



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

NİTRİK OKSİT SENTAZ BLOKAJI İLE OLUŞTURULAN HİPERTANSİF
SIÇANLARDA TİROZİN HİDROKSİLAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE PROPOLİS, POLEN
VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN ETKİLERİ

MERVE DURUYÜREK

Ağustos 2017

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

NİTRİK OKSİT SENTAZ BLOKAJI İLE OLUŞTURULAN HİPERTANSİF
SIÇANLARDA TİROZİN HİDROKSİLAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE PROPOLİS,
POLEN VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN ETKİLERİ

MERVE DURUYÜREK

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU

Ağustos 2017

Merve DURUYÜREK tarafından Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU danışmanlığında hazırlanan “Nitrik Oksit Sentaz Blokajı ile Oluşturulan Hipertansif Sıçanlarda Tirozin Hidroksilaz Aktivitesi Üzerine Propolis, Polen ve Kafeik Asit Fenil Esterin Etkileri” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU, Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Eylem TAŞKIN GÜVEN, Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Faruk SELÇUK, Ahi Evran 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. Murat BARUT

MÜDÜR V.

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.

Merve DURUYÜREK

ÖZET

NİTRİK OKSİT SENTAZ BLOKAJI İLE OLUŞTURULAN HİPERTANSİF SIÇANLARDA TİROZİN HİDROKSİLİZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE PROPOLİS, POLEN VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN ETKİLERİ

DURUYÜREK, Merve

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU

Ağustos 2017, 70 sayfa

Nitrik oksit (NO), enzimatik olarak L-Arjinin aminoasitinden sentezlenir. L-Arjinin analoglarından olan N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek organizmada NO üretimini azaltır ve bu durum hipertansiyona sebep olur. Katekolaminler stres durumunda salgılanan nörotransmitterlerdir. Katekolaminlerin salgılanmasında ilk basamak tirozin aminoasitinin tirozin hidroksilaz enzimi aracılığıyla L-3,4 dihidroksifenilalenine (L-DOPA) dönüştürülmesidir. Stres durumuna tirozin hidroksilaz (TH) enzim aktivitesinde artış görülmektedir. Propolis, polen ve kafeik asit fenetil ester (CAPE) fenolik bileşikler açısından zengin arı ürünleridir. Bu çalışmanın amacı L-NAME uygulaması ile NOS inhibisyonu gerçekleştirilerek geliştirilen kronik hipertansif Sprague Dawley türü erkek sıçanlara arı ürünlerinin uygulanması sonucu bu ürünlerin sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH enzim aktivitesi, total RNA miktarı ve total protein miktarı üzerine etkilerini incelemektir. Deney sonuçları gösteriyor ki L-NAME uygulaması ile TH enzim aktivitesi artmaktadır ve arı ürünlerinin uygulanması sonucu TH enzim aktivitesi azalmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Hipertansiyon, tirozin hidroksilaz, propolis, polen, CAPE, L-NAME, rat, adrenal medulla, hipotalamus, kalp

SUMMARY

THE EFFECTS OF POLLEN, PROPOLIS AND CAFFEIC ACID PHENETHYL ESTER ON TYROSINE HYDROXYLASE ACTIVITIES AND TOTAL RNA LEVELS IN HYPERTENSIVE RATS CAUSED BY NITRICOXIDE SYNTHASE BLOCKAGE

DURUYÜREK, Merve

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Professor Dr. Zeliha SELAMOĞLU

August 2017, 70 pages

NO is enzymatically synthesized from L-arginine, a process that can be antagonized by subrogated L-arginine compounds such as N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), which compete for the NO synthase (NOS). Inhibition of NOS reduces NO production and this inhibition caused vasoconstriction. Catecholamines are neurotransmitters which are releasing in stress conditions. Tyrosin hydroxylase has a key role in catecholamine biosynthesis. This enzyme catalyzing a reaction which is converting tyrosine aminoacid to L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA). Stress effects TH enzyme activity. stress conditions increased TH activity. Propolis, pollen and CAPE are natural bee products and this products are rich in polyphenols. The objective of the present study was to evaluate the effects of propolis, pollen, and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on tyrosine hydroxylase (TH) activity, total protein levels and total RNA levels of N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) inhibition of nitric oxide synthase in the heart, adrenal medulla, and hypothalamus of hypertensive male Sprague Dawley rats. All this datas shows that L-NAME treatment increases TH enzyme activity and natural bee products such as propolis, pollen and CAPE modulates the TH enzyme activity.

Keywords: Hypertension, tyrosine hydroxylase, propolis, CAPE, pollen, L-NAME, rat, adrenal medulla, hypothalamus, heart

ÖN SÖZ

Hipertansiyon dünya üzerinde yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sebep olan bir sağlık problemidir. Kan basıncının normal değerlerin üzerinde olması hipertansiyon olarak tanımlanmaktadır. Hipertansiyon bir ya da birçok faktörün etkileşimi ile ortaya çıkan çok yönlü bir hastalıktır. Katekolaminler pozitif ve negatif stres koşullarında salgılanan moleküllerdir. Katekolaminlerin salgılanmasında TH önemli rol oynamaktadır. Yaptığımız bu çalışmada L-NAME ile hipertansif model oluşturularak stres altında bulunan sıçanların TH enzim aktiviteleri incelenmiştir. Daha sonra hipertansif model oluşturulan sıçanlar arı ürünlerinden olan propolis, polen ve CAPE ile tedavi edilmiş, TH aktivitelerinde meydana gelen değişim incelenmiştir. Bu çalışma yaygın bir sağlık problemi olan hipertansiyonun tedavisinde ve hipertansiyonun ortaya çıkarmış olduğu olumsuz durumların azaltılmasında doğal ürünlerin kullanılmasının önemini belirlemeyi amaçlamıştır. Bu çalışmanın bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutmasını temenni ederim. Yaşamımın her alanında yanımda olan ve maddi-manevi desteklerini benden esirgemeyen annem ve babam Serpil&Kenan DURUYÜREK'e, sevgili eşim Mesut KARAKAYA'ya, yüksek lisans öğrenimim boyunca çok şey öğrendiğim değerli danışman hocam Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU'na, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet Fuat GÜLHAN'a ve Cihan DÜŞGÜN'e, bilimsel anlamda bilgilerinden yararlandığım Prof. Dr. Engin ŞAHNA'ya, Doç. Dr. Hasan AKGÜL'e ve Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinasyon birimine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xii
SİMGE VE KISALTMALAR	xiii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	3
2.1 Hipertansiyon	3
2.2 Nitrik Oksit (NO)	4
2.2.1 NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon mekanizmaları	6
2.3 Katekolaminler	7
2.3.1 Katekolaminlerin biyosentezi	8
2.3.2 Katekolaminlerin etki mekanizması	10
2.3.2.1 Adrenerjik reseptörler	10
2.3.2.1.1 α_1 Adrenerjik reseptörler	11
2.3.2.1.2 α_2 Adrenerjik reseptörler	11
2.3.2.1.3 β_1 Adrenerjik reseptörler	11
2.3.2.1.4 β_2 Adrenerjik reseptörler	11
2.3.2.2 Dopaminerjik reseptörler	11
2.3.2.2.1 D ₁ benzeri reseptörler	12
2.3.2.2.2 D ₂ benzeri reseptörler	12
2.4 Tirozin Hidroksilaz	12

2.5 Arı Ürünleri ve Özellikleri.....	13
2.5.1 Propolis	13
2.5.2 Polen	16
2.5.3 Kafeik asit fenetil ester	19
2.6 Tez Kapsamında Çalışılan Dokular	20
2.6.1 Adrenal medulla dokusunun yapı ve fonksiyonları	20
2.6.2 Hipotalamus dokusunun yapı ve fonksiyonları	21
2.6.3 Kalp dokusunun yapı ve fonksiyonları	22
BÖLÜM III MATERYAL VE METOD	24
3.1 Propolis Ekstraktının Hazırlanması	24
3.2 Polen Ekstraktının Hazırlanması	24
3.3 Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) Temini ve Saklama Koşulları.....	24
3.4 Deney Gruplarının Hazırlanışı ve Uygulamalar	25
3.5 Kan Basıncı Ölçümü	26
3.6 Diseksiyon İşlemi	26
3.7 Dokuların Homojenizasyonu	26
3.7.1 Adrenal bezlerin homojenizasyonu	26
3.7.2 Hipotalamus dokusunun homojenizasyonu	27
3.7.3 Kalp dokusunun homojenizasyonu	27
3.8 Total RNA eldesi	27
3.8.1 Ekstraksiyon.....	27
3.8.2 Presipitasyon.....	27
3.8.3 Yıkama ve yeniden çözme	28
3.9 Total Protein Tayini	28
3.10 TH Aktivitesinin Ölçülmesi.....	29
3.11 İstatistiksel Analizler	30
BÖLÜM IV BULGULAR.....	31

4.1 Kan Basınçları.....	31
4.1.1 L-NAME uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri	32
4.1.2 L-NAME+Propolis uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri	32
4.1.3 L-NAME+Polen uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri.....	33
4.1.4 L-NAME+CAPE uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri.....	33
4.2 Dokuların Tirozin Hidroksilaz Aktiviteleri	34
4.2.1 Adrenal medulla dokusunda TH aktiviteleri.....	34
4.2.2 Hipotalamus dokusunda TH aktiviteleri	35
4.2.3 Kalp dokusunda TH aktiviteleri.....	35
4.3 Dokuların Total RNA Düzeyleri.....	36
4.3.1 Adrenal medulla dokularında total RNA düzeyleri	36
4.3.2 Hipotalamus dokularında total RNA düzeyleri	37
4.3.3 Kalp dokularında total RNA düzeyleri	38
4.4 Dokuların Total Protein Miktarları	38
4.4.1 Adrenal medulla dokularında total protein miktarları	39
4.4.2 Hipotalamus dokularında total protein miktarları.....	39
4.4.3 Kalp dokularında total protein miktarları	40
BÖLÜM V TARTIŞMA.....	42
KAYNAKLAR	53
ÖZ GEÇMİŞ	68
TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER	70

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. TH ölçümünde kullanılan çözeltiler ve miktarları.....	30
Çizelge 4.1. Kontrol grubu (Grup I) ve L-NAME uygulanmış gruplarda (Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V) sistolik kan basınçları.....	32
Çizelge 4.2. Kontrol grubu (Grup I), L-NAME grubu (Grup II), L-NAME + Propolis grubu (Grup III), L-NAME+Polen grubunun (Grup IV) ve L-NAME+CAPE grubu (Grup V) 28. günün sonunda sistolik kan basınçları.....	32
Çizelge 4.3. Grupların adrenal medulla dokusunda ölçülen TH aktiviteleri	34
Çizelge 4.4. Grupların hipotalamus dokusunda ölçülen TH aktiviteleri	35
Çizelge 4.5. Grupların kalp dokusunda ölçülen TH aktiviteleri	37
Çizelge 4.6. Grupların adrenal medulla dokularında total RNA düzeyleri	37
Çizelge 4.7. Grupların hipotalamus dokularında total RNA düzeyleri.....	37
Çizelge 4.8. Grupların kalp dokularında total RNA düzeyleri	38
Çizelge 4.9. Grupların adrenal medulla dokularında total protein miktarları.....	39
Çizelge 4.10. Grupların hipotalamus dokularında total protein miktarları.....	40
Çizelge 4.11. Grupların kalp dokularında total protein miktarları	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Katekol kökü.....	7
Şekil 2.2. Katekolaminlerin biyosentezi reaksiyonları.....	8
Şekil 2.3. Kafeik asit ve kafeik asit fenetil esterin yapısı.....	19



FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 2.1. Propolisin kovandaki (a) ve kovan dışındaki görünümü (b).....	15
Fotoğraf 2.2. Polen sepeti (a) ve polen görünümü (b).....	16



SİMGE VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
L-DOPA	3,4 dihidroksifenilalenine
TH	Tirozin Hidroksilaz
CAPE	Kafeik Asit Fenetil Ester
L-NAME	NG-nitro-L-Arginin metil ester
GTP	Guanozin Tri Fosfat
cGMP	Siklik Guanozin Mono Fosfat
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
iNOS	indüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
L-NNA	NG-nitro-L-Arjinin
SOD	Süperoksit dismutaz
MDA	Malondialdehit
PUFA	Poliansatüre Yağ Asitleri
XO	Ksantin oksidaz
BSA	Bovine Serum Albumin
DMBA	7, 12 Dimetilbenzantrasin
DPPH	1,1-difenil-2-pikril Hidrazil
GPx	Glutatiyon Peroksidaz
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

BÖLÜM I

GİRİŞ

Hipertansiyon genel anlamda kan basıncının düzenlenmesinde bozukluk durumu olarak tanımlanabilir. Hipertansiyon dünya üzerinde yüksek morbidite ve mortaliteye sahip hastalıkların başında gelmektedir. Son zamanlarda değişen çevre koşulları bu hastalığın görülme oranının artmasında önemli bir faktör olmuştur (Bayraktar vd., 2005). Hipertansiyon bir ya da birçok faktörün etkileşimi ile ortaya çıkan çok yönlü bir hastalıktır. Sempatik sinir sistemi aktivitesinin artması, sodyum bağlayıcı hormonların üretiminin artması, fazla miktarda vazokonstrüktör madde üretimi, vazodilatör madde üretiminin azalması, obezite, insülin direnci gibi faktörler hipertansiyona sebep olan faktörlerdir (Babalık, 2005). Molekül ağırlığı küçük, su ve lipitte çözünebilen bir madde olan Nitrik Oksit (NO)'in keşfedilmesi ve endotel kaynaklı gevşeme faktörünün NO olarak bildirilmesi sonucunda, NO birçok bilimsel çalışmanın konusunu oluşturmaya başlamış ve NO'ya karşı olan ilgi gün geçtikçe artmıştır. NO, Nitrik Oksit Sentez enzim grubu tarafından, L-Arjinin aminoasitinden sentezlenen bir serbest radikaldir. NO; damar dilatasyonu, nöronlardan impuls iletimi gibi birçok fizyolojik fonksiyonda görev alan bir moleküldür (Aladag vd., 2000). L-NNA, L-NMA, L-NAME gibi çeşitli arjinin analogları ile NOS enzimi inhibe edilerek, NO üretimini engellenmektedir. NO üretiminin engellenmesi ise vazokonstriksiyon ve dolayısıyla hipertansiyonla sonuçlanmaktadır (Türköz ve Özerol, 1997).

Katekolaminler bir benzen halkasına katekolaminlere kolay oksijen alıp verme özelliği kazandıran iki hidroksil grubunun bağlanmasıyla oluşur. Katekolaminler parkinson hastalığı, alzheimer hastalığı, kalp yetmezliği, hipertansiyon, kalp krizi, obezite, depresyon, epilepsi gibi hastalıkların tanısında, bu hastalıkların seyrinin belirlenmesinde önemli olan moleküllerdir. Dopamin, norepinefrin ve epinefrin en çok bilinen katekolamin çeşitleridir (Fonseca vd., 2017). Katekolaminlerin biyosentezinin gerçekleştiği metabolik yolda ilk basamak tirozin aminoasitinin tirozin hidroksilaz (TH) enzimi aracılığıyla 3,4 dihidroksifenilalenine (L-DOPA) dönüşümüdür. Daha sonra çeşitli enzimler aracılığıyla L-DOPA dopamine, dopamin norepinefrine, norepinefrin ise epinefrine dönüştürülür. Bu biyosentez sırasında ilk basamak olan ve stresin önemli bir belirleyicisi olan enzim TH'dir (Brumovsky vd., 2006). Stres süresince var olan TH

enzimleri aktiveşir ve bu aktivasyon çok hızlı gerçekleştiği için TH aktivitesinin ölçülmesi fizyolojik stresin en önemli göstergesi olarak kabul edilir (Xu vd., 2007).

Son zamanlarda doğal ürünlere karşı olan ilginin artması sonucunda propolis, polen, arı sütü gibi doğal arı ürünlerinin araştırılmasına yönelik çalışmalar da artmıştır. Propolis, bal arıları tarafından kovanın bakımının ve inşasının yapılması, çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı kovanın korunması amacıyla üretilen reçineli bir maddedir. Propolis uzun yıllardır geleneksel tıpta çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır (Roberto vd., 2016). Propolis antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiülser, antiinflamatuvar, hepatoprotektif, antioksidan gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip bir maddedir (Bankova, 2005). Polen bitki çiçeklerinin erkek üreme hresidir. Arılar iek poleni ve nektar sağılarını birleştirerek arı polenini oluşturur. Bir arı kovanında polen eksikliğinde, birey sayısında azalış, yaşam sresinde kısalma, çeşitli hastalıkların ortaya çıkması gibi durumlar görülebilir (Avni vd., 2014). Arı poleni de yıllardır geleneksel tıpta kullanılan ürünlerden biridir. Arı poleni; antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjen, antiülser, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antiaterosklerotik, hepatoprotektif, sedatif etki gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir (Ketkar vd., 2015; Zhou vd., 2015). Propolisin yapı ve fonksiyonları, bu fonksiyonlardan sorumlu olan etken maddelerle ilgili birçok çalışma yapılmış olup, kafeik asit fenetil ester (CAPE) bu etken maddelerden biri olarak tanımlanmıştır. CAPE, yapısında fenil ve hidrokarbon grubuna bağlı olarak iki hidroksil grubu içerir. Bu hidroksil grupları ise redoks potansiyeline sahip olmasından dolayı, CAPE'ye antioksidan özellik kazandırır (Akyol vd., 2011). CAPE; antiinflamatuvar, immunomodülatör, antiproliferatif ve antioksidan özelliklere sahip küçük bir maddedir (Coban vd., 2010). Bu çalışmada doğal arı ürünlerinden olan propolis, polen ve güçlü bir antioksidan olan propolisin etken maddelerinden CAPE'nin, L-NAME ile NOS inhibisyonu gerçekleştirilen kronik hipertansif sıçanların kan basıncına, adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH aktivitesine, total RNA ve total protein seviyelerine etkisinin incelenmesi hedeflenmektedir.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Hipertansiyon

Sağlıksız yaşam koşullarının yaygınlaşması ile dünya üzerinde kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, kronik akciğer hastalıkları gibi birçok hastalığın görülme oranında artış meydana gelmiştir (Wet vd., 2016). Dünya Sağlık Örgütüne göre kardiyovasküler hastalıklar dünya üzerinde meydana gelen ölümlerin en önemli sebeplerinden biri olarak görülmektedir (Nguelefack vd., 2009). Dünyada kardiyovasküler hastalıklar sebebiyle yaklaşık olarak her yıl 17 milyon kişi hayatını kaybetmektedir. Bu ölümlerin 9.4 milyonu ise hipertansiyon kaynaklı komplikasyonlar sebebiyle gerçekleşmektedir (Wet vd., 2016). Hipertansiyon dünya üzerinde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir morbidite ve mortalite oranına sahip en sık görülen kardiyovasküler hastalıklardan biridir (Kumar vd., 2014). Hipertansiyon hastalığının görülme sıklığının artmasında yaşlı nüfusun hızla artması, kentleşme oranının artması, obezitenin artması ve diyetle tuz alımının artması gibi faktörler etkili olmaktadır (Tümer vd., 2016).

Hipertansiyon, yüksek kan basıncı olarak tanımlanabilir. Nüfusu 7 milyarı aşan dünyada yüksek kan basıncına sahip hasta sayısı 1 milyarı geçmiştir. Kan basıncının düzenlenmesi sempatik ve parasempatik sinir sistemleri tarafından gerçekleştirilir. Bu sistemler ile kan basıncı sürekli değişiklik gösterir. Meydana gelen değişimleri gözlemek amacıyla devamlı olarak kan basıncını ölçen cihazlar geliştirilmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda yüksek kan basıncı tanısının yapılabilmesi için bazı sınırlar belirlenmiştir. Rahat bir şekilde oturan bir bireyde sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üzeri, diyastolik kan basıncının ise 90 mmHg ve üzeri olduğu durumlarda yüksek kan basıncı tanısı yapılabilmektedir (Sungur, 2013).

Hipertansiyon; genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkabilen, birçok faktörden etkilenebilen çok yönlü bir hastalıktır. Hipertansiyon hastalıklarının yaklaşık %30-50'sinin genetik kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalara göre, insanlarda bulunan 46 kromozomdan, 13. ve 20. kromozomlar hariç, 44 kromozomun

çeşitli bölgelerinde hipertansiyon bağlantılı genler bulunduğu tespit edilmiştir (Kulah, 2013).

