



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**KURKUMİN VE D VİTAMİNİNİN APELİNERJİK
SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DERYA TETİK

BİYOKİMYA (ECZ) ANABİLİM DALI

AĞUSTOS 2021



**KURKUMİN VE D VİTAMİNİNİN APELİNERJİK SİSTEM ÜZERİNE
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DERYA TETİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOKİMYA (ECZ) ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

.....
Derya TETİK

...../...../.....

KURKUMİN VE D VİTAMİNİNİN APELİNERJİK SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Derya TETİK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2021

ÖZET

Apelinerjik sistemi; apelin reseptörü (APJ), apelin (AP) ve elabela (apela, toddler, ELA) oluşturur. Apelinerjik sistemin şimdiye kadar bilinen etkileri; kardiyak inotropik sinyalleme, vazodilatasyon, vücut sıvısı homeostazı, metabolizma ve insülin tepkisi, oksidatif stresin hafifletilmesi ve bağışıklık tepkisinin modülasyonudur. Curcuma longa L.'den türetilen bir polifenol olan kurkumin, serbest radikalleri temizleme, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini azaltma gibi çeşitli özelliklere sahip güçlü bir eksojen nonenzimatik antioksidandır. D vitamini, oksidatif stresi ve kronik inflamasyonu azaltan ve mitokondriyal solunum fonksiyonlarını koruyan, yağda çözünen bir vitamindir. Çalışmamızda D vitamini ve kurkuminin apelinerjik sistem ve oksidan-antioksidan durum üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya altı gruba ayrılan kırk iki Wistar sıçanı dahil edilmiştir: birinci grup (kontrol) distile su, ikinci grup 200 mg/kg/gün kurkumin, üçüncü grup 0,4 µg/kg/gün (16 IU/kg) D3 vitamini, dördüncü grup 200 mg/kg/gün kurkumin ve 0,4 µg/kg (16 IU/kg) D3 vitamini, beşinci grup 400 mg/kg/gün kurkumin, altıncı grup 400 mg/kg/gün kurkumin ve 0,4 µg/kg (16 IU/kg) D3 vitamini almıştır. Serum apelin, elabela, nitrik oksit (NO), asimetrik dimetil arginine (ADMA), total oksidan durum (TOS) ve total antioksidan kapasitesi (T-AOC) düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. T-AOC parametresinde gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Kontrol grubu ile diğer gruplar kıyaslandığında kurkumin verilen gruplarda total antioksidan kapasite ve ADMA seviyeleri anlamlı olarak yüksekti ($p<0,001$; $p<0,05$). Diğer parametrelerde gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Elde edilen bulgulara göre Grup I 'de NO-TOS, Grup III' de AP-ELA, Grup IV'de NO-TOS, Grup VI' da AP- T-AOC parametreleri arasındaki korelasyonlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p<0,05$) diğer korelasyon analizlerinde ise istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık bulunamamıştır. Sonuçlarımız, kurkumin ve D vitamininin antioksidan özelliği nedeniyle total oksidan kapasitede azalma, total antioksidan kapasitede ise artış eğilimine yol açabileceğini ve kurkuminin tek başına veya D vitamini ile kombinasyon halinde oksidatif hasar riskini azaltarak profilaktik olarak önemli rolü olduğunu düşündürmüştür.

Bilim kodu :1010.1

Anahtar kelimeler : Kurkumin, D vitamini, apelin, elabela, NO, ADMA, TOS, T-AOC

Sayfa adedi : 76

Danışman : Doç. Dr. Aysun HACIŞEVKİ

EVALUATION OF THE EFFECTS OF CURCUMIN AND VITAMIN D ON THE APELINERGIC SYSTEM

(M. Sc. Thesis)

Derya TETİK

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

August 2021

ABSTRACT

Apelin receptor (APJ), apelin (AP) and elabela (apela, toddler, ELA) constitutes apelinergic system. The known effects of the apelinergic system so far are cardiac inotropic signaling, vasodilation, body fluid homeostasis, metabolism and insulin response, alleviation of oxidative stress and modulation of immune response. Curcumin, a polyphenol derived from *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), is a potent exogenous nonenzymatic antioxidant with various properties such as scavenging free radicals, reducing reactive oxygen species (ROS) production. Vitamin D is a fat-soluble vitamin that reduces oxidative stress and chronic inflammation and protects mitochondrial respiratory functions. In our study, it was aimed to evaluate the effects of vitamin D and curcumin on apelinergic system and oxidant-antioxidant status. Forty-two Wistar rats divided into six groups were included in the study: first group (control) received distilled water, second group received 200 mg/kg/day curcumin, third group received 0.4 µg/kg/day (16 IU/kg) vitamin D3, fourth group received 200 mg/kg/day curcumin and 0.4 µg/kg (16 IU/kg) vitamin D3, the fifth group received 400 mg/kg/day curcumin, the sixth group received 400 mg/kg/day curcumin and 0.4 µg/kg (16 IU/kg) vitamin D3. Serum apelin, elabela, nitric oxide (NO), asymmetric dimethyl arginine (ADMA), total oxidant status (TOS) and total antioxidant capacity (T-AOC) levels were measured by ELISA method. Statistically significant difference was found in terms of groups in T-AOC parameter. When the control group and other groups were compared, total antioxidant capacity and ADMA levels were significantly higher in the curcumin-treated groups. ($p<0,001$; $p<0,05$). No statistically significant difference was found between the groups in other parameters. According to the findings, the correlations between NO-TOS in Group I, AP-ELA in Group III, NO-TOS in Group IV, and AP- T-AOC parameters in Group VI were found to be statistically significant ($p<0.05$), no significance was found in other correlation analyses. Our results suggest that curcumin and vitamin D may cause a tendency to decrease in total oxidant capacity and increase in total antioxidant capacity due to their antioxidant properties, and that curcumin, alone or in combination with vitamin D, has an important prophylactic role by reducing the risk of oxidative damage.

Science code : 1010.1

Key words : Curcumin, vitamin D, apelin, elabela, NO, ADMA, TOS, T-AOC

Page number : 76

Supervisor : Assoc. Prof. Aysun HACIŞEVKİ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sürecinde çok kıymetli bilgilerini sunan, tez çalışmalarım sırasında kıymetli yönlendirmeleriyle yanımda olan değerli danışman hocam Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Aysun HACIŞEVKİ'ye saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Katkı ve emeği bulunan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı veterineri Uzm.Vet. Hek. Attila İŞGÖREN ve severek yardımcı olan biyolog Nazlı AYDIN'a, samimiyetle destek olup yol gösteren Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ'ye, tüm samimiyetiyle yanımda hissettiğim Ayşe Seda ERASLAN, Arzu ÜSTÜN ve Rumeysa YAZGAN'a,

Ceneviz Gıda'dan Erdağ GÖNEN'e,

Büyük emek ve sevgileri olan değerli aileme, her ne koşulda olursa olsun hep yanımda olan eşim Ali TETİK'e teşekkürü borç bilirim. Rüzgar Ege'ne ve Masal'ıma...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Apelinerjik sistem	5
2.1.1. Apelin reseptörü	5
2.1.2. Apelin	6
2.1.3. Apelin İzofomlarının Fonksiyonel Özellikleri	7
2.1.4. Elabela	8
2.1.5. Elabela İzofomlarının Fonksiyonel Özellikleri	8
2.1.6. Apelinerjik Sistem ve RAAS Arasındaki Antagonist İlişki	8
2.1.7. Kardiyovasküler Hastalıklarda Apelinerjik Sistem	9
2.1.8. Yaşlanma Karşıtı Tedavide Apelinerjik Sistem	9
2.2. Nitrik Oksit	10
2.2.1. NO Başlıca Düzenleyici Rollerini	12
2.3. ADMA	13
2.4. Oksidatif Stres.....	15
2.5. Antioksidan Savunma	17
2.6. Kurkumin	20

	Sayfa
2.6.1. Kurkumin Metabolizması	21
2.6.2. Kurkuminin Biyolojik Aktiviteleri	23
2.6.3. Kurkumin Formülasyonları	26
2.7. D Vitamini	26
2.7.1. Kimyasal yapı	27
2.7.2. Biyokimyasal yollar ve metabolizma	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Örneklerin toplanması ve saklanması	31
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	31
3.3. Çalışmada Kullanılan Etken Madde ve Kimyasallar.....	32
3.4. Deney Grupları.....	32
3.5. Ölçümler ve Kullanılan Yöntemler.....	32
3.5.1. Ağırlık Ölçümleri	32
3.5.2. Elisa Test Prosedürleri.....	33
3.6. İstatistiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR	43
4.1. Ölçülen Parametreler	44
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	59
EKLER.....	73
EK - 1. Etik Kurul Onay Formu.....	74
ÖZGEÇMİŞ	76

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Endojen-nonenzimatik antioksidanlar ve görevleri	19
Çizelge 3.1. Deney grupları	33
Çizelge 3.2. Apelin standartlarına karşılık gelen absorbands değerleri	34
Çizelge 3.3. Elabela standartlarına karşılık gelen absorbands değerleri	35
Çizelge 3.4. NO standartlarına karşılık gelen absorbands değerleri	36
Çizelge 3.5. ADMA standartlarına karşılık gelen absorbands değerleri	38
Çizelge 3.6. TOS standartlarına karşılık gelen absorbands değerleri	39
Çizelge 3.7. T-AOC standartlarına karşılık gelen absorbands değerleri	40
Çizelge 4.1. Ölçüm günlerine göre ağırlık değerleri	43
Çizelge 4.2. ELA için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları	44
Çizelge 4.3. NO için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları	44
Çizelge 4.4. T-AOC için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları	45
Çizelge 4.5. TOS için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları	46
Çizelge 4.6. ADMA için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları	46
Çizelge 4.7. AP için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Anova) sonuçları	47
Çizelge 4.8. Grup I- araştırma parametreleri korelasyon tablosu	48
Çizelge 4.9. Grup II- araştırma parametreleri korelasyon tablosu	48
Çizelge 4.11. Grup IV- araştırma parametreleri korelasyon tablosu	49
Çizelge 4.12. Grup V- araştırma parametreleri korelasyon tablosu	50
Çizelge 4.13. Grup VI- araştırma parametreleri korelasyon tablosu	50

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Apelin reseptörü sinyal yolu özeti	6
Şekil 2.2. Farklı NOS izoformlarının özet işlevleri	11
Şekil 2.3. NO'nun düzenleyici işlevlerinden bazıları.....	13
Şekil 2.4. Arjininin metilasyonu ile L-NMMA ve ADMA sentezi	14
Şekil 2.5. L-Arginin ve endojen NOS inhibitörleri.....	14
Şekil 2.6. ADMA üretimi ve metabolizması	15
Şekil 2.7. Kurkuminoidlerin kimyasal yapısı	21
Şekil 2.8. Kurkumin metabolizması.....	22
Şekil 2.9. Kurkuminin moleküler hedefleri	23
Şekil 2.10. D ₃ vitamini metabolitlerinin moleküler yapısı	28
Şekil 2.11. D vitamini metabolizması.....	30
Şekil 3.1. Apelin standart grafiği.	34
Şekil 3.2. Elabela standart grafiği.	35
Şekil 3.3. Nitrik oksit standart grafiği.....	37
Şekil 3.4. Asimetrik dimetiltarjinin standart grafiği	38
Şekil 3.5. Total oksidan kapasite standart grafiği.	39
Şekil 3.6. Total antioksidan kapasite standart grafiği.	40

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
-----------------	--------------------

µl	Mikrolitre
-----------	------------

µg	Mikrogram
-----------	-----------

kg	Kilogram
-----------	----------

L	Litre
----------	-------

M	Molarite
----------	----------

mg	Miligram
-----------	----------

ml	Mililitre
-----------	-----------

ng	Nanogram
-----------	----------

Kısaltmalar	Açıklamalar
--------------------	--------------------

ACE2	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
-------------	--------------------------------

ADMA	Asimetrik Dimetil Arjinin
-------------	---------------------------

SAM	S-Adenozil-L-Metionin
------------	-----------------------

AKT	Protein Kinaz B
------------	-----------------

ANG II	Anjiyotensin II
---------------	-----------------

AMPK	AMP ile Aktive Olan Protein Kinaz
-------------	-----------------------------------

APJ	Apelin Reseptörü
------------	------------------

AP	Apelin
-----------	--------

BDMC	Bis-Demetoksi Kurkumin
-------------	------------------------

cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
-------------	----------------------------

DDAH-1	Dimetilarjinin Dimetil Amino Hidrolaz-1
---------------	---

Kısaltmalar	Açıklamalar
DMC	Dimetoksi Kurkumin
ELA	Elabela
ER STRESİ	Endoplazmik Retikulum Stresi
ERK	Hücre Dışı Düzenleyici Kinaz
FGF-23	Fibroblast Büyüme Faktörü-23
CGMP	Guanozin Monofosfat
HESC	Pluripotent Embriyonik Kök Hücreler
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
İR	İskemi-Reperfüzyon
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
KALSİTRİOL	1 α , 25-(OH) ₂ D ₃ Vitamini
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
L-NMMA	N-Monometil-L-Arjinin
LOX	Lipoksijenaz
MAPK	Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz
MDA	Malondialdehit
MI	Miyokard Enfarktüs
MMP-2	Matriks Metalloproteinaz-2
MSC	Mezenkimal Kök Hücre
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
NRF2	Nükleer Faktör Eritroid 2
NFKB	Nükleer Faktör-Kb
ONOO-	Peroksinitrit

Kısaltmalar	Açıklamalar
PG	Prostaglandin
PGE₂	Prostaglandin E ₂
PGI₂	Prostaglandin I ₂
PGD₂	Prostaglandin D ₂
PGF₂ α	Prostaglandin F2 Alfa
PKC	Protein Kinaz C
PLCβ	Fosfolipaz Cβ
PRMT	Arjinin Metiltransferaz
PS70S6	Protein Kinaz S6
PTH	Paratiroid Hormonu
RAAS	Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SULT	Sülfotransferaz
T-AOC	Total Antioksidan Kapasite
TOS	Total Oksidan Durum
TNF-α	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TXA₂	Tromboksan A ₂
UGT	Glukuronoziltransferaz
VDBP	Vitamin D Bağlayıcı Protein

1. GİRİŞ

Tamamlayıcı ve alternatif tıp, hastalıkları önlemek veya tedavi etmek için ve/veya sağlığı ve refahı teşvik etmek için kullanılan geleneksel tıbbın dışında kalan sistem ve uygulamalar olarak tanımlanabilir [1]. Hastalıkları tedavi etmek için bitkilerin ve ürünlerinin kullanımı bitkisel ilaç olarak bilinir [2]. Özellikle tarımın en önemli geçim kaynağı olmaya devam ettiği kırsal alanlarda çeşitli insan rahatsızlıklarını tedavi etmek için kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı oldukça fazladır [3]. Bilimsel analizlerin tıbbi bitkilerin kullanımını destekleyen nesnel kanıtlar sağladığı sayısız örnek vardır [4]. Sağlığın bozulmasının basit bir sorun olmadığı yaygın olarak ifade edilmiştir. Ulusal Sağlık ve Refah Kurulunun da vurguladığı gibi tütün ve alkol kullanımı, yetersiz fiziksel aktivite ve beslenme gibi sağlıksız yaşam tarzı alışkanlıkları kişilerin sağlığında bozukluklara neden olan faktörlerdir. Çok sayıda hastalık, azalmış antioksidan savunma ve artan oksidatif stres ile ilişkili bulunmaktadır [5].

Oksidatif stres, serbest radikallerin veya reaktif oksijen ve azot türlerinin üretimi ile oksidasyonun baskın olduğu, antioksidan savunma sistemleri ile arasındaki dengesizlikten kaynaklanan bir durumdur [6]. Her bir yörünge bir atom genellikle bir çift elektron içerir. Serbest radikaller oldukça reaktiftir çünkü bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içerirler ve bağımsız varoluş yeteneğine sahiptirler [7]. Oksidatif stres lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar vererek çeşitli hastalıklara neden olabilir ya da gelişme riskini artırabilir. Hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi, romatizmal hastalıklar, kalp yetmezliği, iskemi-reperfüzyon, aterosklerotik lezyonlar, tip 2 diyabet gibi oksidatif stresle ilişkili klinik durumlar rapor edilmiştir [8].

