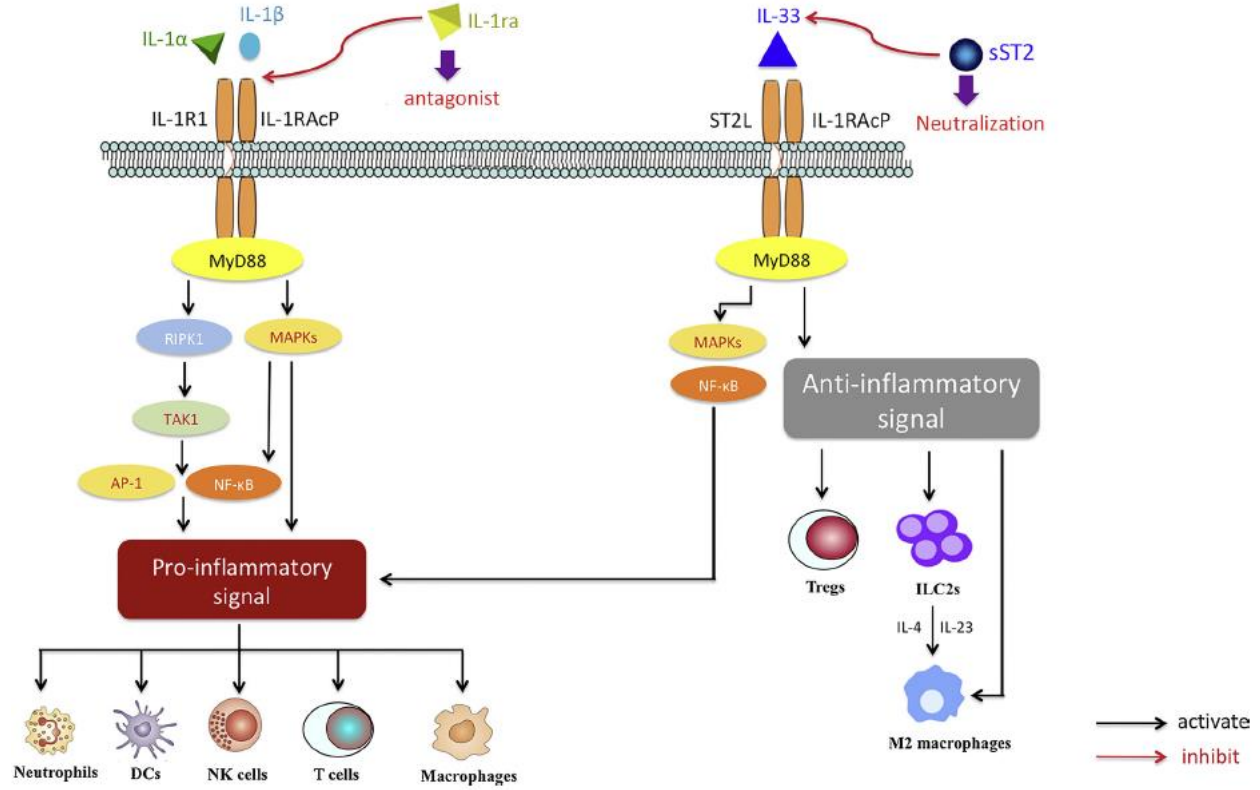
11 üyesi olan IL-1 alt ailesi, IL-1R antagonisti (IL-1ra), IL-1 α , IL-1 β ile IL-33, IL-18 alt ailesi IL-37 ile IL-18 ve IL-36 alt ailesi IL-38, IL-36 reseptör (IL-36R) antagonisti (IL-36ra) ve IL-38'yi içermektedir (Şekil 2.33.) [292-299]. IL-33 ve IL-18 dışındaki sitokinler insan kromozomu 2'nin 400 kb bölgesinde yerleşmişlerdir [296-298]. IL-1 ailesinde bulunan sitokinlerin değişik veya tamamlayıcı etkinlikleri vardır. IL-1 ailesi üyelerinin çoğu pro-enflamatuvar etki gösterirken, IL-1ra, IL-36ra, IL-18 bağlayıcı protein (IL-18BP), IL-1R ile ilişkili proteinin çözünebilir formu (*soluble form of IL-1R-related protein*; sST2L), IL-37 ve IL-38 gibi bazı sitokinler de enflamatuvar yanıtları bir negatif geri besleme mekanizması ile azaltmaktadırlar (Şekil 2.34.) [296, 297, 299]. IL-1 ailesi üyeleri etkilerini IL-1R, ST2L, IL-18 reseptörü (IL-18R) ve IL-36R'yi içeren "IL-1R sistemi" aracılığıyla oluşturmaktadırlar [297, 300, 301]. Çeşitli uyarılar ve zedeleyici etkenlere karşı konakta gelişen doğal ve adaptif bağışıklık savunma yanıtlarına önemli katkısı olan pro-enflamatuvar sitokinlerden biri olan IL-1 β , başlıca nötrofiller, monositler, makrofajlar, dendrit, T, B hücreleri, epitel ve endotel hücreleri ile ölmekte olan hücrelerden salıverilmekte ve pro-enflamatuvar etkisini IL-1R üzerinden göstermektedir (Şekil 2.33. ve Şekil 2.34.) [292, 293, 297, 302].

2.7.2. Ekspresyonunun/Etkinliğinin Düzenlenmesi

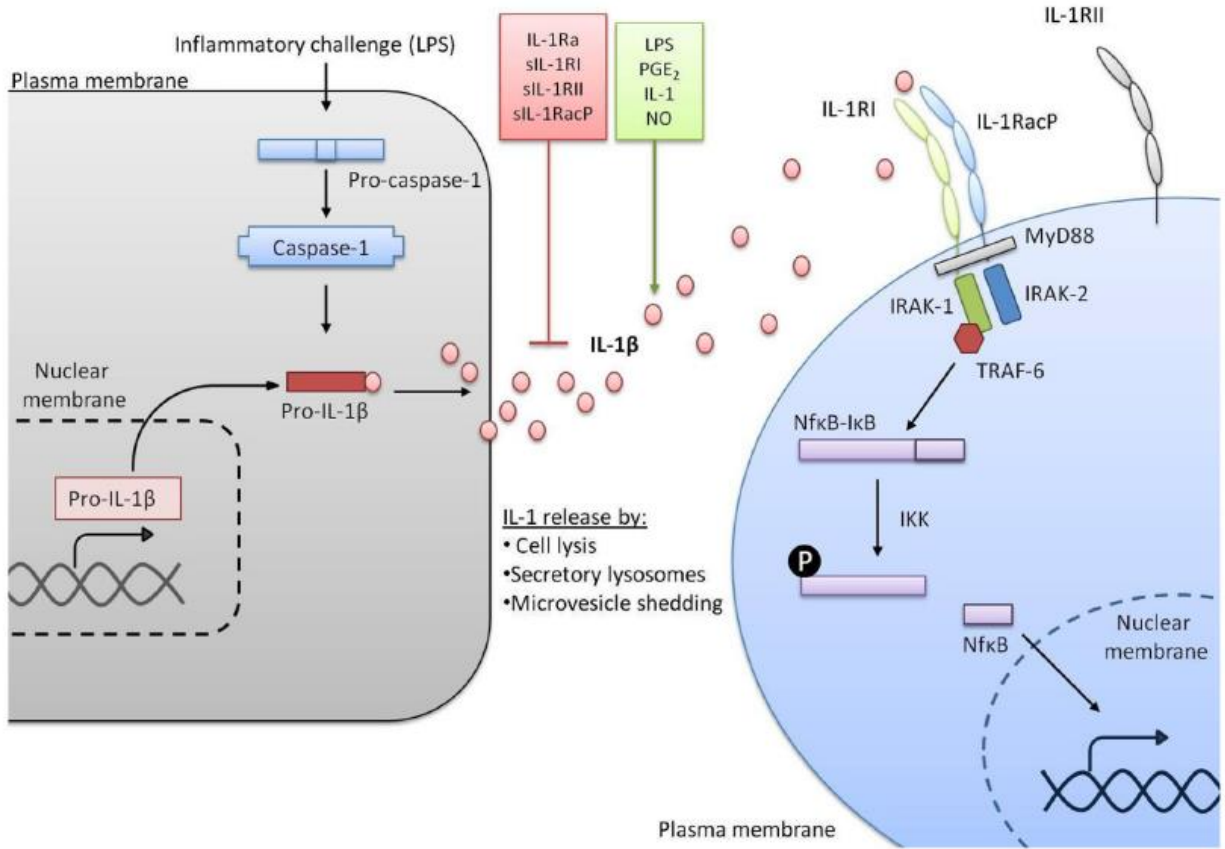
Bakteriyel LPS gibi hemen hemen tüm mikrobiyal ürünler, TLR ligantları aracılığıyla, IL-1 β indüksiyonuna neden olsalar da, IL-1 β kendini indükleyebilmektedir; ayrıca, IL-1ra, çözünebilir IL-1 yardımcı protein (*soluble IL-1 accessory protein*; sIL-1RAcP), çözünebilir tip I IL-1R (*soluble type I IL-1R*; sIL-1RI) ve çözünebilir tip II IL-1R (*soluble type II IL-1R*; sIL-1RII), IL-1 β salıverilmesini önlemektedirler (Şekil 2.35.) [303-306].



Şekil 2.33. IL-1 ailesi üyelerinin hücresel kaynakları ve konak savunmasındaki rolleri [297]. DCs, dendrit hücreleri (dendritic cells); IL, interlökin (interleukin); IL-18BP, interlökin-18 bağlayıcı protein (interleukin-18-binding protein); IL-18R, interlökin-18 reseptörü (interleukin-18 receptor); IL-1R, interlökin-1 reseptörü (interleukin-1 receptor); IL-1ra, interlökin-1 reseptör antagonisti (interleukin-1 receptor antagonist); IL-1RAcP, interlökin-1 yardımcı protein (interleukin-1 accessory protein); IL-36R, interlökin-36 reseptörü (interleukin-36 receptor); IL-36ra, interlökin-36 reseptör antagonisti (interleukin-36 receptor antagonist); sST2L, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili proteinin çözünebilir formu (soluble form of interleukin-1 receptor-related protein); ST2, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili protein (interleukin-1 receptor-related protein); ST2L, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili proteinin tam uzunluktaki transmembranlar formu (trans-membranes full-length form of interleukin-1 receptor-related protein).



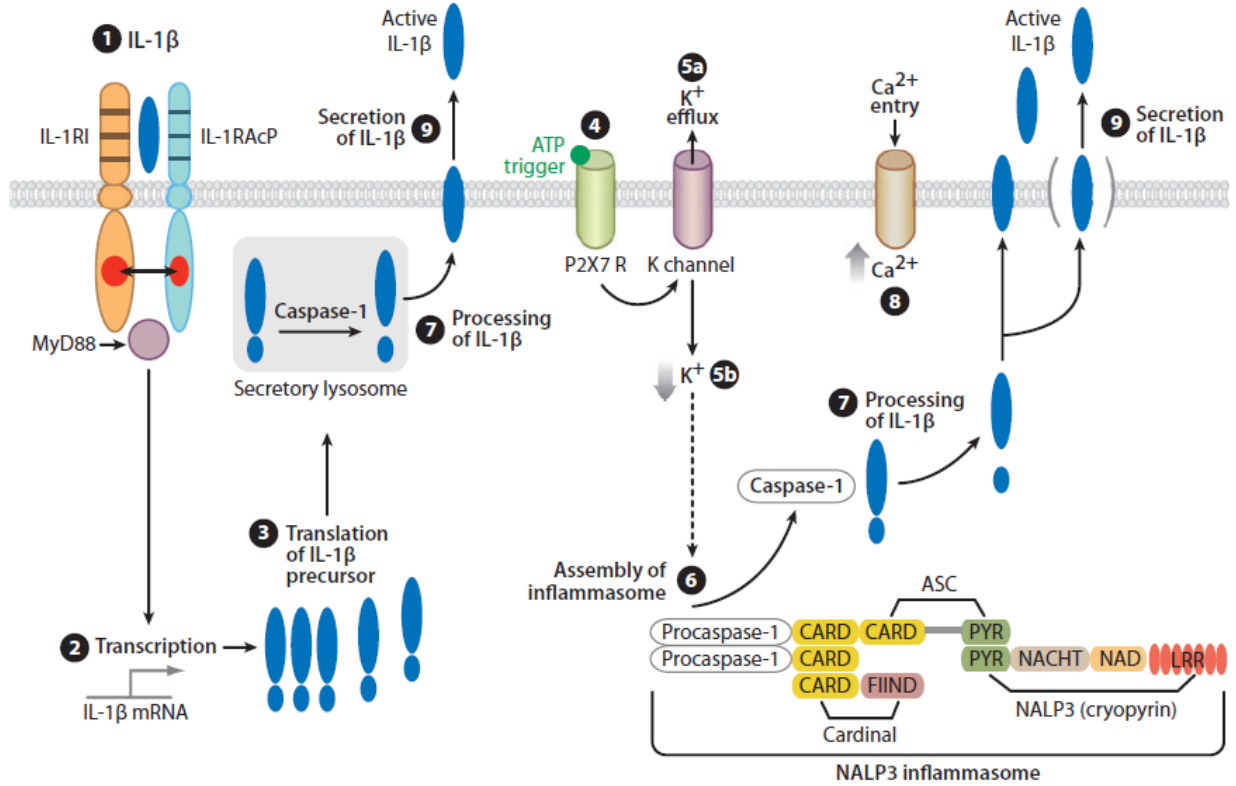
Şekil 2.34. Enflamasyon ve bağışıklık yanıtında IL-1 alt ailesi üyeleri agonistleri ve antagonistleri arasındaki denge [297]. AP, Etkinleştirici protein (activator protein); DCs, dendrit hücreleri (dendritic cells); IL, interlökin (interleukin); IL-1R, interlökin-1 reseptörü (interleukin-1 receptor); IL-1R1, tip 1 interlökin-1 reseptörü (type 1 interleukin-1 receptor); IL-1ra, interlökin-1 reseptör antagonisti (interleukin-1 receptor antagonist); IL-1RAcP, interlökin-1 yardımcı protein (interleukin-1 accessory protein); ILC2s, tip 2 doğal lenfoit hücreler (type 2 innate lymphoid cells); MAPKs, mitojen ile etkinleştirilen protein kinazlar (mitogen-activated protein kinases); MyD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteinini (myeloid differentiation primary response protein); NF, nükleer faktör (nuclear factor); RIPK, reseptör ile etkileşen protein kinaz (receptor-interacting protein kinase); sST2, çözünebilir interlökin-1 reseptörü ile ilişkili protein (soluble interleukin-1 receptor-related protein); sST2L, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili proteinin çözünebilir formu (soluble form of interleukin-1 receptor-related protein); TAK, dönüştürücü büyüme faktörü beta ile etkinleştirilen kinaz (transforming growth factor beta-activated kinase); Tregs, düzenleyici T hücreleri (regulatory T cells).



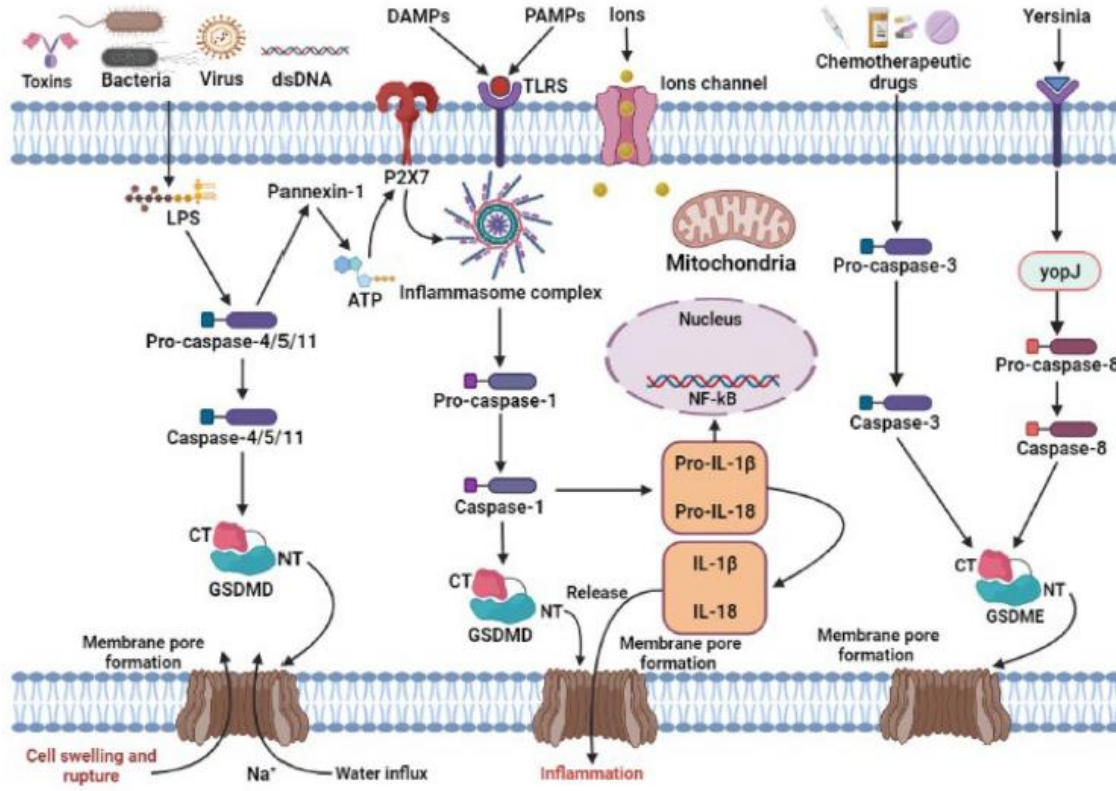
Şekil 2.35. LPS'ye yanıt olarak IL-1β'nın sentezi, saliverilmesi ve tetiklediği sinyal ileti yolları [306]. *IκB*, *κB* inhibitörü (*Inhibitor of κB*); *IKK*, *κB* kinase inhibitörü (*Inhibitor of κB* kinase); *IL*, interlökin (*interleukin*); *IL-1ra*, interlökin-1 reseptör antagonisti (*interleukin-1 receptor antagonist*); *IL-1RacP*, interlökin-1 yardımcı protein (*interleukin-1 accessory protein*); *IL-1RI*, tip I interlökin-1 reseptörü (*type I interleukin-1 receptor*); *IL-1RII*, tip II interlökin-1 reseptörü (*type II interleukin-1 receptor*); *IRAK*, interlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz (*interleukin-1 receptor-associated kinase*); *LPS*, lipopolisakkarit (*lipopolysaccharide*); *MyD*, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (*myeloid differentiation primary response protein*); *Nf*, nükleer faktör (*nuclear factor*); *NO*, nitrik oksit (*nitric oxide*); *PG*, prostaglandin (*prostaglandin*); *sIL-1RacP*, çözünebilir interlökin-1 yardımcı protein (*soluble interleukin-1 accessory protein*); *sIL-1RI*, çözünebilir tip I interlökin-1 reseptörü (*soluble type I interleukin-1 receptor*); *sIL-1RII*, çözünebilir tip II interlökin-1 reseptörü (*soluble type II interleukin-1 receptor*); *TRAF*, tümör nekrozlaştırıcı faktör ile ilişkili faktör (*tumor necrosis factor receptor-associated factor*).

IL-1β'nın etkinleşmesi ve saliverilmesi ile sonuçlanan klasik yolda, çeşitli çevresel ve patojen/konak kökenli etkenleri algılayan intraselüler sinyalleşen bir molekül olan NLRP3'ün etkinleşerek ASC'ye bağlanmasıyla, ASC bir inflamazom kompleksi oluşturmak üzere "IL-1 dönüştürücü enzim" olarak da bilinen kaspaz-1 ile etkileşmektedir (Şekil 2.36.) [292]. Klasik olmayan yolda ise, fare kaspaz-11'in ortoloğu, insanlarda amino asit dizisi homolojisine dayalı olarak ya kaspaz-4 ya da kaspaz-5 olan ve çeşitli kaynaklarda "kaspaz-4/5/11" olarak da geçen kaspaz-11 [307], NLRP3'e bağımlı bir biçimde, IL-1β'nın etkinleşmesine dolaylı olarak neden

olabilmektedir (Şekil 2.37.) [308]. Ancak, IL-1 β 'in aracılık ettiği enflamatuvar süreçler her zaman NLRP3 ya da kaspaz-1 etkinliğine bağlı değildir. Etkili olmayan IL-1 β öncülü proteinaz-3 ya da elastaz gibi parçalama alanları kaspaz-1'e benzeyen enzimler tarafından ekstraselüler bölgede parçalanarak da etkili IL-1 β 'ya dönüştürülebilmektedir [292, 293, 302].



Şekil 2.36. IL-1 β 'nin sentezi ve saliverilmesi [292]. ASC, Apoptozla ilişkili nokta benzeri protein içeren bir kaspaz biriktirici alan (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain); ATP, adenozin trifosfat (adenosine triphosphate); Ca²⁺, kalsiyum iyonu (calcium ion); CARD, kaspaz biriktirici ve etkinleştirici alan (caspase-recruitment and activation domain); FIIND, işlev bulma alanı (function-to-find domain); IL, interlökin (interleukin); IL-1RAcP, interlökin-1 yardımcı protein (interleukin-1 accessory protein); IL-1RI, tip I interlökin-1 reseptörü (type I interleukin-1 receptor); K⁺, potasyum iyonu (potassium ion); LRR, lösinden zengin yinelenenler (leucine rich repeats); mRNA, ulak ribonükleik asit (messenger ribonucleic acid); MyD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); NACHT, santral nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı (central nucleotide-binding oligomerization domain); NAD, nikotinamit adenin dinükleotit (nicotinamide adenosine dinucleotide); NALP, nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alan benzeri, lösinden zengin yinelenen ve pirin alanı içeren (nucleotide-binding oligomerization domain, leucine rich repeat and pyrin domain containing); PYR, pirin alanı (pyrine domain).



Şekil 2.37. IL-1 β aracılıklı enflamasyonun hücresel ve moleküler mekanizmaları [308]. ATP, Adenozin trifosfat (adenosine triphosphate); CT, C ucu (C-terminus); DAMPs, zedelenmeyle ilişkili moleküler kalıplar (damage-associated molecular patterns); dsDNA, çift sarmallı deoksiribonükleik asit (double-stranded deoxyribonucleic acid); GSDMD, gasdermin D (gasdermin D); GSDME, gasdermin E (gasdermin E); LPS, lipopolisakkarit (lipopolysaccharide); Na⁺, sodyum iyonu (sodium ion); NF, nükleer faktör (nuclear factor); NT, N ucu (N-terminus); P2X7, pürinerjik reseptör P2X 7 (purinergic receptor P2X 7); PAMPs, patojen ilişkili moleküler kalıplar (pathogen-associated molecular patterns); TLRS, toll benzeri reseptörler (toll-like receptors); yopJ, Yersinia dış proteini J (Yersinia outer protein-J).

2.7.3. Fizyopatolojik Olaylardaki Rolü

Özellikle NLRP3 inflamazomunun etkinliğindeki artmaya bağlı olarak yerel ve sistemik IL-1 β düzeylerindeki yükselme, sepsis, akut ve kronik böbrek yetmezliği, glomerülonefrit, vaskülit, amiloidoz, miyokart enfarktüsü, miyokardit, perikardit, ateroskleroz, sistemik arteriyel, pulmoner ve jestasyonel hipertansiyon, artrit, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, inme, multipl skleroz, şizofreni, stres, sistemik lupus eritematöz, amiyotrofik lateral skleroz, astım, hepatit, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, enflamatuvar bağırsak hastalığı, psöriyaz ve atopik dermatit gibi patojenezinde enflamasyonun rol oynadığı çeşitli hastalıkların patojenezindeki olaylar ile ilişkili bulunduğundan, son yıllarda IL-1 β 'yi hedefleyen çeşitli terapötik yaklaşımlar üzerinde durulmaktadır [221, 292, 297-299, 309-314].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışmasında kullanılan sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen işlemler için Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmıştır (Kurulun 24/07/2023 tarihli ve 2023/34 sayılı kararı).

3.1.2. Deney Hayvanı

Deneylerde 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyodunda senkronize edilen 200-360 g ağırlığında 36 adet erkek Wistar sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanları Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinden sağlanmıştır.