Hipertansiyon etiyojisine göre 2 gruba ayrılır. Bu gruplar; esansiyel hipertansiyon (primer, birincil, nedeni bilinmeyen hipertansiyon) ve sekonder hipertansiyondur (ikincil, nedeni bilinen hipertansiyon). Esansiyel hipertansiyon belirlenemeyen sebeplerle kan basıncının sürekli olarak normal değerlerin üzerinde olmasıdır. Hastaların %95'i esansiyel hipertansiyona sahiptir. Sekonder hipertansiyonda ise hastalığın sebebi bilinmektedir. Daha çok genç yaş grubunda görülür ve genellikle başka bir hastalığa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Hastaların %5'i sekonder hipertansiyona sahiptir (Özerkan F., 2000; Zungur ve Yıldız, 2004).

2.2 Nitrik Oksit (NO)

NO, küçük molekül ağırlığına sahip heterodiatomik serbest bir radikaldır (Aladağ vd., 2000). NO, bir serbest radikal olarak adlandırılmasına karşın diğer serbest radikallerden farklı olarak düşük derişimde birçok fizyolojik olayı gerçekleştirir. NO, yüksüz ve eşlenmemiş elektron çiftine sahip bir molekül olduğu için, hücreler arasında hiçbir engelle karşılaşmadan hücre zarından doğrudan geçebilir (Türköz ve Özerol, 1997). Küçük bir molekül olan NO, hücre zarından geçer ve yapısında demir ve/veya sülfür içeren protein moleküllerine bağlanır (Aladağ vd., 2000). NO'nun yarı ömrü birkaç saniyedir. Bu sebeple NO, biyolojik sistemlerde çok kısa bir süre içerisinde nitrit ve nitrata dönüştürülür (Altınayar vd., 2005).

Dünyada meydana gelen ölümler içerisinde kardiyovasküler hastalıklar çok önemli bir yere sahiptir. Yapılan araştırmalara göre NO üretiminin azalması kardiyovasküler hastalıklara sebep olmaktadır (Oliveira-Paula vd., 2016a). NO, özellikle sinir hücrelerinin ve damar düz kasının hücre duvarında bulunan guanilat siklazı aktif hale getirir. Guanilat siklazın aktifleşmesi ise guanozin tri fosfattan (GTP) siklik guanozin mono fosfat (cGMP) oluşumunu gerçekleştirir. Bu olay nöronlardan impuls geçişi, kas gevşemesi gibi fizyolojik olayları gerçekleştirir. Böylece NO, damar dilatasyonu üzerinde etki göstermiş olur. NO, endotel tabanlı gevşeme faktörü olarak adlandırılır (Türköz ve Özerol, 1997; Aladağ vd., 2000; Leo vd., 2015). NO, vasküler tonusu, hücre proliferasyonunu, lökosit adhezyonunu ve trombosit agregasyonunu kontrol altında

tutarak vasküler dengenin korunmasında büyük bir öneme sahiptir (Oliveira-Paula vd., 2016b).

NO'nun fazla miktarda üretimi, programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozisi hızlandırır. Böylece hücre ölümlerine yol açabilir. Kardiyovasküler sistem içerisinde bazı sinirler, kan hücreleri, düz damar kası NO sentezi yapabilmesine karşın NO'nun temel kaynağı endotel hücrelerdir (Vanhoutte, P.M., 2004). NO'nun üretim mekanizmaları içerisinde ilk keşfedilen L-Arjinin aminoasitinden NO üretimidir. L-Arjinin, nitrik oksit sentaz (NOS) için çok iyi bir substrattır (Zhao vd., 2015). NO, NOS enzim ailesi tarafından L-Arjinin aminoasitinin terminal guanidin grubunun NO'ya çevrilmesiyle üretilir (Aladağ vd., 2000). L-Arjinin'den NO üretimini gerçekleştiren NOS, tetrahidrobiyopterin (BH₄), flavin adenin di nükleotit, flavin mono nükleotit, kalmodulin ve demir 9 protoporfirin gibi kofaktörlere ihtiyaç duyar (Zhao vd., 2015).



NOS'un 3 farklı izoformu bulunur. Bu izoformlar otozomlar üzerinde bulunan 3 farklı gen tarafından sentezlendiği için birbirinden farklılık gösterir (Levinsson vd., 2014). NOS, sahip olduğu fizikokimyasal ve kinetik özelliklerine göre konstitüf ve indüklenebilir NOS olarak 2 grupta incelenir (Aladağ vd., 2000). Kalsiyuma bağımlı NOS olarak bilinen konstitüf NOS, özellikle damar endoteli, idrar yolu dokuları, merkezi ve çevresel sinir sistemi dokularında yerleşmiştir. NOS, bu dokularda her zaman mevcut olmasına karşın aktive olabilmesi için kalsiyuma ihtiyaç duyar (Türköz ve Özerol, 1997). Hücre içi kalsiyum derişimi azaldığında konstitüf NOS inaktif duruma gelir. 12. Kromozom tarafından kodlanan nöronal NOS (nNOS ya da NOS 1) ve 16. Kromozom tarafından kodlanan endotelyal NOS (eNOS ya da NOS 3) aktifleşmek için kalsiyuma ihtiyaç duyar (Aladağ vd., 2000). İndüklenebilir NOS ise hücre içerisinde bulunmaz, damar endotel hücreleri ve makrofaj hücreleri tarafından üretimi gerçekleşir. İndüklenebilir NOS, kalsiyumdan bağımsız NOS olarak da adlandırılmaktadır. Bu tip NOS'un üretimi günlerce hatta haftalarca devam edebilir. Fakat aşırı miktarda üretimi dokularda hasara yol açabilir. Bu durumda L-Arjinin benzeri moleküller ve glukokortikoidler tarafından enzimin sentezi inhibe edilir (Türköz ve Özerol, 1997). Kromozom 7 tarafından kodlanan indüklenebilir NOS (iNOS ya da NOS 2) kalsiyumdan bağımsız olarak üretilir (Aladağ vd., 2000).

nNOS, hem merkezi hem de çevresel sinir sisteminde NO üretir. nNOS, hücrelerin birbirleriyle iletişim kurması açısından önemlidir. Ayrıca nNOS; asetilkolin, histamin ve serotonin gibi nörotransmitterlerin salgılanmasını kontrol eder (Zhao vd., 2015).

NO, genellikle endotel hücreler tarafından üretilen lipofilik, küçük bir gazdır. eNOS'un farmakolojik olarak inhibe edilmesi kardiyovasküler sistem bozukluklarına ve hipertansiyona sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalara göre eNOS'u inhibe edilmiş farelerde, kan basıncı yükselmiştir ve diğer kardiyovasküler hastalıklar ortaya çıkmıştır (Oliveira-Paula vd., 2017). Bu alanda birçok çalışma yapılmış olup bu çalışmalara göre eNOS eksikliğinin vazokonstriksiyon ve sonuçta hipertansiyona sebep olduğu gözlenmiştir (Aladağ vd., 2000).

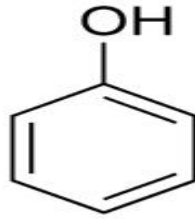
2.2.1 NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon mekanizmaları

Esansiyel hipertansiyon, günümüzde en yaygın görülen sağlık problemlerinden biridir. Bu konuda yapılan araştırmalar hipertansiyona sebep olan faktörler üzerine yoğunlaşmıştır. Yapılan tespitlerde kan basıncı artışının NO sentezinde azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir (Oktar vd., 2007). Farmakolojik olarak NO sentezinin inhibe edilmesi birçok hayvan türünde hipertansiyona yol açmaktadır. Bu sebeple NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelleri sıklıkla deneylerde kullanılmaktadır (Fadıllıoğlu vd., 2002).

NO, NOS enzimleri aracılığıyla L-Arjininin deaminasyonu ile sentezlenir. NG-nitro-L-Arjinin (L-NNA) ve NG-nitro-L-Arjinin metil ester (L-NAME) L-Arjininin analoglarıdır. Deneysel çalışmalarda bu analogların uygulanmasıyla NOS enzimleri kronik olarak inhibe edilmiştir. Bu inhibisyon ise kan basıncında artışa sebep olmaktadır (Oktar vd., 2007). Deneysel anlamda en çok kullanılan hipertansiyon modeli NOS'un L-NAME ile kronik inhibisyonudur (Hmaid vd., 2016). L-NAME'in uzun süreli olarak uygulanması hipertansiyon, intrarenal vasküler, tübüler ve glomerüler lezyonlar, böbrek fonksiyonlarında azalma gibi durumlarla sonuçlanmıştır (Fadıllıoğlu vd., 2002).

2.3 Katekolaminler

Katekolaminler bir benzen halkasına katekol olarak adlandırılan iki hidroksil grubunun bağlanmasıyla oluşan monoaminlerdir. Bu benzen halkası katekolaminlere ışığa duyarlı olma ve kolay okside olma gibi özellikler kazandırmıştır. Kimyasal olarak katekolaminler, biyoaminler içerisinde bulunur. Amino özelliği yan zincirinde bulunan katekol grubundan kaynaklanır (Altun vd., 2015; Fonseca vd., 2017).



Şekil 2.1. Katekol kökü (Selamoğlu Z., 2000)

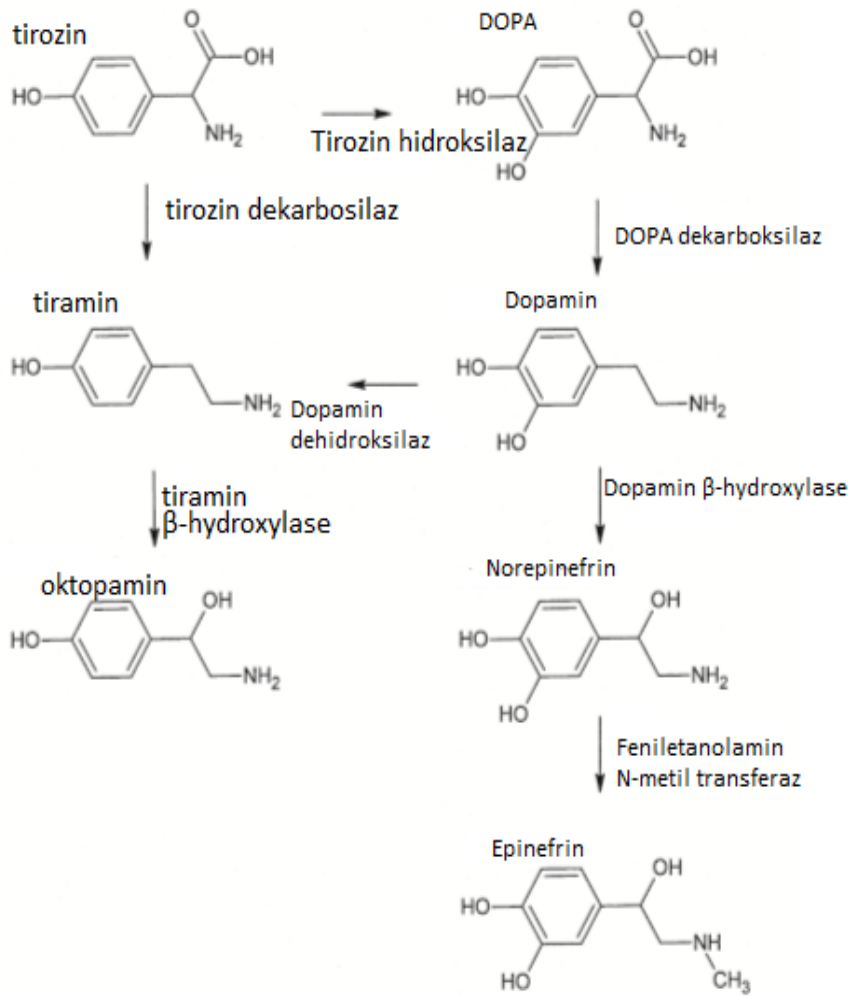
Dopamin, norepinefrin ve epinefrin en çok bulunan endojen katekolaminlerdir. Bu katekolaminler endokrin ve sinir sisteminde roller oynayan nörotransmitterler ya da hormonlardır. Katekolaminler ve onun metabolitleri; nöroendokrin tümörler, parkinson hastalığı, alzheimer hastalığı, kalp yetmezliği, hipertansiyon, kalp krizi, obezite, depresyon ve epilepsi gibi birçok hastalığın seyrini incelemede, hastalıkların tanısında önemlidir (Fonseca vd., 2017).

Bir organizmada katekolaminlerin 2 önemli kaynağı vardır. Bunlar; sempatik sinir uçları ve adrenal medullada bulunan kromaffin hücrelerdir. Vücutta dolaşan epinefrinin temel kaynağı adrenal medullada bulunan kromaffin hücrelerdir. Fizyolojik stresten uzak durumda total adrenal katekolamin salgısının yaklaşık %70-80'ini epinefrin oluştururken yaklaşık %30-20'lik kısmını norepinefrin oluşturur (Lympelopoulos vd., 2016).

Nörotransmitterler; hücreler arasında iletişimi sağlayan, sinir hücreleri tarafından salgılanan moleküllerdir. Simpatoadrenal sistemin kromaffin hücreleri acil durumlarda 'fight or flight' (savaş ya da kaç) reaksiyonları ile vücudun cevap oluşturmasını sağlar ve bu cevabı birçok fizyolojik sistemin düzenlenmesini sağlayan nörotransmitterler ve nörohumoral kimyasal moleküller salgılayarak oluştururlar (Podvin vd., 2015).

Epinefrin; adrenal medulladan salgılanan, stres olaylarında anahtar rol oynayan bir nörotransmitterdir. Epinefrin; metabolik faaliyetleri, kalp ve akciğerle ilgili fizyolojik olayları düzenler. Epinefrin, adrenal medullada dopamin ve norepinefrin gibi sayısız nöropeptitle birlikte bulunur. Bu nörotransmitterler, sempatik aktivasyonla kromaffin hücrelerin uyarılmasıyla salgı veziküllerinden salgılanır (Podvin vd., 2015). Epinefrin ve norepinefrin genellikle adrenomedullar kromaffin hücreler tarafından sentezlenmesine rağmen norepinefrin aynı zamanda sempatik sinir uçlarından da sentezlenebilir (Grouzmann ve Lamine, 2013). Norepinefrinin en önemli görevi, sempatik nöronlardan nörotransmitter olarak salgılanarak kalbi ve kan basıncını etkilemesidir (He vd., 2015).

2.3.1 Katekolaminlerin biyosentezi



Şekil 2.2. Katekolaminlerin biyosentezi reaksiyonları (Gallo vd., 2016)

Dopamin, memelilerde merkezi sinir sisteminde ve endokrin sistemde nörotransmitter olarak anahtar rol oynayan bir moleküldür. Dopamin seviyesinin normalden düşük olması şizofreni, huntington hastalığı, parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklara yol açmaktadır (Tezerjani vd., 2017).

Epinefrin (Adrenalin), adrenal bezlerden salgılanan glikojen metabolizması ve sinir sisteminde hayati öneme sahip bir katekolamindir. Vücutta bulunan epinefrin konsantrasyonu karaciğer ve iskelet kasındaki glikojenezi, adipoz dokudaki lipoliz ve kalp kasılmasını etkiler (Anithaa vd., 2017). Önemli bir nörotransmitter olan epinefrin biyolojik olarak adrenal medullada ve simpatik sinir uçlarında sentezlenir. Epinefrin seviyesinin normalden farklı olması feokromositoma, hipoglisemi, kalp krizi gibi hastalıkların ortaya çıkmasına yol açar (Tezerjani vd., 2017). Epinefrin kalp atış hızında artışa, sistolik ve diyastolik fonksiyonlarda güçlenmeye sebep olur. Epinefrinin kalple ilgili olayları düzenlemesi β -Adrenarjik reseptörlerle etkileşiminden kaynaklanmaktadır (Jiang vd., 2017).

Norepinefrin biyotik ve abiyotik strese cevap veren önemli bir stres hormonudur. Bilimsel çalışmalar gösteriyor ki norepinefrin hisleri, duyguları, glikoz üretimini ve damarların kasılmasını düzenler (Chen vd., 2017).

Dopamin; 3,4 dihidroksifenilaleninin (L-DOPA) dekarboksilasyonu ile üretilir. Tirozin hidroksilaz enzimi ise tirozin aminoasitinden L-DOPA üretimini katalizleyen ve katekolamin biyosentezinde önemli yere sahip bir enzimdir. Aromatik aminoasit dekarboksilaz ve dopamin β hidroksilaz, simpatik nöronlar tarafından üretilen dopamin ve norepinefrin üretiminde etkili olan enzimlerdir. Memelilerin adrenal bezlerinde ve beyinde feniletanolamin N-metil transferaz enzimi norepinefrini epinefrine dönüştürür (Brumovsky vd., 2006).

Omurgasız canlıların Lophotrochozoa ve Ecdysozoa şubelerinde bulunan canlıların sinir sisteminde oktopamin ve dopamin biyoaminlerinin birlikte bulunduğu görülmüştür. Oktopamin, ilk kez yumuşakçalar grubundan *Octopus vulgaris* isimli canlının salgı bezlerinden elde edilmiştir. Yapılan araştırmalara göre oktopaminin norepinefrin ile yapısal olarak benzer olduğu görülmüştür. Oktopamin; nörohormon, nöromodülatör ve nörotransmitter olarak görev yapmaktadır (Gallo vd., 2016).

Katekolaminlerin otooksidasyon reaksiyonlarında katekolaminler oksijen (O_2) tarafından oksitlenir. Bu oksitlenme sonucunda süperoksit radikalleri ve semikuinon üretilir. Semikuinon, kuinon molekülüne başka bir oksijen molekülü tarafından oksitlenebilir. Bu sebeple katekolaminler oksidatif stresle bağlantılı nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır (Melin vd., 2016).

Katekolaminler aynı zamanda terapötik etkiye de sahiptir. Norepinefrin ve dopamin septik şok sırasında öncelikli olarak kullanılan vazodilatör ilaçlardır. Epinefrin ise ikincil olarak kullanılır. Epinefrin, diş hastalıklarında lokal anestezi olarak kullanılan ilaçların bir bileşenidir (Boyanova, 2017).

2.3.2 Katekolaminlerin etki mekanizması

Epinefrin ve norepinefrin etkisini gösterirken hücre yüzeyinde bulunan reseptör molekülleriyle etkileşir. Bu reseptörler adrenerjik ve dopaminerjik reseptörler olarak iki alt gruba ayrılır. Klinik tedavilerde kullanılan ilaçların birçoğu adrenerjik reseptörlere etki ederler. Adrenerjik reseptörlerin aktive olması kalbi hızlandırır ve kalbin kasılma kuvvetini artırır. Adrenerjik reseptörler; kardiyak ve vasküler hipertrofiye, brankadilatasyon, vazokonstrüksiyon, sedasyon ve analjeziye yol açar. İnhibe edilmiş adrenerjik reseptörler ise vazodilatasyon, kalp hızında azalma, kontraksiyon ve prostat düz kaslarında gevşemeye yol açar. Adrenerjik reseptörlerde meydana gelen değişimler hipertansiyon, kardiyak iskemi, kardiyak ve vasküler hipertrofi, hipotiroidizm, diyabet, obezite ve astım gibi hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilir (Berecek ve Carey, 2004).

2.3.2.1 Adrenerjik reseptörler

Adrenerjik reseptörler α ve β adrenerjik reseptörler olarak iki alt sınıfa ayrılır. Adrenerjik reseptörler etkilerini guanozin nükleotit bağlayıcı proteinlere (G Proteinleri) bağlanarak gösterirler. Adrenerjik reseptörlerin aktive olması, G proteinlerinin alt birimlerinde Guanozin Tri Fosfatın Guanozin Di Fosfata dönüşümünü katalizler (Lympelopoulos, 2016). α adrenerjik reseptörler α_1 ve α_2 , β adrenerjik reseptörler ise β_1 ve β_2 olarak alt gruplara ayrılır (Altıntaş ve İskit, 2006).

2.3.2.1.1 α_1 Adrenerjik reseptörler

Bu tip reseptörler düz kas, kalp kası, vas deferens ve beyindeki postsinaptik hücrelerde bulunur. Yapılan çalışmalara göre vasküler yatakta bulunan α_1 adrenerjik reseptörlerin uyarılması sonucunda arterlerde vazokonstriksiyon olduğu görülmüştür (Altıntaş ve İskit, 2006).

2.3.2.1.2 α_2 Adrenerjik reseptörler

Bu reseptörlerin çoğu norepinefrin sentezleyen postganliyotik sinir uçlarına bulunur (Berecek ve Carey, 2004).

2.3.2.1.3 β_1 Adrenerjik reseptörler

Kalpte bulunan adrenerjik reseptörlerin çoğu β_1 reseptörleridir. Bu reseptörlerin uyarılması sonucunda kalp kasılma hızı, yağ hücrelerinde lipoliz, böbreklerden renin salınımı uyarılmış olur (Berecek ve Carey, 2004).

2.3.2.1.4 β_2 Adrenerjik reseptörler

Bu reseptörler ise bronşlardaki, kan damarlarındaki, uterus ve mesanedeki düz kasları uyararak bu kasların gevşemesini sağlar (Altıntaş ve İskit, 2006).