Antioksidan savunma sistemi karmaşıktır. Hem diyetten alınan antioksidanları hem de vücutta oluşan antioksidanları içerir ve her birinin belirli bir etki mekanizması vardır. Vücut, diyetten elde edilen eksojen antioksidanlar ve vücutta oluşan endojen antioksidanları içeren kompleks antioksidan sistemlerle donatılmıştır. Çeşitli antioksidanların koruma mekanizmaları oksidatif strese karşı farklılık gösterir. Antioksidan enzimler serbest radikal türlerinin parçalanmasını katalize eder [9]. Endojen antioksidanlar arasında antioksidan enzimler ve metal bağlayıcı proteinler yer almaktadır. Hücreler birkaç antioksidan enzim içerir; bunlar başlıca süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalazdır [10]. Antioksidan kapasitenin koruyucu etkilerini göstermek için antioksidanların miktarı,

aralarındaki etkileşimler ve denge kritik öneme sahiptir. Antioksidan kapasite absorpsiyon ve müdahale çalışmalarında, diyet antioksidanlarının biyoyararlanımı önemlidir. Gıdaların antioksidan kapasitesi üzerine birçok çalışma yapılmış ve çelişkili bulgularla antioksidanlar bakımından zengin etkileri değerlendirmiştir [11]. Genel olarak, ilk veya alımdan sonraki ikinci saat antioksidan kapasitede bir artış ve ardından alımdan 4-5 saat sonra antioksidan kapasitede bir azalma gözlenir [12]. Koroner kalp hastalığı, tip 1 ve tip 2 diyabet gibi oksidatif stresle ilişkili çeşitli klinik durumlarda plazma antioksidan kapasitesi azalır ve antioksidan kapasite diyabetik komplikasyonlarla ilişkilidir [13,14]. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, antioksidandan yüksek diyet alımını kardiyovasküler hastalık riskinin azalmasıyla ilişkili bulmuştur. Koroner kalp hastalığında düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) serbest radikaller veya diğer reaktifler tarafından oksidasyonunun damar duvarındaki türlerin gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir [15,16]. Bu tezin amaçlarından biri, sağlıklı ratlarda kompleks oksidan-antioksidan durumunun araştırılarak, kurkumin ve D vitamininden etkilenip etkilenmediği ve antioksidan savunmaya katkısını incelemektir.

Küçük bir molekül ve bir serbest radikal olan nitrik oksit, vasküler tonusu düzenleyen ana aracı olarak kabul edilmektedir. [17]. NO, damar sistemi içinde pleiotropik etkiler gösterir ve damar gevşetici etkileri mevcuttur. Vasküler NO sentezi, asimetrik dimetilargininin ve monometilargininin (L-NMMA), tarafından bozulabilir. ADMA ve L-NMMA, proteinler üzerindeki metillenmiş arjinin kalıntılarından proteolizinden türetilir [18]. Nitrat-nitrit-NO yoluyla NO üretimi, NO biyoaktivitesini dönüştürmek için önemli ve tamamlayıcı bir yol sağlar [19]. NO hızlı oksidasyona uğradığı için nitrat ve nitrit oluşur. Nitritin, inorganik nitritin asidik indirgenmesinden kaynaklanan NOS'dan bağımsız in vivo NO üretimi için bir substrat olabileceği bildirilmiştir [20]. Nitritin NO'ya indirgenmesiyle ilgili olarak hem enzimatik hem de nonenzimatik mekanizmaları içeren çeşitli yollar tarif edilmiştir. Yüksek ADMA, endojen NOS inhibitörü seviyeleri, geniş bir hasta yelpazesinde rapor edilmiştir. İdiyopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon hastalarında ADMA düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca, pulmoner arteriyel hipertansiyon hastalarında ADMA serum seviyeleri ile altı dakikalık yürüyüş arasında negatif korelasyon gösterilmiştir [21].

Apelinerjik sistem; apelin reseptörü, apelin ve elabela oluşturur ve vücutta geniş bir dağılıma sahiptir. Bu sistemin ürünleri, büyük oranda yağ hücrelerinden salgınır. Apelinerjik sistemin şimdiye kadar bilinen etkileri; kardiyak inotropik sinyalleme sağlama [22], vazodilatasyon [23], vücut sıvısı homeostazı [24], metabolizma ve insülin tepkisi [25],

oksidatif stresin hafifletilmesi [26] ve bağımsıklık tepkisinin modülasyonudur [27]. Daha yakın zamanlarda apelinergic sistemin yaşlanma karşıtı etkilere aracılık ettiği de rapor edilmiştir [28,29].

Kurkumin; halk arasında “zerdeçal” olarak bilinen ve geleneksel uzak doğu tıbbında oldukça yaygın olarak kullanılan, *Curcuma Longa* (*C. longa*)’nın rizomlarından elde edilen, çok yönlü farmasötik etkinliği bilinen antioksidan özelliğe sahip polifenolik bir bileşiktir. Kurkuminin uzun yıllar sindirim ve solunum hastalıklarında kullanımı bilinmektedir. Günümüzde uzak doğu ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede tatlandırıcı, baharat ve gıda takviyesi olarak kullanılmakta [30] ve yüksek miktardaki antioksidan içerikleri ve yüksek antioksidan aktiviteleri nedeniyle zerdeçal tüketimi gerek dünyada gerekse ülkemizde giderek artmaktadır. Kurkuminin antioksidan, antikanserojenik, antitumörjenik, antidiyabetik, antibakteriyel, antiviral, anti-inflamatuvar, anti-nosiseptif gibi çok yönlü farmasötik etkileri çeşitli deneysel çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Kurkuminin birçok hastalığın tedavisinde etkili olmasında ana nedenin güçlü antioksidan etkisi olduğu düşünülmektedir [31,32]. Kurkumin, hastalıkların önlenmesi ve hastalıklardan korunma açısından faydalı olabilecek farmakolojik etkilere sahiptir [33].

D vitamini ise; hormon benzeri fonksiyonlar barındıran, yağda çözünen vitaminlerden biridir. D vitamini metabolizmasının, biyolojik rolünün ve ilgili kantitatif değerlendirme yöntemlerinin araştırılması son yirmi yılda katlanarak artmıştır. D vitamini, insandaki fizyolojik işlevleri, kemik sağlığı gibi normal hücre büyümesi ve olgunlaşmasının yanı sıra genel sağlık, bağımsıklık sistemi gelişimi için de önemlidir [34]. Yetersiz güneş ışığı ve besin yoluyla D vitamini alımı, malabsorbsiyon ve sıklıkla reçete edilen kolestramin gibi ilaçların kullanımı gibi nedenlerden ötürü D vitamini eksikliğinin yüksek prevalansa sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir. D vitaminin immün sistem üzerindeki etkisi, periferik kandaki aktif inflamatuvar hücrelerde D vitamini reseptörlerinin tanımlanmasıyla ortaya çıkmıştır. D vitaminindeki yetersizlik, T hücre cevabının azalmasına sebep olmaktadır [35].

Deneysel modellerde kurkumin ve D vitamininin apelinergic sistem üzerindeki etkilerine değinilmemiştir. Deneysel çalışmamız ve bu konu ile ilgili gerçekleştirilecek ileri çalışmalar sonucunda multidisipliner yaklaşımların geliştirilmesi, insan sağlığı açısından faydalı bilimsel araştırmaların artmasına imkan sağlayacaktır. Kurkumin ve D vitamininin oksidan durum üzerine etkisine ilişkin bazı çalışmalar mevcut olmakla birlikte, çalışmamız bu iki

önemli bileşğin apelinergic sistem üzerine etkisini ve ölçülecek diğer parametrelerle ilişkisini araştırmaya yönelik ilk çalışma olacaktır.

Çalışmamızda kurkumin ve D vitamininin apelinergic sistem ve oksidan-antioksidan durum üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, vitamin D ve farklı dozlarda kurkumin uygulanan sıçanlarda apelin, elabela, nitrik oksit, asimetrik dimetilarginin, total oksidan kapasite ve total antioksidan kapasite düzeyleri araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

Sağlıksız beslenme, yetersiz fiziksel aktivite, sigara içme gibi faktörler önemli önlenabilir risklerdir. Bu risk faktörleri ve belirleyicileri, vasküler endotelyal ve multiorgan disfonksiyonlarına büyük katkıda bulunur [5]. Olumlu katkıda bulunan sistemler arasında apelinergic sistem, vasküler homeostazın üzerindeki yararlı etkileri ile öne çıkmaktadır [24].

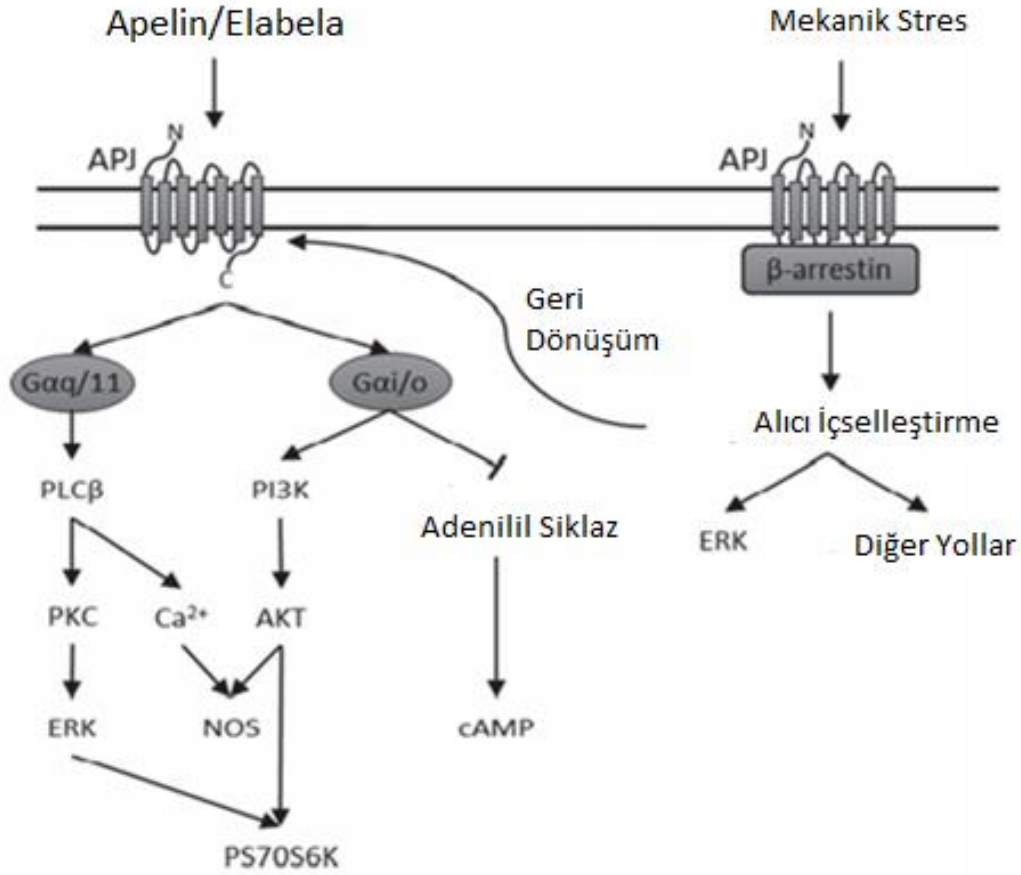
2.1. Apelinergic sistem

Apelinergic sistem, apelin reseptörü (APJ), apelin ve elabeladan meydana gelmektedir, vücutta geniş bir dağılıma sahiptir. Bu sistemin ürünleri, büyük oranda yağ hücrelerinden salgılır. Apelin kalp, endotel, vasküler düz kas hücreleri, beyin, böbrek, testis, yumurtalık, karaciğer ve adipoz dokusunda, akciğerde ve meme bezinde en yüksek seviyede ekspresyon edilir [25]. Kemirgenlerde ve insanlarda çeşitli dokularda APJ gen ekspresyonu akut ve tekrarlayan stres zamanlarında ortaya çıkar. Bunun glukokortikoid bağımlı mekanizmalarla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür [24].

2.1.1. Apelin reseptörü

Apelin reseptörü, 7 trans-membran bölgesi olan G-protein bağlı reseptördür. İlk olarak 1993 yılında O'Dowd ve arkadaşlarınca keşfedilmiş olan apelin reseptörü anti-angiotensin reseptör-1 ile güçlü sekans homolojisine sahiptir [36]. APJ sinyal yolağının kısa bir özeti Şekil 2.1' de sunulmuştur. APJ'nin ligandları, Gai/o ve Gq/11 aracılığıyla aşağı akış sinyalini tetikler. Sinyalleşme G proteinine bağımlı bir şekilde tetiklenen kaskadlar ile faydalı etkileri iletir. Gq/11 aktivasyonu, fosfolipaz C β (PLC β) aktivasyonuna ve ardından protein kinaz C (PKC) aracılı ERK aktivasyonuna ve fosforilasyonuna ve membran Na⁺/H⁺ aktivasyonuna yol açar ve böylece apelinin inotropik etkileri görülür [37].

β -arrestin alımı ve ardından reseptör içselleştirmesi yoluyla ligand aktivasyonuna ek olarak, mekanik stres APJ sinyalini etkinleştirebilir. Azaltılmış APJ aktivasyonu, kardiyak hipertrofik yanıtı şiddetlendirir [38]. Ancak, buradaki yollar henüz tam olarak bilinmemektedir. Radyoligand bağlanma deneyleri, insan kalp dokusunun apelinin yüksek afiniteyle ve tek bir bağlanma bölgesi öneren kinetikle bağlandığını göstermiştir [39].



Şekil 2.1. Apelin reseptörü sinyal yolu özeti

APJ, apelin reseptörü; PLCβ, fosfolipaz C; PI3K, Fosfoinositid 3-kinaz; PKC, protein kinaz C; AKT, protein kinaz B; ERK, hücre dışı regüle kinaz; NOS, nitrik oksit sentaz; PS70S6K, protein kinaz S6; cAMP, siklik adenosin monofosfat

2.1.2. Apelin

Apelin, Tatemoto ve ark. tarafından APJ için ilk endojen ligand olarak 1998 yılında tanımlanmıştır. Reseptörü gibi apelin; kalp, akciğer, böbrek, karaciğer, yağ dokusu, gastrointestinal sistem ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere çok çeşitli dokularda bulunur [40]. Apelin, 77 amino asitten oluşan proapelin olarak sentezlenen propeptit bir hormondur. Apelin'in öncüsü, preproapelin, ve bunlardan birkaç olgun APLN geni tarafından kodlanan apelin peptidinin formları ortaya çıkar. İzoformları arasında apelin-13, -16, -17 ve -36 bulunur. Her izoform farklı aktiviteye sahiptir ve daha kısa olan izoform, APJ için daha güçlü bir aktivatördür. En fazla bulunan apelin formu olan apelin-36'nın,

apelin peptidinin "olgun formu" olduğu ve apelin-12, apelin-17, apelin-13 ve [pyr]-13 apelinin ise apelin-36'dan daha güçlü olduğu düşünülmüştür [36]. Preproapelin ayrıca 55 amino asitli proapeline işlenir ve proteazlar tarafından biyoaktif apelin-32, -17 ve -13'e dönüştürülür. Şimdiye kadar apelin-55'in apelin-36'ya ve ayrıca apelin-13'e işlenmesinde sadece pro-protein konvertaz subtilisin/Kexin tip 3 (Furin veya PCSK3) tanımlanmıştır. En sıklıkla saptanan apelin izoformu apelin-13'dür. Apelin'in plazma yarı ömrü 5-8 dakika arasında olup oldukça kısadır [41].

Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE2) [42] ve neprilysin [43] apelinin inaktivasyonunda tanımlanmıştır [44]. Preproapelin, çekirdek, talamus, hipotalamus, hipokampus, orta beyin, bazal ön beyin ve ön korteks gibi beynin çeşitli bölgelerinde keşfedildi [45]. Apelinin ortadan kaldırılması, hızlandırılmış çoklu doku yaşlanmasına neden olur [46]. Apelin ayrıca hipotalamustan antidiüretik hormonun salgılanmasını etkileyerek sıvı dengesini kontrol edebilir [47]. Apelin ile ilgili araştırmalar genişlemiş olsa da, çalışmaların çoğu insan deneklerden ziyade kemirgenlerde yapılmıştır. İnsan çalışmalarında, çoğu literatür çelişkilidir, bu nedenle apelin konsantrasyonlarını normal, sağlıklı, genç kontroller oluşturmuştur. Öncelikle yakın zamanda keşfedilmiş, patofizyolojik etkileri hakkında çok az bilgi olan ve adipositlerden salgılanan apelin, yeni bir adipokin olarak kabul edilir [48]. Adipositler veya yağ hücrelerinin apelin ürettiği gösterilmiştir [49]. İnsanlara benzer şekilde, fareler beynin orta beyin, hipokampus, medulla, pons ve beyincik, hipofiz, koku alma tüberkülü, septum, adrenal, vas deferens dahil periferik dokular, testis, bağırsaklar ve böbrekler ve ayrıca sıçan fetüslerinde preproapelinini eksprese eder. [47].

2.1.3. Apelin İzoformlarının Fonksiyonel Özellikleri

Farklı bağlanma afiniteleri olan farklı apelin izoformları APJ'ye bağlandığında değişen hücresel tepkiler verirler. Kısa izoformlar, daha uzun olanlara kıyasla APJ'ye daha yüksek bağlanma afinitesi gösterirler ve [pyr1] apelin-13, hücre dışı düzenlenmiş kinaz sinyal zincirinin en güçlü aktivatörüdür [44]. Daha uzun apelin-17 ve -36 izoformları, APJ ile stabil kompleksler oluşturduktan sonra reseptörden ayrışmaları apelin-13 ve [pyr1] apelin-13 ile karşılaştırıldığında gecikmiştir. Uzun süreli bağlanma daha uzun izoformlar, APJ β -arrestin-etkileşimini artırarak, içselleştirildikten sonra APJ'nin lizozomal degradasyonuna yol açar. Tersine, kısa izoformlar reseptörden hızla ayrışır ve β -arrestin-APJ kompleksi ayrılır [50]. Reseptör ligand etkileşimindeki bu temel farkın ardından, daha uzun apelin izoformlarının

reseptör duyarsızlaşmasına neden olduğu ve bu şekilde apelinergic yanıtın büyüklüğünü düzenlediği bilinmektedir [51].