3.1.3. Sarf Malzemesi

Agaroz (*Agarose Low EEO, Agarose Standard*) (A2114; AppliChem)

Borik Asit (A2940; AppliChem)

Bromfenol Mavisi (A3640; AppliChem)

DNA Saklama Kutusu (81 gözlü) (3122278; Greiner)

DNA Taq Polimerazı (*Taq DNA Polymerase*) (EP0402; Thermo)

Enzimleri Kodlayan Genlere Özgü Primerler (HedefGen):

- α -Düz kas aktini (*Forward primer sequence: 5'-GAC ACC AGG GAG TGA TGG TT-3'*)
- α -Düz kas aktini (*Reverse primer sequence: 5'-GTT AGC AAG GTC GGA TGC TC-3'*)
- α -İskelet kası aktini (*Forward primer sequence: 5'-CTC TCT CTC CTC AGG ACG ACA ATC-3'*)
- α -İskelet kası aktini (*Reverse primer sequence: 5'-CAG AAT GGC TGG CTT TAA TGC TTC-3'*)
- β -Aktin (*Forward primer sequence: 5'-TCA TGA AGT GTG ACG TTG ACA TCC GT-3'*)
- β -Aktin (*Reverse primer sequence: 5'-CCT AGA AGC ATT TGC GGT GCA CGA TG-3'*)
- GPR14 (*Forward primer sequence: 5'-TCT GAG CCT GGA GTC TAC AAC AAG CT-3'*)
- GPR14 (*Reverse primer sequence: 5'-CCA AAG TGC CAG TCC TTA GTG ACG T-3'*)
- IL-1 β (*Forward primer sequence: 5'-GGC AAC TGT CCC TGA ACT CAA C-3'*)
- IL-1 β (*Reverse primer sequence: 5'-AAG CTC CAC GGG CAA GAC ATA-3'*)
- iNOS (*Forward primer sequence: 5'-ACC TAC TTC CTG GAC ATC AC-3'*)
- iNOS (*Reverse primer sequence: 5'-ACC CAA ACA CCA AGG TCA TG-3'*)
- MyD88 (*Forward primer sequence: 5'-TCG CGC ATC GGA CAA ACG-3'*)
- MyD88 (*Reverse primer sequence: 5'-GCA ATG GAC CAG ACA CAG GT-3'*)

- NF- κ B (*Forward primer sequence*: 5'-AGT TGA GGG GAC TTT CCC AGG C-3')

- NF- κ B (*Reverse primer sequence*: 5'-GAT TCG AGT ATT AGT TCA TGG A-3')

- U-II (*Forward primer sequence*: 5'-TGC CTG CTC TTC GTA GGA CT-3')

- U-II (*Reverse primer sequence*: 5'-AGA GCC TTC CTC AAG CTT-3')

- TLR4 (*Forward primer sequence*: 5'-GTG GAA GTT GAA CGA ATG GA-3')

- TLR4 (*Reverse primer sequence*: 5'-TGG ATG ATG TTG GCA GCA-3')

Etidium Bromit (A1151; Applichem)

Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) (A2937; AppliChem)

Fosforik Asit (%85) (Ak Kimya)

GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (100-4000 bp) (SM0321; Thermo)

Hidroklorik Asit (*Hydrochloric Acid*; HCl) (100314; Merck)

Inducible Nitric Oxide Synthase, iNOS/NOS2, ELISA Kit (MBS161069; MyBiosource)

İzopropanol (1.00995 ; Merck)

Karyopreservasyon Tüpü (*Cryo's Sterile*, 1 ml, 12, 5/38 mm, *skirt*) (3123278; Greiner)

Karyopreservasyon Tüpü (*Cryo's Sterile*, 2 ml, 12, 5/38 mm, *skirt*) (3122278; Greiner)

Kültür Plağı (*Microplate*) (655160; Greiner)

LPS (*E. coli* lipopolisakkaridi, O111:B4) (L4130, Sigma)

Mikrosantrifüj Tüpü (*Microcentrifuge Tube*) (1.5 ml) (616201; Greiner)

Pipet Ucu (*Gel-Load Pipette Tip*) (770291; Greiner)

Pipet Ucu (Mavi) (686290; Greiner)

Pipet Ucu (Sarı) (685290; Greiner)

Polistiren Tüp (15 ml) (188271; Greiner)

Polistiren Tüp (50 ml) (227261; Greiner)

PolyAtract System 1000 without Magnetic Separation Stand (Z5400; Promega)

Porselen Havan (10 cm)

Rat Urotensin II (UII) ELISA Kit (96-Strip-Wells) (MBS264715; MyBioSource)

Real Time-Polimeraz Zincir Tepkimesi (Real Time-Polymerase Chain Reaction; RT-PCR)

Ekspresyon Kiti (Thermo)

SB-710411 (071-15; Phoenix Pharmaceuticals)

Serum Fizyolojik (SF)

Sıvı Azot

Sosyum Asetat (1.06268; Merck)

Sodyum Nitrit (S2252; Sigma)

Sukroz (A2211; Applichem)
Sülfonilamit (SA) (1.11799; Merck)
N-1-Naftiletilendiamin Dihidroklörür (NED) (N9125; Sigma)
Sukroz (A2211; Applichem)
Tepkime tüpü (0.2 ml) (683201; Greiner)
Tepkime Tüpü (0.5 ml) (667201; Greiner)
Ters Transkripsiyon Sistemi (*Reverse Transcription System*) (A3500; Promega)
Tris (A2264; Applichem)

3.1.4. Teçhizat

Çalkalayıcı (*Orbital Rocker-Shake*) (MR-12; Biosan)
Çalkalayıcı (*Red Rotor Orbital Shaker*) (PR500-176; Hoefer)
Derin Dondurucu (Dik tip, 410 L, -80°C) (Model U410; New Brunswick)
Derin Donduruculu Buzdolabı (Model 1060 T; Arçelik; Model 4240 T FH; Arçelik)
Elektroforez Sistemi (*Wide Mini Sub Cell, 15x10*) (170-4469; Biorad)
Güç Desteği (*Power Supply*) (*EV 265 Consort Power Supply, 230 VAC*) (PS265-230V; Hoefer)
Hassas Terazi (Model APX 200; Denver)
Jel Dokümantasyon ve Analiz Sistemi (*EC3-CHEMI HR Imaging System*) (Ultra-Violet Products; UVP)
Kan Basıncı Kayıt Sistemi ve Isıtıcılı Bölme (*Indirect Blood Pressure Recorder System*) (BPHR 9610; Commat İletişim Ltd.)
Manyetik Karıştırıcı (*BOE 8056500 Magnetic Stirrer*) (MMS-3000, ACAdapter 220V; Boeco)
Mikrodalga Fırın (19 L) (MD554; Arçelik)
pH Metre (Orion 3 Star; Thermo)
Plak Okuma Aygıtı (405, 450, 490, 550 ve 630 nm olmak üzere beş adet filtreli) (ELX800; Biotek)
Soğutmalı Santrifüj (Mikro 22R, Hettich; H1850R; XiangYi/Cence)
Spektrofotometre (*S-30 Spectrophotometer, 260-280 nm*; Boeco)
Su Banyosu (Sıcaklık: 0-100°C, Hacim: 5 L) (Precistern; JP Selecta)
Thermal Cycler (*BOE 8085000 Thermal Cycler*) (TC-PRO; Boeco)
Ultrasonik Banyo (Isıtmalı, Frekans Ayarlı) (Elmasonic S 40 / (H); Elma)
Üstten Kefeli Terazi (SPB 52; Scaltec)
Vorteks (RX3; VELP Scientifica)

3.2. Yöntem

3.2.1. *In Vivo* Çalışmalar

3.2.1.1. Septik Şok Modelinin Oluşturulması, SB-710411 Uygulanması ve SB-710411'in En Düşük Etkili Dozunun Belirlenmesi

Septik şok modeli 10 mg/kg (i.p.) dozda LPS uygulanarak daha önce tarafımızdan yapılan çalışmalarda kullanılan yöntemle göre oluşturulmuştur [48-51, 53-62, 68-74]. Daha önceki çalışmalarımızda, sıçanlara LPS uygulanmasından 1 saat sonra OAB'nin ~ 30-40 mm/Hg kadar azaldığı, KH'nin ~ 50-90 atım/dakika kadar arttığı ve bu değişikliklerin 2., 3. ve 4. saatlerde anlamlı olarak değişmediği gözlenmiştir. Ayrıca, sıçanlara ve/veya farelere LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra MEK1, ERK1/2, iNOS veya COX-1/2 inhibitörü, RXR α agonisti ya da 20-HETE mimetik uygulandığında LPS'nin neden olduğu vasküler hiporeaktivite, hipotansiyon, taşikardi ve mortalitenin yanı sıra, 4. saatte alınan kandan ayrılan serum ile izole edilen kardiyovasküler ve renal dokularda pro-enflamatuvar/anti-enflamatuvar mediyatörlerin oluşumundaki değişiklikler önlenebilmektedir.

Literatürde önerilen tez konusunda, sıçanlardaki UT için antagonist olan urantit [130-132], palosuran [133] ve özellikle sıçana seçici bir antagonist olduğu bildirilen SB-710411 [130, 134-136] kullanılarak rodentlerde yapılan *in vivo* çalışmalardan elde edilen bulgular ise aşağıda özetlenmiştir:

(1) Farelerde LPS ile oluşturulan endotoksik şok modelinde, 43 ve 430 μ g/kg (intravenöz; i.v.) dozlarda uygulanan urantidin plazma IL-1 β , IL-3 ve IL-6 düzeyleri, böbrek ve karaciğerde NF- κ B ekspresyonundaki artma ile kardiyak işlev bozukluğunu önlemesinin yanı sıra, yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir [138].

(2) Farelerde LPS/D-galaktozamin ile oluşturulan akut karaciğer yetmezliği modelinde, 0.6 mg/kg (i.p.) dozda uygulanan urantidin serum ve karaciğerde U-II, TNF- α ile IL-1 β düzeyleri, karaciğerde U-II, UT, IL-1 β , TNF- α , IRF3 ve IFN- γ mRNA ekspresyonu, I κ B α fosforilasyonu ile NF- κ B'nin nükleer translokasyonu ile DNA'ya bağlanmasındaki artmayı önlemesinin yanı sıra, yaşam süresini uzattığı bildirilmiştir [114, 116, 118].

(3) Farelerde oluşturulan CLP yöntemiyle oluşturulan polimikrobiyal sepsis modelinde, 30 ve 100 mg/kg (i.p.) dozlarda uygulanan palosuranın akciğerde GPR14, IL-1 β , IL-6, TNF- α ve NF- κ B mRNA ekspresyonunun yanı sıra, MDA düzeyleri, vasküler konjesyon, ödem ve enflamatuvar hücre infiltrasyonundaki artmayı önlediği bildirilmiştir [139]. Aynı modelde yapılan bir başka çalışmada ise, urantit ve palosuran sırasıyla 1.2 mg/kg (i.p.) ve 100 mg/kg (i.p.) dozlarda uygulandıklarında,

akciğerde U-II, GPR14, IL-1 β , IL-6, TNF- α ve NF- κ B mRNA ekspresyonunun yanı sıra, ödem, alveolar duvar kalınlığı ve enflamatuvar hücre infiltrasyonundaki artmayı önlemişlerdir [140].

(4) Sıçanlarda LPS ile oluşturulan endotoksemi modelinde, önce 0.2 mg/kg (i.v.) sonra 1.2 mg/kg/saat (i.v.) dozlarda uygulanan urantidin OAB, KH ve renovasküler dirençteki artmayı önlemediği bildirilmiş olup, hipotansif olmayan endotoksemik sıçanlarda gözlenen renal anormalliklere UT'nin aracılık etmediği ileri sürülmüştür [141].

(5) Literatürde SB-710411 ile yapılan yalnızca iki *in vivo* çalışma bulunmaktadır. İlk olarak, Liu ve ark. [142] tarafından sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan siroz modelinde yapılan bir çalışmada, 1 μ g/kg (hipodermal) dozda uygulanan SB-710411'in plazma U-II düzeyleri ile karaciğerde U-II ve UT ekspresyonundaki artmayı önlediği gösterilmiştir. Luo ve ark. [136] tarafından sıçanlarda oluşturulan İ/R modelinde yapılan bir çalışmada ise, 1 ve 2 μ g/kg (i.v.) dozda uygulanan SB-710411'in OAB ve KH'de azalma gibi hemodinamik parametrelerdeki değişiklikleri, EKG'de ST segmentindeki yükselmeyi, serum LDH ve kreatin fosfokinaz-MB etkinlikleri, kardiyak troponin I düzeyleri ile RhoA etkinliği ve UT, ROCK1 ve ROCK2 protein ekspresyonundaki artmayı önlemesinin yanı sıra, miyokardiyal enfarkt büyüklüğünü, nekrozu, interstisyel ödemi ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Farelerde ve sıçanlarda LPS, LPS/D-galaktozamin ve CLP ile oluşturulan endotoksik şok, akut karaciğer yetmezliği, polimikrobiyal sepsis ve endotoksemi modellerinde, UT antagonistlerinden urantit ve palosuran ile çalışmalar yapılmış olmasına karşın, bu modellerde SB-710411 ile yapılmış olan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla, sıçanlara hangi dozda uygulandığında LPS'nin neden olduğu hipotansiyon, taşikardi ve mortalite üzerinde SB-710411'nin etkisinin ne yönde olabileceğine yönelik herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Öte yandan, daha önce **(1)** İ/R modelinde sıçanlara uygulanan SB-710411'nin OAB, KH, kardiyak UT protein ekspresyonu [136] ile **(2)** karbon tetraklorür ile oluşturulan siroz modelinde sıçanlara uygulanan SB-710411'nin plazma U-II düzeyleri [Liu ve ark.; 2009] üzerindeki etkileri dikkate alınarak gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, mortaliteye neden olmaksızın LPS ile oluşan hipotansiyon ve taşikardiyi istatistiksel olarak anlamlı biçimde önleyen en düşük etkili dozunu belirleme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar, farmakodinami araştırmalarında sıklıkla kullanılan kuvantal log-doz/yanıt ilişkilerinden yararlanılarak kümülatif normal eğri elde edilebilecek biçimdeki uygun dozlarda (0.0001, 0.001 ve 0.01 mg/kg) sıçanlara SB-710411 uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Dolayısıyla, doz belirleme çalışmaları aşağıda belirtilen gruplara ayrılan sıçanlarda yapılmıştır:

Grup 1: SF (4 ml/kg; i.p.) (kontrol grubu) (n= 6)

Grup 2: LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) (septik şok grubu) (n= 6)

Grup 3: SF (4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.01 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) (n= 6)

Grup 4: LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.0001 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) (n= 6)

Grup 5: LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.001 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) (n= 6)

Grup 6: LPS (10 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.)+SB-710411 (0.01 mg/kg; 4 ml/kg; i.p.) (n= 6)

Deneylerde kullanılacak sıçan sayısı güç analizi yapılarak belirlenmiştir. Bu modelde incelenen başlıca değişken olan OAB'deki kontrol ve LPS grupları arasında klinik olarak anlamlı olabilecek azalma miktarı en az 30 mmHg olarak alındığında [10, 48-51, 53-62, 70-73, 315, 316], her bir grup için gerekli olan en az sıçan sayısı 6 olarak belirlenmiştir. Bu durumda tip 1 hata (α) 0.05, tip 2 hata (β) 0.00000 ve testin gücü ($1-\beta$) 1.00 olarak hesaplanmıştır.

LPS ve SB-710411 SF içinde hazırlanmıştır. Daha önceki çalışmalarımızda olduğu gibi [48-51, 53-62, 68-74], bu tez çalışmasında da sıçanlara uygulanan maddelerin kalp debisi ve toplam periferik damar direnci ile sistolik ve diyastolik kan basınçlarında neden olabileceği değişikliklerin göstergeleri olarak OAB ve KH değerleri ölçülmüştür. OAB ve KH'nin kaydı için, sıçanların kuyruğundan ölçüm yapılmasına olanak veren kan basıncı kayıt sistemi kullanılmıştır. Sıçanlara SF veya LPS enjeksiyonundan önce ve 1, 2, 3 ve 4 saat sonra OAB ile KH kayıtları alınmıştır. En düşük etkili dozun belirlenmesi çalışmalarında ise, SF veya LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra SB-710411 0.0001, 0.001 veya 0.01 mg/kg dozda uygulanmıştır. Ayrıca, yapılan bu çalışmalar süresince mortalite gözlenmiştir.

3.2.1.2. Kan Alınması, TA, RA, Kalp ve Böbrek İzolasyonu, Serum ile Doku Örneklerinin Hazırlanması

SF veya LPS enjeksiyonundan 4 saat sonra OAB ve KH ölçümlerinin alınmasının ardından, ketamin (90 mg/kg; 0.9 ml/kg; i.p.)+ksilazin (7 mg/kg; 0.35 ml/kg; i.p.) ile anestezi edilen sıçanların *vena cava caudalis*'inden kan alınmış, TA, RA, kalp ve böbrek izole edilmiştir. Sıçanların ötanazisi anestezi altında eksanguinasyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzole edilen TA, RA, kalp ve böbrek mRNA izolasyonu ve RT-PCR çalışmalarında kullanılmak üzere sıvı azot içinde hızla dondurulmuştur [48, 71]. U-II ve nitrit düzeylerinin ölçülmesi amacıyla kullanılan serum örnekleri ise, kanların oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra cam bir baget ile defibrinize edilmelerinin ardından, 23.910 x g'de 15 dakika 4°C'de santrifüj edilerek hazırlanmıştır [70]. Doku ve serum örnekleri -80°C'de dondurularak saklanmıştır.

3.2.2. Ex Vivo Çalışmalar

3.2.2.1. Serum U-II ve Nitrit Düzeylerinin Ölçülmesi

Serumlarda sistemik U-II oluşumunun göstergesi olarak U-II düzeyi *Rat Urotensin II (UII) ELISA Kit* kullanılarak ölçülmüştür. Sistemik NO oluşumunun bir göstergesi olarak NO'nun dayanıklı metabolitlerinden biri olan serum nitrit düzeyinin ölçülmesi için, nitrit iyonlarına duyarlı olan Griess tepkimesi temeline dayanan diazotizasyon yöntemi kullanılmıştır [49, 51, 53-56, 61, 69, 70, 317]. Standart olarak kullanılan sodyum nitritin 2 mM (0.0014 g/10 ml) derişimdeki distile su ile hazırlanan stok çözeltisinden, yine distile su ile 1 ml hacimde dizi dilüsyonları (0.25-5 µM) hazırlanmıştır. Fosforik asit (distile su içinde %2.5), SA (%1) ve NED (%0.1) çözeltilerinin hazırlanması için kullanılmıştır. Standart çözeltilerden veya serumlardan alınan 50 µl örnek, 25 µl SA ve 25 µl NED çözeltileri ile düz tabanlı 96 kuyucuklu kültür plağında karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 10 dakika bekleyen örneklerin verdikleri absorbanslar, kültür plağı okuyucuda 550 nm'de okunmuştur. Sodyum nitrit miktarlarına karşı elde edilen absorbans değerleri kullanılarak, doğrusal regresyon yöntemi ile, kalibrasyon doğru denklemleri belirlenmiştir. Bu denklemlerden yararlanılarak, örneklerde okunan absorbans değerlerinden nitrit düzeyleri hesaplanmıştır.

3.2.2.2. TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında mRNA İzolasyonu ve RT-PCR Çalışmalarının Yapılması

Dondurulmuş dokular porselen havanlarda sıvı azot kullanılarak toz biçimine getirilmişlerdir. Doku tozlarından mRNA izolasyonu, cDNA sentezi ile PCR amplifikasyonu *PolyATtract System 1000*, Ters Transkripsiyon Sistemi ve RT-PCR Ekspresyon Kiti kullanılarak üretici firmaların önerdiği protokole göre yapılmıştır. U-II [318], GPR14 [318], TLR4 [319], MyD88 [319], NF-κB [319], iNOS [48, 71], IL-1β [320], α-düz kas aktini [48], α-iskelet kası aktini [48, 71] ve/veya β-aktin [48, 71] mRNA ekspresyonlarının ölçülmesinde özgül oligonükleotit dizileri ve termal döngü parametreleri Tablo 3.1.'de özetlenmiştir. Her bir primer için seçilen optimum tepkime koşulları, 2.5 µl cDNA karışımının üzerine bir *master mix* (10 mM *dNTP mixture* [0.5 µl], 25 mM MgCl₂ [1.9 µl], 0.6 U ters transkripsiyon tamponu [*reverse transcription 10X buffer*; 100 mM Tris-HCl, pH 9.0], 500 mM KCl ve %1 Triton X-100) (2.5 µl), 0.6 U Taq DNA polimeraz (0.12 µl), 5 pmol *forward* ve *reverse* primerler (0.5 µl) ve nükleazsız su (16.48 µl) eklenerek sağlanmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jele yüklenmelerinin ardından elektroforez işlemi uygulanmıştır. Bir erlende 1.2 g agaroz 120 ml (%1) 1X tris-borik asit-EDTA (TBE) çözeltisi (10X TBE çözeltisi: Tris-baz [0.5 M] 60.5 g, borik asit [0.5 M] 31 g, EDTA [10 mM] 3.7 g; toplam hacim 1.000 ml olacak biçimde distile su) içerisinde mikrodalga fırında homojen ve şeffaf duruma

gelinceye dek eritildikten ve soğuduktan sonra jeldeki son derişimi 0.08 µg/ml olacak biçimde 1 µl etidiyum bromit çözeltisi (10 mg/ml) eklenmiştir. Daha sonra jel, tarakların yerleştirildiği jel tepsisine dökülmüştür. Katılaşana dek (~ 25-30 dakika) oda sıcaklığında bekletilen jel elektroforez tankına yerleştirildikten sonra, tankın içi jelin üzerine örtecek biçimde 1X TBE ile doldurulmuştur. Seyretilmiş DNA *ladder* çözeltisinden (0.5 µl DNA *ladder*, 3.5 µl nükleazsız su ve kendine ait yükleme tampon çözeltisi) 5 µl ve RT-PCR ürünü karışımından (20 µl RT-PCR ürünü ve 5 µl yükleme tampon çözeltisi [%20 sukroz ve %0.25 bromfenol mavisini olacak biçimde 2 g sukroz, 0.025 g bromfenol mavisini ve 10 ml 1X TBE çözeltisi]) 20 µl alınarak jelde açılan kuyulara eklenmiştir. Örnekler 140 mA sabit akımda (voltaj 400 V) ~ 2 saat boyunca jelde yürütölmüşlerdir. Yükleme tampon çözeltisinde bulunan bromfenol mavisinin göçü izlenerek jelin 2/3'lük kısmına ulaştığında elektroforez durdurulmuştur. Tanktan çıkarılan jel, jel dökümentasyon ve analiz sistemi üzerindeki SYBR Green *filtresi* seçeneği ile görüntölenerek UV-translüminatörü üzerindeki yeri ayarlanmış, Ethidium Bromide *filtresi* ve Overhead Light 365 nm ile UV-translüminatörü üzerindeki 302 nm seçeneği seçilerek görüntölenmiştir. Görüntülerin fotoğrafları hemen ve 1-12 saniye süreyle (bantlar boya ile kapanmaya başlayıncaya dek) çekilmiştir. Agaroz jelde yürütölen DNA'ların uzunlukları, büyüklükleri belli DNA parçalarını içeren moleküler ağırlık standardı ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Her bir oligonükleotit çifti için tasarlanan tepkime koşulları ve termal döngü parametrelerinde Tablo 3.1.'de belirtilen uzunluklardaki PCR ürünleri araştırılmış ve bantların yoğunluk analizi bir yazılım programı (NIH *image software*; ImageJ 1.54g, Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) kullanılarak yapılmıştır. Bantların yoğunlukları, her bir dokuda ekspresyonu ölçölen ilgili aktininkine oranlanarak hesaplanmıştır.

3.2.2.3. Verilerin Analizi ve Sonuçların Yorumlanması

Sonuçlar ortalama±ortalamaların standart hatası olarak gösterilmiştir. Kullanılan sıçan sayısı *n* ile ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Bartlett testi ile değeriendirilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu göz önünde bulundurularak, gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırmalar ise tek yönlü varyans analizi (*analysis of variance*; ANOVA) ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi ya da Kruskal-Wallis testi ve ardından Dunn çoklu karşılaştırmalar testi kullanılarak yapılmıştır. İstatiksel olarak 0.05'ten küçük *P* değeri anamlı kabul edilmiştir.

Tablo 3.1. α -Düz kas aktini, α -iskelet kası aktini, β -aktin, U-II, GPR14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS ve IL-1 β mRNA ekspresyonunun ölçülmesinde kullanılan oligonükleotit dizileri ve termal döngü parametreleri.

Oligonükleotit Dizileri	Termal Döngü Parametreleri	PCR Ürün Büyüklüğü (bp)
α-Düz kas aktini - TA ve RA		
Forward: 5'-GAC ACC AGG GAG TGA TGG TT-3' Reverse: 5'-GTT AGC AAG GTC GGA TGC TC-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>25 döngü:</u> 95°C'de 20 saniye (denatürasyon) 60°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 30 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	202
α-İskelet kası aktini - Kalp		
Forward: 5'-CTC TCT CTC CTC AGG ACG ACA ATC-3' Reverse: 5'-CAG AAT GGC TGG CTT TAA TGC TTC-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>40 döngü</u> 95°C'de 15 saniye denatürasyon 56°C'de 15 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 dakika (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	243
β-Aktin - Böbrek		
Forward: 5'-TCA TGA AGT GTG ACG TTG ACA TCC GT-3' Reverse: 5'-CCT AGA AGC ATT TGC GGT GCA CGA TG-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>35 döngü:</u> 94°C'de 15 saniye (denatürasyon) 55°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 1 dakika (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	423

Tablo 3.1. (devamı) α -Düz kas aktini, α -iskelet kası aktini, β -aktin, U-II, GPR14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS ve IL-1 β mRNA ekspresyonunun ölçülmesinde kullanılan oligonükleotit dizileri ve termal döngü parametreleri.

Oligonükleotit Dizileri	Termal Döngü Parametreleri	PCR Ürün Büyüklüğü (bp)
U-II - TA, RA, kalp ve böbrek		
Forward: 5'-TGC CTG CTC TTC GTA GGA CT-3' Reverse: 5'-AGA GCC TTC CTC AAG CTT-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>25 döngü:</u> 94°C'de 30 saniye (denatürasyon) 53°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	242
GPR14 - TA, RA, kalp ve böbrek		
Forward: 5'-TCT GAG CCT GGA GTC TAC AAC AAG CT-3' Reverse: 5'-CCA AAG TGC CAG TCC TTA GTG ACG T-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>25 döngü:</u> 94°C'de 30 saniye (denatürasyon) 53°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	351
TLR4 - TA, RA, kalp ve böbrek		
Forward: 5'-GTG GAA GTT GAA CGA ATG GA-3' Reverse: 5'-TGG ATG ATG TTG GCA GCA-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>30 döngü:</u> 94°C'de 30 saniye (denatürasyon) 53°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	391

Tablo 3.1. (devamı) α -Düz kas aktini, α -iskelet kası aktini, β -aktin, U-II, GPR14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS ve IL-1 β mRNA ekspresyonunun ölçülmesinde kullanılan oligonükleotit dizileri ve termal döngü parametreleri.

Oligonükleotit Dizileri	Termal Döngü Parametreleri	PCR Ürün Büyüklüğü (bp)
MyD88 - TA, RA, kalp ve böbrek		
Forward: 5'-TCG CGC ATC GGA CAA ACG-3' Reverse: 5'-GCA ATG GAC CAG ACA CAG GT-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>30 döngü:</u> 94°C'de 30 saniye (denatürasyon) 53°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	228
NF-κB - TA, RA, kalp ve böbrek		
Forward: 5'-AGT TGA GGG GAC TTT CCC AGG C-3' Reverse: 5'-GAT TCG AGT ATT AGT TCA TGG A-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>30 döngü:</u> 94°C'de 30 saniye (denatürasyon) 53°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	132
iNOS - TA, RA, kalp ve böbrek		
Forward: 5'-ACC TAC TTC CTG GAC ATC AC-3' Reverse: 5'-ACC CAA ACA CCA AGG TCA TG-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>30 döngü:</u> 94°C'de 30 saniye (denatürasyon) 53°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	338

Tablo 3.1. (devamı) α -Düz kas aktini, α -iskelet kası aktini, β -aktin, U-II, GPR14, TLR4, MyD88, NF- κ B, iNOS ve IL-1 β mRNA ekspresyonunun ölçülmesinde kullanılan oligonükleotit dizileri ve termal döngü parametreleri.

Oligonükleotit Dizileri	Termal Döngü Parametreleri	PCR Ürün Büyüklüğü (bp)
IL-1β - TA, RA, kalp ve böbrek		
Forward: 5'-GGC AAC TGT CCC TGA ACT CAA C-3' Reverse: 5'-AAG CTC CAC GGG CAA GAC ATA-3'	94°C'de 5 dakika (ön ısıtma) <u>30 döngü:</u> 94°C'de 30 saniye (denatürasyon) 53°C'de 30 saniye (bağlanma) 72°C'de 45 saniye (uzama) <u>1 döngü:</u> 72°C'de 10 dakika (son uzama) 4°C'de saklama	519

bp, Baz çifti (base pair); GPR, G proteini reseptörü (G protein receptor); IL, interlökin (interleukin); iNOS, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase); mRNA, ulak ribonükleik asit (messenger ribonucleic acid); MyD, miyeloid farklılaşma birincil yanıt proteini (myeloid differentiation primary response protein); NF, nükleer faktör (nuclear factor); PCR, polimeraz zincir tepkimesi (polymerase chain reaction); RA, renal arter; TA, torasik aort; TLR, toll benzeri reseptör (toll-like receptor); U, ürotensin (urotensin).

4. BULGULAR

4.1. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların OAB ve KH Değerleri Üzerinde SB-710411'in Etkisi

Sıçanlara SF ve/veya LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra uygulanan SB-710411 ile OAB ve KH değerlerinde oluşan değişikliklere ilişkin bulgular Tablo 4.1. ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Sıçanlara SF enjeksiyonundan sonraki 1., 2., 3. ve 4. saatlerde OAB ve KH değerlerinde değişiklik gözlenmemiştir ($P > 0.05$). Sıçanlara LPS uygulanmasından 1 saat sonra ise, OAB 44 mm/Hg azalmış ($P < 0.05$), KH 130 atım/dakika artmış ($P < 0.05$) olup, 1. saatte gözlenen bu değişiklikler 2., 3. ve 4. saatlerde farklı bulunmamıştır ($P > 0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise, LPS enjeksiyonundan sonra 1., 2., 3. ve 4. saatlerde ölçülen OAB değerleri azalmış, KH değerleri artmıştır ($P < 0.05$).