2.3.2.2 Dopaminerjik reseptörler

Dopamin; epinefrin ve norepinefrinin öncül maddesidir. Dopamin; hareket, impuls iletimi, hormon sentezi, iyon değişimi, vasküler tonus ve kan basıncı gibi metabolik fonksiyonları düzenler (Berecek ve Carey, 2004). Dopaminerjik reseptörler farmakolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre D_1 benzeri reseptörler ve D_2 benzeri reseptörler olarak iki alt gruba ayrılır. Tüm bu reseptörler G protein eşlenmiş reseptörler içerisinde bulunur (Smeets ve Gonza'lez, 2000).

2.3.2.2.1 D₁ benzeri reseptörler

D₁ benzeri reseptörlerin uyarılması vazodilatasyon, diürez, natriürez ve postural hipertansiyonla sonuçlanır (Berecek ve Carey, 2004).

2.3.2.2.2 D₂ benzeri reseptörler

Presinaptik D₂ benzeri reseptörler simpatik sinirlerden norepinefrin salınımını engellerler (Berecek ve Carey, 2004).

2.4 Tirozin Hidroksilaz

Tirozin hidroksilaz (TH), L-Tirozin aminoasitinin L-3,4 dihidroksifenilalenine (L-DOPA) hidroksilasyonunu katalizleyen bir enzimdir. L-DOPA ise dopamin, norepinefrin ve epinefrin katekolaminlerinin öncül maddesini oluşturur (Skjevik vd., 2014). TH L-tirozini L-DOPA'ya çevirirken moleküler oksijen (O₂), demir (Fe²⁺) ve tetrahidrobiopterin (BH₄) gibi kofaktörleri kullanır (Mapanao ve Cheng, 2016). L-tirozini L-DOPA'ya çeviren bu enzimin reaksiyonu katekolamin biyosentezinde hız sınırlayıcı bir basamaktır (Louša vd., 2017). Bu sebeple TH, dopamin sentezinin en güvenilir göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir (Taufique ve Kumar, 2016). TH, insan kromozomunun 11p15 bölgesinden kodlanan bir enzimdir (Kessler vd., 2003).

Nörotransmitter salgılanması fizyolojik stresin ilk belirtisidir. TH hem omurgalı hem de omurgasız hayvanlarda bulunan bir enzimdir. TH, dört özdeş alt üniteden oluşmuş bir tetramerdir (Mapanao ve Cheng, 2016). Adrenal medulla çok yüksek bir TH aktivitesine sahiptir. Bunun yanı sıra simpatetik ganglia, vas deferens, tükürük bezleri, pankreas, karaciğer, kalp, böbrek gibi doku ve organlar da TH aktivitesine sahiptir (Kubovcáková vd., 2001). Akut stres süresince önceden var olan TH molekülleri, enzimin N terminalindeki serin aminoasitinin fosforilasyonu sonucunda aktive edilir. Bu aktivasyon çok hızlı gerçekleştirildiği için stresin belirtisi olarak kabul edilir (Xu vd., 2007). TH aktivitesi birçok mekanizma tarafından kontrol edilir. TH aktivitesi bu enzimin son ürünleri olan katekolaminler tarafından inhibe edilebilir. Aynı zamanda

çeşitli protein kinazlar tarafından serin 40 ve/veya serin 19'un fosforilasyonu ile de inhibe edilebilir (Ohye vd., 2001).

Yapılan birçok çalışmada deney hayvanlarını strese maruz bırakmanın deney hayvanlarının beyinde TH enzim aktivitesini etkilediği gözlenmiştir. Ratlar ayak şokuna maruz bırakıldığında ratların adrenal medulla ve beyinde norepinefrin salgılanmasını sağlayan lokus coeruleus bölgesinde TH aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda soğuk stresi ve nikotinin beyindeki adrenal bezlerden salgılanan TH aktivitesini artırdığı görülmüştür (Girard-Joyal ve Ismail, 2017). TH enzim aktivitesinin azalması parkinson, alzheimer gibi birçok nöropsikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıkla ilişkilidir (Skjevik vd., 2014).

2.5 Arı Ürünleri ve Özellikleri

Arılar ve arı ürünleri geçmiş zamanlardan beri yiyecek olarak ya da hastalıklarda tedavi edici unsur olarak kullanılmaktadır. Arı ürünlerinin bu tedavi edici etkisi apiterapi olarak adlandırılmaktadır (El-Aidy vd., 2015). Dünya çapında gün geçtikçe daha sağlıklı yaşam koşullarına sahip olmak için doğal ürünlere ve farmosötik endüstriye karşı olan ilgi artmaktadır (Araújo vd., 2016). Arılar bal haricinde balmumu, propolis, arı poleni, arı sütü gibi arı ürünlerini de üretir. Bu doğal arı ürünleri çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahiplerdir (Premratanachaive Chanchao, 2014).

2.5.1 Propolis

Propolis kelime olarak Eski Yunanca'dan gelmektedir. 'Pro' kelimesi ön, giriş ve 'polis' kelimesi ise bir yerin savunması anlamına gelmektedir. Arılar kovan savunması için propolisi kullanırlar (Bankova vd., 2000). Propolis dünya çapında geleneksel tıpta yanık, yara, mide ülseri ve boğaz ağrısının tedavisinde yıllardır kullanılmaktadır (Abdul-Hamid vd., 2017). Propolisin keşfi yeni bir keşif değildir. M.Ö. 300 yılından beri dünyanın birçok yerinde tedavi amaçlı kullanılan bir maddedir. Eski Mısırlılar ölümlerini mumyalamak amacıyla, Boer Savaşında yaralananların yaralarının tedavisinde ve doku rejenerasyonu sağlamak amacıyla propolisi kullanmışlardır (Sforcin, 2007). Günümüzde tahmini olarak dünya nüfusunun % 60'ı ilaç olarak doğal ürünlere güvenmektedir. Şu anda kullanılan mevcut ilaçların yarısından fazlası doğal ürünlerden ya

da doğal ürünlerle ilişkili bileşenlerden oluşmaktadır. Özellikle kanser ilaçlarının % 70'den fazlası doğal ürün türevli ilaçlardır (Silva-Carvalho vd., 2014).

Propolis bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından bitkilerin yaprakları, tomurcukları, tohumları, çiçekleri gibi çok çeşitli organlarından elde edilen reçineli bir maddedir. Arılar bu maddeye enzim açısından zengin bir salgı ve balmumu ekleyerek kovanların inşasında kullanmaktadır (Roberto vd., 2016). Arılar reçineli maddeleri çeneleriyle taşır ve bu reçineli maddeleri arka bacaklarında polen sepeti olarak bilinen pürüzsüz, parlak ve yarı transparan damlacıklar halinde görülen bölgeye aktarır. Arılar propolis üretmek için topladıkları maddeler konusunda çok seçicidirler (Duke vd., 2017). Propolis çok güçlü yapışma özelliğine sahip bir maddedir. Bu özelliğinden dolayı arılar kovanı inşa etmek, kovan bakımını yapmak ve kovanı korumak için propolisi kullanırlar (Patel vd., 2015). Propolis sadece inşa amaçlı kullanılan bir madde değildir. Arıların patojen mikroorganizmalara karşı kullandığı kimyasal bir silahtır. Propolis geleneksel tıpta tedavi amaçlı kullanıldığı için son 30 yıldır birçok farmakolojik ve kimyasal çalışmanın ilgi odağı olmuştur (Bankova, 2005).

Propolisin bileşimi %50 reçine ve balzam, %30 balmumu, %10 aromatik yağlar, %5 polen ve %5 organik maddeler ve inorganik tuzlardan oluşur (Pierini vd., 2016). Propolisin kimyasal yapısında polifenoller, flavonoidler, fenolik asitler ve onun esterleri, terpenler, β steroidler, yağ asitleri, aromatik aldehytler, alkoller, naftalin ve stiben türevleri gibi 300'den fazla bileşen vardır (Almutairi vd., 2014; Silva-Carvalho vd., 2014). Propolisin faydaları içerdiği polifenoller, terpenler, aminoasitler ve inorganik bileşenlerle ilişkilidir (Pierini vd., 2016). Tropikal bir propolis organik maddeler haricinde Cu, Mn, Fe, Ca, Al, Si ve V gibi inorganik elementleri de bulundurmaktadır (Roberto vd., 2016).

Propolisin bileşenleri ve rengi coğrafik alan, bitkisel kaynaklar, toplanılan mevsim, bal arısının ırkı, iklimsel özellikler ve toplanma şekline göre çeşitlilik gösterir (Pierini vd., 2016; Roberto vd., 2016). Propolisin kırmızı, yeşil ve koyu kahverengi gibi renkleri mevcuttur ve propolis karakteristik bir kokuya sahiptir (Sforcin, 2007).



a



b

Fotoğraf 2.1. Propolisin kovandaki (a) ve kovan dışındaki görünümü (b)

Propolisin ekstraksiyon metodları onun aktivitesini etkilemektedir. En çok kullanılan ekstraksiyon yöntemleri etanol, metanol ve su içerisinde çözdürmedir (Sforcin, 2007).

Yapılan çalışmalar sonucunda propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiülser, lokal anestezi, antiinflamatuvar, hepatoprotektif, antioksidan, antitümör gibi birçok farmakolojik aktivitesinin olduğu saptanmıştır (Bankova, 2005).

Propolis, antiseptik etkisi sayesinde kovayı hastalıklardan korur (Sforcin, 2007). Propolis birçok gram pozitif ve gram negatif bakteriye karşı güçlü bir antibakteriyel etkiye sahiptir. Propolisin antimikrobiyal etkisini nasıl gösterdiği tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak bu etkiden ferrulik asit, kafeik asit fenetil ester gibi kafeik asit türevleri ve karmaşık flavonoid kompozisyonlarının sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Patel vd., 2015).

Propolis reçetesiz olarak bazı cilt hastalıkları için de kullanılmaktadır. Bu hastalıklara örnek olarak, yanık tedavisi, nörodermatit, bacak ülseri, sedef hastalığı, morfea ve uçuk verilebilir. Propolis, aynı zamanda romatizma, burkulma gibi hastalıkların tedavisinde ve diş hekimliğinde kullanılmaktadır. Gingivitis, kelitis, stomatit gibi ağız ve diş hastalıklarında kullanılan diş macunu ve gargaraların içerisinde de propolis bulunur. Yüz kremi, merhemler, losyonlar ve solüsyonlar gibi kozmetik ürünler de propolis içermektedir (Burdock, 1998).

Flavonoidler antioksidan etkisini serbest radikalleri süpürerek ya da reaktif oksijen türlerini stabilize ederek göstermektedirler. Aynı zamanda flavonoidler süperoksit

dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi endojen antioksidan enzimlerin etkilerini de artırmaktadırlar (Ebeid vd., 2016). Biyoflavonoidler; serbest radikallerin süpürülmesi, ateroskleroz, yaşlanma gibi olayların düzenlenmesinde rol oynayan antioksidanlardır (Talas vd., 2013). Flavonoidler lipit peroksidasyonunu kısıtlar ve antihipertansif, antiarktrik nitelikler gibi özelliklere sahiptir. Yapılan bir çalışmada kronik olarak L-NAME ile uyarılmış sıçanlarda oksidatif stres yaratılmış ve bu sıçanlara propolis uygulaması yapılmıştır. Bu uygulama ile oksidatif stresin azaldığı görülmüştür (Talas, 2014). Doğal ürünlerden elde edilen bazı flavonoid ve polifenol türevleri hipotansif özelliğe sahiptir. Propolis L-NAME'in yapmış olduğu hasara karşı koruyucu etki göstermektedir. Bu sebeple propolis L-NAME'in yaratmış olduğu hipertansif ve oksidatif etkilere karşı da koruyucu olabilir (Gogebakan vd., 2012).

Propolisin antitümör etkisiyle ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar gösteriyor ki propolisteki kuersetin, luteolin, artepilin-c, kafeik asit ve kafeik asit fenetil ester propolisin antitümör etkisinden sorumlu bileşenlerdir (Denli vd., 2005).

2.6.2 Polen



a



b

Fotoğraf 2.2. Polen sepeti (a) ve polen görünümü (b)

Arı poleni 'hayat verici toz' olarak adlandırılan ve arıların çiçek poleni ile nektar ve salgıları birleştirerek oluşturduğu bir maddedir (Pascoal vd., 2014). Polen çiçeklerin erkek üreme hücresi olan spermdir. Arıların temel besin kaynağını çiçek polenleri oluşturur. Çünkü çiçek poleni arılar için tek protein kaynağıdır. Bitkiler nesillerini devam ettirebilmek için tozlaşma yoluyla polenlerin taşınmasına ihtiyaç duyarlar. Bu tozlaşma olayı rüzgar, yağmur, kuşlar ve böcekler aracılığıyla gerçekleşir. Bu olayda, polinasyonda büyük bir role sahip olan arılar önemlidir (Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005).

Arılar tarafından toplanan polen insanlar tarafından II. Dünya Savaşından sonra kullanılmaya başlanmıştır. Ama çiçek poleni sahip olduğu faydalardan dolayı çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır (Kostic vd., 2015). Arılar polen toplamaya başlamadan önce bal ile beslenirler. Bal arıları, vücuduna yapışan polenleri orta bacaklarında bulunan fırça yardımıyla toplar. Arılar ağızından çıkardığı salgı ile polenleri birbirine yapıştırır ve arka bacaklarında bulunan polen sepetlerinin içerisinde polenleri depolar (Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005). Bu polen sepetleri 5-10 mg arasında polen alma kapasitesine sahiptir. Arıların bu keseleri doldurabilmesi için her seferinde aynı türden en az 80 çiçeği ziyaret etmesi gerekir (Nonotte-Varly, 2015). Bir bal arısı kolonisi yıllık olarak 15-55 kg arasında polen toplayabilir. Polenin bulunması kovanın homeostazisi açısından çok önemlidir. Bu besinin eksikliği kovanda yaşam süresini kısaltabilir, yavru sayısını azaltabilir, kovanda hastalıkları artırabilir ve arılarda kilo kaybına sebep olabilir (Avni vd., 2014). Polen tanecikleri arılar tarafından çeşitli bitkisel kaynaklardan toplanır. Polen, nektar ve hipofaringeal bezlerden salgılanan β -glükosidaz enzimleriyle karıştırılır (Omar vd., 2016). Aynı zamanda genç işçi arıların hipofaringeal bezlerinden arı sütü adı verilen bir arı ürünü salgılanır ve bu arı ürününün de temel kaynağı polendir (Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005).

Arı poleni sağlık için çok büyük öneme sahip biyolojik olarak aktif bileşenler içerdiği için gün geçtikçe önemi artmaktadır (Sattler vd., 2015). Arı polenin yapısında karbonhidratlar, proteinler, aminoasitler, lipitler, şekerler, lifler, vitaminler ve mineral tuzları bulunur (Omar vd., 2016). Polen içeriği; bitki türüne, yaşına, bitkinin besin değerine, polen toplanırken bulunan çevre koşullarına göre çeşitlilik gösterir. Aynı zamanda iklimsel özellikler, toprak tipi ve arıcılık aktivitesi de polen içeriğini etkiler. (Sattler vd., 2015; Pascoal vd., 2014). Arı poleni yaklaşık olarak %40 karbonhidrat, %35 protein, %4-10 su, %5 lipit ve %5-15 aminoasitler, vitaminler, mineraller, antibiyotik ve antioksidan etkili bazı maddeleri içerir (Morgano vd., 2011). Polen bazı antioksidan vitaminleri de içerir. Bu vitaminlere örnek olarak C vitamini, E vitamini, β -Karoten ve B grubu vitaminler verilebilir (Sattler vd., 2015). Aynı zamanda polen içerisinde Na, K, Ca, Mg, Cl, P, Fe, Cu, I, Mn, Co, Zn ve Ni gibi mineraller de bulunmaktadır (Erdoğan ve Dodoloğlu, 2005). Arılar kolonideki karbonhidratın başlıca kaynağı olan nektarları bal üretmek için toplarlar. Karbonhidratlar genç bal arıları tarafından lipit üretmek amacıyla kullanılır. Polen, arılar için esansiyel yağların da önemli bir kaynağıdır. Arılar bu lipitleri enerji üretmek için ve hücre zarının bir bileşeni

olarak kullanırlar. Böceklerin birçoğu diyetlerinde esansiyel poliansatüre yağ asitlerine (PUFA) ihtiyaç duyarlar. Linoleik asit ve linolenik asit böceklerin bu ihtiyaçlarının karşılanmasında önemlidir. Bu yağ asitlerinden linolenik asit omega 3, linoleik asit ise omega 6 olarak bilinir (Avni vd., 2014).

Arı poleni çok iyi bir takviye gıdadır. Çünkü içerisinde esansiyel aminoasitler bulundurmaktadır. İnsan vücudu bu esansiyel aminoasitleri kendisi üretmediği için besin yoluyla dışarıdan almalıdır. Arı poleni yıllardır besin takviyesi olarak, kozmetik ve tıpta ek bileşen olarak kullanılmaktadır. Arı polenin terapötik etkisi ve koruyucu aktivitesi içerdiği polifenollerle ilişkilidir (Pascoal vd., 2014). Arı poleni aynı zamanda flavonoid glikozitleri için zengin bir kaynaktır. Bu flavonoid glikozitler polene antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjen, antiülser, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antiaterosklerotik, hepatoprotektif, sedatif özellikler gibi biyolojik özellikler kazandırır (Ketkar vd., 2015; Zhou vd., 2015).

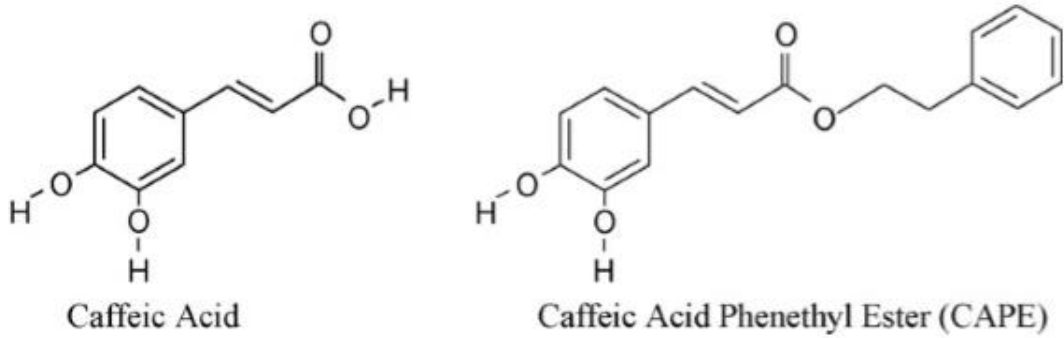
Arı polenin antioksidan etkisi flavonoid glikozitleri, flavonoid aglikanları ve fenolik asit türevlerinden kaynaklanır (El-Asely vd., 2014). Arı poleni reaktif oksijen türlerini nötralize ederek antioksidan etki gösterir. Aynı zamanda arı poleni tümör büyümesini engeller ve kanser hastalıklarında kemoterapiden kaynaklanan ağrıları hafifletir (Omar vd., 2016). Bir çalışmada arı poleninde bulunan flavonoidler ayrıştırılarak saflaştırılmış ve kuarsetin 7 ramnozid, kaempferol 3 glikozit, izoramnetin, kaempferol ve kuarsetin gibi güçlü antioksidan etkiye sahip maddeler izole edilmiştir (Capcarova vd., 2013).

Depresyon, anemi, stresle ilişkili hastalıklar, hafıza kaybı, bağırsak ve prostat hastalıkları, yaşlanma, bağışıklık sisteminin çökmesi gibi birçok tıbbi olayda polenin düzenleyici rolü olduğu bilinmektedir (Morgano vd., 2011).

Arı poleni birçok bitkisel hormona sahiptir. Yapılan araştırmalara göre bu hormonlara ek olarak arı polenin epinefrin ve norepinefrin hormonlarını da bulundurduğu görülmüştür. Bu hormonlar kan damarlarının daraltılması gibi olayları düzenler. Epinefrin ve norepinefrin tirozin aminoasitinden sentezlendiği için metabolizmada üretilen tirozin aminoasitinin kullanımı ve dolayısıyla TH aktivitesi de azaltılmış olur (Karataş ve Şerbetçi, 2008).

