



T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NİTRİK OKSİT SENTAZ BLOKAJI İLE HİPERTANSİYON OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA PROPOLİS, CAPE VE POLEN'İN KAN BASINCI, ADMA, NF- κ B VE
PARAOKSANAZ DÜZEYLERİNE ETKİLERİ

MEHMET FUAT GÜLHAN

Ocak 2014

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NİTRİK OKSİT SENTAZ BLOKAJI İLE HİPERTANSİYON OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA PROPOLİS, CAPE VE POLEN'İN KAN BASINCI, ADMA, NF- κ B VE
PARAOKSANAZ DÜZEYLERİNE ETKİLERİ

MEHMET FUAT GÜLHAN

DOKTORA TEZİ

Danışman

Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU TALAS

Ocak 2014

Mehmet Fuat GÜLHAN tarafından **Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU TALAS** danışmanlığında hazırlanan “**Nitrik Oksit Sentaz Blokaı ile Hipertansiyon Oluşturulan Sıçanlarda Propolis, CAPE ve Polen’in Kan Basıncı, ADMA, NF-κB ve Paraoksanaz Düzeylerine Etkileri**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Engin ŞAHNA (Fırat Üniversitesi)

Üye : Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU TALAS (Niğde Üniversitesi)

Üye : Doç. Dr. Ethem AKYOL (Niğde Üniversitesi)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayhan DURAN (Aksaray Üniversitesi)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Gönül Şeyda SEYDEL (Niğde Üniversitesi)

ONAY:

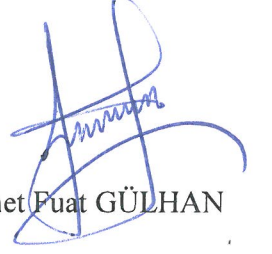
Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Osman SİVRİKAYA
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Mehmet Fuat GÜLHAN

ÖZET

NİTRİK OKSİT SENTAZ BLOKAJI İLE HİPERTANSİYON OLUŞTURULAN SIÇANLARDA PROPOLİS, CAPE VE POLEN'İN KAN BASINCI, ADMA, NF-κB VE PARAOKSANAZ DÜZEYLERİNE ETKİLERİ

GÜLHAN, Mehmet Fuat

Niğde Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU TALAS

Ocak 2014, 111 sayfa

N^ω-nitro-L-arjinin-metil ester (L-NAME) ile hipertansif yapılan sıçanlarda propolis, kafeik asit fenil ester (CAPE) ve polen uygulaması sonucu paraoksanaz (PON1) aktivitesi, toplam antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan seviye (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ), asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ve nükleer faktör kappa B (NF-κB) seviyeleri ve kan basıncında meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Deneysel araştırmalar için 35 adet Spraque dawley ırkı sıçanlar kullanılmıştır. Çalışmada; kontrol (0.5 cc serum fizyolojik), hipertansiyon (L-NAME=HT) (40 mg/kg/gün), HT+propolis (200 mg/kg/gün), HT+polen (100 mg/kg/gün) ve HT+CAPE (50 µM/kg/gün) olmak üzere 5 deneysel grup belirlenmiş olup 28 gün boyunca kontrol grubu dışında bütün deneysel gruplara L-NAME uygulaması devam etmiştir. 28 günlük uygulamanın ilk 14 gününde kontrol dışındaki gruplara sadece L-NAME, 14. günden sonra L-NAME grubu hariç diğer gruplara antioksidan maddeler belirlenen dozlarla uygulanmıştır. Çalışmanın 0, 14 ve 28. günlerinde deney hayvanlarının kan basınçları *tail cuff* yöntemiyle ölçülmüştür. 28. gün sonunda dekapite edilen sıçanların kan, kalp ve böbrek doku numuneleri alınıp bu dokularda PON1 aktivitesi, TAS, TOS, OSİ, ADMA ve NF-κB seviyeleri ölçüldü ve veriler istatistiksel ($P<0.05$) olarak değerlendirildi. Uygulamanın 14. gününde L-NAME uygulama gruplarının (HT) kan basıncı değerleri kontrol grubu

verilerine göre anlamlı olarak ($P<0.05$) yükselirken, 14. günden sonra propolis, CAPE ve polen uygulanan grupta kan basıncı sonuçları HT grubuna göre düşüş gösterdi ($P<0.05$). Sıçan serumlarının PON1 aktiviteleri HT grubunda kontrole göre azalırken ($P<0.05$), L-NAME ile birlikte uygulanan propolis, CAPE ve polen grupları HT grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttı ($P<0.05$). Kalp dokusu PON1 seviyeleri L-NAME uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalırken ($P<0.05$), antioksidan takviyesi yapılan gruplar HT grubu ile karşılaştırıldığında; CAPE ilavesi yapılan grubun PON1 aktivitesinde anlamlı bir değişimin olmadığı ($P>0.05$), propolis ve polen verilen grupların PON1 seviyelerinin istatistiksel olarak artış ($P<0.05$) gösterdiği belirlenmiştir. Böbrek dokusunda HT grubu PON1 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($P<0.05$). Propolis, CAPE ve polen ilavesi yapılan grupların PON1 aktiviteleri, HT grubuna göre anlamlı artışlar göstermiştir ($P<0.05$). Sıçan dokularında; TAS değerleri HT grubunda kontrole göre istatistiksel olarak azalırken ($P<0.05$), antioksidan maddelerin eklendiği gruplarda ise HT grubuna göre anlamlı artışlar ($P<0.05$) saptandı. TOS verileri ise HT grubunda kontrole göre en yüksek seviyelere ($P<0.05$) ulaşırken, antioksidan takviyesi yapılan gruplarda bu seviyelerin düşüş ($P<0.05$) gösterdiği gözlemlendi. Kan, kalp ve böbrek dokularındaki ADMA ve NF- κ B seviyeleri; HT grubunda kontrol grubu verilerine göre anlamlı artışlar ($P<0.05$) gösterdi. HT ile birlikte antioksidan ajanların uygulandığı gruplarda ADMA ve NF- κ B değerleri, sadece L-NAME uygulanan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldı ($P<0.05$). Literatür araştırmalarına göre, L-NAME ile NOS inhibisyonu oluşturulan sıçanlarda propolis ve CAPE'nin kan basıncı üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmış çalışmalara rastlanırken polen ekstraktı uygulaması ile ilgili bir çalışmaya rastlanmadı. Yükselen kan basıncının düzenlenmesinde polen ve propolis ekstraktının daha etkili terapötik maddeler olması sebebiyle, kimyasal olarak elde edilen CAPE yerine doğal arı ürünlerinin kullanımı önerilebilir. Uygulanan antioksidan etkili arı ürünlerinin hipertansiyon sonucu meydana gelen inflamasyon yolağının işleyişini engellediği yapılan çalışma ile ortaya konulmuştur. L-NAME ile hipertansif yapılan deney hayvanlarına uygulanan doğal arı ürünleri olan propolis ve polenin kan, kalp ve böbrek dokularındaki PON1 aktivitesini artırıcı etkiler gösterdiği ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hipertansiyon, L-NAME, Paraoksanaz, Propolis, Kafeik asit fenil ester, Polen, Kan basıncı, Total antioksidan seviye, Total oksidan seviye, Oksidatif stres indeksi, Asimetrik dimetiltarjinin, Nükleer faktör kappa B

SUMMARY

THE EFFECTS ON BLOOD PRESSURE, ADMA, NF- κ B AND PARAOXSANASE
LEVELS OF PROPOLIS, CAPE AND POLLEN IN RATS CAUSED
HYPERTENSION WITH NITRIC OXIDE SYNTHASE BLOCKADE

GULHAN, Mehmet Fuat

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Zeliha SELAMOGLU TALAS

January 2014, 111 pages

In this study first, rats have been hypertensive by means of N^o-nitro-L-arginin-metil ester (L-NAME), then caffeic acid, propolis and pollen have been given them and the level of PON1 activity, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), oxidative stress index (OSİ), asymmetric dimetilarginine (ADMA) ve nuclear factor cappa B (NF- κ B) and changes in the blood pressure have been investigated. For the experimental research have been used 35 race of Spraque dawley rats. In this study, 5 experimental groups including control (0.5 cc serum physiological), hypertension (L-NAME=HT) (40 mg/kg/day), HT+propolis (200 mg/kg/day), HT+CAPE (50 μ M/kg/day) and HT+pollen (100mg/kg/gün) have been identified and through 28 days, except control group all the experimental groups have been administrated L-NAME. The first 14 days of 28 days application, except control group the other groups have been administrated L-NAME. After the 14th day except L-NAME group the other groups have been administrated determined dose of antioxidants. In the 0th, 14th and the 28th days of study, experimental animals' blood pressure has been measured by means of tail-cuff method. After at the end of the 28th day, decapitated rats' blood, heart and the kidney tissue samples have been taken and in these tissues PON1 activity, the levels of TAS, TOS, OSİ, ADMA ve NF- κ B have been measured and statistically observed ($P<0.05$). In the 14th day of application, while L-NAME administrated groups' blood pressure have increased ($P<0.05$) according to the control group datas, after the 14th day the propolis, CAPE and pollen administrated

groups' blood pressure levels have decreased according to the HT group ($P<0.05$). While PON1 activities of rat serum has decreased in the HT group ($P<0.05$), L-NAME plus propolis, pollen ve CAPE administrated groups group have increased significantly compared with the HT ($P<0.05$). PON1 levels of heart tissue have decreased significantly in the L-NAME administrated group compared with the control group ($P<0.05$). When antioxidant supplement groups are compared with the HT group, the significant change for the PON1 activity of CAPE supplement group hasn't been determined ($P>0.05$) but the significant increase for the propolis and pollen administrated groups has been determined statistically ($P<0.05$). In the kidney tissue, HT group PON1 levels have decreased significantly compared with the control group ($P<0.05$). Propolis, CAPE and pollen supplement groups' PON1 activities have increased significantly compared with HT group ($P<0.05$). In the rat tissues, while TAS values has decreased for HT group compared with the control groups statistically ($P<0.05$), significant increase has been determined for the antioxidants supplement group ($P<0.05$). While TOS data has increased for HT group compared with the control groups statistically ($P<0.05$), significant decrease has been determined for the antioxidants supplement group ($P<0.05$). ADMA and NF- κ B levels in the blood, heart and kidney tissues; in HT group has been elevated to compare with control group statistically ($P<0.05$). When ADMA and NF- κ B values for the groups administrated antioxidant agents together with HT compared with the L-NAME administrated group, these values have decreased ($P<0.05$). According to the literature studies, for the rats of NOS inhibition caused by L-NAME, the studies for the purpose of determining propolis and CAPE' effects on the blood pressure have been detected but pollen extract administration study hasn't been detected. Because pollen and propolis extract are more effective substances for the regulation of increasing blood pressure, it can be recommended that the natural bee products should be used instead of chemically obtained CAPE. It has been revealed by this study that the function of inflammation pathway caused by hypertension has been prevented by the antioxidant effect bee products. Increase for PON1 activity in blood, heart and kidney tissues by means of propolis and pollen as the natural bee products administrated to the experimental animals hypertensive by means of L-NAME has been revealed for the first time in this study.

Keywords: Hypertension, L-NAME, Paraoxanase, Propolis, Caffeic acid phenethyl ester, Pollen, Blood pressure, Total antioxidant status, Total oxidant status, Oxidative stress index, Asymmetric dimetilarginine, Nuclear factor kappa B

ÖN SÖZ

Hipertansiyon artan oranda önemli bir sağlık sorunudur. Prevalansı coğrafik, kültürel, beslenme ve genetik faktörlerle değişkenlik göstermekle birlikte özellikle gelişmiş ülkelerde en önemli halk sağlığı problemlerinden biridir. Bu problem, dünyada önlenebilir ölüm nedenleri içerisinde önde gelen risk faktörlerindendir. Kan basıncının normal olarak kabul edilen sınırların üzerine çıkması şeklinde tanımlanan hipertansiyon kalp, beyin, böbrek ve retina gibi hedef organlarda hasar oluşturma riskini arttırabilir. Bir stres faktörü olan hipertansiyon doku ve organlarda serbest radikal üretimi ve oksidatif strese sebebiyet verebilir. Stresin yol açtığı olumsuz durumlar endojen veya ekzojen antioksidanlar tarafından giderilebilir. PON1 büyük oranda karaciğerden salınan yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) bağımlı endojen kaynaklı antioksidan bir enzimdir. Bu enzimin önemli özelliklerinden biri, flavonoid içeren antioksidanların etkisiyle aktivitesinde %20 oranında bir artış meydana gelebilmesidir. Propolis, CAPE ve polen zengin flavonoid içeriği ile bilinen ekzojen kaynaklı antioksidan maddelerdir. Bu çalışmada, hipertansiyon ve bunun meydana getirdiği oksidatif hasarın, antioksidan bir enzim olan PON1 tarafından giderilebileceği, dışarıdan yapılacak flavonoidlerce zengin bileşikler olan propolis, CAPE ve polen takviyesiyle PON1 aktivitesini arttırılabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada model olarak sıçanlarda geliştirilen hipertansiyon üzerine terapötik ajanların fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin incelenmesi ile insanlarda hipertansiyon ve bunun sonucu meydana gelebilecek doku ve organ hasarlarının azaltılması ile ilgili yapılacak olan çalışmalara da katkıda bulunmasını dilerim. Öğrenim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme, değerli hocam Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU TALAS ve eşi Doç. Dr. Mustafa TALAS'a çalışmamın başından sonuna kadar gerek bilimsel gerekse manevi desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Engin ŞAHNA hocama, İstatistiksel verilerin değerlendirilmesinde emeği geçen Yrd. Doç. Dr. Selçuk İLHAN'a, Gaziantep Üniversitesinde deneysel çalışmaların gerçekleştirilmesinde bize laboratuvar ve makina-techizat imkanlarını sunan Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL hocama, arı ürünlerinin temininde yardımları için Halil GÜVEN'e, tezimin İngilizce özetini yazmamda yardımcı olan Dr. Abdullah KARATAŞ'a, arkadaşlarım Merve DURUYÜREK, Cihan DÜŞGÜN, Buse Leyla CİHANGİROĞLU'na emeklerinden dolayı teşekkürlerimi borç bilirim. Bu çalışmayı FEB 2012/38 no'lu proje ile destekleyen Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iv
SUMMARY	vi
ÖN SÖZ	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
KISALTMA VE SİMGELER	xv
BÖLÜM I. GİRİŞ	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Hipertansiyon	5
2.1.1 Kalp ve böbrek dokusu üzerine hipertansiyonun etkileri	13
2.1.2 Hipertansiyon ve inflamasyon	14
2.2 Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)	15
2.3 Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonu ile Oluşturulan Hipertansif Model	18
2.4 Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA) ve Biyolojik Etkileri	19
2.4.1 ADMA ve hipertansiyon ilişkisi	22
2.5 Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) ve Biyolojik Etkileri	22
2.5.1 NF-κB ve hipertansiyon ilişkisi	24
2.6 Oksidatif Stres ve Biyolojik Etkileri	24
2.6.1 Oksidatif stres ve hipertansiyon ilişkisi	26
2.7 Antioksidan Savunma Sistemleri	28
2.7.1 Enzimatik Antioksidanlar	28
2.7.1.1 Süperoksit dismutaz	28
2.7.1.2 Glutasyon peroksidaz	29
2.7.1.3 Glutasyon redüktaz	29
2.7.1.4 Glutasyon S-transferaz	29
2.7.1.5 Katalaz	29
2.7.1.6 Paraoksanaz	29
2.7.1.6.1 Paraoksanazın tarihçesi	30
2.7.1.6.2 Paraoksanazın isimlendirilmesi	31
2.7.1.6.3 Paraoksanaz gen ailesi ve polimorfizmleri	31
2.7.1.6.4 Paraoksanazın yapısı, etki mekanizması ve substratları	33

2.7.1.6.5 Paraoksanaz, oksidatif stres ve hipertansiyon arasındaki ilişki	36
2.7.2 Enzimatik olmayanlar	37
2.7.2.1 Fenolik bileşikler ve biyolojik özellikleri	37
2.7.2.2 Propolis	38
2.7.2.3 Propolisin yapısı, fonksiyonları ve biyolojik özellikleri	39
2.7.2.4 Kafeik asit fenil ester (CAPE)	40
2.7.2.5 CAFE'nin yapısı, fonksiyonları ve biyolojik özellikleri	41
2.7.2.6 Polen	42
2.7.2.7 Polenin yapısı, fonksiyonları ve biyolojik özellikleri	43
BÖLÜM III. MATERYAL ve METOD	45
3.1 Propolis Ekstraktının Hazırlanması	45
3.2 Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE) Temini ve Saklama Koşulları	45
3.3 Polen Ekstraktının Hazırlanması	45
3.4 Deney Gruplarının Hazırlanışı ve Uygulamalar	46
3.5 Kan Basıncı Ölçümü	47
3.6 Diseksiyon İşlemi	48
3.7 Doku ve Kan Örneklerinin Hazırlanması	48
3.7.1 Kalp ve böbrek dokularının homojenizasyonu	48
3.7.2 Kan numunelerinin hazırlanması	49
3.8 PON1 Aktivitesinin Tayini	49
3.9 Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü	49
3.10 Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü	49
3.11 Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	50
3.12 ADMA Analizi	50
3.13 NF-κB Analizi	51
3.14 İstatistiksel Yöntem	52
BÖLÜM IV. BULGULAR	53
4.1 Kan Basıncı Değerleri	53
4.1.1 L-Name uygulanmasının kan basıncı üzerine etkisi	54
4.1.2 L-NAME+Propolis uygulamalarının kan basıncı üzerine etkisi	54
4.1.3 L-NAME+CAPE uygulamalarının kan basıncı üzerine etkisi	55
4.1.4 L-NAME+Polen uygulamalarının kan basıncı üzerine etkisi	55
4.2 Kan Serumunda Biyokimyasal Analizler	55
4.3 Kalp Dokusunda Biyokimyasal Analizler	59

4.4 Böbrek Dokusunda Biyokimyasal Analizler	62
BÖLÜM V. TARTIŞMA ve SONUÇ	66
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	111

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 18 yaş ve üzerindeki erişkinlerde kan basıncı sınıflandırılması	5
Çizelge 4.1 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME uygulanmış (Grup II, Grup III, Grup IV, Grup V) sıçanlarda 0. ve 14. günlerdeki ortalama sistolik kan basınçları	53
Çizelge 4.2 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki ortalama sistolik kan basınçları	53
Çizelge 4.3 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki kan serumunda PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSI, ADMA, NF- κ B düzeyleri	57
Çizelge 4.4 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki kalp dokusunda PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSI, ADMA ve NF- κ B düzeyleri	61
Çizelge 4.5 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki böbrek dokusunda PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSI, ADMA ve NF- κ B düzeyleri	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kan basıncı oluşumunda kardiyak debi ve periferik direnç mekanizması	5
Şekil 2.2 Esansiyel hipertansiyon ve sebep olduğu patolojiler	7
Şekil 2.3 Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi (RAAS) ve Kan basıncı	10
Şekil 2.4 L-arjininden NO biyosentezi	16
Şekil 2.5 Aterogeneizde nitrik oksidin rolü	16
Şekil 2.6 Nitrik oksidin biyolojik etkileri	17
Şekil 2.7 ADMA metabolizması	20
Şekil 2.8 Endojen metilarjininlerin kimyasal yapısı	20
Şekil 2.9 NF- κ B'nin stimülasyonu ve gen ekspresyonu	23
Şekil 2.10 Antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki redoks mekanizması	24
Şekil 2.11 PON'un GEN lokalizasyonu	31
Şekil 2.12 PON'un kromozomal lokasyonu	31
Şekil 2.13 Paraoksonazın üç boyutlu yapısı (a) β -kırmalı tabakalar ve (b) hidrofobik bölgelerin (H1, H2, H3) β -kırmalı tabakalara göre pozisyonu	33
Şekil 2.14 İnsan serum paraoksonazının yapısı	34
Şekil 2.15 Kafeik asit fenetil ester'in kimyasal yapısı	41
Şekil 3.1 Deneysel gruplar ve doz uygulamaları	46
Şekil 3.2 ADMA standart grafiği	51
Şekil 3.3 NF- κ B standart grafiği	52
Şekil 4.1 Kontrol, Hipertansiyon (HT), HT + Propolis, HT + CAPE ve HT + Polen gruplarının 0, 14 ve 28. günlerdeki ortalama sistolik kan basınçlarının grafik ile gösterimi	54
Şekil 4.2 Serum-PON1seviyeleri	58
Şekil 4.3 Serum-TAS seviyeleri	58
Şekil 4.4 Serum-TOS seviyeleri	58
Şekil 4.5 Serum-OSİ seviyeleri	58
Şekil 4.6 Serum-ADMA seviyeleri	58
Şekil 4.7 Serum-NF- κ B seviyeleri	58
Şekil 4.8 Kalp-PON1seviyeleri	61
Şekil 4.9 Kalp-TAS seviyeleri	61
Şekil 4.10 Kalp-TOS seviyeleri	61
Şekil 4.11 Kalp-OSİ seviyeleri	62

Şekil 4.12 Kalp-ADMA seviyeleri	62
Şekil 4.13 Kalp-NF-κB seviyeleri	62
Şekil 4.14 Böbrek-PON1seviyeleri	65
Şekil 4.15 Böbrek-TAS seviyeleri	65
Şekil 4.16 Böbrek-TOS seviyeleri	65
Şekil 4.17 Böbrek-OSİ seviyeleri	65
Şekil 4.18 Böbrek-ADMA seviyeleri	65
Şekil 4.19 Böbrek-NF-κB seviyeleri	65

KISALTMA VE SİMGELER

HT	Hipertansiyon
TAS	Total Antioksidan Seviye
TOS	Total Oksidan Seviye
PON	Paraoksanase
OSİ	Oksidatif Stres İndeksi
HDL	High Density Lipoprotein
LDL	Low Density Lipoprotein
CAPE	Caffeic Acid Phenyl Ester
EEP	Ethanollic Extract Propolis
NO	Nitric Oxide
NOS	Nitric Oxide Syntase
L-NAME	N ^o -nitro-L-arjinin-Metil Ester
ADMA	Asimetrik Dimetil Arjinin
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
AKB	Arteriyal Kan Basıncı
JNC	Ulusal Birleşik Komitesi
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
COX	Siklooksijenaz
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
TEKHARF	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması
PatenT	Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması
ONOO ⁻	Peroksinitrit
OH [•]	Hidroksil Radikali
SOD	Süper Oksit Dismutaz
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
CAT	Katalaz
GST	Glutasyon S-Transferaz
XO	Xantin Oksidaz
KB	Kan Basıncı
PRMT	Protein Arjinin Metil Tranferaz
SDMA	Simetrik Dimetil Arjinin
L-NMMA	N ^o -monometil-L-arjinin

DDAH	Dimetilarjinin Dimetil Amino Hidrolaz
RAAS	Renin Anjiotensin Aldesteron Sistemi
PatenT	Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması
A-I	Anjiyotensin-I
A-II	Anjiyotensin II
ACE	Anjiyotensin Converting Enzym
AT1	Anjiyotensin Tip 1
AT2	Anjiyotensin Tip 2
ET-1	Endotelin-1
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
L-NMMA	N-Monometil L-arjinin
DDAH	Dimetil Amino Hidrolaz
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör Alfa

BÖLÜM I. GİRİŞ

Orta yaşın üzerindeki bireylerde metabolik olayların yavaşlaması ve hücre yenilenmenin azalması ile birlikte ortaya çıkacak bazı hastalıkların görülme olasılığında artmaktadır. Bu yaş aralıklarındaki insanlarda sıkça karşılaşılan ölüm ve hastaneye yatış nedenleri arasında kalp ve damar hastalıkları en başta gelmektedir (Göçgeldi, 2008; Çakmak vd., 2009). Hipertansiyon (HT) günümüzde hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde toplumun büyük çoğunluğunu etkileyen bir hastalıktır. Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yerini alırken, ülkemizde de ölümlerin yaklaşık %50'si hipertansiyonun en çok etkilediği serebrovasküler hastalıklar ve kalp hastalıklarından dolayı olduğu tespit edilmiştir (Erbaşı vd., 1999; Çakmak vd., 2009). Patogenezinde, beslenme ile alınan aşırı tuz, alkol alımı, stres, yaş, obezite, fiziksel aktivite, doymuş yağ asitleri içeren beslenme tarzı, çevresel ve genetik faktörler olduğu bildirilmektedir. Son yıllarda, hipertansiyon hastalarının patogenezinde ve hedef organ hasarı gelişiminde inflamasyonun etkisini gösteren çalışmalar yapıldığı bilinmektedir (Prasad vd., 2009; Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006). Kalp-damar hastalıkları ile kan basıncı arasında yakın bir ilişki olduğu bilinmektedir. Kan basıncı yükseldiğinde kalp krizi, kalp yetmezliği, inme, göz ve böbrek rahatsızlıklarının meydana gelme olasılığı da artmaktadır (Karolina vd., 2006). İnsanın fizyolojisi ve yaşadığı çevresel koşullar gibi pekçok faktörü kapsayan büyük oranda genetik etmenleri içeren hipertansiyonun %3-5'lik oranından böbrek, damar ve hormonal bozukluklar sorumludur (Kedzierska vd., 2006). Hipertansiyon etiyolojisi henüz tam olarak açıklanamamakla birlikte, bu sistemik rahatsızlığın tedavisindeki amaç kan basıncının düşürülmesi, diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin ortadan kaldırılması, hedef organ hasarlarının durdurulması veya yavaşlatılması, aterosklerozun önlenmesi ile birlikte insanların yaşam kalitelerinin artırılmasıdır (Arteriyel Hipertansiyon Tedavisi Kılavuzu, 2007). Bir stres faktörü olan hipertansiyon, doku ve organlarda serbest radikal üretimi ve oksidatif strese sebep olabilir. Bu tür stres etkileri endojen veya ekzojen antioksidan moleküller tarafından giderilebilir. Serbest radikal hasarını engellemeye çalışan antioksidanların bir kısmı enzim, bir kısmı ise enzim olmayan moleküllerden oluşmaktadır (Harrison vd., 2007). Vücudun genel antioksidan/oksidan durumu; total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) durumun ölçümü ile daha kolay değerlendirilebilmektedir (Kurban vd., 2010). PON1 büyük oranda karaciğerden salınan HDL bağımlı endojen kaynaklı antioksidan bir enzimdir. Bu enzim flavonoid içeren antioksidanların etkisiyle yaklaşık olarak %20

oranında aktivite artışı gösterebilir (Bayrak, 2005). İnsanda 7. kromozomun q21-22 bölgesinde bulunan PON multigen ailesi; PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyeden oluşmaktadır. PON1, hem paraoksonaz hem de arilesteraz aktivitesine sahip, kalsiyum (Ca) bağımlı bir ester hidrolazdır (Marsillach vd., 2008). Karaciğerden sentezlendikten sonra dolaşıma salınan PON1, organofosfatlar, arilesterazlar ve laktonlar gibi birçok substratı hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. Fizyolojik rolü hala tam olarak anlaşılamamasına rağmen, yapılan çalışmalarda HDL-kolesterol ile ilişkili olduğu ve LDL-kolesterolün oksidatif modifikasyonuna karşı koruyucu rol oynayarak lipid peroksidasyonunu önlediği, antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir (Mackness vd., 2005; Baum vd., 2006). Ayrıca, serbest radikal üretimi ve oksidatif hasarın artışı ile karakterize olan hastalıklarda HDL'nin peroksidasyona daha yatkın oluşu, azalmış PON1 aktivitesi ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Ferretti vd., 2004; Ferretti vd., 2005). Ekzojen olarak alınan antioksidanların canlıda hem fizyolojik hem de biyokimyasal olarak olumlu etkiler yaptıkları bilinmektedir. Bu antioksidanlar arasında son yıllarda çok fazla dikkat çeken terapötik maddeler arasında doğal arı ürünleri yer almaktadır. Propolis, eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek inflamatuvar hastalıklarda ve ateroskleroz tedavisinde doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (Castaldo ve Capasso, 2002). Bu değerli arı ürününün antibakteriyel, antifungal, antiviral özellikleri yanında antiülser, lokal anestetik, antitümöral, antihipertansif, immün sistemi uyarıcı aktivite göstermesi ile tıp, apiterapi, gıda ve kozmetik alanında kullanımı yaygınlaşmıştır (Erdoğan vd., 2011). Arılar propolisi kovanın iç kısmına bir tabaka şeklinde uygulayarak kovandaki delik ve çatlakların kapatılmasında, peteklerin tamir edilmesinde, peteklerin birbirlerine yapıştırılmasında, petek gözlerinin parlatılmasında, kovan girişini daraltmada, çeşitli arı hastalıklarından koloninin korunmasında ve hastalık etkenlerinin etkisiz hale getirilmesinde kullanılmaktadırlar (Silva vd., 2012). Propolisin içeriğinin yarısından fazlasını fenolik bileşikler ve esterleri oluşturmaktadır (Hepşen vd., 1996). Bu esterlerden en önemlisi ve propolisin en etken bileşenlerinden biri kafeik asit fenil ester olarak bilinmektedir. Kafeik asit fenil ester [Phenethyl 3-(3-4 dihydroxyphenyl) acrylate]; propolis içeriğinde bulunan ve izole edilebilen çok geniş spektrumlu etkileri bulunan bir maddedir. Bu madde propolisin biyolojik olarak aktif bileşenlerinden biri olmakla birlikte antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immün uyarıcı, karsinostatik, hasar önleyici, reperfüzyon özelliklerine de sahiptir. Farklı kaynaklardan elde edilen propolis örneklerinin benzer kalitatif kompozisyonlara sahip olmasının aksine CAPE örnekleri büyük oranda farklılıklar

göstermektedir (Widjaja vd., 2008). Polen yapısal olarak çiçek tozları, nektar ve bazı salgıların karışımıdır. Bu doğal ürün kovan içerisinde larvaların beslenmesinde kullanılmasının yanı sıra insanlar için potansiyel bir besin ve sağlık alanında da kullanılan apiterapötik bir üründür. Oldukça zengin bir kompozisyona sahip olan polenin yapısı; proteinler, mineraller, aminoasitler, karbonhidratlar, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, vitaminler ve pek çok fenolik bileşikler kapsamaktadır (Paramas vd., 2006). Antioksidan bileşiklerin en iyi kaynağı şüphesiz insan diyetinde sıklıkla kullanılan meyve ve sebzelerdir. Fenolik bileşiklerin en önemli özelliği reaktif oksijen türlerini nötralize etmektir. Bunlar aromatik halka içerisindeki hidroksil gruplarına çift bağlarla bağlanırlar. Polenin bir diğer özelliği ise, hidroksil radikale karşı radikal süpürücü özellik göstermesi ve lipid peroksidasyonunu önlemesidir (Leja vd., 2007; Marghitas vd., 2009). Serbest radikal oluşumunu ortadan kaldıran diğer bir molekül olan nitrik oksit (NO) belirli düzeylerde kuvvetli bir antioksidan olarak görev yapmaktadır. L-arjinin, NO sentezi için öncül bir madde olup, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonu içinde L-arjinin analogları kullanılmaktadır. Moleküler oksijen varlığında L-arjinin L-sitrüline dönüştürülerek NO sentezlenmektedir. Bu sentezden sorumlu olan enzim NOS olarak bilinir (Schmitt ve Dirsch, 2009). L-arjinin analoglarından birisi olan L-NAME endotelial ve indüklenebilen NOS izoformlarını inhibe etmektedir (Coulter vd., 2008). L-NAME ile inhibe edilen NOS sonucu meydana gelen hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diabetes mellitus gibi koroner arter risk belirteçleri arasında son yıllarda popülerite kazanan plazma asimetrik dimetilarginin (ADMA) göze çarpmaktadır. ADMA, NOS'un endojen inhibitörüdür ve vücuttaki fonksiyonu, L-arjinin'den NO sentezinin engellenmesidir. Vasküler endotelde gerçekleşen bu reaksiyonda ADMA, NOS aktivitesini inhibe ederek L-arjininin hücre içine alınımını engellemektedir. Renal bozukluklar ve hipertansiyonda NOS aktivitesinin azalması endotelial disfonksiyonlara sebep olur ve ADMA düzeylerinin artışına yol açar (Buğdaycı ve Serin, 2005). Antioksidan moleküller, ADMA yıkılımını hızlandırmaktadır. Tedavide ADMA'yı azaltan ajanlar olarak; L-arjinin, folik asit, B6 ve B12 vitaminleri sıkça kullanılmaktadır. Ayrıca dışarıdan yapılan antioksidan takviyeler ile oksidatif stresin önlenebileceği dolayısıyla ADMA seviyelerinde azalmaların meydana gelebileceği düşünülmektedir (Achan vd., 2005). Nükleer faktör kappa-B (NF-κB); indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz 2 (COX-2) gibi oksidatif strese yanıt olarak harekete geçebilen ve birçok genin ekspresyonundan ve inflamatuvar genlerin üretiminden sorumlu, indirgenme ve yükseltgenme duyarlılığı olan bir transkripsiyon faktörüdür (Abraham, 2000). NF-κB'yi aktive eden ajanlar aynı zamanda süperoksit, hidrojen peroksit

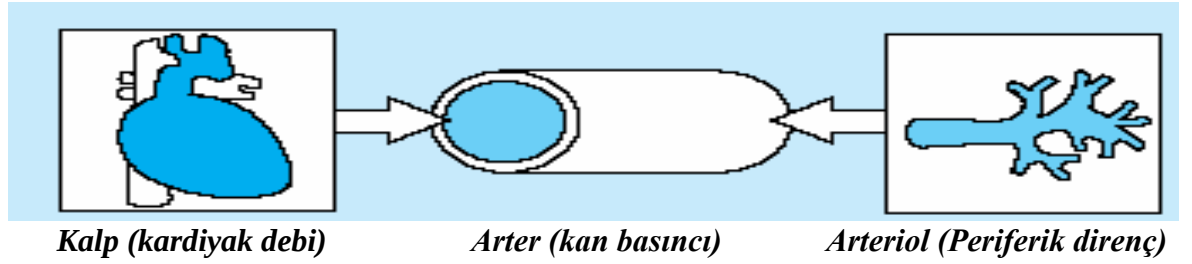
lipooksijenaz gibi endojen oksijen ürünlerinin oluşumunu tetiklemektedir. Antioksidanlar *in vitro* koşullarda birçok hücrede NF- κ B aktivasyonunu engellemektedir. Ayrıca reaktif oksijen türleri'nin (ROT) bu noktada işe karışması da NF- κ B aktivasyonu için güçlü bir uyarıcı niteliğindedir. ROT; NF- κ B aktivasyon mekanizmasında yer alan kinazların etkinliğini değiştirerek NF- κ B aktivasyonuna, ya da aktivasyon artışına sebep olabilir. Yinede ROT; NF- κ B'den bağımsız olarak hücre transkripsiyonunu doğrudan düzenleyebildiği gibi, redoksa duyarlı diğer transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu da arttırabilmektedir (Madamanchi ve Runge, 2013).

Yüksek prevalansla ve yol açtığı hastalık riski artışıyla ilişkili olarak dünyada en önemli sağlık sorunlarından biri olan hipertansiyon ve buna bağlı olarak gelişen oksidatif hasarın gideriminde ve ayrıca karaciğerden endojen olarak salgılanan paraoksanaz aktivitesinin arttırılmasında doğal arı ürünlerinin kullanımına yönelik geliştirilen bu çalışmada, ekzojen olarak propolis, CAPE ve polen uygulaması sonucu L-NAME ile oluşturulan hipertansiyon ve etkilerinin giderebileceği düşünülmüştür. Bu bilgiler doğrultusunda hipertansif sıçanların kan, kalp ve böbrek dokularında; PON1 aktivite tayini, TAS, TOS, OSI, ADMA ve NF- κ B düzeyleri belirlenerek uygulanan terapötik maddelerin antioksidan ve antihipertansif etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER

2.1 Hipertansiyon

Hipertansiyon (HT), en genel ifadesiyle arteriyel kan basıncının (AKB) normal düzeylerin üzerine çıkması olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım; "Kan basıncı=kardiyak debi x periferik rezistans" formülü ile ifade edilir ve birimi mmHg'dır (Bakris ve Ritz, 2009) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Kan basıncının gelişiminde kardiyak debi ve periferik direnç mekanizması (Anadol, 2008).

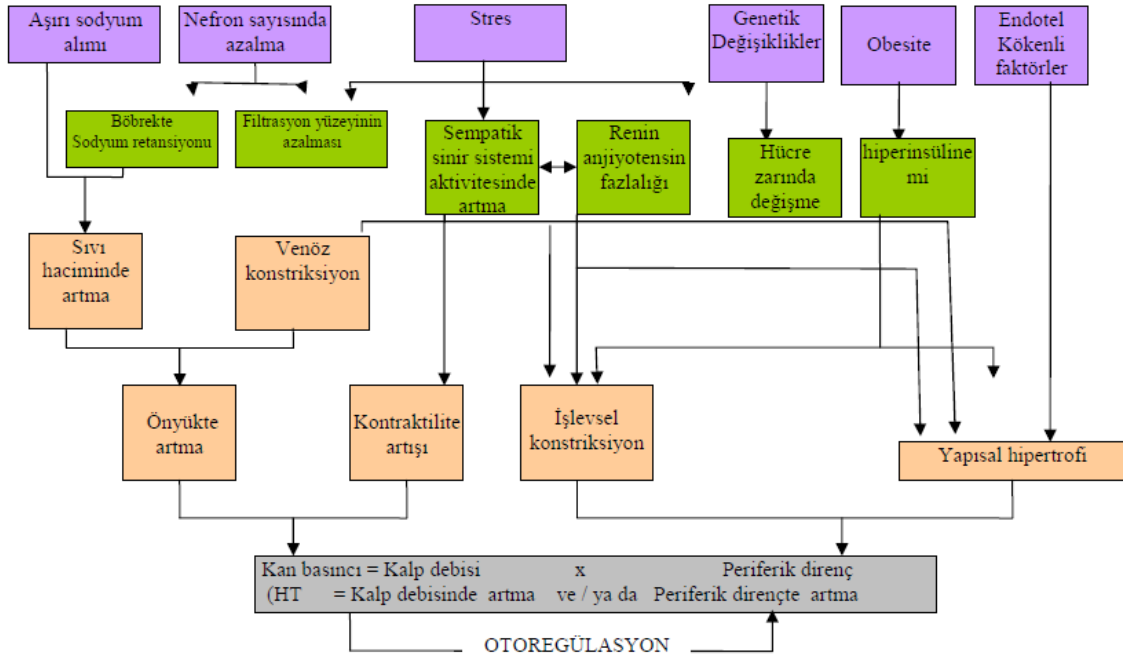
Ulusal Birleşik Komitesi (JNC-VII) raporunda, HT hastaları için bir derecelendirme yapılmıştır. 18 yaş ve üzerindeki erişkin bireyler için kan basınçları; normal, prehipertansif ve hipertansiyon olarak üç dereceye ayrılmıştır (Çizelge 2.1). Çizelge 2.1'e göre normal sistolik/diastolik kan basıncı değerleri 120/80 mmHg'dan daha düşük seviyeleri ifade etmektedir. Kan basıncı düzeyi 120-139/80-89 mmHg aralığında prehipertansiyon, bu değerin üzerindeki seviyelerde ise hipertansiyon olarak kabul edilmektedir. Çizelge 2.1'e ilave olarak, hipertansiyon durumu kan basıncı seviyelerine göre 2 evrede incelenmektedir. Basınç seviyesi 140–159/90–99 mmHg olduğunda 1. evre, 160/100 mmHg ve üzerinde ise 2. evre hipertansiyon olarak kabul edilmektedir (Keleş ve Ağaç, 2005; Dede, 2008).

Çizelge 2.1. 18 yaş ve üzerindeki erişkinlerde kan basıncı sınıflandırılması (Keleş ve Ağaç, 2005).