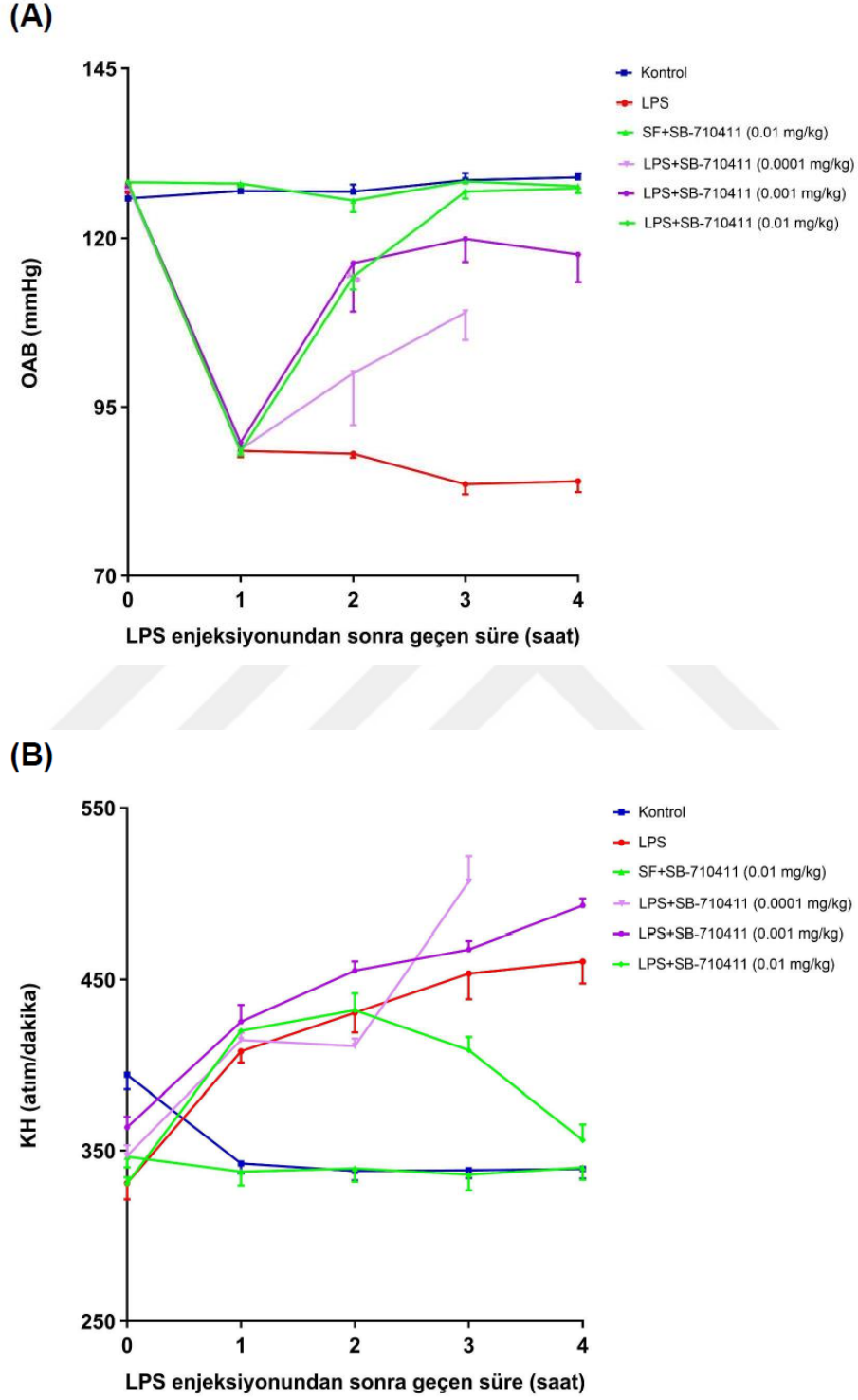
LPS ile birlikte 0.0001 mg/kg dozdaki etkisi araştırılan SB-710411 uygulanan grup kendi içinde karşılaştırıldığında, LPS'nin neden olduğu 3. saatte gözlenen OAB değerlerindeki azalmayı önlemesine karşın ($P < 0.05$), 4. saatte sıçanlardan 5'i ölmüş olup, kalan 1 sıçandan da OAB ve KH kaydı alınamamıştır. LPS+SB-710411 grubu ile LPS uygulanan grup karşılaştırıldığında, LPS enjeksiyonundan 3 saat sonra OAB değerlerindeki azalmanın SB-710411 ile önlenmesine karşın ($P < 0.05$), KH değerlerindeki artmanın önlenmediği bulunmuştur ($P > 0.05$). LPS+SB-710411 uygulanan grup ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SF veya LPS enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra OAB değerlerinin düşük, KH değerlerinin ise yüksek olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$).

LPS ile birlikte 0.001 mg/kg dozdaki etkisi araştırılan SB-710411 uygulanan grup kendi içinde karşılaştırıldığında, LPS enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra OAB değerlerindeki azalmanın önlendiği ($P < 0.05$), ancak KH değerlerindeki artmanın önlenmediği gözlenmiştir ($P > 0.05$). LPS+SB-710411 grubu ile LPS uygulanan grup karşılaştırıldığında, LPS enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra OAB değerlerindeki azalmanın SB-710411 ile önlendiği ($P < 0.05$), ancak KH değerlerindeki artmanın önlenmediği bulunmuştur ($P > 0.05$). LPS+SB-710411 uygulanan grup ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SF veya LPS enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra OAB değerlerinin farklı olmadığı ($P > 0.05$), ancak KH değerlerinin yüksek olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$).

Tablo 4.1. Kontrol ve endotoksemik sıçanların OAB ve KH değerleri üzerinde SB-710411'nin etkisi.

	LPS enjeksiyonundan sonra geçen süre (saat)				
	0	1	2	3	4
Kontrol					
OAB	125.90 ± 0.90 (n= 6)	127.00 ± 0.86 (n= 6)	126.90 ± 1.05 (n= 6)	128.60 ± 1.04 (n= 6)	129.00 ± 0.60 (n= 6)
KH	349.20 ± 8.42 (n= 6)	342.50 ± 5.89 (n= 6)	338.10 ± 5.56 (n= 6)	338.50 ± 4.56 (n= 6)	339.30 ± 5.73 (n= 6)
LPS					
OAB	127.90 ± 1.18 (n= 6)	88.50 ± 0.94 (n= 6)**	88.06 ± 0.59 (n= 6)**	83.56 ± 1.51 (n= 6)**	84.00 ± 1.60 (n= 6)**
KH	330.90 ± 9.46 (n= 6)	407.90 ± 6.57 (n= 6)**	430.50 ± 11.55 (n= 6)**	453.50 ± 15.05 (n= 6)**	460.50 ± 12.82 (n= 6)**
SB-710411 (0.01 mg/kg)					
OAB	128.30 ± 0.35 (n= 6)	128.10 ± 0.45 (n= 6)	125.6 ± 1.72 (n= 6)	128.40 ± 0.36 (n= 6)	127.70 ± 0.32 (n= 6)
KH	346.40 ± 6.25 (n= 6)	337.70 ± 8.14 (n= 6)	339.60 ± 7.77 (n= 6)	335.90 ± 9.17 (n= 6)	340.10 ± 7.19 (n= 6)
LPS+SB-710411 (0.0001 mg/kg)					
OAB	127.80 ± 0.57 (n= 6)	88.72 ± 0.51 (n= 6)**	100.00 ± 7.68 (n= 5)**	109.00 ± 4.07 (n= 5)*#*	---
KH	346.90 ± 6.22 (n= 6)	414.50 ± 4.33 (n= 6)**	411.00 ± 18.05 (n= 5)**	506.80 ± 14.97 (n= 5)**§	---
LPS+SB-710411 (0.001 mg/kg)					
OAB	128.20 ± 0.64 (n= 6)	89.72 ± 0.58 (n= 6)**	116.30 ± 7.17 (n= 6)#*	119.90 ± 3.43 (n= 6)#*	117.60 ± 4.11 (n= 6)#*
KH	363.60 ± 6.16 (n= 6)	425.20 ± 9.88 (n= 6)**	455.20 ± 5.37 (n= 6)**	467.50 ± 4.97 (n= 6)**	492.80 ± 4.07 (n= 6)**§
LPS+SB-710411 (0.01 mg/kg)					
OAB	128.30 ± 0.37 (n= 6)	88.44 ± 0.58 (n= 6)**	114.30 ± 1.91 (n= 6)*#*	126.90 ± 1.05 (n= 6)*#§	127.40 ± 0.71 (n= 6)*#§
KH	330.70 ± 3.63 (n= 6)	419.90 ± 1.29 (n= 6)**	432.00 ± 9.96 (n= 6)**	408.60 ± 9.75 (n= 6)*#§	356.10 ± 9.10 (n= 6)#*§

* Kontrol ve # LPS grupları ile gruplar kendi içinde karşılaştırıldıklarında * 0., * 1., § 2. ve # 3. saat değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi ya da ya da Kruskal-Wallis testi ve ardından Dunn çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.1. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) OAB ve (B) KH değerleri üzerinde SB-710411'nin etkisi. Gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar Tablo 4.1.'de belirtilmiştir.

LPS ile birlikte 0.01 mg/kg dozdaki etkisi araştırılan SB-710411 uygulanan grup kendi içinde karşılaştırıldığında, LPS enjeksiyonundan 3 ve 4 saat sonra OAB değerlerindeki azalma ile 4 saat sonra KH değerlerindeki artmanın önlenildiği gözlenmiştir ($P < 0.05$). LPS+SB-710411 grubu ile LPS uygulanan grup karşılaştırıldığında, LPS enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra OAB değerlerindeki azalma ile 3 ve 4 saat sonra KH değerlerindeki artmanın SB-710411 ile önlenildiği bulunmuştur ($P < 0.05$). LPS+SB-710411 uygulanan grup ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, SF veya LPS enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra OAB ile 4 saat sonraki KH değerlerinin farklı olmadığı gözlenmiştir ($P > 0.05$). SF+SB-710411 (0.01 mg/kg) uygulanan grupta ölçülen OAB ve KH değerlerinin ise, gerek grup kendi içinde gerekse kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, farklı olmadığı bulunmuştur ($P > 0.05$). Dolayısıyla, SB-710411'in etkili olan en düşük dozu 0.01 mg/kg ile *ex vivo* çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Bu bulgular, LPS enjeksiyonundan 1 saat sonra oluşan hipotansiyon ve taşikardiye UT'nin katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımız, ayrıca, SB-710411'in, sıçanlara en düşük etkili dozu olan 0.01 mg/kg dozda uygulandığında, LPS'nin neden olduğu hipotansiyon ve taşikardiyi, mortaliteye neden olmaksızın, önlediğini göstermektedir.

4.2. SF ve/veya LPS ile Birlikte SB-710411 Uygulanan Sıçanlardan İzole Edilen TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen α -Düz Kas Aktini, α -İskelet Kası Aktini ve β -Aktin mRNA Ekspresyonu

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlardan izole edilen TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen α -düz kas aktini, α -iskelet kası aktini ve β -aktin mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Sıçanlara SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanmasından 4 saat sonra dokularda ölçülen α -düz kas aktini, α -iskelet kası aktini ve β -aktin mRNA ekspresyonu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Bulgularımıza göre, sıçanlara SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanmasından 4 saat sonra arteriyel, kardiyak ve renal dokularda α -düz kas aktini, α -iskelet kası aktini ve β -aktin mRNA ekspresyonu değişmemektedir.

Tablo 4.2. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen α -düz kas aktini, α -iskelet kası aktini ve β -aktin mRNA ekspresyonu.

α-Düz kas aktini, α-iskelet kası aktini ve β-aktin mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk)	
TA α-düz kas aktini	
Kontrol	211003.00 $\pm$ 18.29 (n= 4)
LPS	211002.00 $\pm$ 26.99 (n= 4)
SB-710411	211019.00 $\pm$ 14.42 (n= 4)
LPS+SB-710411	211010.00 $\pm$ 22.64 (n= 4)
RA α-düz kas aktini	
Kontrol	211053.00 $\pm$ 5.15 (n= 4)
LPS	211057.00 $\pm$ 4.40 (n= 4)
SB-710411	211067.00 $\pm$ 3.45 (n= 4)
LPS+SB-710411	211047.00 $\pm$ 12.93 (n= 4)
Kalp α-iskelet kası aktini	
Kontrol	211059.00 $\pm$ 7.58 (n= 4)
LPS	211056.00 $\pm$ 13.52 (n= 4)
SB-710411	211061.00 $\pm$ 23.50 (n= 4)
LPS+SB-710411	211062.00 $\pm$ 15.14 (n= 4)
Böbrek β-aktin	
Kontrol	156653.00 $\pm$ 6.85 (n= 4)
LPS	156650.00 $\pm$ 10.20 (n= 4)
SB-710411	156643.00 $\pm$ 10.43 (n= 4)
LPS+SB-710411	156643.00 $\pm$ 5.91 (n= 4)

4.3. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların Serumlarında Ölçülen U-II Düzeyleri ile TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen U-II mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanların serumlarında ölçülen U-II düzeyleri ile TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen U-II mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.3. ve Tablo 4.4. ile Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.'te verilmiştir.

Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra serum U-II düzeyi ile doku U-II mRNA ekspresyonu artmıştır ($P < 0.05$). SB-710411, LPS'nin neden olduğu serum U-II düzeyi ile doku U-II mRNA ekspresyonundaki artmayı önlemiştir ($P < 0.05$). SF ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlarda serum U-II düzeyi ile doku U-II mRNA ekspresyonu değerleri kontrol grubu değerlerinden farklı değildir ($P > 0.05$).

Bu bulgular, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra serum U-II düzeyi ile arteriyel, kardiyak ve renal dokularda U-II mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, SB-710411, LPS'nin neden olduğu serum U-II düzeyi ile arteriyel, kardiyak ve renal dokularda U-II mRNA ekspresyonundaki artmayı önleyebilmektedir.

Tablo 4.3. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen U-II düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi.

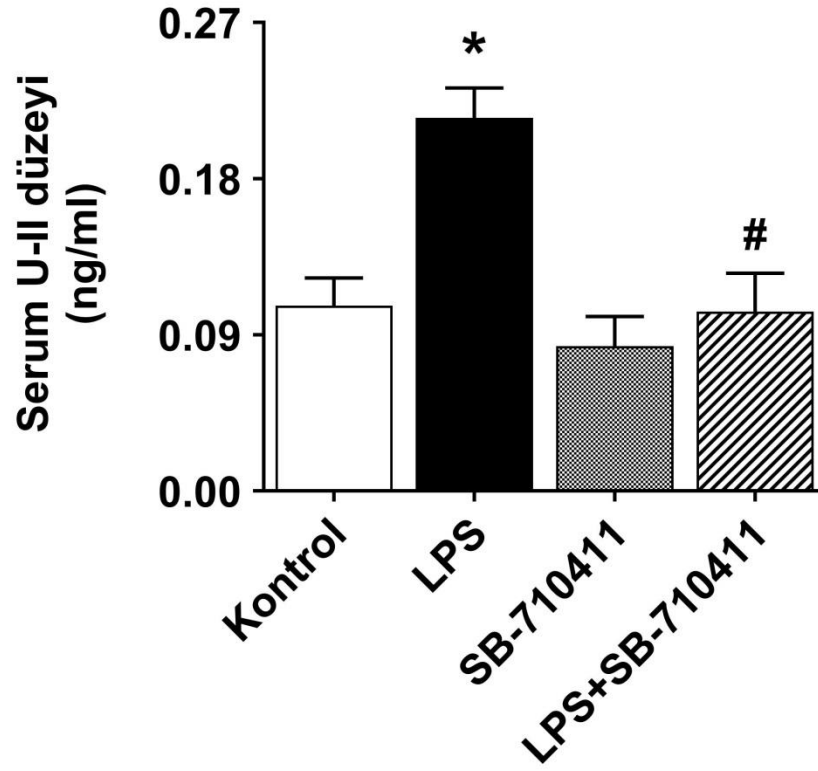
	U-II düzeyi (ng/ml)
Kontrol	0.107 ± 0.016 (n= 6)
LPS	0.215 ± 0.017 (n= 6)*
SB-710411	0.083 ± 0.017 (n= 6)
LPS+SB-710411	0.103 ± 0.022 (n= 6)#

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

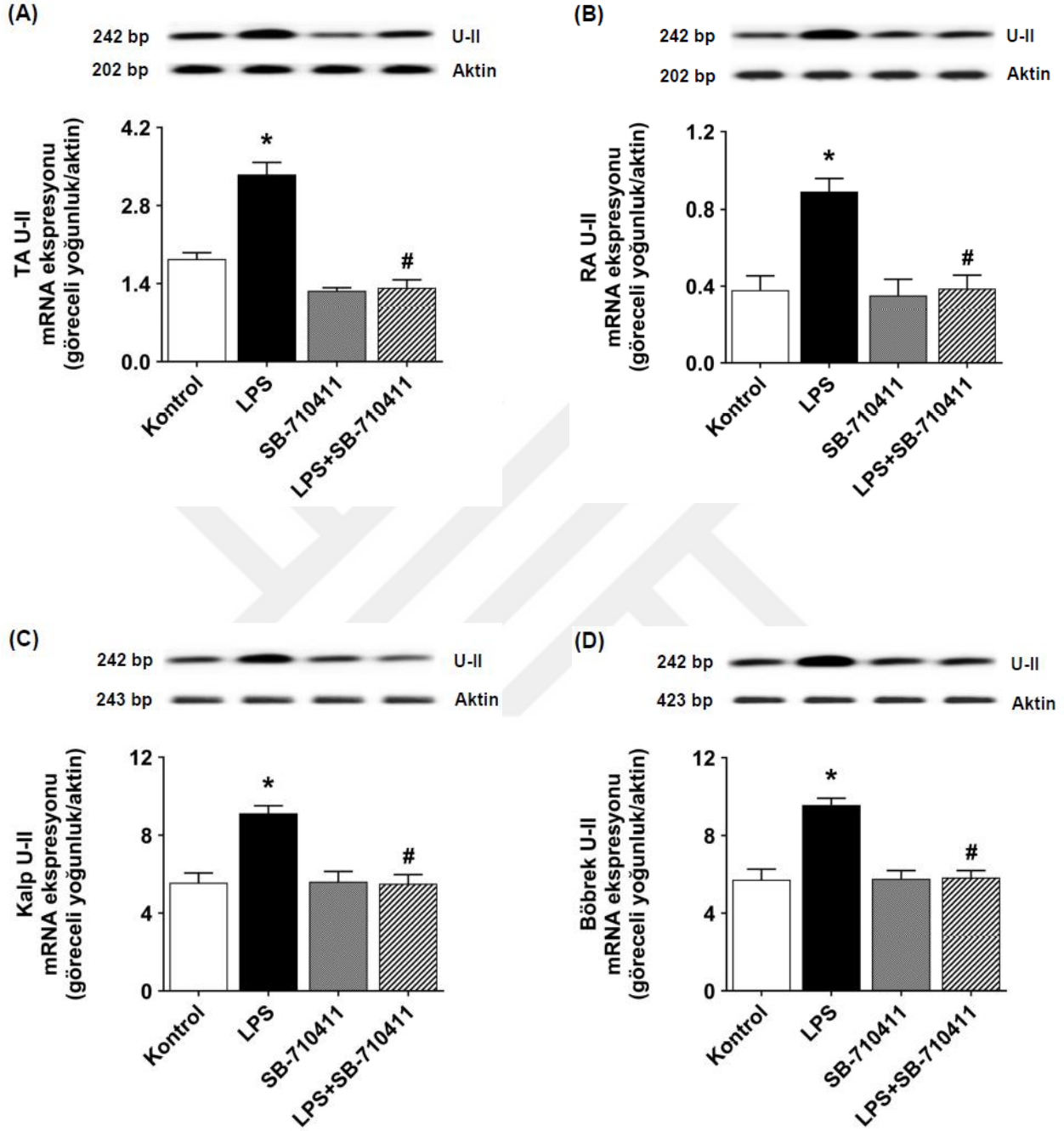
Tablo 4.4. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen U-II mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi.

U-II mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	
TA	
Kontrol	1.84 ± 0.11 (n= 4)
LPS	3.36 ± 0.22 (n= 4)*
SB-710411	1.27 ± 0.05 (n= 4)
LPS+SB-710411	1.33 ± 0.14 (n= 4)#
RA	
Kontrol	0.38 ± 0.07 (n= 4)
LPS	0.89 ± 0.07 (n= 4)*
SB-710411	0.35 ± 0.08 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.39 ± 0.07 (n= 4)#
Kalp	
Kontrol	5.56 ± 0.50 (n= 4)
LPS	9.12 ± 0.39 (n= 4)*
SB-710411	5.61 ± 0.05 (n= 4)
LPS+SB-710411	5.51 ± 0.46 (n= 4)#
Böbrek	
Kontrol	5.72 ± 0.55 (n= 4)
LPS	9.57 ± 0.35 (n= 4)*
SB-710411	5.78 ± 0.41 (n= 4)
LPS+SB-710411	5.83 ± 0.36 (n= 4)#

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.2. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen U-II düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.3. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen U-II mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

4.4. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen GPR14 mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen GPR14 mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.5. ve Şekil 4.4.'te verilmiştir.

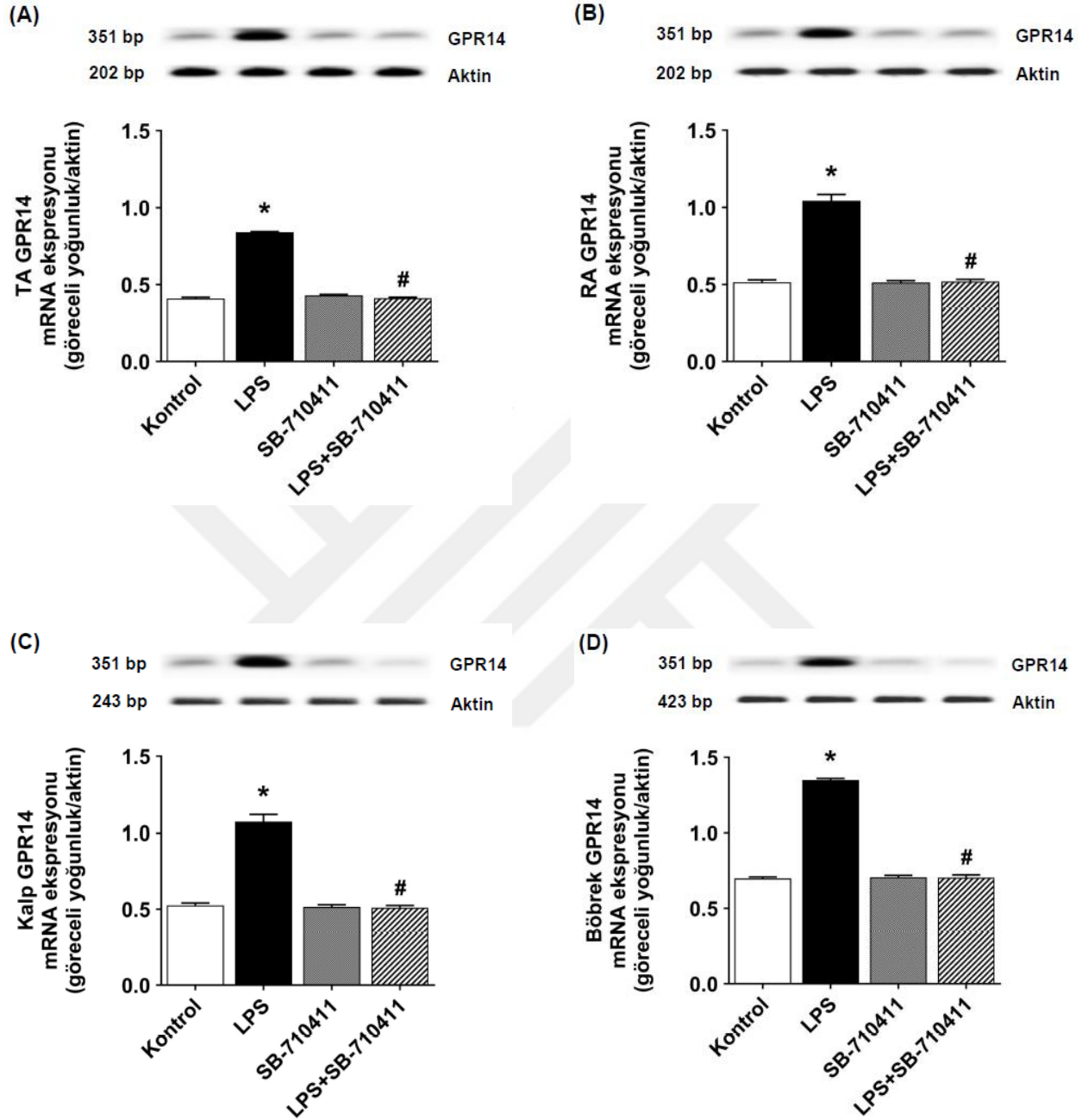
Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra doku GPR14 mRNA ekspresyonu artmıştır ($P < 0.05$). SB-710411, LPS'nin neden olduğu doku GPR14 mRNA ekspresyonundaki artmayı önlemiştir ($P < 0.05$). SF ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlarda doku GPR14 mRNA ekspresyonu değerleri kontrol grubu değerlerinden farklı değildir ($P > 0.05$).

Bu bulgular, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra arteriyel, kardiyak ve renal dokularda GPR14 mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, SB-710411, LPS'nin arteriyel, kardiyak ve renal dokularda neden olduğu GPR14 mRNA ekspresyonundaki artmayı önleyebilmektedir.

Tablo 4.5. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen GPR14 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi.

GPR14 mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	
TA	
Kontrol	0.41 ± 0.01 (n= 4)
LPS	0.85 ± 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.43 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.41 ± 0.01 (n= 4)#
RA	
Kontrol	0.52 ± 0.01 (n= 4)
LPS	1.04 ± 0.04 (n= 4)*
SB-710411	0.51 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.52 ± 0.01 (n= 4)#
Kalp	
Kontrol	0.53 ± 0.02 (n= 4)
LPS	1.07 ± 0.05 (n= 4)*
SB-710411	0.52 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.51 ± 0.02 (n= 4)#
Böbrek	
Kontrol	0.70 ± 0.01 (n= 4)
LPS	1.35 ± 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.71 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.70 ± 0.02 (n= 4)#

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.4. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen GPR14 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

4.5. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen TLR4 mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen TLR4 mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.6. ve Şekil 4.5.'te verilmiştir.

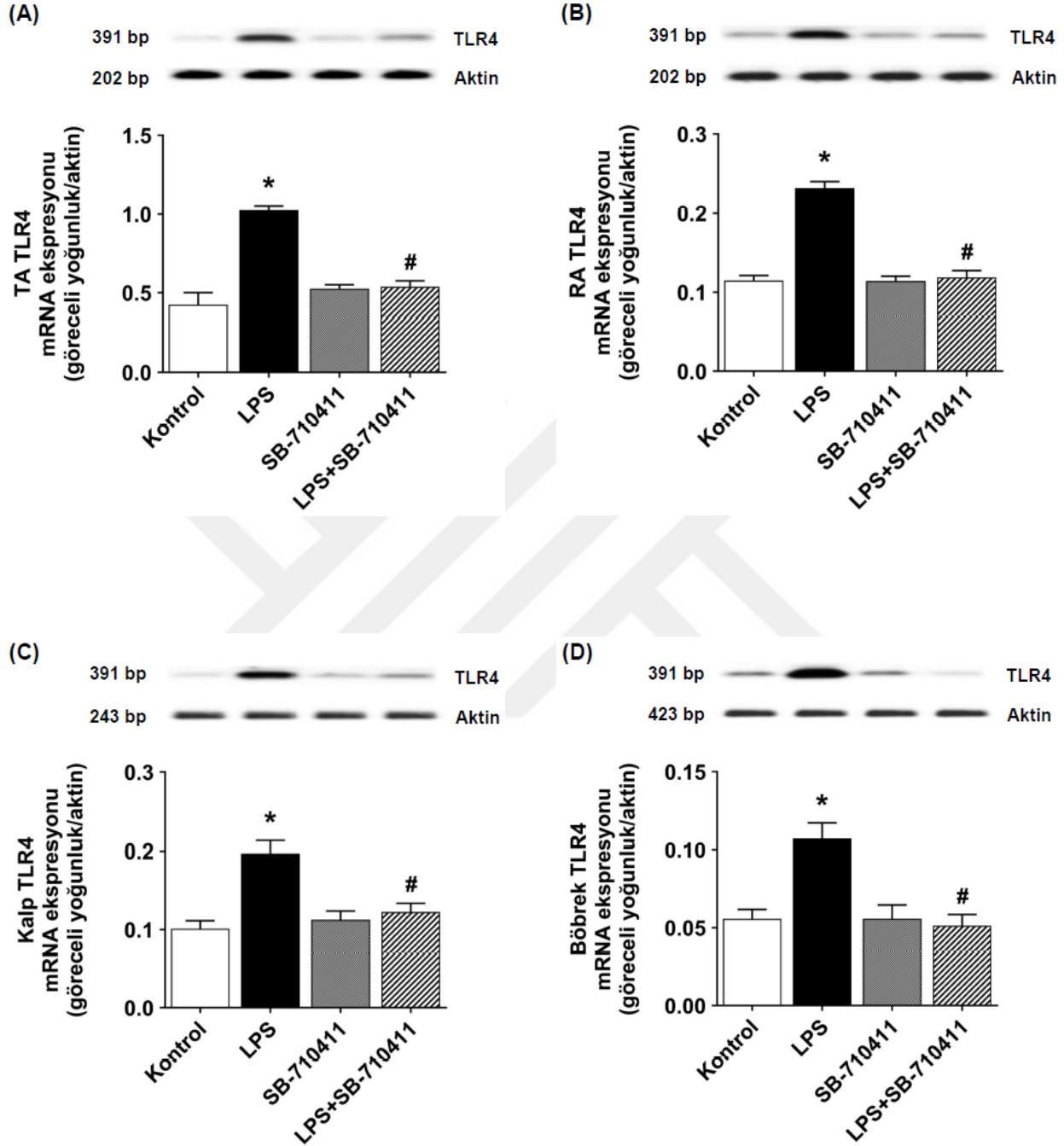
Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra doku TLR4 mRNA ekspresyonu artmıştır ($P < 0.05$). SB-710411, LPS'nin neden olduğu doku TLR4 mRNA ekspresyonundaki artmayı önlemiştir ($P < 0.05$). SF ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlarda doku TLR4 mRNA ekspresyonu değerleri kontrol grubu değerlerinden farklı değildir ($P > 0.05$).