2.1.4. Elabela

APJ'nin ikinci endojen ligandı elabela, iki bağımsız grup tarafından 2013 yılında eş zamanlı olarak keşfedildi. Elabela embriyogenez sırasında kardiyovasküler gelişimden sorumlu ve çok önemlidir [52,53]. Elabela mRNA, embriyogenez esnasında kardiyovasküler gelişimde progenitör hücrelerin migrasyonunu hızlandırmak için APJ mRNA ile birlikte görev alır. Elabela ekspresyonu embriyogenez ve apelin ekspresyonundan sonra hızla azalır. Elabela primer olarak 54 amino asit polipeptidi olarak sentezlenir ve bazı proteazlar tarafından bölünür. Elabela-32, -21 ve -11'in biyoaktif formlarına dönüştürülür. Elabela-32, bir [Pyl]-konjuge [Pyl] Elabela-32 formu olarak bulunabilir [54]. Elabelanın plazma yarı ömrü, apelininki gibi sadece birkaç dakikadır [55]. Plazmada Elabela'nın inaktivasyonundan sorumlu proteazlar henüz bilinmemektedir. Ho ve diğerleri, 2015 yılında insanda apoptozu inhibe etmek ve hücre yenilenmesini teşvik etmek için Elabelayı rapor etmiştir. Bununla birlikte, raporlarında pluripotent embriyonik kök hücrelerinin (hESC'ler), APJ'ye baskı yapmadığını, bu nedenle ligand için henüz bilinmeyen başka bir reseptör olduğunu düşünmüşlerdir [56].

2.1.5. Elabela İzoformlarının Fonksiyonel Özellikleri

Apelinde olduğu gibi, elabela izoformları APJ'ye değişen bağlanma potansiyeline sahiptir. Elabela nispeten yeni bir keşif olduğundan bağlanma gücünün ötesindeki işlevsel farklılıklar henüz büyük ölçüde açıklığa kavuşturulmamıştır. Bilinen en güçlü elabela izoformlarının ELA-32 ve ELA-21 olduğu bildirilmiştir [41,57].

2.1.6. Apelinergic Sistem ve RAAS Arasındaki Antagonist İlişki

Apelinergic sistemin üç bileşeninin tümü, RAAS (Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi) Angiotensin II (Ang II) 'nin potansiyel olarak yıkıcı etkilerini antagonize eder. Bir fare ateroskleroz modelinde Ang II'nin etkilerini teşvik ettiği rapor edilmiştir [58]. Bu etkileşimin Ang II baskılayıcı etkisinin, APJ'ye bağlanan apeliniden kaynaklandığı düşünülmektedir

[59]. Artan ACE2 ekspresyonu, zararlı Ang II'nin kardiyoprotektif Ang 1-7'ye dönüşümünü arttırır. Elabela RAAS üzerinde apelininkine benzer bir düzenleyici etkiye sahiptir [60].

2.1.7. Kardiyovasküler Hastalıklarda Apelinerjik Sistem

Düşük apelin plazma seviyeleri, hipertansiyon ve yüksek kan basıncı ile ilişkilidir. [61,62]. Deneysel ortamlarda kan basıncını düşürme amacıyla ve periferik olarak uygulanan apelinin özelliklerinin Ang 1-7'ye benzer olduğu kanıtlanmıştır. Periferik olarak apelin uygulandığında periferik vasküler direnç düşer ve nitrik okside bağımlı olarak kan basıncını düşürür [63]. Apelinin akut [64,65] ve kronik uygulamasında [58] kan basıncının düştüğü rapor edilmiştir.

Apelinin etkileri, RAAS'ın etkilerine karşı bir savunmayla ilişkilidir [66]. Kan basıncının düşürülmesi için periferik olarak uygulanan apelinin etkisi ayrıca vasküler endotel disfonksiyonu ve bozulmuş nitrik oksit sentezi varlığında da ortadan kalkar. Apelin vasküler düz kas hücrelerinin kasılmasını destekler. Bu yolla apelin, kan basıncının artmasına yardımcı olur [67]. Apelin, kasılma gücünü arttıran güçlü bir ajandır. Ek olarak apelin, Ca^{2+} konsantrasyonundaki artıştan bağımsız olarak miyofilament Ca^{2+} duyarlılığını artırır [68]. Genel olarak, hücre içi Ca^{2+} düzeylerinin artması aritmiler ve kardiyak hipertrofi ile ilişkilidir. Böylece apelinin yeniliği, kalp hipertrofisini teşvik etmeden kasılma fonksiyonunu artırırken, aynı zamanda vasküler direnci artırır ve böylece hem sonrasını hem de ön yükü azaltır [69]. İnotropi ve vasküler direnci düzenleyici özelliklerine ek olarak apelin ayrıca çok sayıda oksidatif hasar önleme yolunu etkinleştirir. İskemi-reperfüzyon hasarında apelinin apoptozu teşvik ettiği ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir [70].

2.1.8. Yaşlanma Karşıtı Tedavide Apelinerjik Sistem

Yaşlanma, organizmada fizyolojik işlevin bozulması ve rahatsızlıklar ile ilişkilidir. Hücresel düzeyde, azalmış mitokondriyal solunum, reaktif oksijen türleri (ROS) birikimi ve enzimatik aktivitede azalma yaşlanmanın ayırt edici özellikleridir. Yapılan çalışmalar apelin ile vücutta yaşlanmaya bağlı çoklu değişikliklerde mücadeleye işaret etmektedir. Farelerde apelinerjik uyarıların kaybı; sıvı homeostazında bozukluklar, erken başlangıçlı infertilite, böbrek fonksiyon kaybı, insülin direnci gelişimi ve kas kaybı ile karakterize çoklu organ yaşlanmasının hızlanmasına neden olur [71]. Apelin, iskelet kaslarınca kasılma esnasında

serbest kalır. İnsanlar dahil olmak üzere memelilerde, yaşlanma sırasında hem plazma seviyeleri hem de kasılmanın neden olduğu apelin salınımı azalır. Buna paralel olarak, düşük plazma apelin seviyeleri, hastalıkla ilişkili sarkopeni ve kırılgenlikle güçlü bir şekilde ilişkilidir [29]. Yaşlı hayvanlar üzerinde eksojen apelin ile apelinergik sinyalin restorasyonu gençleştirici bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [28]. RAAS, kardiyak hipertrofi ve etkilere neden olan disfonksiyona ek olarak ROS üretimini ve iltihaplanmayı artırarak yaşlanmaya katkıda bulunur [27]. Apelinin; RAAS'ın neden olduğu ROS üretim artışına karşı koymanın ötesinde, ERK ve AMPK yollarının aktivasyonu yoluyla antioksidan enzimlerin ekspresyonu adipositlerde ve neonatal kardiyomiyositlerde oksidatif stresi ve ROS üretimini azalttığı gösterilmiştir [26,72]. Ayrıca apelin, endotelial nitrik oksit ve nitrik oksit sentaz sentezini, böylece doku perfüzyonunu artırır, oksidatif stresi azaltır ve kan basıncını düşürür [40].

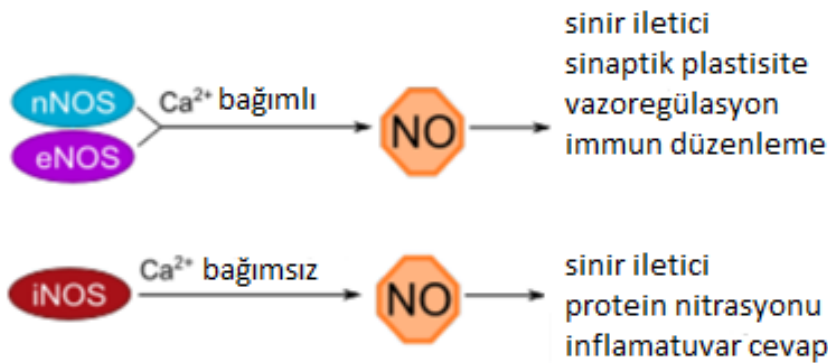
Mezenkimal kök hücreler (MSC'ler), yaşlanmış doku bölgelerine girme ve doku onarımını destekleme, böylece yaşlanmaya bağlı hasarı önleme yeteneğine sahiptir. MSC'lerin genç donör farelerden yaşlı farelere transplantasyonunun yapıldığı bir çalışmada yaşlanmanın başlangıcına ve yaşa bağlı kısırlığa karşı koymada etkili olduğu bulunmuştur [73,74]. Apelin, MSC'lerin hayatta kalmasını destekler, miyokard enfarktüsüne yanıt olarak proliferasyon ve farklılaşma, kalp progenitor hücrelerini mobilize edebilir [37]. Ayrıca apelin egzersiz kaynaklı kas hasarına yanıt olarak kas hücrelerini aktive ederek iskelet kası onarımını indükler [29]. Apelin, egzersiz sırasında iskelet kasları tarafından atılır ve bu nedenle antioksidatif ve antiinflamatuvar etkilere önemli bir katkıda bulunabilir [75]. Yaşlanma sırasında apelin salınımı azalır ve bu da kasların kapasitesi ve nihayetinde kas gücü kaybına neden olur [29].

2.2. Nitrik Oksit

En önemli inflamatuvar mediatörler arasında yer alan nitrik oksit, indüklenmiş NO sentazlar (iNOS) yoluyla belirli patolojik koşullar altında büyük miktarlarda üretilir. NO, azot ve oksijenden oluşan iki atomlu bir serbest radikaldir. NO molekülü, hem fizyolojik hem de patofizyolojik sistemlerde pek çok rol oynar ve basit kimyasal yapı, çeşitli ve hatta çelişkili biyolojik olaylardan sorumludur [76]. Örneğin, endotelial olanların farklı hücre tipleri üzerinde antiapoptotik etki gösterdiği rapor edilmiştir [77]. Farklı NO konsantrasyonları farklı etkiler gösterir. Örneğin, endotel hücrelerinde, düşük NO konsantrasyonları, hücre dışı

sinyalle düzenlenen kinazların fosforilasyonunu, yüksek NO konsantrasyonları ise protein kinaz B'nin (Akt) fosforilasyonunu uyarır [78].

İkili bir sinyal aracısı olarak NO, ilk önce endotel kaynaklı bir tür olarak keşfedilmiştir. Daha sonra, NO'nun rahatlatıcı faktör olduğu öne sürülmüştür [79]. Bu öneriyle bilim adamları, NO'nun vasküler düz kas üzerindeki etkilerini gözlemlemişlerdir. Nitrik oksit, en küçük haberci moleküldür ve birçok moleküler hedefi vardır. Düzenleyici işlevleri kontrol eder. Nörotransmisyon ve vasküler, ayrıca gen transkripsiyonunu düzenleyebilir ve proteinlerin translasyon sonrası modifikasyonlarını indükler. NO oldukça reaktiftir ve hızla sentezlenebilir, yani NO'nun hücre içinde sentezlenmesi için birden fazla düzenleyici bölge vardır [80,81]. NOS, bir süperoksit anyonu ile reaksiyona girer. NO, NOS enziminin üç farklı izoformu tarafından üretilir. Bunlar; nöronal NOS (nNOS veya NOS1), iNOS (NOS2) ve endotelyal NOS (eNOS veya NOS3) olarak bilinir [82]. NO, kalsiyum bağlayıcı bir protein olan kalmodulin ile kalsiyum akışının etkileşimi yoluyla nNOS ve eNOS tarafından üretilir. nNOS'un sinaptik plastisitenin düzenlenmesi ve merkezi kontrol dahil olmak üzere çok sayıda işlevi vardır [83].



Şekil 2.2. Farklı NOS izoformlarının özet işlevleri

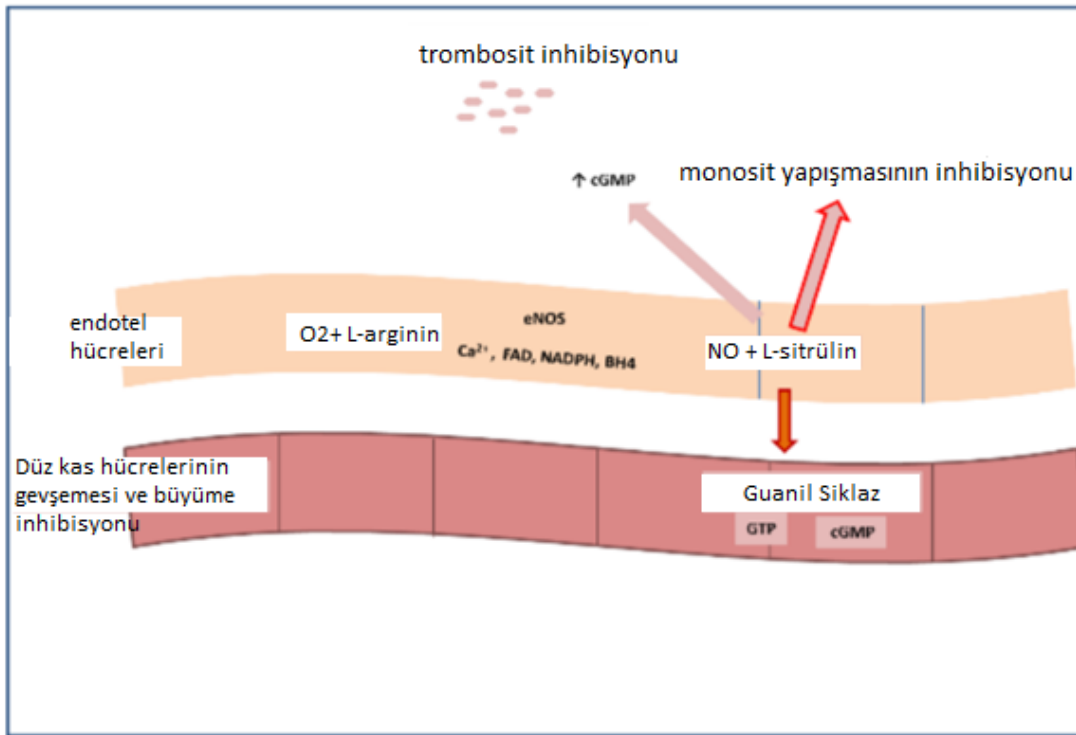
Periferik olarak sinir sisteminde, nNOS tarafından üretilen NO, bir nörotransmitter görevi görür, ayrıca nNOS, merkezi sinir sisteminde öğrenme ve hafıza ile de ilgilidir. Öte yandan, eNOS'tan üretilen NO vazodilatör görevi görür. NO, tromboz ve düz kas proliferasyonunu önlemek için trombosit agregasyonu ve trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin salınımını engeller. Ek olarak, eNOS'tan türetilen NO, DNA'yı inhibe edebilir, mitogenezi ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin akışını azaltabilir [82]. nNOS ve eNOS'un aksine, iNOS

tarafından üretilen NO kalsiyumdan bağımsızdır [83]. iNOS tarafından L-argininin guanidino nitrojeni NO'nun enzimatik dönüşümü ile üretilir. iNOS'tan türetilen NO, sinaptik iletim için bir sinyal molekülü görevi görür ve protein sinyalleşmesinde değişikliklere neden olur ve birçok hücre tarafından indüklenebilir [81].

2.2.1. NO Başlıca Düzenleyici Roller

NO, normal fizyolojik fonksiyonlarda önemli roller oynar. Damar tonusunun korunması, düz kasın inhibisyonu hücre proliferasyonu, trombosit inhibisyonu, koroner perfüzyonun toplanması ve sürdürülmesi, ventilasyon ve mukusun bakımı, akciğerlerdeki sekresyon ve endokrin modülasyonu salgı bilinen bu rollerden bazılarıdır [84]. NO aynı zamanda bir nörotransmitter ve nöroprotektördür. Ek olarak, trombosit kaynaklı NO, trombosit aktivasyonunu ve intravasküler trombozu baskılar ve bakterisidal aktiviteye sahip olan peroksinitrit oluşturmak için süperoksit ile etkileşime girer [85]. Ayrıca birçok çalışma NO'nun antikanser etkisi olduğunu göstermiştir [86].

NO'nun belki de en hayati rolü damar tonusunun düzenlenmesindeki görevidir. NO düz kas gevşemesini sağlar; üretildikten sonra guanilat siklazı aktive eder. Sırayla 3,5-siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretimini artırır. cGMP kinazların aktivasyonu ile sonuçlanan bir dizi olayı katalizler ve sırayla potasyum kanallarının aktivasyonu ve kalsiyum kanallarının inhibisyonunu sağlar. Düz kas gevşemesine neden olan hücre içi kalsiyum konsantrasyonu azalır [87].