Kan basıncı derecesi	Kan basıncı (mmHg)		
	Sistolik	ve/veya	Diyastolik
Normal	<120	ve	<80
Prehipertansiyon	120-139	veya	80-89
Hipertansiyon	≥140		≥90
Evre 1	140-159	veya	90-99
Evre 2	≥160	veya	≥100

HT, hedef organ hasarları meydana getirdiği için önemli mortalite ve morbidite nedenleri arasında gösterilmektedir. Dünya çapında yapılan HT prevalans çalışmalarına göre, hastalık oluşumu ve mortalite açısından küresel risk faktörleri arasında ilk sırada yer almaktadır (Sweileh vd., 2009). Serebrovasküler hastalıkların %54'ü ve iskemik kalp rahatsızlıklarının %47'si kan basıncının yükselmesi sonucu meydana gelmektedir. HT, her yıl dünyada toplam nüfusun %6'sının ölümüne sebebiyet vermektedir. Bu hastalığa bağlı gelişen etkiler çoğunlukla gelir düzeyi düşük olan ülkelerde ve belirli bir yaş grubunun üzerinde (45-69 yaş) sıkça ortaya çıkmaktadır. 2000 yılında dünya çapında yapılan incelemelere göre; erişkin nüfusun HT prevalansı %26,4 olup, bu oranın yaklaşık 972 milyon hipertansif hastaya karşılık geldiği ve çoğunluğunun gelişmekte olan ülkelere yaşadığı bildirilmiştir (Kara vd., 2009). Yapılan tahminlere göre; 2025 yılında bu prevalansın %29,2'ye ulaşacağı ve toplam hasta sayısının yaklaşık %60 oranında artış göstererek 1.56 milyar olacağı bildirilmiştir (Abir vd., 2012). Hipertansiyon oluşumu ile yaş artışı arasında doğrusal bir orantı belirtilmektedir. Ülkemizde de erişkin nüfusta HT yaygın olarak görülmektedir. Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması (TEKHARF) çalışmasında, 30 yaş üzeri erişkinlerde HT prevalansının %33,7 olduğu tespit edilmiştir. İlerleyen yaş ile birlikte kadın ve erkeklerin ortalama kan basıncı değerlerinde artış gözlenmiştir (Yıldız ve Küçükazman, 2008). Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması (PatenT)'nin yaptığı araştırma verilerine göre, toplumda yaş ve cinsiyete göre HT prevalansının %31,8 olduğu ortaya konmuştur. HT sıklığı kadınlarda %36,1, erkeklerde ise %27,5 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, katılımcılardan %32,2'sinin daha önce kan basıncını hiç ölçtürmediği, hipertansif hastalardan ise sadece %40,7'sinin hastalığının farkında olduğu dikkati çekmiştir. Bu sonuca göre, ülke genelinde hipertansiyonu olan her üç kişiden ikisi hastalığının farkında değildir (Çakmak vd., 2009; Yıldız ve Küçükazman, 2008). Klinikde hipertansiyon; primer ve sekonder olarak iki grupta incelenmektedir. %90–95 sıklıkta görülen birincil (esansiyel) hipertansiyonun oluşum faktörü net olarak belirlenememiştir. Yani primer hipertansiyonun etiyolojisi tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Mekanizması tam olarak açık olmamakla birlikte kalıtım ve genetik faktörlerin hazırlayıcı rolü olduğu belirtilmektedir (Şekil 2.2). Ayrıca; çevresel faktörler, aşırı tuz ve protein ile beslenme tarzı da hipertansiyon gelişimine katkı sağlamaktadır (Gerhold vd., 2007). Obezite, alkol, diyetdeki sodyum (Na), potasyum (K) ve sigara içimi bu çevresel faktörler arasında sayılabilir. İleri sürülen patofizyolojik mekanizmalar ise; aşırı renal-Na retansiyonu, sempatik sinir sisteminin aşırı aktivitesi,

renin-anjiyotensin fazlalığı, hiperinsülinemi ve vasküler endoteldeki değişimler olarak gösterilebilir (Şekil 2.2) (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006).



Şekil 2.2. Esansiyel hipertansiyon ve sebep olduğu patolojiler (Yılmaz, 2008).

Aşırı Sodyum Alımı

Sodyum alınımı ve su tutulumu ile kalp debisinde meydana gelen artış; renal fonksiyonların ve vasküler reaktivitenin değişmesine sebep olarak tansiyonun yükselmesine yol açabilir. Aşırı miktarda sodyum tüketen insanların tamamında hipertansiyon meydana gelmeyebilir, ancak böbreklerden eşzamanlı sodyum atılımı bozukluğu olan bireylerde bazı olumsuz etkiler ortaya çıkabilmektedir. Yani fazla miktarda sodyum alınması, hipertansif etki yaratabilir, fakat tek başına yeterli olmayabilir. Bu durum; sodyumun klor ile birleşimi sonucu oluşan NaCl'nin hipertansiyona neden olabileceği, sodyum bikarbonatın ise böyle bir etki göstermediği şeklinde açıklanabilir (Babalık, 2005). Besinlerle alınan yüksek sodyum ile birlikte düşük potasyum düzeyleri, sodyum/potasyum oranındaki artışa paralel olarak zararlı etkilerin de ortaya çıkışını arttırmaktadır. Artan sodyum düzeyleri kan basıncı artırıcı etkisinin yanı sıra, inme riskini arttırması, sol ventrikül hipertrofisi oluşumu ve hiperfiltrasyona bağlı renal fonksiyonların bozulmasına yol açmaktadır (Marketou vd., 2013).

Vasküler Hipertrofi

Vasküler yapı ve endotel fonksiyonlar HT patogeneğinde önemli rol oynayan mekanizmalardır. HT'nin temel olgusu kan akışına karşı damarların gösterdiği periferik dirençtir. Kan basıncındaki artış devam ettiği sürece, rezistans damarların orta tabakalarında hipertrofi ve damar lümeninde daralma meydana gelmektedir, bu durum “hipertrofik remodelling” olarak adlandırılır (Kubo vd.,1999). Aşırı sodyum alımı vücutta renal sodyum tutulumuna, dolayısıyla vasküler dokularda sıvı haciminin artışına ve buna paralel olarak kalp debisinde artışa neden olmaktadır. Bunun dışındaki birçok faktör de damarlarda kasılmaya yol açarak periferik damar direncinde artışa, vazokonstriksiyona ve hipertrofiye yol açarak kan basıncında yükselmeye yol açmaktadır (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006).

Renal Sodyum Tutulumu

Böbreklerden sodyumun geri emilmesi esnasında bazı patolojik durumlar gözlenmektedir. Buna bağlı olarak nefron sayısı veya fonksiyonunda azalmaya bağlı olarak renal filtrasyon yüzeyinde de azalmalar meydana gelmektedir. Nefron sayısında veya glomerüler filtrasyon yüzeyinde azalma ile doğru orantılı olarak böbreklerden sodyum salınımında azalma meydana gelmekte ve kan basıncının yükselmesi ile glomerüler hipertansiyon yoluyla sistemik hipertansiyon tetiklenmektedir (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006). Benzer mekanizmalar, renal hastalıkla seyreden diyabetik ve birçok patolojik durumda da söz konusudur. Sodyum tutulumuna bağlı bir diğer mekanizma ise natriürez dengesinin bozulmasıdır. Kan basıncının artması sonucu böbreklerden sodyum ve su atılımı da artmakta, intravasküler hacim küçültülmekte ve natriürez ile kan basıncının normale döndürülmektedir. Kan basıncı ile sodyum atılımı arasındaki bu ilişki hipertansiflerde bozulabilir (Babalık, 2005).

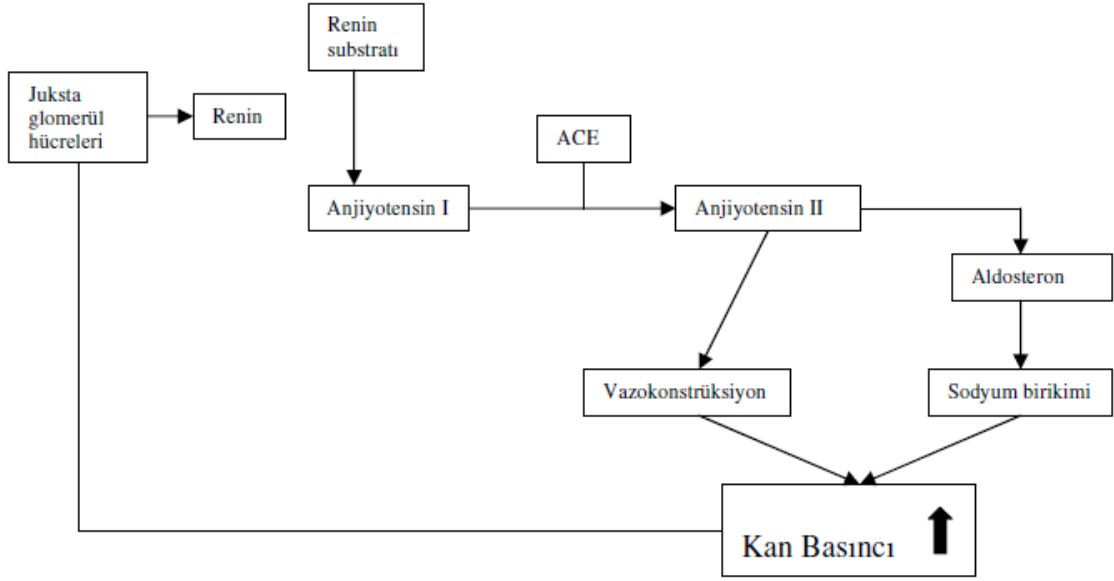
Sempatik Sinir Sistemi Aktivitesinde Artış

Hipertansif kişilerin dolaşım sistemlerindeki katekolamin salınımında artış, kalp atım hızında artış ile birlikte alfa adrenerjik antagonistlere karşı hassasiyeti de arttırmaktadır. Katekolamin seviyelerindeki artış renin salınımını uyarak kan basıncının yükselmesine sebebiyet vermektedir. Adrenerjik hormonlar kalp atım hızını artırıp sıvı hacmi ile böbrek

içi basıncı bozarak kan basıncında artışa yol açmaktadır (Seto vd., 2001). Hipertansif ve normotansiflerde sempatik aktivite artışı; kalp, böbrekler ve periferik damarlar üzerinde etki yaparak kalp debisi ve damar direncinde artış ile sıvı retansiyonuna bağlı kan basıncı yükselmelerine sebep olmaktadır. Merkezi sinir sisteminin uyarılması kalp atım hızında artış, periferik vazokonstriksiyon, adrenal medulladan norepinefrin salınımı ve kan basıncında artış ile sonuçlanır. Ayrıca damar düz kas hücrelerinde hipertrofiye bağlı sertleşme, renal kan akımında düşüş ve renal vasküler dirençte artmayla birlikte vazokonstriksiyon gelişir (Babalık, 2005; Talas vd., 2013).

Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi

Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) kan hacmini ve kan basıncını düzenleyen ve hipertansiyon patogeneğinde rol oynayan en önemli mekanizmalardandır. Renin, fizyolojik ve patolojik etkilerini anjiyotensin II (A-II) sentezi ile göstermektedir. Bunun yanı sıra bu mekanizma aldosteron sentezinin birincil tetikleyicisi olarak da görev yapmaktadır. Böbreğin jukstaglomerüler hücrelerinden salınan renin; karaciğerden plazmaya salınan anjiyotensinojenin anjiyotensin-I'e dönüştürülmesini gerçekleştirir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ile anjiyotensin-I (A-I)'den anjiyotensin-II oluşturulur. A-II iki reseptöre sahiptir. Bunlar; anjiyotensin tip 1 (AT1) ve anjiyotensin tip 2 (AT2)'dir. A-II etkilerini büyük oranda AT1 üzerinden gerçekleştirir (Chon vd., 2011). A-II, fonksiyonel reseptörü olan AT1'e bağlanmasıyla periferik damarlarda vazokonstriksiyon, aldosteron sentezi ve salınımında artış, böbreklerdeki sodyum tutulumuna bağlı olarak merkezi sinir sistemi aktivitesinde ve vasopressin salınımında artış sonucu negatif geri besleme ile renin salınımının inhibisyonu gerçekleşir. Ayrıca AT2, güçlü bir büyüme faktörü olup hücre çoğalmasını uyarır. Kan basıncında artışın meydana gelmesi negatif geri bildirim ile jukstaglomerüler hücrelerden renin salgılanmasında azalmaya yol açar. Hipertansiflerde bu inhibisyona bağlı olarak plazma renin seviyelerinin düşük olduğu gözlenir. Plazmanın yanı sıra farklı dokularda da RAAS aktivitesinin devam etmesi kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde yaygın bir durumdur (Şekil 2.3) (Babalık, 2005).



Şekil 2.3. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi (RAAS) ve kan basıncı (Yılmaz, 2008).

İnsülin Direnci

Kardiyovasküler rahatsızlıkların meydana gelmesinde bağımsız bir risk faktörü olan insülin direnci hipertansif bireylerde sık görülen bir durumdur. Hipertansiyonun yanı sıra, azalan glukoz toleransı, tip II diyabet, obezite, azalmış HDL kolesterol ve artan trigliserit insülin direncine eşlik eden diğer metabolik bozukluklardır. Hipertansiyonlu kişilerde insülin direnci ve artan sempatik aktiviteye bağlı olarak insülinin vazodilatör etkisinde azalma görülmektedir (Park vd., 2006). Esansiyel hipertansiyon patofizyolojisine en çok insülin direnci, hiperinsülinemi ve dislipidemi eşlik etmektedir. Bu mekanizmaların kan basıncında artışa sebep olması ile ilgili pekçok patolojik durum mevcuttur. Birçok patofizyolojik durum arasında endotel bağımlı vazodilatasyonun azalması, insülin direncine bağlı hipertansiyon patogenezinde en önemli rolü üstlenmektedir (Salim vd., 2010).

Endotel Hücre Fonksiyon Bozukluğu

Endotel; damarların düz kaslarında bulunan ve damar duvarını örten ince tabakalı bir epiteldir. Damar duvarındaki düz kas hücreleri üzerinde dilatasyon ve vazokonstriktif etki yapabilen endotelyal hücreler birçok madde salgılayarak hipertansiyonun patogenezinde önemli rol oynarlar (Mensah vd., 2003). Endotel hücrelerinden salınan birçok madde

içerisinde bilinen en etkilileri NO ve endotelindir (Endemann ve Schiffrin, 2004). Bu maddelerin salınımında meydana gelen aksaklıklar sonucu, normal vazodilatasyonun bozulmasına bağlı olarak periferik damarlarda direnç artışı meydana gelmektedir. Hipertansif hastalarda NO ve endotelin gibi vazodilatör maddelerin salınımının yeterli olmadığı tespit edilmiştir. Bu durumun hipertansif bireylerin damar duvarında anormal yapılanmalara sebep olduğu bilinmektedir (Arribas vd., 2006).

Endotelin

Endotelinler; endotel hücrelerinden salınan ve fonksiyonel özelliklerinden dolayı en çok bilinen izoformu endotelin-1 (ET-1) olan damar düz kas hücrelerindeki ET-A reseptörlerini aktive ederek vazokonstriksiyona yol açan peptid ailesidir. Vazodilatör etkili ET-1, endotelial hücrelerde ET-B reseptörlerini aktive ederek prostasiklin ve NO salınımını artırır (Babalık, 2005). Endotelin varlığı ilk olarak 1988 yılında Yanagisaka ve arkadaşları tarafından tespit edilmiştir (Torun ve Bayram, 2004). Esansiyel hipertansiyonun patolojisinde endotelinlerin fonksiyonlarını belirlemek amacıyla geliştirilen hipertansif model hayvanların küçük çaplı damarlarında endotel tabakası incelenmiş ve endotelin üretiminin arttığı belirlenmiştir. Bu bulgular hipertansiyon patogeneğinde endotelinin rolünü desteklemektedir. Endotelin salınımındaki artış, kan basıncının yükselmesinin yanısıra hipertansiflerde küçük çaplı damarlarda hipertrofik oluşumlardan da sorumludur (Babalık, 2005). ET-1 plazma seviyeleri esansiyel HT'li bireylerde, normotansiflere göre yüksek düzeyde tespit edilmiştir (Sainani ve Maru, 2004).

Nitrik Oksit

Kısa süreli etki gösterebilen, fakat dokulara yüksek nüfuz edebilme yeteneğine sahip olan NO, oldukça güçlü bir vazodilatör olup, trombosit adezyonu ve agregasyonunun inhibisyonu, damarlardaki düz kas proliferasyonunun engellenmesi gibi etkilere sahip olan gaz halinde bir moleküldür. Kan basıncını dengede tutan ve organların perfüzyonunu sağlayan bir faktör olarak kabul edilmektedir. NO; ani kan basıncı değişimleri, damar duvarında oluşan basınca bağlı değişiklikler gibi çeşitli uyaranlarla endotel hücrelerden salınarak sistemik kan akışını ve basıncını düzenlenmektedir (Vural vd., 2002). Hipertansif bireylerde normotansiflere göre NO ile ilişkili damar gevşemesinin daha düşük seviyelerde olduğu bildirilmektedir. Bu durum, endotelial hasar sonucu NO sentezi ve salınımında bazı bozuklukların meydana gelmesi ile hipertansiyonun ortaya çıktığı görüşünü

desteklemektedir. Endotelial hücrelerde meydana gelen fonksiyon bozuklukları; NO düzeylerinde azalmalarla mı, yoksa HT'nin bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı konusunda tartışmalar hala devam etmektedir (Tai vd., 2005).

Genetik Yatkınlık

Esansiyel hipertansiyonun patogeneğinde kalıtımın rol oynadığının en belirgin göstergelerinden biri, ailede yüksek kan basıncı olan bireylere rastlanmasıdır (Arteriyel Hipertansiyon Tedavisi 2007 Kılavuzu). Anjiotensinojen, ACE, anjiotensin-II tip 1 reseptör, B2-adrenerjik reseptör geni gibi pek çok gen hipertansiyon oluşum mekanizmalarında etkilidir (Işık, 2005). Aile bireyleri ve ikizler arasında genetik faktörlere bağlı HT oluşumunda, genetik faktörlerin %30-60 oranında etkili olduğu tespit edilmiştir (Resnick vd., 1993). Yüksek kan basıncına sahip kan bağı olan akrabalar, monozigot ve dizigot ikiz bireylerin çocuklarının hipertansif olma eğilimleri, düşük kan basıncına sahip ebeveynlerin çocuklarının ise hipotansif olma eğilimleri bildirilmiştir (Boreas vd., 2001). Bu durum, kan basıncının yükselmesine sebep olan faktörlerin bir dizi gen tarafından kontrol edildiği kavramını desteklemektedir. Bunun yanı sıra kan basıncının farklı biyolojik faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği de bilinmektedir.

Sekonder hipertansiyon tüm hipertansif oluşumlarının %5'lik kısmını kapsamaktadır. Esansiyel hipertansiyona göre, sekonder hipertansiyonun kan basıncı yüksekliğinden kaynaklı tanımlanabilir bir sebebi vardır. Ancak, tanımlanabilen bu sebep her ne olursa olsun, hipertansiyonun fizyopatolojik mekanizması; kan basıncı ve onun hemodinamik belirleyicilerinin değişkenliği ile ilişkilidir. Kalp debisinde artış, kan basıncının yükselmesi ve periferik direncin azalmasıyla sonuçlanır. Hiperdinamik dolaşıma sahip bireyler dışındaki hastalar göz ardı edildiğinde, zaman içerisinde kalp debisindeki artış normal seviyelere ulaşırken, periferik dirençte ikincil bir artış meydana gelmektedir. Bu artışla damarlarda meydana gelen hipertrofi, direnç ortadan kalksa bile yüksek kan basıncını devam ettirebilir (Keleş ve Ağaç, 2005). İkincil hipertansiyonun sebepleri arasında kronik böbrek yetersizliği, renovasküler hastalıklar, primer hiperaldosteronizm, cushing sendromu, feokromositoma gibi çeşitli tanılar sayılabilir (Vural, 1997).

2.1.1 Kalp ve böbrek dokusu üzerine hipertansiyonun etkileri

Hipertansiyon bütün dünyayı ilgilendiren önemli bir sağlık sorunudur. Dünyada yaklaşık 1,5 milyar, ülkemizde ise 15 milyonun üzerinde hipertansiyonlu hasta olduğu bildirilmiştir. Kalp ve böbrekler hipertansiyondan en fazla etkilenen organlardır (Cohuet ve Boudier, 2006).

Kalp üzerine etkileri:

Hipertansiyon kaynaklı vasküler disfonksiyon hastalıkları üzerine yapılan çalışmalarda, kalp yetmezliğinin önemli ölüm sebeplerinden biri olduğu saptanmıştır. Hipertansiyonda, artan sistemik basınç sonucu ortaya çıkan aşırı iş yükü ile damar duvarının kalınlaşması sol ventrikül sistolik fonksiyonlarının bozulmasına eşlik eden konsantrik sol ventrikül hipertrofisi ve diyastolik disfonksiyon en sık rastlanan durumlardır (Litwin vd., 1993). Kandaki glukoz ve insülin seviyeleri, miyosit büyümesi, vasküler ve miyokardiyal hasarlar, endotel disfonksiyonu ve tromboz gibi patolojik durumlar kardiyak fonksiyonlar üzerine önemli etkiler göstermektedir (Demirci, 2006). Hipertansiyon ile birlikte ortaya çıkan kardiyovasküler değişimlerde kardiyak rezerv azalır. Kollajen gibi moleküllerin yapısında meydana gelen bozulmalar, arteriyal sistemin esnekliğinin kaybolmasına ve periferel direncin artışına yol açmaktadır. Hipertansiyonda miyokardiyal gevşeme bozularak kalbin diyastolik görevi engellenir ve ventriküler kasılmalarda azalmalar ortaya çıkar. Kontraktil cevap mekanizması hasarlanan kalp dokusunun, periferel direncindeki artışa bağlı olarak kardiyak outputu sürdürmesi güçleşir. Hipertansiflerde, damar sertleşmenin artışıyla ortaya çıkan hacimsel artış, kan basıncının yükselmesine sebep olur. Diyastolik kan basıncında meydana gelen azalma, koroner damarlarda perfüzyon ile hipertrofi oluşumuna ve sonuç olarak duvar geriliminin artışı ile ventrikül kasında iskemiye yol açar (Erbaşı vd., 1999). Hipertansiyona bağlı ölümlerin çoğu miyokardiyal infarktüs veya konjestif kalp yetmezliğinden kaynaklanmaktadır. Miyokardiyal hasarların, kan basıncı veya A-II düzeyinin artışından ziyade normal/yüksek tuz alımı ile aldosteron aracılı olabileceğini düşündürmektedir (Karamahmutoğlu, 2007).

Böbrek üzerine etkileri:

Hipertansiyon patogenezi ile ilgili çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. Bunlardan biri 1930'lu yıllarda Goldblatt tarafından yapılan çalışmada, böbreğin hipertansiyonda önemli rol oynadığı vurgulanmıştır (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006). Bir diğer hipotez ise renal fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak tuz atılımında böbreklerin isteksizliğidir. Sağlıklı kişilerde, KB artışı sonucu böbrekler vasıtasıyla su ve sodyum atılımında artış gözlenirken kan hacmi azalarak KB normale döner ve bu olaya basınç-natriürezis denir (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006). HT oluşmu ve ilerlemesinde böbreklerin rolü olduğunu öne süren Guyton'un bu teorisi bugün de geçerliliğini korumaktadır. HT gelişen bireylerde KB seviyelerini optimal tutabilen böbrek intrinsik natriüretik kapasitede bazı bozukluklar mevcuttur. Basınç natriürezisi temeline dayanan bu hipotezde, böbreklerden sodyumun atılamaması sonucu plazma hacmi ve kalp debisinde artışlar meydana gelmektedir. Böbrekte KB artışını önlemek için geliştirilen otagülasyon etkisiyle sistemik vasküler direnç artarak HT ortaya çıkmaktadır (Montani ve Vliet, 2013). Transplantasyon deneylerinde; HT'nin meydana gelmesinde böbreğin tuz tutma özelliğinin önemli rol oynadığı ve bu olayın kalıtsal bir bozukluk olarak böbrek tubülüs hücrelerinde gerçekleştiği gösterilmiştir. HT'nin gelişiminde böbreklerden sodyum atılımı sonucu meydana gelen renin-nefron heterojenitesi, buna bağlı olarak basınç natriürezisinin yeniden düzenlenmesi ve genetik faktörler etkilidir (Gerhold vd., 2007). Böbreğin afferent ve efferent arteriyollerinde ve glomerüler kapillerinde ortaya çıkan aterosklerotik lezyonlar hipertansiyonda en çok gözlenen hasarlarıdır. Bu lezyonlar sonucunda, glomerüler filtrasyon oranında azalma ve tubüler fonksiyonlarda bozulmalar ortaya çıkar. Glomerüler lezyonlar sonucu proteinüri, iskemik nefropati gelişir ve bu durum böbrek yetmezliği ile sonuçlanır (Mensah vd., 2003).

2.1.2 Hipertansiyon ve inflamasyon

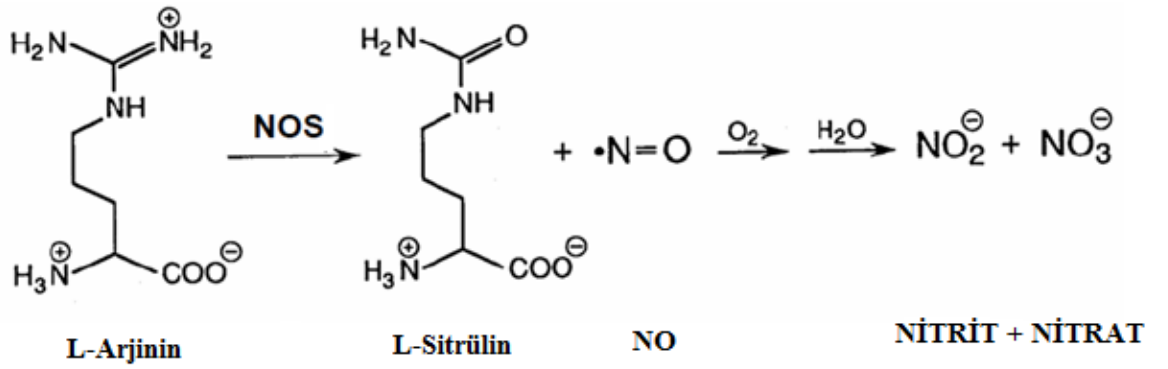
Hipertansiyon patogenezinin bağlı inflamasyon gelişimindeki artış son yıllarda birçok çalışma ile gösterilmiştir (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006; Mate vd., 2010; Leychenko vd., 2011; Kim vd., 2011). Ayrıca, ateroskleroz gelişiminde inflamasyonun önemli rol oynadığı bilinmektedir (Wilcox ve Gutterman, 2005). Kardiyovasküler risk faktörü olarak pekçok patolojik durum sistemik inflamasyonla sonuçlanmaktadır. Adezyon molekülleri, kemokinler, büyüme faktörleri, ısı şok proteinleri, endotelin-1 ve anjiyotensin gibi

inflamasyona sebep olan bu moleküller hipertansiyon gibi risk faktörleri ile uyarılarak iltihap oluşumuna yol açarlar (Hilgers vd., 2000). Hipertansiyon patoetiolojisine katkı sağlayan birçok moleküler mekanizma oldukça karmaşık olup çok sayıda sistem ile etkileşim halindedir. Oksidatif stres ve inflamasyon arasındaki ilişkinin en önemli göstergesi; hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların başlaması, ilerlemesi ve komplikasyonların ortaya çıkmasıdır. Oksidatif stres; antioksidan sistemler tarafından kontrol edilemeyen reaktif oksijen türlerinin yüksek düzeylerini ifade eder. ROT (O_2^- , H_2O_2 , OH^-) sürekli olarak hem enzimatik hem de enzimatik olmayan moleküller tarafından dengelenir. Aşırı ROT üretimi sonucu proinflamatuvar, profibrotik ve mitojenik sinyal yollarının aktivasyonu ile doku hasarı ve fonksiyon bozuklukları meydana gelir. Bu durum; endotel, kardiyovasküler ve böbrek disfonksiyonuna bağlı olarak periferik direncin artışı ve kan basıncı yükselmesi ile sonuçlanır. Oluşan inflamasyon sonucu damar genişletici etkiye sahip olan NO'nun biyoyararlanımında azalmalar ortaya çıkar (Mate vd., 2010).

2.2 Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)

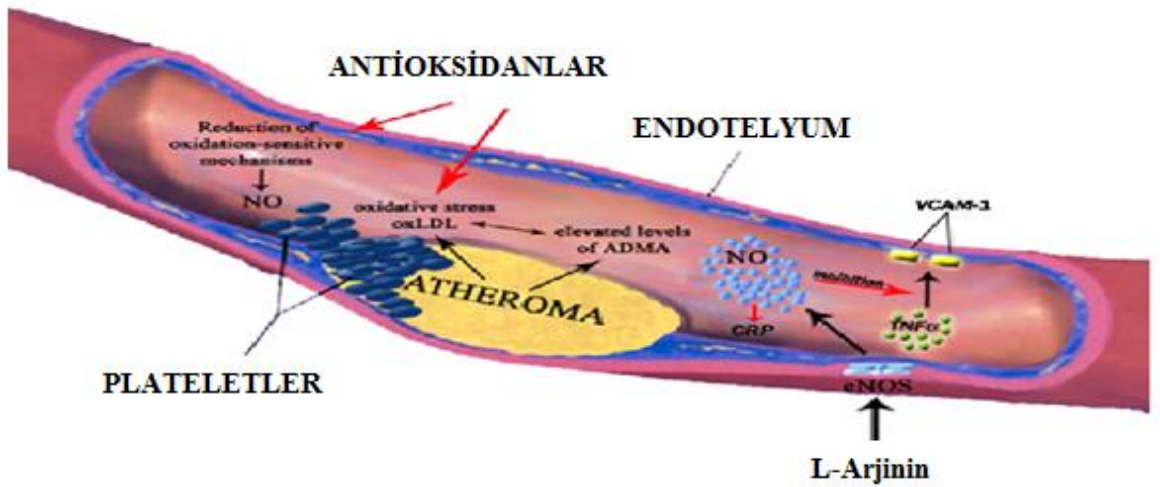
Vasküler ağ içerisinde yer alan endotel hücreler tüm kan damarlarının iç yüzeyini kaplamaktadır. Vasküler sistemin homeostazından sorumlu olan endotel; vazokonstriksiyon-vazodilatasyon, trombogenez ve fibrinoliz arasındaki dengeden sorumludur. Bu dengenin sağlanamadığı durumlarda endotel fonksiyon bozuklukları meydana gelir. Vasküler sistemdeki endotel işleyişin kompleksliği göz önünde bulundurulduğunda, endotel fonksiyon bozukluklarının tanımlanması güçleşmektedir. En çok kabul gören disfonksiyon tanımlaması ise, damar lümen regülasyonundaki anormalliklerdir (Schmitt ve Dirsch, 2009). HT gelişim süreci ve buna katkıda bulunan faktörler henüz yeterince aydınlatılamamıştır. Patojenezi multifaktoriyel temellere dayanmakla birlikte, sodyum hipotezi ve endotelyum disfonksiyonu en kabul edilebilir HT yaklaşımlarıdır. Periferik damar direnci artışıyla seyreden esansiyel hipertansiyon, NO gibi endotel kaynaklı vazodilatör sistemlerin hasar görmesiyle ilişkilendirilmiştir (Oktar vd., 2007). NO; nitrojen ve oksijen atomundan meydana gelen, molekül ağırlığı yaklaşık 30 kD olan, yağda çözünabilen, hücre zarlarından geçebilen ve en önemlisi serbest radikal özelliği taşıyan renksiz bir gazdır (Coulter vd., 2008). NO'nun yapısında eşlenmemiş elektron bulundurma ve üzerinde yük taşınamaması sonucu hücreden hücreye geçişi kolay olmaktadır. NO'nun bu özelliğe sahip olması onun radikal molekül olarak nitelendirilmesine

yol açmıştır (Olson ve Garban, 2008). Diğer oksijen kaynaklı serbest radikaller hemen her konsantrasyonda hücreler için zararlı etkilere sahipken, NO düşük konsantrasyonlarda önemli fizyolojik fonksiyonları yerine getirmektedir. Aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO, bu özellikleri ile ideal bir kimyasal haberci molekül özelliği kazanmaktadır (Dhir ve Kulkarni, 2011). NO, endotelial NOS (eNOS) aracılığı ile bir aminoasit olan L-arjininden üretilebildiği gibi diyet yoluyla da alınabilir (Şekil 2.4) (Schmitt ve Dirsch, 2009).



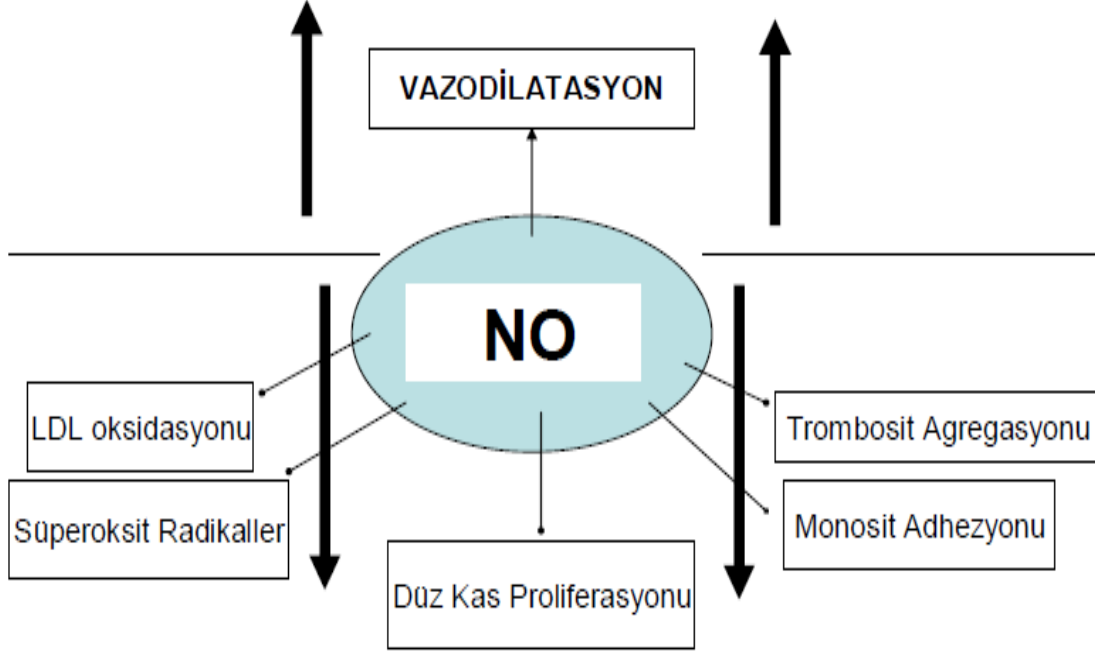
Şekil 2.4. L-arjininden NO biyosentezi

Damar tonusunu düzenleyerek vasküler homeostazın devamlılığında etkili olan NO; trombosit agregasyonu, damar düz kas hücre proliferasyonu ve lökosit-endotel etkileşimini engelleyerek vazodilatör ve antiaterojenik özellikler gösterir (Şekil 2.5) (Vural vd., 2002).



Şekil 2.5. Aterogenezde nitrik oksidin rolü (Napoli vd., 2006)

NO, damar tıkanmasına yol açan trombosit adezyonu ve trombüs oluşumunu engelleyip koroner arter spazmını önleyerek aterosklerotik lezyonların hücresel işaretlerinden olan LDL oksidasyonunun ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonuyla antioksidan etki gösterir (Şekil 2.6) (Napoli vd., 2006).



Şekil 2.6. Nitrik oksidin biyolojik etkileri

NO salınımı fiziksel ve humoral uyarılarla düzenlenir. Sitozolik bir enzim olan guanilat siklaz aktivitesi ile kontraksiyon inhibisyonu gerçekleştirilerek damar düz kas hücreleri gevşetilir. Normal bir endotelde kan damarlarının belli bir akışkanlıkta kalabilmesi için düşük seviyelerde sürekli olarak NO salınımına ihtiyaç vardır. NO'nun kan akımını arttırması metabolik uyarılara bir cevaptır. Damar düz kas hücrelerinde ve trombositlerde artan siklik guanozin monofosfat (cGMP) seviyesi, guanilat siklazı uyarır ve intrasellüler olarak guanilat siklaz aktivitesindeki artış, NO'in trombosit adezyonu ve agregasyonunu baskılamasına yol açar (Mullershausen vd., 2003).

Hemen hemen birçok dokuda, endojen olarak L-arjininden NOS enzim sistemi tarafından NO sentezi gerçekleştirilir. Sentez sonrasında hızlı ve kararlı bir şekilde okside edilerek inaktif bileşikler olan nitrit ve nitrat gibi son ürünlere dönüştürülür. Hemoglobinin NO'yu baskılama özelliği vardır. NO'nun en önemli fizyolojik hedefi, çözünebilir guanilat siklaz (sGC) enziminin hem grubudur. Düz kas hücresine geçen NO, guanilat siklazı stimüle

ederek, guanozin trifosfatın cGMP'ye dönüşümünü sağlar. Artan cGMP de protein kinazı ve iyon kanallarını aktifleştirerek, hücre dışına çıkarılma yolu ile hücre içi kalsiyum düzeyleri azalır ve vazodilatasyon sağlanır. cGMP'nin fizyolojik etkisi 3'5' bağının fosfodiesteraz enzimi tarafından hidrolize edilmesi ile sonlandırılır (Dhir ve Kulkarni, 2011). NOS inhibitörleri olarak rol oynayan çeşitli L-arjinin analogları L-arjinin gibi davranarak NO yapımını kompetatif olarak inhibe etmektedir (Kielstein ve Fliser, 2007). NO sentezinde substrat olarak görev yapan arjininin plazma konsantrasyonunun yeterli düzeyde olması ile enzim optimal aktivite gösterir. Arjininden NO oluşumu çeşitli arjinin analogları tarafından inhibe edilmektedir. Bu analoglar trombüs formasyonunun artışı ve aterogeneze sorumludur. Hipertansiyon ve ateroskleroz gibi akut koronerde güçlü bir prediktör olarak bilinen ADMA ve N-monometil L-arjinin (L-NMMA) en önemli iki arjinin analogudur (Valkonen vd., 2003). Beslenme alışkanlıkları kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde en önemli stratejilerdendir. Beslenme tarzı, hastalıkların ortaya çıkışında oldukça etkilidir. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, doğal ürünlerin günlük diyet veya fitomedikal olarak alınımının, NO biyoyararlanımını ve vasküler fonksiyonu geliştirebileceğini göstermiştir. Bu tip bileşenlerin tanınması ve hücresel olaylardaki fonksiyonu endotelial NO üretimini düzenleyip, kalp-damar hastalıklarının tedavisi için önemli ipuçları verebilir (Schmitt ve Dirsch, 2009). Nöronal (nNOS), indüklenebilir (iNOS) ve endotelial nitrik oksit (eNOS), NOS'un bilinen üç izoformudur. eNOS ve nNOS yapısal NOS (cNOS) olarak adlandırılır. eNOS endotel hücrelerde, kardiyak miyositlerde ve trombositlerde yani kardiyovasküler fizyolojide rol oynayan birçok hücrede bulunur. nNOS merkezi ve periferik nöronlarda sentezlenirken (Schmitt ve Dirsch, 2009), iNOS başlıca hepatositler ve makrofajlar olmak üzere, sitokinlerle indüklenebilen hücrelerde çeşitli inflamatuvar medyatörlere yanıt olarak endotel hücrelerde, düz kas hücrelerinde, kardiyak miyositlerde ve makrofajlarda sentez edilir. iNOS aktivitesi sitokinler tarafından dengede tutulur, iNOS inaktif hücrede bulunmaz (Song vd., 2002). Tüm NOS izoformları aktiviteleri için BH₄, NADPH, FMN ve FAD gibi kofaktörlere ihtiyaç duyarlar (Napoli vd., 2006).

2.3 Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonu ile Oluşturulan Hipertansif Model

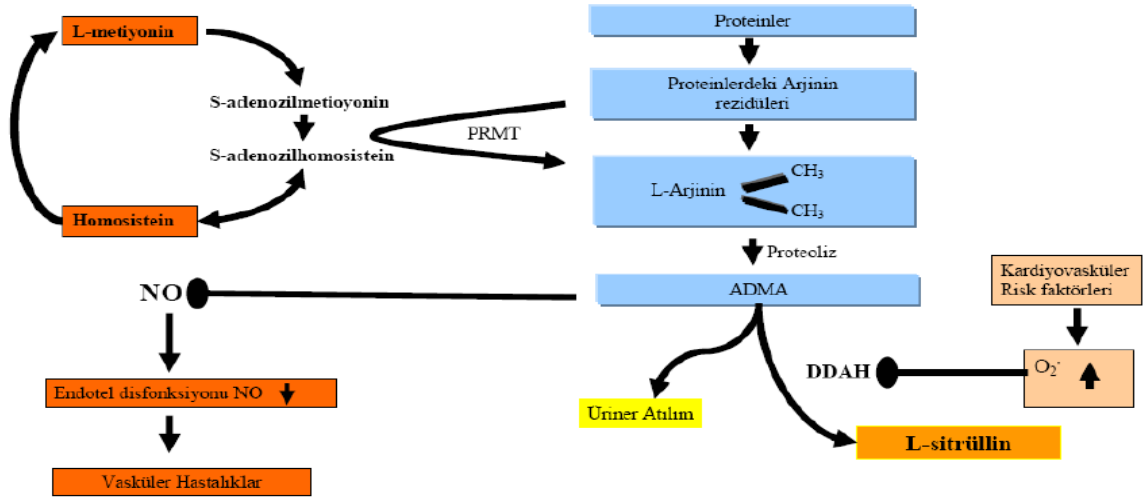
Hipertansiyon oluşum mekanizmalarında NO'nun yer almasından dolayı biyolojik sistemlerdeki düzenleyici rolü ve NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinin daha ayrıntılı incelenmesi ihtiyacı doğmuştur. 1992 yılından beri kullanılmakta olan kronik

NOS inhibisyonu yaygın bir hipertansif model olarak bilinmektedir (Zatz ve Baylis, 1998). NO üretiminin inhibe edilmesine dayanan bu model, kan basıncının uzun vadede düzenlenmesinde NO'nun hipertansiyonda gözardı edilemez bir etkisinin olduğu olgusunu karşımıza çıkarmaktadır (Nafz vd., 1996). Farklı dozlarda uygulanan NOS inhibitörlerinin, sıçanlarda hipertansiyona sebep olmasının yanısıra yüksek dozlarda böbrek hasarları da oluşturduğu tespit edilmiştir (Simko vd., 2004; Tsuchiya vd., 2010). Kronik NOS blokajının yeni bir hipertansif model olarak kullanılması birçok araştırmacı tarafından elde edilen paralel bulgularla da desteklenmiştir (Nafz vd., 1996; Zatz ve Baylis, 1998; Simko vd., 2004; Tsuchiya vd., 2010). Sıçanlarda hipertansif model oluşturmada kullanılan, L-arjinin analogu L-NAME bilinen ilk NOS inhibitörüdür (Gardiner vd., 1992; Zatz ve Baylis, 1998). Suda kolayca çözünebilen bu NOS inhibitörü, deney hayvanlarının içme sularına karıştırılmak suretiyle bu modelin yaygın kullanımını sağlamıştır (Majithiya vd., 2005; Moran vd., 2009). Sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için kullanılan bir diğer uygulama L-NAME'nin intraperitoneal enjeksiyonudur (Deniz vd., 2006). Baylis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sekiz hafta boyunca sıçanlara 5 mg/kg/gün dozda L-NAME uygulanmış ve bu dozun sıçanlarda hipertansiyon ve glomerüloskleroz gelişimine yol açtığı bildirilerek L-NAME ile hipertansif model oluşturmada yapılan ilk çalışma olarak literatüre geçmiştir (Zatz ve Baylis, 1998). L-NAME'nin uygulama süresi ve doza bağlı bir etkisinin olduğu, yapılan çalışmalarda belirlenen farklı kan basıncı düzeylerinin saptanması ile tespit edilmiştir (Simko vd., 2004; Majithiya vd., 2005; Deniz vd., 2006).