Bu bulgular, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra arteriyel, kardiyak ve renal dokularda TLR4 mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, SB-710411, LPS'nin arteriyel, kardiyak ve renal dokularda neden olduğu TLR4 mRNA ekspresyonundaki artmayı önleyebilmektedir.

Tablo 4.6. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen TLR4 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi.

TLR4 mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	
TA	
Kontrol	0.42 ± 0.08 (n= 4)
LPS	1.03 ± 0.03 (n= 4)*
SB-710411	0.53 ± 0.03 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.54 ± 0.04 (n= 4)#
RA	
Kontrol	0.12 ± 0.01 (n= 4)
LPS	0.23 ± 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.11 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.12 ± 0.01 (n= 4)#
Kalp	
Kontrol	0.10 ± 0.01 (n= 4)
LPS	0.20 ± 0.02 (n= 4)*
SB-710411	0.11 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.12 ± 0.01 (n= 4)#
Böbrek	
Kontrol	0.06±0.01 (n= 4)
LPS	0.11±0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.06±0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.05±0.01 (n= 4)#

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.5. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen TLR4 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

4.6. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen MyD88 mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen MyD88 mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.7. ve Şekil 4.6.'da verilmiştir.

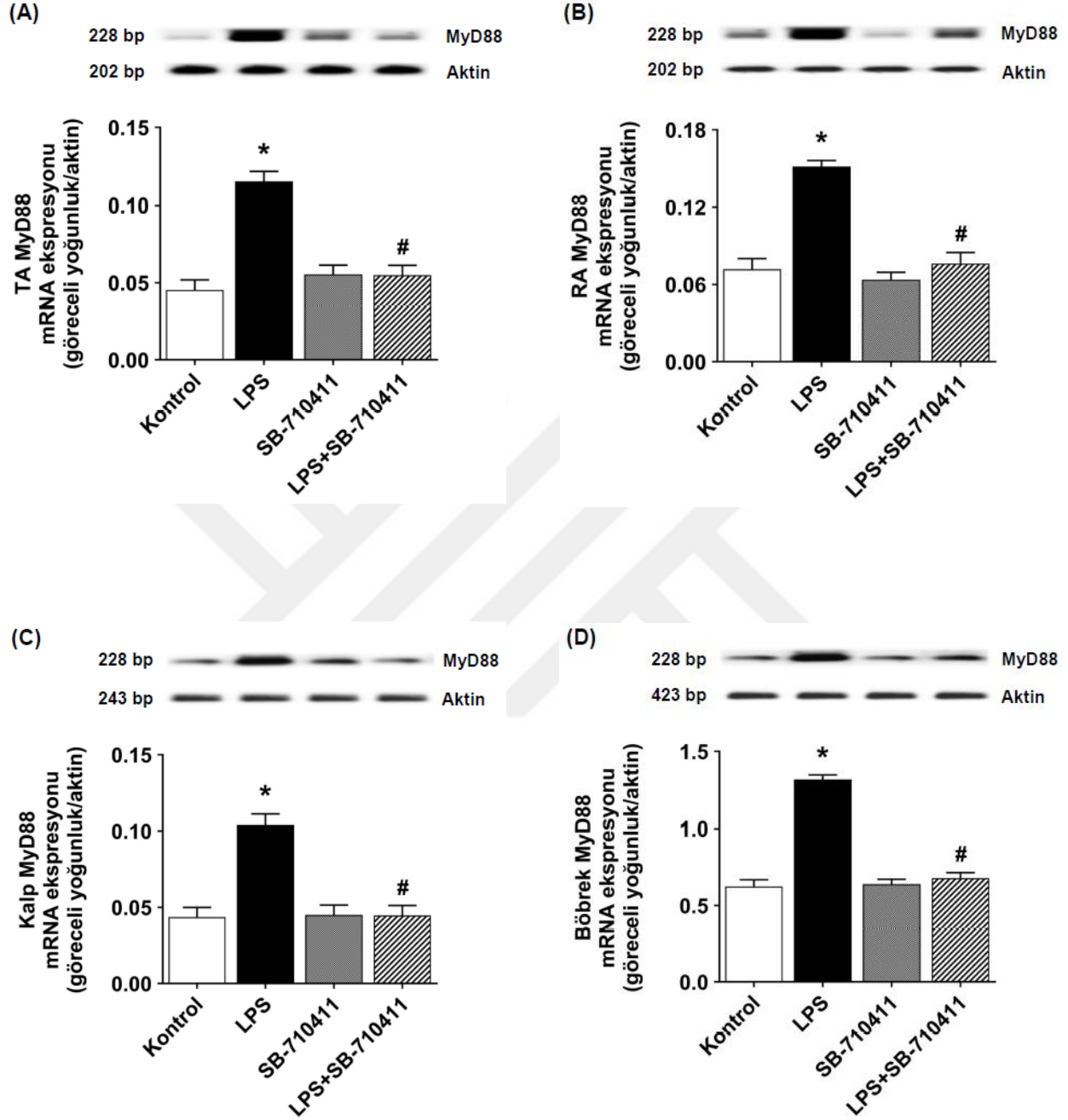
Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra doku MyD88 mRNA ekspresyonu artmıştır ($P < 0.05$). SB-710411, LPS'nin neden olduğu doku MyD88 mRNA ekspresyonundaki artmayı önlemiştir ($P < 0.05$). SF ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlarda doku MyD88 mRNA ekspresyonu değerleri kontrol grubu değerlerinden farklı değildir ($P > 0.05$).

Bu bulgular, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra arteriyel, kardiyak ve renal dokularda MyD88 mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, SB-710411, LPS'nin arteriyel, kardiyak ve renal dokularda neden olduğu MyD88 mRNA ekspresyonundaki artmayı önleyebilmektedir.

Tablo 4.7. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen MyD88 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi.

	MyD88 mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)
TA	
Kontrol	0.05 ± 0.01 (n= 4)
LPS	0.12 ± 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.06 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.06 ± 0.01 (n= 4)#
RA	
Kontrol	0.07 ± 0.01 (n= 4)
LPS	0.15 ± 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.06 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.08 ± 0.01 (n= 4)#
Kalp	
Kontrol	0.04 ± 0.01 (n= 4)
LPS	0.10 ± 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.05 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.05 ± 0.01 (n= 4)#
Böbrek	
Kontrol	0.62 ± 0.04 (n= 4)
LPS	1.32 ± 0.03 (n= 4)*
SB-710411	0.64 ± 0.03 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.68 ± 0.04 (n= 4)#

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.6. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen MyD88 mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

4.7. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen NF- κ B mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen NF- κ B mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.8. ve Şekil 4.7.'de verilmiştir.

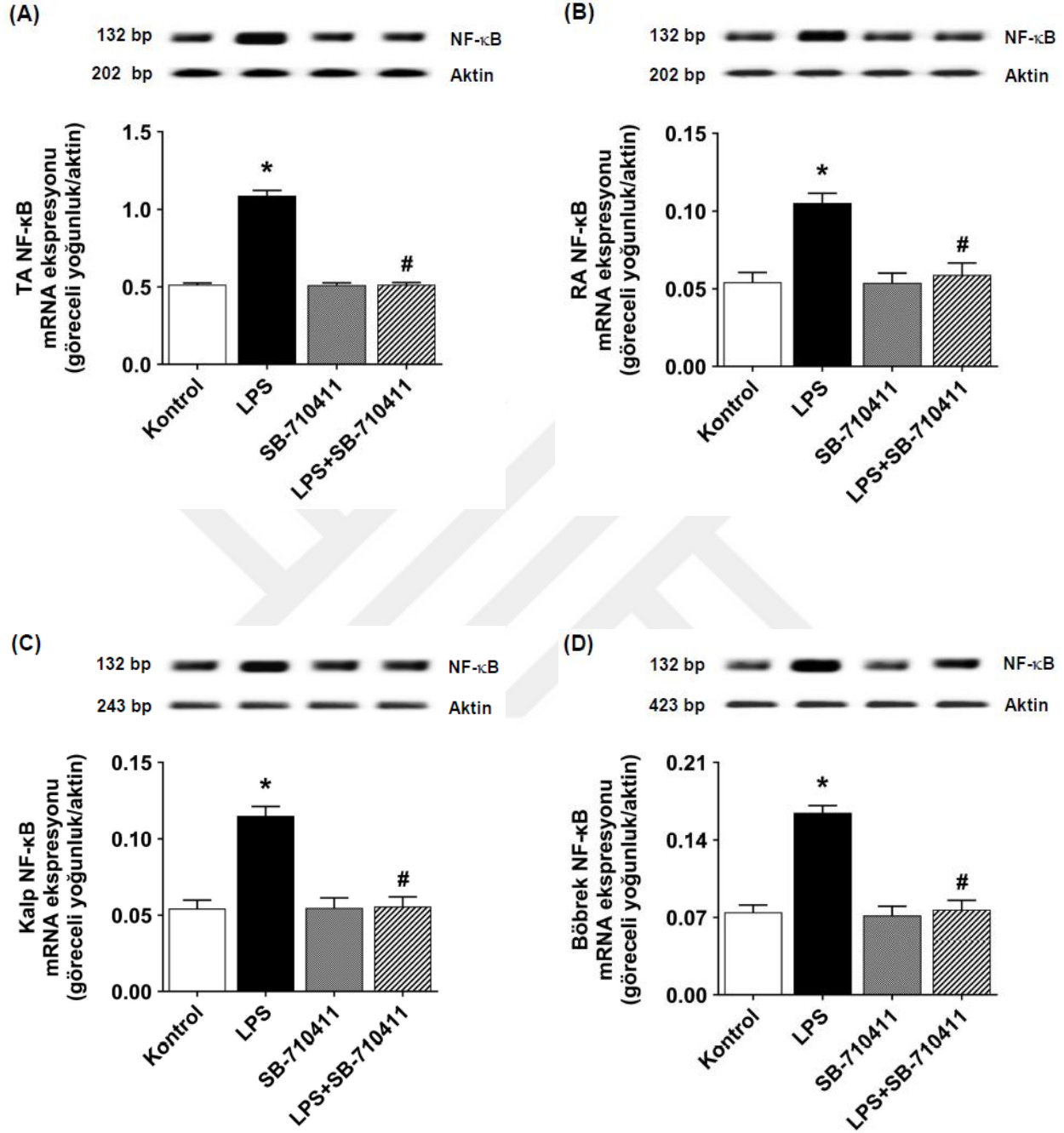
Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra doku NF- κ B mRNA ekspresyonu artmıştır ($P < 0.05$). SB-710411, LPS'nin neden olduğu doku NF- κ B mRNA ekspresyonundaki artmayı önlemiştir ($P < 0.05$). SF ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlarda doku NF- κ B mRNA ekspresyonu değerleri kontrol grubu değerlerinden farklı değildir ($P > 0.05$).

Bu bulgular, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra arteriyel, kardiyak ve renal dokularda NF- κ B mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, SB-710411, LPS'nin arteriyel, kardiyak ve renal dokularda neden olduğu NF- κ B mRNA ekspresyonundaki artmayı önleyebilmektedir.

Tablo 4.8. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen NF- κ B mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi.

	NF- κ B mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)
TA	
Kontrol	0.51 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS	1.09 $\pm$ 0.03 (n= 4)*
SB-710411	0.51 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.52 $\pm$ 0.01 (n= 4)#
RA	
Kontrol	0.05 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS	0.11 $\pm$ 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.05 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.06 $\pm$ 0.01 (n= 4)#
Kalp	
Kontrol	0.05 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS	0.12 $\pm$ 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.06 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.06 $\pm$ 0.01 (n= 4)#
Böbrek	
Kontrol	0.08 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS	0.17 $\pm$ 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.07 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.08 $\pm$ 0.01 (n= 4)#

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.7. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen NF-κB mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

4.8. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların Serumlarında Ölçülen Nitrit Düzeyleri ile TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen iNOS mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanların serumlarında ölçülen nitrit düzeyleri ile TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen iNOS mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.9. ve Tablo 4.10. ile Şekil 4.8. ve Şekil 4.9.'da verilmiştir.

Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra serum nitrit düzeyi ile doku iNOS mRNA ekspresyonu artmıştır ($P < 0.05$). SB-710411, LPS'nin neden olduğu serum nitrit düzeyindeki artmayı önlememesine karşın ($P > 0.05$), doku iNOS mRNA ekspresyonundaki artmayı önlemiştir ($P < 0.05$). SF ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlarda serum nitrit düzeyi ile doku iNOS mRNA ekspresyonu değerleri kontrol grubu değerlerinden farklı değildir ($P > 0.05$).

Bu bulgular, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra serum nitrit düzeyi ile arteriyel, kardiyak ve renal dokularda iNOS mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, SB-710411, LPS'nin neden olduğu serum nitrit düzeyindeki artış üzerinde değişikliğe neden olmaksızın, arteriyel, kardiyak ve renal dokularda iNOS mRNA ekspresyonundaki artmayı önleyebilmektedir.

Tablo 4.9. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen nitrit düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi.

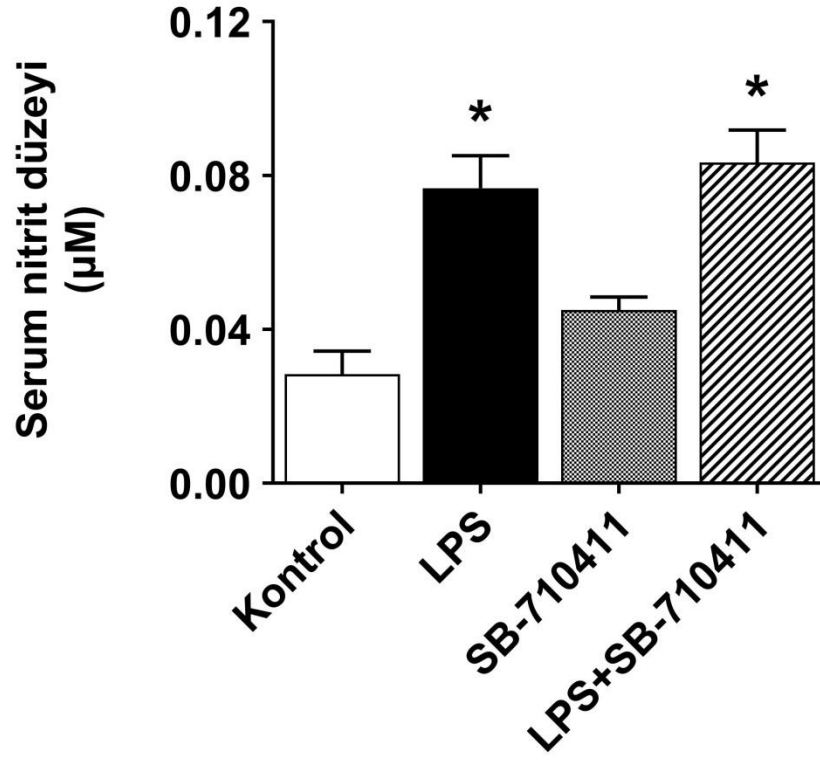
	Nitrit düzeyi (μM)
Kontrol	0.028 ± 0.001 (n= 6)
LPS	0.077 ± 0.001 (n= 6)*
SB-710411	0.045 ± 0.003 (n= 6)
LPS+SB-710411	0.083 ± 0.008 (n= 6)*

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

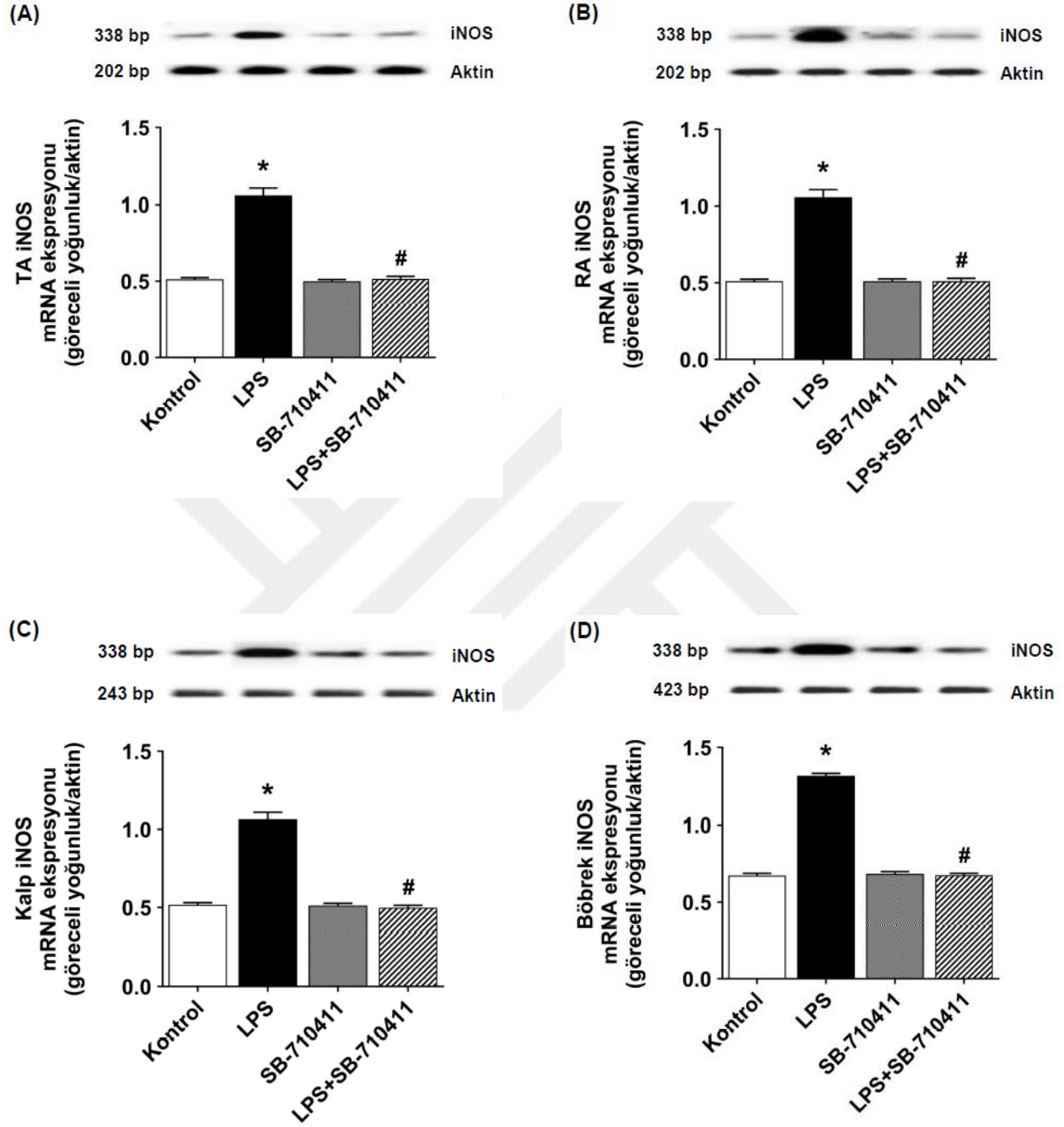
Tablo 4.10. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen iNOS mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi.

iNOS mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	
TA	
Kontrol	0.51 ± 0.01 (n= 4)
LPS	1.06 ± 0.05 (n= 4)*
SB-710411	0.50 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.52 ± 0.02 (n= 4)#
RA	
Kontrol	0.51 ± 0.01 (n= 4)
LPS	1.06 ± 0.05 (n= 4)*
SB-710411	0.51 ± 0.02 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.51 ± 0.02 (n= 4)#
Kalp	
Kontrol	0.52 ± 0.01 (n= 4)
LPS	1.06 ± 0.04 (n= 4)*
SB-710411	0.51 ± 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.50 ± 0.02 (n= 4)#
Böbrek	
Kontrol	0.67 ± 0.01 (n= 4)
LPS	1.32 ± 0.02 (n= 4)*
SB-710411	0.68 ± 0.02 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.68 ± 0.01 (n= 4)#

* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.8. Kontrol ve endotoksemik sıçanların serumlarında ölçülen nitrit düzeyleri üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.9. Kontrol ve endotoksemik sıçanların (A) TA, (B) RA, (C) kalp ve (D) böbrek dokularında ölçülen iNOS mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

4.9. Kontrol ve Endotoksemik Sıçanların TA, RA, Kalp ve Böbrek Dokularında Ölçülen IL-1 β mRNA Ekspresyonu Üzerinde SB-710411'in Etkisi

SF ve/veya LPS ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen IL-1 β mRNA ekspresyonuna ilişkin bulgular Tablo 4.11. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

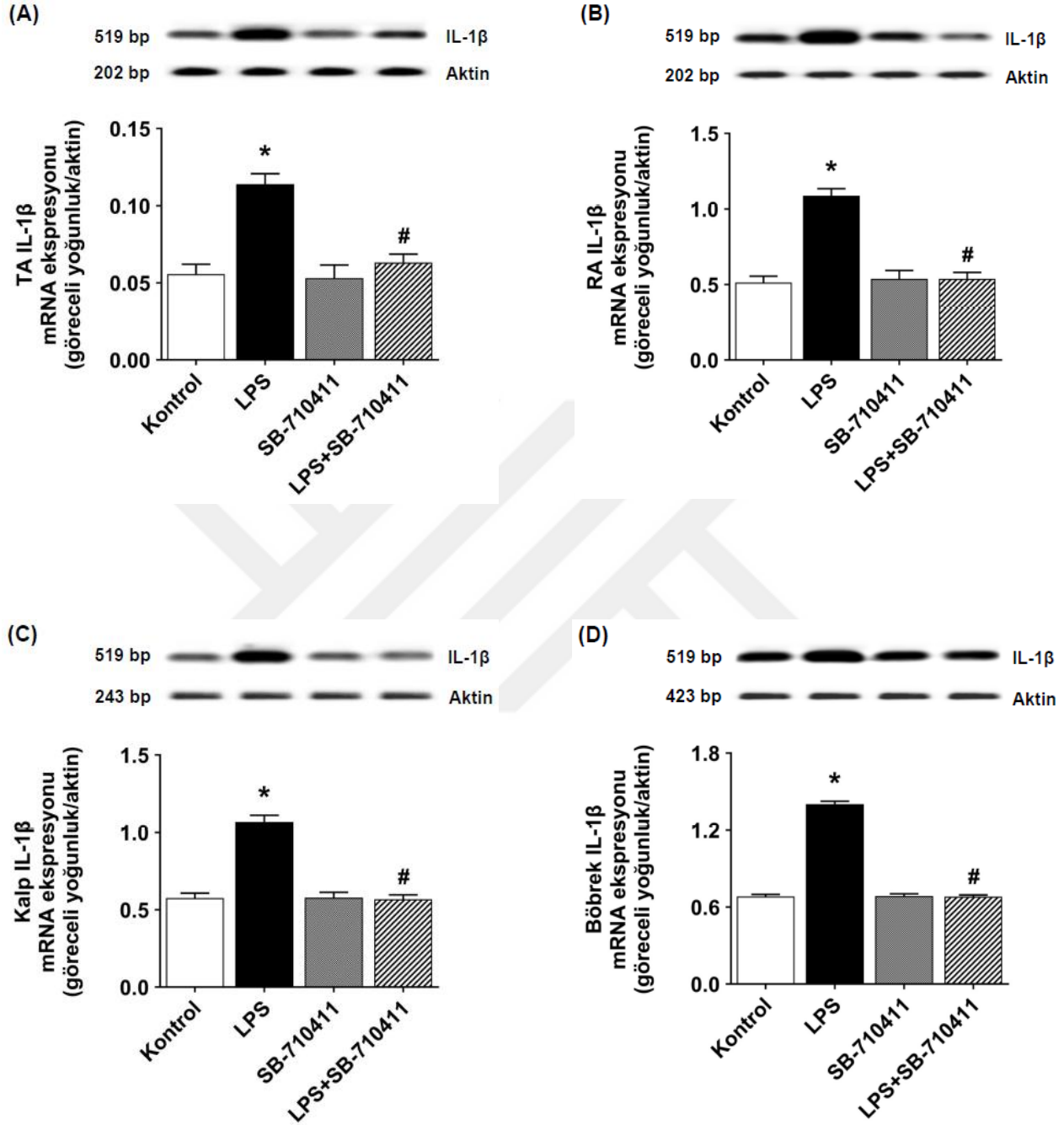
Sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra doku IL-1 β mRNA ekspresyonu artmıştır ($P < 0.05$). SB-710411, LPS'nin neden olduğu doku IL-1 β mRNA ekspresyonundaki artmayı önlemiştir ($P < 0.05$). SF ile birlikte SB-710411 uygulanan sıçanlarda doku IL-1 β mRNA ekspresyonu değerleri kontrol grubu değerlerinden farklı değildir ($P > 0.05$).

Bu bulgular, sıçanlara LPS uygulanmasından 4 saat sonra arteriyel, kardiyak ve renal dokularda IL-1 β mRNA ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Bulgularımıza göre, SB-710411, LPS'nin arteriyel, kardiyak ve renal dokularda neden olduğu IL-1 β mRNA ekspresyonundaki artmayı önleyebilmektedir.

Tablo 4.11. Kontrol ve endotoksemik sıçanların TA, RA, kalp ve böbrek dokularında ölçülen IL-1 β mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi.