2.7.3 Kafeik asit fenetil ester

Kafeik asit; meyve suları, zeytinyağı, propolis ve birçok sebze meyvenin içerisinde bulunan bir fenolik asittir (Liu vd., 2016). Kafeik asit, bitkilerde lignin biyosentezinde önemli rol oynayan ve bitkilerde yüksek oranda bulunan bir maddedir (Sanderson vd., 2013). Kafeik asit fenetil ester (CAPE), bal arıları tarafından üretilen propolisin aktif bileşenlerinden biridir (Park vd., 2004). CAPE, bir fenolik asit türevi olan kafeik asitin esteridir (Widjaja vd., 2008). CAPE, fenil ve hidrokarbon grubuna bağlı 2 adet hidroksil grubuna sahiptir. Bu hidroksil grupları oksijen alıp verme yeteneğine sahip olduğu için CAPE'ye antioksidan özellik kazandırır. CAPE'nin molekül ağırlığı 284.31 g/mol'dür. Kimyasal formülü ise $C_7H_{16}O_4$ 'tür. CAPE; etil asetat, dimetil sülfoksit ve etanol gibi çözücülerde tamamen çözünme özelliğine sahiptir (Akyol vd., 2011). CAPE, yağda çözünebilir küçük bir maddedir. CAPE, lipofilik olduğu için hücre zarından kolaylıkla geçebilir ve hücre içerisine kolayca girebilir (Aladag vd., 2006).



Şekil 2.3. Kafeik asit ve kafeik asit fenetil esterinin yapısı (Widjaja vd., 2008)

Fenolik bileşikler, bitkilerin sekonder metabolitleridir. Bu fenolik bileşikler insan ve hayvan diyetinin ayrılmaz bir parçasıdır (Wu vd., 2007). Fenolik asitlerin başlıca iki grubu vardır. Bunlar hidroksibenzoik asit ve hidroksisinamik asitlerdir. Hidroksisinamik asitler hidroksibenzoik asitlere göre daha fazla antioksidan özelliğe sahiptir (Widjaja vd., 2008). Hidroksisinamatlar fenilpropanoid metabolitleridir ve genellikle bitkilerde ve bitkisel ürünlerde bulunur (Gülçin, 2006). Doğal ürünlerde bulunan polifenolik bileşikler antitümör, antiinflamatuvar, antioksidan gibi birçok faydalı özelliğe sahiptir (Park vd., 2004). CAPE; antiinflamatuvar, immünomodülatör, antiproliferatif ve antioksidan özelliklere sahiptir (Coban vd., 2010).

CAPE, antioksidan etkisini lipit peroksidasyonunu engelleyerek, serbest radikalleri süpürerek, ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz gibi enzimlerin aktivitesini inhibe ederek ve süperoksit dismutaz aktivitesini engelleyerek gösterir (Koksel vd., 2006). CAPE'nin reaktif oksijen türlerinin oluşumunu, malondialdehit ve peroksinitrit oluşumunu engellediği yapılan birçok *in vivo* çalışmada gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada CAPE uygulamasının arterlerde vazokonstriksiyonla sonuçlandığı görülmüştür (Aladag vd., 2006). CAPE, nötrofillerde ve ksantin/ksantin oksidaz sisteminde, serbest radikallerin üretimini inhibe ederek antioksidan etki gösterir (Hepşen vd., 1996). Yapılan bir çalışmaya göre iskemi-reperfüzyon hasarı uyarıldığında CAPE'nin böbrek dokusu, omurilik ve beyinde lipit peroksidasyonunu önlediği tespit edilmiştir (Wu vd., 2007). Yapılan başka bir çalışmada ise sıçanlarda ısı ile yanık oluşturulmuştur. Bu sıçanlara CAPE uygulaması yapıldığında ksantin oksidaz aktivitesinin inhibe olduğu, MDA ve NO seviyesinin azaldığı görülmüştür (Seven vd., 2007). CAPE, aynı zamanda lipooksijenaz ve siklooksijenaz yollarını inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermektedir (Parlakpınar vd., 2012). Ayrıca antikanser tedavisi ile birlikte CAPE kullanımı da önerilmektedir (Widjaja vd., 2008).

2.6 Tez Kapsamında Çalışılan Dokular

Tez kapsamında sıçanlardan alınan adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokusu üzerinde çalışılmıştır.

2.6.1 Adrenal medulla dokusunun yapı ve fonksiyonları

Böbrek üstü bezleri (adrenal bezler) her iki böbreğin üst tarafında bulunur ve ağırlığı 12-18 g'dır. Bu bölge kan damarları açısından zengindir (Güneş, 2010). Memelilerde adrenal bezler, iç kısımda bulunan ve adrenal medulla olarak adlandırılan kahverengi renkli iç kısım ve adrenal korteks olarak adlandırılan pembe renkli dış kısım olmak üzere iki ayrı bezden oluşur. Bu bezlerin embriyonik kökenleri birbirinden farklı olduğu için görevleri ve salgıladığı hormonlar da birbirinden farklıdır (Campbell ve Reece, 2008; Güneş, 2010). Adrenal medulla, savaş ya da kaç cevabının oluşmasını sağlayan katekolaminlerin salgılandığı bölümdür. Adrenal korteks ise vücutta mineral ve enerji dengesinin korunmasını sağlayan steroid yapılı hormonların salgılandığı bölümdür. Adrenal medulla embriyonik köken olarak ektoderm kökenli nöral krest hücrelerinden

köken almıştır. Bu yüzden adrenal medulla sinir sistemi ile ilişkilidir. Adrenal korteks ise embriyonik köken olarak mezoderm kökenlidir (Fox, 2009). Böbrek üstü bezlerinde rejenerasyon olmadığı için bu bölgede bir hasar meydana geldiğinde yenilenme görülmez. Sempatik sinir telleri adrenal medullada bulunan kahverengi renkli kromaffin hücreler ile sinaps yapar. Bu sinaps ile sempatik sinir uçlarından asetilkolin salgılanır. Asetilkolin ile uyarılması sonucu bu bölgeden katekolamin adı verilen epinefrin ve norepinefrin hormonları salgılanır (Yaman, 2009). Epinefrin, norepinefrin ve diğer katekolaminler pozitif ve negatif stres oluştuğunda salgılanır. Bu hormonlar salgılandığında vücudun enerji ihtiyacı oluştuğu için bu hormonlar, karaciğer ve çizgili kaslarda depo glikojeni glikoza çevirerek kana verilmesini sağlar. Bu hormonlar adipoz dokudan yağ asitleri salgılanmasını da uyarır. Yağ asitleri de solunum reaksiyonları sırasında enerji kaynağı olarak kullanılabilir (Campbell ve Reece, 2008). Medulla hormonları aynı zamanda kalbi de etkilemektedir. Bir çalışmada kalp preparatı üzerine epinefrin ve norepinefrin hormonları uygulandığında kalbin atış sayısının ve hacminin arttığı tespit edilmiştir. Medulla hormonlarının salgılanmasıyla kalbin oksijen tüketimi artar. Aynı zamanda koroner damarları genişletir. Böylece kalpte kan akımı artmış olur. Katekolaminlerin salgılanması kalpte ekstrasistol oluşturur ve kalpte ritim bozukluğuna yol açabilir (Yaman, 2009).

2.6.2 Hipotalamus dokusunun yapı ve fonksiyonları

Embriyonik dönemde ön beyin diensephalon isimli bir bölümü ergin dönemde farklılaşarak epitalamus, talamus ve hipotalamus olarak adlandırılan üç beyin bölümünü oluşturur. Hipotalamus ağırlık olarak birkaç gram olmasına rağmen homeostazinin devamlılığı açısından çok önemli işlevlere sahiptir (Campbell ve Reece, 2008).

Hipotalamus, talamusun alt kısmında yer alır. Hipotalamus küçük ama çok önemli bir beyin bölgesidir. Bu beyin bölgesi açlık ve susuzluğu kontrol eden nöral bölgeler içerir. Vücut sıcaklığının ayarlanmasında vücudun termostatu olarak görev alır. Aynı zamanda hipofiz bezinden hormon salgılanmasını da kontrol eder. Bunlara ek olarak, uyku-uyanıklık, cinsel uyarım gibi fizyolojik özellikleri ve korku, öfke, acı, zevk gibi duyguların düzenlenmesini sağlar. Sempatik ve parasempatik reflekslerin koordinasyonu hipotalamusun somatik ve endokrin cevapları ile düzenlenir (Fox, 2009). Hipotalamus çevresel ve içsel sinyalleri algılayarak vücudun uygun cevabı

oluşturmasını sağlar. Vücudun endokrin ve vejetatif görevlerinin çoğunu ve birçok duygusal davranışı düzenler. Hipotalamus vücudun farklı bölgelerinden gelen sinyalleri toplar ve bunları birleştirir. Bu sinyalleri birleştirerek hipofiz bezine aktarır. Böylece hipotalamus vücudun hormon salgılanmasında önemli bir bölge olan hipofizin işlevlerinin düzenlenmesini sağlar (Balkancı ve Pehlivanoğlu, 2008). Memelilerde hipotalamus bölgesinde suprakiazmatik çekirdek olarak adlandırılan bir çift yapı, biyolojik saat olarak işlev görür. Biyolojik saatler vücutta çeşitli fizyolojik işlemlerin düzenlenmesinde önemlidir (Campbell ve Reece, 2008).

2.6.3 Kalp dokusunun yapı ve fonksiyonları

Kalp büyüklüğü kişiye, kişinin yaşına ve cinsiyetine göre farklılık gösterir. Ancak, ortalama olarak insan kalbi erkeklerde 280-340 g, kadınlarda ise 230-280 g ağırlığındadır. Temel olarak kalp, 4 odacıktan oluşur, bunlar üstte bulunan 2 atrium (kulakçık), altta bulunan 2 ventriküldür (karıncık) (Solak vd., 2011). Yer çekiminin etkisi ile kan atriumlardan ventriküllere geçer. Kalp konum olarak göğüs boşluğunda sağ ve sol akciğerler arasında bulunur. Kalp insanda 2-5. kaburgalar arasında bulunur. Kalbin sağ tarafında atrium ve ventriküller arasında triküspit kapakçıklar, sol tarafında ise biküspit kapakçıklar bulunur. Kalp epikardiyum, miyokardiyum ve endokardiyum olmak üzere 3 tabakadan oluşur. Miyokardiyum çizgili kaslardan oluşmasına rağmen çizgili kaslardan farklı olarak istemsiz çalışır (Yaman, 2009). Epikardiyum tabakası kalbi dıştan saran zar tabakasıdır. Miyokardiyum kalbin kas tabakasıdır. Endokardiyum ise kalbin iç boşluklarını örten tek sıralı endotel ve bağ dokudan oluşan ince bir tabakadır. Endokardiyum sürtünmenin az olduğu yerlerde daha incedir. En kalın olduğu yer ise aort ağzıdır (Solak vd., 2011).

İnsan ve diğer omurgalılarda kapalı dolaşım sistemi görülür. Bu sistem kardiyovasküler sistem olarak adlandırılır. İnsan vücudunda toplam uzunluğu 100.000 km'ye ulaşan arterler, venler ve kılcal damarlar olmak üzere 3 tip damar bulunur. Arterler kanı kalpten alarak tüm vücuda dağıtır. Venler ise vücuttan topladığı kanı kalbe getirir. Kılcal damarlar, madde alışverişinin yapıldığı çapı küçük olan ince damarlardır. Kalp kasıldığında kan pompalanır ve gevşediğinde kalbin odacıkları kan ile dolar. Bu kasılıp gevşeme olayı bir döngü içerisinde gerçekleşir. Bu döngüye kardiyak döngü denir (Campbell ve Reece, 2008).

Yaptığımız bu çalışmada NOS inhibitörü L-NAME ile hipertansif sıçan modeli oluşturularak, bu sıçanların propolis, polen ve CAPE gibi antioksidan ajanlarla tedavi edilmesi sonucu adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH aktivitesi, total RNA miktarı ve total protein miktarı gibi parametrelerdeki değişimler incelenerek, terapötik ürünlerin kullanımının kan basıncı ve hipertansiyon üzerine etkilerini araştırmak hedeflenmiştir.



BÖLÜM III

MATERYAL VE METOD

3.1 Propolis Ekstraktının Hazırlanması

Ham propolis Balıkesir iline bağlı Kocaavşar Köyü'ndeki bir arı çiftliğinden temin edildi. Toplanan propolislerin ekstraksiyonu % 70'lik etil alkol çözeltisine 30 g propolis eklenerek yapıldı. Hazırlanan propolis çözeltisi ışıktan korunmak suretiyle karıştırıcı tabla yardımı ile 36 saat süresince karıştırıldı. Elde edilen karışım, filtre kağıdı yardımı ile 2 kez süzüldükten sonra evaporasyonla alkolü uçurularak kullanılana kadar 4 °C' de ışıktan korunarak saklandı. Literatür taramaları sonucunda sıçanlara uygulanan propolis dozu 200 mg/kg/gün olarak belirlendi (Talas ve Gulhan, 2009; Gogebakan vd., 2012).

3.2 Polen Ekstraktının Hazırlanması

Arı poleni Balıkesir ilinin Kocaavşar köyünde bulunan arı çiftliğinden tedarik edildi. Arı polenin ekstraksiyonu etil alkolde 1 saat bekletilerek yapıldı ve bu işlem 3 kez tekrar edildi. 15 dakika sonikatörde bekletilen arı poleni daha sonra filtre edildi. Bu işlem sonrasında vakum altında kurutuldu. Yapılan işlemler sonucunda elde edilen kuru ve toz haline getirilen arı poleni deneysel çalışmada kullanılana kadar +4°C'de ışıktan korunarak muhafaza edildi. Literatür taramaları sonucunda deney hayvanlarına uygulanacak polen dozu 100 mg/kg/gün olarak belirlendi (Gulhan vd., 2014; Selamoğlu vd., 2016).

3.3 Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) Temini ve Saklama Koşulları

Sigma-Aldrich firmasından elde edilen toz halindeki CAPE'nin kimyasal formülü $C_{17}H_{16}O_4$ ve molekül ağırlığı 284.3 g/mol'dür. Etil asetat, dimetilsülfoksit ve etanolde tamamen çözünen CAPE -20 °C'de saklandı. Bu çalışmada CAPE çözeltisi seyreltik etanol ile hazırlandı. Literatür taramaları sonucunda deney hayvanlarına uygulanacak CAPE dozu 50 µM/kg/gün olarak belirlendi (Parlakpınar vd., 2012).

3.4 Deney Gruplarının Hazırlanışı ve Uygulamalar

Deneyleerde kullanılan 220-250 g ağırlığında Spraque-Dawley türü erkek sıçanlar (n=35) Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar; standart koşullarda (12 saat gün ışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, 21-22 °C sıcaklıktaki odalarda) hareket etmesine engel olmayan geniş kafeslerde barındırılmıştır.

Hipertansiyon oluşumuna yol açan L-NAME, 4 hafta süresince intraperitoneal olarak uygulanmıştır. 14. ve 28. günler arasında deney hayvanlarına propolis, polen ve CAPE uygulaması yapılmıştır. Deney hayvanlarının ağırlıkları, çalışma başlangıcında (0. gün), ortasında (14. gün) ve sonunda (28. gün) elektronik tartı yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir. Sıçanların beslenmesinde pellet yem kullanılmıştır. Deneklerin yem yemeleri ve su içmeleri serbest bırakılmıştır. Bu çalışmanın tüm prosedürleri ve çalışma protokolü Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönetmeliğine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Deneyleerde kullanılan 35 adet Spraque-Dawley türü erkek sıçanlar, her grupta 7 sıçan olmak üzere, 5 gruba ayrılmıştır.

Grup I: Kontrol Grubu (n=7)

Bu grupta 7 adet Spraque-Dawley türü erkek sıçanlar bulunmaktadır. Bu grupta bulunan sıçanlara 28 gün süresince intraperitoneal (i.p.) olarak 0.5 mL %0,9 izotonik NaCl çözeltisi enjekte edildi.

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

Bu grupta bulunan 7 adet Spraque-Dawley türü erkek sıçanlara 28 gün süresince serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüş olan 40 mg/kg/gün L-NAME enjekte edildi.

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

Bu grupta bulunan 7 adet Spraque-Dawley türü erkek sıçanlara 28 gün süresince serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüş olan 40 mg/kg/gün L-NAME uygulaması yapıldı. 14. günün sonunda başlanan ve 28. günün sonuna kadar devam eden sürede distile suda çözdürülmüş olan 200 mg/kg/gün propolis gavaj ile uygulandı.

Grup IV: Hipertansiyon (L-NAME) + Polen Grubu (n=7)

7 sıçandan oluşan bu gruba 28 gün boyunca i.p. olarak 40mg/kg/gün L-NAME uygulaması yapıldı. 14. günün sonunda dozu 100 mg/kg/gün olarak belirlenen polen distile suda çözdürülerek 28. günün sonuna kadar gavaj yardımıyla uygulandı.

Grup V: Hipertansiyon (L-NAME) + CAPE Grubu (n=7)

Bu grupta bulunan sıçanlara 28 gün süresince serum fizyolojik içerisinde çözdürülmüş olan 40 mg/kg/gün L-NAME uygulaması i.p. olarak yapıldı. CAPE çözeltisi %1'lik etil alkol içerisinde 50 µM/kg CAPE çözdürülerek hazırlandı. Bu çözelti sıçanlara 14. günün sonunda başlanarak 28. günün sonuna kadar i.p. olarak enjekte edildi.

3.5 Kan Basıncı Ölçümü

Kan basıncı ölçümü, indirekt ölçme yöntemlerinden biri olan *tail-cuff* yöntemi ile kuyruk arterlerinden yapılmıştır. Bu yöntem, cerrahi uygulama gerektirmemesi ve anestezi yapılmadan deney hayvanlarının sistolik kan basınçlarının tekrar tekrar ölçülmesine olanak sağlaması sebebiyle tercih edilmiştir (Sadek vd., 2015).

3.6 Diseksiyon İşlemi

Deney hayvanlarının kan basıncı ölçümleri 28. gün itibariyle yapıldı. Bu ölçümler tamamlandıktan sonra sıçanlar dekapite edildi. Dekapite işleminden sonra sıçanlar sırtüstü yatırılarak abdomen ve toraksları orta hattan açıldı. Bu işlem yapılırken iç organların zarar görmemesine özen gösterildi. İtinayla çıkarılan adrenal bezler, hipotalamus ve kalp dokuları izotonik NaCl ile yıkandı ve analizler yapılınca kadar -80 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.7 Dokuların Homojenizasyonu

3.7.1 Adrenal bezlerin homojenizasyonu

Ependorf tüplerin darası alınarak içerisine adrenal bezler konularak tartıldı. Tartılan miktarlar kaydedildi ve üzerine 2 mM fosfat tamponu (pH=7.4, %0.2 Triton) eklenerek homojenize edildi. Oluşan homojenat 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Oluşan süpernatantlar ependorf tüplere aktarıldı.

3.7.2 Hipotalamus dokusunun homojenizasyonu

Beyinden dikkatlice çıkarılmış olan hipotalamus darası alınmış ependorf tüplerin içerisine konularak tartım işlemi yapıldı. Üzerine 2 mM fosfat tamponu ilave edilerek homojenize edildi. Homojenizasyon işleminden sonra 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek oluşan süpernatantlar ependorf tüplere aktarıldı.

3.7.3 Kalp dokusunun homojenizasyonu

Ependorf tüplerin darası alınarak içerisine kalp dokusundan bir parça konuldu ve ağırlığı kaydedildi. Tartım işleminden sonra pH değeri 7.4 olan 2 mM hazırlanan fosfat tamponu içerisnde dokular homojenize edildi. Bu işlemin ardından alınan homojenat 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifügasyon işlemi ile oluşan süpernatantlar ependorf tüplere aktarıldı.

3.8 Total RNA eldesi

Total RNA eldesi 3 aşamada gerçekleştirildi (Kumai vd., 1994; Selamoğlu, 2000).

- 1) Ekstraksiyon
- 2) Presipitasyon
- 3) Yıkama ve Yeniden Çözme

3.8.1 Ekstraksiyon

Homojenize edilen dokulardan 75 µL alındı ve homojenatın üzerine 800 µL RNA_{zol} ilave edildi. RNA_{zol} ilavesinden sonra 80 µL kloroform eklenerek tüp sıkıca kapatıldı. Elle 15 saniye sallandı ve 5 dakika süresince buz küvetinde bekletildi. Oluşan homojenat 12.000 g'de 4 °C'de 5 dakika santrifüj edildi.

3.8.2 Presipitasyon

Presipitasyon aşamasında santrifüjden sonra elde edilen süpernatant bir mikrosantrifüj tüpüne alındı. Üzerine 400 µL isopropanol eklendi ve tüpler vortekslenerek 4°C'de 15 dakika bekletildi. Bu tüpler 4°C'de 12.000 g'de 15 dakika süresince santrifüj edildi.