2.4 Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA) ve Biyolojik Etkileri

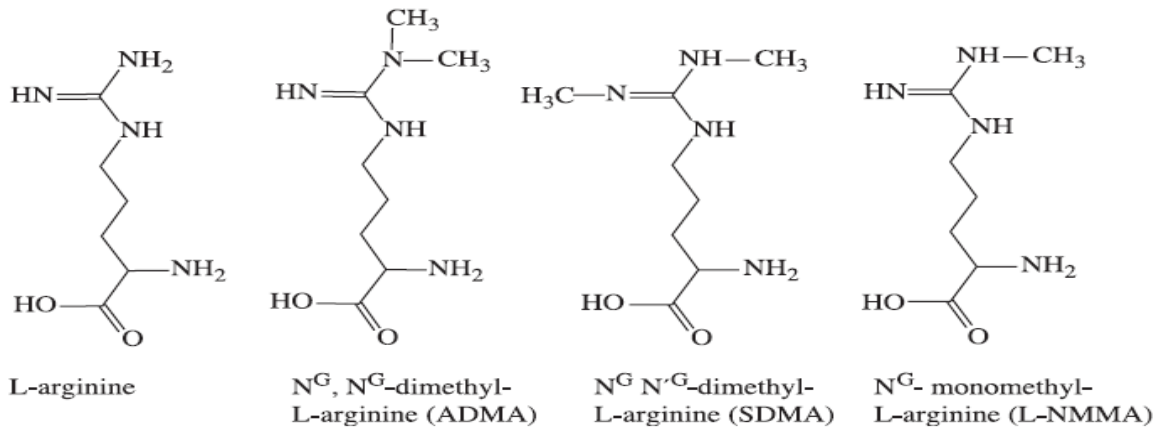
İlk kez 1992 yılında, Vallance ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada L-arjinine yapısal benzerlik gösteren bazı maddeler tanımlanmıştır. Bu maddeler birbirlerinden farklı olarak bir veya iki metil grubu içerip NO sentez inhibitörleri gibi davranmaktadırlar. Monometil veya dimetilarjininler olarak adlandırılan bu maddeler insan plazmasında ve idrarında endojen olarak tespit edilmiştir. Vallance ve arkadaşları, ADMA'nın bu grubun bir üyesi olduğunu ve NO sentezini inhibe etme yeteğine sahip olduğunu yaptıkları çalışma ile bildirdiler (Vallance vd., 1992). ADMA, plazmada doğal olarak bulunan bir aminoasit olup arjinin aminoasitinin translasyonu ile modifiye olmuş bir formudur. ADMA'yı önemli kılan en önemli özellik, NOS'u yarışmalı olarak inhibe etmesidir (Palomo vd., 2011). NOS'un görevi, L-arjinin'den NO sentezini gerçekleştirmektir. ADMA, vasküler dokularda gerçekleşen bu reaksiyonda, NOS'u inhibe ederek L-arjininin hücreye girişini

engelleyip NO'nun azalmasına, dolayısıyla endotel homeostazın vazokonstriksiyon lehine bozulmasına ve endotelial disfonksiyona sebep olur (Şekil 2.7) (Kielstein ve Fliser, 2007).



Şekil 2.7. ADMA metabolizması (Valkonen vd., 2004).

Hipertansiyon ve hiperkolesterolemi gibi akut koroner hastalıklarda önemli bir belirteç olan ADMA, protein arjinin metil transferaz (PRMT) tarafından metil gruplarının transferi ve bu proteinlerin tekrar yıkılması ile ortaya çıkan metillenmiş arjinin türevidir (Erdem ve Ünlü, 2010). İnsan vücudunda metillenmiş farklı arjinin türevleri de bulunmaktadır. Bu yapılar bir ya da 2 metil grubunun arjinine eklenmesi sonucunda meydana gelmektedir. ADMA ve simetrik dimetil arjinin (SDMA); yapıya iki metil grubunun ilave edilmesiyle, N^G-monometil-L-arjinin (L-NMMA) ise bir metil grubunun eklenmesiyle oluşan arjinin türevlerdir (Şekil 2.8) (Erbil vd., 2012).



Şekil 2.8. Endojen metilarjininlerin kimyasal yapısı (Valkonen vd., 2004).

PRMT iki farklı forma sahiptir. Arjininin monometillenmesi sonucu N^G-monometil-L-arjinin (NMMA) her iki formda da oluşur. Fakat yapıya ikinci bir metil grubu bağlandığında oluşacak ürün, PRMT enziminin tipine bağlıdır. PRMT'nin 1. tipi, aynı guanido azotunu dimetilleyerek N^G,N^G-dimetil-L-arjinin (ADMA) oluşumunu katalizlerken, tip 2 her iki guanido azotunu monometilleyerek N^G,N^G-dimetil-L-arjinin (SDMA) oluşumunu gerçekleştirir (Erbil vd., 2012). ADMA sentezi için gerçekleşen reaksiyon sonucu iki homosistein oluşur. Plazma homosistein ve ADMA düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır (Holven vd., 2003). Proteine bağlı arjinin metillenmesi ile oluşan ADMA'nın NOS enzimi üzerinde inhibe edici etkisi yoktur. İnhibisyonun gerçekleşebilmesi için metillenmiş proteinlerin proteolizi ile oluşan serbest ADMA gerekmektedir. Bugüne kadar serbest arjininden ADMA sentezlendiğine dair herhangi bir literatür bulgusuna rastlanmamıştır (Erbil vd., 2012). ADMA ve SMDA vücuttan sadece böbrekler vasıtasıyla atılabilir. Bir kısım ADMA ise N^G, N^G-dimetil-L-arjinin dimetil amino hidrolaz (DDAH) ile yıkılır. ADMA ve NMLA'nın bu enzim ile hidrolizi sonucunda, sırasıyla L-sitrülin ve dimetilamin veya monometilamin oluşur. DDAH, ADMA üzerinde özel bir etkiye sahiptir, ancak SMDA üzerine herhangi bir etkisi yoktur (Krzyzanowska vd., 2008). Leiper ve arkadaşları iki farklı izoform (DDAH 1 ve DDAH 2) tanımlamışlar; beyin ve böbrekte yüksek miktarda DDAH 1, kalp, plasenta ve böbrekte ise DDAH 2 salınımı olduğunu belirtmişlerdir. ADMA'nın %90'dan fazlası DDAH ile metabolize edilmektedir. Renal disfonksiyon ve hiperkolesterolemi durumlarında DDAH'ın sentezinde fonksiyonel bozukluklar meydana gelirken ADMA düzeylerinde artış ortaya çıkmaktadır (Leiper vd., 2007). Artan ADMA düzeyleri ile yükselen kan basıncı vazokonstriksiyona yol açıp endotel bağımlı gevşeme bozukluğuna ve endotelial hücre adezivitesinde artışa sebep olur. Yükselen ADMA ile endotel fonksiyon bozukluğu, konjestif kalp yetmezliği, diyabet, insülin direnci, hipertansiyon, hiperhomosisteinemi, kronik böbrek yetmezliği gibi birçok klinik durum gözlenmektedir (Vallance ve Leiper, 2004). Vasküler dokularda artan ADMA konsantrasyonu ile oksidatif stres arasında ilişki, ADMA'nın oksidatif stres için önemli bir medyatör olduğunun göstergesidir (Sydow ve Münzel, 2003).

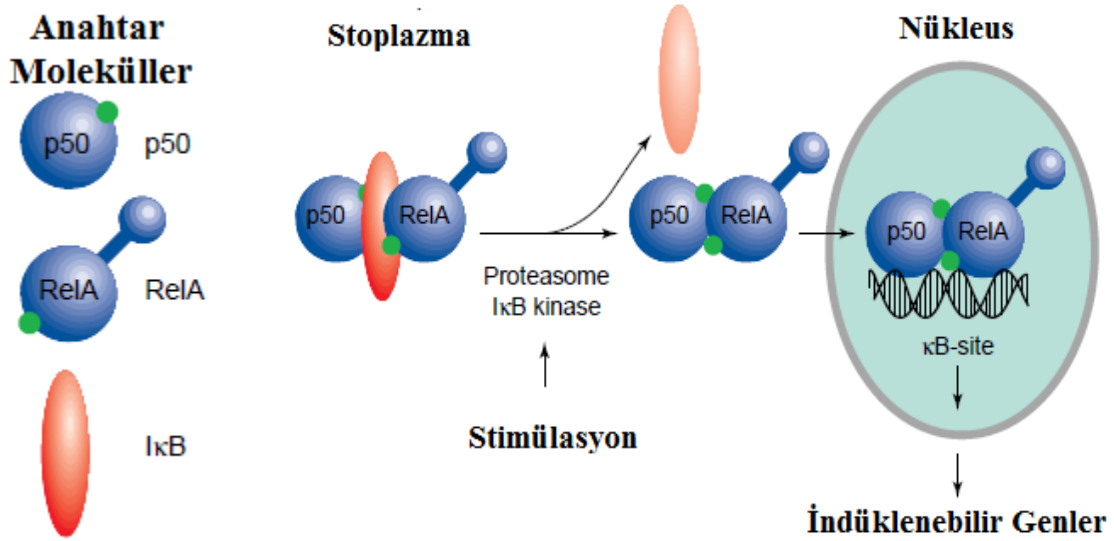
2.4.1 ADMA-Hipertansiyon İlişkisi

ADMA'nın endotelial disfonksiyon ve kardiyovasküler hastalıklarda bir risk faktörü olması; renal yetmezlik, hipertansiyon, hipertiroidizm, diyabet, musküler distrofi, preeklampsi gibi hastalıklarla da ilişkisi olabileceğini göstermektedir. Arjinin analogları L-arjinin ile yarışarak L-arjinin kullanımını azaltırlar ve bu durum NO üretiminin azalması ile sonuçlanır (Sydow ve Münzel, 2003). Hipertansiyon hastalarında serum ADMA düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Kielstein ve Fliser, 2007). Ancak, ADMA seviyelerinin yükselmesi ile ilgili çeşitli mekanizmalar olduğu öne sürülmektedir. Hipertansif bireylerin ADMA düzeyleri ile kan basınçları arasında pozitif; nitrojen oksitler ile NO arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir (Sydow ve Münzel, 2003). Aşırı tuz kullanımına bağlı hipertansiyonda plazma ADMA düzeyleri ve kan basıncının arttığı, üriner sistemden NO ürünlerinin atılımının azaldığı bildirilmiştir (Halliwell, 1995). Yapılan bir araştırmada esansiyel hipertansiyonlu hastalarda ADMA düzeylerinin RAAS ile ilişkili olduğu ve RAAS sisteminin inhibisyonu sonucu ADMA düzeylerinde azalmalar meydana geldiği belirtilmiştir (Ito vd., 2001).

2.5 Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) ve Biyolojik Etkileri

Rel mutagen ailesine bağlı bir transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör kappa B (NF- κ B); immün sistem, inflamasyon ve apoptotik süreçle ilişkili çok sayıda gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Jeffery ve Morrell, 2002). NF- κ B; Sen ve Baltimore tarafından ilk kez 1986 yılında immünglobulin kappa genindeki transkripsiyonu arttıran düzenleyici DNA dizisine bağlanan bir nükleoprotein olarak keşfedilmiştir (Sen ve Baltimore, 1986). Memelilerde NF- κ B ailesi; NF- κ B1 (p50=p105), NF- κ B2 (p52=p100), Rel A (p65), Rel B ve cRel olmak üzere 5 alt ünitelerden oluşmaktadır. Bu alt ünitelerden p50 ve p65'in heterodimer bir oluşumu olan NF- κ B; G₀ fazındaki hücrelerin sitoplazmasında nükleer faktör inhibitörü kappa B (I κ B) proteinleri tarafından sentezlenir ve inaktif halde bulunur. Bakteriyel yapılar, oksidatif stres ve protein sentez inhibitörleri bu dimer yapıların aktifleşmesi için gereklidir (Salminen vd., 2008; Haddad ve Abdel-Karim, 2011). NF- κ B; sitokinler, radyasyon ve bazı kemoterapötik ajanlarla fosforilasyon ve ubiquitinasyon yoluyla, ayrıca I κ B'nin proteozom aracılı degradasyonu ile aktive olur. Ayrıca NF- κ B; hücre büyümesi, apoptozis regülasyonu, sitokin üretimi ve

neoplastik transformasyondan sorumlu çok sayıda gen ekspresyonunu da kontrol etmektedir (Şekil 2.9) (Haddad ve Abdel-Karim, 2011).



Şekil 2.9. NF-κB'nin stimülasyonu ve gen ekspresyonu (O'Neill ve Kaltschmidt, 1997).

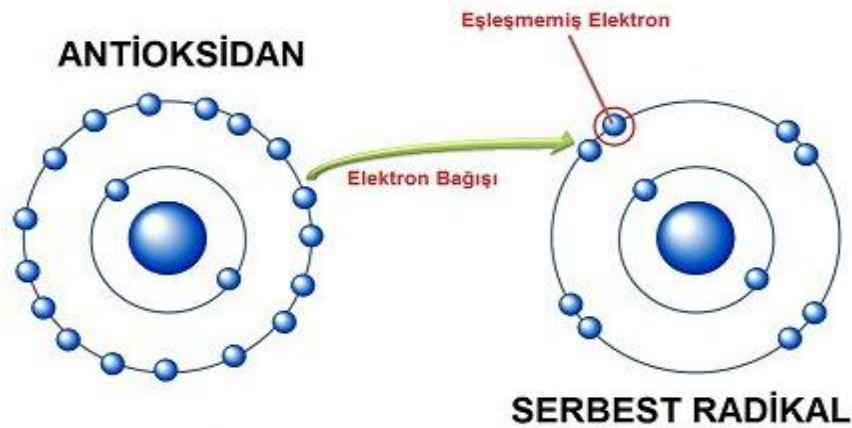
NF-κB; doğal veya sonradan kazanılmış bağışıklık sistemi genlerinin proinflamatuvar sitokinler, kemokinler, lökosit adezyon molekülleri ve inflamatuvar enzimler ile düzenlenmesini sağlar. NF-κB için iNOS geninin üst kısmında çok sayıda bağlanma bölgesi bulunmaktadır. NF-κB'yi aktive edebilen pek çok ajan aynı zamanda endojen olarak vücutta üretilen süperoksit, hidrojen peroksit ve lipooksijenaz gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu da tetikler. ROT, hücresel redoksu etkileyerek NF-κB aktivasyon mekanizmasında kinazların etkinliğini değiştirerek NF-κB aktivasyonuna, ya da aktivasyonda artışa yol açabilir. Ayrıca ROT, NF-κB'den bağımsız olarak hücre transkripsiyonunu doğrudan etkileyerek redoks merkezli diğer transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu da arttırabilmektedir. *In vivo* ve *in vitro* koşullarda endojen veya ekzojen antioksidanlar, hücrede NF-κB aktivasyonunu engellemektedir (Schmidt vd., 1995; Beauparlant ve Hiscott, 1996). Çeşitli kanser türleri üzerine yapılan çalışmalar sonucu, NF-κB aktivitesi ile ilgili olarak; hücre siklusu, invazyon, metastaz, anjiyogenez ve antiapoptoz ile ilgili gen ekspresyonunu aktive ettiği için tümör oluşumu ve gelişiminde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. NF-κB transkripsiyon faktörünün aktivasyonunun antikarsinojen özellik göstererek tedavide önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir (Cansino vd., 2011).

2.5.1 NF- κ B hipertansiyon ilişkisi

Hipertansiyon hastaları ve hipertansif model oluşturulmuş deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda oksidatif stres ve ROT üretiminde artış meydana geldiği tespit edilmiştir (Kim vd., 2011). Artan ROT üretimi NF- κ B'yi indükleyerek doku hasarlarına yol açmaktadır. NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon sonucu meydana gelen inflamasyon NF- κ B'yi aktive eder. İnflamatuar uyarı sonucu I κ B; kinaz aktivitesi ile fosforillenir ve proteozomlarla parçalanarak NF- κ B'nin açığa çıkmasına sebep olur. Serbest kalan NF- κ B'nin nükleusa geçerek gen transkripsiyonunu başlatır (Queisser ve Nicole Schupp, 2012). Yapılan çalışmalarda NF- κ B'nin hipertansiyon oluşumunda önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Hipertansiyon sonucu meydana gelen doku ve organ hasarlarının önlenmesinde ROT'un etkisini azaltan NF- κ B inhibitörleri yani antioksidanlar tedavi edici olarak kullanılabilir (Villarreal-Molina ve Antuna-Puente, 2012).

2.6. Oksidatif Stres ve Biyolojik etkileri

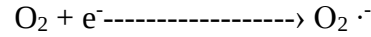
Elektronlar “orbital” adı verilen uzaysal bölgelerde eşleşmiş olarak bulunurlar. Bazı moleküller yapılarında eksik elektron bulundurabilir veya herhangi bir elektron ile etkileşime girerek bir molekülden elektron alabilir ya da verebilirler. Fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar esnasında başka moleküller ile kolayca elektron alış-verişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere “serbest radikaller”, “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen türleri” denmektedir (Şekil 2.10) (Akkuş, 1995).



Şekil 2.10. Antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki redoks mekanizması

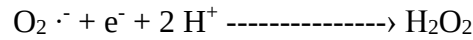
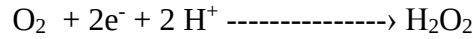
Serbest radikaller stabil olmayıp son derece reaktiftirler ve kararlı hale geçebilmek için elektron arar ve diğer moleküllerden elektron kopararak daha kararlı hale geçerler. Ancak elektron kaybeden moleküller ise kararsız hale geçerek serbest radikal özelliği kazanmaktadırlar. Bunların en önemlileri süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleridir (Scheibmeir vd., 2005).

Tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) meydana gelir.

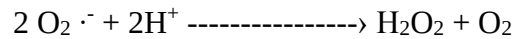


Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi doğrudan zarar vermez. Hasar verici etkisini geçiş metalleri varlığında daha çok hasarlayıcı radikallere dönüşerek gösterir ve önemli bir hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağıdır (Jensen, 2003; Lushchak, 2011).

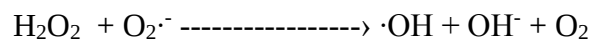
H_2O_2 , moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden $2 e^-$ alması veya süperoksitin bir elektron alıp 2 hidrojen atomuyla birleşmesi sonucu oluşur. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır.



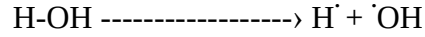
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



Bu dismutasyon ya kendiliğinden meydana gelir ya da süperoksit dismutaz enzimi ile katalizlenir. Hidrojen peroksit serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri ile etkileşerek serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan, hidroksil radikalini oluşturmak üzere yıkılabilir (Jensen, 2003; Lushchak, 2011).



Bilinen en reaktif radikal olan hidroksil radikali ($\text{HO}\cdot$); aminoasitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipitler ve şekerler gibi biyomoleküllerin hemen hemen hepsiyle reaksiyona girebilme yeteneğine sahiptir. $\text{HO}\cdot$, tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^+ in birleşmesi sonucu meydana gelir. Hidroksil radikalının yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar (Jensen, 2003; Lushchak, 2011).



Tekil oksijen ($^1\text{O}_2$) ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur (Jensen, 2003; Lushchak, 2011).

Organizmada oluşan serbest radikaller endojen ve ekzojen kaynaklı olabilirler. Serbest radikaller; NO, aktive olmuş fagositler, antineoplastik ajanlar, radyasyon, alışkanlık yapan maddeler, çevresel ajanlar ve stres, küçük moleküllerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler, mitokondriyal elektron transport sistemleri, peroksizomlar, ilaçlar, diyet, ultraviyole, ışık, sigara dumanı, ksenobiyotikler, plazma membranı ve oksidatif stres kaynaklı olabilir (Çaylak, 2011). Oksijen insan yaşamı için çok elzem olmasına karşın, normal metabolizma sırasında bazı ROT oluşturma potansiyelinden dolayı zararlı etkilere sahiptir (Limon-Pacheco ve Gonsebat, 2009). ROT normal hücrel metabolizma sırasında oluşabileceği gibi, çeşitli dış etkenler ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki prooksidan ve antioksidan dengenin, oksidan moleküller lehine bozulması olarak tanımlanmaktadır (Lushchak, 2011). Bu dengenin bozulması sonucu meydana gelen oksidan moleküllerin ortamdaki artışı; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hücrenin temel bileşenlerinde hasar meydana getirebilir. Meydana gelen hasarın kanser, ateroskleroz, amiloidoz, alzheimer, romatoid artrit, immün sistem bozuklukları ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğu ve biyolojik yaşlanma sürecinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Valko vd., 2006). Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse membran lipid ve proteinlerinde hasar ve disfonksiyon oluşumuna sebep olup genetik materyalde kırılma ve mutasyonlar ile bağışıklık sisteminde ciddi bozulmalara yol açabilirler (Lushchak, 2011). Doğal savunma sistemleri, ROT'un zararlarına karşı serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadırlar. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedirler. Serbest

radikal kaynaklı oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (Jensen, 2003).

2.6.1 Oksidatif stres ve hipertansiyon ilişkisi

Serbest radikaller ve yol açtığı oksidatif stres, hipertansiyonun bir sonucu olabileceği gibi nedenlerinden biri de olabilir. Yani hipertansiyonun oluşumundaki kesin mekanizmalar hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Hipertansiyon gibi birçok patolojik durumlarda vasküler duvarda ROT üretiminin arttığı gözlenmiştir (Ward vd., 2004). Endotelial ve vasküler düz kas hücreleri devamlı olarak ROT artışına sebep olmaktadır. ROT’un artışı ile apoptozis, migrasyon, proliferasyon ve inflamasyon modüle edilerek vasküler fonksiyonlar düzenlenmektedir (Saravanakumar ve Raja, 2011). Endotel hücrelerdeki redoks dengesinin bozulması artan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) üretimine dolayısıyla oksidatif stresin meydana gelmesine sebep olur. Bu dengenin bozukluğu sadece vasküler tonusu etkilemekle kalmaz ayrıca platelet aktivasyonu, lökosit adezyonu, vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve adezyon moleküllü sentezi gibi önemli mekanizmaları da aktive edebilir. Bu mekanizmaların aktivasyonu hipertansiyon sırasında hedef organ hasarının patogeneğinde önemli rol oynar (Giugliano vd., 1995). Oksidatif stresin artışı ile paralel olarak artan ROT üretimi (özellikle $O_2^{\cdot-}$ anyonu) NO biyoyararlanımını azaltır ve endotelial hücrelerde bazı fonksiyonel kayıplara yol açar. Hipertansiyon sonucu oluşan endotelial hasarın temel sebebi NO biyoyararlanımının azalmasıdır (Tai vd., 2005). ROT’un ortamdaki artışı direkt olarak NO seviyelerinin azalmasına ve toksik bir radikal olan peroksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$) oluşumuna sebep olmaktadır. Hipertansiyon faktörleri olarak serbest radikaller arasında en önemli etkiye sahip olan $O_2^{\cdot-}$ anyonu, fizyolojik şartlarda süperoksit dismutaz (SOD) etkisi ile ortamdaki uzaklaştırılır. Ancak, bazı patolojik durumlarda bu radikallerin üretiminde artış olabileceği gibi SOD düzeyinde de bir azalma meydana gelebilir. Eğer antioksidan mekanizmalar ile süpürülemez ise daha toksik bir radikal olan hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) dönüşür ve lipid peroksidasyonuna yol açabilir (Kim, 2011; Tai vd., 2005).

Oluşan $ONOO^{\cdot-}$ hücresel proteinlerin, lipidlerin ve düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonuna neden olarak vasküler fonksiyonlara zarar verebilir (Rizzo vd., 2009). Vasküler dokularda meydana gelen oksidatif hasar birçok fizyolojik fonksiyonun değişmesine sebep olmaktadır. Kan akışının düzenlenmesi, platelet agregasyonunun inhibisyonu, lökosit adezyonunun inhibisyonu ve hücre proliferasyonunun kontrolü oksidan hasardan etkilenmektedir. Vasküler hücrelerde ROT’un oluşmasına sebep olan

birçok enzim sistemi vardır. Bunlardan en önemlileri; NADH/NADPH oksidaz, ksantin oksidaz (XO) ve NOS'dur (Napoli vd., 2006). NO ve O_2^- arasındaki reaksiyonlar, hipertansiyonda meydana gelen endotelial disfonksiyonun en önemli nedeni olarak düşünülmektedir. Serbest radikal süpürücüler ve antioksidan ajanlar hipertansiyonda oksidatif stresle oluşturulan O_2^- üretimini engelleyerek, bozulmuş endotelium bağımlı vazodilatasyonu ve endotelium fonksiyonunu düzenleyerek, inflamasyon ve artmış olan kan basıncını azaltabilmektedir (Talas vd., 2013).

2.7 Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücrelerde serbest radikal hasarını önlemek için bazı savunma sistemleri geliştirilmiştir. Antioksidanlar olarak adlandırılan bu maddeler redoks reaksiyonları ile elektron alış-verişi gerçekleştirerek serbest radikal hasarını önlemektedirler (Jensen, 2003). Antioksidanlar serbest radikalleri tutup daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek ya da kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak etkilerini gösterirler (Moure vd., 2001). Canlı organizmalarda enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar, zararlı olan reaksiyonların oluşumu engelleyebilir. Örneğin; antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya reaktif oksijen türlerini kendisine bağlayarak hücre membranları için oldukça önemli olan lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar; endojen ve ekzojen kaynaklı ya da enzimatik ve enzimatik olmayanlar şeklinde sınıflandırılırlar.

2.7.1 Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), Glutatyon S-transferazlar (GST), Mitokondriyal sitokrom oksidaz, Hidroperoksidaz ve Paraoksanaz gibi enzimler antioksidan savunma sistemde yer alırlar.

2.7.1.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit serbest radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. SOD'un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (Valko vd., 2006; Limon-Pacheco ve Gensebatt, 2009).

2.7.1.2 Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Yapısında 4 selenyum atomu bulunduran (tetramerik) ve sitozolik bir enzim olan glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. GSH-Px fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlar üstlenmektedir (Valko vd., 2006; Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009).

2.7.1.3 Glutasyon redüktaz (GR)

GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) redükte glutatyon (GSH) dönüşümünü katalizleyen enzimdir (Valko vd., 2006; Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009).

2.7.1.4 Glutasyon S-transferazlar (GST)

Glutasyon S-transferazlar (GST); başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi gösteren iki alt üniteden oluşan bir multienzim ailesidir (Valko vd., 2006; Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009).

2.7.1.5 Katalaz (CAT)

Katalaz; esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal kısımlarda yer alan dört hem grubu bulunduran bir hemoproteindir. H_2O_2 'yi suya ve oksijene dönüştürerek OH^- oluşumunu önlemektedir (Valko vd., 2006; Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009).

2.7.1.6 Paraoksanaz (PON)

Karaciğerde sentezlenen, arilesteraz ve paraoksanaz (arildialkil fosfataz; E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip PON, aktif metaboliti paraokson olan organofosforlu bir insektisit olan parationu hidrolizleyebilen serum esterazdır (Memişoğulları ve Orhan, 2010). Fizyolojik substratları tam olarak tanımlanamayan PON1; insektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfatlı bileşikleri hidrolize ederek *in vivo* ksenobiyotik

metabolizması ve toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır (Rochu vd., 2007). Parationu hidrolize eden PON1 bunun yanı sıra diizopropil florofosfat gibi organik fosforlu insektisitlerle aynı kimyasal grupta yer alan tabun, sarin gibi sinir gazlarının, çeşitli karbamatların ve daha birçok aromatik karboksilik asit esterlerinin hidrolizini katalizlemektedir (Rochu vd., 2007). Başlangıçta sadece organofosfatlı bileşiklerin hidrolizini katalizlediği düşünülen bu enzimin daha sonra ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklarda, vasküler disfonksiyon ve endotel hasarının gideriminde etkili olduğu yapılan çalışmalarla anlaşılmıştır (Ekmekçi vd., 2004). Fiziksel olarak HDL'ye bağlı olan insan serum paraoksonazı 43 kDA ağırlığında, 354 aminoasitlik bir proteindir. Hücre membranının dış yüzeyinde bulunan PON1, lipoproteinler aracılığıyla HDL ile etkileşir (Yıldız vd., 2008). Enzimin bilinen başlıca iki fonksiyonu vardır. Birincisi; paraokson ve türevlerinin detoksifikasyonuna katılmak, ayrıca lipit peroksitlerini hidroliz ederek LDL'yi olası oksidasyondan koruyarak antiaterojenik aktivite göstermektir. İkincisi ise; lipopolisakkarit inaktivasyonu sonucu oluşan bakteriyel endotoksinlere karşı koruma sağlayarak antioksidan ve antiinflamatuvar rol oynamaktır (Bayrak vd., 2005).

2.7.1.6.1 Paraoksanazın tarihçesi

Abraham Mazur 1946'da hayvansal dokularda organofosfatlı bileşikleri hidroliz edebilen bir enzimin varlığını tespit etti (Ertekin, 2006). 1953 yılında bu enzim Aldridge tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz edebilen A-esteraz olarak tanımlanmıştır (Aldridge vd., 1953). İnsan serumunda ise ilk olarak 1961'de Uriel tarafından yapılan elektroforez sonrası HDL ile PON1 ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (Uriel vd., 1961). 1965 yılında Ooms ve Boter tarafından yapılan çalışmalarda enzimin paratyon ve paraoksonu hidroliz edebildiği ortaya konmuştur (Ertekin, 2006). Enzimin gen düzeyindeki analizleri 1973 yılında bir grup alman araştırmacı tarafından yapılmıştır (Mallinckrodt vd., 1979). Mackness ve arkadaşları 1985 yılında HDL ayırımı için santrifüj rotorunu geliştirdiler. İnsan serumunda yapılan ultra santrifüjleme çalışması sonucu enzimin kanda HDL yapısında taşındığı ve paraoksonaz aktivitesinin çoğunlukla Apo-AI içeren partiküllerde HDL ile birlikte bulunduğunu 1988 yılında Marcness ve Walker tarafından ortaya konmuştur (Ertekin, 2006). 1991 yılında ise LDL'nin peroksidasyonunu engellediği saptamıştır (Marcness vd., 1991). PON1; HDL tipleri ile apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) aracılığıyla etkileşerek toplam HDL'nin çok küçük bir bölümüne katıldıkları kromatografik çalışmalarla gösterilmiştir (Mackness vd., 1996). Daha sonraki

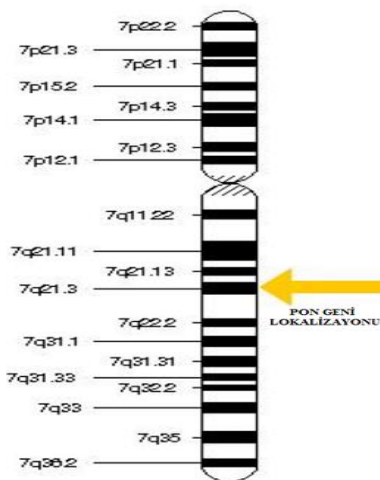
yıllarda yapılan çalışmalarda, çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda lipoproteinler ve lipit peroksidasyonu arasındaki ilişkisi incelenerek PON1 aktivitesi belirlenmiştir. Enzimin genetik yapısı ve aminoasit dizisi belirlenmeye yönelik çalışmalar yapılmıştır (Negre-Salvayre vd., 2006; Aslan vd., 2007; Yıldız vd., 2008).

2.7.1.6.2 Paraoksanazın isimlendirilmesi

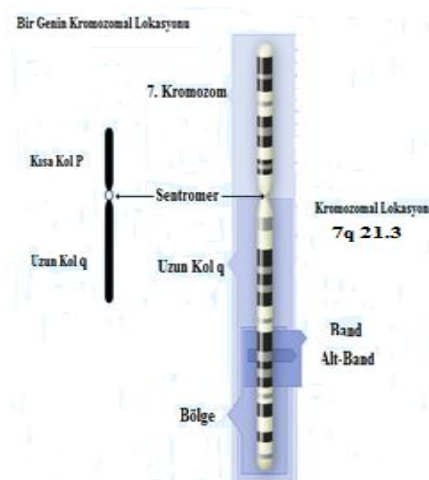
Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Uluslararası Nomenklatür Komitesi tarafından paraoksanaza iki farklı enzim kodu (EC 3.1.1.2 ve EC 3.1.8.1.) verilmiştir. Fakat 1990'lı yıllardan sonra, paraoksanazın arilesterazdan farklı olarak sadece fenolik esterleri değil bunun yanısıra fosforik ve fosfinik asit esterlerini de hidroliz ettiği tespit edilmiş ve EC 3.1.8.1 enzim kodu ile tanımlanmıştır. Farklı reaksiyonlardaki substratları ile ilişkili olarak PON1'e; organofosfat hidrolaz, paraoksonaz, A-esteraz, organofosfat esteraz, esteraz B1, esteraz E4, paraokson esteraz, pirimifosmetilokson esteraz, OPA anhidraz, organofosforöz hidrolaz, fosfotriesteraz, paraokson hidrolaz, OF, organofosforöz asit anhidraz gibi çeşitli isimler verilmiştir (Richter vd., 2009).

2.7.1.6.3 Paraoksanaz gen ailesi ve polimorfizmleri

İnsanlarda ve farelerde aynı kromozom üzerinde yerleşmiş olan PON geni, birbirine komşu üç farklı yapıya (PON-1, PON-2, PON-3) sahiptir. İnsanlarda 7. kromozomun uzun kolunda, farelerde ise 6. kromozom üzerine yerleşen PON genlerinin, q 21.3 bölgesinde bulundukları bildirilmiştir (Şekil 2.11 ve 2.11) (Marsillach vd., 2008).



Şekil 2.11. PON'un gen lokalizasyonu



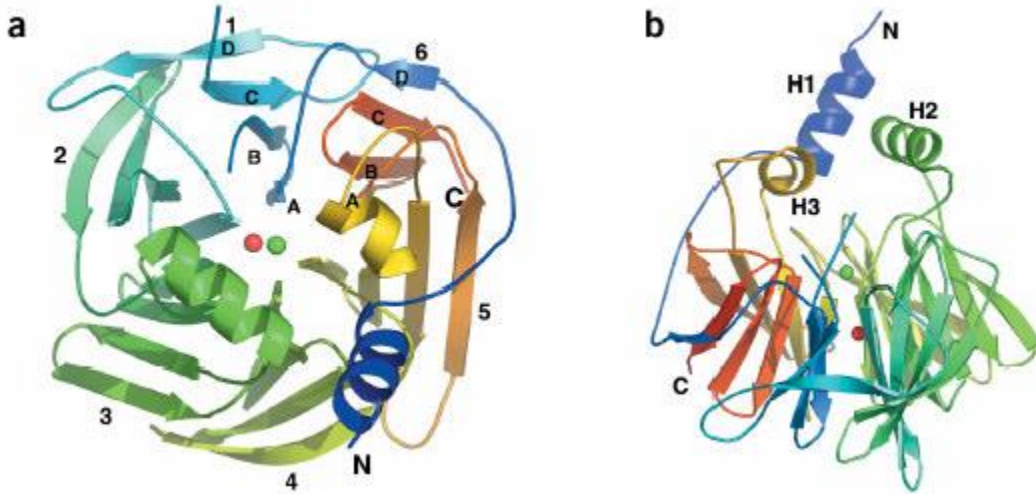
Şekil 2.12. PON'un kromozomal lokasyonu

Dokulardaki sentezi ve dağılımları birbirinden farklılık gösteren bu üç ayrı PON proteininin aminoasit dizileri arasında yaklaşık %60 oranında homoloji bulunmaktadır (Aviram ve Rosenblat, 2004; James ve Deakin, 2004). PON1 ve PON3'ün daha çok karaciğer, böbrek ve plazmada bulunduğunu, PON2'nin ise karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle endotel tabakasında yer aldığı ve aortik düz kas hücrelerinde de varlığı immünohistokimyasal çalışmalarla tespit edilmiştir (Marsillach vd., 2008). PON1 geninde 55. (metiyonin/lösin, M/L) ve 192. (arjinin/glutamin, R/Q) pozisyonlarda olmak üzere iki genetik polimorfizmin bulunduğu moleküler çalışmalarla gösterilmiştir. Lösin yerine metiyonin geçmesi ile oluşan (PON1-L55M) 55. pozisyonundaki polimorfizm, enzim aktivitesinde önemli bir değişikliğe yol açmamıştır (Aslan vd., 2007). 55. pozisyonundaki polimorfizme göre daha çok çalışılmış olan PON1-Q192R polimorfizminde 192. pozisyonunda arjinin bulunan homozigot bireylerin (R genotipi) serumunda paraoksonu hidroliz eden aktivite yüksek, glutamin bulunan homozigot bireylerde (Q genotipi) aktivite daha düşük, heterozigot bireylerde ise orta düzeyde aktivite tespit edilmiştir (Aslan vd., 2007; Cherki vd., 2007). Q alloenzimi olan PON1'in HDL'si, Q alloenziminin lipit peroksitleri metabolize etme aktivitesinden dolayı, bakırla indüklenen oksidasyona karşı LDL'yi korumada daha etkilidir (Cherki vd., 2007). PON1-192 RR genotipinin koroner kalp hastalığında yüksek sıklıkla bulunması, koroner kalp hastalıkları ile PON1-Q192R polimorfizmi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Bu durum PON1-Q192R gen polimorfizminin aterosklerozda önemli bir risk faktörü olabileceği varsayımını güçlendirmektedir (Schmidt vd., 1998; Aubo vd., 2000; Ikeda vd., 2001). PON1-L55M polimorfizmi ile koroner kalp hastalığı arasındaki ilişki daha az çalışılmış ve yine çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (Ağaçhan vd., 2004, 2005). Ancak yapılan çalışmaların çoğunluğu genetik kapsamlıdır ve PON1'in niteliği yani incelenen bireylerdeki PON1 aktivitesi ve konsantrasyonu net bir şekilde ölçülmemiştir. 311. pozisyonunda sistein-serin (C311S) ve 148. pozisyonunda alanin-glisin değişimi (A148G) olmak üzere PON2'de iki tip polimorfizm mevcuttur. Enzimin katalitik aktivitesi için 311. pozisyonunda sisteine ihtiyaç duyulur. Sistein varlığında okside lipitlerin kolaylıkla hidroliz edilebildiği düşünülmektedir. Sistein-serin değişikliği ile katalitik aktivitede meydana gelen azalmalar sonucu, oksidatif hasarın gideriminde enzim yetersiz kalmaktadır. PON3'ün polimorfizmleri ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır (Aviram ve Rosenblat, 2004; Zhang vd., 2006). Koroner kalp hastalığında; yaygın çevresel faktörler, PON1-M55L ve PON1-Q192R polimorfizmleri gibi genetik faktörlerden ziyade, düşük seviyeli PON1 aktivitesinin daha fazla sorumlu olduğu düşünülmektedir (Zhang vd., 2006). PON enzim ailesi bütün bu

özelliklerinden dolayı detoksifikasyon mekanizmasında önemli rollere sahiptirler. PON'un koruyucu etkisi, ateroskleroza önlemekle kalmaz aynı zamanda oksidatif stres kaynaklı patolojik durumlarda da önemli rol oynar (Aviram ve Rosenblat, 2004).