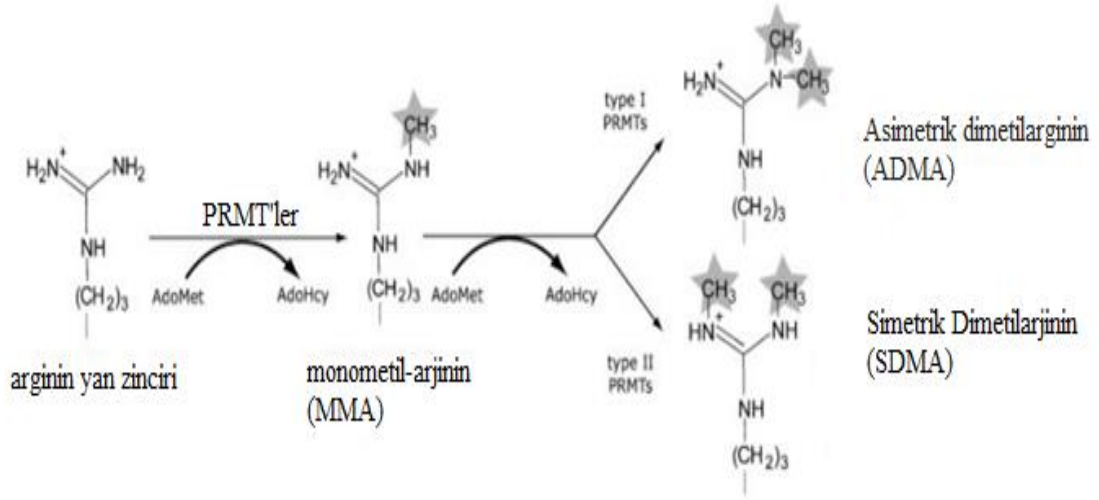


Şekil 2.3. NO'nun düzenleyici işlevlerinden bazıları

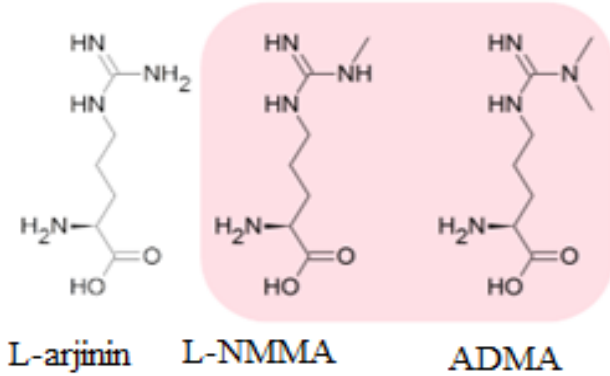
Periferik sinir sisteminde, nöronal NOS'dan türetilen NO, bağırsak peristalsisi, vazodilatasyon ve penil ereksiyonun bileşenlerine aracılık eden atipik bir nörotransmitter görevi görür [82,88].

2.3. ADMA

Asimetrik dimetilarginin ve L-NMMA; NOS'un yaygın olarak gözlenen iki endojen inhibitörüdür [89].



Şekil 2.4. Arjininin metilasyonu ile L-NMMA ve ADMA sentezi

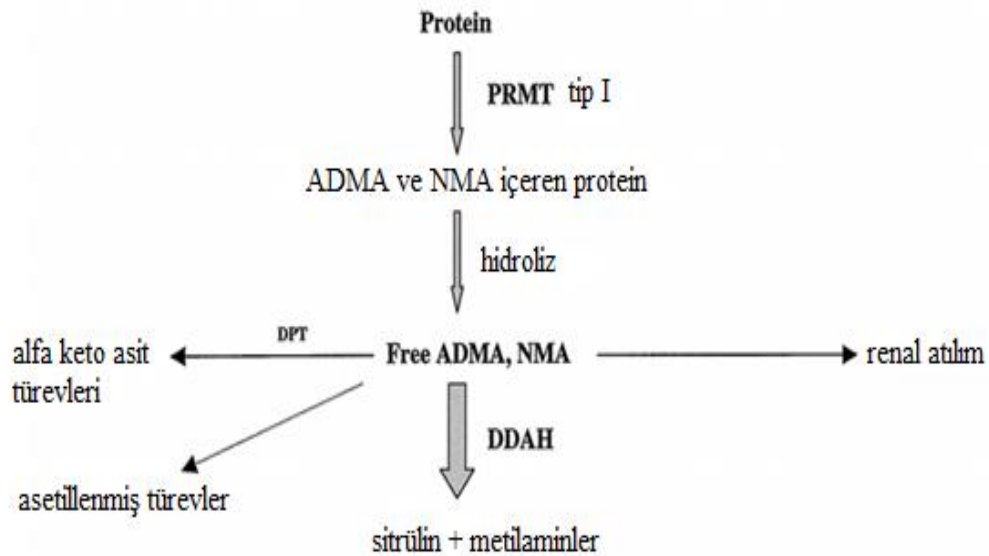


Şekil 2.5. L-Arginin ve endojen NOS inhibitörleri

Şekil 2.4 'deki yapıya baktığımızda, hem inhibitörlerin hem de L-Arjinin'in NOS'a bağlanan bir terminal amino asit grubu mevcut. Asimetrik dimetilarginin, endojen nitrik oksit sentaz inhibitörüdür. ADMA ve L-NMMA'nın sentezlenme sürecine arjinin metiltransferaz (PRMT) aracılık eder. PRMT, guanidino metilasyonunu katalize eder. Arjinin içindeki nitrojen, metil grubu S-Adenosil-L-metiyonin (AdoMet) tarafından sağlanır ve metil grubunun sağlanmasından sonra AdoMet, S-adenosil-L-homosisteine dönüştürülür [90].

NO kontrolü, uygun homeostaz için önemlidir. NOS inhibisyonu, normal üretimden daha düşük NO üretimi seviyeleri ile ilişkilidir. Serumdaki yüksek ADMA konsantrasyonları, özellikle daha önce koroner kalp hastalığı olanlarda akut koroner riskinin artmasıyla ilişkilidir. Bu bulgunun, nitrik oksit sentazın endojen rekabetçi bir inhibitörü olan ADMA'nın koroner kalp hastalığı için bir risk faktörü olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [91]. Kronik böbrek yetmezliği, ateroskleroz, bozulmuş koroner kollateral gelişim kalp hastalığına neden olur [92,93,94].

ADMA'nın renal klirensi önemlidir. Sağlıklı erkeklerde vücutta üretilen ADMA' nın altıda biri (50 μ mol) böbrek tarafından değişmeden atılır. Ancak böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda plazma ADMA konsantrasyonları kreatinin ve glomerüler filtrasyon hızı ile önemli ölçüde koreledir [95]. Şekil 2.6. ADMA, üretimi ve metabolizması için genel şemayı göstermektedir.



Şekil 2.6. ADMA üretimi ve metabolizması

2.4. Oksidatif Stres

50 yıldan daha uzun bir süre önce Commoner ve meslektaşları öncelikle biyolojik materyallerde oldukça reaktif 'serbest radikaller' olarak adlandırılan molekülleri keşfetmiştir [97]. Kısa bir süre sonra 1956'da Denham Harman bu serbest radikallerin enzimatik ürünlerin yan ürünleri olarak oluşabileceği hipotezini ortaya atmıştır. İn vivo reaksiyonlar,

mitokondriden gelen ve "reaktif oksijen" olarak adlandırılan türler aşırı olduğunda, bu tür serbest radikaller hücrel hasara, mutageneze, kansere ve dejeneratif biyolojik yaşlanma sürecine neden olabilir [98]. Sayısız araştırmacı o zamandan beri redoks homeostazının düzensizliğini birçok hastalık ile ilişkilendirmişlerdir. Bu hastalıklar kapsamında kanser, diabetes mellitus, hipoksi, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalık, iskemi/reperfüzyon hasarı, inflamatuvar disfonksiyon ve yaşlanma yer almaktadır [99].

Redoks homeostazındaki dengesizlikler 'oksidatif stres' olarak adlandırılır ve herhangi bir nedenden kaynaklandığı bilinmektedir. Pro-oksidan mekanizmalar tarafından üretilen ROS'taki artış veya yetersiz oksidatif tepki olarak hücreler tarafından üretilen endojen antioksidanlar ROS'u söndürme girişimindedir [100]. Düzenlenmemiş herhangi bir ROS, potansiyel olarak hücrelerin kendi DNA'sına zarar verebilir [99]. ROS ayrıca hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hücre dengesini de etkileyebilir [101]. ROS, fagosit "solunumsal patlama reaksiyonu" için normal bir konak savunma mekanizması olarak üretilirken, istilacı mikroorganizmalara karşı ROS üretimi de birçok biyolojik olayda önemli bir rol oynamaktadır [102]. İnsan tümör hücrelerinin (prostat kanseri hücreleri gibi) ölümüne yüksek seviyelerde O_2^- ve H_2O_2 gibi ROS'lar neden olabilir [103]. Oksidatif stres, aşırı reaktif oksijen üretimi ya da aşırı derecede reaktif bir molekül veya bu reaktif oksijenin yetersiz şekilde uzaklaştırılması olarak tanımlanabilir [104]. Oksidatif stres genelde insan vücudunda olması istenmeyen bir reaksiyon olarak düşünülür. Oysa istilacı mikroorganizmalara karşı savunmanın yanı sıra doku onarımı ve iltihabı için gereklidir. Ancak kontrolsüz bir ortamda ise oksidatif stres zararlı olabilir [105]. Nötrofiller ve monosit-makrofajlar, oksijen (O_2) tüketimini artırarak süperoksit (O_2^-) oluşumuna neden olur. Bu radikalin üretimi ya normal fizyolojik süreçlerden ya da çevresel kaynaklı olabilir. Süperoksit, peroksinitrit (ONOO-) gibi diğer toksik nitrojen türlerini oluşturmak için reaktif bir madde olan nitrik oksit ile birleşebilir veya hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürülebilir [106]. Bunlar topluca reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan reaktif moleküller proinflamatuvar sitokinler ile birlikte hidrojen peroksit oluşumunu (H_2O_2) arttıracaktır. Oksidanların birikimi; lipid hücre zarının parçalanması, DNA hasarı ve protein yıkımı ile sonuçlanır.

Lipidler gibi doku biyomoleküllerine serbest radikal saldırısı, oksidatif stresin başlıca göstergeleridir [107]. Oksidan hasarda çok çeşitli peroksidasyon ürünleri oluşturan biyomolekül serbest radikalleri kolayca lipide saldırır. İkincil oluşumda reaktif aldehitler

gibi lipid peroksidasyon ürünleri, oksidatif hasarda çok önemli bir rol oynar. Potansiyel bir çapraz bağlama maddesi olan malondialdehit (MDA) ve reaktif hidroksialkallenler, lipidin zararlı etkilerinin yayılmasında ve kısmen aracılık edilmesinde rolü olduğu bilinmektedir [108].

Çalışmalar, yüksek oksidatif stres ile karakterize edilen birçok patofizyolojik durumun, DNA hasar yanıtının yukarı regülasyonu ile de ilişkili olduğunu göstermektedir. Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında belirli patofizyolojik koşullarda oksidatif stres hücrelerde epigenetik değişikliklere de neden olur [109].

Fizyolojik koşullar altında oksidatif stres, biyolojik öneme sahip moleküllerin (lipidler, proteinler, DNA) oksidatif reaksiyonlardan korunması için endojen antioksidan savunmalarla dengelenir. Oksitlenmiş proteinler ve amino asitler, oksidatif stresin potansiyel destekleyicileridir. Proteinler oksitlendiğinde, amino asit yan zincirlerinin parçalanması, toplanması ve modifikasyonu dahil olmak üzere çeşitli kimyasal değişiklikler meydana gelir [110].

Bu çalışmada genel oksidatif stres durumunu değerlendirmek için total oksidan kapasitesi değerlerine bakılmıştır. Genel oksidasyonu tahmin etmek için genellikle TOC kullanılır. TOC kapsamlı bir ölçüm olduğu için vücuttaki oksidatif stresin daha kesin bir ifadesi olabilir.

2.5. Antioksidan Savunma

Organizma, serbest radikallere ve serbest radikallerin sebep oldukları hasarlara karşı bir savunma sistemi oluşturmuştur. Serbest radikalleri ve sebep oldukları hasarları engelleyen maddeler antioksidanlar olarak isimlendirilirler. Antioksidanlar, ekzojen ya da endojen kaynaklı olabilirler. Ekzojen antioksidanlar kapsamında; C vitamini (askorbik asit), β -karoten ve E vitamini yer almaktadır [111].

Suda çözünebilen bir vitamin olan askorbik asit diğer adıyla Vitamin C, kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için gereklidir. Vitamin C süperoksit, hidroperoksil, singlet oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen türleri ve

reaktif nitrojen türlerini temizleyerek oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruma sağlar [112].

Karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesi de β -karotendir. Aktif A vitaminine dönüşebildikleri için provitamin olarak tanınır. Serbest radikalleri toplar. β -karoten, güçlü bir antioksidan ve iyi bir oksijen temizleyicidir [111].

Vitamin E, süperoksit, hidroksil radikallerinin indirgenmesini sağlar. Membran lipidleri içerisinde çözünerek zincirini kırar. Vitamin E, yüksek antioksidan potansiyeli olan yağda çözünen bir vitamindir. α -tokoferol formu insanlarda en biyoaktif formudur. α -tokoferol, hücre membranlarını serbest radikallerin hasarlarından korur. Temel fonksiyonu lipid peroksidasyonuna karşı korumadır [111].

Endojen-enzimatik antioksidanlar kapsamında; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, sitokrom oksidaz yer almaktadır.

Süperoksit dismutaz, reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturur. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır. Süperoksit ve hidrojen peroksit radikallerinin moleküler oksijene dönüşmesini sağlayan antioksidan bir enzimdir [111].

Katalaz, büyük ölçüde peroksizomlar gibi hücre içi organellerde ve daha az olarak da mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. Hidrojen peroksitin, H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü katalize eder [112].

Glutatyon peroksidaz, hidroksiperoksitlerin indirgenmesinde görevlidir. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimlerden biridir. Glutatyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Böylece H_2O_2 'den $OH^{\cdot}$ 'nin oluşmasını engeller. Glutatyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutatyonu (GSH) kullanarak H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) metabolize eden bir enzimdir [112].

Sitokrom oksidaz, oksijenin suya indirgenmesi esnasında aktif oksijenin ortama salınmasını engelleyerek ROS oluşumunu önler.

Endojen-nonenzimatik antioksidanlar ve görevleri ise Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Endojen-nonenzimatik antioksidanlar ve görevleri

Endojen Antioksidanlar (Nonenzimatik)	Görevleri
Albümin	Hipokloröz asit radikallerini temizler. Proteini ve metal iyonlarını bağlar. Albümin indirgenmiş sistein 34 sayesinde OH^- 'yi süpürebilir.
Seruloplazmin	Seruloplazmin ve transferrin birçok dokuda sentezlenebilen önemli antioksidan proteinlerdir. Bakır iyonlarını bağlar. H_2O_2 kullanarak bakırın reoksidasyonunda görev alır.
Transferrin	Transferrinin asıl fonksiyonu hücrelere Fe^{+3} taşımasıdır ve aynı zamanda bir büyüme faktörüdür. Ferröz iyon (Fe^{+2}), fenton reaksiyonu tarafından H_2O_2 'nin çok toksik olan OH^- 'a dönüşümünü katalizleyerek oksidatif strese sebep olur. Transferrin, serbest ferröz iyon konsantrasyonunu azaltır.
Laktoferrin	Demir iyonlarını pH'sı düşük ortamlarda bağlar.
Haptoglobin	Hemoglobini bağlar.
Hemopeksin	Hem grubunu bağlar.
Bilirubin	Bilirubin, olgun eritrositlerin parçalanmasıyla eritrositlerin içerisinde bulunan hem proteinlerinin yıkımı sonucunda meydana gelir. Bilirubin peroksil radikallerini etkileyerek zincir kırıcı etki gösterir. Peroksil radikali toplayıcısıdır.
Glukoz	Hidroksil radikali gidericisidir.
Ürat	Radikalleri toplar ve metalleri bağlar.
Melatonin	Hidroksil ve süperoksit radikallerini tutarak antioksidan etkisini gösterir.

Antioksidan aktivitelerinin toplamı, genellikle toplam antioksidan kapasite (TAC) olarak adlandırılır. Antioksidan aktivite belirli bir oksidana (genellikle bir serbest radikal) karşı tek

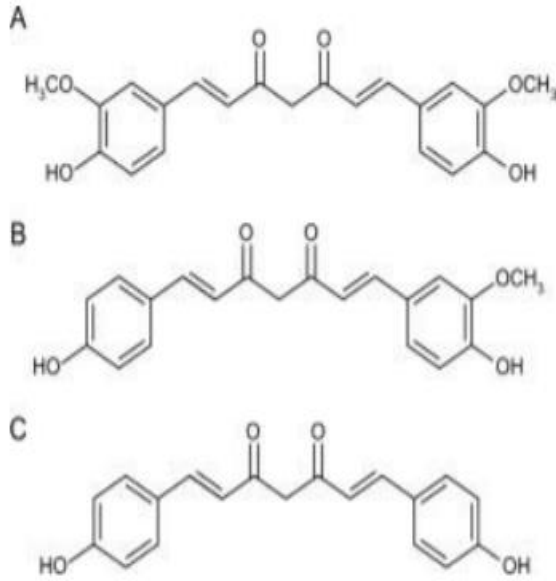
bir antioksidanın hız sabitini karakterize etmek için kullanılırken, antioksidan kapasitesi sayıya atıfta bulunmaktadır ve TAC biyolojik bir anlama sahiptir. Bu çalışmada genel oksidatif stres durumunu değerlendirmek için TOC ile birlikte TAC değerlerine de bakılmıştır.