3.8.3 Yıkama ve yeniden çözme

Presipitasyon işlemi ile elde edilen süpernatant uzaklaştırıldı ve kalan RNA peleti 800 µL %75'lik etil alkol ile vortekslendi. 10.500 g'de 8 dakika süresince 4°C'de santrifüj edildi. Santrifügasyon işleminden sonra kurutma kağıdı yardımı ile RNA peleti kurutuldu. Kurutulan RNA peleti 15 µL distile suda yeniden çözdürüldü. RNA'yı içeren tüpler 10 dakika süresince sıcaklığı 65 °C olan sıcak su banyosunda bırakıldı ve daha sonra hemen buz küvetine alındı. RNA örneklerine 900 µL distile su eklenerek toplam hacmin 1000 µL olması sağlandı. Spektrofotometrede kör tüp olarak distile su kullanıldı. Bu işlemlerin sonucunda spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda ölçüm yapılarak absorbans değerleri kaydedildi. Son olarak aşağıdaki formül kullanılarak total RNA miktarı µg/µL olarak belirlendi.

$$\text{Total RNA Miktarı} = \frac{40}{1 \times V} \times A \quad (3.1)$$

40: Sabit Sayı

A: Absorbans Değeri

1xV: Uygulanan RNA Örnek Hacmi (1 µL)

3.9 Total Protein Tayini

Adrenal bez, hipotalamus ve kalp dokularından elde edilen süpernatantların 1 µL'sinde bulunan protein miktarının belirlenmesi için Lowry yöntemi kullanıldı (Lowry vd., 1956). Bu yöntem için A çözeltisi, B çözeltisi ve Standart BSA çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiler aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı.

A Çözeltisi

1. % 2'lik Na₂CO₃ (0.1 N NaOH içerisinde) : 100 Hacim
2. % 2'lik Na-K Tartrat Çözeltisi : 1 Hacim
3. % 1'lik CuSO₄ Çözeltisi : 1 Hacim

Tüm çözeltiler deneyin başlamasından önce verilen hacimlerde karıştırılarak A çözeltisi elde edildi.

B Çözeltisi

- 1) Folin Fenol Belirteci: 1 Hacim
- 2) Bi Distile Su : 1 Hacim

Verilen çözeltiler yukarıda belirtilen hacimlerde karıştırılarak B çözeltisi hazırlandı.

Standart BSA Çözeltisi

Standart protein çözeltisi olan BSA (Bovine Serum Albumin), 1 µg/µL konsantrasyonunda stok çözelti olarak hazırlandı.

Protein miktarını saptamak amacıyla her deney için 2 adet kör ve örnek tüpler hazırlandı. Hazırlanan bütün tüplere 2,5 mL A çözeltisi eklendi. Hazırlanmış olan doku homojenatlarından örnek tüplere deney şartlarına bağlı olarak homojenatlar alındı. Bu homojenatlar deney tüpünün duvarlarına damlacıklar halinde bırakıldı. Bu tüpler 2 kez vorteks yardımıyla karıştırıldı ve 10 dakika beklendi. Bu işlem sonunda, hazırlanan B çözeltisi tüm tüplere 250 µL eklendi. Tüpler tekrar vortekslendi ve renk oluşumunu gözlemek amacıyla 45 dakika beklendi. 45 dakikanın sonunda tüpler karanlık ortamdan çıkarıldı ve spektrofotometrede 695 nm dalga boyunda absorbansları okundu. Standart BSA çözeltileri ile hazırlanmış olan kalibrasyon grafiğinden faydalanılarak her örnek tüpünde bulunan süpernatanın 1 mL'sinde bulunan protein miktarı hesaplandı.

3.10 TH Aktivitesinin Ölçülmesi

TH enzim aktivitesinin ölçülmesinde kullanılan çözeltiler ve miktarları tablo 3.1'de verildi ve sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı (Reinhard vd., 1986):

- 1) Tabloda verilen çözelti miktarları ölçüm sayısına göre tüpe eklenerek reaksiyon karışımı elde edildi. Her çözelti ilavesini takiben tüpler vorteks yardımıyla karıştırıldı. 6 MPH₄ reaksiyonun başlaması için gerekli olan kofaktördür. Reaksiyon bu kofaktör yardımıyla başlatılana kadar tüpler buz küveti içerisinde bekletildi.
- 2) Total protein sonuçlarına göre hesaplanan doku homojenatları üzerine 25 mM PIPES tamponu eklendi ve son hacim 25 µL'ye tamamlayarak reaktif hazırlandı.
- 3) Doku örneklerini içeren 25 µL'lik reaktifin üzerine reaksiyon karışımından 25 µL eklendi ve toplam hacim 50 µL'ye tamamlandı. Hazırlanan 50 µL'lik tüpler 37 °C'de su banyosunda tutularak reaksiyon 15 dakika süresince devam etti.
- 4) 15 dakikanın sonunda reaksiyonun durdurulması amacıyla 1 M HCl'ten 500 µL ilave edildi. HCl ilavesinden sonra tüpler vortekslenerek karıştırıldı ve tüpler buz küvetinde bekletildi.
- 5) Kör tüp olarak örnek içermeyen, 25 µL 25 mM PIPES tamponu ve 25 µL reaksiyon karışımı içeren tüp hazırlandı. Kör tüp 37 °C'lik su banyosunda 15 dakika bekletildi ve üzerine 500 µL 1 M HCl eklendi.
- 6) Hazırlanan bu tüpler spektrofotometre yardımıyla 265 nm dalga boyunda okundu.

7) Enzim aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Enzim aktivitesi} = \frac{69.375}{37.5 \times 0.2 \times 0.25 \times 0.01} \quad (3.2)$$

Çizelge 3.1. TH ölçümünde kullanılan çözeltiler ve miktarları

Ölçüm Sayısı	20	30	40	50	105
0.5 M PIPES	100	150	200	250	525
1 mg/mL Katalaz	40	60	80	100	210
2 mM Tirozin	50	75	100	125	312.5
2 mM L-DOPA	50	75	100	125	312.5
1 mM DTT	5	7.5	10	12.5	26.25
d-H₂O	245	367.5	490	612.5	1286
1 mM Fe(NH₄)₂ (SO₄)₂	10	15	20	25	52.25
30 mM 6 MPH₄	50	75	100	125	312.5
TOPLAM	550	825	1100	1375	2887

3.11 İstatistiksel Analizler

Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılık düzeylerini belirlemek için SPSS 20.0 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 a,b,c arasında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1 Kan Basınçları

Deney hayvanların sistolik kan basınçları kuyruk arterlerinden *tail cuff* yöntemi ile ölçülmüştür. Çizelge 4.1’de kontrol grubu ve L-NAME uygulaması yapılmış olan gruplarda sıçanların 0. ve 14. gündeki kan basıncı değişimleri verilmiştir. Çizelge 4.2’de ise terapötik ajanlar uygulandıktan sonra bu grupların 28. günde ölçülen kan basınçları gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kontrol grubu (Grup I) ve L-NAME uygulanmış gruplarda (Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V) sistolik kan basınçları

Günler	0.Gün	14.Gün
Gruplar	(mmHg)	(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±1.12	143.97±0.53^a
Grup V (L-NAME)	104.29±1.82	143.3±0.56^a

a, b ve c her satırda farklı harflerle gösterilen rakamlar 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 grubu (Grup I), L-NAME grubu (Grup II), L-NAME+Propolis grubu (Grup III), L-NAME+Polen grubunun (Grup IV) ve L-NAME+CAPE grubu (Grup V) 28. günün sonunda sistolik kan basınçları

Gruplar	Günler	28. Gün (mmHg)
Grup I (Kontrol)		104.29±1.82 ^c
Grup II (L-NAME=HT)		154.56±1.59 ^a
Grup III (L-NAME+Propolis)		122.7±1.67 ^b
Grup IV (L-NAME+Polen)		111.13±1.68 ^c
Grup V (L-NAME+CAPE)		129.29±0.97 ^b

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

4.1.1 L-NAME uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri

Hipertansiyon modeli oluşturmak amacıyla 14 gün süresince tüm gruplara 40 mg/kg/gün dozunda L-NAME intraperitoneal olarak uygulanmıştır. L-NAME uygulanmış gruplarda kontrol grubuna göre kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı artışlar ($P<0.05$) gözlenmiştir. Deney süresince sadece L-NAME uygulaması yapılmış olan Grup II'de bulunan sıçanların kan basınçları 0. günde 104.75±1.69 mmHg olarak ölçülmüştür. L-NAME uygulamasının başlaması ile 14. gün sonunda kan basınçları 141±1.21 mmHg, 28. günün sonunda ise 154.56±1.59 mmHg olarak ölçülmüştür. Buna göre 0. gün ve 14. gün arasında kan basınçlarında meydana gelen değişimin istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.05$) olduğu görülmüştür. 0. gün ve 28. gün arasında oluşan değişim incelendiğinde meydana gelen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0.05$). İstatistiksel analizler sonucunda elde edilen verilere göre oluşan bu anlamlı artış, sıçanlarda deneysel kronik hipertansiyon modeli oluşturulduğunu göstermektedir (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

4.1.2 L-NAME+Propolis uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri

Kronik hipertansiyon modeli oluşturulan sıçanlarda kan basıncında artış görülmüştür. 14. günden itibaren Grup III'e tedavi amaçlı, bir arı ürünü olan propolis 100 mg/kg/gün 14 gün süresince gavaj ile verilmiştir. Kan basıncı 14. gün 141.11±0.53 mmHg olan bu

grubun kan basıncı değeri 28. gün sonunda 122.7 ± 1.67 mmHg olarak ölçülmüştür. 28 gün boyunca L-NAME uygulanmış olan Grup II ile karşılaştırıldığında kan basıncında düşüş olduğu görülmektedir. 28. günün sonunda Grup II'nin kan basıncı değeri 154.56 ± 1.59 mmHg, Grup III'ün kan basıncı değeri ise 122.7 ± 1.67 mmHg olarak kaydedilmiştir. Bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($P<0.05$) olup, propolisin kan basıncını düşürdüğü görülmüştür (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

4.1.3 L-NAME+Polen uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri

14 gün süresince NOS inhibitörü L-NAME ile hipertansif model oluşturulan sıçanlara, 14. günden itibaren 28. günün sonuna kadar bir arı ürünü olan polen uygulaması 200 mg/kg/gün dozunda yapılmıştır. 14 gün boyunca L-NAME uygulaması yapılan bu grubun kan basıncı değeri 14. günün sonunda 143.97 ± 0.53 mmHg olarak ölçülmüştür. 14. günden sonra 28. günün sonuna kadar polen uygulaması yapılmış ve 28. günün sonunda kan basıncı değerinin 111.13 ± 1.68 mmHg olduğu görülmüştür. 14. günle kıyaslandığında 28. günde meydana gelen bu azalış istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0.05$). Bu grubun 0. günde kan basınçları 104.29 ± 1.12 mmHg olarak ölçülmüştür. 28. günün sonunda ise kan basıncı değerleri 0. günde kaydedilen değerlere yaklaşmıştır (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

4.1.4 L-NAME+CAPE uygulaması sonucu kan basıncı değişimleri

Sadece L-NAME uygulaması yapılmış olan Grup II'nin 28. günün sonunda kan basıncı değerlerinin 154.56 ± 1.59 mmHg olduğu görülmektedir. 14 gün boyunca L-NAME uygulanmış ve 14. günden başlayarak 28. günün sonuna kadar CAPE uygulaması (50 μ M/kg/gün dozda) yapılmış olan Grup V'te, 28. günün sonunda kan basıncı 129.29 ± 0.97 mmHg olarak kaydedilmiştir. Grup V'te 14. gün sonunda kan basınçları 143.3 ± 0.56 mmHg, 28. günün sonunda ise kan basınçları 129.29 ± 0.97 mmHg olarak ölçülmüştür. CAPE uygulaması ile kan basıncı değerleri 28. günün sonunda 14. güne göre azaldığı görülmüştür. Bu azalış istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0.05$) (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

4.2 Dokuların Tirozin Hidroksilaz Aktiviteleri

NOS inhibisyonu ile kronik hipertansiyon modeli oluşturulan sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH enzim aktivitesi incelendi.

4.2.1 Adrenal medulla dokusunda TH aktiviteleri

Sıçanların adrenal medulla dokusunda TH aktiviteleri incelenmiştir. Kontrol grubunda TH enzim aktivitesi 56.54 ± 0.26 nmol/mg.P/saat olarak ölçülmüşken 28 gün süresince L-NAME uygulaması yapılan Grup II'de TH enzim aktivitesi 80.12 ± 0.38 nmol/mg.P/saat olarak ölçülmüştür. L-NAME+Propolis grubunda TH aktivitesi 69.44 ± 1.17 nmol/mg.P/saat, L-NAME+Polen grubunda 70.21 ± 1.02 nmol/mg.P/saat, L-NAME+CAPE grubunda 67.37 ± 0.62 nmol/mg.P/saat ise olarak belirlenmiştir. Tüm gruplar incelendiğinde L-NAME uygulamasının TH enzim aktivitesini artırdığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). L-NAME grubu ile, L-NAME+Propolis, L-NAME+Polen, L-NAME+CAPE grupları karşılaştırıldığında terapötik ajanların kullanımının TH aktivitesini azalttığı ve bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). L-NAME+Propolis, L-NAME+Polen, L-NAME+CAPE grupları karşılaştırıldığında TH enzim aktiviteleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Grupların adrenal medulla dokusunda ölçülen TH aktiviteleri

Gruplar	TH Aktivitesi (nmol/mg.P/saat)
Grup I (Kontrol)	56.54 ± 0.26^c
Grup II (L-NAME=HT)	80.12 ± 0.38^a
Grup III (L-NAME+Propolis)	69.44 ± 1.17^b
Grup IV (L-NAME+Polen)	70.21 ± 1.02^b
Grup V (L-NAME+CAPE)	67.37 ± 0.62^b

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

4.2.2 Hipotalamus dokusunda TH aktiviteleri

Sıçanların hipotalamus dokularında TH enzim aktiviteleri incelendiğinde kontrol grubunda 37.11 ± 0.46 nmol/mg.P/saat, L-NAME grubunda 53.65 ± 1.32 nmol/mg.P/saat, L-NAME+Propolis grubunda 42.74 ± 0.19 nmol/mg.P/saat, L-NAME+Polen grubunda ise 43.63 ± 0.78 nmol/mg.P/saat, L-NAME+CAPE grubunda 49.21 ± 0.52 nmol/mg.P/saat olduğu görülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME uygulamasının TH aktivitesini tüm dokularda artırdığı bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). L-NAME grubu ile L-NAME+Propolis ve L-NAME+Polen grupları karşılaştırıldığında hipotalamus dokusunda TH aktivitesinde azalma olduğu saptanmıştır. Bu azalış istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). L-NAME grubu ile L-NAME+CAPE grubunun TH aktiviteleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemiştir ($P > 0.05$) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Grupların hipotalamus dokusunda ölçülen TH aktiviteleri

Gruplar	TH Aktivitesi (nmol/mg.P/saat)
Grup I (Kontrol)	37.11 ± 0.46^c
Grup II (L-NAME=HT)	53.65 ± 1.32^a
Grup III (L-NAME+Propolis)	42.74 ± 0.19^b
Grup IV (L-NAME+Polen)	43.63 ± 0.78^b
Grup V (L-NAME+CAPE)	49.21 ± 0.52^a

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

4.2.3 Kalp dokusunda TH aktiviteleri

Kalp dokusunda TH aktiviteleri kontrol grubunda 40.25 ± 0.71 nmol/mg.P/saat, L-NAME grubunda 61.53 ± 0.77 nmol/mg.P/saat, L-NAME+Propolis grubunda 42.35 ± 0.41 nmol/mg.P/saat, L-NAME+Polen grubunda 44.44 ± 1.03 nmol/mg.P/saat ve L-NAME+CAPE grubunda 51.12 ± 1.14 nmol/mg.P/saat olarak belirlenmiştir. L-NAME uygulaması ile kalp dokusunda TH enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($P < 0.05$). Propolis, polen ve CAPE uygulaması ile, TH aktivitesinde

düşüş görülmektedir ve düşüş istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$). Polen ve propolis uygulaması yapılan gruplar incelendiğinde istatistiksel olarak bu 2 grup arasında bir farklılık görülmemiştir ($P>0.05$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Grupların kalp dokusunda ölçülen TH aktiviteleri

Gruplar	TH Aktivitesi (nmol/mg.P/saat)
Grup I (Kontrol)	40.25±0.71 ^c
Grup II (L-NAME=HT)	61.53±0.77 ^a
Grup III (L-NAME+Propolis)	42.35±0.41 ^c
Grup IV (L-NAME+Polen)	44.44±1.03 ^c
Grup V (L-NAME+CAPE)	51.12±1.14 ^b

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

4.3 Dokuların Total RNA Düzeyleri

Sıçanlardan alınan adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında total RNA seviyeleri incelendi.

4.3.1 Adrenal medulla dokularında total RNA düzeyleri

Adrenal medulla dokusunda sıçanların total RNA miktarları kontrol grubunda 4.34±0.26 µg/µL, L-NAME grubunda 3.17±0.75 µg/µL, L-NAME+Propolis grubunda 3.91±0.53 µg/µL, L-NAME+Polen grubunda 4.07±0.17 µg/µL ve L-NAME+CAPE grubunda 3.96±1.12 µg/µL olarak saptandı. L-NAME uygulaması ile sıçanların total RNA seviyelerinde kontrol grubuna göre azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($P<0.05$). Propolis, polen ve CAPE uygulaması ile adrenal medulla dokusunda total RNA miktarlarının arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Kontrol grubu ile polen uygulanmış grup karşılaştırıldığında bu 2 grup arasında istatistiksel olarak bir fark görülmediği gözlemlendi ($P>0.05$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Grupların adrenal medulla dokularında total RNA düzeyleri

Gruplar	Total RNA Miktarı (µg/µL)
Grup I (Kontrol)	4.34±0.26 ^a
Grup II (L-NAME=HT)	3.17±0.75 ^c
Grup III (L-NAME+Propolis)	3.91±0.53 ^b
Grup IV (L-NAME+Polen)	4.07±0.17 ^a
Grup V (L-NAME+CAPE)	3.96±1.12 ^b

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

4.3.2 Hipotalamus dokularında total RNA düzeyleri

Sıçanların hipotalamus dokusundaki total RNA seviyeleri incelendiğinde kontrol grubunda 4.45 ± 1.26 µg/µL, L-NAME grubunda 1.96 ± 0.74 µg/µL, L-NAME+Propolis grubunda 3.73 ± 1.59 µg/µL, L-NAME+Polen grubunda 3.39 ± 0.78 µg/µL ve L-NAME+CAPE grubunda 2.98 ± 1.56 µg/µL olduğu görülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME uygulamasının istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe yol açtığı görülmüştür ($P<0.05$). L-NAME grubuna göre propolis, polen ve CAPE uygulanmış gruplar incelendiğinde istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır ($P<0.05$). Propolis, CAPE ve polen uygulanmış gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Grupların hipotalamus dokularında total RNA düzeyleri

Gruplar	Total RNA Miktarı (µg/µL)
Grup I (Kontrol)	4.45±1.26 ^a
Grup II (L-NAME=HT)	1.96±0.74 ^c
Grup III (L-NAME+Propolis)	3.73±1.59 ^b
Grup IV (L-NAME+Polen)	3.39±0.78 ^b
Grup V (L-NAME+CAPE)	2.98±1.56 ^b

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

4.3.3 Kalp dokularında total RNA düzeyleri

Sıçanların kalp dokularındaki total RNA miktarları kontrol grubunda $5.12 \pm 0.34 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME grubunda $2.57 \pm 0.75 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Propolis grubunda $3.26 \pm 0.29 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Polen grubunda $4.36 \pm 0.13 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ve L-NAME+CAPE grubunda $3.24 \pm 1.31 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ olarak belirlenmiştir. NOS inhibitörü L-NAME uygulaması yapılmış grupta kontrol grubuna göre kalp dokusunda total RNA miktarında azalma meydana gelmiştir. Bu azalma istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). L-NAME grubu ile propolis, polen ve CAPE gruplarının kalp dokusundaki total RNA miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P < 0.05$). Terapötik ajanların uygulanması ile kalp dokusunda total RNA miktarlarında artış görülmüştür. Propolis, polen ve CAPE grupları arasında total RNA seviyelerinde istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadığı görülmüştür ($P > 0.05$) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Grupların kalp dokularında total RNA düzeyleri

Gruplar	Total RNA Miktarı ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
Grup I (Kontrol)	5.12 ± 0.34^a
Grup II (L-NAME=HT)	2.57 ± 0.75^c
Grup III (L-NAME+Propolis)	3.26 ± 0.29^b
Grup IV (L-NAME+Polen)	4.36 ± 0.13^b
Grup V (L-NAME+CAPE)	3.24 ± 1.31^b

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

4.4 Dokuların Total Protein Miktarları

Sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında total protein miktarlarının değişimi incelenmiştir.