2.7.1.6.4 Paraoksanazın yapısı, etki mekanizması ve substratları

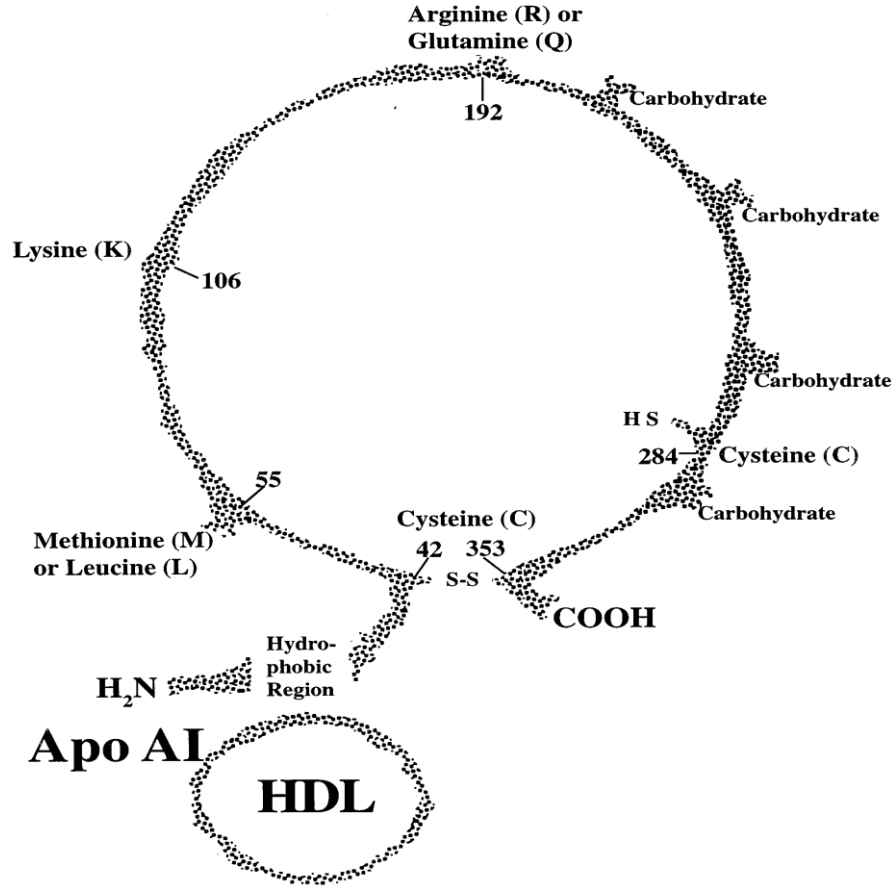
PON1'in yapısındaki karbonhidrat üniteleri 4 farklı konumda proteine bağlı bulunarak toplam ağırlığın yaklaşık %15'ini oluşturur (Memişoğulları ve Orhan, 2010). PON1'in aminoasit dizilimi incelendiğinde, lösin içeriğinin yüksek olduğu buna karşılık, kringle yapısına sahip olacak şekilde sistein içermediği görülür. Enzimin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini kazanmasında 42, 284 ve 353. pozisyonlarda yer alan sisteinlerin rolü olduğu belirlenmiştir. PON1'in 284. pozisyonundaki sistein serbest iken, 42. ve 352. pozisyonlardaki sisteinlerde disülfid bağları bulunur. Substrat tanınması ve bağlanması için serbest haldeki sistein önemlidir (Du vd., 1999; Aviram vd., 1999). Enzimin maksimum aktivite gösterebilmesi için kalsiyum gereklidir. Üç boyutlu yapıda β -tabakaların merkezinde 7.4 Å aralıklı iki adet kalsiyum iyonu bulunmaktadır (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Paraoksanazın üç boyutlu yapısı (a) β -kırmalı tabakalar ve (b) hidrofobik bölgelerin (H1, H2, H3) β -kırmalı tabakalara göre pozisyonu (Bilen, 2009).

Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyumdur, eğer enzimin yapısından uzaklaştırılırsa, geri dönüşümsüz denatürasyon meydana gelmektedir. Diğeri ise katalitik aktivitede rol alan kalsiyumdur. Bu kalsiyum iyonu bir su molekülü aracılığıyla fosfat iyonunun oksijeni ile

etkileşmektedir. PON1'in organofosfat bileşiklerine karşı hidrolitik aktivite gösterebilmesi için kalsiyuma ihtiyaç duyulurken, lipid peroksitlerinin birikimini önlemede kalsiyuma ihtiyaç duyulmadığı bildirilmektedir (Du vd., 1999; Bayrak vd., 2005). Karaciğerde sentezlendikten sonra dolaşıma geçen PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidleri ile kolayca etkileşebilir (Şekil 2.14) (Goswami vd., 2009).



Şekil 2.14. İnsan serum paraoksonazının yapısı (Du vd., 1999).

Yenidoğan ve prematüre bebeklerde PON1 aktivitesi yetişkinlerde görülen seviyenin yarısı kadardır. Bu seviye doğumdan bir yıl sonra erişkin düzeyine ulaşılır, ancak ileri yaşlarda PON1 aktivitesinin azaldığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. PON1 geninin kodlama ve promotor bölgelerinde çok sayıda polimorfizme sahip olması ve bireyler arasındaki beslenme farklılıklarından dolayı serum PON1 düzeyi ve aktivitesi değişkenlikler gösterebilmektedir. Proaterojenik diyet PON1 aktivitesi ve konsantrasyonunda önemli bir azalmalara sebep olurken, flavonoidler enzim aktivitesini %20 oranına kadar arttırmaktadırlar (Bayrak vd., 2005). Paraokson (o,o-dietil- o-p-nitrofenil fosfat), PON1'in aktivite tayininde de en çok kullanılan substratlardan biridir. PON1 aktivitesi

spektrofotometrik olarak, PON1'in hidrolitik aktivitesiyle açığa çıkan p-nitrofenol veya fenolün konsantrasyonunun belirlenmesi ile tayin edilebilmektedir. Ayrıca PON1'in arilesteraz aktivitesinin tayininde bir aromatik karboksilik asit ester olan fenil asetat da kullanılmaktadır. Plazma ve karaciğer dokusu PON1 aktivitesi EDTA varlığında inhibe olmaktadır. Bu nedenle aktivite tayini heparinli plazmada ve tercihen serumda yapılmalıdır (Demirdöğen, 2010). Antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri son yıllarda güncellik kazanan PON1, antiaterojenik aktiviteye de sahiptir (Precourt vd., 2011). Bu enzimin her zaman plazmada HDL ile birlikte bulunması, HDL'nin antiaterojenik etkilerine önemli katkılar sağlamaktadır. Peroksidasyona uğramış lipidler bu enzim tarafından metabolize edilerek lipid peroksitlerin LDL ve HDL'de birikimi önlenir. Bundan dolayı, HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisinden PON1 sorumludur (Aviram ve Rosenblat, 2004). PON1'in lipid peroksitlerine karşı etkisinin yanısıra H₂O₂'e karşıda etkili olduğu bilinmektedir. Aterojenez oluşumunda arter duvarlarında üretilen reaktif oksijen metabolitlerinden olan hidrojen peroksit, oksidatif koşullarda daha güçlü reaktiflere dönüşerek LDL oksidasyonuna yol açar. PON1'in okside LDL'deki kolesterol linoleat hidroperoksitlerini ve hidroksitleri indirgemesi ile peroksidaz benzeri aktiviteye sahip olduğu düşünülmektedir (Aviram vd., 1999; Negre-Salvayre vd., 2006). PON2, hücre içinde oluşan hidrojen peroksitlerin etkisini azaltarak LDL oksidasyonunun önlenmesinde antiaterojenik rol oynadığı düşünülmektedir. PON2, PON1'den sonra tanımlanmış ve PON1'e göre üzerine daha az araştırma yapılmış olmasına rağmen, endotel ve vasküler hücrelerde antioksidan aktivite göstermesi ile büyük ilgi odağı olmuştur (Aviram ve Rosenblat, 2004). Statin gibi laktonları hidroliz edebilme yeteneğine sahip olan PON3; PON1 gibi karaciğerde sentezlenir ve serumda HDL ile birlikte bulunur. PON1'in aksine PON3'ün arilesteraz aktivitesi yok denecek kadar azdır ve PON1 aktivitesine sahip değildir. Bakırla indüklenen oksidasyon sonrasında, tavşanlarda serum PON3'ün LDL'yi korumada PON1'den daha etkin olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre PON1 ve PON3'ün kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli roller üstlendikleri düşünülmektedir (Marsillach vd., 2008). PON1; lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitleri ve kolesterol ester peroksitlerinin yapısında bulunan O ve P arasındaki ester bağlarını hidrolize edebilme yeteneğine sahiptir. Bundan dolayı oksidasyona uğramış lipoproteinlerin ve kolesterol esterlerinin HDL bağımlı PON1 için fizyolojik bir substrat olduğu düşünülmektedir. İnsan arter duvarında yapılan hücre kültürü araştırmalarında PON1'in okside 1-palmitil-2-araşidonoil-sn-gliserol-3-fosforilkolin üzerindeki fosfolipidleri hidroliz ederek HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruma mekanizmasını ortaya koymaktadır.

Enzim bu aktivitesini paraoksonu hidroliz edebilme özelliğinden bağımsız olarak gerçekleştirmektedir (Cao, 1999).

2.7.1.6.5 Paraoksanaz, oksidatif stres ve hipertansiyon arasındaki ilişki

Kardiyovasküler hastalıklarda önemli bir risk faktörü olan hipertansiyon oksidatif stresle doğrudan ilişkilidir. Hipertansiyon gibi patolojik durumlarda vasküler duvarda ROS üretimi artmaktadır (Harrison vd., 2007; Saravanakumar vd., 2011). Vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreler ve fibroblastlarda devamlı olarak ROS üretimi gerçekleşir. Oksidatif stres ile doğru orantılı artış gösteren ROS yapımı (özellikle $O_2^{\cdot-}$ anyonu) NO biyoyararlanımını azaltır ve endotelial hücrelerde fonksiyon kaybına yol açar (Schmitt vd., 2009). Endotel disfonksiyonuna bağlı gelişen hipertansiyonda en önemli faktörlerden biri NO biyoyararlanımının azalmasıdır. Endotelial hücrelerde meydana gelen hasar sonucu $O_2^{\cdot-}$ üretiminde artış ile oksidatif stres meydana gelir. ROS üretiminin artışı ile bozulan redoks dengesi (Ward vd., 2004) vasküler tonusu etkilemekle kalmaz; platelet aktivasyonu, lökosit adezyonu, vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve adezyon molekülü sentezi gibi önemli mekanizmaları da aktive edebilir. Bu mekanizmaların aktif hale gelmesi, hipertansiyonda hedef organ hasarının patogeneğinde önemli rol oynar (Conti vd., 2007; Schmitt vd., 2009). Fizyolojik şartlarda organizmadaki $O_2^{\cdot-}$ konsantrasyonu SOD aktivitesine bağlı olarak oldukça düşük düzeylerde olabilir. Arteriyal hipertansiyon gibi patolojik durumlarda, bu radikallerin üretiminde artış olabileceği gibi SOD aktivitesinde de bir azalma meydana gelebilir ve kuvvetli hücre hasarı oluşturabilen oksidan etkili peroksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$) üretimi artar (Tai vd., 2005). Ortamda artan ROS ile vazodilatör etkili NO, toksik bir radikal olan $ONOO^{\cdot-}$ 'e dönüştürülür. $ONOO^{\cdot-}$, hücresel proteinlerin, lipidlerin ve LDL'nin oksidasyonuna yol açarak vasküler fonksiyonlara zarar verebilir (Napoli vd., 2006; Harrison vd., 2007). Vasküler hücrelerde ROT oluşmasına neden olan birçok enzim sistemi vardır. Bunlardan en önemlileri; NADH/NADPH oksidaz, ksantin oksidaz (XO) ve NOS dur. nNOS'un hem L-arjinin hem de NOS kofaktörü tetrahidrobiopterin (BH4) yokluğunda ROS üretebildiği gösterilmiştir. Ayrıca BH4'ün de enzimatik olmayan yollarla $O_2^{\cdot-}$ ürettiği ve bunda NOS'un NO üretme yeteneğini azalttığı belirlenmiştir (Harrison vd., 2007). PON1 toksikolojik çalışmalarda oldukça fazla ilgi görmesine rağmen, HDL'nin antioksidatif özellikleri üzerindeki etkisi ilgili de son yıllarda dikkat çekmektedir. PON1, organofosfatların hidroliz edilme aktivitesinin yanı sıra LDL oksidasyonu ve lipoprotein peroksidasyonunu engelleyen antioksidan aktivitelere de

sahiptir. Bu enzimin lipid peroksitlerini hidroliz etme aktivitesi ile ateroskleroz gelişimi de önlenabilmektedir. Aterosklerozun başlangıç ve gelişim evreleriyle ilgisi olan LDL oksidasyonu, anti-aterosklerotik etki gösteren HDL bağımlı PON1 aktivitesi ile engellenebilmektedir (Aviram ve Rosenblat, 2004; Yıldız vd., 2008). LDL oksidasyonu sonucu arteriyel duvarda meydana gelen köpük hücre oluşumu aterosklerotik olayların başlamasına yol açmaktadır (Aviram ve Rosenblat., 2004). Özet olarak, NO ve O_2^- arasındaki meydana gelen reaksiyonlar hipertansiyonda ortaya çıkan endotelial disfonksiyonun en önemli sebebi olarak düşünülebilir. Serbest radikal süpürücüler ve antioksidan ajanlar hipertansiyonun oluşum sürecinde ortaya çıkan oksidatif strese bağlı O_2^- üretimini engelleyerek endotelium bağımlı vazodilatasyon bozulmalarını iyileştirip inflamasyon ve yüksek kan basıncını azaltabilir.

2.7.2 Enzimatik olmayanlar

Enzimatik olmayan sistemde vitaminler, polifenoller, proteinler ve bazı mineraller yer almaktadır. Gıdalar enzimatik olmayan antioksidanların temel kaynağını oluştururlar. Antioksidanlar besin değerine sahip olmanın yanı sıra fenolikler; kanser ve çeşitli kalp damar hastalıklarının önlenmesinde rol oynayarak antimutajenik, antiallerjik, antiaging etkiler de gösterebilmektedirler (Kavak, 2010).

2.7.2.1 Fenolik bileşikler ve biyolojik özellikleri

Bitkilerin çoğu mekanizmaları esnasında sekonder metabolit olarak çok sayıda fenolik maddeler üretmektedirler. Bitkisel gıdalarda farklı özellikte ve miktarlarda fenolik bileşikler bulunmaktadır. Gıda bileşeni, tat, koku ve renk oluşumu gibi özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip fenolik bileşikler meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunmaktadır (Nizamlioğlu ve Nas, 2010). Fenolik bileşikler, bitkinin normal gelişimi esnasında stres koşullarına karşı sürekli olarak sentezlenmektedir. Kimyasal yapıları ve biyolojik fonksiyonları bakımından çeşitliliği çok fazla olan flavonoidler, fenoliklerin en önemli grubunu oluşturmaktadır (Gonzalez ve Rodriguez, 2011). En büyük polifenol grubunu olan flavonoidler, difenilpropanlar ile benzer bir yapıya sahip olup bitkilerde genellikle glikozit formunda bulunurlar (Güven vd., 2010). Farklı sınıflandırmalar mevcut olmasına karşın flavonlar, flavononlar, flavonoller, isoflavonoidler, antosiyaninler ve flavanlar olmak üzere genel olarak 6 temel flavonoid

sınıfı bildirilmektedir (Perez-Vizcaino ve Duarte, 2010). Yıllardır bitki pigmentleri olarak bilinen flavonoidlerin biyolojik aktivitelerine ilişkin ilk çalışma 1936 yılında Rusznyak ve Szent-Gyorgyi tarafından yapılmıştır (Güven vd., 2010). Fenolik bileşikler mükemmel H⁺ ve e⁻ donörleridir. Fenolik bileşikler serbest radikallere e⁻ vererek onların olumsuz etkilerini ortadan kaldırabilir ve lipid peroksidasyonu gibi oldukça hasarlayıcı olan zincir reaksiyonlarını sonlandırabilirler (Boots vd., 2008). Son yıllarda sağlık üzerindeki etkileri ön plana çıkan polifenoller; özellikle süperoksit, lipid alkoksil ve peroksil yıkımı, demir ve bakır şelasyonu, α - tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına ek olarak; vazodilatör, immünstimülan, antiallerjik, östrojenik, antiviral etkileri de söz konusudur. Fosfolipaz-A2, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu ile antiinflamatuvar özellik göstermesiyle de insanoğlunun dikkatini çekmeyi başarmıştır (Çimen, 1999).

2.7.2.2 Propolis

İnsanların sağlıklı beslenmesinde önemli olan arı ürünlerinden propolis, tıp alanında alternatif doğal bir ürün olarak da kullanılmaktadır (Banskota vd., 2000). İşçi arılar tarafından bitkilerin filiz ve tomurcuklarından toplanan propolis; bitki reçineleri, bitki salgıları ve arıların salgıladıkları enzimlerle biyokimyasal olarak değişime uğratılarak üretilen bir maddedir (Burdock, 1998). Propolisin rengi toplandığı bitkinin kaynağına bağlı olarak sarı, yeşil ve koyu kahverengiye kadar değişim gösterir (Koru vd., 2007). Eter, kloroform, aseton, distile su ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik etil alkolde büyük ölçüde çözünebilen propolis, %70'lik etil alkolde ekstrakte edilerek tıbbi alanda kullanılabilir (Nakajima vd., 2007). Propolis, eski Yunanca'da pro (ön, giriş) ve polis (şehir) anlamına gelip, bal arılarının kovan savunması ile ilgili kullanılan bir terimdir. Eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilen propolis doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Arılar tarafından kovan ve diğer yaşam alanlarının iç kısmına bir tabaka şeklinde uygulanan propolis; kovanın delik ve çatlaklarının kapatılmasında, peteklerin tamir edilmesinde, peteklerin birbirlerine yapıştırılmasında, petek gözlerinin parlatılmasında, kovan girişini daraltmak, çeşitli arı hastalıklarından kolonin korunmasında ve hastalık etmenlerinin önlenmesinde kullanılır (Sforcin, 2007). Propolisin yoğun olarak toplandığı bitki çeşitleri bölgeye ve mevsime göre değişmektedir. Bal arıları için; *Pinus spp* (Çam) reçineleri, *Betula spp* (Hus), *Populus spp* (Kavak ve türleri), *Aesculus hippocastanum* (At kestanesi), *Salix spp* (Söğüt), *Alnus spp* (Kızılağaç), *Abies spp* (Köknar), *Prunus spp* (Erik), *Ulmus spp* (Kara Ağaç), *Quercus spp* (Meşe), *Froxinus*

excelsior (Dişbudak) türleri önemli propolis kaynaklarıdır (Bankova vd., 1992; Kolankaya vd., 2002). Mikroorganizmalara karşı aktivite gösterebilmesi propolisin en önemli biyolojik özelliklerindendir. Bu sayede kovan içinde oluşan mantar ve bakterilerin daha düşük düzeyde kalması sağlanmaktadır. Bu açıdan propolis eski zamanlardan günümüze kadar farmakolojik özelliklerinin yanısıra birçok biyolojik aktiviteye sahip olmasından dolayı insanlar tarafından kullanılan doğal bir arı ürünüdür (Popova vd., 2005). Propolisin tüm bu özellikleri uzun yıllardan beri bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve son 40 yılda pek çok araştırmacı propolisin kimyasal kompozisyonu, biyolojik aktivitesi, farmakolojik ve tedavi edici özellikleri üzerine araştırmalar ve yayınlar yapmıştır.

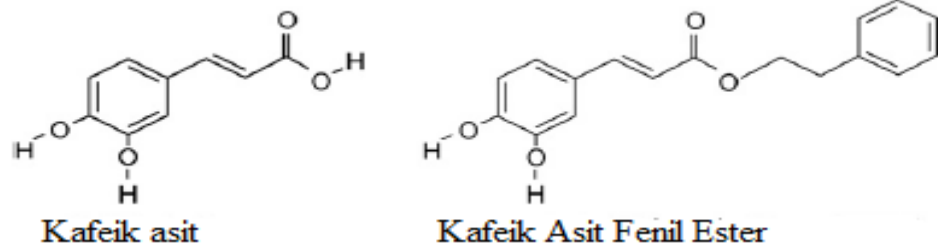
2.7.2.3 Propolisin yapısı, fonksiyonları ve biyolojik özellikleri

Antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, sitotoksik, immünomodülatör, antiülser, lokal anestetik, antitümör, antikarsinogenik, antihipertansif, immünostimülatör gibi biyolojik aktivitelere sahip olan propolisin halk tıbbında, apiterapide, biyokozmetik, veteriner hekimlik, dişçilik, kozmetik ve bitkisel üretim alanlarında yararlı etkilerinden dolayı üretimi bazı ülkelerde önem kazanmıştır (Bankova vd., 2000; Banskota vd., 2001). Propolisin kimyasal bileşimi çok karmaşık bir yapıya sahiptir. Yapılan kromatografik incelemeler sonucunda içerisinde yüzlerce farklı bileşen tespit edilmiştir. İçeriğinin %50'sinden fazlasını fenolik (flavonoidler, flavonlar, flavononlar ve flavonoller) ve bununla ilgili bileşikler (fenolik asitler ve esterleri, kumarinler, ketonlar vd.), kafeik asit esterleri (benzil ester, sinamik asit benzil ester ve kafeik asit fenetil ester) oluşturmaktadır (Hepşen vd., 1996). Propolisin antibakteriyel etki gösteren aktif bileşenleri; pinocembrin, galangin, kafeik asit fenil ester ve ferulik asittir. Antifungal etkisini pinosembriin, pinobanksin, kafeik asit fenil ester, benzil ester, sakuranetin ve pterostilben ile antiviral etkisini ise kafeik asit fenil ester, lutseolin ve kuersetin ile gösterir (Marcucci, 1995; Bankova, 2005). Son yıllarda yapılan araştırmalarda propolisin yapısında bazı mineral maddeler de tespit edilmiştir. Bunlardan bazıları; Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg), Potasyum (K), Sodyum (Na), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn) ve Mangan (Mn) olarak belirlenmiştir (Castaldo ve Capasso, 2002). Kimyasal kompozisyonu toplandığı bölgenin ekolojik yapısına bağlı olarak değişiklik gösteren propolis, özellikle farklı ekosistemlerde bulunan farklı bitki örtüsüne göre değişkenlik gösteren içeriği hakkında henüz net bir bilgi verilememektedir (Kujumgiev vd., 1999). Propolisin içeriğindeki biyoflavonoidler, serbest radikal süpürücü

özellikleri olan antioksidan moleküllerdir. Flavanoidlerin kalp-damar sistemi üzerine olumlu etkileri olduğu, kan dolaşımını düzenlediği, kılcal damar çatlamalarını azalttığı, yaşlanmaya ve toksik maddelere karşı koruyucu özellik gösterdiği, kardiyovasküler hastalıklarda önemli olan LDL'yi oksidasyondan koruduğu belirlenmiştir (Kolankaya vd., 2002). Propolisin bir diğer önemli bileşeni sinamik asit ve türevleridir. Bunlar gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı güçlü antibiyotik özellik göstererek yaraların iyileştirilmesinde olumlu sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur (Hepşen vd., 1996; Sforcin, 2007). Antiinflatuar etkili propolis; trombosit agregasyonunu önleyerek, prostoglandin ve lökotrienler gibi ekizonoidlerin sentezini inhibe edip, inflamasyona yol açan histamin gibi medyatörlerin salınımını engellemektedir (Hepşen vd., 1996). Bağışıklık sistemini önemli derecede güçlendiren propolis antibadi salgılayıp ilaçların etkilerini arttırarak hastalıkların önlenmesinde önemli bir role sahiptir. Böbrek fonksiyon bozukluğu, idrar yolları enfeksiyonları, kanser, damar sertliği hastalıkları, diyabet, nefes darlığı, parkinson, hipertansiyon ve akciğer hastalıkları gibi olumsuz durumlara karşı propolisin terapötik etkiler gösterebildiği bildirilmiştir (Kumova vd., 2002). Sonuç olarak, propolisin özellikle güçlü antiinflatuar, antioksidan ve antineoplastik etkileriyle topikal ve sistemik uygulamalar sonucu birçok patolojik durumun tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

2.7.2.4 Kefeik asit fenil ester (CAPE)

Son yıllarda bazı doğal maddelerin tedavi edici özelliklerine yönelik artan büyük bir ilgi vardır. Doğal bir arı ürünü olan propolis bu ilginin merkezi konumundadır. Propoliste yaklaşık 300 çeşitten fazla bileşen tespit edilmiştir (Gülçin vd., 2010). Bu bileşenler arasında en etkili olan ve miktarca bol bulunan CAPE [Phenethyl 3-(3-4 dihydroxyphenyl) acrylate] dir (Sforcin, 2007). Fonksiyonel iki OH⁻ grubu bulunduran CAPE, elektronları aktif bir şekilde alıp verme özelliğine sahip olup bu sayede oksitleyici ve redükleyici özellik gösterir. Ayrıca, aromatik ve alifatik yapıdaki uzun karbon zincirlerine bağlı olarak lipofilik karaktere de sahiptir. Böylece molekülün kolayca hücre membran yapılarından geçmesi ve etki edeceği bölgeye ulaşması sağlanır (Şekil 2.15) (Widjaja vd., 2008). CAPE; ornitin karboksilaz, 5- α redüktaz, proteaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, HIV-1 integras gibi enzimlerin potansiyel inhibitörü (Son vd., 2001) olmakla birlikte bir transkripsiyon faktörü olan Nükleer Faktör Kappa B'nin aktifleşmesini de inhibe etmektedir (Sforcin ve Bankova, 2011).



Şekil 2.15. Kafeik asit fenetil ester'in kimyasal yapısı (Widjaja vd., 2008).

Etil asetat, dimetilsülfoksit (DMSO) ve etanolde tamamen çözünebilen, molekül ağırlığı 284.31 g/mol olan liyofilize formdaki CAPE'nin kimyasal formülü $C_{17}H_{16}O_4$ olarak belirlenmiştir (Akyol vd., 2011).

2.7.2.5 CAPE'nin yapısı, fonksiyonları ve biyolojik özellikleri

Yapısında fenol grupları ihtiva eden CAPE; antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immün uyarıcı ve karsinostatik, hasar önleyici reperfüzyon, antikanser özellikleri ile propolisin biyolojik olarak en aktif bileşenlerindendir (Güney vd., 2007). Birçok bitkisel kaynaktan elde edilen propolis örneklerinin benzer kalitatif kompozisyonlara sahip olmalarının aksine, CAPE örnekleri büyük oranda farklılıklar göstermektedir. Toksik etkiye sahip olmayan CAPE; oksijenden türevlenen serbest radikallerin süpürülmesinde önemli bir etkiye sahiptir (Widjaja vd., 2008). Sentetik bir madde olan CAPE ile *in vitro* ve *in vivo* araştırmalar yapılmıştır. Li ve arkadaşları; insanda koroner arter endotel hücrelerinde okside LDL aracılı NF- κ B artışı üzerine CAPE'nin etki ederek iskemiye bağlı hasarı önlediğini göstermişlerdir (Li vd., 2000). Yılmaz ve arkadaşları; streptozosin ile oluşturulan diyabet modelinde sıçan karaciğer dokusunda CAPE'nin serbest oksijen radikallerini süpürücü etkisini göstermişlerdir (Yılmaz vd., 2004). Nötrofil veya ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz sistemi tarafından meydana getirilen reaktif oksijen türlerinin *in vitro* koşullarda 10 μ mol/kg konsantrasyonda CAPE tarafından bloke edildiği bildirilmiştir (Özyurt vd., 2001; Atik vd., 2006). Lipid peroksidasyonunu engelleyen CAPE'nin tirozin kinaz, siklooksigenaz ve lipooksijenaz aktivitesini baskıladığı da gösterilmiştir (Özen vd., 2004). Spesifik olarak NF- κ B'nin oluşumunu inhibe eden CAPE, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyerek başta Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF- α) olmak üzere birçok inflamatuvar yolağın işleyişini de önlemektedir. Ayrıca

CAPE'nin inflamatuvar hücrelerde apoptozisi önlediği de belirtilmiştir (Albukhari vd., 2009). Barsaklarda kanser oluşumunu baskılayan CAPE, potansiyel koruyucu özellikleri ile kemoterapik etki de gösterebilmektedir (Biray vd., 2006).

2.7.2.6 Polen

Polen çiçekli bitkilerin erkek cinsiyet hücreleri olup, dişi organın tozlaşmasını sağlamaktadır. Çiçek tozu olarak da adlandırılan polenler bitkilerin çiçeklenme dönemleri boyunca görülmekte sarı, kırmızı, mor, yeşil ve siyaha kadar değişen farklı renklerde olabilmektedir. Polinasyon için çiçekli bitkilerin arılara, arıların da yaşamlarını sürdürebilmeleri için besinsel ihtiyaçlarını karşılamada çiçeklere ihtiyaçları vardır. Yapılan arkeolojik araştırmalarda bu iki canlı grubunun birlikte evrimleştiğini gösteren kanıtlar bulunmuştur (Baydar ve Gürel, 1998). Arılar, nektar ve polen toplamak için yüzlerce çiçeği ziyaret etmektedir. Topladıkları nektarı karbonhidrat kaynağı olarak, polenleri ise protein kaynağı olarak kullanmaktadırlar. Bu nedenle, polenin bitkisel zenginliği ve kalitesi arıların gelişim süreçlerinin yanısıra çoğalmalarında da temel faktördür. Bal arılarının polen kaynakları bulundukları doğal floradır. Floranın polen değeri ise bölgede bulunan polenli bitki türlerinin çeşitliliği, yoğunluğu ve çiçeklenme süresinin uzunluğu ile ilişkilidir (Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005). Arılar polen toplamak için araziye çıktıklarında öncelikle midelerini bal ile doldururlar daha sonra kovandan çıkarak çiçeklerin erkek organları üzerine konup vücutlarına bulaşan çiçek tozlarını orta bacaklarındaki fırça benzeri organ ile toplarlar ve ağızlarından çıkardıkları bal ile nemlendirerek arka bacaklarındaki polen sepetlerine yerleştirirler (Özcan vd., 2003; Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005). Arılar tarafından yapılan bu aktivite; floranın polen değeri, polen taneciklerinin morfolojik yapısı ve içerdiği kimyasal bileşenler ile iklimsel koşullar gibi çevresel faktörlerle de yakından ilgilidir. Farklı birçok ülkede yapılan palinolojik çalışmalarda, arıların polen kaynağı olarak kullandıkları bitki türleri tespit edilmeye çalışılmış ve araştırmalar sonucunda her floranın bal arılarına değişik türlerden polen kaynağı sunduğunu ortaya koymuşlardır (Baydar ve Gürel, 1998).

2.7.2.7 Polenin yapısı, fonksiyonları ve biyolojik özellikleri

İnsan metabolizması için çok değerli besin maddelerini içeren polen, yüksek derecede protein ve karbonhidrat kaynağı olmasının yanısıra zengin vitamin ve mineral madde deposudur (Human ve Nicolson, 2006). Polen, sadece arıların kuluçka dönemlerindeki besinlerinin sağlanması için önemli olmakla kalmayıp, aynı zamanda genç arıların doku gelişimlerini tamamlamaları için de oldukça önemlidir. Arılar, poleni yaşlı larvaların beslenmesinde ve genç larvaları besleyen genç işçi arıların beslenmesinde de kullanılmaktadırlar (Bayram vd., 2004). Bütün polenler aynı derecede besleyici özellik taşımadığı için bal arıları polenlerin karışımını toplayıp kullanmaktadır. Tek bir çeşit polen genellikle beslenme için yeterli olmamaktadır. Polenlerin protein içerikleri %10-36 arasında değişmektedir. Bal arılarının gelişimlerini sağlayabilmeleri için gerekli olan aminoasitlerden histidin ve arjinin bal arıları için esansiyel olup mutlaka dışardan polen veya uygun bir protein kaynağından alınmak zorundadır. Polen içerisinde en fazla bulunan aminoasitler lösin (%7.1) ve lisin (%6.4) olup, en az triptofan (%1.4) ve metiyonin (%1.9) dir (Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005). Polen içeriği vitaminler bakımından da oldukça zengindir. Provitamin A, B1 Vitamini, B2 Vitamini, B3 Vitamini, B5 Vitamini, B6 Vitamini, B12 Vitamini, C Vitamini, D Vitamini, E Vitamini, Biyotin, K Vitamini ve folik asit ihtiva ettiği bilinmektedir (Saric vd., 2009; Baltan vd., 1993). Arı polenin yapısında bulunan flavonoidler ve fenolik bileşikler; güçlü antioksidan, antimikrobiyal, antiinflammatuvar, antikarsinojen, vazodilatör, antiallerjik, antiviral, kalp ve damar hastalıklarında anjiyogenezde etkili, çevresel kontaminantlara karşı koruyucu fonksiyonlara sahip olma gibi çeşitli biyolojik aktiviteler gösterirler (Kroyer ve Hegedus, 2001; Saric vd., 2009). Aynı zamanda polenin içeriğinde bulunan flavonoidler; fosfolipaz A2, fosfolipaz C, lipooksijenaz, tirozin ve serin-treonin protein kinazlar gibi allerjik ve inflammatuvar cevapları kapsayan pek çok enzim sistemini de etkilerler (Medeiros vd., 2008). Mineral ve iz element bakımından oldukça zengin olan polen içeriğinde; kalsiyum, fosfor, demir, bakır, potasyum, magnezyum, manganez, silis, sülfür, sodyum, nikotinamid, iyot, klorin, bor ve molibden bilinen mineraller arasında yer alıp, iz elementlerden ise aliminyum, titanyum, çinko ve nikel bulunmaktadır. Bunun yanısıra çeşitli madensel tuzlar, karotenoidler, steroidler, esansiyel yağ asitleri ve hormon benzeri büyüme faktörleri, diastaz, fosfataz ve amilaz gibi değerli enzimler ile renk pigmentleri de tespit edilmiştir (Baltan vd., 1993; Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005). Polenin etanolik ekstraktının insan vücudunda lipid seviyesini ve aterosklerotik plak oluşumunu azalttığı, trombosit

agregasyonunu ise *in vivo* ve *in vitro* olarak inhibe ettiđi rapor edilmiřtir. Kardiyovasküler hastalıkları olan insanlar üzerine yapılan çalıřmalarda; diyetle alınan polenin yapısında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA), kanın yoğunluđunu azalttıđı, trigliserit ve kolesterol düzeylerini dūřurdūđu belirlenmiřtir (Campos vd., 1997). Bir çalıřmada, polenin su ve etanol ekstraktının antioksidan aktivite gōstererek sūperoksit radikali, hidroksil radikali gibi reaktif oksijen tūrlерinin oluřumunu engelleyerek lipit peroksidasyonunu önlediđi rapor edilmiřtir (Nagai vd., 2002). Campos ve arkadaşları farklı floralardan toplanan polenlerin serbest radikal temizleme aktivitesini inceleyerek fenolik asit tūrevlerince zengin olan polen tūrlерinin sadece flavonoid içeren tūrlere gōre çok daha etkin radikal temizleyici aktivite gōsterdiđini rapor ettiler (Campos vd., 2003). Eraslan ve arkadaşları pestisit uygulaması ile sıçanlarda oluřturdukları oksidatif hasarları farklı dozlarda polen takviyesi ile giderdiklerini bazı biyokimyasal analizlerle gōtermiřlerdir (Eraslan vd., 2009). Fenolik bileřikler içeren polen, serbest radikal sūpūrūcū ve antioksidan aktiviteleri bu etken maddelerle ortaya koymuřlardır. Sinnamik asit tūrevlerinin en etkin fenoliklerden olduđu ve eksikliklerinde antioksidan aktivitenin kaydadeđer bir řekilde azaldıđı bildirilmiřtir (Leja vd., 2007).

Verilen bu bilgiler dođrultusunda; bir stres faktōrū olan hipertansiyon doku ve organlarda serbest radikal üretimi ve oksidatif hasar oluřturabilir. Stres ile birlikte ortaya çıkan olumsuz durumlar endojen ve ekzojen antioksidanlar ile giderilebilir. HDL bađımlı ve endojen kaynaklı PON1'in önemli özelliklerinden biri, flavonoid içeren antioksidanların etkisiyle aktivitesinde %20 oranında bir artıř meydana gelebilmesidir. Bu çalıřmada, deney hayvanlarında oluřturulan hipertansiyonun meydana getirdiđi oksidatif hasarın PON1 tarafından giderilebileceđi, ekzojen olarak yapılacak propolis, CAPE ve polen takviyesiyle PON1 aktivitesinin arttırılabileceđi dūřūnūlmektedir. Bu arařtırma ile hipertansiyon üzerine terapōtik ajanların fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin incelenmesi ile insanlarda hipertansiyon ve bunun sonucu meydana gelebilecek doku ve organlardaki disfonksiyonların azaltılması hedeflenmiřtir.

BÖLÜM III. MATERYAL ve METOD

3.1 Propolis Ekstraksiyonunun Hazırlanması

Ham propolis Balıkesir İli'nin Kocaavşar Köyü'ndeki arı çiftliğinden temin edildi. Toplanan propolisler %70'lik 100 mL etil alkol içerisine 30 g propolis eklenerek ekstrakte edildi. Işıktan korunmak suretiyle oda sıcaklığında karıştırıcıyla tabla yardımıyla 36 saat boyunca karıştırıldı. Elde edilen heterojen karışım, 2 kez filtre kağıdından süzülüp evaporasyonla alkolü tamamen uçurulduktan sonra kurutularak toz haline getirildi ve kullanılıncaya kadar 4°C'de ışıktan korunarak saklandı (Mani vd., 2006). Yapılan literatür araştırmaları sonucunda sıçanlara uygulanan propolis dozu 200 mg/kg/gün olarak belirlendi (Banskota vd., 2001; Kolankaya vd., 2002).

3.2 Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE) Temini ve Saklama Koşulları

Kimyasal formülü $C_{17}H_{16}O_4$, molekül ağırlığı 284.31 g/mol olan toz haldeki CAPE'nin Sigma-Aldrich firmasından temin edilen bu ürün -20 °C'de tutulmuştur. Etil asetat, dimetilsülfoksit (DMSO) ve etanolde tamamen çözünmektedir. Çalışmamızda seyreltik etil alkol içerisinde çözündürülüp kullanılmıştır. Literatür araştırmaları sonucunda sıçanlara uygulanacak CAPE dozu 50 µM/kg/gün olarak belirlendi (Özer vd., 2004; Parlakpınar vd., 2005).

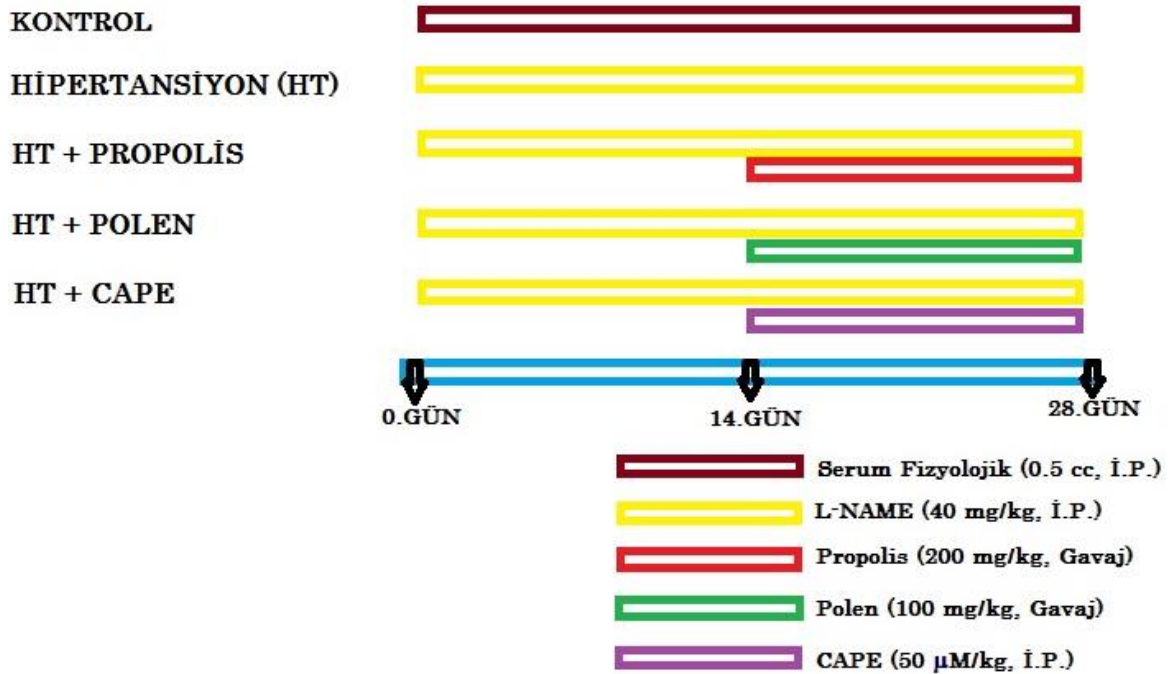
3.3 Polen Ekstraksiyonunun Hazırlanması

Arıların kovanlarına takılan polen tuzakları yardımıyla elde edilen arı poleni Balıkesir İli'nin Kocaavşar Köyü'ndeki arı çiftliğinden temin edildi. Arı poleni; Marghitas ve arkadaşlarının belirlediği metoda göre oda sıcaklığında etil alkolde 1 saat ekstrakte edildi ve bu işlem üç kez tekrarlandı. Daha sonra sonikatörde 15 dk bekletildi. Bu işlem sonrasında filtre işlemi gerçekleştirildi ve bunu takiben vakum altında kurutuldu. Kuru ve toz haline getirilen polen ekstraktı deneysel çalışmada kullanılabilece kadar 4°C'de ışıktan korunarak muhafaza edildi (Marghitas vd., 2009). Literatür verilerine göre deney hayvanlarına uygulanacak polenin dozu 100 mg/kg/gün olarak belirlendi (Eraslan vd., 2009).

3.4 Deney Gruplarının Hazırlanışı ve Uygulamalar

Araştırmada çalışma materyali olarak kullanılan sıçanlar Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkez'inden (FÜDAM) temin edilmiştir. 220-250 g ağırlığında Spraque-Dawley türü erkek sıçanlar (n=35), standart şartlarda (12 saat günışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, 21-22 °C'deki sabit sıcaklıktaki odalarda), ferah ve rahatça hareket edebilecekleri kafeslerde gruplandırılarak barındırılmıştır.