2.6. Kurkumin

Kurkumin; halk arasında “zerdeçal” olarak bilinen ve geleneksel uzak doğu tıbbında oldukça yaygın olarak kullanılan, *Curcuma Longa* (*C. longa*)’nın rizomlarından elde edilen, çok yönlü farmasötik etkinliği bilinen antioksidan özelliğe sahip polifenolik bir bileşiktir. Kurkuminin uzun yıllar sindirim, solunum hastalıklarında kullanımı bilinmektedir. Günümüzde uzak doğu ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede tatlandırıcı, baharat ve gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır.

Kurkuminin kimyasal adı; [1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil) -1,6-heptadien-3,5-dion] olup, Diferuloilmetan olarak da bilinir. Zerdeçal köklerinde bulunan doğal, diyet kaynaklı bir polifenoldür. Kurkumin ile birlikte diğer iki kurkuminoid; demetoksi kurkumin (DMC) ve bis-demetoksi kurkumindir (BDMC) (Şekil 2.7). Zerdeçalın ana bileşeni; Kurkumin, bis-demetoksi kurkumin ve demetoksi kurkumindir.

Kurkumin, polifenollere bağlıdır, antioksidan ve radikal temizleme özelliklerine sahiptir. Kurkumin, E vitamininden birkaç kat daha iyi bir radikal temizleyicidir. Serbest radikalleri temizler ve lipid peroksidasyonunu ve hidroperoksitoluşumunu engeller. Kurkuminin oksidatif stres modülasyonu ile asetilasyon ve deasetilasyonu düzenlediği belirtilmiştir [113].



(A) Kurkumin, (B) Demetoksi kurkumin , (C) Bis-demetoksi kurkumin

Şekil 2.7. Kurkuminoidlerin kimyasal yapısı

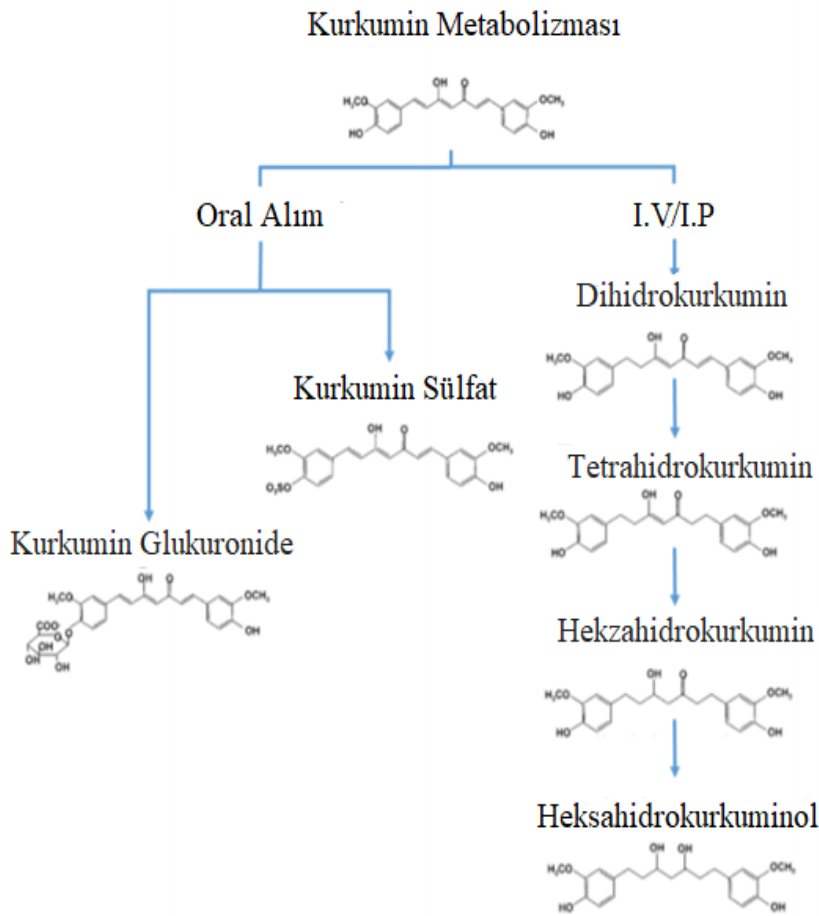
Kurkumin, C₂₁H₂₀O₆ moleküler formülü ile gösterilir. 368.37 g/mol moleküler ağırlıktadır [115]. Antioksidan, antiinflamatuvar ve apoptoz indükleyici özellikleri yaygın olarak rapor edilmiştir. Toksisite profili ve uzun süreli kullanım için mevcudiyeti, kurkumini rutin kullanım için uygun hale getirir.

Kurkumin takviyelerinin geliştirilmesindeki mevcut zorluk, düşük kurkuminoidlerin biyoyararlanımıdır. Sulu çözücüler içinde zayıf emilimi ve düşük çözünürlüğü tüketilen kurkuminoidlerin yalnızca küçük bir kısmının hücre zarlarından geçebileceği anlamına gelir. Farmakokinetik çalışmalarda, farelere aşırı yüksek dozlarda formüle edilmemiş kurkuminin plazmadaki en yüksek konsantrasyonları 3.66 µM'yi geçmemiştir [116].

2.6.1. Kurkumin Metabolizması

Kurkumin esas olarak bağırsak, karaciğer ve böbrekte metabolize edilir. Oral uygulamayı takiben, glukuronil transferaz (UGT) ve sülfotransferaz (SULT) enzimlerinin O-konjugasyon reaksiyonu kurkumini, kurkumin glukuronide dönüştürür (Şekil 2.8). İntravenöz ve intraperitoneal uygulamada ise kurkumin, alkol dehidrojenazlar tarafından dihidrokurkumin, tetrahidrokurkumin ve heksahidrokurkumine indirgenir [117]. Vanilin, ferulik asit ve dihidroferulik asit, kurkuminin küçük safra alkali bozunma ürünleridir ve başlıca kurkumin bozunma ürünü olan bisiklopentadion otoksidasyon sırasında üretilir.

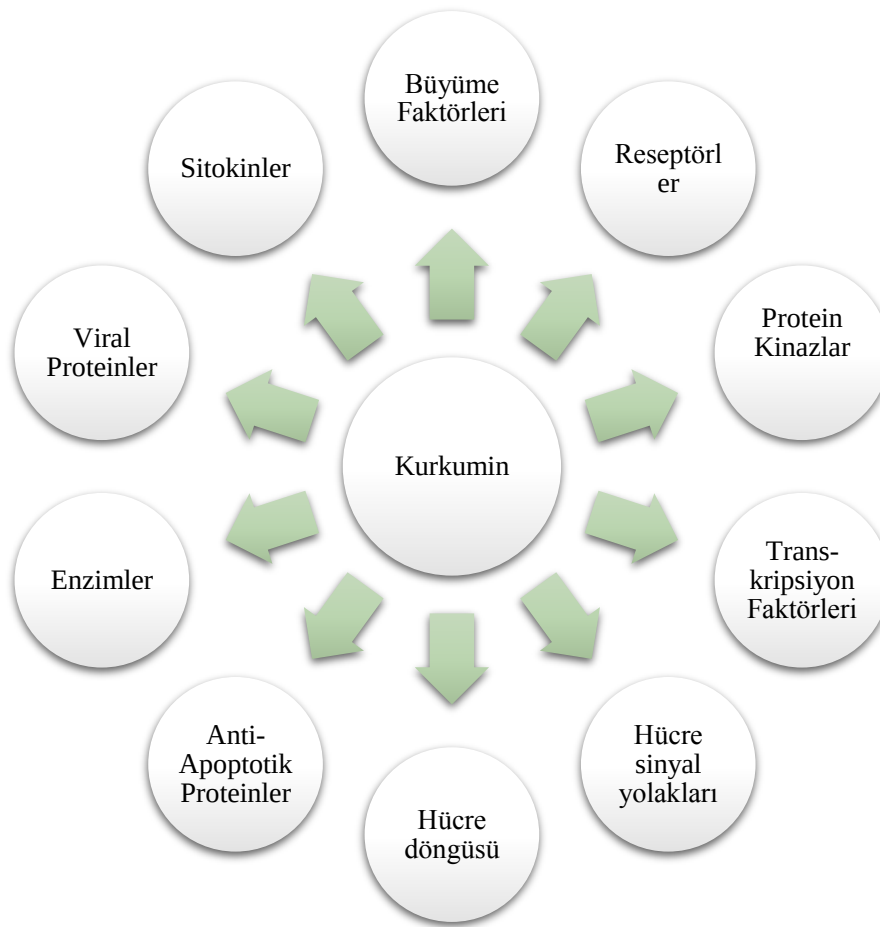
Kurkuminin vücutta hızla metabolize edildiği göz önüne alındığında, metabolitlerinin aktivitesi ilgi çekicidir. Metabolitlerinin çoğu kurkuminin kendisi ile karşılaştırılabilir biyolojik aktivitelere sahiptir. Tetrahidrokurkumin, kurkuminden daha güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir ve ayrıca pro-apoptotik, anti-anjiyojenik ve hücre döngüsü düzenleyici etkileri bulunmaktadır [118]. Tetrahidrokurkumin fizyolojik pH'da kurkuminden daha fazla suda çözünürdür ve ayrıca stabildir. β -diketon parçasındaki aktif metilen karbondaki C-C bağı bölünmesi ona etkili serbest radikal temizleme özelliği sağlar [119].



Şekil 2.8. Kurkumin metabolizması

2.6.2. Kurkuminin Biyolojik Aktiviteleri

Kurkuminin hücre içindeki birden fazla molekülü hedeflediği bilinmektedir. Kurkuminin antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik, antidiyabetik, antibakteriyel, antiviral, anti-inflamatuvar, anti-nosiseptif gibi çok yönlü farmasötik etkileri çeşitli deneysel çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Kurkuminin birçok hastalığın tedavisinde etkili olmasında, güçlü antioksidan özelliğinin etkisi olduğu düşünülmektedir [31]. Kurkuminin hücre içi hedefleri Şekil 2.9.'da özetlenmiştir.



Şekil 2.9. Kurkuminin moleküler hedefleri

Kurkuminin; büyüme faktörleri, sitokinler, enzimler ve transkripsiyon faktörleri gibi moleküllerin iltihaplanması ve apoptoz, hücre döngüsü ile ilgili hücre sinyal yolları üzerinde doğrudan etkileri mevcuttur [31].

Antiinflamatuvar Aktivite

Kurkumin prostaglandinler de dahil olmak üzere inflamatuvar yanıtta rol oynayan çeşitli molekülleri hedefler. Prostaglandinler (PG'ler), lipoksijenaz (LOX), iNOS, nükleer faktör- κ B (NF κ B) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF α)'nın, kurkumin tarafından hedeflendiği gösterilmiştir. Prostaglandinlerin, insan vücudunda birden çok işlevi vardır. Prostaglandinlerin aşırı üretimi kansere bağlı iltihaplanma ile ilişkilendirilmiştir ve tümör hücrelerinin oluşumunu teşvik ettiği düşünülmektedir.

Prostaglandin E₂ (PGE₂)'nin kılcal oluşum ve migrasyona yol açan vasküler endotelial hücreleri uyarmasıyla PGE₂'nin vasküler geçirgenlik ve genişlemede artışa katkı sağlaması proinflamatuvar işlevi ile ilgilidir [120]. Prostaglandin I₂ (PGI₂) vazodilatasyonun teşvik edilmesinde rol oynar ve vasküler düz kas hücresi proliferasyonunun ve trombosit agregasyonunun inhibisyonunu sağlar ve ayrıca PGI₂-IP reseptör sinyali yoluyla inflamatuvar cevabın stimüle edilmesinde rol oynar [121]. Prostaglandin D₂ (PGD₂)'nin ağrı algısını düzenlediği, merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. PGD₂, indüklediği bilinen kemokinlerin ve sitokinlerin üretimine aracılık eder. Prostaglandin F₂ alfa (PGF_{2 α}), oksitosin hormonu ile birlikte, lutealiz ve doğum eyleminin başlamasında katkı sağlar. Artmış PGF_{2 α} üretimi, akut inflamatuvar yanıt, tromboksan A₂ (TXA₂) trombosit agregasyonunu kurkuminin inhibe ettiği gösterilmiştir [121]. Kurkumin, araşidonik asidin prostaglandinlere dönüşümünde rol oynar [115]. Araşidonik asidin prostaglandinlere dönüşümünün etkileşimi yoluyla PG sentezinde kurkuminin mikromolar seviyelerde PGE₂ sentaz-1'e yüksek afiniteye sahip olduğu gösterilmiştir [122]. Lipoksijenaz enzimleri, eikozanoid sentezinin düzenlenmesi yoluyla inflamatuvar yanıtın regülasyonunda rol oynar. Bu enzimleri kurkuminin hedeflediği kanıtlanmıştır [123]. Nitrik oksidin regülasyonu, bazı inflamatuvar hastalıklarla ilişkilidir. Kurkuminin iNOS'u transkripsiyonel seviyede inhibe ettiği ve bunun bozulmasını indüklediği gösterilmiştir [124]. NF- κ B, çeşitli hücreler uyarılara yanıt veren bir transkripsiyon faktörüdür ve çeşitli sitokinlerin ekspresyonundaki rolü nedeniyle proinflamatuvar yolların düzenleyicisidir. Kurkumin, güçlü bir NF- κ B inhibitörüdür ve indüklenen birçok pro-tümörjenik yolu inhibe eder [125]. TNF- α , PGE₂ üretimini uyarır ve NF- κ B'ye sinyalleşmesinde aracılık eder. Kurkuminin TNF- α transkripsiyonunu baskıladığı ve TNF- α 'yı bloke ettiği gösterilmiştir [126].

Antioksidan Aktivite

Kurkuminin antioksidan ve radikal temizleyici özellikleri bilinmektedir. Kurkuminin hücreleri lipid peroksidasyonunun neden olduğu hasardan koruyabildiği gösterilmiştir. Biyolojik zarlar içinde hidroksil gibi serbest hücresel radikalleri temizler [127]. Ek olarak, kurkuminin transkripsiyon faktörü nükleer faktör eritroid 2 (Nrf2)'yi koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Kurkumin, hücre içinde antioksidan yanıt yollarını indükleyen Nrf2'nin aktivasyonu yoluyla karsinogenezi önleyebilir [128]. Kurkumin, H atomu gibi davranarak süpürücü aktivitesini gösterir. Nötr veya asidik pH'a sahip çözeltilerde ağırlıklı olarak keto formunda bulunur. Fenolik gruptan H atomu verebilir ve böylece ROS süpürme yeteneği sağlar [129].

Antianjiyojenik Aktivite

Anjiyogenez, yeni kan damarlarının oluşumu, özellikle tümör gelişimi için çok önemlidir. Yeni kan damarları, tümör büyümesi için gerekli besinleri ve oksijeni sağlar. Tüm kanser türlerinde pro-anjiyojenik faktörlerin ekspresyonunda artış görülür. Kurkuminin ilk olarak, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) tarafından indüklenen endotel hücre proliferasyonunu inhibe ederek anjiyogenezi önlediği gösterilmiştir [130]. Kurkumin, vasküler endoteli regüle ederek in vivo yeni kan damarı oluşumunu inhibe eder. Fu ve arkadaşlarının 2015 yılında hem in vitro hem de in vivo olarak yürüttüğü bir çalışmada tümör hücrelerinde kurkumin ile tedavi sonrası farelerde vasküler endotelyal büyüme faktörü sinyal yollarını etkilediği ve sonuç olarak proliferasyon ve migrasyonun inhibisyonunda pozitif etkisi olduğu rapor edilmiştir [131].