4.4.1 Adrenal medulla dokularında total protein miktarları

NOS inhibisyonu ile hipertansiyon modeli oluşturulan sıçanların adrenal medulla dokularında total protein miktarları hesaplanmıştır. Total protein miktarları kontrol grubunda $4.92 \pm 0.38 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME grubunda $2.35 \pm 0.66 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Propolis grubunda $4.03 \pm 1.13 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Polen grubunda $3.94 \pm 0.42 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ve L-NAME+CAPE grubunda $4.17 \pm 0.37 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ olarak hesaplanmıştır. L-NAME uygulaması total protein miktarını kontrol grubuna göre düşürmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). Tedavi edici ajanların kullanımı total protein miktarını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırmıştır ($P < 0.05$). Propolis grubu, CAPE grubu ve polen grubu karşılaştırıldığında adrenal medulla dokularındaki total protein miktarları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadığı görülmüştür. ($P > 0.05$) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Grupların adrenal medulla dokularında total protein miktarları

Gruplar	Total Protein Miktarı ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
Grup I (Kontrol)	4.92 ± 0.38^a
Grup II (L-NAME=HT)	2.35 ± 0.66^c
Grup III (L-NAME+Propolis)	4.03 ± 1.13^b
Grup IV (L-NAME+Polen)	3.94 ± 0.42^b
Grup V (L-NAME+CAPE)	4.17 ± 0.37^b

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

4.4.2 Hipotalamus dokularında total protein miktarları

Sıçanların hipotalamus dokularındaki total protein miktarları, kontrol grubunda $2.69 \pm 0.68 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME grubunda $1.56 \pm 0.46 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Propolis grubunda $3.67 \pm 1.19 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Polen grubunda $2.69 \pm 0.68 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ve L-NAME+CAPE grubunda $2.38 \pm 0.72 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu L-NAME grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubunda total protein miktarı kontrol grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($P<0.05$). Propolis, polen ve CAPE gibi ajanların kullanımı L-NAME grubuna göre total protein miktarını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırmıştır ($P<0.05$). Kontrol grubu ve L-NAME+Propolis grubu arasında total protein miktarı açısından istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($P>0.05$). L-NAME+Polen ve L-NAME+CAPE grubu arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Grupların hipotalamus dokularında total protein miktarları

Gruplar	Total Protein Miktarı ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
Grup I (Kontrol)	3.72 \pm 0.29 ^a
Grup II (L-NAME=HT)	1.56 \pm 0.46 ^c
Grup III (L-NAME+Propolis)	3.67 \pm 1.19 ^a
Grup IV (L-NAME+Polen)	2.69 \pm 0.68 ^b
Grup V (L-NAME+CAPE)	2.38 \pm 0.72 ^b

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

4.4.3 Kalp dokularında total protein miktarları

Sıçanların kalp dokularında total protein miktarları incelenmiştir. Kontrol grubunda total protein miktarı 5.47 \pm 0.76 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME grubunda 1.29 \pm 0.52 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Propolis grubunda 4.38 \pm 0.41 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, L-NAME+Polen grubunda 4.08 \pm 1.43 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ve L-NAME+CAPE grubunda 3.97 \pm 1.19 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ olarak bulunmuştur. L-NAME uygulamasının total protein miktarını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı görülmüştür ($P<0.05$). Tedavi edici ajanların kullanımı total protein miktarını L-NAME grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir şekilde artırmıştır ($P<0.05$). Propolis, polen ve CAPE gibi ajanların uygulandığı gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$) (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Grupların kalp dokularında total protein miktarları

Gruplar	Total Protein Miktarı (µg/µL)
Grup I (Kontrol)	5.47±0.76 ^a
Grup II (L-NAME=HT)	1.29±0.52 ^c
Grup III (L-NAME+Propolis)	4.38±0.41 ^b
Grup IV (L-NAME+Polen)	4.08±1.43 ^b
Grup V (L-NAME+CAPE)	3.97±1.19 ^b

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

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Bu çalışmada sıçanlara kronik olarak L-NAME uygulaması ile NOS inhibisyonu aracılı deneysel hipertansiyon modeli oluşturulmuştur. Hipertansiyon modeli oluşturulmuş sıçanlar, son zamanlarda git gide önem kazanan arı ürünlerinden olan propolis, polen ve propolisin biyoaktif bir bileşeni olan CAPE ile tedavi edilmiştir. Kronik olarak L-NAME uygulamasının yapılması NO sentezini inhibe ederek hipertansiyona yol açmaktadır. L-NAME NOS aktivitesini engelleyerek NO sentezini inhibe etmektedir. Vasküler endotelin temel görevi trombosit adezyonu ve agregasyonunu kontrol ederek damar içerisinde kan akışını düzenlemektir. Bu düzenlemeyi sağlamak için salgılanan maddelerden biri de NO'dur (Güray vd., 1997). Günümüzde yapılan birçok araştırma NO sentezini sağlayan NOS enziminin inhibe edilmesi sonucunda hipertansiyon geliştiğini bildirmektedir (Talas vd., 2014; Akinyemi vd., 2015). Bizim çalışmamızda günlük olarak 40 mg/kg/gün dozunda L-NAME uygulaması kan basıncında istatistiksel olarak önemli bir artışa sebep olmuştur.

Oktar vd. tarafından yapılan bir çalışmada NOS inhibitörleri deney hayvanlarına sabit ve kademeli olarak artan dozlarda uygulanmıştır. Bu grupların her ikisinde de deney hayvanlarının kan basınçları doza ve zamana bağlı olarak artış göstermiştir. Ancak bu çalışmada kan basıncı artmasına rağmen kalp atım hızları arasında farklılık olduğu görülmüştür. NOS inhibitörünün kademeli olarak artırılması sonucunda kan basıncı yükselmesine karşın kalp atım hızı düşmemiştir. NOS inhibitörünün sabit dozda uygulanması sonucunda kan basıncı artarken kalp atım hızı her zaman düşme göstermiştir (Oktar vd., 2007). Bizim çalışmamızda sabit dozda NOS inhibitörü uygulaması yapılmıştır.

Bir çalışmada 2 aylık Mill Hill hibrit sıçanlara L-NAME kronik olarak uygulanmıştır. Bu uygulama miyokardiyal fibrozisle belirti gösteren sağ ventrikül hipertrofisine sebep olmuştur. L-NAME'in kronik olarak uygulanması kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkmasında önemli bir belirti olan NO seviyesindeki azalmayla sonuçlanmıştır (Hmaid vd., 2016).

Aladağ vd. nin yaptığı bir araştırmada endotelial NOS tarafından sentezlenen NO'nun kalp, karaciğer, beyin gibi organların dolaşımını düzenleyen bir molekül olduğu bildirilmiştir. eNOS eksiliğinin bu sistemleri etkilediği ve bu eksiliğin kardiyovasküler bir hastalık olan hipertansiyona yol açtığı belirtilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda hem NOS blokajı ile oluşturulmuş modellerde hem de eNOS'un inaktive edildiği modellerde hipertansiyon geliştiğini rapor edilmiştir (Aladag vd., 2000).

Wistar cinsi erkek sıçanlarla bir çalışma yapan Leo vd. sıçanları 2 gruba ayırmıştır. Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmamış, deney grubuna ise 42 gün boyunca içme suyuna 50 mg/kg/gün dozunda L-NAME uygulaması yapılmıştır. L-NAME uygulaması ile deney grubunun aort ve karotis arterlerinde bazal nitrit seviyelerinde artış görülmüştür. Aynı zamanda L-NAME uygulaması ile eNOS'un inhibe edilmesinin vasküler hasara sebep olduğunu bildirilmiştir (Leo vd., 2015).

L-NAME uygulaması ile oluşturulan hipertansiyonun tedavisinde birçok ajan kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda tedavi edici ajan olarak propolis, polen ve CAPE kullanılmıştır.

Sadek vd. Sprague-Dawley türü erkek sıçanlara 8 hafta süresince günlük olarak 50 mg/kg/gün dozunda L-NAME uygulaması yapmış ve L-NAME uygulanan gruplar aliskeren, telmisartan ve tarsemid gibi ilaçlarla tedavi edilmiştir. Bu ajanların kullanılması kan basıncını düşürmüştür. Aynı zamanda L-NAME uygulaması kalp atım hızını azaltmış, tedavi edici ajanların kullanılması ise kalp atım hızını normal seviyeye yaklaştırmıştır (Sadek vd., 2015).

Kumar vd. albino Wistar sıçanlarda L-NAME uygulaması ile hipertansif model oluşturmuş ve hipertansif sıçanları vanilik asit uygulaması ile tedavi etmeyi denemiştir. Hipertansif sıçanlarda arteriyal kan basıncı, kalp atım hızı, kardiyak marker enzimleri ve organ ağırlığında artış gözlenmiştir. Aynı zamanda hipertansif sıçanların sol ventrikül fonksiyonlarında bozulma ve aortik eNOS ifadesinde azalma gözlenmiştir. Vanilik asit uygulaması kan basıncı, sol ventrikül fonksiyonları ve kardiyak marker enzimlerinde iyileştirici etki göstermiştir. Ayrıca vanilik asitin eNOS salınımını düzenlediği görülmüştür (Kumar vd., 2014).

Zencefil ve zerdeçal rizomları yıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada L-NAME uygulaması ile sıçanlarda hipertansif model oluşturulmuştur. Hipertansif sıçanlar zencefil ve zerdeçal rizomları ile tedavi edilmiştir. Hipertansif grupta anjiyotensin I konverting enzim ve arjinaz enzim aktiviteleri incelenmiş ve bu enzimlerin miktarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görülmüştür. Tedavi edici ajanların uygulanması ile anjiyotensin I konverting enzim ve arjinaz enzim aktivitelerinde düşüş görülmüştür (Akinyemi vd., 2015).

Nguelefack vd. L-NAME ile hipertansiyon uyarılmış sıçanlara *Solanum torvum* meyvelerinden hazırlanan ekstrakt uygulaması yapmıştır. L-NAME ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlar 200 mg/kg/gün dozda *Solanum torvum* ile tedavi edilmiştir. Deney başlangıcında sıçanların idrar hacmi ve idrarlarında bulunan sodyum-potasyum miktarları ölçülmüştür. Deney sonucunda tedavi edilmiş sıçanların aort damarlarının noradrenalin ve karbakol hassasiyetleri ölçülmüştür. *Solanum torvum* ekstraktı uygulaması normotansif sıçanlarda noradrenalin hassasiyetini artırmış, hipertansif sıçanlarda ise azaltmıştır. *Solanum torvum* uygulaması ile hipertansif sıçanlarda idrar hacmi ve sodyum salınımı artmıştır. Vasküler reaktivite testlerine göre *Solanum torvum* uygulaması L-NAME ile indüklenmiş sıçanlarda karbakol hassasiyeti ile ilişkilidir (Nguelefack vd., 2009).

Renin anjiyotensin aldosteron sistem; hipertansiyon, kalp krizi, felç ve böbrek hastalıkları gibi hastalıkların tedavisinde öncelikli olarak kullanılmaktadır. Bhullar vd. antihipertansif olarak kullanılan ilaçlar yerine alternatif bir tedavi ajanı kullanmışlardır. Tedavi edici ajan olarak kafeik asit ve kafeik asit türevlerini kullanmışlardır. Kafeik asitin bileşenlerinden olan $X=O$, $R=CH_2CH(Ph)_2$ 'nin antihipertansif etki gösterdiği *in vitro* yöntemlerle test edilmiştir (Bhullar vd., 2014).

DOPA, dopamin, epinefrin ve norepinefrin tirozin aminoasitinden türevlenen ve katekolaminler olarak bilinen moleküllerdir. Katekolaminler stres hormonları olarak da adlandırılabilir. Çeşitli stres durumları bu hormonların salgılanmasını uyarabilir. Tirozin hidroksilaz enzimi bu hormonların sentezlenmesinde anahtar rol oynayan bir enzimdir. Çünkü bu enzim, bu reaksiyon zincirinin başlangıcında tirozin aminoasitini DOPA'ya çeviren enzimdir. (Hanna, 1965) L-NAME ile oluşturulmuş hipertansiyon modeli organizmada strese sebep olmaktadır. Bu yüzden L-NAME uygulaması katekolamin

biyosentezini ve dolayısıyla tirozin hidroksilaz enziminin aktivitesini artıran bir uygulamadır. Yaptığımız çalışmada sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH enzim aktivitesi ölçülmüştür. L-NAME uygulaması adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH enzim aktivitesini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırmıştır ($P<0.05$). Tedavi edici ajanların uygulanması bu dokularda TH aktivitesinde azalış gözlenmiştir ($P<0.05$).

Xu vd. ise kısa ve uzun süreli stresin TH aktivitesi üzerine etkisini incelemiştir. Uzun süreli stres adrenal medulladan TH proteininin salgılanmasını uyarır ve sonuçta TH aktivitesi artar. Bu çalışmada sıçanlar uzun ve kısa süreli olarak soğuk stresi, hareketsiz bırakma gibi streslere maruz bırakılmıştır. Yapılan deneyler gösteriyor ki uzun süreli strese olduğu gibi kısa süreli strese de TH mRNA aktivitesi indüklenmektedir ve TH aktivitesi artmaktadır (Xu vd., 2007).

Maura vd. spontan hipertansif sıçanlar ve Wistar-Kyoto cinsi sıçanların adrenal bezlerinde yaşa bağlı olarak katekolamin seviyelerini ve TH enzim aktivitelerini araştırmışlardır. Bu çalışmada 5, 12 ve 22 haftalık sıçanlar kullanılmıştır. 5 haftalık spontan hipertansif sıçanlarla Wistar-Kyoto cinsi sıçanların sistolik, diyastolik kan basınçları ve kalp atım hızları arasında bir fark bulunmamıştır. 12 ve 22 haftalık Wistar-Kyoto sıçanlarla spontan hipertansif sıçanlar karşılaştırıldığında spontan hipertansif sıçanların sistolik, diyastolik kan basınçlarında artış gözlemlenmiştir. Bu sıçanların adrenal bezlerindeki katekolamin içerikleri incelenmiş, norepinefrin ve epinefrin seviyeleri tüm yaşlardaki spontan hipertansif sıçanlarda azalma göstermiştir. Aynı şekilde spontan hipertansif sıçanların TH aktivitesinin de düşük olduğu görülmüştür. Bu azalışın son ürün birikmesi ve uzun vadeli feedback inhibisyonunun sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir (Moura vd., 2005).

Talas vd. sıçanlarda strese sebep olan 7, 12 dimetilbenzantrasin (DMBA) uygulaması yapılmış sıçanları güçlü bir antioksidan ajan olan organoselenyum bileşenleri ile tedavi etmiş ve gruplar arasındaki TH enzim aktivitesinin değişimini incelemiştir. Bu çalışmada DMBA uygulaması adrenal medulla dokusunda TH enzim aktivitesini artırmıştır. Ancak organoselenyum bileşenlerinin uygulanması ile TH aktivitesi, sadece DMBA uygulaması yapılan gruba göre azalış göstermiştir (Talas vd., 2012).

Gogebakan vd. doğal bir arı ürünü olan propolisin, L-NAME ile hipertansif model oluşturulmuş sıçanların TH aktivitesine olan etkisini incelemiştir. L-NAME uygulaması adrenal medulla, kalp ve hipotalamus dokularında TH aktivitesini artırmıştır. Tedavi edici ajan olarak propolisin uygulanması ise TH aktivitesini azaltıcı etki göstermiştir (Gogebakan vd., 2012).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında L-NAME uygulaması ile TH aktivitesinde artış gözlenmiştir. Tedavi edici ajanların uygulaması ise TH aktivitesini L-NAME grubuna göre düşürmüştür. Adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında L-NAME uygulaması ile total RNA miktarı kontrol grubuna göre azalış göstermiştir. Propolis, polen ve CAPE uygulaması ile total RNA miktarı kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Aynı zamanda adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında total protein miktarları hesaplanmış olup L-NAME uygulaması ile dokuların total protein miktarlarında azalış gözlenmiştir. Propolis, polen ve CAPE uygulaması ile dokuların total protein miktarlarında artış gözlenmiştir.

Talas vd. bir çalışmada, DMBA ile stres yaratılmış ve daha sonra organoselenyum bileşenleri ile tedavi edilmiş sıçanların kalp dokusunda total RNA miktarlarını incelemiştir. Stres ajanının uygulanması ile kalp dokusundaki total RNA miktarında azalış gözlenmiştir. Tedavi edici olarak organoselenyum bileşenlerinin uygulanması ile de sıçanların kalp dokusunda total RNA seviyelerinde DMBA grubuna göre artış gözlenmiş ve değerler kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır (Talas vd., 2010).

Bu çalışmada L-NAME uygulaması ile hipertansif sıçan modeli oluşturulmuş olup hipertansif sıçanlar propolis, polen ve CAPE ile tedavi edilmiştir. Kronik L-NAME uygulaması ile grupların kan basıncında artış gözlenmiştir. Propolis; arıların kovani inşa etmek, kovani bakımını yapma ve patojen mikroorganizmalara karşı kovani koruma amaçlı ürettiği bir arı ürünüdür (Bankova, 2005; Patel vd., 2015). Son zamanlarda doğal ürünlere karşı olan ilginin artması ile doğal bir arı ürünü olan propolise karşı olan ilgi de artmıştır. Propolisin birçok biyolojik aktivitesi üzerine çalışmalar yapılmıştır (Bankova, 2005; Denli vd., 2005; Gogebakan vd., 2012; Talas, 2014; Patel vd., 2015).

Nedji vd. propolisin antimikrobiyal etkisini belirlemek amacıyla bir çalışma yapmış ve propolisin özellikle gram pozitif bakterilere karşı güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Nedji ve Loucif-Ayad, 2014).

Yapılan bir başka araştırmada insanda uyku hastalığı olarak bilinen hastalığa sebep olan *Trypanasoma brucei brucei* parazitine karşı propolisin etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak propolisin içerisinde bulunan bazı maddelerin *Trypanasoma brucei brucei*'nin etkisini hafiflettiği görülmüştür (Almutairi vd., 2014).

Kumazawa vd. ise farklı coğrafik bölgelerden topladıkları propolis örneklerinden propolisin içerisinde bulunan biyolojik olarak aktif bileşenleri izole etmişler ve antioksidan kapasite belirleme metodlarından olan β -Karoten bleaching metodu ve 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) metodu ile farklı alanlardan toplanan propolisin antioksidan kapasitesini ölçmüşlerdir. Bunun sonucunda Arjantin, Avustralya, Çin, Macaristan ve Yeni Zelanda'dan topladıkları propolislerin çok güçlü antioksidan etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu antioksidan etkiden ise propolisin antioksidatif bileşenleri olan kaempferol ve fenetil kafeatin sorumlu olduğunu rapor etmişlerdir (Kumazawa vd., 2004).

Abdul-Hamid vd. bir böcek öldürücü olan sipermetrinin ratların karaciğerine yapmış olduğu toksik etkiyi araştırmayı amaçlamışlardır. Aynı zamanda propolis ve kurkumunun hepatoprotektif etkisini araştırmışlardır. Yapılan araştırmada sipermetrin uygulamasının ALT, AST, ALP gibi karaciğer enzimlerini artırdığını belirlemişlerdir. Aynı zamanda sipermetrin uygulaması MDA seviyesini artırmış, SOD ve GP_x seviyelerinde belirgin bir azalışa yol açmıştır. Propolis ve kurkumin uygulaması ise hasar görmüş karaciğer dokusunu ve sipermetrinin yaratmış olduğu hasarı iyileştici etki göstermiştir. Propolis ve kurkuminin tedavi edici etkileri karşılaştırıldığında propolisin daha güçlü bir tedavi edici ajan olduğunu tespit etmişlerdir (Abdul-Hamid vd., 2017).

Ebeid vd. kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan iyonlaştırıcı radyasyonun sağlıklı olan hücrelere verdiği zararı azaltmak için propolisi kullanmışlardır. Radyoterapi gören meme kanseri dişilere propolis uygulaması yapılmış ve sonuç olarak propolisin radyoterapiden kaynaklanan DNA hasarını önemli oranda azalttığını bildirmişlerdir (Ebeid vd., 2016).

Bizim çalışmamızda propolisin; kronik hipertansif olan sıçanların kan basınçları, TH aktiviteleri, total RNA miktarları ve total protein miktarları üzerine etkileri incelenmiştir. L-NAME ile kan basınçları yükselen sıçanlara propolis uygulanması kan basıncını sadece L-NAME uygulanan gruba göre düşürmüştür. L-NAME uygulaması ile adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH aktivitesi artan sıçanların, propolis uygulaması ile de TH aktivitelerinde azalış olduğu görülmüştür. L-NAME uygulaması ile sıçanların bu dokularında total RNA ve total protein seviyelerinde azalış görülürken, propolis uygulaması ile total RNA ve total protein seviyelerinde artış gözlenmiştir.