HT oluşturmak için L-NAME (NOS inhibisyonu) 4 hafta boyunca verilmiş, 2. haftanın sonunda 2 hafta süre ile propolis, CAPE ve polen uygulaması yapılmıştır. L-NAME (Cayman Chemical Company), deneklere intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmıştır. Tüm gruplarda deneklerin su alımı serbest bırakılmıştır. Deneklerin ağırlık değişimleri elektronik tartı ile deney başlangıcında (0. gün), ortasında (14. gün) ve bitiminde (28. gün) ölçülmüştür. Bu çalışmanın tüm prosedürleri ve çalışma protokolü Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönetmeliğine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Deneylerde 35 adet Spraque-Dawley türü erkek sıçanlar kullanıldı ve her bir grupta 7 sıçan olacak şekilde toplam beş grup oluşturuldu (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deneysel gruplar ve doz uygulamaları

Grup I: Kontrol Grubu (n=7),

Bu gruptaki sıçanlara 15 gün süre ile intraperitoneal (i.p.) olarak 28 gün boyunca 0.5 mL % 0,9 izotonik NaCl çözeltisi enjekte edildi.

Grup II: Hipertansiyon (L-NAME) grubu (n=7),

4 hafta (28 gün) boyunca 40 mg/kg/gün dozda L-NAME serum fizyolojik içerisinde çözdürülerek deney hayvanlarına i.p. olarak enjekte edildi.

Grup III: Hipertansiyon (L-NAME)+Propolis grubu (n=7),

Deney hayvanlarına 4 hafta (28 gün) boyunca 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p. olarak verildi. 2. haftanın (14. gün) sonunda 200 mg/kg/gün olarak belirlenen propolis dozu distile suda çözülerek gavaj ile uygulandı.

Grup IV: Hipertansiyon (L-NAME)+CAPE grubu (n=7),

4 hafta (28 gün) boyunca 40 mg/kg/gün dozda L-NAME deney hayvanlarına i.p. olarak uygulandı. %1'lik etil alkol içerisinde 50 µM/kg dozda hazırlanan CAPE 2. haftanın (14. gün) sonunda i.p. olarak sıçanlara enjekte edildi.

Grup V: Hipertansiyon (L-NAME)+Polen grubu (n=7),

Sıçanlara 4 hafta (28 gün) boyunca 40 mg/kg/gün dozda L-NAME i.p. olarak verildi. 2. haftanın (14. gün) sonunda 100 mg/kg/gün olarak belirlenen polen dozu distile suda çözüldü ve gavaj ile eşit dozlarda uygulandı.

3.5 Kan Basıncı Ölçümü

Sıçanlarda kan basıncı ölçümü indirekt ölçme (*tail-cuff*) yöntemiyle kuyruk arterlerinden yapıldı. Bu yöntemde, deney hayvanının kuyruğuna takılan halka şeklindeki basınç probuyla alınan sinyaller, toplama sistemi MAY BPHR 9610-PC (TAIL-CUFF Indirect Blood Pressure Recorder, Ankara, Türkiye) ünitesi yardımıyla bilgisayara aktarıldı ve

ölçümler Looger paket programıyla çizdirilen basınç traseleri üzerinden yapıldı. Kan basıncının daha iyi ölçülebilmesi için kuyruktaki arterlerden geçen kan akımının kısa bir süreliğine kesilmesi için havayla şişirilebilen halka şeklindeki *cuff* adı verilen bir manşet kullanıldı. Kısa süreli bir basınç elde edilecek şekilde şişirilen manşetin otomatik olarak yavaşça sönmesiyle kan akımının tekrar başlaması sağlandı. Bu sırada, yine halka şeklindeki basınç probuyla belirlenebilen nabzın basınç değeri saptandı. Kuyruk arterlerindeki nabzın daha kolay algılanması için hayvanların kuyruklarına her kan basıncı ölçümünden önce ısı işlemi uygulandı ve kuyruk arterlerinin genişlemesi sağlandı. Soluk alıp-verişini engellemeyen, iç sıcaklığı 37°C'ye kadar çıkarabilen genişçe bir kutuda (MAY TWCO₂ Tail Warming Controller, Ankara, Türkiye) 5-10 dakika bekletilen hayvanlar ölçüme alındı. Periyodik ölçümler sırasında her sıçan için en az beş basınç trasesi kaydedildi ve belirlenen değerlerin ortalamasından o günkü kan basıncı değeri hesaplandı (Bunag ve Butterfield, 1982).

3.6 Diseksiyon İşlemi

Deney hayvanlarına uygulama işlemleri bitimindeki son kan basıncı ölçümleri (28. gün) yapıldıktan sonra sıçanlar dekapite edilerek önceden hazırlanmış biyokimya tüplerine kan numuneleri alındı. Deney hayvanları sırt üstü yatırılarak hızlı bir şekilde abdomen ve toraksları orta hattan açıldı. Bu işlem esnasında hayvanların iç organlarının zarar görmemesi için büyük bir hassasiyet gösterildi. Diseksiyon işlemiyle birlikte sıçanların böbrek ve kalp dokuları alınarak izotonik (%0,9) NaCl'de yıkama işlemi yapıldı ve analizler yapılınca kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edildi.

3.7 Doku ve Kan Örneklerinin Hazırlanması

3.7.1 Kalp ve böbrek dokularının homojenizasyonu

Darası alınan ependorf tüplerinin içerisine doku örnekleri konularak ağırlıkları kaydedildi. Tartım işlemi tamamlandıktan sonra 2 mM fosfat tamponu (pH=7.4) içerisinde dokuların homojenizasyonu gerçekleştirildi. Bu işlemten sonra homojenat 4000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüjasyon işlemi tamamlandıktan sonra PON1 aktivitesi, TAS, TOS, ADMA ve NF-κB analizlerinin yapılacağı süpernatantlar otomatik pipet yardımıyla ependorf tüplere aktarıldı.

3.7.2 Kan numunelerinin hazırlanması

Dekapite edilen sıçanlardan biyokimyasal analizler için 2 mL kan alındı. Kan alımı esnasında kanın hemoliz olmamasına dikkat edildi. Alınan kan örnekleri 3500 g'de 5 dakika boyunca santrifüj (CN-180 NÜVE) edilerek serum kısmı ayrıldı.

3.8 PON1 Aktivitesinin Tayini

PON1 aktivite ölçümleri Erel tarafından geliştirilen Rel Assay[®] ticari kitleri kullanılarak yapıldı. PON1 aktivitesi ölçümleri tuzla uyarılmış aktivite için ortamda NaCl varlığında ve bazal aktivite için NaCl olmadan spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirildi. Enzim aktivitesi hidroliz sonucu ortamda meydana gelen p-nitrofenol'un 37 °C'de ve 412 nm'de absorbansı ölçülerek belirlenmiştir. PON1 aktivitesi için 1 ünite=1 mikromol p-nitrofenol/mL serum/dk olarak tanımlanmış olup birimi U/L olarak belirlenmiştir (Eckerson vd., 1983).

3.9 Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü

Erel tarafından geliştirilen Rel Assay Diagnostics[®] kiti ile çalışılan total antioksidan kapasite tayin yöntemi tam otomatik olup, ortamdaki etkili serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini hesaplamaya yardımcı olan bir metoddur. Bu reaksiyonun ölçümü spektrofotometrik olarak yapılmaktadır. Birimi mmol Trolox Eqv./L olarak belirlenmiştir (Erel, 2004).

3.10 Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü

Total oksidan seviye ölçümü Erel tarafından geliştirilen Rel Assay Diagnostics[®] kiti kullanılarak yapıldı. Geliştirilen bu yöntem tam otomatik kolorimetrik esaslara dayanan bir yöntemdir. Doku numunelerinde bulunan oksidanların miktarıyla doğru orantılı olan rengin şiddeti, spektrofotometre yardımıyla ölçülmüştür. Birimi $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L olarak belirlenmiştir (Erel, 2005).

3.11 Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

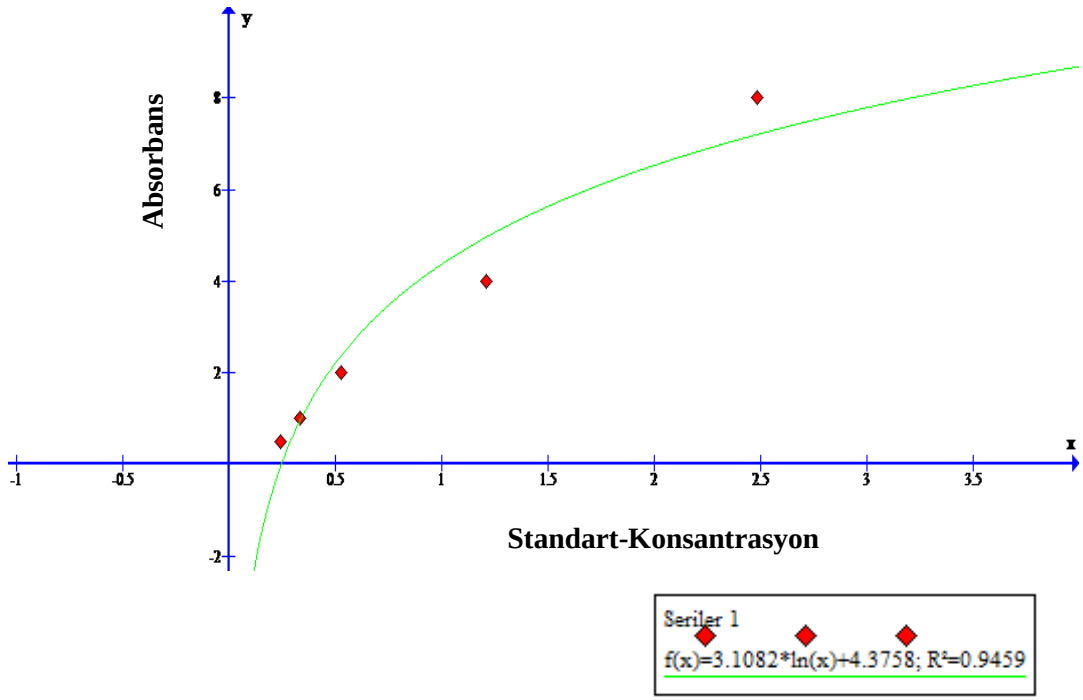
Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), ölçümleri yapılan Total Oksidatif Seviye (TOS)/Total Antioksidan Seviye'nin (TAS) birbirine oranlanması sonucu hesaplandı ve birimi AU olarak belirlendi (Erel, 2004; Erel, 2005).

3.12 ADMA Analizi

ADMA analizi için ticari olarak (Eastbiopharm) temin edilen “Rat ADMA ELISA” kiti kullanıldı. ADMA konsantrasyonunu hesaplanmak için standart çözeltiler dilüe edilerek standart grafiği çizildi (Şekil 3.2). Sonuçlar nmol/mL olarak ifade edildi. ADMA standart grafiğini çizmek için standart stok çözelti; 8 nmol/mL, 4 nmol/mL, 2 nmol/mL, 1 nmol/mL, 0,5 nmol/mL konsantrasyon oranlarında seyreltilerek 5 standart çözelti hazırlandı. Standart stok çözeltinin konsantrasyonu 16 nmol/mL'dir.

8 nmol/mL	Standart no 5	120 µL orijinal standart + 120 µL standart dilüent
4nmol/mL	Standart no 4	120 µL orijinal standart no 5 + 120 µL standart dilüent
2 nmol/mL	Standart no 3	120 µL orijinal standart no 4 + 120 µL standart dilüent
1 nmol/mL	Standart no 2	120 µL orijinal standart no 3 + 120 µL standart dilüent
0,5 nmol/mL	Standart no 1	120 µL orijinal standart no 2 + 120 µL standart dilüent

Kit içerisindeki ilk 6 kuyucağa kör ve standartlar yerleştirildi. Diğer kuyucuklara ise 40 µL Doku Numunesi + 10 µL ADMA Antibody + 50 µL Streptavidin HRP solüsyonu pipetlendikten sonra hafifçe sallanarak 60 dk boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Inkübasyondan alınan plate'deki örnekler 30 kat sulandırılmış yıkama solüsyonu (20 mL yıkama solüsyonu + 600 mL distile su) ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra tüm kuyucuklara 50 µL kromojen A ve 50 µL kromojen B pipetlendi ve 10 dk boyunca 37°C'de inkübe edildi. En son aşamada ise tüm kuyucuklara 50 µL stop solüsyon eklendi ve 15 dk içerisinde ELİSA cihazında 450 nm'de absorbanas okundu (Topal vd., 2011).



Şekil 3.2. ADMA standart grafiği

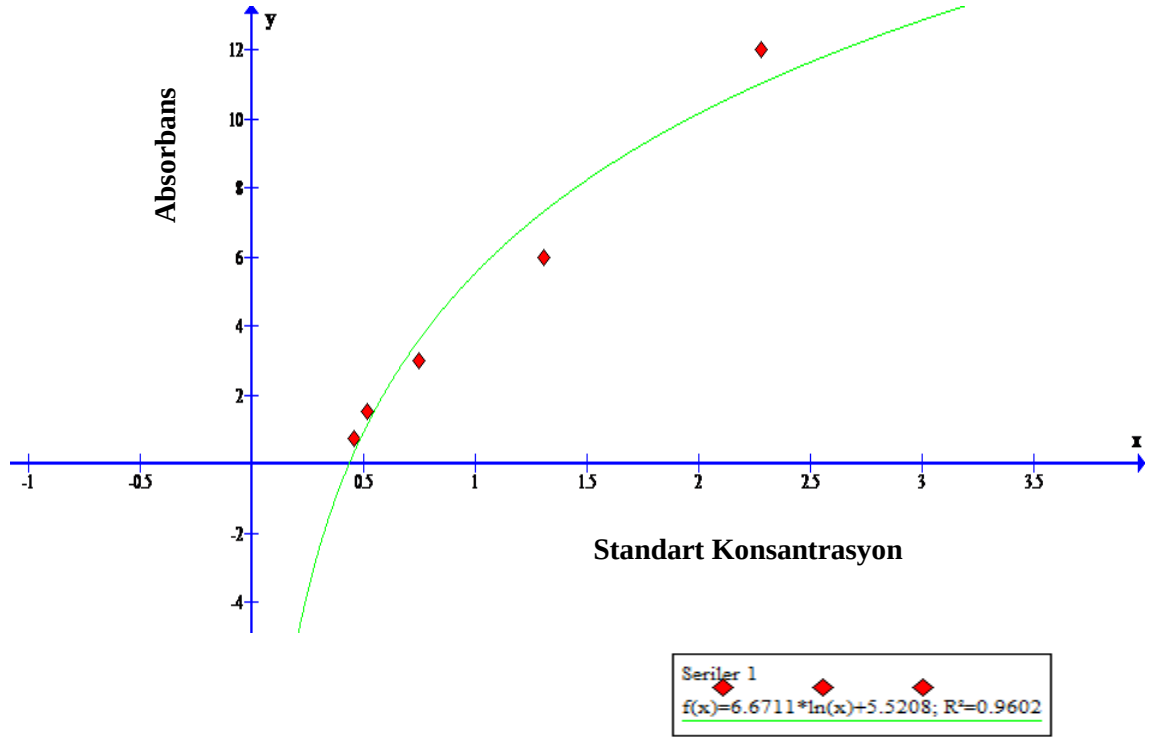
3.13 NF-κB Analizi

Bir inflamasyon belirteci olan NF-κB düzeyi, “Rat NF-κB ELISA” ticari kiti kullanılarak belirlendi. NF-κB, konsantrasyonunun hesaplanması için standart çözeltiler dilüe edilerek standart grafiği çizildi (Şekil 3.3). Sonuçlar ng/mL olarak ifade edildi. NF-κB standart grafiği çizmek için standart stok çözeltilerden; 12 nmol/mL, 6 nmol/mL, 3 nmol/mL, 1,5 nmol/mL, 0,75 nmol/mL konsantrasyonlarında seyreltilerek edilerek 5 standart çözelti hazırlandı. Standart stok çözelti konsantrasyonu 24 ng/mL’dir.

12 ng/mL	Standart no 5	120 µL orijinal standart + 120 µL standart dilüent
6ng/mL	Standart no 4	120 µL orijinal standart no 5 + 120 µL standart dilüent
3 ng/mL	Standart no 3	120 µL orijinal standart no 4 + 120 µL standart dilüent
1,5 ng/mL	Standart no 2	120 µL orijinal standart no 3 + 120 µL standart dilüent
0,75 ng/mL	Standart no 1	120 µL orijinal standart no 2 + 120 µL standart dilüent

Kit içerisindeki ilk 6 kuyucağa kör ve standartlar yerleştirildi. Diğer kuyucuklara ise 40 µL Doku Numunesi+10 µL NF-κB Antibody+50 µL Streptavidin HRP solüsyonu

pipetlendikten sonra hafifçe sallanarak 60 dk 37 °C’de inkübasyona tabi tutuldu. İnkübasyondan alınan plate’deki örnekler 30 kat sulandırılmış yıkama solüsyonu (20 mL yıkama solüsyonu + 600 mL distile su) ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra tüm kuyucuklara 50 µL kromojen A ve 50 µL kromojen B pipetlendi ve 10 dk 37°C inkübe edildi. Son aşamada ise tüm kuyucuklara 50 µL stop solüsyon eklenerek 15 dk içerisinde ELİSA cihazında 450 nm’de absorbans okundu (Song vd., 2009).



3.3. NF-κB standart grafiği

3.14 İstatistiksel Analizler

Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılık düzeylerini belirlemek için SPSS 16.0 paket istatistik programı kullanıldı. İstatistiksel farklar bağımsız gruplarda “one-way ANOVA” ve gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Post-hoc test olarak “Tukey” kullanıldı. Elde edilen sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verildi ve $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM IV. BULGULAR

4.1 Kan Basınçları

Deney hayvanlarının *tail cuff* yöntemiyle ölçülen ortalama sistolik kan basınçlarındaki değişimler çizelge 4.1 ve 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME uygulanmış (Grup II, Grup III, Grup IV, Grup V) sıçanlarda 0. ve 14. günlerdeki ortalama sistolik kan basınçları

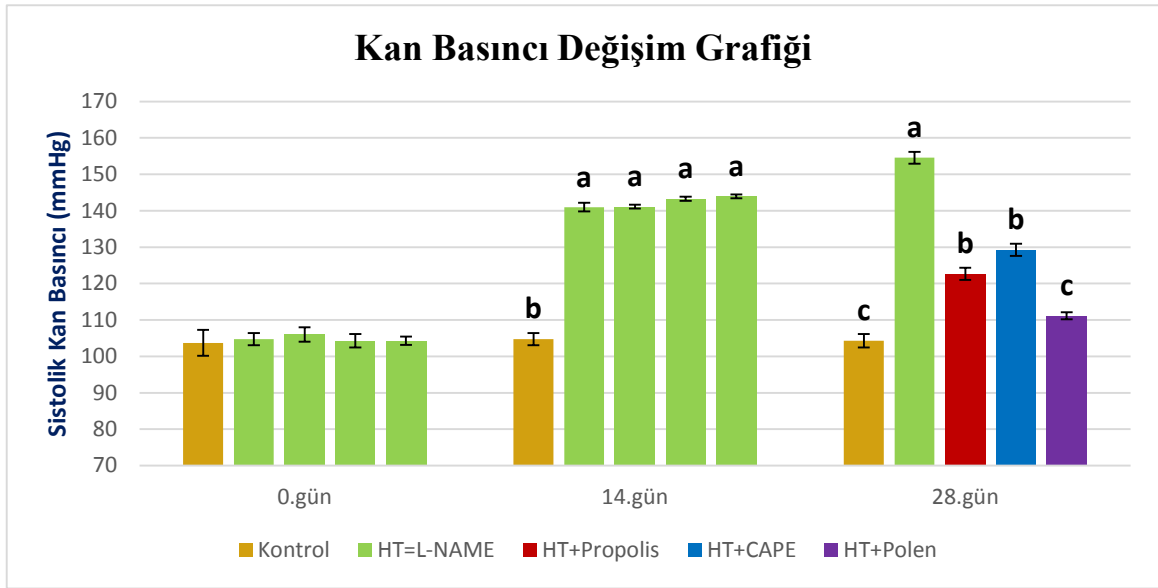
Gruplar \ Gün	0. gün (mmHg)	14. gün (mmHg)
Grup I (Kontrol)	103,71±3,56	104,75±1,69 ^b
Grup II (L-NAME)	104,75±1,69	141±1,21 ^a
Grup III (L-NAME)	106,02±1,99	141,11±0,53 ^a
Grup IV (L-NAME)	104,29±1,82	143,3±0,56 ^a
Grup V (L-NAME)	104,29±1,12	143,97±0,53 ^a

a ve b her satırda farklı harflerle gösterilen değerler olmak üzere istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$). Tabloda verilen değerler ortalama $\pm$ standart sapma (n=7) değeri olarak ifade edilmektedir.

Çizelge 4.2 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 14. ve 28. gündeki ortalama sistolik kan basınçları

Gruplar \ Gün	14. gün (mmHg)	28. gün (mmHg)
Grup I (Kontrol)	104,75±1,69 ^b	104,29±1,82 ^c
Grup II (L-NAME=HT)	141±1,21 ^a	154,56±1,59 ^a
Grup III (L-NAME+Propolis)	141,11±0,53 ^a	122,7±1,67 ^b
Grup IV (L-NAME+CAPE)	143,3±0,56 ^a	129,29±0,97 ^b
Grup V (L-NAME+Polen)	143,97±0,53 ^a	111,13±1,68 ^c

a, b, c her satırda farklı harflerle gösterilen değerler olmak üzere istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$). Tabloda verilen değerler ortalama $\pm$ standart sapma (n=7) değeri olarak ifade edilmektedir.



Şekil 4.1 Kontrol, Hipertansiyon (HT), HT+Propolis, HT+Polen ve HT+CAPE gruplarının 0, 14 ve 28. günlerdeki ortalama sistolik kan basınçlarının grafik ile gösterimi

4.1.1 L-NAME uygulanması sonucu kan basıncındaki değişimler

14 gün boyunca 40 mg/kg/gün dozda L-NAME uygulanması sonucu bütün gruplarda (Grup II, Grup III, Grup IV, Grup V) kontrol grubuna göre sıçanların sistolik kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı artışlar ($P<0.05$) saptanmıştır. Sadece L-NAME uygulanmış gruptaki sıçanların sistolik kan basınçları 0. Günde $104,75\pm1,69$ mmHg, 14. gün $141\pm1,21$ mmHg, 28.günde $154,56\pm1,59$ mmHg olarak ölçülmüştür. Elde edilen verilere göre; 14. günde kan basıncında meydana gelen artış 0. güne göre istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. 28. güne gelindiğinde 0. güne göre sıçanların kan basıncındaki artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0.05$). İstatistiksel analizler ile edilen bulgulara göre sıçanlarda kronik hipertansiyon modeli oluşturulmuştur (Çizelge 4.1; Şekil 4.1).

4.1.2 L-NAME+Propolis uygulanması sonucu kan basıncındaki değişimler

Sadece L-NAME uygulanan hipertansif (HT) sıçanların 28. gündeki kan basıncı değerleri $154,56\pm1,59$ mmHg iken L-NAME ile birlikte propolis uygulanan sıçanların kan basınçları $122,7\pm1,67$ mmHg olarak belirlenmiştir. Sıçanlara 14 gün boyunca i.p. olarak verilen L-

NAME kan basınçlarında anlamlı ($P<0.05$) değişiklikler yaratmıştır. Hipertansif model oluşturulan deney hayvanlarına tedavi amaçlı propolis (14. günden itibaren 14 gün boyunca, 100 mg/kg/gün) uygulamasından sonra 28. günde ölçülen kan basıncı değerlerinde 14. gündeki kan basıncı değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P<0.05$) gözlenmiştir (Çizelge 4.2; Şekil 4.1).

4.1.3 L-NAME+CAPE uygulanması sonucu kan basıncındaki değişimler

Sadece NOS inhibitörü L-NAME uygulanan hipertansif (HT) sıçanların 28. gündeki kan basıncı değerleri $154,56\pm1,59$ mmHg iken L-NAME ile birlikte CAPE uygulanan sıçanların kan basınçları $111,13\pm1,68$ mmHg olarak belirlenmiştir. 14 gün boyunca uygulanan L-NAME sonunda oluşturulan hipertansif deney hayvanlarına CAPE uygulanması (14. günden itibaren 2 hafta boyunca, 50 μ M/kg/gün) sonucu 28. gün ölçülen kan basıncı değerleri 14. günün ölçümleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşüşler ($P<0.05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.2; Şekil 4.1).

4.1.4 L-NAME+Polen uygulanması sonucu kan basıncındaki değişimler

Hipertansif (HT) model oluşturmak için sıçanlara L-NAME uygulaması yapıldıktan sonra 28. gündeki kan basıncı değerleri $154,56\pm1,59$ mmHg iken L-NAME ile birlikte CAPE uygulanan sıçanların kan basınçları $129,29\pm0,97$ mmHg olarak belirlenmiştir. 14 gün boyunca NOS inhibitörü (L-NAME) ile oluşturulan hipertansif sıçanlarda, polen takviyesinden (14.günden itibaren 2 hafta boyunca, 200 mg/kg/gün) sonra elde edilen kan basıncı verileri; 14. güne göre, 28. günde anlamlı düşüşler ($P<0.05$) göstermiştir. 28. günün sonunda kan basıncı verilerinin 0. günde yapılan ölçüm değerlerine yakın olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.2; Şekil 4.1).

4.2 Kan Serumunda Biyokimyasal Analizler

Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. Günün sonunda elde edilen kan serumlarındaki PON1 aktiviteleri, TAS, TOS ve OSI, ADMA, NF- κ B düzeylerindeki değişimler çizelge 4.3 ve şekil 4.3-4.7’de gösterilmiştir.

Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki kan serumu PON1 aktiviteleri; kontrol grubunda $319,29 \pm 16,71$ U/L, HT (L-NAME) grubunda $237,14 \pm 12,94$ U/L, HT+propolis grubunda $357,71 \pm 10,43$ U/L, HT+CAPE grubunda $298,71 \pm 23,53$ U/L ve HT+polen grubunda $311,43 \pm 37,99$ U/L olarak belirlendi. Bu sonuçlara göre, 4 hafta boyunca L-NAME uygulanan grupta PON1 seviyeleri kontrol grubu verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P < 0.05$) anlamlı azalmalar tespit edilmiştir. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında serum PON1 aktiviteleri HT grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artışların ($P < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Propolis, CAPE ve polen takviyesi yapılan gruplar arasında PON1 aktiviteleri karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak en fazla PON1 aktivitesi artışı propolis ilavesi yapılan grupta gözlemlendi (Çizelge 4.3; Şekil 4.2).

Sıçanların serum TAS değerleri; kontrol grubunda $2,18 \pm 0,03$ mmol/L, HT (L-NAME) grubunda $2,03 \pm 0,05$ mmol/L, HT+propolis grubunda $2,39 \pm 0,04$ mmol/L, HT+CAPE grubunda $2,16 \pm 0,05$ mmol/L ve HT+polen grubunda ise $2,22 \pm 0,02$ mmol/L olarak elde edilmiştir. Propolis, CAPE ve polen eklenen deneysel gruplarda TAS değerleri HT grubu verilerine göre istatistiksel olarak artış ($P < 0.05$) gösterirken, en yüksek TAS sonuçları propolis ilave edilen grupta gözlemlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.3; Şekil 4.3).

Deney hayvanlarının TOS verileri; kontrol grubunda $12,48 \pm 1,62$ μ mol/L, HT (L-NAME) grubunda $20,77 \pm 2,28$ μ mol/L, HT+propolis grubunda $9,51 \pm 1,70$ μ mol/L, HT+CAPE grubunda $11,82 \pm 1,73$ μ mol/L ve HT+polen grubunda $13,66 \pm 1,61$ μ mol/L olarak belirlendi. Elde edilen değerlere göre, 4 hafta boyunca L-NAME uygulanan grupta TOS sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P < 0.05$) anlamlı artış elde edilmiştir. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında serum TOS değerleri HT grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P < 0.05$) saptanmıştır. Propolis, CAPE ve polen takviyesi yapılan gruplar arasında TOS değerleri karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak en anlamlı azalma ($P < 0.05$) propolis ilavesi yapılan grupta tespit edilmiştir (Çizelge 4.3; Şekil 4.4).

Hesaplanan TOS/TAS oranı ile elde edilen OSİ değerleri ise; kontrol grubunda $0,57 \pm 0,07$, HT (L-NAME) grubunda $1,02 \pm 0,130$, HT+propolis grubunda $0,45 \pm 0,14$, HT+CAPE grubunda $0,54 \pm 0,08$ ve HT+polen grubunda $0,61 \pm 0,07$ olarak belirlendi. Elde edilen bu sonuçlara göre; HT grubu OSİ değerleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artışın ($P < 0.05$) meydana geldiği tespit edildi. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarındaki OSİ sonuçları HT grubu verileri ile karşılaştırıldığında

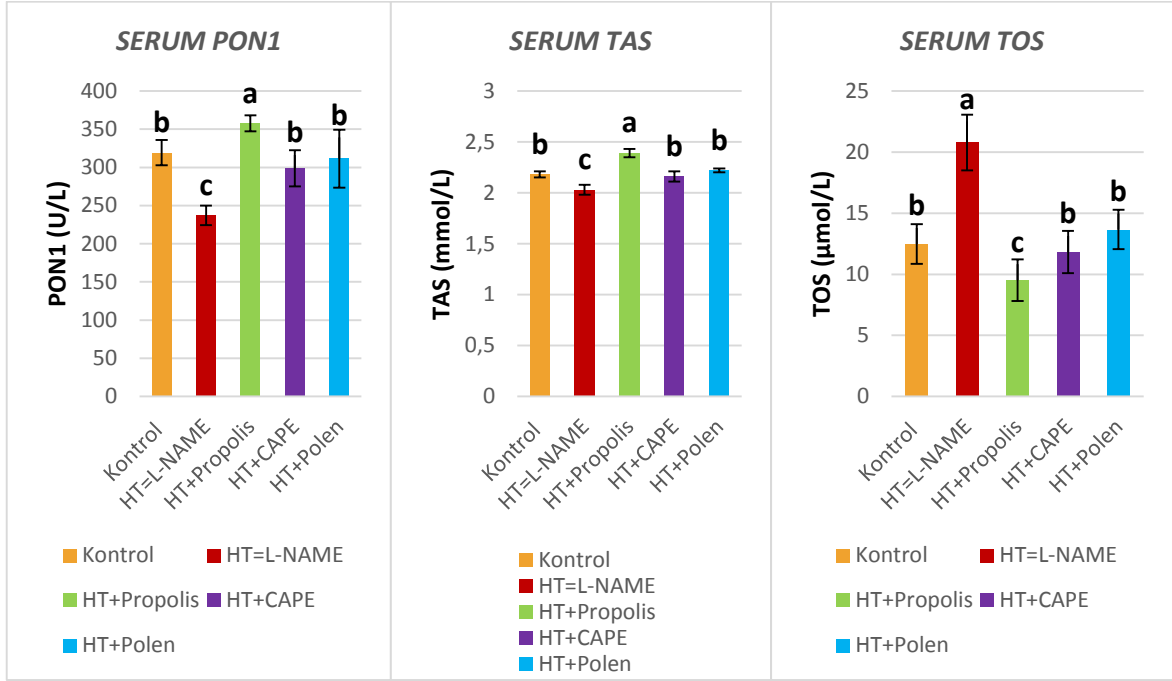
istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P<0.05$) gözlemlendi. Üç ayrı terapötik ajanın uygulandığı gruplarda OSİ değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak en önemli azalmalar ($P<0.05$) propolis ilavesi yapılan grupta saptandı (Çizelge 4.3; Şekil 4.5).

Deney hayvanlarının ADMA seviyeleri incelendiğinde; kontrol grubunda $3,73\pm0,24$ ng/mL, HT (L-NAME) grubunda $5,77\pm0,56$ ng/mL, HT+propolis grubunda $3,86\pm0,39$ ng/mL, HT+CAPE grubunda $4,20\pm0,23$ ng/mL ve HT+polen grubunda $3,84\pm0,35$ ng/mL olarak bulundu. Elde edilen değerlere göre, L-NAME uygulanan grubun serum ADMA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P<0.05$) anlamlı artışların olduğu belirlenmiştir. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında serum ADMA düzeyleri HT grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P<0.05$) olduğu ve kontrol grubu değerlerine yakın olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3; Şekil 4.6). Sıçanların serum NF- κ B değerleri; kontrol grubunda $4,35\pm0,73$ mmol/mL, HT (L-NAME) grubunda $7,40\pm0,48$ mmol/mL, HT+propolis grubunda $5,27\pm0,72$ mmol/mL, HT+CAPE grubunda $3,32\pm0,73$ mmol/mL ve HT+polen grubunda ise $5,20\pm0,75$ mmol/mL olarak elde edilmiştir. Sonuçlara göre; HT grubu NF- κ B seviyeleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artışın ($P<0.05$) meydana geldiği saptanmıştır. Propolis, CAPE ve polen eklenen deneysel gruplarda serum NF- κ B düzeyleri HT grubu verilerine göre istatistiksel olarak azalma ($P<0.05$) gösterirken, en düşük NF- κ B düzeylerinin CAPE ilave edilen grupta gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.3; Şekil 4.7).

Çizelge 4.3 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki kan serumunda PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSİ, ADMA, NF- κ B düzeyleri

Gruplar Parametreler	Grup I (Kontrol)	Grup II (L-NAME=HT)	Grup III (HT+Propolis)	Grup IV (HT+CAPE)	Grup V (HT+Polen)
PON1 (U/L)	$319,29\pm16,71^b$	$237,14\pm12,94^c$	$357,71\pm10,43^a$	$298,71\pm23,53^b$	$311,43\pm37,99^b$
TAS (mmol/L)	$2,18\pm0,03^b$	$2,03\pm0,05^c$	$2,39\pm0,04^a$	$2,16\pm0,05^b$	$2,22\pm0,02^b$
TOS (μ mol/L)	$12,48\pm1,62^b$	$20,77\pm2,28^a$	$9,51\pm1,70^c$	$11,82\pm1,73^b$	$13,66\pm1,61^b$
OSİ (ratio)	$0,57\pm0,07^b$	$1,02\pm0,13^a$	$0,45\pm0,14^c$	$0,54\pm0,08^b$	$0,61\pm0,07^b$
ADMA (ng/mL)	$3,73\pm0,24^b$	$5,77\pm0,56^a$	$3,86\pm0,39^b$	$4,20\pm0,23^b$	$3,84\pm0,35^b$
NF- κ B(mmol/mL)	$4,35\pm0,73^c$	$7,40\pm0,48^a$	$5,27\pm0,72^b$	$3,32\pm0,73^c$	$5,20\pm0,75^b$

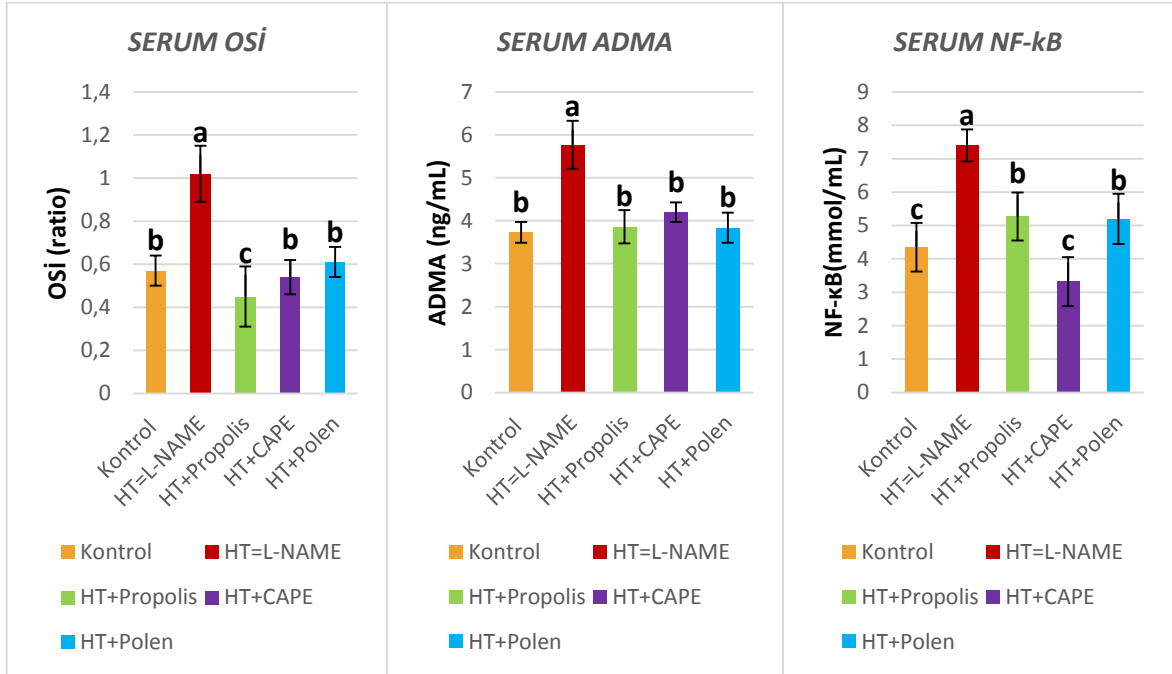
a, b, c her sütunda farklı harflerle gösterilen değerler olmak üzere istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$). Tabloda verilen değerler ortalama $\pm$ standart sapma (n=7) değeri olarak ifade edilmektedir.



Şekil 4.2 Serum-PON1 seviyeleri

Şekil 4.3 Serum-TAS seviyeleri

Şekil 4.4 Serum-TOS seviyeleri



Şekil 4.5 Serum-OSİ seviyeleri

Şekil 4.6 Serum-ADMA seviyeleri

Şekil 4.7 Serum-NF-κB seviyeleri

4.3 Kalp Dokusunda Biyokimyasal Analizler

Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. günün sonunda elde edilen kalp dokusundaki PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSI, ADMA, NF- κ B seviyelerindeki değişimler çizelge 4.4 ve grafik 4.8-4.13’de gösterilmiştir.

Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki kalp dokusu PON1 aktiviteleri; kontrol grubunda $5,71 \pm 1,25$ U/L, HT (L-NAME) grubunda $3,14 \pm 1,06$ U/L, HT+propolis grubunda $4,14 \pm 1,06$ U/L, HT+CAPE grubunda $3,57 \pm 1,71$ U/L ve HT+polen grubunda $5,00 \pm 0,81$ U/L olarak belirlendi. Elde edilen aktivitelere göre, L-NAME uygulanan grubun kalp dokusu PON1 düzeyleri kontrol grubu verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P < 0.05$) anlamlı azalmaların olduğu saptanmıştır. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında ölçülen kalp dokusu PON1 aktiviteleri HT grubu değerleri ile karşılaştırıldığında; CAPE ilavesi yapılan grubun PON1 aktivitesinde anlamlı bir değişimin olmadığı ($P > 0.05$), propolis ve polen verilen grupların istatistiksel olarak artış ($P < 0.05$) gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4; Şekil 4.8).

Sıçanların kalp dokusundaki belirlenen TAS değerleri; kontrol grubunda $2,16 \pm 0,04$ mmol/L, HT (L-NAME) grubunda $1,99 \pm 0,05$ mmol/L, HT+propolis grubunda $2,60 \pm 0,12$ mmol/L, HT+CAPE grubunda $2,20 \pm 0,07$ mmol/L ve HT+polen grubunda ise $2,15 \pm 0,05$ mmol/L olarak belirlenmiştir. Belirlenen sonuçlara göre; HT grubu TAS verileri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak azalmalar ($P < 0.05$) olduğu tespit edildi. Propolis, CAPE ve polen eklenen deneysel gruplarda TAS değerleri HT grubu verilerine göre istatistiksel olarak artış ($P < 0.05$) gösterirken, en yüksek TAS sonuçları propolis ilave edilen grupta gözlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.4; Şekil 4.9).

Sıçanların TOS verileri; kontrol grubunda $2,26 \pm 0,07$ μ mol/L, HT (L-NAME) grubunda $7,28 \pm 1,75$ μ mol/L, HT+propolis grubunda $2,50 \pm 0,72$ μ mol/L, HT+CAPE grubunda $4,92 \pm 0,74$ μ mol/L ve HT+polen grubunda $4,16 \pm 0,94$ μ mol/L olarak belirlendi. Elde edilen değerlere göre, L-NAME verilen grubun TOS değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P < 0.05$) anlamlı artışların olduğu belirlenmiştir. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında kalp dokusu TOS sonuçları HT grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P < 0.05$) saptanmıştır.

Antioksidan (Propolis, CAPE ve polen) ilavesi yapılan gruplar arasında TOS değerleri karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak en anlamlı azalma ($P<0.05$) propolis ilavesi yapılan grupta olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.4; Şekil 4.10).

Kalp dokusunda yapılan TOS/TAS oranı hesaplama değerleri ise; kontrol grubunda $0,09\pm0,02$, HT (L-NAME) grubunda $0,36\pm0,08$, HT+propolis grubunda $0,09\pm0,02$, HT+CAPE grubunda $0,22\pm0,03$ ve HT+polen grubunda $0,19\pm0,04$ olarak belirlendi. Elde edilen bu verilere göre; HT grubu OSİ değerleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artışın ($P<0.05$) meydana geldiği saptanmıştır. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarındaki kalp dokusu OSİ değerleri HT grubu verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P<0.05$) olduğu belirlendi. Üç farklı antioksidan molekülün uygulandığı gruplarda OSİ değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak en önemli azalmaların ($P<0.05$) propolis ilavesi yapılan grupta olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4; Şekil 4.11).