IL-1 β mRNA ekspresyonu (göreceli yoğunluk/aktin)	
TA	
Kontrol	0.06 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS	0.11 $\pm$ 0.01 (n= 4)*
SB-710411	0.05 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.06 $\pm$ 0.01 (n= 4)#
RA	
Kontrol	0.51 $\pm$ 0.04 (n= 4)
LPS	1.09 $\pm$ 0.05 (n= 4)*
SB-710411	0.54 $\pm$ 0.06 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.54 $\pm$ 0.04 (n= 4)#
Kalp	
Kontrol	0.58 $\pm$ 0.03 (n= 4)
LPS	1.07 $\pm$ 0.04 (n= 4)*
SB-710411	0.58 $\pm$ 0.04 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.57 $\pm$ 0.03 (n= 4)#
Böbrek	
Kontrol	0.68 $\pm$ 0.01 (n= 4)
LPS	1.40 $\pm$ 0.02 (n= 4)*
SB-710411	0.69 $\pm$ 0.02 (n= 4)
LPS+SB-710411	0.68 $\pm$ 0.01 (n= 4)#

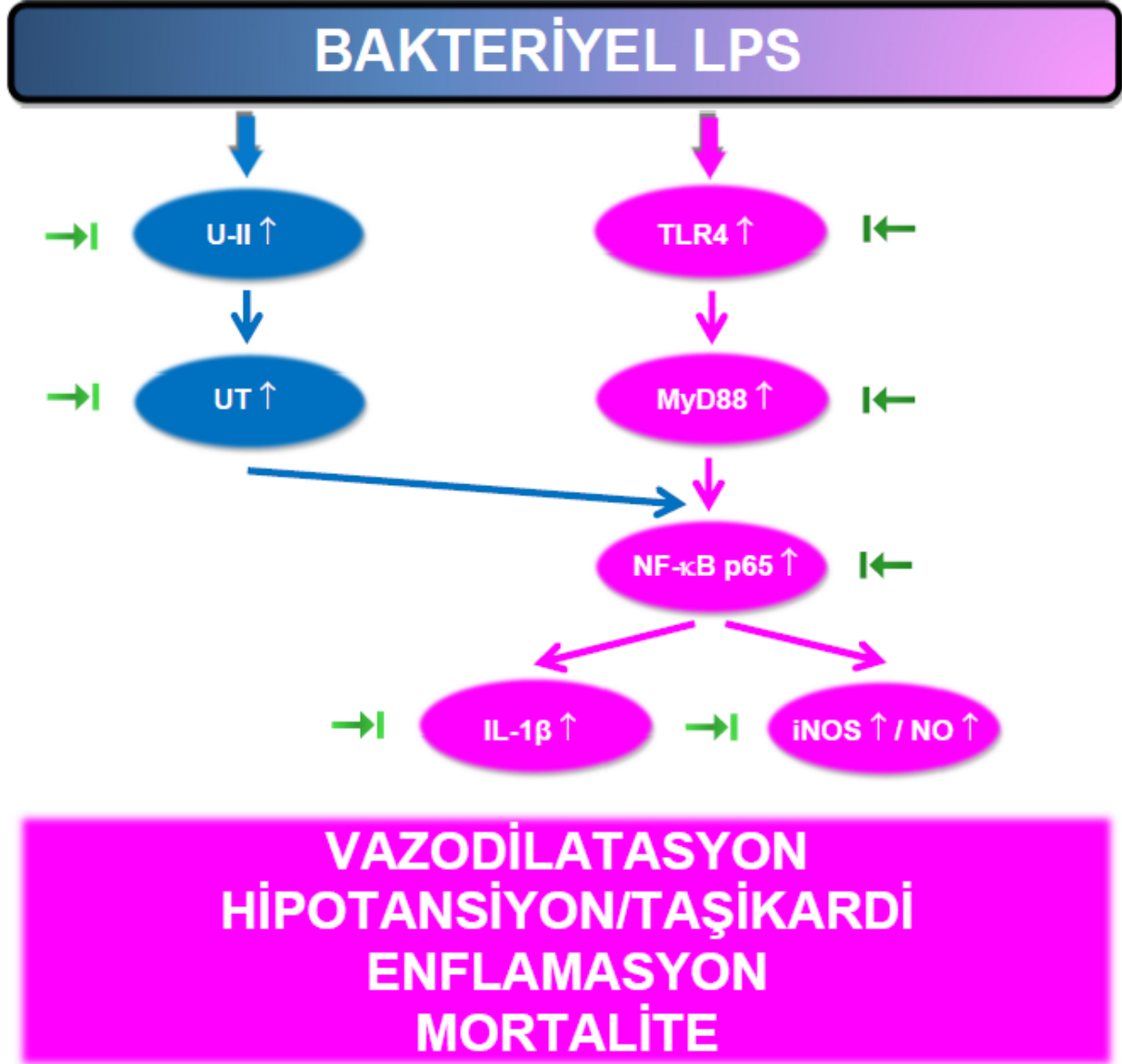
* Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).



Şekil 4.10. Kontrol ve endotoksemik sıçanların arteriyel, kardiyak ve renal dokularında ölçülen IL-1β mRNA ekspresyonu üzerinde SB-710411'nin etkisi. * Kontrol ve # LPS grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklı (tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırmalar testi; $P < 0.05$).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tezde, sıçanlarda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde, ilk kez U-II reseptörü UT'nin NO aracılıklı hipotansiyona katkısı sıçana seçici peptit yapısında bir UT antagonisti olan SB-710411 kullanılarak araştırılmıştır. Bulgularımız, LPS'nin neden olduğu NO aracılıklı hipotansiyona ve ardından gelişen taşikardiye U-II reseptörü UT'nin katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Sıçanlarda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde, UT antagonisti SB-710411'in pro-enflamatuvar sitokin ekspresyonunda artmanın eşlik ettiği TLR4/MyD88/NF-κB/iNOS/NO yolu aracılıklı hipotansiyon üzerindeki etkisi ile ilgili olarak önerilen mekanizma. ↑, LPS ile artıyor; ↓, LPS ile azalıyor; I←, SB-710411'in önleyici etkisi.

Literatürde sıçanlardaki UT için antagonist olan urantit [130-132], palosuran [133] ve özellikle sıçana seçici bir antagonist olduğu bildirilen SB-710411 [130, 134-136] kullanılarak rodentlerde yapılan *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır. Farelerde LPS ile oluşturulan endotoksik şok modelinde yapılan bir çalışmada, 43 ve 430 µg/kg (intravenöz; i.v.) dozlarda uygulanan urantidin plazma IL-1β, IL-3 ve IL-6 düzeyleri, böbrek ve karaciğerde NF-κB ekspresyonundaki artma ile kardiyak işlev bozukluğunu önlemesinin yanı sıra, yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir [138]. Farelerde LPS/D-galaktozamin ile oluşturulan akut karaciğer yetmezliği modelinde, 0.6 mg/kg (i.p.) dozda uygulanan urantidin serum ve karaciğerde U-II, TNF-α ile IL-1β düzeyleri, karaciğerde U-II, UT, IL-1β, TNF-α, IRF3 ve IFN-γ mRNA ekspresyonu, IκBα fosforilasyonu ile NF-κB'nin nükleer translokasyonu ile DNA'ya bağlanmasındaki artmayı önlemesinin yanı sıra, yaşam süresini uzattığı bildirilmiştir [114, 116, 118]. Farelerde oluşturulan CLP yöntemiyle oluşturulan polimikrobiyal sepsis modelinde yapılan bir başka çalışmada, 30 ve 100 mg/kg (i.p.) dozlarda uygulanan palosuranın akciğerde GPR14, IL-1β, IL-6, TNF-α ve NF-κB mRNA ekspresyonunun yanı sıra, MDA düzeyleri, vasküler konjesyon, ödem ve enflamatuvar hücre infiltrasyonundaki artmayı önlediği bildirilmiştir [139]. Aynı modelde yapılan bir başka çalışmada ise, urantit ve palosuran sırasıyla 1.2 mg/kg (i.p.) ve 100 mg/kg (i.p.) dozlarda uygulandıklarında, akciğerde U-II, GPR14, IL-1β, IL-6, TNF-α ve NF-κB mRNA ekspresyonunun yanı sıra, ödem, alveolar duvar kalınlığı ve enflamatuvar hücre infiltrasyonundaki artmayı önlemişlerdir [140]. Sıçanlarda LPS ile oluşturulan endotoksemi modelinde, önce 0.2 mg/kg (i.v.) sonra 1.2 mg/kg/saat (i.v.) dozlarda uygulanan urantidin OAB, KH ve renovasküler dirençteki artmayı önlemediği bildirilmiş olup, hipotansif olmayan endotoksemik sıçanlarda gözlenen renal anormalliklere UT'nin aracılık etmediği ileri sürülmüştür [Nitescu ve ark., 2010]. Literatürde SB-710411 ile yapılan yalnızca iki *in vivo* çalışma bulunmaktadır. İlk olarak, Liu ve ark. [142] tarafından sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan siroz modelinde yapılan bir çalışmada, 1 µg/kg (hipodermal) dozda uygulanan SB-710411'in plazma U-II düzeyleri ile karaciğerde U-II ve UT ekspresyonundaki artmayı önlediği gösterilmiştir. Luo ve ark. [136] tarafından sıçanlarda oluşturulan İ/R modelinde yapılan bir çalışmada ise, 1 ve 2 µg/kg (i.v.) dozda uygulanan SB-710411'in OAB ve KH'de azalma gibi hemodinamik parametrelerdeki değişiklikleri, EKG'de ST segmentindeki yükselmeyi, serum LDH ve kreatin fosfokinaz-MB etkinlikleri, kardiyak troponin I düzeyleri ile RhoA etkinliği ve UT, ROCK1 ve ROCK2 protein ekspresyonundaki artmayı önlemesinin yanı sıra, miyokardiyal enfarkt büyüklüğünü, nekrozu, interstisyel ödemi ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Farelerde ve sıçanlarda LPS, LPS/D-galaktozamin ve CLP ile oluşturulan endotoksik şok, akut karaciğer yetmezliği, polimikrobiyal sepsis ve endotoksemi modellerinde, UT antagonistlerinden urantit ve palosuran ile çalışmalar yapılmış olmasına karşın, bu modellerde SB-710411 ile yapılmış olan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma kapsamında yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, LPS ile birlikte 0.0001 mg/kg dozda SB-710411 uygulanan grupta, LPS enjeksiyonundan 3 saat sonra OAB değerlerindeki azalma önlenebilirken, KH değerlerindeki artma önlenememiştir. Ayrıca, LPS enjeksiyonundan sonra 4. saatte bu gruptaki sıçanlardan 5'i ölmüş, kalan 1 sıçandan da OAB ve KH kaydı alınamamıştır. LPS ile birlikte 0.001 mg/kg dozda SB-710411 uygulanan grupta, LPS enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra OAB değerlerindeki azalmanın SB-710411 ile önlendiği, ancak KH değerlerindeki artmanın önlenemediği bulunmuştur. SB-710411 sıçanlara 0.01 mg/kg dozda uygulandığında ise, LPS'nin neden olduğu hipotansiyonu ve ardından gelişen taşikardiye, mortaliteye neden olmaksızın, önleyebilmiştir. Doza bağımlı olarak LPS'nin neden olduğu OAB ve dolayısıyla KH'deki değişiklikler üzerinde gözlenen etkileri, SB-710411'in çeşitli türlerden izole edilen ve kan basıncının düzenlenmesinden başlıca sorumlu olan arterlerde UT için tam agonist, antagonist veya parsiyel agonist olabileceğinin bildirildiği çalışmaların sonuçları ile uyumludur [130, 135, 137]. Ayrıca, LPS ile birlikte 0.01 mg/kg dozda SB-710411 uygulanan sıçanların serumlarında U-II düzeyindeki artmanın önlenmesine karşın, artmış olan nitrit düzeylerinde bir değişiklik görülmemiştir. Bu bulgular, her ne kadar LPS ile oluşturulan septik şok modelinde kullanılmamış olsa da, SB-710411'in OAB'deki azalma [136] ile plazmada U-II düzeyindeki artma [142] üzerindeki etkilerine ilişkin yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Ayrıca bulgularımız, bir başka UT antagonisti olan urantidin farelerde LPS/D-galaktozamin ile oluşturulan akut karaciğer yetmezliği modelinde serum ve karaciğerde U-II düzeylerindeki artmayı önleyici etkisi ile uyumluluk göstermektedir [114, 116, 118]. Öte yandan, SB-710411'in LPS'nin neden olduğu sistemik NO oluşumundaki artmayı önleyememesi, U-II'nin düz kas hücresi üzerindeki vazokonstriktör etkisini dengelemek üzere, küçük çaplı damarların endotel hücrelerinden salıverilen başta NO olmak üzere çeşitli vazodilatör mediyatörlerin oluşumları ve salıverilmelerinin kritik bir rol oynadığını gösteren çalışmaların sonuçları ile uyumludur [98, 101, 103, 105-109]. Dolayısıyla, SB-710411'in, sıçanlara en düşük etkili dozu olan 0.01 mg/kg dozda uygulandığında, mortaliteye ve sistemik NO oluşumunda azalmaya neden olmaksızın, LPS'nin neden olduğu hipotansiyonu ve ardından gelişen taşikardinin yanı sıra, sistemik U-II oluşumundaki artmayı önleyebildiği ilk kez bu çalışmada gösterilmiştir.

Sonuç olarak, sıçanlarda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde gerçekleştirilen çalışmalardan ilk kez elde edilen veriler, U-II reseptörü UT'nin NO aracılıklı hipotansiyona ve ardından gelişen taşikardiye katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca, sistemik yoldan uygulanabilen bir ilaç adayı olarak SB-710411'in, mortaliteye neden olmaksızın, NO aracılıklı vazodilatasyonun, hipotansiyonun ve taşikardinin yanı sıra, patojenezinde UT'nin rol oynadığı septik şok gibi sistemik enflamatuvar hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Dolayısıyla, bu çalışmada elde edilen verilerin, SB-710411'in septik şok tedavisinde ilaç olarak geliştirilmesi amacıyla yapılacak olan klinik öncesi ve klinik araştırmalara katkıda bulunabileceği düşünülmüştür.



KAYNAKLAR

- [1]. Bauer, M.; Gerlach, H.; Vogelmann, T.; Preissing, F.; Stiefel, J.; Adam, D., Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019: results from a systematic review and metaanalysis. *Critical Care* **2020**, 24, (1), 239.
- [2]. Chiu, C.; Legrand, M., Epidemiology of sepsis and septic shock. *Current Opinion in Anesthesiology* **2021**, 34, (2), 71-76.
- [3]. Fleischmann-Struzek, C.; Rudd, K., Challenges of assessing the burden of sepsis. *Medizinische Klinik-Intensivmedizin und Notfallmedizin* **2023**, 118, (Suppl 2), 68-74.
- [4]. Font, M. D.; Thyagarajan, B.; Khanna, A. K., Sepsis and septic shock-Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making. *Medical Clinics of North America* **2020**, 104, (4), 573-585.
- [5]. Garcia-Vello, P.; Di Lorenzo, F.; Zucchetta, D.; Zamyatina, A.; De Castro, C.; Molinaro, A., Lipopolysaccharide lipid A: a promising molecule for new immunity-based therapies and antibiotics. *Pharmacology and Therapeutics* **2022**, 230, 107970.
- [6]. Garduno, A.; Martín-Loeches, I., Efficacy and appropriateness of novel antibiotics in response to antimicrobial-resistant gram-negative bacteria in patients with sepsis in the ICU. *Expert Review of Anti-infective Therapy* **2022**, 20, (4), 513-531.
- [7]. Guarino, M.; Perna, B.; Cesaro, A. E.; Maritati, M.; Spampinato, M. D.; Contini, C.; De Giorgio, R., 2023 update on sepsis and septic shock in adult patients: management in the emergency department. *Journal of Clinical Medicine* **2023**, 12, (9), 3188.
- [8]. Kumar, N. R.; Balraj, T. A.; Kempegowda, S. N.; Prashant, A., Multidrug-resistant sepsis: a critical healthcare challenge. *Antibiotics* **2024**, 13, (1), 46.
- [9]. Rudd, K. E.; Johnson, S. C.; Agesa, K. M.; Shackelford, K. A.; Tsoi, D.; Kievlan, D. R.; Colombara, D. V.; Ikuta, K. S.; Kisson, N.; Finfer, S.; Fleischmann-Struzek, C.; Machado, F. R.; Reinhart, K. K.; Rowan, K.; Seymour, C. W.; Watson, R. S.; West, T. E.; Marinho, F.; Hay, S. I.; Lozano, R.; Lopez, A. D.; Angus, D. C.; Murray, C. J. L.; Naghavi, M., Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* **2020**, 395, (10219), 200-211.
- [10]. Singer, M.; Deutschman, C. S.; Seymour, C. W.; Shankar-Hari, M.; Annane, D.; Bauer, M.; Bellomo, R.; Bernard, G. R.; Chiche, J. D.; Coopersmith, C. M.; Hotchkiss, R. S.; Levy, M. M.; Marshall, J. C.; Martin, G. S.; Opal, S. M.; Rubenfeld, G. D.; van der Poll, T.; Vincent, J. L.; Angus, D. C., The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Journal of the American Medical Association* **2016**, 315, (8), 801-810.

- [11]. Waligora, G.; Gaddis, G.; Church, A.; Mills, L., Rapid systematic review: the appropriate use of Quick Sequential Organ Failure Assessment (qSOFA) in the emergency department. *Journal of Emergency Medicine* **2020**, 59, (6), 977-983.
- [12]. De Rosa, S.; Cutuli, S. L.; Lorenzin, A.; Zanella, M., Sequential extracorporeal therapy in sepsis. *Contributions to Nephrology* **2023**, 200, 1-11.
- [13]. Donovan, K.; Shah, A.; Day, J.; McKechnie, S. R., Adjunctive treatments for the management of septic shock - a narrative review of the current evidence. *Anaesthesia* **2021**, 76, (9), 1245-1258.
- [14]. Evans, L.; Rhodes, A.; Alhazzani, W.; Antonelli, M.; Coopersmith, C. M.; French, C.; Machado, F. R.; McIntyre, L.; Ostermann, M.; Prescott, H. C.; Schorr, C.; Simpson, S.; Wiersinga, W. J.; Alshamsi, F.; Angus, D. C.; Arabi, Y.; Azevedo, L.; Beale, R.; Beilman, G.; Belley-Cote, E.; Burry, L.; Cecconi, M.; Centofanti, J.; Coz, Yataco, A.; De Waele, J.; Dellinger, R. P.; Doi, K.; Du, B.; Estenssoro, E.; Ferrer, R.; Gomersall, C.; Hodgson, C.; Hylander Møller, M.; Iwashyna, T.; Jacob, S.; Kleinpell, R.; Klompas, M.; Koh, Y.; Kumar, A.; Kwizera, A.; Lobo, S.; Masur, H.; McGloughlin, S.; Mehta, S.; Mehta, Y.; Mer, M.; Nunnally, M.; Oczkowski, S.; Osborn, T.; Papathanassoglou, E.; Perner, A.; Puskarich, M.; Roberts, J.; Schweickert, W.; Seckel, M.; Sevransky, J.; Sprung, C. L.; Welte, T.; Zimmerman, J.; Levy, M., Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Critical Care Medicine* **2021**, 49, (11), e1063-e1143.
- [15]. Gavelli, F.; Castello, L. M.; Avanzi, G. C., Management of sepsis and septic shock in the emergency department. *Internal and Emergency Medicine* **2021**, 16, (6), 1649-1661.
- [16]. Krishnan, K.; Wassermann, T. B.; Tednes, P.; Bonderski, V.; Rech, M. A., Beyond the bundle: clinical controversies in the management of sepsis in emergency medicine patients. *American Journal of Emergency Medicine* **2022**, 51, 296-303.
- [17]. Leone, M.; Einav, S.; Antonucci, E.; Depret, F.; Lakbar, I.; Martin-Loeches, I.; Wieruszewski, P. M.; Myatra, S. N.; Khanna, A. K., Multimodal strategy to counteract vasodilation in septic shock. *Anaesthesia, Critical Care and Pain Medicine* **2023**, 42, (3), 101193.
- [18]. Meresse, Z.; Medam, S.; Mathieu, C.; Duclos, G.; Vincent, J. L.; Leone, M., Vasopressors to treat refractory septic shock. *Minerva Anestesiologica* **2020**, 86, (5), 537-545.
- [19]. Moschopoulos, C. D.; Dimopoulou, D.; Dimopoulou, A.; Dimopoulou, K.; Protopapas, K.; Zavras, N.; Tsiodras, S.; Kotanidou, A.; Fragkou, P. C., New insights into the fluid management in patients with septic shock. *Medicina* **2023**, 59, (6), 1047.
- [20]. Shahrami, B.; Sharif, M.; Forough, A. S.; Najmeddin, F.; Arabzadeh, A. A.; Mojtahedzadeh, M., Antibiotic therapy in sepsis: no next time for a second chance!. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* **2021**, 46, (4), 872-876.

- [21]. Zampieri, F. G.; Bagshaw, S. M.; Semler, M. W., Fluid therapy for critically ill adults with sepsis: a review. *Journal of the American Medical Association* **2023**, 329, (22), 1967-1980.
- [22]. Chen, F.; Zou, L.; Williams, B.; Chao, W., Targeting toll-like receptors in sepsis: from bench to clinical trials. *Antioxidant and Redox Signaling* **2021**, 35, (15), 1324-1339.
- [23]. Gorecki, G.; Cochior, D.; Moldovan, C.; Rusu, E., Molecular mechanisms in septic shock. *Experimental and Therapeutic Medicine* **2021**, 22, (4), 1161.
- [24]. Tunctan, B., 20-HETE mimetics or inhibitors in the treatment of cancer patients with sepsis and septic shock. *International Journal of Cancer Studies and Research* **2013**, 2, (1), 101-108.
- [25]. Tunctan, B.; Korkmaz, B.; Sari, A. N.; Kacan, M.; Unsal, D.; Serin, M. S.; Buharalioglu, C. K.; Sahan-Firat, S.; Schunck, W. H.; Falck, J. R.; Malik, K. U., A novel treatment strategy for sepsis and septic shock based on the interactions between prostanoids, nitric oxide, and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid. *Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry* **2012**, 11, (2), 121-150.
- [26]. Tunctan, B.; Senol, S. P.; Temiz-Resitoglu, M.; Guden, D. S.; Sahan-Firat, S.; Falck, J. R.; Malik, K. U., Eicosanoids derived from cytochrome P450 pathway of arachidonic acid and inflammatory shock. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators* **2019**, 145, 106377.
- [27]. Wang, W.; Liu, C. F., Sepsis heterogeneity. *World Journal of Pediatrics* **2023**, 19, (10), 919-927.
- [28]. Cabrita, A. J.; Pinheiro, I.; Menezes Falcão, L., Rethinking the concept of sepsis and septic shock. *European Journal of Internal Medicine* **2018**, 54, 1-5.
- [29]. Giordano, N. P.; Cian, M. B.; Dalebroux, Z. D. Outer membrane lipid secretion and the innate immune response to Gram-negative bacteria. *Infection and Immunity* **2020**, 88, (7), e00920-19.
- [30]. Guest, R. L.; Rutherford, S. T.; Silhavy, T. J., Border control: regulating LPS biogenesis. *Trends in Microbiology* **2021**, 29, (4), 334-345.
- [31]. Hattori, Y.; Hattori, K.; Suzuki, T.; Matsuda, N., Recent advances in the pathophysiology and molecular basis of sepsis-associated organ dysfunction: novel therapeutic implications and challenges. *Pharmacology and Therapeutics* **2017**, 177, 56-66.
- [32]. Heine, H.; Zamyatina, A., Therapeutic targeting of TLR4 for inflammation, infection, and cancer: a perspective for disaccharide lipid A mimetics. *Pharmaceuticals* **2022**, 16, (1), 23.
- [33]. McBride, M. A.; Owen, A. M.; Stothers, C. L.; Hernandez, A.; Luan, L.; Burelbach, K. R.; Patil, T. K.; Bohannon, J. K.; Sherwood, E. R.; Patil, N. K., The metabolic basis of immune dysfunction following sepsis and trauma. *Frontiers in Immunology* **2020**, 11, 1043.

- [34]. Monteiro, H. F., Faciola, A. P., Ruminal acidosis, bacterial changes, and lipopolysaccharides. *Journal of Animal Science* **2020**, 98, (8), skaa248.
- [35]. Rietschel, E. T.; Schade, U.; Jensen, M.; Wollenweber, H. W.; Lüderitz, O.; Greisman, S. G., Bacterial endotoxins: chemical structure, biological activity and role in septicaemia. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases Supplement* **1982**, 31, 8-21.
- [36]. Romerio, A.; Peri, F., Increasing the chemical variety of small-molecule-based TLR4 modulators: an overview. *Frontiers in Immunology* **2020**, 10, 11, 1210.
- [37]. Suero, O. R.; Park, Y.; Wieruszewski, P. M.; Chatterjee, S., Management of vasoplegic shock in the cardiovascular intensive care unit after cardiac surgery. *Critical Care Clinics* **2024**, 40, (1), 73-88.
- [38]. Aboudounya, M. M.; Heads, R. J., COVID-19 and toll-like receptor 4 (TLR4): SARS-CoV-2 may bind and activate TLR4 to increase ACE2 expression, facilitating entry and causing hyperinflammation. *Mediators of Inflammation* **2021**, 2021, 8874339.
- [39]. Nijland, R.; Hofland, T.; Van Strijp, J. A. G., Recognition of LPS by TLR4: potential for anti-inflammatory therapies. *Marine Drugs* **2014**, 12, 4260-4273.
- [40]. Park, B. S., Lee, J. O., Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Experimental and Molecular Medicine* **2013**, 45, (12), e66.
- [41]. Ciesielska, A.; Matyjek, M.; Kwiatkowska, K., TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2021**, 78, (4), 1233-1261.
- [42]. Kim, H. J.; Kim, H.; Lee, J. H.; Hwangbo, C., Toll-like receptor 4 (TLR4): new insight immune and aging. *Immunity and Ageing* **2023**, 20, (1), 67.
- [43]. Kuzmich, N. N.; Sivak, K. V.; Chubarev, V. N.; Porozov, Y. B.; Savateeva-Lyubimova, T. N.; Peri, F., TLR4 signaling pathway modulators as potential therapeutics in inflammation and sepsis. *Vaccines* **2017**, 5, (4), 34.
- [44]. Lin, C.; Wang, H.; Zhang, M.; Mustafa, S.; Wang, Y.; Li, H.; Yin, H.; Hutchinson, M. R.; Wang, X., TLR4 biased small molecule modulators. *Pharmacology and Therapeutics* **2021**, 228, 107918.
- [45]. Mattke, J.; Darden, C. M.; Lawrence, M. C.; Kuncha, J.; Shah, Y. A.; Kane, R. R.; Naziruddin, B., Toll-like receptor 4 in pancreatic damage and immune infiltration in acute pancreatitis. *Frontiers in Immunology* **2024**, 15, 1362727.
- [46]. Płóciennikowska, A.; Hromada-Judycka, A.; Borzęcka, K.; Kwiatkowska, K., Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2015**, 72, (3), 557-581.

- [47]. Anwar-Mohamed, A.; Zordoky, B. N.; Aboutabl, M. E.; El-Kadi, A. O., Alteration of cardiac cytochrome P450-mediated arachidonic acid metabolism in response to lipopolysaccharide-induced acute systemic inflammation. *Pharmacological Research* **2010**, 61, (5), 410-418.
- [48]. Tunctan, B.; Korkmaz, B.; Sari, A. N.; Kacan, M.; Unsal, D.; Serin, M. S.; Buharalioglu, C. K.; Sahan-Firat, S.; Cuez, T.; Schunck, W. H.; Falck, J. R.; Malik, K. U., 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, reverses hypotension and improves survival in a rodent model of septic shock: contribution of soluble epoxide hydrolase, CYP2C23, MEK1/ERK1/2/IKK β /I κ B- α /NF- κ B pathway, and proinflammatory cytokine formation. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators* **2013**, 102-103, (2), 31-41.
- [49]. Buharalioglu, C. K.; Korkmaz, B.; Cuez, T.; Sahan-Firat, S.; Sari, A. N.; Malik, K. U.; Tunctan, B., Piroxicam reverses endotoxin-induced hypotension in rats: contribution of vasoactive eicosanoids and nitric oxide. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* **2011**, 109, (3), 186-194.
- [50]. Cuez, T.; Korkmaz, B.; Buharalioglu, C. K.; Sahan-Firat, S.; Falck, J.; Malik, K. U.; Tunctan, B., A synthetic analogue of 20-HETE, 5,14-HEDGE, reverses endotoxin-induced hypotension via increased 20-HETE levels associated with decreased iNOS protein expression and vasodilator prostanoid production in rats. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* **2010**, 106, (5), 378-388.
- [51]. Korkmaz, B.; Buharalioglu, K.; Sahan-Firat, S.; Cuez, T.; Demiryurek, A. T.; Tunctan, B., Activation of MEK1/ERK1/2/iNOS/sGC/PKG pathway associated with peroxynitrite formation contributes to hypotension and vascular hyporeactivity in endotoxemic rats. *Nitric Oxide* **2011**, 24, (3), 160-172.
- [52]. Korkmaz, B.; Cuez, T.; Buharalioglu, C. K.; Demiryurek, A. T.; Sahan-Firat, S.; Sari, A. N.; Tunctan, B., Contribution of MEK1/ERK1/2/iNOS pathway to oxidative stress and decreased caspase-3 activity in endotoxemic rats. *Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry* **2012**, 11, (3), 243-252.
- [53]. Tunctan, B.; Yaghini, F. A.; Estes, A.; Malik, K. U., Inhibition by nitric oxide of cytochrome P450 4A activity contributes to endotoxin-induced hypotension in rats. *Nitric Oxide* **2006**, 14, (1), 51-57.
- [54]. Tunctan, B.; Korkmaz, B.; Dogruer, Z. N.; Tamer, L.; Atik, U.; Buharalioglu, C. K., Inhibition of extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) activity reverses endotoxin-induced hypotension via decreased nitric oxide production in rats. *Pharmacological Research* **2007**, 56, (1), 56-64.