Antikanserojen Aktivite

Kurkuminin büyüme faktörleri, sitokinler, protein kinazlar, enzimlerle etkileşim yeteneği, moleküler hedefleri arasında transkripsiyon faktörleri ve anti-apoptotik proteinler olması, kurkuminin meme, kolorektal, akciğer, prostat, servikal ve ayrıca lösemiler dahil olmak üzere birçok kanser türünde bir anti-kanser ilacı olarak kullanımının araştırılmasına yol açmıştır. Meme kanserinde kurkuminin, aktive olan genleri inhibe ettiği gösterilmiştir. Östrojen reseptörü (ER) ve matriks metalloproteinazın (MMP-2), invazif hücresel özelliklerini azaltır [132]. Ayrıca kurkuminin anti-kanser aktivitelerinin çoğu, inhibe etme

kabiliyetine atfedilir. Kurkuminin kimyasal karsinogeneze karşı potansiyel bir ajan olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Kurkuminin diyet takviyesinden sonra farelerde karaciğer ve böbrekte detoksifiye edici enzimler olan glutatyon S-transferaz ve kinon redüktazın aktivitesini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir. Kurkumin; NF- κ B gibi transkripsiyon faktörleri aracılığıyla onkogenik sinyalleme ve tümör baskılayıcıyı teşvik eder. Kurkumin; NF- κ B, proliferasyon, iltihaplanma gibi bir dizi hücresel sürece aracılık eder. Tümör baskılayıcı genler kanseri önlemede çok önemli bir rol oynar. Kurkumin p53'ü aktive ederek ve NF- κ B'yi inhibe ederek bir dizi kanser hücre dizisinde apoptozu teşvik eder. Kurkuminin, akciğer kanser hücrelerinin p53 bağımsız yolak yoluyla apoptozunu indüklediği bulunmuştur [133]. Kurkuminin ayrıca meme ve yumurtalık kanseri hücrelerini daha duyarlı hale getirdiği gösterilmiştir [134]. Kurkumin, kanser hücrelerinde apoptoz gelişimi ve hücre döngüsü inhibisyonunda oldukça önemli bir role sahiptir. Kurkuminin HT-29 hücrelerinde intrinsik yolla apoptozu indüklediği gösterilmiştir [135].

2.6.3. Kurkumin Formülasyonları

Kurkuminin sahip olduğu tüm potansiyel yararlı etkilere rağmen, biyoyararlanımı hala bir sorundur. Kurkumin hızlı metabolizma, zayıf emilim ve hızlı klirens sahiptir [136]. Sıçanlarda yapılan bir oral gavaj çalışmasında, 1 g/kg formüle edilmemiş kurkumin dozu, plazmada neredeyse ihmal edilebilir miktarlar göstermiştir. İnsanlarda, vücut ağırlığı dozu başına 2 g/kg kurkumin uygulaması sonrasında plazmada elde edilen en yüksek kurkumin miktarı, $0,006 \pm 0,005$ $\mu\text{g/mL}$ olmuştur. Sulu çözücünde kurkumin çözünürlüğü 11 ng/mL olarak rapor edilmiştir. Bu da daha fazla biyoyararlanabilen sistemlerin araştırılmasına yol açmıştır [137]. Farklı kurkumin formülasyonları ve analogları artık mevcuttur. Bunlar piperin, siklodekstrinler, lipozomlar ve bir dizi kurkumin analogları ile formülasyonlardır. Klinik ortamda kullanım için her birinin kendi özellikleri ve uyarıları vardır [138].

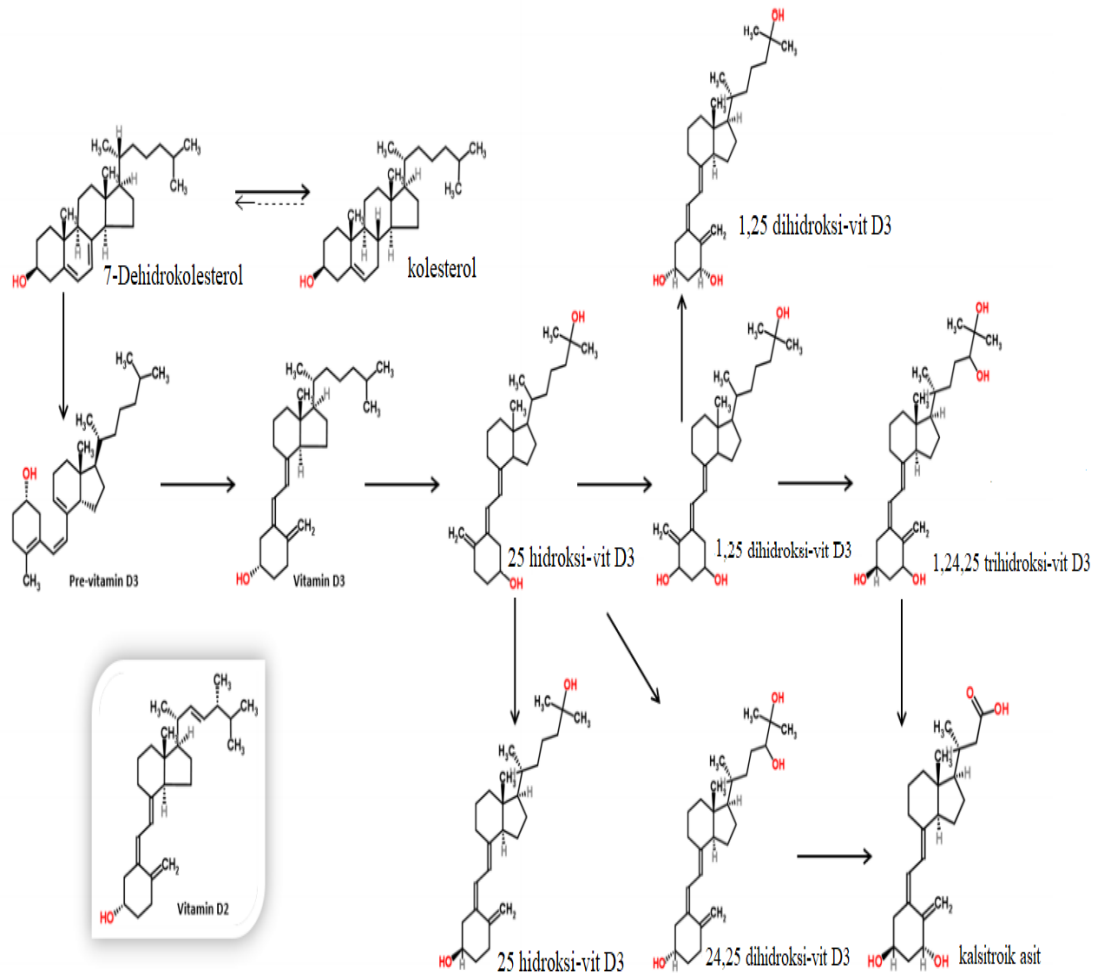
2.7. D Vitamini

D vitamini metabolizmasının, biyolojik rolünün ve ilgili kantitatif değerlendirme yöntemlerinin araştırılması son yirmi yılda katlanarak artmıştır. D vitamini, insandaki fizyolojik işlevleri; kemik sağlığı gibi normal hücre büyümesi ve olgunlaşmasının yanı sıra genel sağlık, bağışıklık sistemi gelişimi için de önemlidir [139]. Ancak çocuklar ve hamileler için D vitamini eksikliği kritik bir küresel sağlık sorunudur. Bildirilen D vitamini

yetersizliği oranları bazı popölasyonlarda 50 nmol/L'nin altındaki D vitamini seviyesi, toplam yetersiz D vitamini popölasyonunun %54,9'una kadar çıkmaktadır [140]. D vitamini eksikliği olan kişilerin kemikle ilgili hastalıklar ve diğer bazı kronik hastalıklar açısından önemli risk altında olduğu düşünölmektedir [141]. Ayrıca, nispeten yüksek D vitamini eksikliği prevalansı (%80) (25-hidroksi D vitamini 22,5 nmol/L'nin altında) koyu tenli veya hamile kadınlar arasında rapor edilmiştir [142]. Gıda alerjisi, egzama ve enfeksiyonlar gibi patolojiler, D vitamininin muhtemelen bebeklerin bağışıklık sistemi ve sağlığının gelişiminde erken dönemde rol oynadığını düşündürmektedir [143].

2.7.1. Kimyasal yapı

D vitamini, kimyasal olarak açık bir siklopentano perhidrofenantren halkasına sahip (karbon 9, 10 üzerindeki B halkası) bir seko-steroiddir. Yapı olarak bu seko-steroidler steroid hormon grubu ile benzerlik gösterir. Biyolojik olarak aktif D vitamini metaboliti; 1,25-dihidroksi vitamin D (1,25(OH)₂D) hormon benzeri davranış sergileyen tek aktif D vitamini formudur. Diğer steroidlere göre daha esnek bir moleküler yapısı olması seko-steroidin yanı sıra formu ve yan zincirin varlığından kaynaklanır [144] (Şekil 2.10). D vitamininin dolaşımdaki ana analogu 25-hidroksi D vitamini (25(OH)D)'dir.



Şekil 2.10. D₃ vitamini metabolitlerinin moleküler yapısı

2.7.2. Biyokimyasal yollar ve metabolizma

D vitamini üretimi ve metabolizması için iki metabolik yol vardır; bitkilerden elde edilen D₂ vitamini (ergokalsiferol) ve güneşe maruz kalmayla birincil öncü kolesterolünden (morötesi radyasyon) doğal yolla ciltte oluşan D₃ vitamini (kolekalsiferol) formudur [144]. Provitamin D₂, D₃ vitaminine izomerize olup biyolojik olarak aktif D vitamini için 1 ve 25. karbondan çift hidroksile edilir (Şekil 2.10).

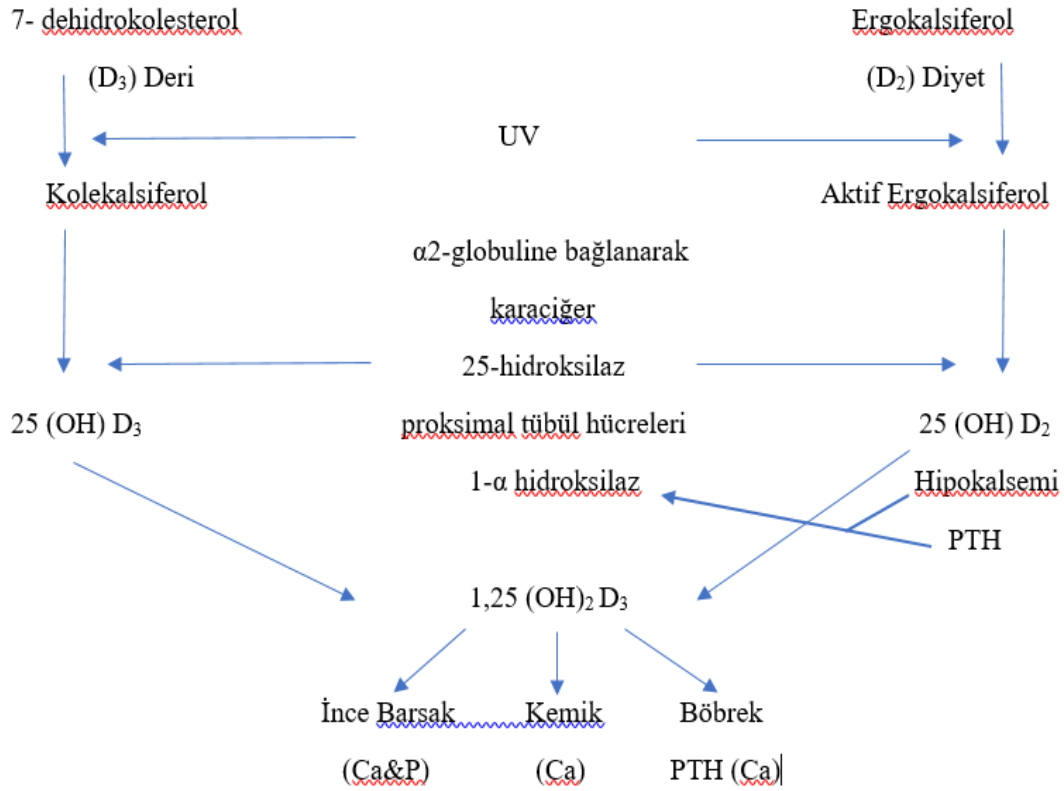
Plazma vitamin D bağlayıcı proteine (VDBP) D vitamini metabolitleri yüksek afiniteyle bağlanır. VDBP ile kolekalsiferol karaciğere taşınır. 25-hidroksilaz enzimi ise 25-OHD₃ oluşumunu hızlandırır. VDBP'nin dolaşım düzeyi, D vitamini metabolitlerinin konsantrasyonuna kıyasla daha yüksek düzeydedir. Bu nedenle, yalnızca metabolitlerin bir kısmı serbestçe dolaşır. VDBP-25-OHD₃ kompleksi daha sonra başka bir hidroksilasyon

adımı için böbreklerde 1α -hidroksilaz enzimi ile, 25-OHD'nin sekonder hidroksilasyonu aktif hormon benzeri $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ (kalsitriol) üretmek için inaktif $24,25-(OH)_2D_3$ metabolitleri katalize eder [145]. (Şekil 2.10). Sitokrom P-450 ailesi üyeleri D_3 vitamininin biyolojik aktivasyonundan sorumlu enzimlerdir. 25-OHD oluşumunu hepatik vitamin D 25-hidroksilazlar indükler. Böbrekte sitokrom P-450 monooksijenaz, 25(OH)-D 1-alfa hidroksilaz enzimleri, aktif D vitamini formu üretimini kolaylaştırır. D vitamini metabolik yolunun son ürünleri ağırlıklı olarak safra yoluyla ve dışkıyla atılır [146].

Ergosterolden bitkiler ve omurgasızlar D_2 vitamini sentezler. Kimyasal olarak, D_2 ve D_3 vitamini oldukça benzer ve yan zincir aralarındaki tek önemli farktır (Şekil 2.10). Bu fark vitaminlerin VDBP'ye ve metabolik yola tekabül eden bağlanma şeklini değiştirebilir [146]. Ayrıca, 25-OHD plazma konsantrasyonunu yükseltmede D_3 vitamininin etkinliğinin D_2 vitamininden daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, D vitamini yetersizliğinde özellikle D_3 vitamini takviyesi, önerilmektedir [147]. $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ 'nin regülasyonu karmaşık pozitif ve negatif geri besleme sistemleri tarafından kontrol edilir. Dolaşımdaki düşük kalsiyum konsantrasyonu, hidroksilaz enzimlerinin ekspresyonunu etkiler [148]. Ayrıca, 24-hidroksilaz regülasyonu $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ ile plazma kalsiyum konsantrasyonu ve paratiroid hormon (PTH) seviyesi kontrol edilir [149]. D vitamini metabolitleri yüksek lipofilik moleküler yapıya sahiptir. Bu nedenle D vitamini metabolitlerinin dolaşım formları esas olarak VDBP'ye bağlanır. Bu bağlanmanın proteininin deaktif ve boşaltım formlarının dağılımını kolaylaştırdığı bilinmektedir. D vitamini metabolizmasını etkileyebilecek diğer faktörler arasında fibroblast büyüme faktörü-23 (FGF-23) de bulunur. FGF-23, fosfatürük bir faktördür ve böbreklerden fosfat atılımında görev alır. FGF-23, D vitamini için bilinen fizyolojik bir düzenleyicidir [150].

FGF-23 üretimi kemikte $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ ile uyarılır. Yüksek FGF-23 seviyeleri tarafından 1α -hidroksilaz ekspresyonu bastırılır. Ayrıca, artan FGF-23 böbrek hücrelerinde 24-hidroksilaz aktivitesini indükler [151]. Ayrıca östrojen tarafından $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ üretimi olduğu bildirilmektedir. Bu üretim progesteron veya androjen ile kombinasyon halinde gerçekleştirilir. Tüm vücut derisinin güneşe maruz kalmasından 15-30 dakika sonra 10.000 ila 20.000 IU D_3 vitamini üretilir. Vücut iki saat güneşe maruz kaldıktan sonra maksimum D_3 vitamini IU alım kapasitesine ulaşır. Fazla miktarda pro-vitamin D, lumisterol ve tachysterol adı verilen diğer inert metabolitlere dönüşür. Lumisterol ve tachysterol diğer

inaktif metabolitlere (örneğin suprasterol) indirgenir. Bu nedenle, cildin uzun süre güneşe maruz kalmasının D vitamini toksisitesine neden olamayacağına inanılmaktadır [151].



Şekil 2.11. D vitamini metabolizması

7-Dehidrokolestrol, deri dokusunda D vitamininin endojen sentezinin öncüsüdür. D vitamininin aktivasyonu ve metabolizmasında karaciğer, böbrek ve diğer hedef dokulardaki sitokrom grubu P-450 enzimleri görev alır. D vitamini işlevi için bu enzim grubu, çeşitli organlarda önemli düzenleyici rol almaktadır [152].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin toplanması ve saklanması

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından verilen 25/11/2020 tarih ve 2020-18-160 karar no'lu etik kurul onayı ile yürütülmüştür. Çalışma sürecinde; Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı (DEHAL) ve Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarı kullanılmıştır.