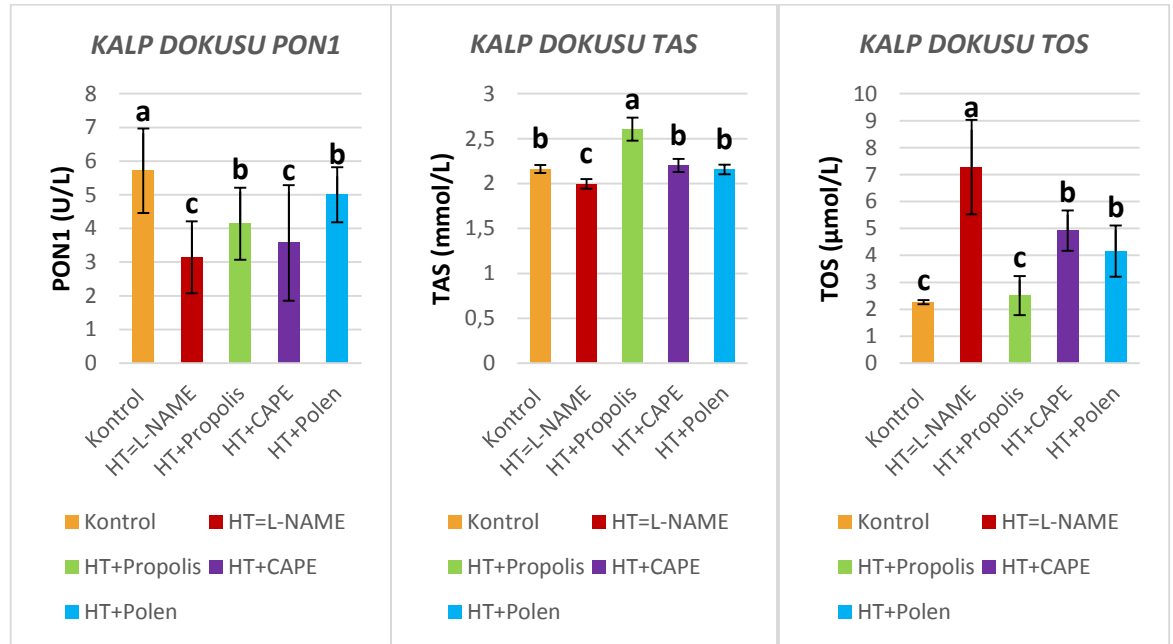
Deney hayvanlarının ADMA seviyeleri incelendiğinde; kontrol grubunda $3,11\pm0,31$ ng/mL, HT (L-NAME) grubunda $4,67\pm0,29$ ng/mL, HT+propolis grubunda $3,28\pm0,43$ ng/mL, HT+CAPE grubunda $3,46\pm0,30$ ng/mL ve HT+polen grubunda $2,91\pm0,33$ ng/mL olarak saptandı. Yapılan analiz sonuçlarına göre, L-NAME uygulanan grubun serum ADMA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P<0.05$) anlamlı artışların olduğu saptanmıştır. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında kalp dokusu ADMA düzeyleri HT grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P<0.05$) olduğu ve kontrol grubu değerlerine yakın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4; Şekil 4.12).

Sıçanların kalp dokusu NF- κ B değerleri; kontrol grubunda $4,03\pm1,06$ mmol/mL, HT (L-NAME) grubunda $6,30\pm0,62$ mmol/mL, HT+propolis grubunda $3,80\pm0,88$ mmol/mL, HT+CAPE grubunda $4,17\pm0,73$ mmol/mL ve HT+polen grubunda ise $2,79\pm0,83$ mmol/mL olarak elde edilmiştir. Sonuçlara göre; HT grubu NF- κ B seviyeleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artışın ($P<0.05$) meydana geldiği saptanmıştır. Propolis, CAPE ve polen eklenen deneysel gruplarda serum NF- κ B düzeyleri HT grubu verilerine göre istatistiksel olarak azalma ($P<0.05$) gösterirken, en düşük NF- κ B düzeylerinin polen takviyesi yapılan grupta gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.4; Şekil 4.13).

Çizelge 4.4 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki kalp dokusunda PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSİ, ADMA ve NF-κB düzeyleri

Gruplar Parametreler	Grup I (Kontrol)	Grup II (L-NAME=HT)	Grup III (HT+Propolis)	Grup IV (HT+CAPE)	Grup V (HT+Polen)
PON1 (U/L)	5,71±1,25 ^a	3,14±1,06 ^c	4,14±1,06 ^b	3,57±1,71 ^c	5,00±0,81 ^a
TAS (mmol/L)	2,16±0,04 ^b	1,99±0,05 ^c	2,60±0,12 ^a	2,20±0,07 ^b	2,15±0,05 ^b
TOS (μmol/L)	2,26±0,07 ^c	7,28±1,75 ^a	2,50±0,72 ^c	4,92±0,74 ^b	4,16±0,94 ^b
OSİ (ratio)	0,09±0,02 ^c	0,36±0,08 ^a	0,09±0,02 ^c	0,22±0,03 ^b	0,19±0,04 ^b
ADMA (ng/mL)	3,11±0,31 ^c	4,67±0,29 ^a	3,28±0,43 ^b	3,46±0,30 ^b	2,91±0,33 ^c
NF-κB(mmol/mL)	4,03±1,06 ^b	6,30±0,62 ^a	3,80±0,88 ^b	4,17±0,73 ^b	2,79±0,83 ^c

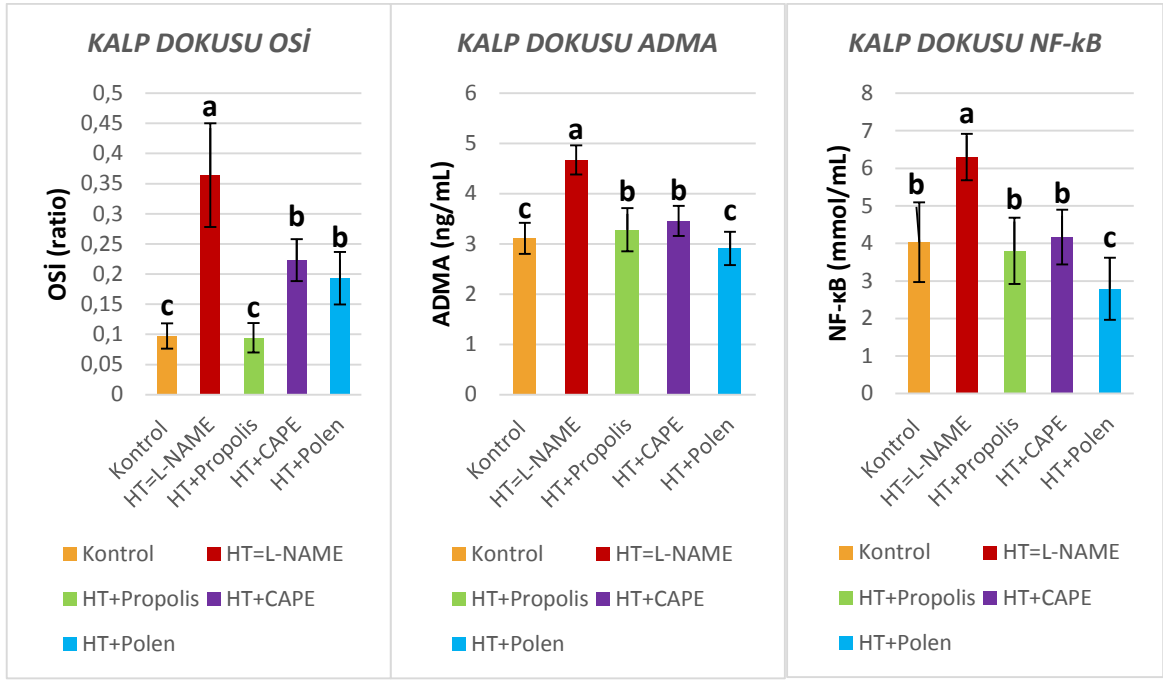
a, b, c her sütunda farklı harflerle gösterilen değerler olmak üzere istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$). Tabloda verilen değerler ortalama ± standart sapma (n=7) değeri olarak ifade edilmektedir.



Şekil 4.8 Kalp-PON1 seviyeleri

Şekil 4.9 Kalp-TAS seviyeleri

Şekil 4.10 Kalp-TOS seviyeleri



Şekil 4.11 Kalp-OSİ seviyeleri Şekil 4.12 Kalp-ADMA seviyeleri Şekil 4.13 Kalp- NF-κB seviyeleri

4.4 Böbrek Dokusunda Biyokimyasal Analizler

Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. günün sonunda elde edilen böbrek dokusundaki PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSİ, ADMA, NF-κB seviyelerindeki değişimler çizelge 4.5 ve grafik 4.14-4.19’de gösterilmiştir. Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki böbrek dokusu PON1 seviyeleri; kontrol grubunda $9,00 \pm 1,73$ U/L, HT (L-NAME) grubunda $4,57 \pm 1,61$ U/L, HT+propolis grubunda $6,00 \pm 4,08$ U/L, HT+CAPE grubunda $11,28 \pm 1,38$ U/L ve HT+polen grubunda $5,00 \pm 2,70$ U/L olarak tespit edildi. Elde edilen PON1 aktivite sonuçlarına göre, L-NAME verilen grubun böbrek dokusu PON1 seviyeleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P > 0.05$) anlamlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında ölçülen böbrek dokusu PON1 aktiviteleri HT grubu değerleri ile karşılaştırıldığında; propolis ve CAPE ilavesi yapılan gruplar HT grubuna göre anlamlı artış ($P < 0.05$) gösterirken, polen takviyesi yapılan grubun PON1 aktivitesinde istatistiksel anlamlı değişimlerin olmadığı ($P > 0.05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.5; Şekil 4.14).

Deney hayvanlarının böbrek dokusundaki ölçülen TAS değerleri; kontrol grubunda $3,33 \pm 0,10$ mmol/L, HT (L-NAME) grubunda $3,05 \pm 0,09$ mmol/L, HT+propolis grubunda $3,81 \pm 0,11$ mmol/L, HT+CAPE grubunda $3,45 \pm 0,16$ mmol/L ve HT+polen grubunda ise $3,53 \pm 0,20$ mmol/L şeklinde saptanmıştır. Belirlenen verilere göre; hipertansif (HT) sıçan grubu TAS değerleri kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak azalmalar ($P < 0.05$) olduğu saptandı. Propolis, CAPE ve polen takviyesi yapılan deneysel gruplardaki TAS değerleri HT grubu verilerine göre istatistiksel olarak artış ($P < 0.05$) gösterirken, en yüksek TAS sonuçları propolis eklenen grupta gözlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.5; Şekil 4.15).

Sıçan böbrek dokusu TOS verileri incelendiğinde; kontrol grubunda $10,47 \pm 1,32$ μ mol/L, HT (L-NAME) grubunda $17,69 \pm 2,07$ μ mol/L, HT+propolis grubunda $6,23 \pm 1,60$ μ mol/L, HT+CAPE grubunda $12,73 \pm 1,74$ μ mol/L ve HT+polen grubunda $12,38 \pm 2,03$ μ mol/L olarak belirlendi. Belirlenen sonuçlara göre, L-NAME uygulanan deneysel grubun TOS değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P < 0.05$) artışların meydana geldiği belirlenmiştir. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında böbrek dokusu TOS sonuçları HT grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan (Propolis, CAPE ve polen) takviyesi yapılan gruplar arasında TOS verileri karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak en anlamlı azalma ($P < 0.05$) propolis eklenen grupta olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.5; Şekil 4.16).

Böbrek dokusunda yapılan TOS/TAS oranı değerleri ise; kontrol grubunda $0,31 \pm 0,04$, HT (L-NAME) grubunda $0,58 \pm 0,08$, HT+propolis grubunda $0,16 \pm 0,04$, HT+CAPE grubunda $0,37 \pm 0,06$ ve HT+polen grubunda $0,35 \pm 0,06$ olarak saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre; L-NAME verilen grubun OSİ değerleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artış ($P < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarındaki böbrek dokusu OSİ değerleri HT grubu verileri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P < 0.05$) olduğu belirlendi. Farklı antioksidanların uygulandığı deneysel grupların OSİ değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak en önemli azalmaların ($P < 0.05$) propolis ilavesi yapılan grupta olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5; Şekil 4.17).

Deneysel gruplarda belirlenen ADMA düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubunda $3,13 \pm 0,23$ ng/mL, HT (L-NAME) grubunda $4,95 \pm 0,29$ ng/mL, HT+propolis grubunda $3,54 \pm 0,36$ ng/mL, HT+CAPE grubunda $4,33 \pm 0,31$ ng/mL ve HT+polen grubunda $3,68 \pm 0,21$ ng/mL olarak bulundu. Yapılan analizlere göre, L-NAME uygulanan grubun

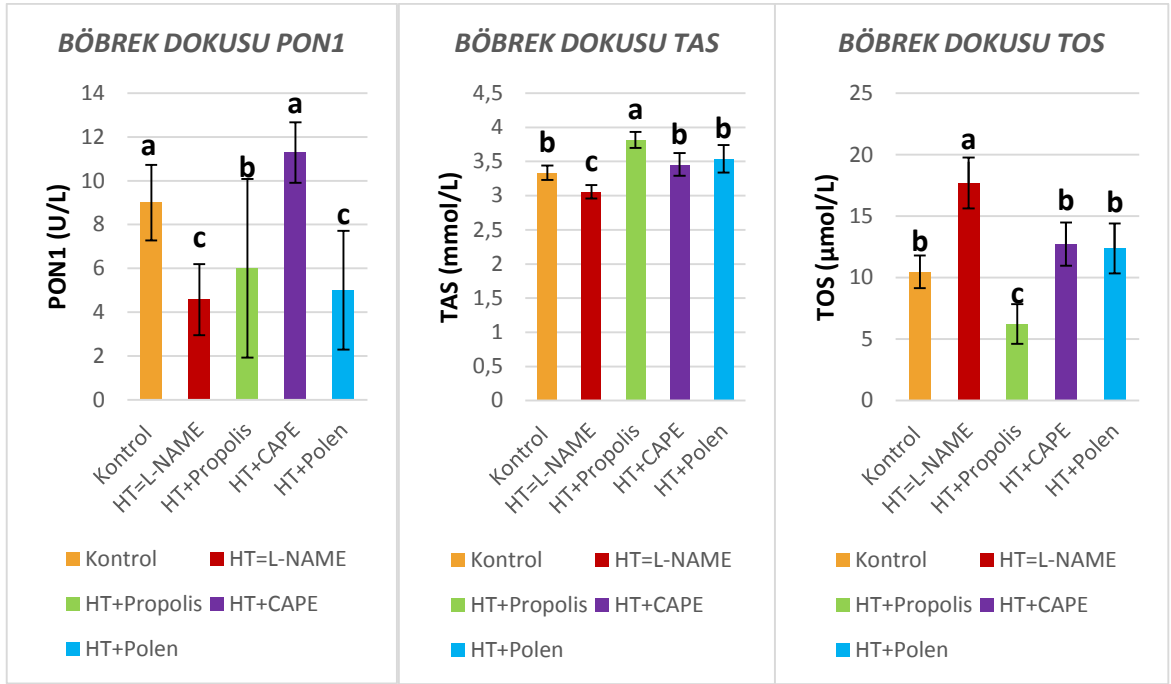
serum ADMA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($P<0.05$) anlamlı artışların olduğu saptanmıştır. HT+propolis, HT+CAPE ve HT+polen gruplarında böbrek dokusu ADMA düzeyleri HT grubu sonuçları ile karşılaştırıldığında; propolis ve polen ilavesi yapılan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ($P<0.05$) gözlenirken, CAPE takviyesi yapılan grubun böbrek dokusu ADMA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 4.5; Şekil 4.18).

Sıçanların kalp dokusu NF- κ B değerleri; kontrol grubunda $3,46\pm0,77$ mmol/mL, HT (L-NAME) grubunda $6,83\pm0,41$ mmol/mL, HT+propolis grubunda $4,12\pm0,80$ mmol/mL, HT+CAPE grubunda $2,83\pm0,84$ mmol/mL ve HT+polen grubunda ise $5,25\pm0,56$ mmol/mL olarak elde edilmiştir. Elde edilen verilere göre; L-NAME uygulanan NF- κ B düzeyleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak artışın ($P<0.05$) meydana geldiği belirlenmiştir. Propolis, CAPE ve polen ilave edilen deneysel gruplarda böbrek dokusu NF- κ B seviyeleri HT grubu değerlerine göre istatistiksel olarak azalma ($P<0.05$) gösterirken, en düşük NF- κ B düzeylerinin CAPE ilavesi yapılan grupta olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.5; Şekil 4.19).

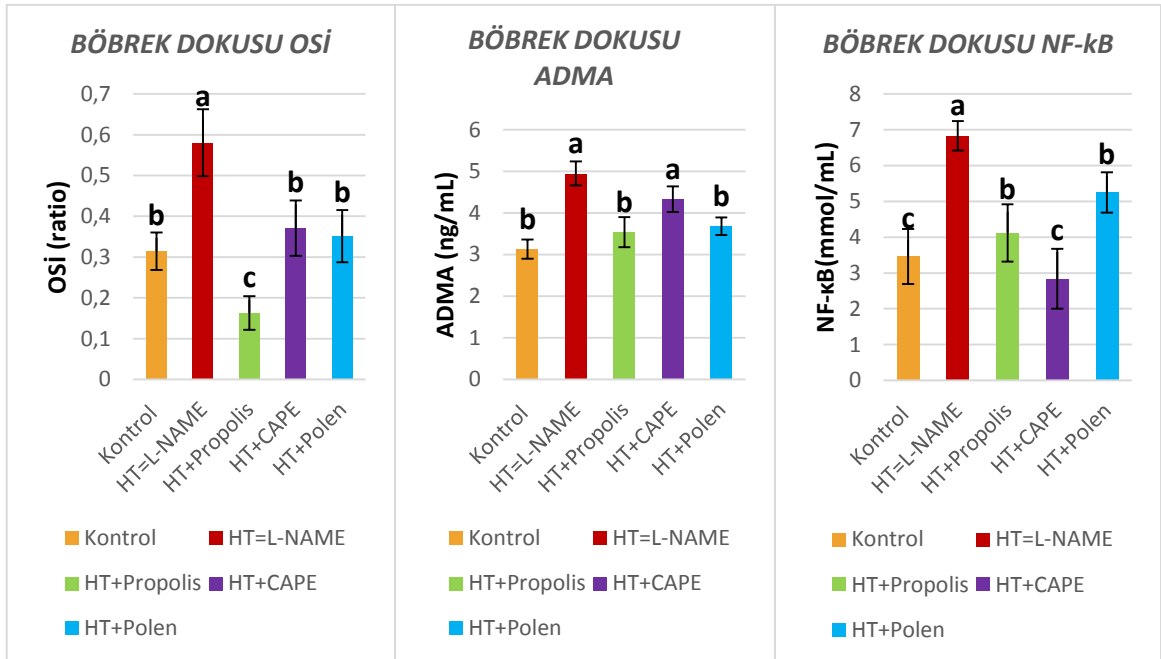
Çizelge 4.5 Kontrol (Grup I) grubu ve L-NAME (Grup II), L-NAME+Propolis (Grup III), L-NAME+CAPE (Grup IV Grup), L-NAME+Polen (Grup V) uygulanmış sıçanların 28. gündeki böbrek dokusunda PON1 aktiviteleri, TAS, TOS, OSİ, ADMA ve NF- κ B düzeyleri

Gruplar Parametreler	Grup I (Kontrol)	Grup II (L-NAME=HT)	Grup III (HT+Propolis)	Grup IV (HT+CAPE)	Grup V (HT+Polen)
PON1 (U/L)	$9,00\pm1,73^a$	$4,24\pm1,61^c$	$6,00\pm4,08^b$	$11,28\pm1,38^a$	$5,84\pm2,70^b$
TAS (mmol/L)	$3,33\pm0,10^b$	$3,05\pm0,09^c$	$3,81\pm0,11^a$	$3,45\pm0,16^b$	$3,53\pm0,20^b$
TOS (μ mol/L)	$10,47\pm1,32^b$	$17,69\pm2,07^a$	$6,23\pm1,60^c$	$12,73\pm1,74^b$	$12,38\pm2,03^b$
OSİ (ratio)	$0,31\pm0,04^b$	$0,58\pm0,08^a$	$0,16\pm0,04^c$	$0,37\pm0,06^b$	$0,35\pm0,06^b$
ADMA (ng/mL)	$3,13\pm0,23^b$	$4,95\pm0,29^a$	$3,54\pm0,36^b$	$4,33\pm0,31^a$	$3,68\pm0,21^b$
NF- κ B (mmol/mL)	$3,46\pm0,77^c$	$6,83\pm0,41^a$	$4,12\pm0,80^b$	$2,83\pm0,84^c$	$5,25\pm0,56^b$

a, b, c her sütunda farklı harflerle gösterilen değerler olmak üzere istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P<0.05$). Tabloda verilen değerler ortalama $\pm$ standart sapma (n=7) değeri olarak ifade edilmektedir.



Şekil 4.14 Böbrek-PON1 seviyeleri Şekil 4.15 Böbrek-TAS seviyeleri Şekil 4.16 Böbrek-TOS seviyeleri



Şekil 4.17 Böbrek-OSİ seviyeleri Şekil 4.18 Böbrek-ADMA seviyeleri Şekil 4.19 Böbrek-NF-κB seviyeleri

BÖLÜM V. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmada L-NAME ile oluşturulan kronik NOS inhibisyonun ve propolis, CAPE ve polen uygulamalarının sıçanlarda kan basıncı ile kan, kalp ve böbrek dokularında PON aktivitesi TAS, TOS, OSI, ADMA, NF- κ B seviyeleri üzerine etkileri incelenmiştir. Son yıllarda yapılan hipertansiyon çalışmalarında en çok kullanılan hipertansif model kronik NOS inhibisyonuna bağlı oluşturulan kan basıncı artışıdır. Bu modelin oluşumunda L-arjinin analogları olan L-NAME, L-NNA ve L-NMMA kullanılmaktadır. NOS inhibitörlerinin farklı türleri, kullanılan farklı dozları, farklı uygulama süreleri ve veriliş yolları ile deney hayvanlarının cinsiyeti ve yaşı farklı kan basıncı bulgularının elde edilmesine sebep olmuştur. Bundan dolayı hem NOS inhibisyonuna bağlı oluşan hipertansiyonun mekanizması hemde çeşitli endojen vazoaktif sistemlerin hipertansiyona olan etkilerinin tam olarak açıklanabilmesi zorlaşmıştır. Sıçanlarda kronik hipertansiyon modeli oluşturmak için en uygun L-NAME'in 10-50 mg/kg/gün dozlarının 4 hafta boyunca intraperitoneal yolla enjekte edilmesinin yeterli olabileceği literatürde bildirilmiştir (Bergamaschi vd., 2002; Majithiya vd., 2005; Moran vd., 2009). Bizim çalışmamızda da, sıçanlarda hipertansif model oluşturmak için L-NAME'in 40 mg/kg/gün dozu uygulandı.

Organizma için gerekli olan besin maddelerin ve oksijenin taşınmasında görevli olan kardiyovasküler sistem, metabolizmanın atık ürünlerinin uzaklaştırılmasında yani homeostazinin düzenlenmesinde önemlidir. Sistemin düzgün çalışması için bazı hormon ve moleküllerin rol oynadığı bilinmektedir. Bu moleküllerden biri de NO'dur (Bülbül ve Soylu, 2008). Nitrik oksit kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini, kalpteki kasılma gücünü azaltma ve sol ventriküler diastolik hacmini artırma şeklinde gösterir. Bu konu üzerine yapılan araştırmalar NO seviyelerinin kalp kasılmasında önemli bir gösterge olduğunu vurgulamaktadır. Bu etkileri sayesinde NO'nun vazodilatör özelliği tespit edilmiştir (Saravanakumar ve Raja, 2011). NO'nun endojen olarak sentezi L-arjininin NOS ile katalizlenmesi sonucu gerçekleşir (Tai vd., 2005). L-NAME uygulaması NOS'un etkinliğini azalttığı için, kan basıncının düzenlenmesinde önemli fonksiyon üstlenen NO'un endotel hücrelerinden salınımı ve biyoyararlanımında azalmaktadır. NO salınımının engellenmesi, kan basıncının yükselmesine katkıda bulunan çeşitli mekanizmalarda etkileyebilir (Bülbül ve Soylu, 2008).

Hipertansif ratlarda serotoninin vasküler etkilerini belirlemek için yapılan çalışmada, NOS inhibitörü olan L-NAME ratlara 21 gün boyunca içme suyu ile birlikte 30 mg/kg/gün dozda verilmiş ve uygulama sonunda ölçülen kan basıncı değerlerinin kontrol grubuna

göre anlamlı artışlar gösterdiği tespit edilmiştir (Moran vd., 2009). Başka bir çalışmada rostral ventrolateral medulla (RVLM) içerisinde lokalize olan anjiotensin II reseptörlerinin rolünü belirlemek için L-NAME (70 mg/kg/gün) ile oluşturulan hipertansiyon modelinde 1 haftalık uygulama sonunda ölçülen kan basıncı değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (Bergamaschi vd., 2002). Majithiya ve arkadaşları, diyabetik sıçanlarda hipertansif model oluşturmak için 4 hafta boyunca 50 mg/kg/gün dozda L-NAME uygulama sonunda kan basıncı değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiğini belirtmişlerdir (Majithiya vd., 2005). L-NAME'in farklı dozları ile oluşturulan birçok hipertansiyon modelinde NOS inhibisyonu sonucu NO biyoyararlanımının azalması ve kan basıncında önemli artışların ortaya çıktığı bildirilmiştir (Colonna vd., 2002; Kawano vd., 2003; Talas vd., 2013). NOS inhibitörlerinin düşük dozları ile oluşturulan hipertansiyondan çoğunlukla sodyum tutulumu sorumlu iken, yüksek dozları ile oluşturulan hipertansiyondan ise daha çok total periferik direnç artışının sorumlu olduğu bildirilmiştir (Oktar vd., 2007). Çalışmamızda intraperitoneal (i.p) olarak 28 gün boyunca uygulanan L-NAME (40 mg/kg/gün) ile kronik hipertansiyon oluşturulan sıçanların 14 ve 28. günlerde ölçülen kan basıncı değerleri kontrol grubuna göre anlamlı artışlar göstermiştir. Kan basıncının yükselmesi; uygulanan L-NAME ile endotel hücrelerdeki NO üretimini düzenleyen NOS aktivitesini engelleyerek vazokonstriksiyona neden olduğu düşüncesini desteklemektedir.

Fizyolojik şartlarda canlı organizmalarda devamlı olarak oluşan reaktif oksijen ürünleri ile antioksidan sistem bir denge halindedir. Aşırı ROT üretimi ya da antioksidan defansın zayıflaması, biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açarak oksidatif strese neden olmaktadır. Hipertansiyon; sebep-sonuç ilişkisi tam olarak bilinmeyen oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan biri olup aşırı miktarda O_2^- üretimine yol açmaktadır. Ortamdaki O_2^- üretimi durdurulmadığı takdirde daha etkili bir radikal olan membran hasarları ve biyomoleküllerin yapısını bozabilen OH^- oluşumu gerçekleşir. Oksidanların zararlı etkileri endojen ve ekzojen antioksidanlar ile giderilebilir. Antioksidan maddeler etkilerini, yapılarında bulunan fenolik bileşiklerin OH grupları ile elektron donörü olarak yerine getirirler.

Çalışmada 14 gün boyunca L-NAME uygulanan deney hayvanlarına 14. günden itibaren propolis (200 mg/kg/gün), CAPE (50 μ M/kg/gün) ve polen (100mg/kg/gün) uygulanmıştır. Uygulamalar sonunda (28. gün) terapötik gruplarda kan basıncı değerleri L-NAME uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($P<0.05$).

L-NAME uygulamasına ilave olarak polen uygulanan grupta kan basıncı seviyeleri diğer terapötik madde uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. L-NAME oluşturulan NOS inhibisyonu vazokonstriksiyon ile kan basıncında artışa yol açarken, polen uygulanan grupta artan kan basıncının diğer terapötik gruplara göre anlamlı bir şekilde düşmesi, polenin güçlü bir vazodilatör madde olduğu düşündürmektedir.

Saravanakumar ve Raja'nın yaptığı çalışmada 4 hafta boyunca 40 mg/kg/gün dozda L-NAME uygulanarak hipertansif hayvan modeli geliştirilerek, antioksidan molekül olan veratrik asidin farklı dozları (20, 40 ve 80 mg/kg/gün) 4 hafta boyunca uygulanmış ve sıçanların kan basınçlarında L-NAME grubuna göre 40 mg/kg/gün dozun uygulandığı grupta anlamlı azalmalar bildirilmiştir. Kan basıncındaki düşüşün veratrik asidin antioksidan özelliğinden kaynaklandığını ifade etmişlerdir (Saravanakumar ve Raja, 2011).

Bir başka çalışmada, L-NAME (60 mg/L içme suyuna karıştırılarak, 4 hafta boyunca) ile indüklenen hipertansif sıçanlara uygulanan *Cudrania tricuspidata*'nın suda hazırlanmış ekstraktının, plazma NO konsantrasyonu belli seviyelerde tuttuğu ve vasküler dokularda koruyucu etkiye sahip olduğu azalan kan basıncı değerleri ile ortaya konulmuştur (Kang vd., 2002).

Ryu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada L-NAME uygulaması sonucu artan kan basıncını, *Saururus chinensis*'in kökünün etanolik ekstraktıyla düşürüp bu düşüşten ekstraktın inotropik ve vazorelaktant özelliği ile ilgili antihipertansif etkinin sorumlu olduğunu bildirdiler (Ryu vd., 2008).

Kadmiyum (1mg/kg/gün) ile oluşturulan hipertansif sıçanlara 15 gün boyunca intraperitoneal olarak CAPE (10µM/kg/gün) uygulaması sonucu yükselen kan basıncının düştüğü, CAPE'nin antioksidan özelliği ile kardiyak hasarı önleyerek bu etkisini ortaya çıkardığı bildirilmiştir (Mollaoğlu vd., 2006).

Talas ve arkadaşları 15 gün boyunca L-NAME ile oluşturulan akut hipertansif sıçanlara, uygulamanın son 5 günü gavaj yoluyla propolis verilmesi ile kan basıncında sadece L-NAME uygulanan gruba göre anlamlı düşüşler meydana geldiğini ve propolisin vasküler NO üretimini arttıran özelliğe sahip olduğunu belirttiler (Talas vd., 2013).

Hipertansif ajanlara ek olarak uygulanan antihipertansif özelliğe sahip birçok maddenin kullanıldığı çalışmalarda, kan basıncının bu maddelerle düşürülebildiği vurgulanmıştır (Simko vd., 2004; Nguelefack vd., 2009; Ashraf vd., 2013).

Sonuç olarak, hipertansiyon ve patolojisine bağlı ROT üretimi ve oluşturduğu hasarların önlenmesinde antioksidan moleküller oldukça etkilidir. Bizim çalışmamızda kullandığımız doğal antioksidanlardan propolis, polen ve kimyasal olarak temin edilen CAPE'nin yükselen kan basıncını düşürdüğü ve polenin kan basıncını kontrol değerlerine istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yaklaştırması sonucu,

propolis ve CAPE'den daha etkili bir vazodilatör ve antihipertansif olduğunu ortaya koymaktadır.

Hipertansiyonlu hastalar normal bireylere göre yüksek morbidite ve mortalite oranına sahiptirler. Hipertansiyon patolojisi ile serbest radikal hasarı arasında yakın ilişki olduğu çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir. Serbest radikal saldırılarına karşı organizmanın verdiği ilk savunma cevabı endojen antioksidan sistemleri ile gerçekleştirilir (Yıldız vd., 2008). PON1; LDL'nin oksidasyonunda rol oynayan proinflamatuvar molekülleri yıkarak vasküler hastalıklar ve ateroskleroz riskini azaltmaktadır. Bireyler arasında PON1 aktivitesi farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılıkların PON1 geninin kodlama bölgesindeki iki polimorfizm (192. pozisyonda Glisin→Arjinin ve 55. Pozisyondaki Metiyonin→Lösin) tarafından etkilendiği ileri sürülmektedir (Goswami vd., 2009).

Bu çalışmada NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansif sıçanlara uygulanan propolis, CAPE ve polen'nin kan, kalp ve böbrek dokularındaki PON1 aktivitesinde meydana getirdiği değişimler ortaya konmuştur. Çalışmada L-NAME verilen sıçan grubunun serum, kan ve kalp dokularındaki PON1 seviyelerinde kontrole göre anlamlı ($P<0.05$) azalmalar olduğu saptanmıştır. Literatür araştırmalarında kalp ve böbrekteki PON1 aktivitesinin serum PON1 aktivitesine göre düşük seviyelerde olduğu vurgulanmaktadır (Aviram ve Rosenblat, 2004). Bizim çalışmamızda da kalp ve böbrek dokularındaki PON1 aktivitelerinin serum PON1 seviyelerine göre daha düşük düzeylerde elde edilmesi araştırmamızın sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Yıldız ve arkadaşlarının dipper ve non-dipper hipertansiyon hastalarında yaptıkları çalışmada PON1 aktivitesi ölçülmüştür. Non-dipper hastaların PON1 aktivitelerinin sağlıklı bireylere ve dipper hastalara göre azaldığı belirtilmiştir. Serum PON1 seviyelerinin azalması ile artan oksidatif stresin kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir belirteç olduğu düşünülmektedir (Yıldız vd., 2008). Başka bir çalışmada beta talasemi hastaları ve sağlıklı bireylerde yapılan PON1 aktivitesi ölçümleri ile elde edilen sonuçlara göre, talasemi hastalarının PON1 seviyelerinin sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak azaldığı ortaya çıkmıştır. Azalan PON1 seviyelerinin oksidatif stres ve anemi ile ilişkilendirilerek beta talasemi hastalarının aterojenez gelişimine eğilimli oldukları düşünülmektedir (Selek vd., 2007). Hepatit C ile enfekte olmuş hemodiyaliz hastalarında PON1 ve lipit peroksit (LOOH) seviyeleri ölçülmüş, kontrole göre anlamlı değişimlerin olduğu, fakat PON1 ile LOOH arasında ters korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir (Horoz vd., 2007). Metabolik sendrom, hipertansiyon, diyabet, dislipidemi ve obezite gibi patolojik durumlar benzer bir hastalık seyri göstermektedir. Bu tip hastalıklar oksidatif stres ve aterosklerozun artışı ile

sonlanan durumlardır. Metabolik sendrom modeli oluşturulan farelerde artan PON1 aktiviteleri ile LDL'nin oksidasyonu önlenerek proaterojenik etkilerin ortadan kaldırıldığı ve arter plaklarının miktarının azaltıldığı gözlenmiştir (Mackness vd., 2006). Hipertansiyon ve patolojisinde PON1 aktivitesi ile ilgili değişimlerin araştırıldığı çalışmalara rastlanmıştır (Uzun vd., 2004; Barath vd., 2006; Chen vd., 2010). Yapılan bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir. Bizim çalışmamız da L-NAME grubundaki sıçanların serum, kan ve kalp dokularındaki PON1 aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı ($P<0.05$) azalmalar elde edilmiştir.

Oksijen kaynaklı radikaller ve lipit hidroperoksitlerinin birikimine sebep olan LDL'nin kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde etkili bir basamak olduğu kabul görmektedir (Camuzcuoğlu vd., 2009). LDL'nin oksidasyonu; aterosklerotik lezyon gelişimi ve köpük hücre oluşumuna sebep olmaktadır. SOD, CAT, GSH-Px ve E vitamini gibi antioksidanların LDL'yi oksidasyondan koruduğu ve ateroskleroz oluşumunu önlediği gösterilmiştir (Houston, 2005). Bu antioksidanlara ilave olarak PON1 de serbest radikal hasarından serum lipoproteinlerini oksidasyona karşı korumaktadır (Camuzcuoğlu vd., 2009). LDL'nin oksidasyonunu önleyen mekanizmalar son yıllarda artan bir ilgiye sahiptir. PON1'in, serumda HDL kolesterol ile ilişkili olduğu bilinmekte ve kesin bir bulgu olmamasına rağmen, artmış PON1 aktivitesinin yüksek HDL kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğu rapor edilmektedir (Camuzcuoğlu vd., 2009). Aynı zamanda ekzojen olarak uygulanan flavonoid antioksidanların PON1 aktivitesini %20'ye kadar arttırabileceği bildirilmiştir (Bayrak vd., 2005). Son dönem böbrek yetmezliği; aterosklerozu tetikleyen, oksidatif stres ve inflamasyon ile sonuçlanan bir durumdur. Aterosklerozun önemli basamaklarından olan monosit aktivasyonu ve infiltrasyonu HDL'nin inhibisyonuna ve LDL'nin oksidasyonuna sebep olmaktadır. Paraoksanazın yapısındaki apoA-1, HDL'ye bağlanmayı kolaylaştırarak PON1'in güçlü bir antioksidan ve antiinlamatuvar etki göstermesine imkan verir. Moradi ve arkadaşları son dönem böbrek yetmezliği olan hemodiyaliz hastalarının plazma apoA-1 ve antioksidan enzim aktivitelerinde azalmalara bağlı monositlerin aktivasyonunda artış olduğunu bildirdiler. Hemodiyaliz hastalarına 8 hafta boyunca antioksidan kokteyli (E vitamini, C vitamini, B6 vitamini, B12 vitamini ve folik asit) uyguladıktan sonra PON1 seviyelerinde anlamlı bir değişimin olmadığını tespit ettiler. Böbrek hastalarında antioksidan terapinin hemodiyaliz hastalarındaki anormalliklerin önlenmesinde etkili olmadığını gördüler (Moradi vd., 2010). Jarvik ve arkadaşları bayan hastaların diyetlerine doğal antioksidan moleküller olan C vitamini ve folik asit eklenmesinin PON1 aktivitesini arttırdığını rapor etmişlerdir (Jarvik vd., 2002).

Bir başka çalışmada Jesup ve arkadaşları LDL oksidasyonunun endojen lipofilik antioksidan yapılı bileşiklerin (E vitamini, beta-karoten ve likopen vb.) düzeylerinde azalmalardan sonra başladığını bildirmişlerdir (Jessup vd., 1990). Sıçanlarda CCl₄ ile deneysel olarak oluşturulmuş karaciğer hasarı sonucu plazma paraoksonaz ile arilesteraz enzim düzeyleri üzerine soy izoflavonların etkilerini araştırmak için yapılan çalışmada; soy izoflavonların antioksidatif özellikleri ile birlikte CCl₄'ün meydana getirdiği oksidatif hasarı önlemede paraoksonaz gibi antioksidan özelliğe sahip enzimlerin aktive edilmesinde etkili olduğu bu çalışmada vurgulanmıştır (Üstündağ vd., 2005). L-NAME ile oluşturulmuş hipertansif sıçanlara uygulanan propolis, CAPE ve polen; serum PON1 aktivitelerinde önemli artışlar ($P<0.05$) meydana getirmiştir. Kalp dokusu PON1 seviyeleri L-NAME grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalırken ($P<0.05$), antioksidan takviyesi yapılan gruplar HT grubu ile karşılaştırıldığında; CAPE ilavesi yapılan grubun PON1 aktivitesinde anlamlı bir değişimin olmadığı ($P>0.05$), propolis ve polen verilen grupların PON1 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı artış ($P<0.05$) gösterdiği belirlenmiştir. Böbrek dokusu HT grubu PON1 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($P<0.05$). Propolis, CAPE ve polen ilavesi yapılan grupların PON1 aktiviteleri, HT grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışlar ($P<0.05$) gözlenmiştir. Bu sonucun; arı ürünlerindeki 300'den fazla fenolik bileşikler ve biyoflavanoidlerin yarattığı sinerjik etkiden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çeşitli patolojik durumlarda PON1 aktivitesinde meydana gelen azalmaların antioksidan takviyesi ile arttırılabildiği bazı araştırmalarla ortaya konulmuştur (Sözmen vd., 2001; Negre-Salvayre vd., 2006; Kılıç vd., 2007; Deakin vd., 2011).