- [55]. Tunctan, B.; Yaghini, F. A.; Estes, A.; Malik, K. U., Prostaglandins inhibit cytochrome P450 4A activity and contribute to endotoxin-induced hypotension in rats via nitric oxide production. *Archives of Pharmacal Research* **2008**, 31, (7), 856-865.
- [56]. Tunctan, B.; Korkmaz, B.; Cuez, T.; Buharalioglu, C. K.; Sahan-Firat, S.; Falck, J.; Malik, K. U., Contribution of vasoactive eicosanoids and nitric oxide production to the effect of selective cyclooxygenase-2 inhibitor, NS-398, on endotoxin-induced hypotension in rats. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* **2010**, 107, (5), 877-882.
- [57]. Tunctan, B.; Korkmaz, B.; Sari, A. N.; Kacan, M.; Unsal, D.; Serin, M. S.; Buharalioglu, C. K.; Sahan-Firat, S.; Cuez, T.; Schunck, W. H.; Manthathi, V. L.; Falck, J. R.; Malik, K. U., Contribution of iNOS/sGC/PKG pathway, COX-2, CYP4A1, and gp91(phox) to the protective effect of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, against vasodilation, hypotension, tachycardia, and inflammation in a rat model of septic shock. *Nitric Oxide* **2013**, 33, (6), 18-41.
- [58]. Tunctan, B.; Sari, A. N.; Kacan, M.; Unsal, D.; Buharalioglu, C. K.; Sahan-Firat, S.; Korkmaz, B.; Falck, J. R.; Malik, K. U., NS-398 reverses hypotension in endotoxemic rats: contribution of eicosanoids, NO, and peroxyxynitrite. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators* **2013**, 104-105, (3), 93-108.
- [59]. Sari, A. N.; Korkmaz, B.; Serin, M. S.; Kacan, M.; Unsal, D.; Buharalioglu, C. K.; Sahan-Firat, S.; Manthathi, V. L.; Falck, J. R.; Malik, K. U.; Tunctan, B., Effects of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, on lipopolysaccharide-induced changes in MyD88/TAK1/IKK β /I κ B- α /NF- κ B pathway and circulating miR-150, miR-223, and miR-297 levels in a rat model of septic shock. *Inflammation Research* **2014**, 63, (9), 741-756.
- [60]. Senol, S. P.; Temiz, M.; Guden, D. S.; Cecen, C.; Sari, A. N.; Sahan-Firat, S.; Falck, J. R.; Dakarapu, R.; Malik, K. U.; Tunctan, B., Contribution of PPAR α / β / γ , AP-1, importin- α 3, and RXR α to the protective effect of 5,14-HEDGE, a 20-HETE mimetic, against hypotension, tachycardia, and inflammation in a rat model of septic shock. *Inflammation Research* **2016**, 65, (5), 367-387.
- [61]. Tunctan, B.; Korkmaz, B.; Buharalioglu, C. K.; Firat, S. S.; Anjaiah, S.; Falck, J.; Roman, R. J.; Malik, K. U., A 20-hydroxyeicosatetraenoic acid agonist, N-[20-hydroxyeicosa-5(Z),14(Z)-dienoyl]glycine, opposes the fall in blood pressure and vascular reactivity in endotoxin-treated rats. *Shock* **2008**, 30, (3), 329-335.
- [62]. Tunctan, B.; Kucukkavruk, S. P.; Temiz-Resitoglu, M.; Guden, D. S.; Sari, A. N.; Sahan-Firat, S.; Paudyal, M. P.; Falck, J. R.; Malik, K. U., Inhibition of NLRP3 inflammasome contributes to protective effect of 5,14-HEDGE against lipopolysaccharide-induced septic shock. *International Journal of Pharmacology* **2017**, 13, (6), 654-666.

- [63]. De Backer, D.; Ricottilli, F.; Ospina-Tascon, G. A., Septic shock: a microcirculation disease. *Current Opinion in Anesthesiology* **2021**, 34, (2), 85-91.
- [64]. Imig, J. D., Eicosanoid blood vessel regulation in physiological and pathological states. *Clinical Science* **2020**, 134, (20), 2707-2727.
- [65]. Porrini, C.; Ramarao, N.; Tran, S. L., Dr. NO and Mr. Toxic - the versatile role of nitric oxide. *Biological Chemistry* **2020**, 401, (5), 547-572.
- [66]. Ratnani, I.; Ochani, R. K.; Shaikh, A.; Jatoi, H. N., Vasoplegia: a review. *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal* **2023**, 19, (4), 38-47.
- [67]. Wang, T.; Fu, X.; Chen, Q.; Patra, J. K.; Wang, D.; Wang, Z.; Gai, Z., Arachidonic acid metabolism and kidney inflammation. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, 20, (15), 3683.
- [68]. Sahan-Firat, S.; Temiz-Resitoglu, M.; Guden, D. S.; Senol, S. P.; Sari, A. N.; Cil, M.; Unsal, D.; Korkmaz, B.; Tunctan, B.; Malik, K. U.; Buharalioglu, C. K., NF- κ B activation mediates LPS-or zymosan-induced hypotension and inflammation reversed by BAY61-3606, a selective Syk inhibitor, in rat models of septic and non-septic shock. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **2019**, 46, (2), 173-182.
- [69]. Temiz-Resitoglu, M.; Kucukkavruk, S. P.; Guden, D. S.; Cecen, P.; Sari, A. N.; Tunctan, B.; Gorur, A.; Tamer-Gumus, L.; Buharalioglu, C. K.; Malik, K. U.; Sahan-Firat, S., Activation of mTOR/I κ B- α /NF- κ B pathway contributes to LPS-induced hypotension and inflammation in rats. *European Journal of Pharmacology* **2017**, 802, 7-19.
- [70]. Tunctan, B.; Korkmaz, B.; Yildirim, H.; Tamer, L.; Atik, U.; Buharalioglu, C. K., Increased production of nitric oxide contributes to renal oxidative stress in endotoxemic rat. *American Journal of Infectious Diseases* **2005**, 1, (2), 111-115.
- [71]. Tunctan, B.; Kucukkavruk, S. P.; Temiz-Resitoglu, M.; Guden, D. S.; Sari, A. N.; Sahan-Firat, S., Bexarotene, a selective RXR α agonist, reverses hypotension associated with inflammation and tissue injury in a rat model of septic shock. *Inflammation* **2018**, 41, (1), 337-355.
- [72]. Tunctan, B.; Senol, S. P.; Temiz-Resitoglu, M.; Yilmaz, D. E.; Guden, D. S.; Bahceli, O.; Horat, M. F.; Sahan-Firat, S.; Sari, A. N.; Falck, J. R.; Anugu, R. R.; Malik, K. U., Activation of GPR75 signaling pathway contributes to the effect of a 20-HETE mimetic, 5,14-HEDGE, to prevent hypotensive and tachycardic responses to lipopolysaccharide in a rat model of septic shock. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* **2022**, 80, (2), 276-293.

- [73]. Tunçtan, B.; Şenol, Ş. P.; Yılmaz, D. E.; Bahçeli, Ö.; Kara, T.; Ahmed-Reda Elosman, M., Sıçanlarda lipopolisakkarit ile oluşturulan septik şok modelinde iNOS aracılıklı hipotansiyona vasküler RIPK1/RIP3/MLKL nekrozomunun etkinleşmesi katkıda bulunmaktadır. 27. Ulusal ve 2. Uluslararası Farmakoloji Kongresi 23-26 Kasım, Antalya, Özet Kitabı, s. 106-107 (2023).
- [74]. Tunctan, B.; Altug, S.; Uludag, O.; Demirkay, B.; Abacioglu, N., Effects of cyclooxygenase inhibitors on nitric oxide production and survival in a mice model of sepsis. *Pharmacological Research* **2003**, 48, (1), 37-48.
- [75]. Davenport, A. P.; Douglas, S. A.; Fournier, A.; Giaid, A.; Krum, H.; Lambert, D. G.; Leprince, J.; MacLean, M. R.; Ohlstein, E. H.; Thomas, W. G.; Tostivint, H.; Vaudry, D.; Vaudry, H.; Webb, D. J., Urotensin receptor in GtoPdb v.2023.1. *IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE* **2023**, 2023, (1).
- [76]. Merlino, F.; Di Maro, S.; Munaim Yousif, A.; Caraglia, M.; Grieco, P., Urotensin-II ligands: an overview from peptide to nonpeptide structures. *Journal of Amino Acids* **2013**, 2013, 979016.
- [77]. Nassour, H.; Iddir, M.; Chatenet, D., Towards targeting the urotensinergic system: overview and challenges. *Trends in Pharmacological Sciences* **2019**, 40, (10), 725-734.
- [78]. Rex, D. A. B.; Suchitha, G. P.; Palollathil, A.; Kanichery, A.; Prasad, T. S. K.; Dagamajalu, S., The network map of urotensin-II mediated signaling pathway in physiological and pathological conditions. *Cell Communication and Signaling* **2022**, 16, (4), 601-608.
- [79]. Tsoukas, P.; Kane, E.; Giaid, A., Potential clinical implications of the urotensin II receptor antagonists. *Frontiers in Pharmacology* **2011**, 22, (2), 38.
- [80]. Vaudry, H.; Leprince, J.; Chatenet, D.; Fournier, A.; Lambert, D. G.; Le Mével, J. C.; Ohlstein, E. H.; Schwertani, A.; Tostivint, H.; Vaudry, D., International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCII. Urotensin II, urotensin II-related peptide, and their receptor: from structure to function. *Pharmacological Reviews* **2015**, 67, (1), 214-258.
- [81]. Ames, R. S.; Sarau, H. M.; Chambers, J. K.; Willette, R. N.; Aiyar, N. V.; Romanic, A. M.; Loudon, C. S.; Foley, J. J.; Sauermelch, C. F.; Coatney, R. W.; Ao, Z.; Disa, J.; Holmes, S. D.; Stadel, J. M.; Martin, J. D.; Liu, W. S.; Glover, G. I.; Wilson, S.; McNulty, D. E.; Ellis, C. E.; Elshourbagy, N. A.; Shabon, U.; Trill, J. J.; Hay, D. W.; Ohlstein, E. H.; Bergsma, D. J.; Douglas, S. A., Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature* **1999**, 401, 282-286.
- [82]. Marchese, A.; Heiber, M.; Nguyen, T.; Heng, H. H.; Saldivia, V. R.; Cheng, R.; Murphy, P. M.; Tsui, L. C.; Shi, X.; Gregor, P.; George, S. R.; O'dowd, B. F.; Docherty, J. M., Cloning and chromosomal mapping of three novel genes, GPR9, GPR10, and GPR14, encoding receptors related to interleukin 8, neuropeptide Y, and somatostatin receptors. *Genomics* **1995**, 29, (2), 335-344.

- [83]. Tal, M.; Ammar, D. A.; Karpuij, M.; Krizhanovsky, V.; Naim, M.; Thompson, D. A., A novel putative neuropeptide receptor expressed in neural tissue, including sensory epithelia. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1995**, 209, (2): 752-759.
- [84]. Doan, N. D.; Nguyen, T. T.; Létourneau, M.; Turcotte, K.; Fournier, A.; Chatenet, D., Biochemical and pharmacological characterization of nuclear urotensin-II binding sites in rat heart. *British Journal of Pharmacology* **2012**, 166, 243-257.
- [85]. Nguyen, T. T.; Létourneau, M.; Chatenet, D.; Fournier, A., Presence of urotensin-II receptors at the cell nucleus: specific tissue distribution and hypoxia-induced modulation. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **2012**, 44, 639-647.
- [86]. Liu, Q.; Pong, S. S.; Zeng, Z.; Zhang, Q.; Howard, A. D.; Williams, D. L.; Davidoff, M.; Wang, R.; Austin, C. P.; McDonald, T. P.; Bai, C.; George, S. R.; Evans, J. F.; Caskey, C. T., Identification of urotensin II as the endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPR14. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1999**, 266, 174-178.
- [87]. Mori, M.; Sugo, T.; Abe, M.; Shimomura, Y.; Kurihara, M.; Kitada, C.; Kikuchi, K.; Shintani, Y.; Kurokawa, T.; Onda, H.; Nishimura, O.; Fujino, M., Urotensin II is the endogenous ligand of a G-protein-coupled orphan receptor, SENR (GPR14). *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1999**, 265, (1), 123-129.
- [88]. Nothacker, H. P.; Wang, Z.; McNeill, A. M.; Saito, Y.; Merten, S.; O'Dowd, B.; Duckles, S. P.; Civelli, O., Identification of the natural ligand of an orphan G-protein-coupled receptor involved in the regulation of vasoconstriction. *Nature Cell Biology* **1999**, 1, (6), 383-385.
- [89]. Maguire, J. J.; Kuc, R. E.; Wiley, K. E.; Kleinz, M. J.; Davenport, A. P., Cellular distribution of immunoreactive urotensin-II in human tissues with evidence of increased expression in atherosclerosis and a greater constrictor response of small compared to large coronary arteries. *Peptides* **2004**, 25, 1767-1774.
- [90]. Matsushita, M.; Shichiri, M.; Imai, T.; Iwashina, M.; Tanaka, H.; Takasu, N.; Hirata, Y., Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *Journal of Hypertension* **2001**, 19, 2185-2190.
- [91]. Zhu, Y. C.; Zhu, Y. Z.; Moore, P. K., The role of urotensin II in cardiovascular and renal physiology and diseases. *British Journal of Pharmacology* **2006**, 148, 884-901.
- [92]. Pereira-Castro, J.; Brás-Silva, C.; Fontes-Sousa, A. P., Novel insights into the role of urotensin II in cardiovascular disease. *Drug Discovery Today* **2019**, 24, (11), 2170-2180.
- [93]. Sun, S. L.; Liu, L. M., Urotensin II: an inflammatory cytokine. *Journal of Endocrinology* **2019**, JOE-18-0505.R2.

- [94]. Douglas, S. A.; Sulpizio, A. C.; Piercy, V.; Sarau, H. M.; Ames, R. S.; Aiyar, N. V.; Ohlstein, E. H.; Willette, R. N., Differential vasoconstrictor activity of human urotensin-II in vascular tissue isolated from the rat, mouse, dog, pig, marmoset and cynomolgus monkey. *British Journal of Pharmacology* **2000**, 131, 1262-1274.
- [95]. Hillier, C.; Berry, C.; Petrie, M. C.; O'Dwyer, P. J.; Hamilton, C.; Brown, A.; McMurray, J., Effects of urotensin II in human arteries and veins of varying caliber. *Circulation* **2001**, 13, 1378-1381.
- [96]. Stirrat, A.; Gallagher, M.; Douglas, S. A.; Ohlstein, E. H.; Berry, C.; Kirk, A.; Richardson, M.; MacLean, M. R., Potent vasodilator responses to human urotensin-II in human pulmonary and abdominal resistance arteries. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **2001**, 280, 925-928.
- [97]. Desai, N.; Sajjad, J.; Frishman, W. H., Urotensin II: a new pharmacologic target in the treatment of cardiovascular disease. *Cardiology in Review* **2008**, 16, (3), 142-153.
- [98]. Bottrill, F. E.; Douglas, S. A.; Hiley, C. R.; White, R., Human urotensin-II is an endothelium-dependent vasodilator in rat small arteries. *British Journal of Pharmacology* **2000**, 130, 1865-1870.
- [99]. Camarda, V.; Rizzi, A.; Calò, G.; Gendron, G.; Perron, S. I.; Kostenis, E.; Zamboni, P.; Mascoli, F.; Regoli, D., Effects of human urotensin II in isolated vessels of various species; comparison with other vasoactive agents. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **2002**, 365, 141-149.
- [100]. Douglas, S. A.; Ohlstein, E. H., Human urotensin-II, the most potent mammalian vasoconstrictor identified to date, as a therapeutic target for the management of cardiovascular disease. *Trends in Cardiovascular Medicine* **2000**, 10, (6), 229-237.
- [101]. Gardiner, S. M.; March, J. E.; Kemp, P. A.; Maguire, J. J.; Kuc, R. E.; Davenport, A. P.; Bennett, T., Regional heterogeneity in the haemodynamic responses to urotensin II infusion in relation to UT receptor localisation. *British Journal of Pharmacology* **2006**, 147, 612-621.
- [102]. Gibson, A., Complex effects of *Gillichthys* urotensin II on rat aortic strips. *British Journal of Pharmacology* **1987**, 91, 205-212.
- [103]. Gray, G. A.; Jones, M. R.; Sharif, I., Human urotensin II increases coronary perfusion pressure in the isolated rat heart. Potentiation by nitric oxide synthase and cyclooxygenase inhibition. *Life Sciences* **2001**, 69, 175-180.
- [104]. Ishihata, A.; Ogaki, T.; Aita, T.; Katano, Y., Role of prostaglandins in urotensin II-induced vasodilation in the coronary arteries of aged rats. *European Journal of Pharmacology* **2005**, 523, 119-126.

- [105]. Katano, Y.; Ishihata, A.; Aita, T.; Ogaki, T.; Horie, T., Vasodilator effect of urotensin II, one of the most potent vasoconstricting factors, on rat coronary arteries. *European Journal of Pharmacology* **2000**, 402, 209-211.
- [106]. Lacza, Z.; Busija, D. W., Urotensin-II is a nitric oxide-dependent vasodilator in the pial arteries of the newborn pig. *Life Sciences* **2006**, 78, 2763-2766.
- [107]. Lin, L.; Ding, W. H.; Jiang, W.; Zhang, Y. G.; Qi, Y. F.; Yuan, W. J.; Tang, C. S., Urotensin-II activates L-arginine/nitric oxide pathway in isolated rat aortic adventitia. *Peptides* **2004**, 25, (11), 1977-1984.
- [108]. MacLean, M. R.; Alexander, D.; Stirrat, A.; Gallagher, M.; Douglas, S. A.; Ohlstein, E. H.; Morecroft, I.; Pollard, K., Contractile response to human urotensin-II in rat and human pulmonary arteries: effect of chronic hypoxia in the rat. *British Journal of Pharmacology* **2000**, 130, 201-204.
- [109]. Zhang, A. Y.; Chen, Y. F.; Zhang, D. X.; Yi, F. X.; Qi, J.; Andrade-Gordon, P.; de Garavilla, L.; Li, P. L.; Zou, A. P., Urotensin II is a nitric oxide-dependent vasodilator and natriuretic peptide in the rat kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* **2003**, 385, F792-F798.
- [110]. Baldwin, A. S., The NF-kappaB and I kappa-B proteins: new discoveries and insights. *Annual Review of Immunology* **1996**, 14, 649-683.
- [111]. Dong, X.; Ye, X.; Song, N.; Zhao, J.; Di, B.; Peng, F.; Tang, C.; Ding, W., Urotensin II promotes the production of LTC₄ in rat aortic adventitial fibroblasts through NF-κB-5-LO pathway by p38 MAPK and ERK activations. *Heart and Vessels* **2013**, 28, 514-523.
- [112]. Lee, J. C.; Laydon, J. T.; McDonnell, P. C.; Gallagher, T. F.; Kumar, S.; Green, D.; McNulty, D.; Blumenthal, M. J.; Heys, J. R.; Landvatter, S. W.; Strickler, J. E.; McLaughlin, M. M.; Siemens, I. R.; Fisher, S. M.; Livi, G. P.; White, J. R.; Adams, J. L.; Young, P. R., A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis. *Nature* **1994**, 372, 739-746.
- [113]. Lee, C. Y.; Tsai, Y. T.; Loh, S. H.; Liu, J. C.; Chen, T. H.; Chao, H. H.; Cheng, T. H.; Chen, J. J., Urotensin II induces interleukin 8 expression in human umbilical vein endothelial cells. *PLoS One* **2014**, 9, e90278.
- [114]. Liang, D. Y.; Liu, L. M.; Ye, C. G.; Zhao, L.; Yu, F. P.; Gao, D. Y.; Wang, Y. Y.; Yang, Z. W.; Wang, Y. Y., Inhibition of UII/UTR system relieves acute inflammation of liver through preventing activation of NF-κB pathway in ALF mice. *PLoS One* **2013**, 8, e64895.
- [115]. Liu, L. M.; Liang, D. Y.; Ye, C. G.; Tu, W. J.; Zhu, T., The UII/UT system mediates upregulation of proinflammatory cytokines through p38 MAPK and NF-κB pathway in LPS-stimulated Kupffer cells. *PLoS One* **2015**, 10, e0121383.

- [116]. Liu, L. M.; Zhao, L.; Liang, D. Y.; Yu, F. P.; Ye, C. G.; Tu, W. J.; Zhu, T., Effects of urotensin-II on cytokines in early acute liver failure in mice. *World Journal of Gastroenterology* **2015**, 21, 3239-3244.
- [117]. Liu, D. G.; Chen, J.; Wang, H. X, Li, B. X., Increased expression of urotensin II is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Oncology Letters* **2016**, 12, 4961-4968.
- [118]. Liu, L. M.; Tu, W. J.; Zhu, T.; Wang, X. T., Tan, Z. L.; Zhong, H.; Gao, D. Y.; Liang, D. Y., IRF3 is an important molecule in the UII/UT system and mediates immune inflammatory injury in acute liver failure. *Oncotarget* **2016**, 7, 49027-49041.
- [119]. Djordjevic, T.; BelAiba, R. S.; Bonello, S.; Pfeilschifter, J.; Hess, J.; Görlach, A., Human urotensin II is a novel activator of NADPH oxidase in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **2005**, 25, 519-525.
- [120]. Sauzeau, V.; Le Mellionnec, E.; Bertoglio, J.; Scalbert, E.; Pacaud, P.; Loirand, G., Human urotensin II-induced contraction and arterial smooth muscle cell proliferation are mediated by RhoA and Rho-kinase. *Circulation Research* **2001**, 88, 1102-1104.
- [121]. Tamura, K.; Okazaki, M.; Tamura, M.; Isozumi, K.; Tasaki, H.; Nakashima, Y., Urotensin II-induced activation of extracellular signal regulated kinase in cultured vascular smooth muscle cells: involvement of cell adhesion-mediated integrin signaling. *Life Sciences* **2003**, 72, 1049-1060.
- [122]. Tsai, C. S.; Loh, S. H.; Liu, J. C.; Lin, J. W.; Chen, Y. L.; Chen, C. H.; Cheng, T. H., Urotensin II-induced endothelin-1 expression and cell proliferation via epidermal growth factor receptor transactivation in rat aortic smooth muscle cells. *Atherosclerosis* **2009**, 206, (1), 86-94.
- [123]. Guidolin, D.; Albertin, G.; Oselladore, B.; Sorato, E.; Rebuffat, P.; Mascarin, A.; Ribatti, D., The pro-angiogenic activity of urotensin-II on human vascular endothelial cells involves ERK1/2 and PI3K signaling pathways. *Regulatory Peptides* **2010**, 162, 26-32.
- [124]. Gruson, D.; Ginion, A.; Decroly, N.; Lause, P.; Vanoverschelde, J. L.; Ketelslegers, J. M.; Bertrand, L.; Thissen, J. P., Urotensin II induction of adult cardiomyocytes hypertrophy involves the Akt/GSK-3 β signaling pathway. *Peptides* **2010**, 31, 1326-1333.
- [125]. Onan, D.; Pipolo, L.; Yang, E.; Hannan, R. D.; Thomas, W. G., Urotensin II promotes hypertrophy of cardiac myocytes via mitogen-activated protein kinases. *Molecular Endocrinology* **2004**, 18, 2344-2354.
- [126]. Shi, H.; Han, Q.; Xu, J.; Liu, W.; Chu, T.; Zhao, L., Urotensin II induction of neonatal cardiomyocyte hypertrophy involves the CaMKII/PLN/SERCA 2a signaling pathway. *Gene* **2016**, 583, 8-14.

- [127]. Xu, J.; Han, Q.; Shi, H.; Liu, W.; Chu, T.; Li, H., Role of PKA in the process of neonatal cardiomyocyte hypertrophy induced by urotensin II. *International Journal of Molecular Medicine* **2017**, 40, 499-504.
- [128]. Svistunov, A. A.; Tarasov, V. V.; Shakhmardanova, S. A.; Sologova, S. S.; Bagaturiya, E. T.; Chubarev, V. N.; Galenko-Yaroshevsky, P. A.; Avila-Rodriguez, M. F.; Barreto, G. E.; Aliev, G., Urotensin II: molecular mechanisms of biological activity. *Current Protein and Peptide Science* **2018**, 19, (9), 924-934.
- [129]. Cosenzi, A., Non peptidic urotensin II antagonists: perspectives for a new class of drugs. *Cardiovascular and Hematological Agents in Medicinal Chemistry* **2008**, 6, (2), 80-91.
- [130]. Behm, D. J.; Stankus, G.; Doe, C. P.; Willette, R. N.; Sarau, H. M.; Foley, J. J.; Schmidt, D. B.; Nuthulaganti, P.; Fornwald, J. A.; Ames, R. S.; Lambert, D. G.; Calo', G.; Camarda, V.; Aiyar, N. V.; Douglas, S. A., The peptidic urotensin-II receptor ligand GSK248451 possesses less intrinsic activity than the low-efficacy partial agonists SB-710411 and urantide in native mammalian tissues and recombinant cell systems. *British Journal of Pharmacology* **2006**, 148, (2), 173-190.
- [131]. Brule, C.; Perzo, N.; Joubert, J. E.; Sainsily, X.; Leduc, R.; Castel, H.; Prézeau, L., Biased signaling regulates the pleiotropic effects of the urotensin II receptor to modulate its cellular behaviors. *FASEB Journal* **2014**, 28, 5148-5162.
- [132]. Patacchini, R.; Santicioli, P.; Giuliani, S.; Grieco, P.; Novellino, E.; Rovero, P.; Maggi, C. A., Urantide: an ultrapotent urotensin II antagonist peptide in the rat aorta. *British Journal of Pharmacology* **2003**, 140, 1155-1158.
- [133]. Clozel, M.; Binkert, C.; Birker-Robaczewska, M.; Boukhadra, C.; Ding, S. S.; Fischli, W.; Hess, P.; Mathys, B.; Morrison, K.; Müller, C.; Müller, C.; Nayler, O.; Qiu, C.; Rey, M.; Scherz, M. W.; Velker, J.; Weller, T.; Xi, J. F.; Ziltener, P., Pharmacology of the urotensin-II receptor antagonist palosuran (ACT-058362; 1-[2-(4-benzyl-4-hydroxy-piperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-urea sulfate salt): first demonstration of a pathophysiological role of the urotensin System. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2004**, 311, (1), 204-212.
- [134]. Behm, D. J.; Herold, C. L.; Ohlstein, E. H.; Knight, S. D.; Dhanak, D.; Douglas, S. A., Pharmacological characterization of SB-710411 (Cpa-c[D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Cpa-amide), a novel peptidic urotensin-II receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology* **2002**, 137, (4), 449-458.
- [135]. Behm, D. J.; Herold, C. L.; Camarda, V.; Aiyar, N. V.; Douglas, S. A., Differential agonistic and antagonistic effects of the urotensin-II ligand SB-710411 at rodent and primate UT receptors. *European Journal of Pharmacology* **2004**, 492, (2-3), 113-116.