Talas bir çalışmasında L-NAME ile hipertansiyon uyarılmış sıçanların testis dokularında propolisin katalaz, MDA ve NO seviyesi üzerine etkisini araştırmıştır. Bu araştırma sonucunda propolisin L-NAME'in yarattığı oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdiğini ve propolisin oksidatif stresi azalttığını bildirmiştir (Talas, 2014).

Arıların önemli bir besin kaynağı olan polen, yapısında bulunan biyolojik olarak aktif bileşenler ile antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjen, antiülser, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antiaterosklerotik, hepatoprotektif, sedatif özellikler gibi birçok biyolojik özelliğe sahiptir (Ketkar vd., 2015; Zhou vd., 2015).

Omar vd. arı polenin antioksidan ve antiproliferatif etkisini belirlemek ve kemoterapotik bir ilaç olan cisplatin ve polenin kanserli hücrelerdeki sinerjistik etkisini araştırmıştır. Yaptıkları araştırma, arı polenin potansiyel bir kemopreventif ajan olduğunu ve kemoterapi ilaçlarına destek olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Omar vd., 2016).

Karataş ve Şerbetçi, insanda ve birçok hayvanda büyük öneme sahip olan katekolaminlerden olan epinefrin ve norepinefrinin arı poleninde de bulunduğunu bildirmiştir. Ticari amaçla satılan arı polenleri alınarak High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ile bu arı polenlerinin içerdiği epinefrin ve norepinefrin seviyelerini belirlenmiştir. Bu polenler arasında içerdikleri epinefrin ve norepinefrin seviyeleri bakımından farklılık olduğunu tespit etmişler ve bu farklılığın bitki çeşidi, bitkinin bulunduğu ortam, polenin toplanması ve paketlenmesi gibi faktörlerden kaynaklandığını bildirmişlerdir (Karataş ve Şerbetçi, 2008).

Capcarova vd. yetişkin Wistar türü sıçanların besinlerine gıda takviyesi olarak farklı dozlarda polen eklemiştirlerdir. Kontrol grubuna polen takviyesi yapılmamış, bir gruba günlük 300 mg/kg/gün, bir diğer gruba ise 500 mg/kg/gün dozda polen takviyesi yapılmıştır. Sıçanlardan alınan örnekler neticesinde, total antioksidan seviyesi, süperoksit dismutaz seviyesi, albümin, bilirubin ve demir miktarları ölçülmüştür. Sonuç olarak 500 mg/kg/gün dozda polen takviyesi yapılan grupta total antioksidan seviye ve albümin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış kaydedilmiştir. Yapılan çalışma neticesinde insan ve hayvanların besinlerine takviye olarak arı poleni kullanılmasının organizma açısından önemli bir antioksidan kaynağı oluşturacağını belirtmişlerdir (Capcarova vd., 2013).

Bizim çalışmamızda NOS inhibitörü L-NAME ile hipertansif model oluşturulan sıçanlara terapötik ajan olarak arı poleni uygulaması yapılmıştır. L-NAME ile kan basınçları yükselen sıçanlara polen takviyesinin yapılması kan basıncını düşürmüştür. Ayrıca sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında TH aktiviteleri, total RNA ve total protein seviyeleri ölçülmüştür. Sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında L-NAME uygulaması ile yükselen TH aktivitesi polen uygulaması ile azalış göstermiştir ve polen uygulaması ile kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında total RNA ve total protein değerleri L-NAME uygulaması ile azalmıştır. Polen takviyesinin yapılması ile total RNA ve total protein miktarları artış göstermiştir.

CAPE, bal arıları tarafından üretilen propolisin aktif bileşenlerinden biridir. CAPE, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, karsinostatik, immünomodülatör, antiproliferatif ve antioksidan özelliklere sahiptir (Park vd., 2004; Koksel vd., 2006; Coban vd., 2010).

Akyol vd. bal arısı propolisinin etken maddesi olan CAPE'nin ve anestezi bir madde olan propofolun arka bacak iskemi reperfüzyonu ile oluşturulmuş akciğer hasarını önlemede bir etkisi olup olmadığını araştırmıştır. Deney sonucunda CAPE ve propofolun MDA üretimi ve nötrofil infiltrasyonunu önemli oranda engellediğini bildirmişlerdir (Akyol vd., 2006).

Park vd. ise CAPE'nin immünomodülatör etkisinin olup olmadığını araştırmış ve CAPE ile tedavi edilen farelerde timüs ve dalak sellülaritesinde önemli bir azalış olduğunu belirlemişlerdir (Park vd., 2004).

Aladağ vd. deneysel olarak subaraknoid kanama ile meydana gelen serebral vazospazm üzerine CAPE'nin etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma gösteriyor ki CAPE baziler arter vazokontrüksiyonunu hafifletici etki göstermektedir (Aladag vd., 2006).

Bir başka araştırmada ise Wu vd. CAPE ve CAPE'yle ilişkili bileşenlerden olan kafeik asit, ferulik asit ve etil ferulatın antioksidan kapasitesini çeşitli yöntemler ile karşılaştırmışlardır. Deney sonuçları hem radikal süpürme hem de lipit peroksidasyonunu inhibe etme konusunda CAPE'nin diğer bileşenlere göre çok güçlü bir antioksidan olduğunu ortaya koymuştur (Wu vd., 2007).

Bizim çalışmamızda L-NAME ile uyarılmış hipertansif sıçanlar propolisin etken maddesi olan CAPE ile tedavi edilmiştir. L-NAME grubu ile kan basıncı değerleri karşılaştırıldığında CAPE takviyesinin kan basıncını düşürdüğü görülmektedir. Adrenal medulla, kalp dokularında TH aktivitesi L-NAME grubuna göre düşüş göstermiştir. Ancak hipotalamus dokusunda L-NAME grubu ile CAPE grubu arasında TH aktivitesi bakımından istatistiksel bir farklılık bulunmamaktadır. Sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında total RNA ve total protein miktarları L-NAME grubunda kontrol grubuna göre azalış göstermiştir. Sıçanlara CAPE uygulaması ile dokularındaki total RNA ve total protein miktarları yükselmiştir.

Sonuç olarak L-NAME gibi arjinin analoglarının kullanılması damar dilatasyonunda büyük öneme sahip NO'nun üretimini inhibe etmektedir. NO üretiminin azalması ise vazokonstrüksiyona ve dolayısıyla hipertansiyona sebep olmaktadır. Bizim çalışmamızda kronik olarak L-NAME uygulaması ile kan basıncında artış görülmüştür. Kan basıncında görülen bu artış sıçanlarda strese yol açmaktadır. Stres sırasında ise katekolaminler salgılanmaktadır. Katekolamin salgılanması stresin en önemli belirtilerinden birisidir. Katekolamin salgılanması sırasında ilk basamak olan tirozin aminoasitinin DOPA'ya dönüşümünü sağlayan enzim olan TH oluşan stresi belirleme konusunda büyük bir öneme sahiptir. Bu çalışmada L-NAME uygulaması ile sıçanların adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularının TH aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli artışlar gözlemlendi.

Sıçanların adrenal medulla dokuları incelendiğinde, L-NAME ile stres oluşmuş olan grupta TH aktivitesinde artış görülmektedir. Sıçanlara propolis, polen ve CAPE

takviyesinin yapılması ile TH aktivitesinde azalış görülmektedir. Bu durum propolis, polen ve CAPE'nin stresi azaltıcı etkide bulunduğunu göstermektedir. Adrenal medulla dokusunda incelenen total RNA sonuçlarına bakıldığında, L-NAME uygulaması ile total RNA miktarının azaldığı görülmektedir. Propolis ve CAPE uygulaması ile total RNA miktarları artmıştır ve propolis ve CAPE arasında bu artış açısından istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir. Polen uygulaması ile total RNA miktarında artış görülmüş ve bu artış kontrol grubu değerleri ile istatistiksel olarak aynıdır. Adrenal medulla dokusundaki total protein sonuçlarına göre L-NAME uygulaması total protein miktarını azaltmıştır. Propolis, polen ve CAPE uygulaması ile de total protein miktarları artmıştır.

Hipotalamus dokusunda ise L-NAME uygulaması ile TH aktivitesinde artış görülmektedir. L-NAME uygulaması hipotalamus dokusunda stres oluşturmuştur bu sebeple TH aktivitesinde artış görülmüştür. Sıçanlara doğal arı ürünlerinden olan propolis ve polenin uygulanması ile de TH aktivitesi azalmıştır. Bu ürünler hipotalamus dokusundaki stresi azaltmıştır. Propolisin biyolojik olarak aktif bileşenlerinden olan CAPE uygulaması ile hipotalamus dokusundaki TH aktivitesinde L-NAME grubu arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. Hipotalamus dokusundaki total RNA miktarları L-NAME uygulaması sonucu azalmıştır. Propolis, polen ve CAPE uygulaması ile de total RNA miktarlarında artış görülmektedir. Hipotalamus dokusunda total protein miktarları ise L-NAME uygulaması ile düşüş göstermektedir. Propolis uygulaması ile artan total protein miktarı kontrol grubu değerleri ile istatistiksel olarak aynıdır. Polen ve CAPE uygulaması ile de total protein miktarı artmış ve polen ve CAPE arasında bu artış açısından istatistiksel bir farklılık görülmemektedir.

L-NAME uygulaması ile kalp dokusunun TH aktivitesinde önemli artışlar kaydedildi. Tedavi edici ajan olarak propolis ve polen uygulaması ile kalp dokusunun TH aktivitesi azalmıştır ve bu değerlerle kontrol grubu değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. CAPE uygulaması ise sıçanların kalp dokusunun TH aktivitesini azaltıcı etki göstermiştir. Kalp dokusunun L-NAME uygulaması ile total RNA değerleri azalmıştır. Propolis, polen ve CAPE uygulaması ile kalp dokusunun total RNA miktarında artış gözlenmiştir. NOS inhibitörü L-NAME uygulaması ile sıçanların kalp dokusunda total protein miktarlarında azalış görülürken, propolis, polen ve CAPE uygulaması ile total protein miktarlarında artış görülmektedir.

Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, L-NAME sıçanlarda kronik olarak hipertansiyona sebep olmaktadır. Hipertansiyon sıçanlarda stres oluşumuna yol açtığı için dokuların TH aktivitelerinde de artışa neden olmaktadır. Doğal arı ürünlerinden olan propolis, polen ve propolisin aktif bileşeni CAPE'nin tedavi edici olarak kullanılması sonucunda kan basıncı değerleri normal değerlere yaklaşmaktadır ve stres hormonlarını üreten enzim olarak bilinen TH'nin aktivitesi azalmaktadır. Bu ajanların kullanılması, L-NAME'in oluşturduğu olumsuz etkiyi azaltmaktadır. Bu çalışma doğal ürünlerin hipertansiyon tedavisinde etkili olabileceğini ve farklı doğal ürünlerin kullanılması sonucunda çağımızın önemli bir sağlık problemi olan hipertansiyonu önlemede yol kat edilebileceğini göstermektedir.



KAYNAKLAR

Abdul-Hamid, M., Moustafa, N., Asran, A.E.M.A.A. and Mowafy, L., “Cypermethrin-induced histopathological, ultrastructural and biochemical changes in liver of albino rats: The protective role of propolis and curcumin”, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* Journal In Press, 2017.

Akinyemi, A.J., Thome, G.R., Morsch, V.M., Stefanello, N., Goularte, J.F., Klein, A.B., Oboh, G. and Schetinger M.R.C., “Effect of dietary supplementation of ginger and turmeric rhizomes on angiotensin-1 converting enzyme (ACE) and arginase activities in L-NAME induced hypertensive rats”, *Journal of Functional Foods* 17, 792–801, 2015.

Akyol, A., Ulusoy, H., İmamoğlu, M., Çay, A., Yuluğ, E., Alver, A., Ertürk, E., Koşucu, M., Beşir, A., Akyol, A. and Özen, İ., “Does propofol or caffeic acid phenethyl ester prevent lung injury after hindlimb ischaemia-reperfusion in ventilated rats?”, *International Journal of The Injured* 37, 380-387, 2006.

Akyol, S., Armutçu, F. and Yiğitoğlu, M.R., “Propolisin aktif bileşenlerinden kafeik asit fenetil ester’in (CAPE) bazı nörolojik hastalık ve acillerde kullanılması”, *Spatula DD*. 1(1), 37-42, 2011.

Aladağ, M. A., Türköz, Y. ve Özerol, İ. H., “Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri”, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 20, 107-111, 2000.

Aladag, M.A., Turkoz, Y., Ozcan, C., Sahna, E., Parlakpınar, H., Akpolat, N. and Cigremis, Y., “Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoidal haemorrhage by increasing brain nitric oxide levels”, *International Journal of Developmental Neuroscience* 24, 9–14, 2006.

Almutairi, S., Edrada-Ebel, R., Fearnley, J., Igoli, J.O., Alotaibi, W., Clements, C.J., Gray, A.I. and Watson, D.G., “Isolation of diterpenes and flavonoids from a new type of propolis from Saudi Arabia”, *Phytochemistry Letters* 10, 160–163, 2014.

Altınayar, S., Özer, F., Türköz, Y., Özışık, H. I. ve Çetin, S., “Parkinson hastalarında L-deprenilin nitrik oksit metabolitlerine etkisi”, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 12(3), 185-188, 2005.

Altıntaş, N.D. ve İskit, A.T., “Vazoaktif ve inotropik ilaçların doğru kullanımı”, *Yoğun Bakım Dergisi* 6(4), 179-190, 2006.

Altun, M., Cakal, C. and Caglar, P., “The development of methacrylic acid based monolithic discs used in the microfluidic chips for application in the determination of catecholamines”, *Sensors and Actuators B* 208, 164–172, 2015.

Anithaa, A.C., Asokan, K. and Sekar C., “Voltammetric determination of epinephrine and xanthine based on sodium dodecyl sulphate assisted tungsten trioxide nanoparticles”, *Electrochimica Acta* 237, 44–53, 2017.

Araújo, M.J.A.M., Bosco, S.D.M.G. and Sforcin, J.M., “Pythium insidiosum: inhibitory effects of propolis and geopropolis on hyphal growth”, *Brazilian Journal of Microbiology* 47, 863–869, 2016.

Avni, D., Hendriksma, H.P., Dag, A., Uni, Z. and Shafir S., “Nutritional aspects of honey bee-collected pollen and constraints on colony development in the eastern Mediterranean”, *Journal of Insect Physiology* 69, 65–73, 2014.

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

Balkancı, D. ve Pehlivanoğlu, Hipofiz Adenomları, Çeviri Editörleri, M. İbrahim Ziyal, Tomris Erbaş, *Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi*, 2008.

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

Bankova, V., “Chemical diversity of propolis and the problem of standardization”, *Journal of Ethnopharmacology* 100, 114–117, 2005.

Bayraktar, N.M., Kılıç, S., Özdemir, İ., Aydemir, S. ve Ulu, R., “Hipertansiyonlu hastalarda eritrosit içi antioksidan enzim ve serum malondialdehit düzeylerinin araştırılması”, *Sağlık Bilimleri Dergisi* 14(2), 76-81, 2005.

Berecek, K.H., and Carey R.M., Primer Hipertansiyon, Baş Editörler, Joseph L. Izzo ve Henry R. Black, Çeviri Editörü, Gürkan Kazancı, *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 2004.

Bhullar, K.S., Lassalle-Claux, G., Touaibia, M. and Rupasinghe, H.P.V., “Antihypertensive effect of caffeic acid and its analogs through dual renin–angiotensin–aldosterone system inhibition”, *European Journal of Pharmacology* 730,125–132, 2014.

Brumovsky, P., Villar, M.J. and Hökfelt, T., “Tyrosine hydroxylase is expressed in a subpopulation of small dorsal root ganglion neurons in the adult mouse”, *Experimental Neurology* 200, 153–165, 2006.

Boyanova, L., “Stress hormone epinephrine (adrenaline) and norepinephrine (noradrenaline) effects on the anaerobic bacteria”, *Anaerobe* 44, 13-19, 2017.

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

Campbell, N.A. and Reece, J.B., Biyoloji, Çeviri Editörleri, Ertunç Gündüz, Ali Demirsoy, İsmail Türkan, *Palme Yayıncılık*, Ankara, 2008.

Capcarova, M., Kolesarova, A., Kalafova, A., Galik, B., Simko, M., Juracek, M. and Toman, R., “The role of dietary bee pollen in antioxidant potential in rats”, *Eurasian Journal of Veterinary Sciences* 29(3), 133-137, 2013.

Chen, H., Xin, L., Song, X., Wang, L., Wang, W., Liu, Z., Zhang, H., Wang, L., Zhou, Z., Qiu, L. and Song, L., “A norepinephrine-responsive miRNA directly promotes CgHSP90AA1 expression in oyster haemocytes during desiccation”, *Fish & Shellfish Immunology* 64, 297-307, 2017.

Coban, S., Yildiz, F., Terzi, A., Al, B., Ozgor, D., Ara, C., Polat, A. and Esrefoglu, M., “The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against cholestatic liver injury in rats”, *Journal of Surgical Research* 159, 674–679, 2010.

Denli, M., Cankaya, S., Silici, S., Okan, F. and Uluocak, A.N., “Effect of dietary addition of turkish propolis on the growth performance, carcass characteristics and serum variables of quail (*Coturnix coturnix japonica*)”, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18(6), 848-854, 2005.

Duke, C.C., Tran, V.H., Duke, R.K., Abu-Mellal, A., Plunkett, G.T., King, D.I., Hamid, K., Wilson, K.L., Barrett, R.L. and Bruhl, J.J., “A sedge plant as the source of Kangaroo Island propolis rich in prenylated p-coumarate ester and stilbenes”, *Phytochemistry* 134, 87-97, 2017.

Ebeid, S.A., Moneim, N.A.A.E., El-Benhawy, S.A., Hussain, N.G. and Hussain, M.I., “Assessment of the radioprotective effect of propolis in breast cancer patients undergoing radiotherapy. New perspective for an old honey bee product”, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 9, 431-440, 2016.

El-Aidy, W.K., Ebeid, A.A., Sallam, A.E.M., Muhammad, I.E., Abbas, A.T., Kamal, M.A. and Sohra S.S., “Evaluation of propolis, honey, and royal jelly in amelioration of peripheral blood leukocytes and lung inflammation in Mouse conalbumin-induced asthma model”, *Saudi Journal of Biological Sciences* 22, 780–788, 2015.

El-Asely, A.M., Abbass, A.A. and Austin, B., “Honey bee pollen improves growth, immunity and protection of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against infection with *Aeromonas hydrophila*”, *Fish & Shellfish Immunology* 40, 500-506, 2014.

Erdogan, Y. ve Dodologlu A., “Bal arısı (*Apis mellifera* L.) kolonilerinin yaşamında polenin önemi”, *Uludag Arıcılık Dergisi* 5(2), 79-84, 2005.

Fadilloğlu, E., Erdoğan, H. and Emre, M. H., “Xanthine oxidase and adenosine deaminase activities of renal tissue in rats with hypertension induced by n sup omega nitro-l-arginine methyl ester⁺”, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 9(1), 1-4, 2002.

Fonseca, B.M., Rodrigues, M., Cristóvão, A.C., Gonçalves, D., Fortuna, A., Bernardino, L., Falcão, A. and Alves, G., “Determination of catecholamines and endogenous related compounds in rat brain tissue exploring their native fluorescence and liquid chromatography”, *Journal of Chromatography B* 1049–1050, 51–59, 2017.

Fox, S.I., Human Physiology, *Mc Graw Hill Higher Education*, New York, 2009.

Gallo, V.P., Accordi, F., Chimenti, C., Civinini, A. and Crivellato, E., “Catecholaminergic system of invertebrates: comparative and evolutionary aspects in comparison with the octopaminergic system”, *International Review of Cell and Molecular Biology* 94, 322-363, 2016.

Girard-Joyal, O. and Ismail N., “Effect of LPS treatment on tyrosine hydroxylase expression and parkinson-like behaviors”, *Hormones and Behavior* 89, 1–12, 2017.

Gogebakan, A., Talas, Z.S., Ozdemir, I. and Sahna, E., “Role of propolis on tyrosine hydroxylase activity and blood pressure in nitric oxide synthase-inhibited hypertensive rats”, *Clinical and Experimental Hypertension* 34(6), 424-8, 2012.

Grouzmann, E. and Lamine, F., “Determination of catecholamines in plasma and urine”, *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 27,713–723, 2013.

Gulhan, M.F., Akgul, H., Dastan, T., Dastan, S.D. and Talas, Z.S., “Effects of different concentrations of pollen extract on brain tissues of *Oncorhynchus mykiss*”, *Journal of Coastal Life Medicine* 2(3), 169-174, 2014.

Gülçin, İ., “Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid)”, *Toxicology* 217, 213–220, 2006.