Vücudun genel antioksidan/oksidan durumu, total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) durumun ölçümü ile kolay bir şekilde değerlendirilebilmektedir (Kurban vd., 2010). Toker ve arkadaşları hipertansif ve normotansif hastaların TAS ve TOS değerlerini ölçerek hipertansif hastaların normotansiflere göre TAS değerlerinde azalmaların olduğunu, TOS değerlerinde ise anlamlı artışların meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada hastaların kan basınçları ile TAS ve TOS sonuçları arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığını belirttiler. TOS düzeylerindeki artışın ise hipertansiyon sonucu oluşan oksidatif strese kaynaklandığını bildirdiler (Toker vd., 2013). Yıldız ve arkadaşlarının dipper ve non-dipper hipertansiyon hastalarında yaptıkları çalışmada oksidatif stres belirteçleri olan TAS ve TOS ölçümleri yapılmıştır. Non-dipper hastaların TAS değerleri kontrole ve dipper hastalara göre azalırken, TOS'un anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir. TAS değerlerinin azalması ile artan oksidatif stresin kardiyovasküler

hastalıkların gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir belirteç olduğunu öne sürmüşlerdir (Yıldız vd., 2008). Bir başka çalışmada esansiyel hipertansiyonu olan hastalarda TAS, lipid peroksidasyonu (LP), tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS), NOx ve LP/NOx oranı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hipertansif hastalarda TBARS ve NOx'de anlamlı artışların olduğu, TAS ve TBARS/NOx oranında ise anlamlı bir değişimin olmadığı bildirilmiştir. Bu parametrelerin hiçbirinin kan basıncı değerleri ya da metabolik parametrelerle anlamlı bir ilişki içerisinde olmadığı vurgulanmıştır. Hipertansiyon ile oluşan klinik duruma inflamasyonun eşlik ettiği ve ayrıca artan NOx ve LP seviyelerinin azaltılabilmesi için tedavi amaçlı antihipertansif ve antioksidan ajanlar önerilmiştir (Caimi vd., 2010). Çalışmamızda, hipertansiyon ile meydana gelen oksidasyon sonucu TAS değerleri ve TOS-OSİ değerleri arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir. L-NAME uygulanan grubun kan, kalp ve böbrek dokularında TAS sonuçları kontrol grubu verilerine göre anlamlı ($P<0.05$) olarak azalmıştır. Bizim sonuçlarımız yapılan diğer araştırmaların verileri ile paralellik göstermektedir (Yıldız vd., 2008; Toker vd., 2013) Plazma antioksidanları TAS'a en çok katkı sağlayan moleküller arasında yer almaktadır. Plazmada bilirubin, transferrin, seruloplazmin, ürik asit, E vitamini ve C vitamini gibi moleküllerin yanı sıra serbest radikal tutucu özellikleri olan antioksidan moleküller de bulunmaktadır (Kiely vd., 1999). İnsan plazmasındaki TAS'ın büyük çoğunluğu albumin, ürik asit, askorbik asitten oluşturmaktadır. Bu çoğunluğun sebebi kanda bulunan albumin, ürik asit ve C vitamini düzeylerinin; bilirubin, glutatyon, çeşitli flavinoidler, E vitamini ve A vitamini gibi antioksidan moleküllere göre daha fazla olmasıdır (Korkmaz vd., 2001). Antioksidan savunma sistemleri tek başlarına yaptıkları etkiler haricinde başka antioksidan moleküller ile sinerjik etkiler ve ilişkiler ağı da oluşturabilirler. Örneğin; C vitamini ve glutatyon, E vitamininin rejenerasyonunu sağlayarak; ürik asit ise C vitaminin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki göstermektedir. Bu suretle antioksidan durumun belirlenmesinde, her antioksidan molekül için ayrı ölçüm yapılmasının yanı sıra çeşitli antioksidanların ortak etkilerinin ölçümüne dayalı yani 'total antioksidan kapasite' nin belirlenmesinin daha doğru olacağı düşünülmektedir (Polidori vd., 2001). Digiesi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; esansiyel arteriyel hiperansiyondaki oksidatif stresin derecesini belirlemek için, plazma malondialdehit, serbest radikal ve diğer reaktif oksijen türleri, E vitamini seviyeleri ve TAS değerleri belirlenmiştir. Sağlıklı bireylere göre hipertansiyon hastalarında lipid peroksidasyon ürünleri ve ROT düzeylerinde anlamlı artışların olduğu bildirilmiştir. E vitamini ve TAS değerlerinde anlamlı bir değişimin olmadığı vurgulanmıştır. Bu sonuçlar ile hipertansiyon hastalarının normal antioksidan

savunma sistemlerine sahip olmalarına rağmen, oksidatif strese normotansiflerden daha eğilimli oldukları, bunun nedeninin ise NO ve prostasiklin inaktivasyonundan kaynaklanabileceği ortaya konulmuştur (Digiesi vd., 1997). Başka bir çalışmada hipertansiyon hastalarında meydana gelen oksidatif stres ile kan basıncı artışı, lipit peroksidasyonu, NO-süperoksit üretimi ve TAS değerleri üzerine sarımsağın antioksidan özellikleri incelenmiştir. Hastalara verilen sarımsağın kan basıncını ve lipit peroksidasyon seviyelerini anlamlı olarak azalttığı, vitamin ve TAS verilerinde ise anlamlı artışların meydana geldiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre sarımsağın oksidatif strese karşı etkili bir antioksidan olduğu, ayrıca antihipertansif ve kardiyoprotektif özellik gösterdiği de tespit edilmiştir (Dhawan ve Jain, 2005).

Bizim çalışmamızda da hipertansif sıçanlara uygulanan propolis, CAPE ve polenin patolojik durum sonucu üretilen serbest radikallerin oluşumu ile artan TOS değerlerini sadece L-NAME uygulanan gruba göre anlamlı bir şekilde düşürürken, antioksidan maddelerin uygulanması ile TAS değerlerinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir. Dokulardaki en çok TAS artışının propolis ilave edilen grupta saptandığı bunun sebebinin ise, içeriğindeki zengin fenolik bileşik çeşitliliğinden olduğu düşünülmektedir. Antioksidan takviyesi ile TAS değerleri arasında pozitif korelasyon gözlenirken TOS ve OSİ verileri ile negatif korelasyon saptanmıştır. Bu sonuçlar hipertansiyon gibi patolojik durumlarda antioksidan kapasiteyi arttırmanın, oksidan hasarı azaltmada önemli katkılar sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

Endojen NOS inhibitörü olan ADMA'nın endotel disfonksiyonda ve kardiyovasküler hastalıkların patojenitesinde bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir. eNOS'un inaktive olması sonucu endojen eNOS inhibitörü olan ADMA'nın plazmada yüksek seviyelere ulaştığı vurgulanmıştır (Cooke, 2005). NOS aktivitesindeki değişimlerde ADMA'nın önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir (Krzyzanowska vd., 2008). NOS aktivitesinin ADMA ile inhibisyonu sonucu NO sentezi yapılamamakta ve vazodilatör etki ortadan kalkarak çeşitli patolojik durumların gelişmesine sebep olmaktadır. ADMA seviyelerinin arttığı birçok durum söz konusudur. Bu durumlardan biride hipertansiyondur. Hipertansif ve normotansif hastalardaki endotelium bağımlı vazodilasyon ve plazma ADMA seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştıran Perticone ve arkadaşları, hipertansif bireylerin plazma ADMA ve L-arjinin seviyelerinin normotansiflere göre daha yüksek düzeyde olduğunu bildirdiler. Elde ettikleri bulgulara göre esansiyel hipertansiflerin L-arjinin ve ADMA seviyelerinin endotel disfonksiyonu ile zıt korelasyon gösterdiğini ortaya koydular (Perticone vd., 2005).

Korandji ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada, fruktoz ile hipertansif yapılan sıçanların ADMA seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli artışlar gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgulara göre, hipertansiyonda ADMA seviyelerinin artışına oksidatif stres gelişiminin önemli katkısının olabileceğini bildirdiler (Korandji vd., 2012). Ueda ve arkadaşları kronik böbrek hastalığının (KBH) ilerlemesinde ADMA'nın önemli bir belirteç olduğunu bildirdiler. Yapılan çalışmada oluşturulan KBH sıçan modelinde ADMA seviyelerinin; glomerüler sklerozisde olduğu gibi glomerüler kapiller sayısında meydana gelen azalma ile ilişkili olabileceğini ifade ettiler (Ueda vd., 2009). Benzer bir çalışmada, adiponektin salınımı bozukluğu ile insülin direncinin esansiyel hipertansiyona yol açabileceği, endotel disfonksiyonu ile ilişkisi olan insülin direncinin de ADMA seviyelerinde artışa sebep olabileceği bildirilmiştir (Zizek vd., 2013). Pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) ile ortaya çıkan konjenital kalp hastalıkları (KKH) önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir. Çalışmada PAH ile oluşan KKH ve PAH ile ilişkilendirilmemiş KKH olan bireylerdeki hemodinamik bulgular ve plazma homosistein, ADMA, NO seviyeleri araştırılarak; homosistein ve ADMA düzeylerinin PAH-KKH hastalarda kontrol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir (Şanlı vd., 2012). Hipertansiyonun yol açtığı çeşitli patolojik durumlarda farklı dokularda meydana gelen disfonksiyonların ADMA seviyelerini arttırdığı ile ilgili benzer bulgulara rastlanmaktadır (Wilcken vd., 2007; Schuster vd., 2012; Serna vd., 2013). Bizim çalışmamızda da L-NAME uygulanan deney hayvanlarının ADMA seviyeleri serum, kalp ve böbrek dokularında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak artış ($P<0.05$) göstermiştir. Yapılan çalışmaların sonuçları ile bizim bulgularımız arasında paralellik söz konusudur (Perticone vd., 2005; Korandji vd., 2012; Schuster vd., 2012).

Yaptığımız çalışmada NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon sonucu yükselen ADMA düzeylerinin, antioksidan aktivitelere sahip oldukları bilinen propolis, CAPE ve polen uygulaması ile azaltılabileceği düşünülmüştür. Elde edilen bulgular uygulanan antioksidan maddelerin ADMA seviyelerinde HT grubuna göre anlamlı azalmaların olduğunu ($P<0.05$) göstermiştir. Schmitt ve arkadaşlarının ADMA metabolizması, oksidatif stress ve hiperhomosisteinemi arasındaki bağlantıyı gösterdikleri bir çalışmada, kardiyovasküler risk belirteci olan ADMA seviyelerinin B vitamini ve antioksidanlar ile düşürülebileceği üzerine bir hipotez oluşturulmuştur. Elde ettikleri istatistiksel verilerle, kardiyovasküler hastalıklarda antioksidan takviyesinin ADMA seviyelerinin azaltılmasında yeterli bir strateji olmadığı tespit edildi (Schmitt vd., 2007). Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızın verileri ile uygunluk göstermemekle birlikte, bunun sebebinin uygulanan

antioksidanların niteliği, dozu, süresi ve içeriği ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Başka bir çalışmada Goralczyk ve arkadaşları kardiyovasküler hastalıklarda meyve, sebze, çay ve kahve tüketiminin ADMA ile ilişkisini araştırmışlar, sonuç olarak; sebze ve çay tüketiminin ADMA seviyeleri ile zıt korelasyon gösterdiği, meyve tüketiminin ADMA seviyelerinde herhangi bir istatistiksel değişime sebep olmadığı, kahve tüketiminin ADMA düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini bildirdiler. Aşırı çay ve sebze tüketiminin orta yaştaki sağlıklı insanlarda ADMA seviyelerinde azalma meydana getirdiğini ortaya koymuşlardır (Goralczyk vd., 2011). Bu azalmanın sebebi olarak; çay ve sebze'nin içeriğindeki fenolik bileşiklerin miktarının fazla olması ve elektron donörlüğü üstlenerek oluşan oksidatif stresi ortadan kaldırabildiği gösterilebilir. Bu araştırmanın sonuçları da bizim çalışmamızın verilerini destekler nitelikte olmaktadır. Jabecka ve arkadaşları hipertansiyonlu hastaların endotel fonksiyonlarını geliştirmek için yeni ve etkili bir strateji olarak hastalara ekstra olarak L-arjinin uygulaması yaparak ADMA ve TAS değerlerini belirlediler. Hastalara verilen L-arjinin ile TAS ve plazma arjinin-sitrülin seviyelerinin arttığını saptamışlardır. L-arjinin takviyesi ile 28 gün sonra yapılan ölçümlerde ADMA seviyelerinde azalmalar tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, L-arjinin konsantrasyonlarında artışlarla NO biyosentezinin stimüle edilmesi ve buna paralel olarak oksidatif stresin azaltılması ve antioksidan savunma sisteminin desteklenmesi olarak değerlendirilebilir. Ayrıca L-arjinin takviyesi ile plazma ADMA seviyelerindeki azalma şeklinde gözlenen ilişki negatif korelasyonu doğrulamaktadır (Jabecka vd., 2012).

ROT, Nükleer Faktör-kappa B (NF- κ B)'yi aktive ederek kinazların etkinliğinde değişimler meydana getirip pek çok doku ve organ hasarına sebep olmaktadır (Salminen vd., 2008). NF- κ B proteinleri normal şartlarda sitoplazma içerisinde inaktif halde bulunup; bakteriyel ürünlerin artışı, oksidatif stres ve protein sentez inhibitörleri ile aktiveleşebilir. NF- κ B'yi aktiveştiren moleküllerin çoğu süperoksit, hidrojen peroksit ve lipooksijenaz gibi endojen oksijen ürünlerinin üretimini tetikler (Haddad ve Abdel-Karim, 2011). Bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B, immün sistemin korunmasında, inflamatuvar yolların düzenlenmesinde ve apoptoziste önemli rol oynamaktadır (Cansino vd., 2011).

Leychenko ve arkadaşları, hipertansiyon ve miyokardiyal infarktüsü hipertrofinin başlaması ile ilişkilendirmişlerdir. Vasküler endotelial gelişim faktörlerinin üretimi mekanik gerilmenin düzenlenmesinde anjiyogenik bir hareket göstermektedir. Gerilim ile indüklenen vasküler endotelial faktörlerinin salınımının NF- κ B aktivasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bu bulgular hipertansiyon ve kalp hastalıklarında inflamasyon cevabı olarak NF- κ B aktivasyonunun arttığını göstermektedir (Leychenko vd., 2011). Bir

başka çalışmada, hipertansiyon oluşumunda önemli moleküller olan anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve enalapril, AT-II reseptör inhibitörleri ve losartan uygulaması ile sıçan böbrek dokularında inflamatuvar cevabın indüklenerek NF-κB aktivasyonu ve oksidatif stresi baskıladığı bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlar enalapril ve losartanın oksidatif stres ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu inhibe ederek inflamatuvar cevabı baskıladığını göstermektedir (Kim vd., 2011). Li ve arkadaşları sıçanlarda aortik bantlama ile oluşturulan hipertrofik kalp modelinde NF-κB aktivasyonunun arttığını belirttiler. Aynı çalışmada adenovirüs aracılı gen veya antioksidan tedavisi ile NF-κB aktivasyonunun spesifik inhibisyonu sonucu miyosit hipertrofisi gelişiminin azaltılabileceğini de vurguladılar (Li vd., 2004). Hipertansiyonun yanısıra farklı patolojik durumlarda ve özellikle kanser çalışmalarında oksidatif stres kaynaklı inflamasyon ile aktive olmuş NF-κB, bu durumlar için önemli bir belirteç olarak bir çok araştırmada yer almaktadır (West, 2010; Himadri vd., 2010; Aras vd., 2010; Sangeetha vd., 2011). Yaptığımız çalışmada da L-NAME ile hipertansif yapılan sıçanlarda meydana gelen inflamasyona cevap olarak çalışılan tüm dokularda NF-κB aktivasyonu gerçekleştiği ve HT grubunda kontrole göre anlamlı artışların olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla çalışmamızın bulguları yapılan diğer çalışmalarla da uygunluk göstermektedir (Li vd., 2004; Leychenko vd., 2011; Kim vd., 2011). Antioksidanlar *in vitro* koşullarda birçok hücrede NF-κB aktivasyonunu önlemektedir. Vücutta endojen olarak üretilen antioksidanlar da hücreyi oksidan hasarına karşı korurlar (Hekimoğlu, 2010).

Moreira ve arkadaşları kısmi portal ven ligasyonu ile oluşturulan deneysel portal hipertansif gastropatide NF-κB'nin aktivasyonu ve oksidatif stres üzerine kuarsetinin etkilerini araştırdılar ve hipertansif sıçanlarda portal basıncın önemli şekilde arttığını gözlediler. Bununla birlikte gastrik mukozadaki SOD aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığını tespit ettiler. Hipertansiyonla birlikte NF-κB aktivasyonu artış gösterirken NOS ve IκB protein seviyeleri azalma göstermiştir. Kuarsetin takviyesi ile oksidatif stres ve NF-κB'nin inhibe edildiği bildirilmiştir. IκB'nin azalması ve iNOS protein inhibisyonunun kuarsetin tarafından kısmen önlendiğini de vurgulamışlardır. Kuarsetin tedavisi NF-κB sinyal yollarının engellenerek hipertansiyon patogenezi ile ilgili olarak ekzojen zararlarının üretimini de bloke edebileceğini gösterdiler (Moreira vd., 2004). Song ve arkadaşları da bir ağrı semptomunun gelişimi ile kronik inflamasyonda propolisin etanolik ekstraktının antiinflamatuvar etkisini rapor ettiler. Ancak antiinflamatuvar etkinin mekanizması tam olarak açık değildir. L-NAME uygulanması ile NOS inhibisyonu sonucu NO düzeylerinde azalma, NF-κB seviyelerinde ise artış olduğunu gösterdiler. Propolis

takviyesi ile birlikte NF- κ B konsantrasyonlarında azalmaların olduğunu tespit ettiler. Bu sonuçlar iNOS'un katalitik aktivitesinin direk olarak inhibisyonu ve iNOS'un promotör bölgesindeki NF- κ B üzerine hareketi ile iNOS gen ekspresyonunu inhibe ederek antiinflatuvar etki gösterebileceğini düşündürmektedir (Song vd., 2002). Likopen, güçlü karotenoid antioksidanlardan biridir. Likopen ile kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalık riski arasında negatif korelasyonun olduğu bilinmektedir. Likopenin; NO, interlökinler, TNF- α , siklooksijenaz ve NF- κ B gibi proinflatuvar moleküllerin inhibisyonuna bağlı olarak antiinflatuvar etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Lee vd., 2008; Herzog vd., 2005).

CAPE, özgül olarak NF- κ B'yi ve oksijen radikallerini inhibe ederek inflamatuvar yolağın işlemlerini önlemektedir. Reaktif oksijen radikalleri, başlıca araşidonik asit yolağından, ksantin oksidaz sisteminden ve aktive olmuş nötrofillerden üretilirler. Serbest radikaller ayrıca hücre içi ve nükleer sinyal yollarını etkileyerek apoptozise yol açabilirler. Bunu önlemek amacıyla vücutta çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır (Özbalcı, 2007). Bizim çalışmamızda, NOS inhibisyonu ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda meydana gelen inflamasyon ile artan NF- κ B düzeyleri; propolis, CAPE ve polen takviyeleriyle inflamasyon yolları inhibe edilerek inflamasyonun engellenebildiği düşünülmektedir. Terapötik gruplar arasında en iyi inflamasyon önleyici ajan CAPE olarak belirlenmiştir. CAPE; NOS inhibisyonu sonucu ortaya çıkan SOD aktivitesindeki azalmaları engelleyerek etkinliğini göstermektedir. CAPE, iNOS üzerindeki NF- κ B bağlantı noktalarını bloke ederek iNOS aktivitesindeki azalmaları engelleyebilmektedir (Kumbul, 2007).

Hipertansiyon ile meydana gelen kan basıncı artışı çeşitli kardiyovasküler ve renal hastalıklara yol açmaktadır. Çalışmamızda, L-NAME ile oluşturulan hipertansif sıçanlara uygulanan antioksidan moleküller kan basıncının düşmesini sağladı. Yapılan çalışmada antioksidan moleküller arasında polenin; propolis ve CAPE'ye göre kan basıncının düşmesinde daha etkili antihipertansif bir molekül olduğu saptandı. Araştırma sonucunda hipertansiyon tedavisinde kullanılan ve çok sayıda olumsuz fizyolojik yan etkileri ve ülke ekonomisine olumsuz katkılarından dolayı, sentetik ajanların kullanımına oranla doğal arı ürünü olan polenin kullanımını tavsiye edebiliriz. Bu araştırma, L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlara uygulanan propolis, onun en etkili bileşeni olan CAPE ve polen uygulamaları sonucu PON1 aktivitelerinde meydana gelen değişimlerin araştırıldığı ilk çalışmadır. Sonuç olarak; lipid metabolizmasındaki değişikliklerin yanı sıra NOS inhibisyonu ve oksidatif stres sonucu gelişen PON1 aktivitelerindeki azalmalar; hipertansiyon ile

ateroskleroz ilişkisinde, böbrek fonksiyon bozukluklarının gelişiminde de önemli rol oynamaktadır. PON1 aktivitesinin düşük seviyelerde tespit edilmesinin hastalığın klinik seyri ve tedavisi için erken teşhis açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir. Antioksidan takviyesi yapılmadan önce hipertansif sıçanların PON1 aktiviteleri çalışılan tüm dokularda düşük seviyelerdeyken, antioksidan uygulamalar sonrasında, antioksidan moleküllerin PON1 aktivitesinde artışa katkı sağladığı gözlenmiştir. Hipertansiyonlu hastalarda PON1 aktivite düzeyleri incelenerek; hipertansiyonun teşhis ve tedavi prosedürünün belirlenmesi için yapılan laboratuvar çalışmalarının, klinik çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. Antioksidan savunma sistemindeki aksaklıklar, hücre ve dokuları hastalık geliştirmeye daha yatkın hale getirmektedir. Bu durumda, pekçok hastalığın oluşması veya oluşumunun hızlanması gerçekleşmektedir. TAS ölçümü ile vücudun antioksidan savunma düzeyi belirlenebilir ve böylece hastalık risklerinin ve hastalıkların önlenmesi için bazı stratejilerin geliştirilmesi ve antioksidan bileşiklerce zengin besinler alınımı ile bazı hastalıkların önlenmesi ve dokularda TAS düzeylerinin arttırılabilmesi mümkündür. Çalışmamızda, hipertansiyon ile artan TOS seviyelerinin, uyguladığımız antioksidan moleküler ile azaldığı ve bununla birlikte TAS seviyelerinde de önemli artışların olduğunu tespit ettik. ADMA'nın hipertansiyon patofizyolojisinde tetikleyici bir faktör mü, yoksa hastalık tam olarak geliştikten sonra ortaya çıkan bir faktör mü olup olmadığı konusunda tartışmalar devam etmektedir. Elde edilen literatür bilgileri hem hastalığın patofizyolojisinde rol oynadığı hem de hastalık ortaya çıktıktan sonra tetikleyici bir faktör olduğu yönündedir. Özellikle kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere kan basıncındaki artışlarla ilgili birçok hastalık için de bir belirteç olabilir düşüncesi yer almakla birlikte bu konularda daha aydınlatıcı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Yaptığımız çalışma ile antioksidan uygulamaların ADMA seviyelerinin düşürülmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Hipertansiyon oluşum mekanizmasında, ADMA'nın yapım ve yıkımında görev alan enzimlerin aktiviteleri ölçülerek ADMA'nın rolü daha net anlaşılabilir. Bununla birlikte gelecekte hipertansiyon patofizyolojisi iyice aydınlatıldıktan sonra ADMA seviyelerini düşürücü ve risk faktörlerini azaltıcı tedavilerin üzerinde daha kapsamlı araştırmalar yapılabilir. Hipertansiyon ve bazı inflamatuvar hastalıklarda genetik ve çevresel faktörlerin birbirleriyle olan ilişkileri, hastalık patogeneğinde önemli rol almaktadır. Özellikle genlerin spesifik transkripsiyon faktörleri; genetik ve çevresel faktörlerle ilişkili olarak inflamatuvar cevapta önemli rol almaktadır. Bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B; enfeksiyona karşı doğal ve kazanılmış immün cevapla birlikte inflamatuvar yanıtta da çok çeşitli gen ekspresyonunun düzenlenmesinde anahtar rol

oynayan bir moleküldür. Son dönemlerde yapılan çalışmalar NF- κ B'nin aktivasyonunu inhibe etmek ve NF- κ B inhibitörlerinin geliştirilmesi şeklindedir. Hipertansif hastalara uygulanan antiinflamatuvar ilaçların, etkilerinin spesifik olmadığı ve uzun süre kullanımlarının da immün sistemin baskılanması gibi yan etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Anti-NF- κ B terapilerinin en önemli avantajı, birçok inflamatuvar medyatörün ekspresyonlarının eş zamanlı olarak inhibe edilebilir olmasıdır. Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar; hipertansif sıçanlara propolis, CAPE ve polen uygulanması ile NF- κ B nötralizasyonu sonucu daha etkili antiinflamatuvar tedavi yöntemlerinin geliştirilebileceği, antioksidan sistemin gelişmesine katkı sağlayabileceği, kan basıncının düşürülmesinde olumlu katkılar gösterebileceği fikrini ortaya koymakla birlikte hipertansiyon ve hipertansiyona bağlı gelişen hastalıkların oluşumunun ve ilerlemesinin önlenmesinde doğal arı ürünleri gibi spesifik antioksidanların uygulanmasının sağlık açısından ve ekonomik olarak daha etkili ve verimli olabileceğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

- Abir, T., Rahman, B., D'Este, C., Farooq, A. and Milton, A.H., "The association between chronic arsenic exposure and hypertension: A meta-analysis", **Journal of Toxicology** 13, 2012.
- Abraham, E., "NF- κ B activation", **Critical Care Medicine** 28(4), 100-104, 2000.
- Achan, V., Ho, H.K., Heeschen, C., Stuehlinger, M., Jang, J.J., Kimoto, M., Vallance, P. and Cooke, J.P., "ADMA regulates angiogenesis genetic and metabolic evidence", **Vascular Medicine** 10, 7-14, 2005.
- Ağaçhan, B., Yılmaz, H., Karaali, Z. and İşbir, T., "Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus", **Cell Biochemistry and Function** 22, 163-168, 2004.
- Ağaçhan, B., Yılmaz, H., Ergen, H.A., Karaali, Z.E. and İşbir, T., "Paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and its effects to oxidant-antioxidant system in turkish patients with type 2 diabetes mellitus", **Physiological Research** 54, 287-293, 2005.
- Akkuş, İ.. Serbest Radikaller ve Fizyo-patolojik Etkileri, **Mimoza Yayınları**, Konya. 1995.
- Akyol, S., Armutçu, F., and Yiğitoğlu, M.R., "The medical usage of Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape), an active compound of propolis, in neurological disorders and emergencies. **Spatula DD**. 1 (1), 37-42, 2011.
- Albukhari, A.A., Gashlan, H.M., El-Beshbishy, H.A., Nagy, A.A. and Abdel-Naim, A.B., "Caffeic acid phenethyl ester protects against tamoxifen-induced hepatotoxicity in rats", **Food and Chemical Toxicology** 47, 1689-1695, 2009.
- Aldridge, W.N., "Serum esterases. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination", **Biochemical Journal** 53, 11, 1953.

Anadol, Z., Hipertansif Hastalarda İlaç Uyumu ve Hastanın Yaşamına Etkileri, Uzmanlık Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilimdalı*, Aydın, 2008.

Aras, B., Tuğcu, V., Eren, G., Mutlu, B., Uhri, M., Özbek, E. and Taşçı, A.İ., “Protective effect of pyrrolidine dithiocarbamate on kidney tissue in streptozotocin-induced diabetic rats”, *Turkish Journal of Urology* 36(2), 167-175, 2010.

Arribas, S.M., Hinek, A. and González, M.C., “Elastic fibres and vascular structure in hypertension”, *Pharmacology & Therapeutics* 111, 771–791, 2006.

Arteriyel Hipertansiyon Tedavisi 2007 Kılavuzu. Avrupa Hipertansiyon Derneği (ESH) ve Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) Arteriyel Hipertansiyon Tedavisi Görev Grubu. *Türk Kardiyoloji Derneği* 3, 2007.

Ashraf, R., Khan, R.A., Ashraf, I. and Qureshi, A.A., “Effects of *Allium sativum* (Garlic) on systolic and diastolic blood pressure in patients with essential hypertension”, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* 26(5), (859-863), 2013.

Aslan, M., Horoz, M., Gür, M., Erel, Ö. and Selek, Ş., “Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor”, *Clinical Biochemistry* 40, 287–291, 2007.

Aslan, M., Kösecik, M., Horoz, M., Selek, S., Çelik, H. and Erel, Ö., “Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia”, *Atherosclerosis* 191, 397-402, 2007.

Atik, E., Görür, S. and Kiper, A.N., “The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on histopathological changes in testicular ischemia-reperfusion injury”, *Pharmacological Research* 54, 293-297, 2006.

Aubo, C., Senti, M., Marrugat, J., Tomas, M., Vila, J., Sala, J., Masia, R., “Risk of myocardial infarction associated with Gln/Arg 192 polymorphism in the human paraoxonase gene and diabetes mellitus”, The REGICOR investigators. ***European Heart Journal*** 21, 33-38, 2000.

Aviram, M. and Rosenblat, M., “Paraoxonases 1, 2, And 3, Oxidative Stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 37(9), 1304-1316, 2004.

Aviram, M., Rosenblat, M., Billecke, S., Erogul, J., Sorenson, R., Bisgaier, C.L., Newton, R.S. and Du, B.L., “Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 26(7-8), 892-904, 1999.

Babalık, E., “Hipertansiyon Patofizyolojisi”, ***Klinik Gelişim*** 18(2), 25-32, 2005.

Bakris, G.L. and Ritz, E., “On behalf of the World Kidney Day Steering Committee. The message for World Kidney Day 2009: hypertension and kidney disease: a marriage that should be prevented”, ***Journal of the American Society of Hypertension*** 3(2), 80–83, 2009.

Baltan, G.H., Brown, R., Calcaianu, G., Callias, A., Contreras, E., Conway, L., Cozma, F., Essen, L.E., Grotz, W.O., Hayes, L.J., Hernuss, P., Ioyrish, P., Johnson, N., Korchemny, R., Leander, G., Liebold, G., Osmanagic, I., Pokrajcic, L., Robinson, W., Saenz, A., Salajan, G., Scheer, J.F., Schmidt, H.W., Schmidt, S., Soliman, A., F.A. Soliman/Responsible editor/writer Anthony di Fabio. “Bee Pollen: The Perfect Food”, Foundation for Eradication of Rheumatoid Disease AKA The Arthritis Trust of America ®, August/September 878, 1993.

Bankova, V., “Recent trends and important developments in propolis research”, ***Evidence Based Complementary Alternative Medicine*** 2, 29-32, 2005.

Bankova, V., Dyulgerov, A., Popov, S., Evstatieva, L., Kuleva, L., Pureb, O. and Zamjansan, Z., "Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenoli compounds and plant origin", **Apidologie** 23, 79-85, 1992.

Bankova, V.S., Castro, S.L. and Marcucci M.C., "Propolis: recent advances in chemistry and plant origin", **Apidologie** 31, 3-15, 2000.

Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., Huertas, A.A.G. and Kadota, S., "Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China", **Journal of Ethnopharmacology** 72, 239-246, 2000.

Banskota, A.H., Tezuka, Y. and Kadota, S., "Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis", **Phytotherapy Research** 15, 561-571, 2001.

Barath, A., Nemeth, I., Karg, E., Endreffy, E., Bereczki, C., Gellen, B., Haszon, I. and Turi S., "Roles of paraoxonase and oxidative stress in adolescents with uraemic, essential or obesity-induced hypertension", **Kidney and Blood Pressure** 29(3), 144-51, 2006.

Baydar, H. ve Gürel, F., "Antalya doğal florasında bal arısı (*Apis mellifera*)' nın polen toplama aktivitesi, polen tercihi ve farklı polen tiplerinin morfolojik ve kalite özellikleri", **Turkish Journal of Agriculture and Forestry** 22, 475-482, 1998.

Bayrak, T., Bayrak, A., Demirpençe, E. ve Kılınç, K., "Yeni bir kardiyovasküler belirteç aday: Paraoksonaz", **Hacettepe Tıp Dergisi** 36, 147-151, 2005.

Bayram, A., Akyol, E., Yeninar, H. ve Öztürk, C., "Bal arılarında (*Apis Melifera* L.) Polen toplama süresinin koloni gelişimi ve bal üretimine etkisi", **Uludağ Arıcılık Dergisi** Şubat, 2004.

Baum L, N.H.K., Woo, K.S., Tomlinson, B., Rainer, T.H., Chen, X., Cheung, W.S., Chan, D.K., Thomas, G.N., Tong, C.S. and Wong, K.S., "Paraoxonase 1 gene Q192R polymorphism affects stroke and myocardial infarction risk", **Clinic Biochemistry** 39, 191-5, 2006.

Beauparlant, P. and Hiscott, J., “Biological and biochemical inhibitors of the NF- κ B/Rel proteins and cytokine synthesis”, *Cytokine and Growth Factor Reviews* 7 (2), 175-190, 1996.

Bergamaschi, C.T., Biancardi, V.C., Lopes, O.U. and Campos, R.R., “Effects of angiotensin blockade in the rostral ventrolateral medulla on maintenance of hypertension induced by chronic L-NAME treatment”, *Brain Research* 927, 195-199, 2002.

Bilen, Ç., “Paraoksonaz enziminin glutaraldehit ile immobilizasyonu ve bazı ağır metallere karşı afinitesinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Kimya Anabilimdalı*, Balıkesir, 2009.

Biray, Ç., Gündüz, C., Yılmaz, B., Sahin, F. ve Topçuoğlu, N., “Propolis ve etken maddeler olan Kafeik Asit Fenetyl Ester (CAPE) ve Sinamik asitin, insan T hücreli akut lenfoblastik lösemi hücre dizisi (CCRF-CEM)’de sitotoksik ve apoptotik etkinliğinin değerlendirilmesi”, *Ege Tıp Dergisi* 45(2), 83-92, 2006.

Boots, A.W., Haenen, G.R.M.M. and Bast, A., “Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical”, *European Journal of Pharmacology* 585, 325-337, 2008.

Boreas, A.M.H.P., Lodder, J., Kessels, F., Leeuw, and Troost, J., “Predictors of poststroke blood pressure level and course”, *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 10 (2), 85-91, 2001.

Buğdaycı, G. ve Serin, E., “Asimetrik Dimetilarginin (ADMA)”, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2, 36-41, 2005.

Bunag, R.D. and Butterfield, J., “Tail-cuff blood pressure measurement without external preheating in awake rats”, *Hypertension* 4, 898-903, 1982.

Burdock, G.A.. “Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis)”, *Food and Chemical Toxicology* 36, 347-363, 1998.

Bülbül, A., ve Soylu, S.M. “Nitrik oksitin kalp damar sistemi üzerine Etkileri”, ***Veteriner Hekim Derneği Dergisi*** 79(2), 49-54, 2008.

Caimi, G., Mule, G., Hopps, E., Carollo, C. and Lo, P.R., “Nitric oxide metabolites and oxidative stress in mild essential hypertension”, ***Clinical Hemorheology and Microcirculation*** 46(4), 321-5, 2010.

Campos, M.G., Cunha, A., Markham, K.R.: Bee products chemical composition and application in Mizrahi, A. and Lensky, Y., “Bee-Pollen composition, properties, and applications”, ***Plenum Press, New York***, 93-100, 1997.

Campos, M.G., Webby, R.F., Markham, K.R., Mitchell, K.A. and Cunha, A.P.D., “Age induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids”, ***Journal of Agricultural and Food Chemistry*** 51, 742-745, 2003.

Camuzcuoğlu, H., Arıöz, Dağıstan, T., Toy, H., Kurt, S., Çelik, H. and Erel Ö., “Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer”, ***Gynecologic Oncology*** 112, 481-485, 2009.

Cansino, J.R., Vera, R., Bethencourt, F.R, Bouraoui, Y., Rodriguez, G., Prieto, A., Pena, J., Paniagua, R. and Royuela M., “Prostate specific antigen and NF- κ B in prostatic disease: relation with malignancy”, ***Actas Urologicas Espanolas*** 35(1), 16-21, 2011.

Cao, H., “Paoxonase protection of LDL against peroxidation”, ***Jornal of Lipid Research*** 40, 133-139, 1999.

Castaldo, S. and Capasso, F., “Propolis, an old remedy used in modern medicine”, ***Fitoterapia*** 73(1), S1-S6, 2002.

Chen, X., Wu, Y., Liu, L., Su, Y., Peng, Y., Jiang, L., Liu, X and Huang, D., “Relationship between high density lipoprotein antioxidant activity and carotid arterial intima-media thickness in patients with essential hypertension”, ***Clinical and Experimental Hypertension*** 32(1), 13-20, 2010.

Cherki, M., Berrougui, H., Isabelle, M., Cloutier, M., Koumbadinga G.A. and Khalil, A., “Effect of PON1 polymorphism on HDL antioxidant potential is blunted with aging”, ***Experimental Gerontology*** 42, 815-824, 2007.

Chon, H., Neumann, J., Boer, P. and Joles J.A., “Branko Braam. Enhanced Angiotensin II type 1 receptor expression in leukocytes of patients with chronic kidney disease”, ***European Journal of Pharmacology*** 666, 205–210, 2011.

Cohuet, G. and Struijker-Boudier, H., “Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: Therapeutic potential”, ***Pharmacology & Therapeutics*** 111, 81-98, 2006.

Colonna, V.G., Rossoni, G., Rigamonti, A.E., Bonomo, S., Manfredi, B., Berti, F. and Müller, E.E., “Enalapril and quinapril improve endothelial vasodilator function and aortic eNOS gene expression in L-NAME-treated rats”, ***European Journal of Pharmacology*** 450, 61– 66, 2002.

Conti, A., Miscusi, M., Cardali, S., Germano, A., Suzuki, H., Cuzzocrea, S. and Tomasello, F., “Nitric oxide in the injured spinal cord: Synthases cross-talk, oxidative stress and inflammation”, ***Brain Research Reviews*** 54, 205-218, 2007.

Cooke, J.P., “ADMA: its role in vascular disease”, ***Vascular Medicine*** 10, S11–17, 2005.

Coulter, J.A., McCarthy, H.O., Xiang, J., Roedl, W., Wagner, E., Robson, T. and Hirst, D.G., “Nitric oxide, A novel therapeutic for cancer”, ***Nitric Oxide*** 19, 192-198, 2008.

Çakmak, H.A., Arslan, E. ve Erdine, S., “Hipertansiyonda karşılanmamış gereksinimler”, ***Türk Kardiyoloji Derneği Araştırmaları*** 37(7), 1-4, 2009.

Çaylak, E., “Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar” ***Tıp Araştırmaları Dergisi*** 9(1), 73-83, 2011.

Çimen, M.B.Y., “Flavonoids and their antioxidant properties”, ***Turkish Journal of Medical Sciences*** 19, 296-304, 1999.

Deakin, S.P., Bioletto, S., Bochaton-Piallat, M.L. and James, Richard, W., “HDL-associated paraoxonase-1 can redistribute to cell membranes and influence sensitivity to oxidative stress”, *Free Radical Biology and Medicine* 50, 102–109, 2011.

Dede, F., “Hipertansif aciller”, *Güncel İç Hastalıkları Dergisi* 1(1), 65-75, 2008.

Demirci, Y., Hipertansyon ve lipid polikliniğine başvuran hastalarda metabolik sendromun hedef organ hasarlarına etkisinin incelenmesi, Uzmanlık Tezi, *Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörlüğü*, İstanbul, 2006.

Demirdöğen, B.C., “Organophosphate pesticide poisonings and the role of serum paraoxonase 1 (PON1) enzyme in organophosphate metabolism”, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 67(2), 97-112, 2010.

Deniz, E., Çolakoğlu, N., Saric, A., Sönmez, M.F., Tuğrul, I., Oktar, S., Ihan, S. and Şahna, E., “Melatonin attenuates renal ischemia–reperfusion injury in nitric oxide synthase inhibited rats” *Acta Histochemica* 108, 303-309, 2006.

Dhawan, V. and Jain, S., “Garlic supplementation prevents oxidative DNA damage in essential hypertension”, *Molecular and Cellular Biochemistry* 275(1-2), 85-94, 2005.

Dhir, A. and Kulkarni, S.K., “Nitric oxide and major depression”, *Nitric Oxide* 24, 125-131, 2011.

Digiesi, V., Oliviero, C., Gianno, V., Rossetti, M., Fiorillo, C., Oradei, A., Lenuzza, M. and Nassi, P., “Reactive metabolites of oxygen, lipid peroxidation, total antioxidant capacity and vitamin E in essential arterial hypertension”, *Clinical Therapeutics* 148(11), 515-9, 1997.

Du, B.N.L., Aviram, M., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R.C. and Standiford, T.J., “On the physiological role(s) of the paraoxonases”, *Chemico-Biological Interactions* 119-120, 379-388, 1999.

Eckerson, H.W., Wyte, M.C. and La Du, B.N., “The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism”, *The American Journal of Human Genetics* 35, 1126-38, 1983.

Ekmekçi, Ö.B., Donma, O. and Ekmekçi, H., “Paraoksanaz” *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 35, 78-82, 2004.

Endemann, D.H and Schiffrin, E.L., “Endothelial dysfunction”, *Journal of the American Society of Nephrology* 15, 1983-1992, 2004.

Eraslan, G., Kanbur, M. and Silici, S., “Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen”, *Food and Chemical Toxicology* 47, 86-91, 2009.

Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S., Liman, B.C., Altınordulu, Ş. and Sarıca, Z.S., “Evaluation of protective effect of bee pollen against propoxur toxicity in rat”, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 931-937, 2009.

Erbaşı, S., Tüfekçioğlu, O., Sabah, İ., “Hypertension and the Elderly”, *Turkish Journal of Geriatrics* 2(2), 67-70, 1999.

Erbil, M.K., Kurt, Y.G., Yaman, H., Çakır, E., Akgül, E.Ö. ve Çaycı, T., “Asimetrik dimetiltarjininin metabolizması ve klinik önemi” *Türk Biyokimya Dergisi* 37 (1), 99-105, 2012.

Erdem, S.S., Kanat, F., Ünlü, A. ve Atak, A., “Stabil KOAH ve Kor Pulmonale hastalarında ADMA, Arjinin ve NO Düzeylerinin Belirlenmesi”, *Selçuk Tıp Dergisi* 26(1), 9-13, 2010.

Erdoğan, S., Ateş, B., Durmaz, G., Yılmaz, I. and Seçkin, T., “Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from anatolia propolis and their radical scavenging capacities”, *Food and Chemical Toxicology* 49, 1592-1597, 2011.

Erdoğan, Y. ve Dodoloğlu, A., “Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinin yaşamında polenin önemi”. ***Uludağ Bee Journal*** Mayıs, 2005-5.

Erdoğan, Y. ve Dodoloğlu, A., “Importance of pollen in life of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies”, ***Uludağ Bee Journal*** 5, 79-84, 2003.

Erel, O., “A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions”, ***Jornal of Clinical Biochemistry*** 37, 112-9, 2004.

Erel, O., “A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status”, ***Journal Clinical Biochemistry*** 47, 119-29, 2005.

Ertekin, D., Koroner arter hastalığı ile paraoksonaz (PON) 2 ve 3 genlerindeki polimorfizmler arasındaki ilişkinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, ***Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü***, Mayıs, 2006.