42 adet Wistar cinsi erkek albino ratlar (sıçan) 6 gruba ayrıldı. Toz formda bulunan 200 mg/kg ve 400 mg/kg kurkumin mısır yağı (1,5 ml) içerisinde çözündürülüp 21 gün boyunca oral gavaj yolu ile verildi. Deney süresince tüm hayvanlar kendi gruplarına ait manipülasyonlara tabi tutulduktan sonra intrakardiyak kan alınarak ötenazi uygulandı. Alınan kan örneklerinin hemoliz olmamasına özen gösterildi. Analizleri yapılana kadar eppendorf tüplere alınarak hayvan kodları işaretlendi ve -80°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- FakirScala (Almanya) marka tartı
- Hermle z323 K soğutmalı santrifüj
- Sanyo -80°C derin dondurucu
- Vorteks (Heidolf Reax 200)
- Hassas terazi (Schimadzu, Libror, AEG 220)
- Distile Su Cihazı (Millipore)
- Steril Enjektör (2ml, 5ml, 10ml)
- SpectraMax İ3X Elisa okuyucu
- İnsülin enjektörü
- 5 ve 10 ml'lik eppendorf tüpler
- Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000)

3.3. Çalışmada Kullanılan Etken Madde ve Kimyasallar

- Kurkumin (Curcumin $\geq$ %95, Ceneviz Gıda ve Kimya San. ve Tic. Ltd. Şti.)
- D vitamini (Devit-3 Oral Damla, Deva Holding A.Ş.)
- Ketamin Pfizer (Ketalar flakon)
- Ksilazin Bayer (Rampum flakon)
- ELISA Rat Kit Apelin (BT Lab- Katolog No: E1026Ra)
- ELISA Rat Kit Elabela (BT Lab- Katolog No: E2583Ra)
- ELISA Rat Kit Nitrik Oksit (BT Lab- Katolog No: E0703Ra)
- ELISA Rat Kit ADMA (BT Lab- Katolog No: EA0008Ra)
- ELISA Rat Kit TOC (BT Lab- Katolog No: E1512Ra)
- ELISA Rat Kit TAC (BT Lab-Katolog No: E3901Ra)

3.4. Deney Grupları

Çalışmamızda 42 adet 10 haftalık Wistar türü rat (250-300 gr) kullanıldı. Yapılan ön Power analizi ile gerekli minimum rat sayısının 7 olduğu tespit edildi. Ratlar, rastgele 6 gruba ayrıldı. Deney grupları Çizelge 3.1’de özetlenmiştir.

3.5. Ölçümler ve Kullanılan Yöntemler

3.5.1. Ağırlık Ölçümleri

Ağırlık ölçümleri hayvanlar arasında herhangi bir farklılık söz konusu olmaksızın yem kısıtlamasına maruz bırakılmadan gerçekleştirilmiştir. Ağırlıklar gram olarak, virgülden sonra bir basamak hassasiyetinde gram biriminde kaydedilmiştir. Ölçümler gruplar arasında eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ağırlık ölçümleri 0. ve 21. günlerde gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerin tamamı tek bir tartı ile gerçekleştirilmiştir. Böylece gruplarda ölçümler arasında meydana gelebilecek farklılıklar engellenmiştir.

Çizelge 3.1. Deney grupları

Gruplar (n=7)	21 günlük uygulama/uygulama şekli
Grup I (Kontrol)	Distile su, oral gavaj
Grup II (200C)	200 mg/kg kurkumin, oral gavaj
Grup III (VitD)	0,4 µg/kg (16 IU/kg) D ₃ vitamini, intraperitoneal
Grup IV (VitD+200C)	0,4 µg/kg (16 IU/kg) D ₃ vitamini, intraperitoneal + 200 mg/kg kurkumin, oral gavaj
Grup V (400C)	400 mg/kg kurkumin, oral gavaj
Grup VI (VitD+400C)	0,4 µg/kg (16 IU/kg) D ₃ vitamini, intraperitoneal + 400 mg/kg kurkumin, oral gavaj

*Deney süresince tüm hayvanlar kendi gruplarına ait manipülasyonlara tabi tutulduktan sonra 21.günün sonunda sakrifiye edilerek kan örnekleri alındı.

3.5.2. Elisa Test Prosedürleri

Grupların apelin, elabela, nitrik oksit, asimetrik dimetiltarjinin, total oksidan kapasite ve total antioksidan kapasite düzeylerinin ölçümleri, BT Lab (Bioassay Technology Laboratory) marka rat ELISA kitleri ile Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında üreticinin sunduğu yönergelere uygun şekilde, kit prosedürleri çerçevesinde yapıldı.

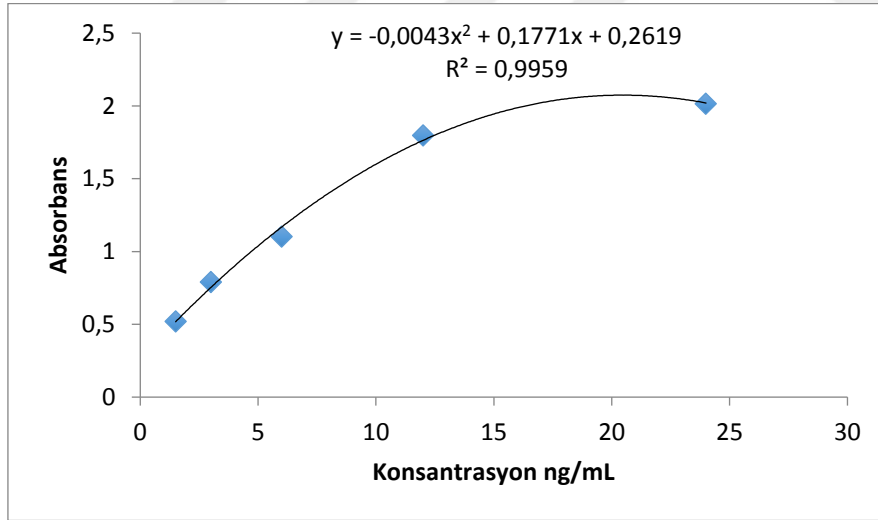
Serum Apelin Ölçümü

Rat apelin elisa kit paketi içerisindeki tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirildi. Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneler talimatlara göre hazırlandı. 24ng/mL standart stok solüsyonu eldesi için 120µl standart (48ng/mL), 120µl standart dilüent ile rekonstitüe edildi. Seyreltme yapmadan önce standart, hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. 12ng/mL, 6ng/mL, 3ng/mL ve 1.5ng/mL çözeltiler hazırlamak için, standart stok solüsyonu (24ng/mL) 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift seri standartlar hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 µl standart eklendi (standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyucuğa antikor eklenmedi). Numune kuyucuklarına 40 µl numune eklendi ve ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-AP

antikoru eklenerek ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırıldı ve plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaka 0,35 ml yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Plaka 37°C’de karanlıkta 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’ye ayarlanmış mikropilaka okuyucu kullanılarak absorbans okundu. Apelin düzeyinin belirlenmesi için gerekli olan standart grafiği hazırlandı. Ölçüm sonucunda elde edilen apelin standart grafiği Şekil 4.1’de yer almaktadır.

Çizelge 3.2. Apelin standartlarına karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (ng/mL)	Absorbans
24	2,0155
12	1,797
6	1,103
3	0,79
1,50	0,519



Şekil 3.1. Apelin standart grafiği.

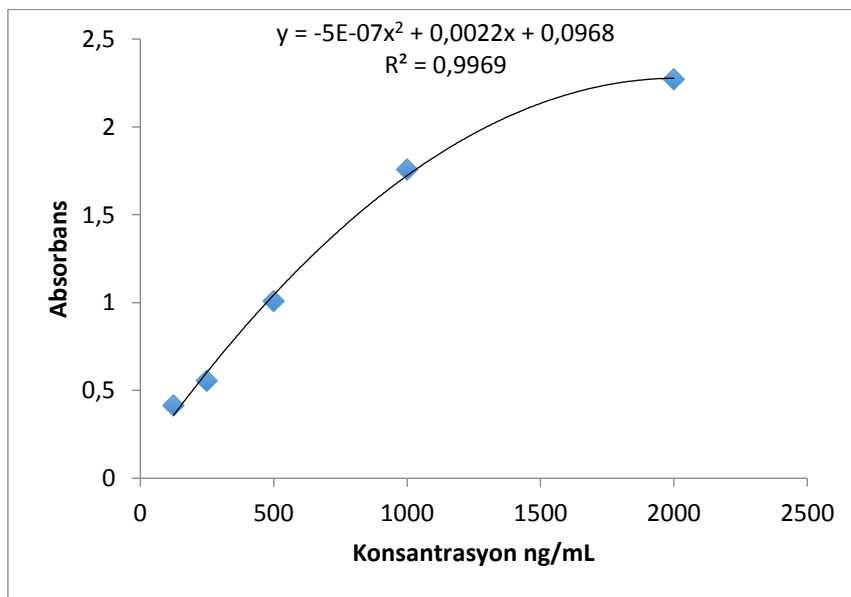
Serum Elabela Ölçümü

Rat elabela elisa kit paketi içerisindeki tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirildi. 2000 ng/L standart stok solüsyonu oluşturmak için 120 µl standart (4000 ng/L), 120 µl standart dilüent ile rekonstitüe edildi. Seyreltme yapmadan önce standart, hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. 1000 ng/L, 500 ng/L, 250 ng/L ve 125 ng/L çözeltiler hazırlamak

için standart stok solüsyonu (2000 ng/L), 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift seri standartlar hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 µl standart eklendi (standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyucuğa antikor eklenmedi). Numune kuyucuklarına 40 µl numune eklendi ve ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-AP antikoru eklenerek ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyiye karıştırıldı ve plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37°C’de karanlıkta 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaka 0,35 ml yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Plaka 37°C’de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanılarak absorbans okundu. Elabela düzeyinin belirlenmesi için gerekli olan standart grafiği hazırlandı. Ölçüm sonucunda elde edilen Elabela standart grafiği Şekil 4.2’de yer almaktadır.

Çizelge 3.3. Elabela standartlarına karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (ng/L)	Absorbans
2000	2,272
1000	1,757
500	1,010
250	0,554
125	0,414



Şekil 3.2. Elabela standart grafiği.

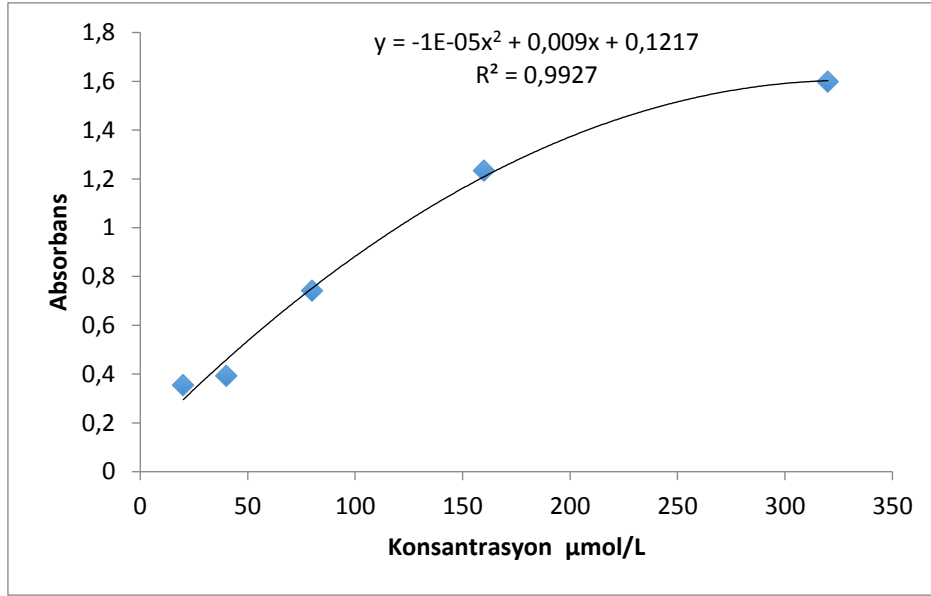
Serum Nitrik Oksit Ölçümü

Rat nitrik oksit elisa kit paketi içerisindeki tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirildi. 320 $\mu\text{mol/L}$ standart solüsyonu oluşturmak için 120 μl standart (640 $\mu\text{mol/L}$), 120 μl standart dilüent ile rekonstitüe edildi. Seyreltme işlemi yapılmadan önce standart hafif çalkalandı ve 15 dakika dinlendirildi. 160 $\mu\text{mol/L}$, 80 $\mu\text{mol/L}$, 40 $\mu\text{mol/L}$ ve 20 $\mu\text{mol/L}$ çözeltiler hazırlamak için standart stok solüsyonu (320 $\mu\text{mol/L}$), 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift seri standartlar hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 μl standart eklendi (standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyucuğa antikor eklenmedi). Numune kuyucuklarına 40 μl numune eklendi ve ardından numune kuyucuklarına 10 μl anti-AP antikor eklenerek ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 μl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırıldı ve plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaka 0,35 ml yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 μl substrat A solüsyonu eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 μl substrat B solüsyonu eklendi. Plaka 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 μl stop solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanılarak absorbans okundu.

Nitrik oksit düzeyinin belirlenmesi için gerekli olan standart grafiği hazırlandı. Ölçüm sonucunda elde edilen nitrik oksit standart grafiği Şekil 4.3'de yer almaktadır.

Çizelge 3.4. NO standartlarına karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon ($\mu\text{mol/L}$)	Absorbans
320	1,598
160	1,233
80	0,741
40	0,392
20	0,354



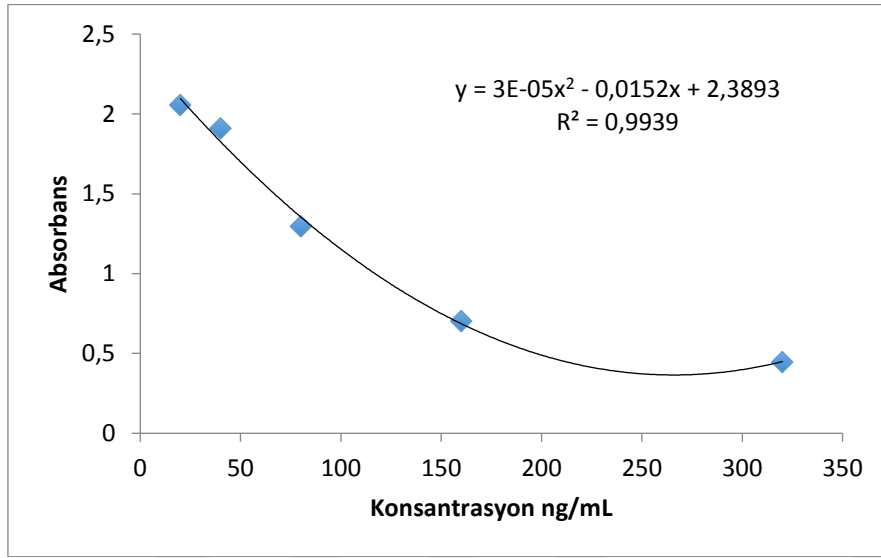
Şekil 3.3. Nitrik oksit standart grafiği.

Serum Asimetrik Dimetilarjinin Ölçümü

Rat ADMA elisa kit paketi içerisindeki tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirildi. 640 ng/mL standart stok solüsyonu oluşturmak için standart vialı 150 µl standart dilüent ile rekonstitüe edildi. Seyreltme yapmadan önce standart hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. 320 ng/mL, 160 ng/mL, 80 ng/mL, 40 ng/mL, 20 ng/mL çözeltiler hazırlamak için standart stop solüsyonu, 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift seri standartlar hazırlandı. Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve numuneler talimatlara göre hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 µl standart eklendi (standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyucuğa antikor eklenmedi). Numune kuyucuklarına 40 µl numune eklendi ve ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-AP antikor eklenerek ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi İyice karıştırıldı ve plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37°C’de karanlıkta 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaka 0,35 ml yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Plaka 37°C’de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndü (meydana gelen rengin yoğunluğu, numunedeki ADMA konsantrasyonu ile ters orantılıdır). Stop solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanılarak absorbans okundu. ADMA düzeyinin belirlenmesi için gerekli olan standart grafiği hazırlandı. Ölçüm sonucunda elde edilen ADMA standart grafiği Şekil 4.6’da yer almaktadır.