Güneş T., Genel Biyoloji, *Anı Yayıncılık*, Ankara, 2010.

Güray, A., Samancı, N., Ovalı, F. ve Dağoğlu, T., “Nitrik oksit: fizyolojisi ve klinik önemi”, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 17, 115-119, 1997.

Hanna C., “Metabolism of catecholamines”, *Investigative Ophthalmology* 4, 6, 1965.

He, H., Carballo-Janeb, E., Tong, X. and Cohen, L.H., “Measurement of catecholamines in rat and mini-pig plasma and urine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry coupled with solid phase extraction”, *Journal of Chromatography B* 997, 154–161, 2015.

Hepşen İ.F., Tilgen, F. ve Er H., “Propolis: tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı”, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 3(4), 386-391, 1996.

Hmaid, A.A.A.A., Markelic M., Otasevic V., Masovic S., Jankovic, A., Korac B. and Korac, A., “Structural alterations in rat myocardium induced by chronic L-arginine and L-NAME supplementation”, *Saudi Journal of Biological Sciences* Article in Press, 2016.

Jiang, H., Bai, W., Wang, W., Zhang, J., Wang, K., Liu, Y., Liu, S., Jia, J. and Qin, L., “Changes in cardiovascular function based on adrenalin and norepinephrine metabolism in ovariectomized rats”, *Experimental Gerontology* 91, 15–24, 2017.

Karataş, F. ve Şerbetçi, Z., “Arı polenlerindeki adrenalin ve noradrenalin miktarlarının HPLC ile belirlenmesi”, *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 20(3), 419-422, 2008.

Kessler, M.A., Yang, M., Gollomp, K.L., Jin, H. and Iacovitti, L., “The human tyrosine hydroxylase gene promoter”, *Molecular Brain Research* 112, 8–23, 2003.

Ketkar, S., Rathore, A., Kandhare, A., Lohidasan, S., Bodhankar, S., Paradkar, A. and Mahadik, K., “Alleviating exercise-induced muscular stress using neat and processed bee pollen: oxidative markers, mitochondrial enzymes, and myostatin expression in rats”, *Integrative Medicine Research* 4, 147–160, 2015.

Koksel, O., Ozdulger, A., Tamer, L., Cinel, L., Ercil, M., Degirmenci, U., Unlu, S. and Kanik, A., “Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats”, *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 19, 90–95, 2006.

Kostic, A.Z., Barac, M.B., Stanojevic, S.P., Milojkovic-Opsenica, D.M., Tesic Z.L., Sikoparija B., Radisic, P., Prentovic, M. and Pesic, M.B., “Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia”, *LWT-Food Science and Technology* 62, 301-309, 2015.

Kubovcáková, L., Micutková, L., Sabban, E.L., Krizanová, O. and Kvetnanský, R., “Identification of tyrosine hydroxylase gene expression in rat spleen”, *Neuroscience Letters* 310, 157-160, 2001.

Kumai, T., Tanaka, M., Watanabe, M. and Kobayashi, S., “Elevated tyrosine hydroxylase mRNA levels in the adrenal medulla of spontaneously hypertensive rats”, *The Japanese Journal of Pharmacology* 65(4), 367-9, 1994.

Kumar, S., Prahalathan, P. and Raja, B., “Vanillic acid: a potential inhibitor of cardiac and aortic wall remodeling in L-NAME induced hypertension through upregulation of endothelial nitric oxide synthase”, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 38, 643–652, 2014.

Kumazawa, S., Hamasaka, T. and Nakayama T., “Antioxidant activity of propolis of various geographic origins”, *Food Chemistry* 84, 329–339, 2004.

Külah, E., Hipertansiyon, Çeviri Editörleri, Nurol Arık ve Melda Dilek, *İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık*, İstanbul, 2013.

Leo, M. D., Kandasamy, K., Subramani, J., Tandan, S. K. and Kumar, D., “Involvement of inducible nitric oxide synthase and dimethyl arginine dimethylaminohydrolase in N ω -Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)-induced hypertension”, *Cardiovascular Pathology* 24, 49–55, 2015.

Levinsson, A., Olin, A.C., Björck, L., Rosengren A. and Nyberg F., “Nitric oxide synthase (NOS) single nucleotide polymorphisms are associated with coronary heart disease and hypertension in the intergene study”, *Nitric Oxide* 39, 1–7, 2014.

Liu, Z., Xua, J., Yue, R., Yang, T. and Gao, L., “Facile one-pot synthesis of Au–PEDOT/rGO nanocomposite for highly sensitive detection of caffeic acid in red wine sample”, *Electrochimica Acta* 196, 1–12, 2016.

Louša, P., Nedožrálová, H., Župa, E., Nováček, J. and Hritz, J., “Phosphorylation of the regulatory domain of human tyrosine hydroxylase 1 monitored using non-uniformly sampled NMR”, *Biophysical Chemistry* 223, 25–29, 2017.

Lowry, O., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., “Protein measurements with the folin phenol reagent”, *The Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275, 1956.

Lymperopoulos, A., Brill, A. and McCrink, K.A., “GPCRs of adrenal chromaffin cells & catecholamines: The plot thickens”, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 77, 213–219, 2016.

Mapanao, R. and Cheng, W., “Cloning and characterization of tyrosine hydroxylase (TH) from the pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*, and its expression following pathogen challenge and hypothermal stress”, *Fish & Shellfish Immunology* 56, 506-516, 2016.

Melin, V., Henríquez, A., Radojkovic, C., Schwederski, B., Kaim, W., Freer, J. and Contreras, D., “Reduction reactivity of catecholamines and their ability to promote a Fenton reaction”, *Inorganica Chimica Acta* 453, 1–7, 2016.

Morgano, M.A., Milani, R.F., Martins, M.C.T. and Rodriguez-Amaya, D.B., “Determination of water content in Brazilian honeybee-collected pollen by Karl Fischer titration”, *Food Control* 22, 1604-1608, 2011.

Moura, E., Costa, P.M.P., Moura, D., Guimaraes, S. and Vieira-Coelho, M.A., “Decreased tyrosine hydroxylase activity in the adrenals of spontaneously hypertensive rats”, *Life Sciences* 76, 2953–2964, 2005.

Nedji, N. and Loucif-Ayad, W., “Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition”, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(6), 433-437, 2014.

Nguelefack, T.B., Mekhfi, H., Dongmo, A.B., Dimo, T., Watcho, P., Zoheir J., 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.

Nonotte-Varly, C., “In vivo biological potency of Fraxinus bee-collected pollen on patients allergic to oleaceae”, *Polish Journal of Allergology* 2, 82–88, 2015.

Ohye, T., Ichinose, H., Yoshizawa, T., Kanazawa, I. and Nagatsu, T., “A new splicing variant for human tyrosine hydroxylase in the adrenal medulla”, *Neuroscience Letters* 312, 157–160, 2001.

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

Oliveira-Paula, G.H., Lacchini, R. and Tanus-Santos J. E., “Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms”, *Gene* 575, 584–599, 2016a.

Oliveira-Paula, G.H., Lacchini, R., Luizon, M.R., Fontana, V., Silva, P.S., Biagi C. and Tanus-Santos, J. E., “Endothelial nitric oxide synthase tagSNPs influence the effects of enalapril in essential hypertension”, *Nitric Oxide* 55-56, 62-69, 2016b.

Oliveira-Paula, G.H., Lacchini, R. and Tanus-Santos J. E., “Clinical and pharmacogenetic impact of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms on cardiovascular diseases”, *Nitric Oxide* 63, 39-51, 2017.

Omar, W.A.W., Azhar, N.A., Fadzilah, N.H. and Kamal, N.N.S.N.M., “Bee pollen extract of Malaysian stingless bee enhances the effect of cisplatin on breast cancer cell lines”, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(3), 265–269, 2016.

Özerkan, F., “Hipertansiyonun Etiyopatogenezi”, *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi* 13(5), 329-32, 2000.

Park J.H., Lee, J.K., Kim, H.S., Chung, S.T., Eom, J.H., Kim, K.A., Chung, S.J., Paik, S.Y. and Oh, H.Y., “Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice”, *International Immunopharmacology* 4, 429–436, 2004.

Parlakpınar, H., Örum, M.H. ve Acet, A., “Kafeik asit fenetil ester (KAFE) ve miyokardiyal iskemi reperfüzyon (MI/R) hasarı”, *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 1, 10-5, 2012.

Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X. and Estevinho, L.M., “Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory”, *Food and Chemical Toxicology* 63, 233–239, 2014.

Patel, J., Ketkar, S., Patil, S., Fearnley, J., Mahadik, K.R. and Paradkar, A.R., “Potentiating antimicrobial efficacy of propolis through niosomal-based system for administration”, *Integrative Medicine Research* 4, 94–101, 2015.

Pierini, G.D., Fernandes, D.D.S., Diniz, P.H.G.D., Araújo, M.C.U.D., Nezio, M.S.D. and Centurión, M.E., “A digital image-based traceability tool of the geographical origins of Argentine propolis”, *Microchemical Journal* 128, 62–67, 2016.

Podvin, S., Bunday, R., Toneff T., Ziegler, M. and Hook, V., “Profiles of secreted neuropeptides and catecholamines illustrate similarities and differences in response to stimulation by distinct secretagogues”, *Molecular and Cellular Neuroscience* 68, 177–185, 2015.

Premratanachai, P. and Chanchao, C., “Review of the anticancer activities of bee products”, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(5), 337-344, 2014.

Reinhard, J.F., Smith, G.K. and Nichol, C.A., “A Rapid and sensitive assay for tyrosine 3-monooxygenase based upon the release of $^3\text{H}_2\text{O}$ and adsorption of ^3H -tyrosine by charcoal”, *Life Sciences* 39, 2185-2189, 1986.

Roberto, M.M., Matsumoto, S.T., Jamal, C.M., Malaspina O. and Marin-Morales, M.A., “Evaluation of the genotoxicity/mutagenicity and antigenotoxicity/ antimutagenicity induced by propolis and *Baccharis dracunculifolia*, by in vitro study with HTC cells”, *Toxicology in Vitro* 33, 9–15, 2016.

Sadek, S.A., Rashed, L.A., Bassam, A.M. and Said E. S., “Effect of aliskiren, telmisartan and torsemide on cardiac dysfunction in L-nitro arginine methyl ester (L-NAME) induced hypertension in rat”, *Journal of Advanced Research* 6, 967–974, 2015.

Sanderson, J.T., Clabault, H., Patton, C., Lassalle-Claux, G., Jean-François, J., Paré, A.F., Hébert, M.J.G., Surette, M.E. and Touaibia, M., “Antiproliferative, antiandrogenic and cytotoxic effects of novel caffeic acid derivatives in LNCaP human androgen-dependent prostate cancer cells”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 21, 7182–7193, 2013.

Sattler, J.A.G., Melo, I.L.P.D., Granato, D., Araújo, E., Freitas, A.D.S.D., Barth, O.M., Sattler, A. and Almeida-Muradian, L.B.D., “Impact of origin on bioactive compounds and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil: A screening study”, *Food Research International* 77, 82–91, 2015.

Selamoğlu Z., Soğuk stresi ve bir hipotansif ilaç olan enalapril maleate'nin tirozin hidroksilaz (TH) enzim aktivitesi ve bazı kan parametreleri üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Malatya, s. 23-27, 2000.

Selamoglu, Z., Akgul, H. and Dogan H., “Environmental effects on biologic activities of pollen samples obtained from different phytogeographical regions in Turkey”, *Fresenius Environmental Bulletin* 25(7), 2484-2489, 2016.

Seven, İ., Aksu, T. ve Seven, P.T., “Propolis ve hayvan beslemede kullanımı”, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 18(2), 79-84, 2007.

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

Silva-Carvalho, R., Miranda-Gonçalves, V., Ferreira, A.M., Cardoso, S.M., Sobral, A.J.F.N., Almeida-Aguia, C. and Baltazar F., “Antitumoural and antiangiogenic activity of Portuguese propolis in in vitro and in vivo models”, *Journal of Functional Foods* 11, 160–171, 2014.

Skjevik, Å.A., Mileni, M., Baumann, A., Halskau, Ø., Teigen, K., Stevens, R.C. and Martinez, A., “The n-terminal sequence of tyrosine hydroxylase is a conformationally versatile motif that binds 14-3-3 proteins and membranes”, *Journal of Molecular Biology* 426, 150–168, 2014.

Smeets, W.J.A.J. and Gonzalez, A., “Catecholamine systems in the brain of vertebrates: new perspectives through a comparative approach”, *Brain Research Reviews* 33, 308–379, 2000.

Solak, H., Grmş, N., Solak, T. Ve Grmş, I.S., Kalp Hastalıkları ve Cerrahisi, *Efil Yayınevi*, 2011.

Sungur, C., Hipertansiyon, eviri Editörleri, Nurol Arık ve Melda Dilek, *İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık*, İstanbul, 2013.

Talas, Z.S. and Gulhan, M.F., “ Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1994-1998, 2009.

Talas, Z.S., Ozdemir, I., Gok, Y., Ates, B. and Yilmaz, I., “Role of selenium compounds on tyrosine hydroxylase activity, adrenomedullin and total RNA levels in hearts of rats”, *Regulatory Peptides* 159, 137–141, 2010.

Talas, Z.S., Ozdemir, I., Ates, B., Gok, Y. and Yilmaz, I., “Modulating effects of selenium in adrenal medulla of rats exposed to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene”, *Toxicology and Industrial Health* 29(3), 286–292, 2012.

Talas, Z.S., Gogebakan, A. and Orun, 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., “Propolis reduces oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats”, *Cell Biochemistry and Function* 32, 150–154, 2014.

Talas, Z.S., Ozdemir, I., Ciftci, O., Cakir, O., Gulhan, M.F. and Pasaoglu, O.M., “Role of propolis on biochemical parameters in kidney and heart tissues against L-NAME induced oxidative injury in rats”, *Clinical and Experimental Hypertension* 36(7), 492-6, 2014.

Taufique, S.K.T. and Kumar, V., “Differential activation and tyrosine hydroxylase distribution in the hippocampal, pallial and midbrain brain regions in response to cognitive performance in Indian house crows exposed to abrupt light environment”, *Behavioural Brain Research* 314, 21–29, 2016.

Tezerjani, M.D., Benvidi, A., Firouzabadi, A.D., Mazloun-Ardakani, M. and Akbari, A., “Epinephrine electrochemical sensor based on a carbon paste electrode modified with hydroquinone derivative and graphene oxide nanosheets: Simultaneous determination of epinephrine, acetaminophen and dopamine”, *Measurement* 101, 183–189, 2017.

Tümer, A., Baybuğa, M. S., Dereli, F. ve Uysal, D. D., “Hipertansiyon hastalarının ilaç tedavisine uyum düzeyleri”, *Journal of Cardiovascular Nursing* 7(13), 105-113, 2016.

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

Vanhoutte, P.M., Primer Hipertansiyon, Baş Editörler, Joseph L. Izzo ve Henry R. Black, Çeviri Editörü, Gürkan Kazancı, *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 2004.

Wet, H. D., Ramulondi, M. and Ngcobo, Z.N., “The use of indigenous medicine for the treatment of hypertension by a rural community in northern Maputaland, South Africa”, *South African Journal of Botany* 103, 78–88, 2016.

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.

Wu, W.M., Lu, L., Long, Y., Wang, T., Liu, L., Chen, Q. and Wang, R., “Free radical scavenging and antioxidative activities of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and its related compounds in solution and membranes: A structure–activity insight”, *Food Chemistry* 105, 107–115, 2007.

Xu, L., Chen, X., Sun, B., Sterling, C. and Tank, A.W., “Evidence for regulation of tyrosine hydroxylase mRNA translation by stress in rat adrenal medulla”, *Brain Research* 1158, 1-10, 2007.

Yaman K., Fizioloji, *Ezgi Kitabevi*, Bursa, 2009.

Zhao, Y., Vanhoutte, P.M. and Leung, S.W.S., “Vascular nitric oxide: Beyond eNOS”, *Journal of Pharmacological Sciences* 129, 83-94, 2015.

Zhou, J., Qi, Y., Ritho, J., Zhang, Y., Zheng, X., Wu, L., Li, Y. and Sun, L., “Flavonoid glycosides as floral origin markers to discriminate of unifloral bee pollen by LCeMS/MS”, *Food Control* 57, 54-61, 2015.

Zungur, M. ve Yıldız, A., “Hipertansif hastaya yaklaşım”, *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi* 13(8), 297-304, 2004.



ÖZ GEÇMİŞ

Merve Duruyürek 12.09.1989 tarihinde Kırıkkale’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara/Polatlı’da tamamladı. 2008 yılında girdiği Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden Haziran 2012’de mezun oldu. Yine aynı yılda Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesinde Tezli Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2015 yılında Niğde ilinde MEB bünyesinde kadrolu öğretmen olarak göreve başladı ve hala Niğde’de görev yapmaktadır.

Eğitim, Kurs ve Sertifika Bilgileri:

Workshops on Mixed Teaching Research Methodology, Reference Manager with EndNote Software and Writing Article Skills Based on ISI Rules”. Niğde Üniversitesi, 3-6 June 2013, Nigde, Turkey. (Çalıştay Katılım Belgesi)

“ 4. Dünya Arı Günü” 29 Mayıs 2013, Niğde.

İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlığı C Sınıfı Uzmanlık Belgesi, 2013, Ankara.

Bilimsel Çalışmalar ve Yayınlar:

Duruyürek, M., Düşgün, C., Gülhan, M.F., Yıldız, U.F., Esen, M.M., Öncel, T. ve Talas, Z.S., “Atık patatesten biyoetanol eldesi”, *İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi* 2-4 Ekim 2013 Niğde.

Düşgün, C., Duruyürek, M., Gülhan, M.F., Demirtaş, D., Şeker, A., Bayrak, N. ve Talas, Z.S., “İnsan diyetinde önemli olan bazı bitki ekstraktlarının in vitro analizlerle antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi”, *İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi* 2-4 Ekim 2013 Niğde.

Duruyurek, M., Dugun, C., Gulhan, M.F. and Selamoglu, Z., “Production of bioethanol from waste potato”, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(5), 331-334, 2015.

Dusgun, C., Gulhan, M.F., Duruyurek, M., Selamoglu, Z. and Erdemli, M.E., “In vitro analyses of antioxidant activity of extracts of some selected plants from Nigde, Turkey”, *EDUCA*, časopis za obrazovanje, nauku i kulturu. Godina VIII, br. 8. 3-11, Mostar, September 2015.

Selamoglu, Z., Gulhan, M.F. and Duruyurek M., “The effects of propolis, pollen and caffeic acid phenethyl ester on tyrosine hydroxylase activities in hypertensive rats caused by nitric oxide synthase blockage”, *13th Asian Apicultural Association Conference*. Jeddah, Kingdom of Saudi Arabia. April 24 (Sun) – 26(Tue), 2016.

Selamoglu, Z., Gulhan, M.F. and Duruyurek M., “Transcriptional and translational approaches of propolis, caffeic acid phenethyl ester and pollen treatment to N^ω-nitro-L-arginine methyl ester induced rats” *6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels*, Isparta, Turkey, 24 and 27 May 2016.

Salmas, R.E., Durdagi, S., Gulhan, M.F., Duruyurek, M., Abdullah, H.I. and Selamoglu, Z., “The effects of pollen, propolis and caffeic acid phenethyl ester on tyrosine hydroxylase activity and total RNA levels in hypertensive rats caused by nitric oxide synthase inhibition: experimental, docking and molecular dynamic studies”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 1-12, 2017.

TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER

Bu tez çalışmasından 1 (bir) adet uluslar arası makale üretilmiştir ve tez kapsamında 2 adet konferansa katılmıştır. Bu üretilen çalışma aşağıda sunulmuştur.

Selamoglu Z., Gulhan, M.F. and Duruyurek, M., “The effects of propolis, pollen and caffeic acid phenethyl ester on tyrosine hydroxylase activities in hypertensive rats caused by nitric oxide synthase blockage”, *13th Asian Apicultural Association Conference*, Kingdom of Saudi Arabia, s 75, 24-26 April, 2016.

Selamoglu, Z., Gulhan, M.F. and Duruyurek M., “Transcriptional and translational approaches of propolis, caffeic acid phenethyl ester and pollen treatment to N ω -nitro-L-arginine methyl ester induced rats”, *6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels*, Isparta, Turkey, 24 and 27 May 2016.

Salmas, R.E., Durdagi, S., Gulhan, M.F., Duruyurek, M., Abdullah, H.I. and Selamoglu, Z., “The effects of pollen, propolis and caffeic acid phenethyl ester on tyrosine hydroxylase activity and total RNA levels in hypertensive rats caused by nitric oxide synthase inhibition: experimental, docking and molecular dynamic studies”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 1-12, 2017.