Ferretti, G., Bacchetti, T., Busni, D., Rabini, R.A. and Curatola, G., “Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients”, ***The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*** 89, 2957-62, 2004.

Ferretti, G., Bacchetti, T., Moroni, C., Savino, S., Liuzzi, A., Balzola, F. and Bicchiega, V., “Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females”, ***The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*** 90, 1728-33, 2005.

Gardiner, S.M., Kemp, P.A., Bennett, T., Palmer, R.M.J. and Moncada, S., “Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in Brattleboro rats”, ***European Journal of Pharmacology*** 213, 449-451, 1992.

Gerhold, D., Bagchi, A., Lu, M., Figueroa, D., Keenan, K., Holder, D., Wang, Y., Jin, H., Connolly, B., Austin, C. and Alonso-Galicia, M., “Androgens drive divergent responses to salt stress in male versus female rat kidneys”, ***Genomics*** 89, 731–744, 2007.

Giugliano, D., Ceriello, A. and Paolisso, G., “Diabetes Mellitus, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Which Role of Oxidative Stress?”, **Metabolism** 44(3), 363-368, 1995.

Gonzalez-Castejon, M. and Rodriguez-Casado, A., “Dietary phytochemicals and their potential effects on obesity: A review”, **Pharmacological Research** 64, 438- 455, 2011.

Goralczyk, T., Tisonczyk, J., Fijorek, K. and Undas A., “High tea and vegetable consumption is associated with low ADMA generation in older healthy subjects”, **Metabolism Clinical and Experimental** 61, 1171–1176, 2012.

Goswami, B., Tayal, D., Gupta, N. and Mallika, V., “Paraoxonase: A multifaceted biomolecule”, **Clinica Chimica Acta** 410, 1-12, 2009.

Göçgeldi, E., Babayiğit, M.A., Hassoy, H., Açikel, C.H., Taşçı, İ. ve Ceylan, S., “Hipertansiyon tanısı almış hastaların algıladıkları yaşam kalitesi düzeyinin ve etki eden faktörlerin değerlendirilmesi”, **Gülhane Tıp Dergisi** 50, 172-179, 2008.

Gülçin, İ., Bursal, E., Şehitoğlu, M.H., Bilsel, M. and Goren, A.C., “Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey”, **Food and Chemical Toxicology** 48, 2227-2238, 2010.

Güney, M., Oral, B., Karahan, N. and Mungan,T., “Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on fluoride-induced oxidative stress and apoptosis in rat endometrium”, **Environmental Toxicology and Pharmacology** 24, 86-91, 2007.

Güven, E.Ç., Otkun, G.T. ve Boyacıoğlu, D., “Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler”, **Gıda** 35 (5), 387-394, 2010.

Haddad, J.J. and Abdel-Karim, N.E., “NF-κB cellular and molecular regulatory mechanisms and pathways: Therapeutic pattern or pseudoregulation?”, **Cellular Immunology** 271, 5-14, 2011.

Halliweil, B., “Oxygen radicals, nitric oxide and human inflammatory joint disease”, *Annals of the Rheumatic Diseases* 54, 505-510, 1995.

Harrison, D.G., Gongora, M.C., Guzik, T.J. and Widder, J., “Oxidative stress and hypertension”, *Journal of the American Society of Hypertension* 1(1), 30-44, 2007.

Hekimoğlu, A., “Likopenin antikarsinojenik etki mekanizmaları”, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 25 (1), 57-62, 2010.

Hepşen, İ.F., Tilgen, F. ve Er, H., “Propolis: Tıbbi özellikleri ve Oftalmolojik kullanımları”, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 3(4), 1996.

Herzog, A., Siler, U., Spitzer, V., Seifert, N., Denelavas, A., Hunziker, P.B., Hunziker, W., Goralczyk, R. and Wertz, K., “Lycopene reduced gene expression of steroid targets and inflammatory markers in normal rat prostate”, *The FASEB Journal* 19, 272-274, 2005.

Hilgers, K.F., Hartner, A. and Porst, M., “Monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage infiltration in hypertensive kidney injury”, *Kidney International* 58, 2408-19, 2000.

Himadri, P., Kumari, S.S., Chitharanjan, M. and Dhananjay, S., “Role of oxidative stress and inflammation in hypoxia-induced cerebral edema: a molecular approach”, *High Altitude Medicine Biology* 11(3), 231-44, 2010.

Holven, K.B., Haugstad, T.S., Holm, T., Aukrust, P., Ose, L. and Nenseter, M.S., “Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects”, *British Journal of Nutrition* 89, 359-363, 2002.

Horoz, M., Aslan, M., Selek, Ş., Köylü, A.O., Bölükbaş, C., Bölükbaş, F.F., Çelik, H., Erel, Ö., “PON1 status in haemodialysis patients and the impact of hepatitis C infection”, *Clinical Biochemistry* 40, 609–614, 2007.

Houston, M.C., “Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension”, ***Progress in Cardiovascular Diseases*** 47(6), 396-449, 2005.

Human, H. and Nicolson, S.W., “Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae)”, ***Phytochemistry*** 67, 1486-1492, 2006.

Ikedo, Y., Suehiro, T., Inoue, M., Nakauchi, Y., Morita, T., Arii, K., Ito, H., Kumon, Y., Hashimoto, K., “Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with non-insulindependent diabetes mellitus”, ***Metabolism*** 47, 598-602, 1998.

Işık, E., “Esansiyel hipertansiyonun etiyopatogenezi”, ***Türkiye Klinikleri Journal of International Medical Sciences*** 1(33), 6-11, 2005.

Ito, A., Egashira, K., Narishige, T., Muramatsu, K. and Takeshita, A., “Renin-angiotensin system is involved in the mechanism of increased serum asymmetric dimethylarginine in essential hypertension”, ***Japan Circulation Journal*** 65, 775-778, 2001.

Jabecka, A., Ast, J., Bogdaski, P., Drozdowski, M., Pawlak-Lemaska, K., Cielewicz, A.R. and Pupek-Musialik, D., “Oral L-arginine supplementation in patients with mild arterial hypertension and its effect on plasma level of asymmetric dimethylarginine, L-citruline, L-arginine and antioxidant status”, ***European Review Medical Pharmacological Sciences*** 16(12), 1665-74, 2012.

James, R.W. and Deakin, S.P., “The Importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 37(12), 1986-1994, 2004.

Jarvik, G.P., Tsai, N.T., McKinstry, L.A., Wani, R., Brophy, V.H., Richter, R.J., Schellenberg, G.D., Heagerty, P.J., Hatsukami, T.S. and Furlong, C.E., “Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity”, ***Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*** 22, 1329-33, 2002.

Jeffery, T.K. and Morrell, N.W., “Molecular and cellular basis of pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension. **Progress in Cardiovascular Diseases** 45 (3), 173-202, 2002.

Jensen, S.J.K., “Oxidative stress and free radicals”, **Journal of Molecular Structure (Theochem)** 666-667, 387-392, 2003.

Jessup, W., Rankin, S.M., Whalley, C.V., Hoult, JR., Scott, J. and Leake, DS., “Alpha-tocopherol consumption during low density lipoprotein oxidation”, **Biochemical Journal** 265, 399, 1990.

Kang, D.G., Hur, T.Y., Lee, G.M., Oh, H., Kwon, T.O, Sohn, E.J. and Lee, H.S., “Effects of Cudrania tricuspidata water extract on blood pressure and renal functions in NO-dependent hypertension”, **Life Sciences** 70, 2599–2609, 2002.

Kara, B., Uzun, Ş., Yokuşoğlu, M. and Uzun, M., “Hipertansiyon hastalarında ilaç bilgisinin kan basıncını düşürmek için uygulanan yöntemlere etkisi”, **TAF Preventive Medicine Bulletin** 8(3), 2009.

Karamahmutoğlu, F., Dirençli hipertansiyonun vücut Kitle İndeksi ile ilişkisi, **Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1.Dahiliye Kliniği**, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2007.

Karolina, K., Kazimierz, C., Krzysztof, S., Joanna, Bober., Edyta, G., Ewa, K., Joanna, K.K., Marek, O., Grazyna, A. and Dariusz, C., GNB3 C825T and ACE I D polymorphisms on the sodium proton exchanger and the prevalence of essential hypertension in males. **Archives of Medical Research** 37, 150-157, 2006.

Kavak, D.D., “Antioksidan Etkileşimleri: Polifenol-Protein Etkileşimleri”, **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi** 5(3), 9-16, 2010.

Kawano, T., Nomura, M., Nisikado, A., Nakaya, Y. and Ito, S., “Supplementation of L-arginine improves hypertension and lipid metabolism but not insulin resistance in diabetic rats”, **Life Sciences** 73, 3017–3026, 2003.

Kedzierska, K., Ciechanowski, K., Safranow, K., Bober, J., Golembiewska, E., Kwiatkowska, E., Kabat-Koperska, J., Ostrowski, M., Adler, G. and Chlubek, D., “GNB3 C825T and ACE I/D Polymorphisms on the Sodium–Proton Exchanger and the Prevalence of Essential Hypertension in Males”, *Archives of Medical Research* 37, 150–157, 2006.

Keleş, İ. ve Ağaç, M.T., “İkincil hipertansiyon”, *Klinik Gelişim* 18(2), 42-48, 2005.

Kielstein, J.T. and Fliser, D., “The past, presence and future of ADMA in nephrology Passe, present et futur de la dimethylarginine asymetrique (ADMA) en nephrologie”, *Nephrologie & Therapeutique* 3, 47-54, 2007.

Kiely, M., P.A. Morrissey, P.F. Cogan, Kearney, P.J., “Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood”, *Europen Journal of Clinical Nutrition* 53, 861-4, 1999.

Korkmaz, A., Yurdakök, M., Yiğit, S., Oran, O. ve Tekinalp, G., “Hiperbilirubinemili yenidoğan bebeklerde serum bilirubin ve ürik asit düzeyleri arasındaki denge. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 44, 338-41, 2001.

Kim, J.M., Heo, H.S., Choi, Y.J., Ye, B.H., Ha, Y.M., Seo, A.Y., Yu, B.P., Leeuwenburgh, C., Chung, H.Y. and Carter, C.S., “Inhibition of NF-κB-induced inflammatory responses by angiotensin II antagonists in aged rat kidney”, *Experimental Gerontology* 46, 542–548, 2011.

Kim, S.F., “The role of nitric oxide in prostaglandin biology; update”, *Nitric Oxide* 25, 255-264, 2011.

Kılıç, A., Selek, S. and Erel, Ö., “ Eeffets of melatonin of serum arylesterase and activity anc cataract formation induced with selenite in rats”, *Tıp Araştırmaları Degisi* 5(2), 67-70, 2007.

Kolankaya, D., Selmanoğlu, G., Sorkun, K. and Bekir, S., “Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats”, *Food Chemistry* 78, 213-217, 2002.

Korandji, C., Zeller, M., Guillard, J.C., Collin, B., Lauzier, B., Sicard, P., Duvillard, L., Goirand, F., Moreau, D., Cottin, Y., Rochette, L. and Vergely C., “Time course of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and oxidative stress in fructose-hypertensive rats: A model related to metabolic syndrome”, ***Atherosclerosis*** 214, 310–315, 2011.

Koru, Ö., Toksoy, F., Açikel, C.H., Tunca, Y.M., Baysallar, M., Güçlü, A.Ü., Akça, E., Tuylu, A.Ö., Sorkun, K., Tanyüksel, M. and Salih, B., “In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens”, ***Anaerobe*** 13, 140-145, 2007.

Kroyer, G. and Hegedus, N., “Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement”, ***Innovative Food Science & Emerging Technologies*** 2, 171-174, 2001.

Krzyzanowska, K., Mittermayer, F. and Wolzt, M., Schernthaner, G., “ADMA, cardiovascular disease and diabetes”, ***Diabetes Research and Clinical Practice*** 82, 122-126, 2008.

Kubo, T., Ibusuki, T., Saito, E., Kambe T. and Hagiwara Y., “Vascular mitogen-activated protein kinase activity is enhanced via angiotensin system in spontaneously hypertensive rats”, ***European Journal of Pharmacology*** 372, 279–285, 1999.

Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. and Popov, S., “Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin”, ***Journal of Ethnopharmacology*** 64, 235-240, 1999.

Kumbul, K., Deneysel intestinal iskemi ve reperfüzyon modelinde caffeic acid phenethyl esterin akciğer hasarını önlemedeki etkinliği, ***Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı***, Uzmanlık Tezi, Isparta, 2007.

Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B.C. ve Ceyran, G., “Önemli bir arı ürünü: Propolis”, ***Uludağ Bee Journal*** 10-23, 2002.

Kurban, S., Akpınar, Z. ve Mehmetoğlu, İ., “Multiple skleroz hastalarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile oksidatif stresin araştırılması”, **Genel Tıp Dergisi** 20(1), 13-17, 2010.

Lee, C.M., Chang, J.H., Moon, D.O., Choi, Y.H., Choi, I.W., Park, Y.M. and Kim, G.Y., “Lycopene suppresses ovalbumin-induced airway inflammation in a murine model of asthma”, **Biochemical and Biophysical Research Communications** 374, 248-252, 2008.

Leja, M., Mareczek, A., Wyzgolik, G., Klepacz-Baniak, J. and Czekonska, K., “Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species”, **Food Chemistry** 100, 237-240, 2007.

Leychenko, A., Konorev, E., Jijiwa, M., Matter, M.L., “Stretch-induced hypertrophy activates NF- κ B-mediated VEGF secretion in adult cardiomyocytes”, **Plos One** 6 (12), 2011.

Li, Y., Ha, T., Gao, X., Kelley, J., Williams, D.L., Browder, I.W., Kao, R.L. and Li, C., “NF- κ B activation is required for the development of cardiac hypertrophy in vivo”, **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology** 287, H1712–20, 2004.

Limon-Pacheco, J. and Gonsebatt, M.E., “The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress”, **Mutation Research** 674, 137-147, 2009.

Litwin, S.E., Grossman, W., FACC., “Diastolic dysfunction as a cause of heart failure”, **Journal of the American College of Cardiology** 22 (4), 49A-55A, 1993.

Leiper, J., Nandi, M., Torondel, B., Murray-Rust, J., Malaki, M., O'Hara, B., Rossiter, S., Anthony, S., Madhani, M., Selwood, D., Smith, C., Wojciak-Stothard, B., Rudiger, A., Stidwill, R., McDonald, N.Q. and Vallance, P., “Disruption of methylarginine metabolism impairs vascular homeostasis. **Nature Medicine** 13(2), 198–203, 2007.

Lushchak, V.I., “Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals”, *Aquatic Toxicology* 101, 13–30, 2011.

Mackness, B., McElduff, P. and Mackness, M.I., “The paraoxonase-2-310 polymorphism is associated with the presence of microvascular complications in diabetes mellitus”, *Journal of Internal Medicine* 258, 363-8, 2005.

Mackness, M.I. and Halam, S.D., “The separation of sheep and human serum “a-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation”, *Comparative Biochemistry Physiology B*, 82, 675-677, 1985.

Mackness, M.I. and Walker, C.H., “Multiple Forms Of Sheep Serum A-Esterase Activity Associated With The High-Density Lipoprotein”, *Biochemical Journal* 250, 539-545, 1988.

Mackness, M.I., Arrol, S., Durrington, P.N., “Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein”, *FEBS Letters* 286, 152-4, 1991.

Mackness, B., Quarck, R., Verreth, W., Mackness, M. and Holvoet, P., “Human paraoxonase-1 overexpression inhibits atherosclerosis in a mouse model of metabolic syndrome”, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 26(7), 1545-50, 2006.

Madamanchi, N.R. and Runge, M.S., “Redox signaling in cardiovascular health and disease”, *Free Radical Biology and Medicine* 61, 473–501, 2013.

Majithiya, J.B., Parmar, A.N., Trivedi, C.J. and Balaraman, R., “Effect of pioglitazone on L-NAME induced hypertension in diabetic rats”, *Vascular Pharmacology* 43, 260-266, 2005.

Mallinckrodt, M., Geldmacher, V., Hommel, G. and Dumbach, J., “On the genetics of the human serum paraoxonase (EC 3.1.1.2)”, *Human Genetics* 50(3), 313-26, 1979.

Mani, F., Damasceno, H.C.R., Novelli, E.L.B., Martins, E.A.M. and Sforcin, J.M., “Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables”, *Journal of Ethnopharmacology* 105, 95–98, 2006.

Marcucci, M.C., “Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity”, *Apidologie* 26, 83-99, 1995.

Marghitas, L.A., Stanciu, O.G., Dezmiorean, D.S., Bobis, O., Popescu, O., Bogdanov, S. and Campos, M.G., “In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania”, *Food Chemistry* 115, 878–883, 2009.

Marketou, M.E., Zacharis, E.A., Parthenakis, F., Kochiadakis, G.E., Maragkoudakis, S., Chlouverakis, G. and Vardas, P.E., “Association of sodium and potassium intake with ventricular arrhythmic burden in patients with essential hypertension”, *Journal of the American Society of Hypertension* 7(4), 276-282, 2013.

Marsillach, J., Mackness, B., Mackness, M., Riu, F., Beltran, R., Joven, J. and Camps, J., “Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues”, *Free Radical Biology & Medicine* 45, 146-157, 2008.

Mate, A., Miguel-Carrasco, J.L. and Vazquez, C.M., “The therapeutic prospects of using L-carnitine to manage hypertension-related organ damage”, *Drug Discovery Today*, 15, 11-12, 2010.

Medeiros, K.C.P., Figueiredo, C.A.V., Figueredo, T.B., Freire, K.R.L., Santos, F.A.R., Alcantara-Neves, N.M., Silva, T.M.S. and Piuvezam, M.R., “Anti-allergic effect of bee pollen phenolic extract and myricetin in ovalbumin-sensitized mice”, *Journal of Ethnopharmacology* 119, 41-46, 2008.

Memişoğulları, R., ve Orhan, N., “Paraoksonaz ve Kanser”, *Konuralp Tıp Dergisi* 2(2), 22-26, 2010.

Mensah, G.A., Croft, J.B. and Giles W.H., “The Heart, Kidney, and Brain as Target Organs in Hypertension”, *Current Problem in Cardiology* 28, 156-193, 2003.

Mollaoğlu, H., Gökçimen, A., Özgüner, F., Öktem, F., Koyu, A., Koçak A., Demirin, H., Gökalp, O. and Çiçek, E., “Caffeic acid phenethyl ester prevents cadmium-induced cardiac impairment in rat”, **Toxicology** 227, 15–20, 2006.

Montani, J.P. and Vliet, B.N.V., “Understanding the contribution of Guyton’s large circulatory model to long-term control of arterial pressure”, **Experimental Physiology** 94(4), 381-397, 2013.

Moradi, H., Ganji, S., Kamanna, V., Pahl, M.V, and Vaziri, N.D., “Increased monocyte adhesion-promoting capacity of plasma in end-stage renal disease - response to antioxidant therapy”, **Clinical Nephrology** 74(4), 273-81, 2010.

Moran, A., Urbina, A.V.O., Martin, M.L., Rodriguez-Barbero, A. and Roman, L.S., “Characterization of the contractile 5-hydroxytryptamine receptor in the autoperfused kidney of L-NAME hypertensive rats”, **European Journal of Pharmacology** 620, 90-96, 2009.

Moreira, A.J., Fraga, C., Alonso, M., Collado, P.S., Zetler, C., Marroni, C., Marroni, N. and Gonzalez-Gallego, J., “Quercetin prevents oxidative stress and NF- κ B activation in gastric mucosa of portal hypertensive rats”, **Biochemical Pharmacology** 68, 1939–1946, 2004.

Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D.J., Dominguez, M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J. and Parajo, J.C., “Natural antioxidants from residual sources”, **Food Chemistry** 72, 145-171, 2001.

Mullershausen, F., Russwurm, M., Koesling, D. and Friebe, A., “The enhanced NO-induced cGMP response induced by long-term L-NAME treatment is not due to enhanced expression of NO-sensitive guanylyl cyclase”, **Vascular Pharmacology** 40, 161-165, 2003.

Nafz, B., Just, A., Staub, H.M., Wagner, C.D., Ehmke, H., Kirchheim, H.R. and Persson, P.B., “Blood-pressure variability is buffered by nitric oxide”, **Journal of the Autonomic Nervous System** 57, 181-183, 1996.

Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H. and Suzuki, N., “Scavenging capacities of pollen extracts from *Cistus iadaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals”, ***Nutrition Research*** 22, 519-526, 2002.

Nakajima, Y., Shimazawa, M., Mishima, S. and Hara, H., “Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions”, ***Life Sciences*** 80, 370-377, 2007.

Napoli, C., Nigris, F., Williams-Ignarro, S., Pignalosa, O., Sica, V. and Ignarro, L.J., “Nitric oxide and atherosclerosis: An update”, ***Nitric Oxide*** 15, 265-279, 2006.

Negre-Salvayre, A., Dousset, N., Ferretti, G., Bacchetti, T., Curatola, G. and Salvayre, R., “Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 41, 1031–1040, 2006.

Nguelefack, T.B., Mekhfi, H., Dongmo, A.B., Dimo, T., Watcho, P., Zoheir, Johar., Legssyer, A., Kamanyi, A. and Ziyat, A., “Hypertensive effects of oral administration of the aqueous extract of *Solanum torvum* fruits in L-NAME treated rats: Evidence from *in vivo* and *in vitro* studies”, ***Journal of Ethnopharmacology*** 124, 592–599, 2009.

Nizamlioğlu, N.M. ve Nas, S., “Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri”, ***Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*** 5(1), 20-35, 2010.

O'Neill L.A.J. and Kaltschmidt, C., “NF- κ B: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function”, ***Trends in Neurosciences*** 20, 252–258, 1997.

Oktar S., Yılmaz E., Şahna E. and Aksulu H.E., “NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon: sıçanlarda sabit ve kademeli doz L-NNA uygulamalarının karşılaştırılması” ***Fırat Tıp Dergisi*** 12(4), 251-255, 2007.

Olson, S.Y., Garban, H.J., “Regulation of apoptosis-related genes by nitric oxide in cancer” ***Nitric Oxide*** 19, 170-176, 2008.

Özbalcı, D., Sıçanlarda etanol ile uyarılan gastritin önlenmesinde kafeik asit fenetil esterinin etkinliğinin araştırılması, **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilimdalı**, Uzmanlık Tezi, Isparta, 2007.

Özcan, M., Ceylan, D.A., Ünver, A. and Yetişir, R., “Antifungal effect of pollen and propolis extracts collected from different regions of Turkey”, **Uludağ Bee Journal** 27-34, 2003.

Özen, S., Akyol, O., Iraz, M., Söğüt, S., Özüğurlu, F., Özyurt, H., Odaci, E., Yildirim, Z., “Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats”, **Journal of Applied Toxicology** 24, 27-35, 2004.

Özer, M.K., Parlakpınar, H. and Acet, A., “Reduction of ischemia–reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE)”, **Clinical Biochemistry** 37, 702-705, 2004.

Özyurt, B., Özyurt, H., Atış, Ö., Akbaş, A., Yılmaz, H.R. ve Söğüt, S., “Deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisinde E vitamini ve kafeik asit fenetil esterinin akciğer dokusundaki bazı metabolik enzimlere etkisi”, **Tıp Araştırmaları Dergisi** 4(3), 14-18, 2006.

Özyurt, H., Irmak, M.K., Akyol, O. and Söğüt, S., “Caffeic acid phenethyl ester changes the incidences of oxidative stress in serum of rats with renal ischemia–reperfusion injury”, **Cell Biochemistry and Function** 19, 259-263, 2001.

Palomo, I., Contreras, A., Alarcon, L.M, Leiva, E., Guzman, L., Mujica, V., Icaza, G., Diaz, N., Gonzalez, D.R. and Moore-Carrasco, R., “Elevated concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in individuals with metabolic syndrome”, **Nitric Oxide** 24, 224-228, 2011.

Paramas, A.M.G., Barez, J.A.G., Marcos, C.C., Garcia-Villanova, R., Sanchez, J.S., “HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen)”, **Food Chemistry** 95, 148-156, 2006.

Park, S., Shim, J., Kim, J.B., Ko Y.G., Choi, D., Ha, J.W., Rim, S.J., Jang, Y. and Chung, N., “Insulin resistance is associated with hypertensive response to exercise in non-diabetic hypertensive patients”, ***Diabetes Research and Clinical Practice*** 73, 65–69, 2006.

Parlakpınar, H., Şahna, E., Acet, A., Mızrak, B. and Polat, A., “Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on myocardial ischemia–reperfusion-induced apoptotic cell death”, ***Toxicology***, 209, 1-14, 2005.

Perez-Vizcaino, F. and Duarte, J., “Flavonols and cardiovascular disease”, ***Molecular Aspects of Medicine*** 31, 478-494, 2010.

Perticone, F., Sciacqua, A., Maio, R., Perticone, M., Maas, R., Boger, R.H., Tripepi, G., Tech, S., Sesti, G., Zoccali, C., “Asymmetric dimethylarginine, L-Arginine, and endothelial dysfunction in essential hypertension”, ***Journal of the American College of Cardiology*** 46(3), 518-23, 2005.

Polidori, M.C., Stahl, W., Eichler, O., Niestroj, I. and Sies, H., “Profiles of antioxidants in human plasma”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 30(5), 456-62, 2001.

Popova, M., Silici, S., Kaftanoğlu, O. and Bankova, V., “Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition”, ***Phytomedicine*** 12, 221-228, 2005.

Prasad, G.V.R., Ruzicka, M., Burns, K.D., Tobe, S.W. and Lebel, M., “Hypertension in dialysis and kidney transplant patients”, ***Canadian Journal of Cardiology*** 25(5), 2009.

Precourt, L.P., Amre, D., Denis M.C., Lavoie, J.C., Delvin, E., Seidman, E. and Levy, E., “The three-gene paraoxonase family: Physiologic roles, actions and regulation” ***Atherosclerosis*** 214, 20-36, 2011.

Queisser, N. and Schupp, N., “Aldosterone, oxidative stress, and NF-κB activation in hypertension-related cardiovascular and renal diseases”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 53, 314–327, 2012.

Resnick, L.M., “Ionic basis of hypertension, insulin resistance, vascular disease, and related disorders. The mechanism of “syndrome X”, *American Journal of Hypertension* 6, 23-134, 1993.

Richter, R.J., Jarvik, G.P. and Furlong, C.E., “Paraoxonase 1 (PON1) status and substrate hydrolysis”, *Toxicology and Applied Pharmacology* 235, 1-9, 2009.

Rizzo, M., Kotur-Stevuljevic, J., Berneis, K., Spinas, G., Rini, G.B., Jelic-Ivanovic, Z., Spasojevic-Kalimanovska, V. and Vekic, J., “Atherogenic Dyslipidemia And Oxidative Stress: A New Look”, *Translational Research* 153, 217-223, 2009.

Rochu, D., Chabriere, E. and Masson, P., “Masson. Human paraoxonase: A promising approach for pre-treatment and therapy of organophosphorus poisoning”, *Toxicology* 233, 47-59, 2007.

Ryu, S.Y., Oh, K.S., Kim, Y.S. and Lee B.H., “Antihypertensive, vasorelaxant and inotropic effects of an ethanolic extract of the roots of *Saururus chinensis*”, *Journal of Ethnopharmacology* 118, 284–289, 2008.

Sainani, G.S. ve Maru, V.G., “Role of endothelial cell dysfunction in essential hypertension”, *The Journal of the Association of Physicians of India* 52, 966-969, 2004.

Salim, S., Asghar, M., Chugh, G., Taneja, M., Xia, Z. and Saha, K., “Oxidative stress: A potential recipe for anxiety, hypertension and insulin resistance”, *Brain research* 1359, 178–185, 2010.

Salminen, A., Huuskonen, J., Ojala, J., Kauppinen, A., Kaarniranta, K. and Suuronen, T., “Activation of innate immunity system during aging: NF- κ B signaling is the molecular culprit of inflamm-aging”, *Ageing Research Reviews* 7, 83-105, 2008.

Sangeetha, M., Pillai, M.S., Philip, L., Lakatta, E.G. and Shivakumar, K., “NF- κ B inhibition compromises cardiac fibroblast viability under hypoxia” *Experimental Cell Research* 317, 899–909, 2011.

Sanli, C., Oguz, D., Olgunturk, R., Tunaoglu, F.S., Kula, S., Pasaoglu, H., Gulbahar, O. and Cevik, A., “Elevated homocysteine and asymmetric dimethyl arginine levels in pulmonary hypertension associated with congenital heart disease”, *Pediatric Cardiology* 33(8), 1323-31, 2012.

Saravanakumar, M. and Raja, B., “Veratric acid, a phenolic acid attenuates blood pressure and oxidative stress in L-NAME induced hypertensive rats”, *European Journal of Pharmacology* 671, 87–94, 2011.

Saric, A., Balog, T., Sobocanec, S., Kusic, B., Sverko, V., Rusak, G., Likic, S., Bubalo, D., Pinto, B., Reali, D. and Marotti, T., “Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus* L. rich bee pollen”, *Food and Chemical Toxicology* 47, 547-554, 2009.

Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R. and Pierce, J.D., “A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses”, *Intensive and Critical Care Nursing* 21, 24-28, 2005.

Schmidt, H., Schmidt, R., Niederkorn, K., Gradert, A., Schumacher, M., Watzinger, N., Hartung, H.P., Kostner, G.M., “Paraoxonase PON1 polymorphism leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study”, *Stroke* 29, 2043-2048, 1998.

Schmidt, K.N., Amstad, P., Cerutti, P. and Baeuerle, P.A., “The roles of hydrogen peroxide and superoxide as messengers in the activation of transcription factor NF- κ B”, *Chemistry & Biology* 2, 13-22, 1995.

Schmitt, B., Wolters, M., Kressel, G., Hulsmann, O., Strohle, A., Kuhn-Velten, W.N., Lichtinghagen, R., Bub, A., Barth, S.W., Stichtenoth, D.O. and Hahn, A., “Effects of combined supplementation with B vitamins and antioxidants on plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in subjects with elevated risk for cardiovascular disease”, *Atherosclerosis* 193, 168–176, 2007.

Schmitt, C.A. and Dirsch, V.M., “Modulation of endothelial nitric oxide by plant-derived products”, *Nitric Oxide* 21, 77-91, 2009.

Schuster, A., Thakur, A., Wang, Z., Borowski, A.G., Thomas, J.D. and Tang, W.H., “Increased exhaled nitric oxide levels after exercise in patients with chronic systolic heart failure with pulmonary venous hypertension”, *Journal of Cardiac Failure* 18(10), 799-803, 2012.

Sen, R. and Baltimore, D., “Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences”, *Cell* 46(5), 705-716, 1986.

Serna, E., Mauricio, M.D., Lluch, P., Segarra, G., Cortina, B., Lluch, S. and Medina, P., “Basal release of nitric oxide in the mesenteric artery in portal hypertension and cirrhosis: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase”, *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 28(5), 880-6, 2013.

Seto, S., Kitamura, S., Nagao, S., Nonaka, M., Akahoshi, M. and Yano, K., “Contribution of central amiloride-sensitive transport systems to the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats”, *Brain Research* 906, 164–169, 2001.

Sforcin, J.M. and Bankova, V., “Propolis: Is there a potential for the development of new drugs?”, *Journal of Ethnopharmacology* 133, 253-260, 2011.

Sforcin, J.M., “Propolis and the immune system: a review”, *Journal of Ethnopharmacology* 113, 1-14, 2007.

Siasos, G., Oikonomou, E., Stougianos, P. and Papageorgiou, N., “Asymmetric dimethylarginine (ADMA): Is really a biomarker for cardiovascular prognosis?”, *International Journal of Cardiology* 153, 123–125, 2011.

Silva, J.C., Rodrigues, S., Feas, X. and Estevinho, L.M., “Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis”, *Food and Chemical Toxicology* 50, 1790-1795, 2012.

Simko, F., Matuskova, J., Luptak, I., Krajcirovicova, K., Kucharska, J., Gvozdjakov, A., Babal, P. and Pechanov, O., “Effect of simvastatin on remodeling of the left ventricle and aorta in L-NAME-induced hypertension”, ***Life Sciences*** 74, 1211–1224, 2004.

Son, S., Lobkowsky, E.B. and Lewis, B.A., “Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): synthesis and X-ray crystallographic analysis”, ***Chemical and Pharmaceutical Bulletin*** 49, 236-238, 2001.

Song, X.Q., Lv, L.X., Li, W.Q., Hao, Y.H. and Zhao, J.P., “The interaction of Nuclear Factor-Kappa B and cytokines is associated with Schizophrenia”, ***Biological Psychiatry*** 65 (6), 481-488, 2009.

Song, Y.S., Park, E.H., Hur, G.M., Ryu, Y.S., Kim, Y.M. and Jin, C., “Ethanol extract of propolis inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity”, ***Journal of Ethnopharmacology*** 80, 155-161, 2002.

Sözmen, E.Y., Sözmen, B., Delen, Y. and Onat, T., “Catalase/Superoxide Dismutase (SOD) and Catalase/Paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control”, ***Archives of Medical Research*** 32, 283–287, 2001.

Sweileh, W.M., Sawalha, A.F., Zyoud, S.H. and Al-Jabi, S.W., “Anti-hypertensive therapy for acute ischemic stroke survivors”, ***CVD Prevention and Control*** 4, 171-175, 2009.

Sydow, K. and Münzel, T., “ADMA and oxidative stress”, ***Atherosclerosis*** 4, 41-51, 2003.

Tai, M.H., Wang, L.L., Wu, K.L.H. and Chan, J.Y.H., “Increased superoxide anion in rostral ventrolateral medulla contributes to hypertension in spontaneously hypertensive rats via interactions with nitric oxide”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 38, 450-462, 2005.

Talas, Z.S., Göğebakan, A. and Örün, I., “Effects of propolis on blood biochemical and hematological parameters in nitric oxide synthase inhibited rats by N^ω-Nitro-L-arginine methyl ester”, ***Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*** 26 (5), 915-919, 2013.

Talas, Z.S., Özdemir, İ., Çiftçi, O. and Çakır, O., “ Propolis attenuates oxidative injury in brain and lung of nitric oxide synthase inhibited rats”, *Journal of managed Care Pharmacy* 1(2), 45-50, 2013.

Toker, A., Mehmetoglu, I., Yerlikaya, F.H., Nergiz, S., Kurban, S. and Gök, H., “Investigation of oxidative stress markers in essential hypertension”, *Clinical Laboratory* 59(1-2), 107-114, 2013.

Topal, G., Dönmez, A., Uydes Doğan, B.S., Kucur, M., Taspınar Cengiz, D., Berkoz, F.B. and Erdogan, N., “Asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels are increased in patients with fibromyalgia: Correlation with tumor necrosis factor- α (TNF- α) and 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ (8-iso-PGF $_{2\alpha}$)”, *Clinical Biochemistry* 44(5–6), 364-367, 2011.

Torun, E. ve Bayram, F., “Endokrin bir organ olarak endotel ve endotelinin hipertansiyondaki rolü”, *Erciyes Tıp Dergisi* 26(3), 126-131, 2004.

Tsuchiya, K., Tomita, S., Ishizawa, K., Abe, S., Ikeda, Y., Kihira, Y. and Tamaki, T., “Dietary nitrite ameliorates renal injury in L-NAME-induced hypertensive rats”, *Nitric Oxide* 22, 98-103, 2010.

Ueda, S., Yamagishi, S., Matsumoto, Y., Kaida, Y., Fujimi-Hayashida, A., Koike, K., Tanaka, H., Fukami, K. and Okuda, S., “Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in glomerular capillary loss and sclerosis in a rat model of chronic kidney disease (CKD)”, *Life Sciences* 84, 853–856, 2009.

Uriel, A., “Characterisation des cholinesterases et deutes esterases carboxylique apres electrophorese en gelose”, *American Institute Pasteur* 101, 104, 1961.

Uzun, H., Karter, Y., Aydın, S., Curgunlu, A., Şimşek, G., Yücel, R., Vehiyd, S., Ertürk, N., Kutlu, A., Benian, A., Yaldıran, A., Öztürk, E. and Erdine, S., “Oxidative stress in white coat hypertension; role of paraoxonase”, *Journal of Human Hypertension* 18(7), 523-8, 2004.

Üstündağ, B., Bahçecioğlu, İ.H., Şahin, K., Gülcü, F., Düzgün, S., Özercan, İ.H., Gürsu, M.F., “Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCL₄) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri”, **F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi** 19(4), 263-271, 2005.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol J., Izakovic, M. and Mazur, M., “Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer”, **Chemico-Biological Interactions** 160, 1-40, 2006.

Valkonen, V.P. and Laaksonen, R., “Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events” , **Clinica Chimica Acta** 348, 9 –17, 2004.

Valkonen, V.P., Laakso, J., Paiva, H., Lehtimäki, T., Lakka, T.A., Isomustajarvi, M., Ruokonen, I., Salonen, J.T. and Laaksonen, R., “Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and risk of acute coronary events does statin treatment influence plasma ADMA levels?”, **Atherosclerosis Supplements** 4, 19-22, 2003.

Vallance, P. and Leiper, J., “Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway”, **Arteriosclerosis Thrombosis Vascular and Biology** 24, 1023-1030, 2004.

Vallance, P., Leone, A., Calver, A., Collier, J. and Moncada, S., “Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure”, **Lancet** 339, 572-5, 1992.

Villarreal-Molina, M.T. and Antuna-Puente, B., “Adiponectin: Anti-inflammatory and cardioprotective effects”, **Biochimie** 94, 2143-2149, 2012.

Vural, A., Sekonder hipertansiyon, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. **Sistemik Arter Hipertansiyonu Sempozyumu**, İstanbul, 77-81, 30 Mayıs 1997.

Vural, P., Çevik, A., Çurgunlu, A. and Canbaz, M., “Effects of diabetes mellitus and acute hypertension on plasma nitric oxide and endothelin concentrations in rats”, ***Clinica Chimica Acta*** 320, 43-47, 2002.

Ward, N.C., Hodgson, J.M., Puddey, I.B., Mori, T.A., Beilin, L.J. and Croft, K.D., “Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle”, ***Free Radical Biology and Medicine*** 36(2), 226-232, 2004.

West, J., “Cross talk between Smad, MAPK, and actin in the etiology of pulmonary arterial hypertension”, ***Advances Experimental Medicine and Biology*** 661, 265-78, 2010.

Widjaja, A., Yeh, T.H. and Ju, Y.H., “Enzymatic synthesis of caffeic acid phenethyl ester”, ***Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*** 39, 413-418, 2008.

Wilcken, D.E.L., Sim, A.S., Wang, J. and Wang, X.L., “Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of L-arginine on its metabolism”, ***Molecular Genetics and Metabolism*** 91, 309–317. 2007.

Wilcox, C.S., and Gutterman, D., “Focus on oxidative stress in the cardiovascular and renal systems”, ***American Journal of Physiology Heart Circulatory Physiology*** 288, H3–H6, 2005.

Yavuz, T., Uzun, O., Macit, A., Comunoğlu, C., Yavuz, O., Silan, C, Yüksel, H. and Yıldırım, H.A., “Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates the development of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension”, ***Pathology-Research Practice*** 209(5), 302-8, 2013.

Yıldız, A., Gür, M., Demirbağ, R., Yılmaz, R., Akyol, S., Aslan, M. and Erel, Ö., “Paraoxonase and arylesterase activities in untreated dipper and non-dipper hypertensive patients”, ***Clinical Biochemistry*** 41, 779-784, 2008.

Yıldız, A., Gür, M., Yılmaz, R., Demirbağ, R., Polat, M., Selek, Ş., Çelik, H. and Erel, Ö., “Association of paraoxonase activity and coronary blood flow”, *Atherosclerosis* 197, 257-263, 2008.

Yıldız, M. ve Küçükazman, M., “Hipertansiyon epidemiyolojisi”, *Güncel İç Hastalıkları Dergisi* 1(1-3), 2008.

Yılmaz, H.R., Uz, E., Yücel, N., Altuntaş, I. and Özçelik, N., “Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver”, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 18, 234-238, 2004.

Yılmaz, R., Primer hipertansiyon hastalarında günlük tuz alımının inflamasyon belirteçleri ve albuminüri üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Ünitesi*, Ankara, 2008.

Zatz, R. and Baylis, C., “Chronic nitric oxide inhibition model six years on; *Hypertension*”, 32(6), 958-964, 1998.

Zhang, Y., Zheng, F., Du, H., Krepinsky, J.C., Segbo, J.A.G. and Zhou, X., “Detecting the polymorphisms of paraoxonase (PON) cluster in Chinese Han population based on a rapid method”, *Clinica Chimica Acta* 365, 98-103, 2006.

Zizek, B., Zizek, D., Bedencic, K., Jerin, A. and Poredos, P., “Effect of metabolic abnormalities on endothelial dysfunction in normotensive offspring of subject with hypertension”, *International Journal of Angiology* 32(4), 386-93, 2013.

ÖZ GEÇMİŞ

1983 yılında Balıkesir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Balıkesir’de tamamladı. 2006 yılında Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. Aynı Üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü’nde yüksek lisansını 2009 yılında tamamladı. 2009 yılında Balıkesir Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü’nde doktora programına başladı. 2010 yılında Niğde Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüne geçiş yaparak doktora eğitimini burada sürdürdü. İki uluslararası kongreye poster sunumu, altı ulusal kongreye poster sunumu, bir kongreye sözlü sunumla katıldı. SCI’da taranan 6 yayınına 28 atıf yapılmıştır. İki tane Niğde Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları biriminde, bir tane Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları biriminde olmak üzere toplam üç projede yardımcı araştırmacı olarak görev aldı. İki uluslararası dergi hakemliği devam etmekte olup yabancı dili İngilizcedir.