- [136]. Luo, S. Y.; Chen, S.; Qin, Y. D.; Chen, Z. W., Urotensin-II receptor antagonist SB-710411 protects rat heart against ischemia-reperfusion injury via RhoA/ROCK pathway. *PLoS One* **2016**, 11, (1), e0146094.
- [137]. Camarda, V.; Song, W.; Marzola, E.; Spagnol, M.; Guerrini, R.; Salvadori, S.; Regoli, D.; Thompson, J. P.; Rowbotham, D. J.; Behm, D. J.; Douglas, S. A.; Calo', G.; Lambert, D. G., Urantide mimics urotensin-II induced calcium release in cells expressing recombinant UT receptors. *European Journal of Pharmacology* **2004**, 498, (1-3), 83-86.
- [138]. Clavier, T.; Besnier, E.; Maucotel, J.; Arabo, A.; Desrues, L.; El Amki, M.; Perzo, N.; Richard, V.; Tamion, F.; Gandolfo, P.; Dubois, M.; Castel, H.; Compère, V., Urantide improves cardiac function, modulates systemic cytokine response, and increases survival in a murine model of endotoxic shock. *Shock* **2020**, 54, (4), 574-582.
- [139]. Ugan, R. A.; Cadirci, E.; Halici, Z.; Toktay, E.; Cinar, I., The role of urotensin-II and its receptors in sepsis-induced lung injury under diabetic conditions. *European Journal of Pharmacology* **2018**, 818, 457-469.
- [140]. Cadirci, E.; Ugan, R. A.; Dincer, B.; Gundogdu, B.; Cinar, I.; Akpinar, E.; Halici, Z., Urotensin receptors as a new target for CLP induced septic lung injury in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **2019**, 392, (2), 135-145.
- [141]. Nitescu, N.; Grimberg, E.; Guron, G., Urotensin-II receptor antagonism does not improve renal haemodynamics or function in rats with endotoxin-induced acute kidney injury. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **2010**, 37, (12), 1170-1175.
- [142]. Liu, D. G.; Wang, J.; Zhang, Z. T.; Wang, Y., The urotension II antagonist SB-710411 arrests fibrosis in CCL4 cirrhotic rats. *Molecular Medicine Reports* **2009**, 2, (6), 953-961.
- [143]. <https://clinicaltrials.gov> (04.05.2024).
- [144]. Lahiry, S.; Thakur, S.; Chakraborty, D. S., Advances in vasodilatory shock: a concise review. *Indian Journal of Critical Care Medicine* **2019**, 23, (10), 475-480.
- [145]. Lambden, S.; Creagh-Brown, B. C.; Hunt, J.; Summers, C.; Forni, L. G., Definitions and pathophysiology of vasoplegic shock. *Critical Care* **2018**, 22 (1), 174.
- [146]. Bone, R. C.; Balk, R. A.; Cerra, F. B.; Dellinger, R. P.; Fein, A. M.; Knaus, W. A.; Schein, R. M.; Sibbald, W. J., Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* **1992**, 101, (6), 1644-1655.

- [147]. Levy, M. M.; Fink, M. P.; Marshall, J. C.; Abraham, E.; Angus, D.; Cook, D.; Cohen, J.; Opal, S. M.; Vincent, J. L.; Ramsay, G.; SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS, International Sepsis Definitions Conference. *Critical Care Medicine* **2003**, 31, 1250-1256.
- [148]. Copotoiu, S. M.; Copotoiu, R., Much ado about the new definitions of sepsis. *Journal of Critical Care Medicine* **2016**, 2, (2), 67-72.
- [149]. Kaukonen, K. M.; Bailey, M.; Pilcher, D.; Cooper, D. J.; Bellomo, R., Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *New England Journal of Medicine* **2015**, 372, (17), 1629-1638.
- [150]. Vincent, J. L.; Opal, S. M.; Marshall, J. C.; Tracey, K. J., Sepsis definitions: time for change. *Lancet* **2013**, 381, (9868), 774-775.
- [151]. Fleischmann, C.; Scherag, A.; Adhikari, N. K. J.; Hartog, C. S.; Tsaganos, T.; Schlattmann, P.; Angus, D. C.; Reinhart, K., Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **2015**, 193, 259-272.
- [152]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240010789> (15.04.2024).
- [153]. Li, D.; Yang, Y.; Xie, Y.; Wang, J.; Xu, W.; Wang, J.; Hang, X., Evaluation of the diagnostic effectiveness of next generation sequencing in sepsis etiology: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Infection in Developing Countries* **2023**, 17, (12), 1667-1673.
- [154]. Weiss, S. L.; Peters, M. J.; Alhazzani, W.; Agus, M. S. D.; Flori, H. R.; Inwald, D. P.; Nadel, S.; Schlapbach, L. J.; Tasker, R. C.; Argent, A. C.; Brierley, J.; Carcillo, J.; Carrol, E. D.; Carroll, C. L.; Cheifetz, I. M.; Choong, K.; Cies, J. J.; Cruz, A. T.; De Luca, D.; Deep, A.; Faust, S. N.; De Oliveira, C. F.; Hall, M. W.; Ishimine, P.; Javouhey, E.; Joosten, K. F. M.; Joshi, P.; Karam, O.; Kneyber, M. C. J.; Lemson, J.; MacLaren, G.; Mehta, N. M.; Møller, M. H.; Newth, C. J. L.; Nguyen, T. C.; Nishisaki, A.; Nunnally, M. E.; Parker, M. M.; Paul, R. M.; Randolph, A. G.; Ranjit, S.; Romer, L. H.; Scott, H. F.; Tume, L. N.; Verger, J. T.; Williams, E. A.; Wolf, J.; Wong, H. R.; Zimmerman, J. J.; Kissoon, N.; Tissieres, P., Surviving Sepsis Campaign International Guidelines for the Management of Septic Shock and Sepsis-Associated Organ Dysfunction in Children. *Pediatric Critical Care Medicine* **2020**, 21, (2), e52-e106.
- [155]. Bern, H. A.; Lederis, K., A reference preparation for the study of active substances in the caudal neurosecretory system of teleosts. *Journal of Endocrinology* **1969**, 45, (1), Suppl: xi-xii.
- [156]. Pearson, D.; Shively, J. E.; Clark, B. R.; Geschwind, I. I.; Barkley, M.; Nishioka, R. S.; Bern, H. A., Urotensin II: a somatostatin-like peptide in the caudal neurosecretory system of fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1980**, 77, (8), 5021-5024.

- [157]. Ohsako, S.; Ishida, I.; Ichikawa, T.; Deguchi, T., Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding precursors of urotensin II-alpha and -gamma. *Journal of Neuroscience* **1986**, 6, (9), 2730-2735
- [158]. Coulouarn, Y.; Lihrmann, I.; Jegou, S.; Anouar, Y.; Tostivint, H.; Beauvillain, J. C.; Conlon, J. M.; Bern, H. A.; Vaudry, H., Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1998**, 95, (26); 15803-15808.
- [159]. Coulouarn, Y.; Jégou, S.; Tostivint, H.; Vaudry, H.; Lihrmann, I., Cloning, sequence analysis and tissue distribution of the mouse and rat urotensin II precursors. *FEBS Letters* **1999**, 457, (1), 28-32.
- [160]. Sugo, T.; Murakami, Y.; Shimomura, Y.; Harada, M.; Abe, M.; Ishibashi, Y.; Kitada, C.; Miyajima, N.; Suzuki, N.; Mori, M.; Fujino M., Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2003**, 310, 860-868.
- [161]. Sugo, T.; Mori, M., Another ligand fishing for G protein-coupled receptor 14. Discovery of urotensin II-related peptide in the rat brain. *Peptides* **2008**, 29, (5), 809-812.
- [162]. Dubessy, C.; Cartier, D.; Lectez, B.; Bucharles, C.; Chartrel, N.; Montero-Hadjadje, M.; Bizet, P.; Chatenet, D.; Tostivint, H.; Scalbert, E.; Leprince, J.; Vaudry, H.; Jégou, S.; Lihrmann, I., Characterization of urotensin II, distribution of urotensin II, urotensin II-related peptide and UT receptor mRNAs in mouse: evidence of urotensin II at the neuromuscular junction. *Journal of Neurochemistry* **2008**, 107, 361-374.
- [163]. Konno, N.; Fujii, Y.; Imae, H.; Kaiya, H.; Mukuda, T.; Miyazato, M.; Matsuda, K.; Uchiyama, M., Urotensin II receptor (UTR) exists in hyaline chondrocytes: a study of peripheral distribution of UTR in the African clawed frog, *Xenopus laevis*. *General and Comparative Endocrinology* **2013**, 185, 44-56.
- [164]. Quan, F. B.; Bougerol, M.; Rigour, F.; Kenigfest, N. B.; Tostivint, H., Characterization of the true ortholog of the urotensin II-related peptide (URP) gene in teleosts. *General and Comparative Endocrinology* **2012**, 177, 205-212.
- [165]. Tostivint, H.; Joly, L.; Lihrmann, I.; Parmentier, C.; Lebon, A.; Morisson, M.; Calas, A.; Ekker, M.; Vaudry, H., Comparative genomics provides evidence for close evolutionary relationships between the urotensin II and somatostatin gene families. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, 103, 2237-2242.

- [166]. Vaudry, H.; Do Rego, J. C.; Le Mével, J. C.; Chatenet, D.; Tostivint, H.; Fournier, A.; Tonon, M. C.; Pelletier, G.; Conlon, J. M.; Leprince, J., Urotensin II, from fish to human. *Annals of the New York Academy of Sciences* **2010**, 1200, 53-66.
- [167]. Elshourbagy, N. A.; Douglas, S. A.; Shabon, U.; Harrison, S.; Duddy, G.; Sechler, J. L.; Ao, Z.; Maleeff, B. E.; Naselsky, D.; Disa, J.; Aiyar, N. V., Molecular and pharmacological characterization of genes encoding urotensin-II peptides and their cognate G-protein-coupled receptors from the mouse and monkey. *British Journal of Pharmacology* **2002**, 136, (1), 9-22.
- [168]. Protopopov, A.; Kashuba, V.; Podowski, R.; Gizatullin, R.; Sonnhammer, E.; Wahlestedt, C.; Zabarovsky, E. R., Assignment of the GPR14 gene coding for the Gprotein-coupled receptor 14 to human chromosome 17q25.3 by fluorescent in situ hybridization. *Cytogenetics and Cell Genetics* **2000**, 88, 312-313.
- [169]. Chartrel, N., Leprince, J.; Dujardin, C.; Chatenet, D.; Tollemer, H.; Baroncini, M.; Balment, R. J.; Beauvillain, J. C.; Vaudry, H., Biochemical characterization and immunohistochemical localization of urotensin II in the human brainstem and spinal cord. *Journal of Neurochemistry* **2004**, 91, (1), 110-118.
- [170]. Dschietzig, T.; Bartsch, C.; Pregla, R.; Zurbrügg, H. R.; Armbruster, F. P.; Richter, C.; Laule, M.; Romeyke, E.; Neubert, C.; Voelter, W.; Baumann, G.; Stangl, K., Plasma levels and cardiovascular gene expression of urotensin-II in human heart failure. *Regulatory Peptides* **2002**, 110, 33-38.
- [171]. Maguire, J. J.; Kuc, R. E.; Davenport, A. P., Orphan-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *British Journal of Pharmacology* **2000**, 131, 441-446.
- [172]. Shenouda, A.; Douglas, S. A.; Ohlstein, E. H.; Giaid, A., Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* **2002**, 50, 885-889.
- [173]. Totsune, K.; Takahashi, K.; Arihara, Z.; Sone, M.; Satoh, F.; Ito, S.; Kimura, Y.; Sasano, H.; Murakami, O., Role of urotensin II in patients on dialysis. *Lancet* **2001**, 358, 810-811.
- [174]. Totsune, K.; Takahashi, K.; Arihara, Z.; Sone, M.; Ito, S.; Murakami, O., Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clinical Science* **2003**, 104, 1-5
- [175]. Paysant, J.; Rupin, A.; Simonet, S.; Fabiani, J. N.; Verbeuren, T. J., Comparison of the contractile responses of human coronary bypass grafts and monkey arteries to human urotensin-II. *Fundamental and Clinical Pharmacology* **2001**, 15, 227-231.

- [176]. Rossowski, W. J.; Cheng, B. L.; Taylor, J. E.; Datta, R.; Coy, D. H., Human urotensin II-induced aorta ring contractions are mediated by protein kinase C, tyrosine kinases and Rho-kinase: inhibition by somatostatin receptor antagonists. *European Journal of Pharmacology* **2002**, 438, 159-170.
- [177]. Saetrum Opgaard, O.; Nothacker, H.; Ehlert, F. J.; Krause, D. N., Human urotensin II mediates vasoconstriction via an increase in inositol phosphates. *European Journal of Pharmacology* **2000**, 406, 265-271.
- [178]. Tasaki, K.; Hori, M.; Ozaki, H.; Karaki, H.; Wakabayashi, I., Mechanism of human urotensin II-induced contraction in rat aorta. *Journal of Pharmacological Sciences* **2004**, 94, 376-383.
- [179]. Bennett, R. T.; Jones, R. D.; Morice, A. H.; Smith, C. F.; Cowen, M. E., Vasoconstrictive effects of endothelin-1, endothelin-3, and urotensin II in isolated perfused human lungs and isolated human pulmonary arteries. *Thorax* **2004**, 59, 401-407.
- [180]. O'Neill, L. A.; Golenbock, D.; Bowie, A. G., The history of toll-like receptors-redefining innate immunity. *Nature Reviews Immunology* **2013**, 13, 453-460.
- [181]. Wei, J.; Zhang, Y.; Li, H.; Wang, F.; Yao, S., Toll-like receptor 4: a potential therapeutic target for multiple human diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **2023**, 166, 115338.
- [182]. Lacagnina, M. J.; Watkins, L. R.; Grace, P. M., Toll-like receptors and their role in persistent pain. *Pharmacology and Therapeutics* **2018**; 184, 145-158.
- [183]. Li, Y.; Chen, X.; Zhou, M.; Feng, S.; Peng, X.; Wang, Y., Microglial TLR4/NLRP3 inflammasome signaling in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* **2024**, 97, (1), 75-88.
- [184]. Manjili, F. A.; Yousefi-Ahmadipour, A.; Arababadi, M. K., The roles played by TLR4 in the pathogenesis of multiple sclerosis; a systematic review article. *Immunology Letters* **2020**, 220, 63-70.
- [185]. Nicotra, L.; Loram, L. C.; Watkins, L. R.; Hutchinson, M. R., Toll-like receptors in chronic pain. *Experimental Neurology* **2012**, 234, (2), 316-329.
- [186]. Ren, G.; Bai, C.; Yi, S.; Cong, Q.; Zhu, Y., Mechanisms and therapeutic strategies for MAFLD targeting TLR4 signaling pathways. *Journal of Innate Immunity* **2024**, 16, (1), 45-55.
- [187]. Vallés, P. G.; Gil Lorenzo, A. F.; Garcia, R. D.; Cacciamani, V.; Benardon, M. E.; Costantino, V. V., Toll-like receptor 4 in acute kidney injury. *International Journal of Molecular Sciences* **2023**, 24, (2), 1415.
- [188]. Zheng, Y.; Gao, Y.; Zhu, W.; Bai, X. G.; Qi, J., Advances in molecular agents targeting toll-like receptor 4 signaling pathways for potential treatment of sepsis. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2024**, 268, 116300.

- [189]. Zhou, Y.; Chen, Y.; Xu, C.; Zhang, H.; Lin, C., TLR4 targeting as a promising therapeutic strategy for Alzheimer disease treatment. *Frontiers in Neuroscience* **2020**, *14*, 602508.
- [190]. Bayer, A. L.; Alcaide, P., MyD88: at the heart of inflammatory signaling and cardiovascular disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **2021**, *161*, 75-85.
- [191]. Gay, N. J., Role of self-organising myddosome oligomers in inflammatory signalling by Toll-like receptors. *BMC Biology* **2019**, *17*, 15.
- [192]. Liu, M.; Kang, W.; Hu, Z.; Wang, C.; Zhang, Y., Targeting MyD88: therapeutic mechanisms and potential applications of the specific inhibitor ST2825. *Inflammation Research* **2023**, *72*, (10-11), 2023-2036.
- [193]. Saikh, K. U., MyD88 and beyond: a perspective on MyD88-targeted therapeutic approach for modulation of host immunity. *Immunologic Research* **2021**, *69*, (2), 117-128.
- [194]. Singh, S.; Sahu, K.; Singh, C.; Singh, A., Lipopolysaccharide induced altered signaling pathways in various neurological disorders. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **2022**, *395*, (3), 285-294.
- [195]. Wang, L.; Yu, K.; Zhang, X.; Yu, S., Dual functional roles of the MyD88 signaling in colorectal cancer development. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **2018**, *107*, 177-184.
- [196]. Moncrieffe, M.C.; Bollschweiler, D.; Li, B.; Penczek, P. A.; Hopkins, L.; Bryant, C. E.; Klenerman, D.; Gay, N. J., MyD88 death-domain oligomerization determines myddosome architecture: implications for toll-like receptor signaling. *Structure* **2020**, *28*, (3), 281-289.e3.
- [197]. Li, Q.; Wang, F.; Wang, Q.; Zhang, N.; Zheng, J.; Zheng, M.; Liu, R.; Cui, H.; Wen, J.; Zhao, G., SPOP promotes ubiquitination and degradation of MyD88 to suppress the innate immune response. *PLOS Pathogens* **2020**, *16*, (5), e1008188.
- [198]. Murphy Schafer, A. R.; Smith, J. L.; Pryke, K. M.; DeFilippis, V. R.; Hirsch, A. J., The E3 ubiquitin ligase SIAH1 targets MyD88 for proteasomal degradation during dengue virus infection. *Frontiers in Microbiology* **2020**, *11*, 24.
- [199]. Liu, X.; Zhan, Z.; Li, D.; Xu, L.; Ma, F.; Zhang, P.; Yao, H.; Cao, X., Intracellular MHC class II molecules promote TLR-triggered innate immune responses by maintaining of the kinase Btk. *Nature Immunology* **2011**, *12*, 416-424.
- [200]. Yang, G.; Zhou, Y.; Liu, X.; Xu, L.; Cao, Y.; Manning, R. J.; Patterson, C. J.; Buhrlage, S. J.; Gray, N.; Tai, Y. T.; Anderson, K. C.; Hunter, Z. R.; Treon, S. P., A mutation in MYD88 (L265P) supports the survival of lymphoplasmacytic cells by activation of Bruton tyrosine kinase in Waldenström macroglobulinemia. *Blood* **2013**, *122*, (7), 1222-1232.

- [201]. Chen, T.; Huang, W.; Qian, J.; Luo, W.; Shan, P.; Cai, Y.; Lin, K.; Wu, G.; Liang, G., Macrophage-derived myeloid differentiation protein 2 plays an essential role in ox-LDL-induced inflammation and atherosclerosis. *EBioMedicine* **2020**, 53, 102706.
- [202]. Di Padova, F.; Quesniaux, V. F. J.; Ryffel, B., MyD88 as a therapeutic target for inflammatory lung diseases. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* **2018**, 22, (5), 401-408.
- [203]. Koide, N.; Odkhuu, E.; Naiki, Y.; Tsolmongyn, B.; Ito, K.; Komatsu, T.; Yoshida, T.; Yokochi, T., Augmentation of LPS-induced vascular endothelial cell growth factor production in macrophages by transforming growth factor- β 1. *Innate Immunity* **2014**, 20 (8), 816-825.
- [204]. Liu, M.; Hu, Z.; Wang, C.; Zhang, Y., The TLR/MyD88 signalling cascade in inflammation and gastric cancer: the immune regulatory network of *Helicobacter pylori*. *Journal of Molecular Medicine* **2023**, 101, (7), 767-781.
- [205]. Picard C.; Casanova, J.; Puel, A., Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or I κ Ba deficiency. *Clinical Microbiology Reviews* **2011**, 24, 490-497.
- [206]. Roshan, M. H.; Tambo, A.; Pace, N. P., The role of TLR2, TLR4, and TLR9 in the pathogenesis of atherosclerosis. *International Journal of Inflammation* **2016**, 1532832.
- [207]. Xiang, W.; Chao, Z. Y.; Feng, D. Y., Role of toll-like receptor/MYD88 signaling in neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience* **2015**, 26, (4), 407-414.
- [208]. Choi, M. C.; Jo, J.; Park, J.; Kang, H. K.; Park, Y., NF- κ B signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction. *Cells* **2019**, 8, (7), 734.
- [209]. Guo, Q.; Jin, Y.; Chen, X.; Ye, X.; Shen, X.; Lin, M.; Zeng, C.; Zhou, T.; Zhang, J., NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications. *Signal Transduction and Targeted Therapy* **2024**, 9, (1), 53.
- [210]. Prescott, J. A.; Mitchell, J. P.; Cook S. J., Inhibitory feedback control of NF- κ B signalling in health and disease. *Biochemical Journal* **2021**, 478, (13), 2619-2664.
- [211]. Thoma, A.; Lightfoot, A. P., NF- κ B and inflammatory cytokine signalling: role in skeletal muscle atrophy. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **2018**, 1088, 267-279.
- [212]. Albensi, B. C., What is nuclear factor kappa B (NF- κ B) doing in and to the mitochondrion? *Frontiers in Cell and Developmental Biology* **2019**, 7, 154.
- [213]. Mitchell, S.; Vargas, J.; Hoffmann, A., Signaling via the NF κ B system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* **2016**, 8, (3), 227-241.
- [214]. Dorrington, M. G.; Fraser, I. D. C., NF- κ B signaling in macrophages: dynamics, crosstalk, and signal integration. *Frontiers in Immunology* **2019**, 10, 705.

- [215]. Durand, J. K.; Baldwin, A. S., Targeting IKK and NF- κ B for therapy. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* **2017**, 107, 77-115.
- [216]. Liu, T.; Zhang, L.; Joo, D.; Sun, S. C., NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy* **2017**, 2, 17023.
- [217]. Shih, V. F. S.; Tsui, R.; Caldwell, A.; Hoffmann, A., A single NF κ B system for both canonical and non-canonical signaling. *Cell Research* **2011**, 21, 86-102.
- [218]. Iwami, K.; Matsuguchi, T.; Masuda, A.; Kikuchi, T.; Musikacharoen, T.; Yoshikai, Y., Cutting edge: naturally occurring soluble form of mouse toll-like receptor 4 inhibits lipopolysaccharide signaling. *Journal of Immunology* **2000**, 165, 6682-6686.
- [219]. Carty, M.; Goodbody, R.; Schröder, M.; Stack, J.; Moynagh, P. N.; Bowie, A. G., The human adaptor SARM negatively regulates adaptor protein TRIF-dependent toll-like receptor signaling. *Nature Immunology* **2006**, 7, 1074-1081.
- [220]. Tsitsikov, E. N.; Laouini, D.; Dunn, I. F.; Sannikova, T. Y.; Davidson, L.; Alt, F. W.; Geha, R. S., TRAF1 is a negative regulator of TNF signaling: enhanced TNF signaling in TRAF1-deficient mice. *Immunity* **2001**, 15, (4), 647-657.
- [221]. Balkrishna, A.; Sinha, S.; Kumar, A.; Arya, V.; Gautam, A. K.; Valis, M.; Kuca, K.; Kumar, D.; Amarowicz, R., Sepsis-mediated renal dysfunction: pathophysiology, biomarkers and role of phytoconstituents in its management. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **2023**, 165, 115183.
- [222]. Dresselhaus, E. C.; Meffert, M. K., Cellular specificity of NF- κ B function in the nervous system. *Frontiers in immunology* **2019**, 10, 1043.
- [223]. Matsumori, A., Nuclear factor- κ B is a prime candidate for the diagnosis and control of inflammatory cardiovascular disease. *European Cardiology Review* **2023**, 18, e40.
- [224]. Millar, M. W.; Fazal, F.; Rahman, A., Therapeutic targeting of NF- κ B in acute lung injury: a double-edged sword. *Cells* **2022**, 11, (20), 3317.
- [225]. Yu, H.; Lin, L.; Zhang, Z.; Zhang, H.; Hu, H., Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. *Signal Transduction and Targeted Therapy* **2020**, 5, (1), 209.
- [226]. Cinelli, M. A.; Do, H. T.; Miley, G. P.; Silverman, R. B., Inducible nitric oxide synthase: regulation, structure, and inhibition. *Medicinal Research Reviews* **2020**, 40, (1), 58-189.
- [227]. Clemente, G. S.; van Waarde, A.; Antunes, I. F.; Dömling, A.; Elsinga, P. H., Arginase as a potential biomarker of disease progression: a molecular imaging perspective. *International Journal of Molecular Sciences* **2020**, 21, (15), 5291.

- [228]. Hosseini, N.; Kourosh-Arami, M.; Nadjafi, S.; Ashtari, B., Structure, distribution, regulation, and function of splice variant isoforms of nitric oxide synthase family in the nervous system. *Current Protein & Peptide Science* **2022**, 23, (8), 510-534.
- [229]. Król, M.; Kepinska, M., Human nitric oxide synthase-its functions, polymorphisms, and inhibitors in the context of inflammation, diabetes and cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences* **2020**, 22, (1), 56.
- [230]. Lee, M.; Rey, K.; Besler, K.; Wang, C.; Choy, J., Immunobiology of nitric oxide and regulation of inducible nitric oxide synthase. *Results and Problems in Cell Differentiation* **2017**, 62, 181-207.
- [231]. Minhas, R.; Bansal, Y.; Bansal, G., Inducible nitric oxide synthase inhibitors: a comprehensive update. *Medicinal Research Reviews* **2020**, 40, (3), 823-855.
- [232]. Pautz, A.; Li, H.; Kleinert, H., Regulation of NOS expression in vascular diseases. *Frontiers in Bioscience-Landmark* **2021**, 26, (5), 85-101.
- [233]. Popova, N. A.; Soodaeva, S. K.; Klimanov, I. A.; Misharin, V. M.; Temnov, A. A., Autoregulation and autoinhibition of the main NO synthase isoforms. *Sovrem Tekhnologii Medicine* **2023**, 15, (3), 53-59.
- [234]. Roy, R.; Wilcox, J.; Webb, A. J.; O'Gallagher, K., Dysfunctional and dysregulated nitric oxide synthases in cardiovascular disease: mechanisms and therapeutic potential. *International Journal of Molecular Sciences* **2023**, 24, (20), 15200.
- [235]. Tunctan, B. (2012). *Biology of nitric oxide, nitric oxide synthase inhibitors: from animal studies to clinical implications*. Kerala-India: Transworld Research Network.
- [236]. Caldwell, R. W.; Rodriguez, P. C.; Toque, H. A.; Narayanan, S. P.; Caldwell, R. B., Arginase: a multifaceted enzyme important in health and disease. *Physiological Reviews* **2018**, 98, (2), 641-665.
- [237]. Carlström, M. Nitric oxide signalling in kidney regulation and cardiometabolic health. *Nature Reviews Nephrology* **2021**, 17, (9), 575-590.
- [238]. Cziráki, A.; Lenkey, Z.; Sulyok, E.; Szokodi, I.; Koller, A., L-Arginine-nitric oxide-asymmetric dimethylarginine pathway and the coronary circulation: translation of basic science results to clinical practice. *Frontiers in Pharmacology* **2020**, 11, 569914.
- [239]. Detroja, T. S.; Samson, A. O., Virtual screening for FDA-approved drugs that selectively inhibit arginase type 1 and 2. *Molecules* **2022**, 27, (16), 5134.
- [240]. Doman, A. J.; Tommasi, S.; Perkins, M. V.; McKinnon, R. A.; Mangoni, A. A.; Nair, P. C., Chemical similarities and differences among inhibitors of nitric oxide synthase, arginase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1: implications for the design of novel enzyme inhibitors modulating the nitric oxide pathway. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2022**, 116970.

- [241]. Haines, R. J.; Pendleton, L. C.; Eichler, D. C., Argininosuccinate synthase: at the center of arginine metabolism. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology* **2011**, 2, (1), 8-23.
- [242]. Lambden, S., Bench to bedside review: therapeutic modulation of nitric oxide in sepsis-an update. *Intensive Care Medicine Experimental* **2019**, 7, (1), 64.
- [243]. Li, Z.; Wang, L.; Ren, Y.; Huang, Y.; Liu, W.; Lv, Z.; Qian, L.; Yu, Y.; Xiong, Y., Arginase: shedding light on the mechanisms and opportunities in cardiovascular diseases. *Cell Death Discovery* **2022**, 8, (1) 413.
- [244]. Martí I Líndez, A. A.; Reith, W., Arginine-dependent immune responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2021**, 78, (13), 5303-5324.
- [245]. Pudlo, M.; Demougeot, C.; Girard-Thernier, C., Arginase inhibitors: a rational approach over one century. *Medicinal Research Reviews* **2017**, 37, (3), 475-513.
- [246]. Rochette, L.; Lorin, J.; Zeller, M.; Guillard, J. C.; Lorgis, L.; Cottin, Y.; Vergely, C., Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: possible therapeutic targets? *Pharmacology and Therapeutics* **2013**, 140, (3), 239-257.
- [247]. Singh, J.; Lee, Y.; Kellum, J. A. A new perspective on NO pathway in sepsis and ADMA lowering as a potential therapeutic approach. *Critical Care* **2022**, 26, (1), 246.
- [248]. Vo, P. A.; Lad, B.; Tomlinson, J. A.; Francis, S.; Ahluwalia, A., Autoregulatory role of endothelium-derived nitric oxide (NO) on lipopolysaccharide-induced vascular inducible NO synthase expression and function. *Journal of Biological Chemistry* **2005**, 280, (8) , 7236-7243.
- [249]. Mathewson, A. M.; Wadsworth, R. M., Induction of iNOS restricts functional activity of both eNOS and nNOS in pig cerebral artery. *Nitric Oxide* **2004**, 11, (4), 331-339.
- [250]. Ehrman, R. R.; Sullivan, A. N.; Favot, M. J.; Sherwin, R. L.; Reynolds, C. A.; Abidov, A.; Levy, P. D., Pathophysiology, echocardiographic evaluation, biomarker findings, and prognostic implications of septic cardiomyopathy: a review of the literature. *Critical Care* **2018**, 22, (1), 112.
- [251]. Farah, C.; Michel, L. Y. M., Balligand, J. L. Nitric oxide signalling in cardiovascular health and disease. *Nature Reviews Cardiology* **2018**, 15, (5), 292-316.
- [252]. Lind, M.; Hayes, A.; Caprnda, M.; Petrovic, D.; Rodrigo, L.; Kruzliak, P.; Zulli, A., Inducible nitric oxide synthase: good or bad? *Biomedicine and Pharmacotherapy* **2017**, 93, 370-375.
- [253]. Mollace, R.; Scarano, F.; Bava, I.; Carresi, C.; Maiuolo, J.; Tavernese, A.; Gliozzi, M.; Musolino, V.; Muscoli, S.; Palma, E.; Muscoli, C.; Salvemini, D.; Federici, M.; Macrì, R.; Mollace, V., Modulation of the nitric oxide/cGMP pathway in cardiac contraction and relaxation: potential role in heart failure treatment. *Pharmacological Research* **2023**, 196, 106931.

- [254]. Oliveira, F. R. M. B.; Assreuy, J.; Sordi, R., The role of nitric oxide in sepsis-associated kidney injury. *Bioscience Reports* **2022**, 42, (7), BSR20220093.
- [255]. Martin, L.; Derwall, M.; Al Zoubi, S.; Zechendorf, E.; Reuter, D. A.; Thiemermann, C.; Schuerholz, T., The septic heart: current understanding of molecular mechanisms and clinical implications. *Chest* **2019**, 155, (2), 427-437.
- [256]. Pafundi, P. C.; Garofalo, C.; Galiero, R.; Borrelli, S.; Caturano, A.; Rinaldi, L.; Provenzano, M.; Salvatore, T.; De Nicola, L.; Minutolo, R.; Sasso, F. C., Role of albuminuria in detecting cardio-renal risk and outcome in diabetic subjects. *Diagnostics* **2021**, 11, (2), 290.
- [257]. Bansal, M.; Mehta, A.; Machanahalli Balakrishna, A.; Kalyan Sundaram, A.; Kanwar, A.; Singh, M.; Vallabhajosyula, S., Right ventricular dysfunction in sepsis: an updated narrative review. *Shock* **2023**, 9, (6), 829-837.
- [258]. Ceruti, T.; Frapolli, R.; Ghilardi, C.; Decio, A.; Dellavedova, G.; Tommasi, S.; Zucchetti, M.; Mangoni, A. A., Development of a HPLC-MS/MS method to assess the pharmacokinetics and tumour distribution of the dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 inhibitors ZST316 and L-257 in a xenograft model of triple-negative breast cancer in mice. *Molecules* **2023**, 28, (24), 8056.
- [259]. Ghasemi, A., Quantitative aspects of nitric oxide production from nitrate and nitrite. *EXCLI Journal* **2022**, 21, 470-486.
- [260]. Gross, C. M.; Rafikov, R.; Kumar, S.; Aggarwal, S.; Ham, P. B.; Meadows, M. L.; Cherian-Shaw, M.; Kangath, A.; Sridhar, S.; Lucas, R.; Black, S. M., Endothelial nitric oxide synthase deficient mice are protected from lipopolysaccharide induced acute lung injury. *PloS One* **2015**, 10, e0119918.
- [261]. Kumar, S.; Sun, X.; Noonepalle, S. K.; Lu, Q.; Zemskov, E.; Wang, T.; Aggarwal, S.; Gross, C.; Sharma, S.; Desai, A. A.; Hou, Y.; Dasarathy, S.; Qu, N.; Reddy, V.; Lee, S. G.; Cherian-Shaw, M.; Yuan, J. X.; Catravas, J. D.; Rafikov, R.; Garcia, J. G. N.; Black, S. M., Hyper-activation of pp60Src limits nitric oxide signaling by increasing asymmetric dimethylarginine levels during acute lung injury. *Free Radical Biology and Medicine* **2017**, 102, 217-228.
- [262]. Lee, Y.; Im, E., Regulation of miRNAs by natural antioxidants in cardiovascular diseases: focus on SIRT1 and eNOS. *Antioxidants* **2021**, 10, (3), 377.
- [263]. Lin, W.; Chen, H.; Chen, X.; Guo, C., The roles of neutrophil-derived myeloperoxidase (MPO) in diseases: the new progress. *Antioxidants* **2024**, 13, (1), 132.
- [264]. Liu, X. J.; Zhang, Z. D.; Ma, X. C., High glucose enhances LPS-stimulated human PMVEC hyperpermeability via the NO pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine* **2013**, 6, (2), 361-367.

- [265]. Luiking, Y. C.; Poeze, M.; Dejong, C. H.; Ramsay, G.; Deutz, N. E., Sepsis: an arginine deficiency state? *Critical Care Medicine* **2004**, 32, (10), 2135-2145.
- [266]. Luiking, Y. C.; Poeze, M.; Ramsay, G.; Deutz, N. E., The role of arginine in infection and sepsis. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* **2005**, 29, (1 Suppl), S70-S74.
- [267]. Luiking, Y. C.; Engelen, M. P.; Deutz, N. E., Regulation of nitric oxide production in health and disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* **2010**, 13, (1), 97-104.
- [268]. Luiking, Y. C.; Ten Have, G. A.; Wolfe, R. R.; Deutz, N. E., Arginine de novo and nitric oxide production in disease states. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **2012**, 303, (10), E1177-E1189.
- [269]. Lundberg, J. O.; Weitzberg, E., NO-synthase independent NO generation in mammals. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2010**, 396, (1), 39-45.
- [270]. Mittal, M.; Siddiqui, M. R.; Tran, K.; Reddy, S. P.; Malik, A. B., Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants and Redox Signaling* **2014**, 20, (7), 1126-1167.
- [271]. Murphy, R. B.; Tommasi, S.; Lewis, B. C.; Mangoni, A. A., Inhibitors of the hydrolytic enzyme dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): discovery, synthesis and development. *Molecules* **2016**, 21, (5), 615.
- [272]. Münzel, T.; Feil, R.; Mülsch, A.; Lohmann, S. M.; Hofmann, F.; Walter, U., Physiology and pathophysiology of vascular signaling controlled by guanosine 3',5'-cyclic monophosphate-dependent protein kinase. *Circulation* **2003**, 108, (18), 2172-2183.
- [273]. Münzel, T.; Daiber, A.; Ullrich, V.; Mülsch, A., Vascular consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling for the activity and expression of the soluble guanylyl cyclase and the cGMP-dependent protein kinase. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **2005**, 25, (8), 1551-1557.
- [274]. Patel, J. J.; Miller, K. R.; Rosenthal, C.; Rosenthal, M. D., When is it appropriate to use arginine in critical illness? *Nutrition in Clinical Practice* **2016**, 31, (4), 438-444.
- [275]. Piacenza, L.; Zeida, A.; Trujillo, M.; Radi, R., The superoxide radical switch in the biology of nitric oxide and peroxynitrite. *Physiological Reviews* **2022**, 102, (4), 1881-1906.
- [276]. Raj, V.; Natarajan, S. C. M.; Chatterjee, S.; Ramasamy, M.; Ramanujam, G. M.; Arasu, M. V.; Al-Dhabi, N. A.; Choi, K. C.; Arockiaraj, J.; Karuppiyah, K., Cholecalciferol and metformin protect against lipopolysaccharide-induced endothelial dysfunction and senescence by modulating sirtuin-1 and protein arginine methyltransferase-1. *European Journal of Pharmacology* **2021**, 912, 174531.

- [277]. Sood, A.; Singh, G.; Singh, T. G.; Gupta, K., Pathological role of the calcium-sensing receptor in sepsis-induced hypotensive shock: therapeutic possibilities and unanswered questions. *Drug Development Research* **2022**, 83, (6), 1241-1245.
- [278]. Sylvester, A. L.; Zhang, D. X.; Ran, S.; Zinkevich, N. S., Inhibiting NADPH oxidases to target vascular and other pathologies: an update on recent experimental and clinical studies. *Biomolecules* **2022**, 12, (6), 823.
- [279]. Vermot, A.; Petit-Härtlein, I.; Smith, S. M. E.; Fieschi, F., NADPH oxidases (NOX): an overview from discovery, molecular mechanisms to physiology and pathology. *Antioxidants* **2021**, 10, (6), 890.
- [280]. Wijnands, K. A.; Castermans, T. M.; Hommen, M. P.; Meesters, D. M.; Poeze, M., Arginine and citrulline and the immune response in sepsis. *Nutrients* **2015**, 7, (3), 1426-1463.
- [281]. Hansen, M. B., Rasmussen, L. S.; Garred, P.; Pilely, K.; Wahl, A. M.; Perner, A.; Madsen, M. B., Hedegaard, E. R.; Simonsen, U.; Hyldegaard, O., Associations of plasma nitrite, L-arginine and asymmetric dimethylarginine with morbidity and mortality in patients with necrotizing soft tissue infections. *Shock* **2018**, 49, (6), 667-674.
- [282]. Leśnik, P.; Łysenko, L.; Fleszar, M. G.; Fortuna, P.; Woźnica-Niesobska, E.; Mierzchała-Pasierb, M.; Janc, J., Measurement of serum levels of 5 amino acids and dimethylamine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry in patients without septic associated acute kidney injury and with septic associated acute kidney injury requiring continuous renal replacement therapy. *Medical Science Monitor* **2022**, 28, e937784.
- [283]. Mortensen, K. M.; Itenov, T. S.; Haase, N.; Müller, R. B.; Ostrowski, S. R.; Johansson, P. I.; Olsen, N. V.; Perner, A.; Søre-Jensen, P.; Bestle, M. H., High levels of methylarginines were associated with increased mortality in patients with severe sepsis. *Shock* **2016**, 46, (4), 365-372.
- [284]. Nakamura, T.; Sato, E.; Fujiwara, N.; Kawagoe, Y.; Suzuki, T.; Ueda, Y.; Yamada, S.; Shoji, H.; Takeuchi, M.; Ueda, S.; Matsui, T.; Adachi, H.; Okuda, S.; Yamagishi, S., Circulating levels of advanced glycation end products (AGE) and interleukin-6 (IL-6) are independent determinants of serum asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with septic shock. *Pharmacological Research* **2009**, 60, (6), 515-518.
- [285]. O'Dwyer, M. J.; Dempsey, F.; Crowley, V.; Kelleher, D. P.; McManus, R.; Ryan, T., Septic shock is correlated with asymmetrical dimethyl arginine levels, which may be influenced by a polymorphism in the dimethylarginine dimethylaminohydrolase II gene: a prospective observational study. *Critical Care* **2006**, 10, (5), R139.

- [286]. van Wijk, X. M. R.; Yun, C.; Lynch, K. L., Evaluation of biomarkers in sepsis: high dimethylarginine (ADMA and SDMA) concentrations are associated with mortality. *Journal of Applied Laboratory Medicine* **2021**, 6, (3), 592-605.
- [287]. Visser, M.; Vermeulen, M. A.; Richir, M. C.; Teerlink, T.; Houdijk, A. P.; Kostense, P. J.; Wisselink, W.; de Mol, B. A.; van Leeuwen, P. A.; Oudemans-van Straaten, H. M., Imbalance of arginine and asymmetric dimethylarginine is associated with markers of circulatory failure, organ failure and mortality in shock patients. *British Journal of Nutrition* **2012**, 107, (10), 1458-1465.
- [288]. Wang, Z.; Lambden, S.; Taylor, V.; Sujkovic, E.; Nandi, M.; Tomlinson, J.; Dyson, A.; McDonald, N.; Caddick, S.; Singer, M.; Leiper, J., Pharmacological inhibition of DDAH1 improves survival, haemodynamics and organ function in experimental septic shock. *Biochemical Journal* **2014**, 460, (2), 309-316.
- [289]. Weiss, S. L.; Yu, M.; Jennings, L.; Haymond, S.; Zhang, G.; Wainwright, M. S., Pilot study of the association of the DDAH2 -449G polymorphism with asymmetric dimethylarginine and hemodynamic shock in pediatric sepsis. *PLoS One* **2012**, 7, (3), e33355.
- [290]. Winkler, M. S.; Kluge, S.; Holzmann, M.; Moritz, E.; Robbe, L.; Bauer, A.; Zahrte, C.; Prießler, M.; Schwedhelm, E.; Böger, R. H.; Goetz, A. E.; Nierhaus, A.; Zoellner, C., Markers of nitric oxide are associated with sepsis severity: an observational study. *Critical Care* **2017**, 21, (1), 189.
- [291]. Rizo-Téllez, S. A.; Sekheri, M.; Filep, J. G., Myeloperoxidase: regulation of neutrophil function and target for therapy. *Antioxidants* **2022**, 11, (11), 2302.
- [292]. Dinarello, C. A., Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual Review of Immunology* **2009**, 27, 519-550.
- [293]. Dinarello, C. A., Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological Reviews* **2018**, 281, (1), 8-27.
- [294]. Dinarello, C.; Arend, W.; Sims, J.; Smith, D.; Blumberg, H.; O'Neill, L.; Goldbach-Mansky, R.; Pizarro, T.; Hoffman, H.; Bufler, P.; Nold, M.; Ghezzi, P.; Mantovani, A.; Garlanda, C.; Boraschi, D.; Rubartelli, A.; Netea, M.; van der Meer, J.; Joosten, L.; Mandrup-Poulsen, T.; Donath, M.; Lewis, E.; Pfeilschifter, J.; Martin, M.; Kracht, M.; Muehl, H.; Novick, D.; Lukic, M.; Conti, B.; Solinger, A.; Kelk, P.; van de Veerdonk, F.; Gabel, C., IL-1 family nomenclature. *Nature Immunology* **2010**, 11, (11), 973.
- [295]. Garlanda, C.; Dinarello, C. A.; Mantovani, A., The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity* **2013a**, 39, (6), 1003-1018.
- [296]. Garlanda, C.; Riva, F.; Bonavita, E.; Mantovani, A., Negative regulatory receptors of the IL-1 family. *Seminars in Immunology* **2013b**, 25, (6), 408-415.

- [297]. Ge, Y.; Huang, M.; Yao, Y. M., Recent advances in the biology of IL-1 family cytokines and their potential roles in development of sepsis. *Cytokine Growth Factor Reviews* **2019**, 45, 24-34.
- [298]. Sims, J. E.; Smith, D. E., The IL-1 family: regulators of immunity. *Nature Reviews Immunology* **2010**, 10, (2), 89-102.
- [299]. van de Veerdonk, F. L.; Netea, M. G., New Insights in the Immunobiology of IL-1 Family Members. *Frontiers in Immunology* **2013**, 4, 167.
- [300]. Dower, S. K.; Urdal, D. L., The interleukin-1 receptor. *Immunology Today* **1987**, 8, (2), 46-51.
- [301]. Gershewald, J. E.; Fong, Y. M.; Fahey, T. J.; Calvano, S. E.; Chizzonite, R.; Kilian, P. L.; Lowry, S. F.; Moldawer, L. L., Interleukin 1 receptor blockade attenuates the host inflammatory response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1990**, 87, (13), 4966-4970.
- [302]. Cheng, R., Wu, Z., Li, M. Meiying, Shao M.; Hu, T., Interleukin-1 β is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *International Journal of Oral Science* **2020**, 12, 2.
- [303]. Dinarello, C. A.; Ikejima, T.; Warner, S. J.; Orencole, S. F.; Lonnemann, G.; Cannon, J. G.; Libby, P., Interleukin 1 induces interleukin 1. I. Induction of circulating interleukin 1 in rabbits in vivo and in human mononuclear cells in vitro. *Journal of Immunology* **1987**, 139, (6), 1902-1910.
- [304]. Goldbach-Mansky, R.; Dailey, N. J.; Canna, S. W.; Gelabert, A.; Jones, J.; Rubin, B. I.; Kim, H. J.; Brewer, C.; Zalewski, C.; Wiggs, E.; Hill, S.; Turner, M. L.; Karp, B. I.; Aksentijevich, I.; Pucino, F.; Penzak, S. R.; Haverkamp, M. H.; Stein, L.; Adams, B. S.; Moore, T. L.; Fuhlbrigge, R. C.; Shaham, B.; Jarvis, J. N.; O'Neil, K.; Vehe, R. K.; Beitz, L. O.; Gardner, G.; Hannan, W. P.; Warren, R. W.; Horn, W.; Cole, J. L.; Paul, S. M.; Hawkins, P. N.; Pham, T. H.; Snyder, C.; Wesley, R. A.; Hoffmann, S. C.; Holland, S. M.; Butman, J. A.; Kastner, D. L., Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1 β inhibition. *New England Journal of Medicine* **2006**, 355, (6), 581-592.
- [305]. Greten, F. R.; Arkan, M. C.; Bollrath, J.; Hsu, L. C.; Goode, J.; Miething, C.; Göktuna, S. I.; Neuenhahn, M.; Fierer, J.; Paxian, S.; Van Rooijen, N.; Xu, Y.; O'Cain, T.; Jaffee, B. B.; Busch, D. H.; Duyster, J.; Schmid, R. M.; Eckmann, L.; Karin, M., NF-kappaB is a negative regulator of IL-1 β secretion as revealed by genetic and pharmacological inhibition of IKK β . *Cell* **2007**, 130, (5), 918-931.
- [306]. Murray, K. N.; Parry-Jones, A. R.; Allan, S. M., Interleukin-1 and acute brain injury. *Frontiers in Cellular Neuroscience* **2015**, 9, 18.
- [307]. Agnew, A.; Nulty, C.; Creagh, E. M., Regulation, activation and function of caspase-11 during health and disease. *International Journal of Molecular Sciences* **2021**, 22, (4), 1506.

- [308]. Al Mamun, A.; Suchi, S. A.; Aziz, M. A.; Zaeem, M.; Munir, F.; Wu, Y.; Xiao, J., Pyroptosis in acute pancreatitis and its therapeutic regulation. *Apoptosis* **2022**, 27, (7-8), 465-481.
- [309]. Aggeletopoulou, I.; Kalafateli, M.; Tsounis, E. P.; Triantos, C., Exploring the role of IL-1 β in inflammatory bowel disease pathogenesis. *Frontiers in Medicine* **2024**, 11, 1307394.
- [310]. Del Buono, M. G.; Bonaventura, A.; Vecchié, A.; Moroni, F.; Golino, M.; Bressi, E.; De Ponti, R.; Dentali, F.; Montone, R. A.; Kron, J.; Lazzarini, P. E.; Crea, F.; Abbate, A., Pathogenic pathways and therapeutic targets of inflammation in heart diseases: a focus on Interleukin-1. *European Journal of Clinical Investigation* **2024**, 54, (2), e14110.
- [311]. He, W.; Dong, H.; Wu, C.; Zhong, Y.; Li, J., The role of NLRP3 inflammasome in sepsis: A potential therapeutic target. *International Immunopharmacology* **2023**, 115, 109697.
- [312]. Melton, E.; Qiu, H., Interleukin-1 β in multifactorial hypertension: inflammation, vascular smooth muscle cell and extracellular matrix remodeling, and non-coding RNA regulation. *International Journal of Molecular Sciences* **2021**, 22, (16), 8639.
- [313]. Tylutka, A.; Walas, Ł.; Zembron-Lacny, A., Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology* **2024**, 15, 1330386.
- [314]. Zhang, C.; Peng, J.; Liu, Z.; Zhou, Q., Kidney involvement in autoinflammatory diseases. *Kidney Diseases (Basel)* **2023**, 9, (3), 157-172.
- [315]. Bermejo, A.; Zarzuelo, A.; Duarte, J., In vivo vascular effects of genistein on a rat model of septic shock induced by lipopolysaccharide. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* **2003**, 42, (3), 329-338.
- [316]. Szabó, C.; Southan, G. J.; Thiernemann, C., Beneficial effects and improved survival in rodent models of septic shock with S-methylisothiourea sulfate, a potent and selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1994**, 91, (26), 12472-12476.
- [317]. Green, L. C.; Wagner, D. A.; Glogowski, J.; Skipper, P. L.; Wishnok, J. S.; Tannenbaum, S. R., Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry* **1982**, 126, (1), 131-138.
- [318]. Tian, L.; Li, C.; Qi, J.; Fu, P.; Yu, X.; Li, X.; Cai, L., Diabetes-induced upregulation of urotensin II and its receptor plays an important role in TGF-beta1-mediated renal fibrosis and dysfunction. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **2008**, 295, (5), E1234-E1242.
- [319]. Jin, Y. H.; Li, Z. T.; Chen, H.; Jiang, X. Q.; Zhang, Y. Y.; Wu, F., Effect of dexmedetomidine on kidney injury in sepsis rats through TLR4/MyD88/NF- κ B/iNOS signaling pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* **2019**, 23, (11), 5020-5025.

[320]. Qi, C.; Shao, Y.; Liu, X.; Wang, D.; Li, X., The cardioprotective effects of icariin on the isoprenaline-induced takotsubo-like rat model: involvement of reactive oxygen species and the TLR4/NF- κ B signaling pathway. *International Immunopharmacology* **2019**, 74, 105733.



EKLER

Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 52602694-050.01.04 / 2425218
Konu : Etik Kurul Kararı

04.08/2023

Sayın Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Eczacılık Meslek Bilimleri Farmakoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi

Sorumluluğunuzda yapılması tasarlanan "Lipopolisakkarit ile sıçanlarda oluşturulan septik şok modelinde nitrik oksit aracılıklı hipotansiyona ürotensin-II reseptörünün katkısının araştırılması" adlı araştırmaya ilişkin 24/07/2023 tarihli ve 2023/34 sayılı Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

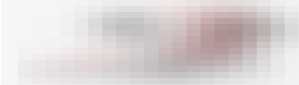
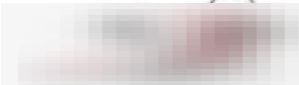
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Kurul Başkanı

EK- Kurulun 24/07/2023 tarihli ve 2023/34 sayılı kararı (1 sayfa)

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
24/07/2023	9	34

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Meslek Bilimleri Farmakoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan "Lipopolisakkarit İle Sıçanlarda Oluşturulan Septik Şok Modelinde Nitrik Oksit Aracıklı Hipotansiyona Ürotensin-II Reseptörünün Katkısının Araştırılması" adlı araştırma için hazırlanmış olan ve 19/07/2023 tarihinde sunulan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ile ilgili belgeler ve araştırmada deney hayvanları üzerinde yapılacak tüm işlemler gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın yürürlükte olan ilgili yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

	 Prof. Dr. Ali NAYCI	
Katılmadı Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN Üye	 Prof. Dr. S. N. YILMAZ Üye	 Prof. Dr. Gülhan TEMEL Üye
 Doç. Dr. Mehmet Erdem DÖNMEZ Üye	Katılmadı Doç. Dr. Nail Can ÖZTÜRK Üye	 Dr. Vet. H. Tamer YENER Üye
	 Aykan Latif DAVUT Üye	

ÖZ GEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :
Doğum Tarihi :
E-mail :

Öğrenim Durumu :

Derece	Fakülte/Enstitü	Üniversite	Yıl
Lisans	Eczacılık Fakültesi	İdlep Üniversitesi	2016-2021
Yüksek Lisans	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Mersin Üniversitesi	2021-2024

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Yıl
---	---	---

YAYINLAR (Makaleler/Bildiriler/Ödüller)

1. MAKALELER

1.1. SCI/SCI-EXPANDED kapsamında olan dergilerde

a) Araştırma makalesi

[1]. Kurt, S.; Senol, S. P.; Yılmaz, D. E.; Bahceli, O.; Ozgen, B.; Sabrie, Z.; **Elosman, M.A.**; Tunctan, B., Inhibition of RIPK1-driven necroptosis ameliorates inflammatory hyperalgesia caused by lipopolysaccharide: involvement of TLR-, NLRP3-, and caspase-11-mediated signaling pathways. Cellular and Molecular Biology **2024**, In Press.

b) Derleme

1.2. En az bir uluslararası alan indeksi kapsamında olan dergilerde

a) Araştırma makalesi

b) Derleme

3. Ulusal hakemli dergilerde

a) Araştırma makalesi

b) Derleme

2. BİLDİRİLER

2.1. Uluslararası

a) Sözlü ve tam metin yayımlananlar

[1]. Kurt, S.; Şenol, S. P.; Yılmaz, D. E.; Bahçeli, Ö.; Özgen, B.; Sabrie, Z.; **Ahmed-Reda Elosman, M.**; Tunçtan, B. Farelerde lipopolisakkaritin neden olduğu enflamatuvar hiperaljeziyi RIP1 inhibitörü nekrostatin-1s önlemektedir (RIPK1 inhibitor necrostatin-1s prevents lipopolysaccharide-induced inflammatory hyperalgesia in mice). 27. Ulusal ve 2. Uluslararası Farmakoloji Kongresi (27th National and 2st International Pharmacology Congress), 23-26 Kasım, Antalya, Özet Kitabı, p. 138-139 (2023).

[2]. Tunçtan, B.; Şenol, Ş. P.; Yılmaz, D. E.; Bahçeli, Ö.; Kara, T.; **Ahmed-Reda Elosman, M.** Sıçanlarda lipopolisakkarit ile oluşturulan septik şok modelinde iNOS aracılıklı hipotansiyona vasküler RIPK1/RIP3/MLKL nekrozomunun etkinleşmesi katkıda bulunmaktadır (Activation of vascular RIPK1/RIP3/MLKL necrosome contributes to the iNOS-mediated hypotension in lipopolysaccharide-induced septic shock model in rats). 27. Ulusal ve 2. Uluslararası Farmakoloji Kongresi (27th National and 2st International Pharmacology Congress), 23-26 Kasım, Antalya, Özet Kitabı, p. 106-107 (2023).

[3]. Tunctan, B.; **Ahmed-Reda Elosman, M.**; Senol, S. P.; İkiz, E.; Kara, T., RIPK1/RIP3/MLKL necrosome contributes to the nitrosative stress-mediated cardiorenal injury and mortality in lipopolysaccharide-induced sepsis model in mice (Lipopolisakkarit ile farelerde oluşturulan sepsis modelinde nitrozatif stres aracılıklı enflamatuvar kardiyorenal zedelenme ve mortaliteye RIPK1/RIP3/MLKL nekrozomu katkıda bulunmaktadır), July 6-7, Online, Ankara, Abstract Book, p. 45-46, Full Text Book, p. 33-48 (2024).

[4]. **Ahmed-Reda Elosman, M.**; Senol, S. P.; İkiz, E.; Tunctan, B., Urotensin-II receptor contributes to the nitric oxide-mediated hypotension in lipopolysaccharide-induced septic shock model in rats (Lipopolisakkarit ile sıçanlarda oluşturulan septik şok modelinde nitrik oksit aracılıklı hipotansiyona ürotensin-II reseptörü katkıda bulunmaktadır), July 6-7, Online, Ankara, Abstract Book, p. 47-48, Full Text Book, p. 49-63 (2024).

b) Sözlü ve özeti yayımlananlar

c) Poster ve özeti yayımlananlar

2.2. Ulusal

a) Sözlü ve tam metin yayımlananlar

b) Sözlü ve özeti yayımlananlar

c) Poster ve özeti yayımlananlar

3. ÖDÜLLER

3.1. Uluslararası

4. BİLİMSEL KURULUŞLARA ÜYELİKLER

5. KURSLAR

[1]. Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası Kursu, Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 20 Kasım-8 Aralık 2023.