Çizelge 3.5. ADMA standartlarına karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (ng/mL)	Absorbans
320	0,4475
160	0,703
80	1,296
40	1,91
20	2,056



Şekil 3.4. Asimetrik dimetilarjinin standart grafiği

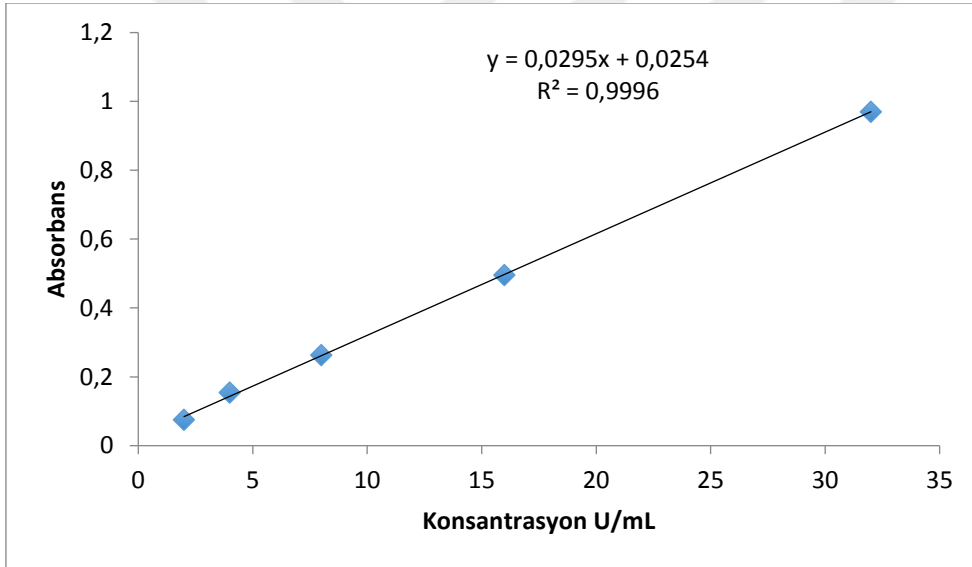
Serum Total Oksidan Durum Ölçümü

Rat total oksidan kapasitesi elisa kit paketi içerisindeki tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirildi. 32U/ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120 µl standart (64U/ml), 120 µl standart dilüent ile rekonstitüe edildi. Seyreltme yapmadan önce standart hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. 16 U/ml, 8 U/ml, 4 U/ml ve 2 U/ml çözeltiler hazırlamak için standart stok solüsyonu (32 U/ml), 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift seri standartlar hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 µl standart eklendi (standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyucuğa antikor eklenmedi). Numune kuyucuklarına 40 µl numune eklendi ve ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-AP antikor eklenerek ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırıldı ve plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37°C'de karanlıkta 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaka 0,35 ml yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Plaka 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µl

stop solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanılarak absorbens okundu. TOC düzeyinin belirlenmesi için gerekli olan standart grafiği hazırlandı. Ölçüm sonucunda elde edilen TOC standart grafiği Şekil 4.4'de yer almaktadır.

Çizelge 3.6. TOS standartlarına karşılık gelen absorbens değerleri

Konsantrasyon (U/ml)	Absorbans
32	0,970
16	0,496
8	0,263
4	0,154
2	0,075



Şekil 3.5. Total oksidan kapasite standart grafiği.

Serum Total Antioksidan Kapasite Ölçümü

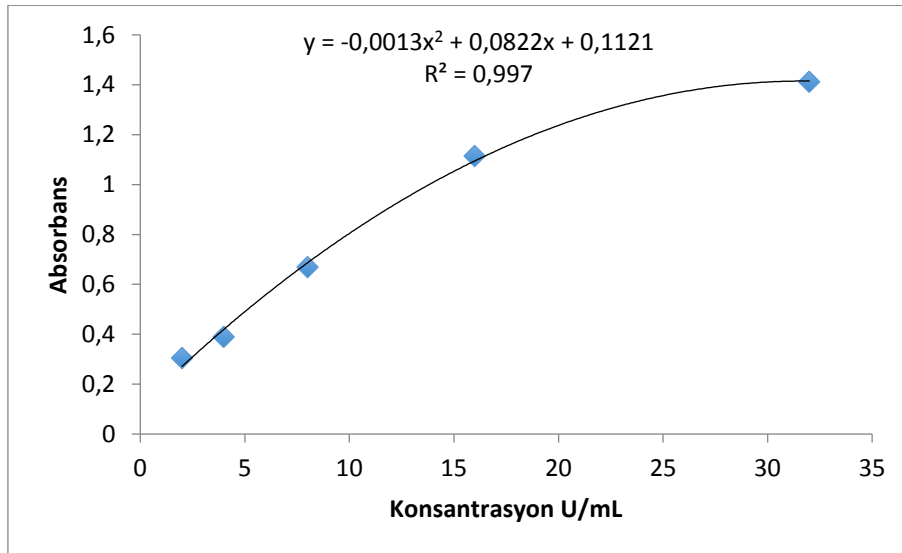
Rat total antioksidan kapasitesi elisa kit paketi içerisindeki tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirildi. 32U/ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120 µl standart (64U/ml), 120 µl standart dilüent ile rekonstitüe edildi. Seyreltme yapmadan önce standart hafif çalkalama ile 15 dakika dinlendirildi. 16 U/ml, 8 U/ml, 4 U/ml ve 2 U/ml çözeltiler hazırlamak için standart stok solüsyonu (32 U/ml), 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyreltilerek çift seri standartlar hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 µl standart eklendi (standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, standart kuyucuğa antikor eklenmedi).

Numune kuyucuklarına 40 µl numune eklendi ve ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-AP antikoru eklenerek ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi. İyice karıştırıldı ve plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37°C’de karanlıkta 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında plaka 0,35 ml yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 µl substrat A solüsyonu eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrat B solüsyonu eklendi. Plaka 37°C’de 10 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndü. Stop solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanılarak absorbans okundu.

TAC düzeyinin belirlenmesi için gerekli olan standart grafiği hazırlanmıştır. Ölçüm sonucunda elde edilen TAC standart grafiği Şekil 4.5’te yer almaktadır.

Çizelge 3.7. T-AOC standartlarına karşılık gelen absorbans değerleri

Konsantrasyon (U/ml)	Absorbans
32	1,4115
16	1,114
8	0,669
4	0,389
2	0,304



Şekil 3.6. Total antioksidan kapasite standart grafiği.

3.6. İstatistiksel Analiz

Anova testi varsayımlarından birisi de tüm grup verilerinin normal dağılıma uygun olmasıdır. Araştırmada ölçülen parametreler ve ağırlık ölçümü değerlerinin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov–Smirnov testi ile incelenmiştir. Yapılan analize göre sadece apelin parametresinin tüm gruplarda normal dağıldığı sonucu elde edilmiştir. Buna göre gruplar arası farklılığın araştırılmasında apelin parametresinde Anova testi, diğer parametreler ve ağırlık ölçümlerinin gruplara göre farklılıklarında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. İstatistiksel veri analizi bulguları IBM SPSS 21 yazılımı kullanılarak elde edilmiştir.





4. BULGULAR

Ratların vücut ağırlıkları ortalama değerleri Çizelge 4.1 'de yer almaktadır.

Çizelge 4.1. Ölçüm günlerine göre ağırlık değerleri

Gruplar (n=7)	Deney Başlangıç Ağırlıkları (g) Ort.± SS	P	Deney Sonu Ağırlıkları (g) Ort.± SS	P
Grup I (Kontrol)	308.71±34,779	p>0,05	359.71±40,586	p>0,05
Grup II (200C)	271.00±56,609		305.85±51,883	
Grup III (VitD)	287.42±32,342		322.14±24,041	
Grup IV (VitD+200C)	252.85±32,801		287.57±44,070	
Grup V (400C)	296.71±27,823		314.85±28,065	
Grup VI (VitD+400C)	289.00±20,928		328.85±43,747	

Ort.± SS (Ortalama±Standart sapma)

Yapılan Kruskal Wallis testine göre deneklerin deney başlangıç ve deney sonu vücut ağırlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (p>0,05).

4.1. Ölçülen Parametreler

Çizelge 4.2. ELA için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları.

Değişken	Grup (n=7)	Ort.±SS	Sıra ort.	P
ELA (ng/L)	Grup I (Kontrol)	583,57±103,931	26,86	p>0,05
	Grup II (200C)	542,51±97,142	21,57	
	Grup III (VitD)	571,51±111,378	24,71	
	Grup IV (VitD+200C)	534,26±95,218	22,71	
	Grup V (400C)	531,11±57,351	21,14	
	Grup VI (VitD+400C)	481,76±46,856	12,00	

Yapılan Kruskal Wallis testine göre elabela parametresi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (p>0,05).

Çizelge 4.3. NO için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları.

Değişken	Grup (n=7)	Ort.±SS	Sıra ort.	P
NO (μmol/L)	Grup I (Kontrol)	46,84±4,980	22,14	p>0,05
	Grup II (200C)	48,46± 1,426	21,71	
	Grup III (VitD)	48,84±13,580	20,29	
	Grup IV (VitD+200C)	48,15±5,314	24,29	
	Grup V (400C)	46,53±4,422	22,14	
	Grup VI (VitD+400C)	48,95±15,712	18,43	

Yapılan Kruskal Wallis testine göre NO parametresi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.4. T-AOC için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları

Değişken	Grup (n=7)	Ort.±SS	Sıra ort.	P
T-AOC (U/mL)	Grup I ^a (Kontrol)	7,15±0,868	15,00	$p<0,001$
	Grup II ^b (200C)	7,36±0,201	17,50	
	Grup III ^c (VitD)	8,40±0,264	37,71	
	Grup IV (VitD+200C)	7,60±0,532	23,14	
	Grup V (400C)	7,05±0,459	10,29	
	Grup VI (VitD+400C)	7,65±0,193	25,36	

Anlamlılık düzeyleri: ^aGrup I ile Grup III, ^bGrup II ile Grup III, ^cGrup III ile Grup V, $p<0,001$

Yapılan Kruskal Wallis testine göre T-AOC parametresi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Benforonni düzeltmeli çoklu karşılaştırma testi ile bu farklılığın; Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III ve Grup III ile Grup V arasında olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Çizelge 4.5. TOS için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları

Değişken	Grup (n=7)	Ort.±SS	Sıra ort.	P
TOS (U/mL)	Grup I (Kontrol)	1,84±0,294	27,50	p>0,05
	Grup II (200C)	1,53±0,200	14,43	
	Grup III (VitD)	1,66±0,548	3,07	
	Grup IV (VitD+200C)	1,72±0,330	23,64	
	Grup V (400C)	1,51±0,189	14,36	
	Grup VI (VitD+400C)	1,82±0,390	26,00	

Yapılan Kruskal Wallis testine göre TOS parametresi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (p>0,05).

Çizelge 4.6. ADMA için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Kruskal-Wallis) sonuçları

Değişken	Grup (n=7)	Ort.±SS	Sıra ort.	P
ADMA (ng/mL)	Grup I ^{a,b} (Kontrol)	108,58±10,611	7,14	p<0,05
	Grup II ^c (200C)	151,72±14,693	32,57	
	Grup III (VitD)	113,79±6,974	9,86	
	Grup IV (VitD+200C)	139,95±14,286	25,14	
	Grup V (400C)	150,93±26,381	28,29	
	Grup VI (VitD+400C)	140,94±11,659	26,00	

Anlamlılık düzeyleri: ^aGrup I ile Grup V, ^bGrup I ile Grup II ve ^cGrup II ile Grup III, p<0.05 ;

Yapılan Kruskal Wallis testine göre ADMA parametresi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Benforonni düzeltmeli çoklu karşılaştırma testi ile bu farklılığın; Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup V, ve Grup II ile Grup III arasında olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.7. AP için gruplara göre ortalama karşılaştırma testi (Anova) sonuçları

Değişken	Grup (n=7)	Ort.±SS	P
AP (ng/mL)	Grup I (Kontrol)	3,91±0,781	$p>0,05$
	Grup II (200C)	3,30±0,461	
	Grup III (VitD)	3,67±0,902	
	Grup IV (VitD+200C)	3,16±0,412	
	Grup V (400C)	3,17±0,600	
	Grup VI (VitD+400C)	3,01±0,472	

Yapılan Anova testine göre apelin parametresi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.8. Grup I- araştırma parametreleri korelasyon tablosu

		NO	AP	ELA	T-AOC	TOS	ADMA
NO	r	1	0,090	-0,411	0,406	,809	-0,751
	p		0,849	0,359	0,367	0,027	0,052
AP	r	0,090	1	0,558	-0,050	0,189	0,285
	p	0,849		0,193	0,915	0,684	0,535
ELA	r	-0,411	0,558	1	-0,050	-0,312	0,519
	p	0,359	0,193		0,916	0,496	0,232
T-AOC	r	0,406	-0,050	-0,050	1	-0,060	-0,672
	p	0,367	0,915	0,916		0,899	0,098
TOS	r	,809*	0,189	-0,312	-0,060	1	-0,377
	p	0,027	0,684	0,496	0,899		0,405
ADMA	r	-0,751	0,285	0,519	-0,672	-0,377	1
	p	0,052	0,535	0,232	0,098	0,405	

Elde edilen bulgulara göre, sadece NO-TOS parametreleri arasında pozitif korelasyon bulunmuş diğer araştırma parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Çizelge 4.9. Grup II- araştırma parametreleri korelasyon tablosu

		NO	AP	ELA	T-AOC	TOS	ADMA
NO	r	1	0,406	-0,026	0,170	0,326	-0,025
	p		0,366	0,955	0,715	0,475	0,957
AP	r	0,406	1	0,306	0,374	0,691	0,249
	p	0,366		0,504	0,409	0,086	0,590
ELA	r	-0,026	0,306	1	-0,135	0,535	-0,703
	p	0,955	0,504		0,774	0,216	0,078
T-AOC	r	0,170	0,374	-0,135	1	0,259	0,599
	p	0,715	0,409	0,774		0,576	0,155
TOS	r	0,326	0,691	0,535	0,259	1	0,061
	p	0,475	0,086	0,216	0,576		0,897
ADMA	r	-0,025	0,249	-0,703	0,599	0,061	1
	p	0,957	0,590	0,078	0,155	0,897	

Elde edilen bulgulara göre, Grup II için araştırma parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Çizelge 4.10. Grup III- araştırma parametreleri korelasyon tablosu

		NO	AP	ELA	T-AOC	TOS	ADMA
NO	r	1	0,497	0,565	0,398	-0,136	-0,331
	p		0,257	0,187	0,377	0,771	0,469
AP	r	0,497	1	0,839	-0,329	0,661	-0,322
	p	0,257		0,018	0,471	0,106	0,481
ELA	r	0,565	,839*	1	-0,291	0,371	-0,198
	p	0,187	0,018		0,526	0,413	0,670
T-AOC	r	0,398	-0,329	-0,291	1	-0,428	0,341
	p	0,377	0,471	0,526		0,339	0,454
TOS	r	-0,136	0,661	0,371	-0,428	1	0,177
	p	0,771	0,106	0,413	0,339		0,704
ADMA	r	-0,331	-0,322	-0,198	0,341	0,177	1
	p	0,469	0,481	0,670	0,454	0,704	

Elde edilen bulgulara göre, sadece apelin-elabela parametreleri arasında pozitif korelasyon bulunmuş diğer araştırma parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Çizelge 4.11. Grup IV- araştırma parametreleri korelasyon tablosu

		NO	AP	ELA	T-AOC	TOS	ADMA
NO	r	1	0,525	0,217	0,707	-,857	-0,048
	p		0,226	0,641	0,076	0,014	0,918
AP	r	0,525	1	-0,364	,767*	-0,195	-0,257
	p	0,226		0,423	0,044	0,676	0,577
ELA	r	0,217	-0,364	1	-0,410	-0,643	0,073
	p	0,641	0,423		0,361	0,119	0,877
T-AOC	r	0,707	,767*	-0,410	1	-0,343	-0,423
	p	0,076	0,044	0,361		0,452	0,344
TOS	r	-,857*	-0,195	-0,643	-0,343	1	0,131
	p	0,014	0,676	0,119	0,452		0,779
ADMA	r	-0,048	-0,257	0,073	-0,423	0,131	1
	p	0,918	0,577	0,877	0,344	0,779	

Elde edilen bulgulara göre, sadece NO-TOS parametreleri arasında pozitif korelasyon diğer araştırma parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Çizelge 4.12. Grup V- araştırma parametreleri korelasyon tablosu

		NO	AP	ELA	T-AOC	TOS	ADMA
NO	r	1	-0,228	0,661	-0,354	-0,262	0,667
	p		0,622	0,106	0,436	0,571	0,101
AP	r	-0,228	1	-0,252	-0,239	0,470	-0,300
	p	0,622		0,586	0,606	0,287	0,514
ELA	r	0,661	-0,252	1	-0,527	-0,502	0,160
	p	0,106	0,586		0,225	0,251	0,732
T-AOC	r	-0,354	-0,239	-0,527	1	0,486	0,103
	p	0,436	0,606	0,225		0,269	0,826
TOS	r	-0,262	0,470	-0,502	0,486	1	0,200
	p	0,571	0,287	0,251	0,269		0,668
ADMA	r	0,667	-0,300	0,160	0,103	0,200	1
	p	0,101	0,514	0,732	0,826	0,668	

Elde edilen bulgulara göre, araştırma parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Çizelge 4.13. Grup VI- araştırma parametreleri korelasyon tablosu

		NO	AP	ELA	T-AOC	TOS	ADMA
NO	r	1	0,521	0,429	-0,108	-0,071	0,257
	p		0,231	0,337	0,817	0,879	0,577
AP	r	0,521	1	0,347	-,884	0,027	0,258
	p	0,231		0,446	0,008	0,954	0,577
ELA	r	0,429	0,347	1	-0,026	0,590	0,448
	p	0,337	0,446		0,955	0,163	0,313
T-AOC	r	-0,108	-,884**	-0,026	1	0,121	0,006
	p	0,817	0,008	0,955		0,796	0,990
TOS	r	-0,071	0,027	0,590	0,121	1	,767*
	p	0,879	0,954	0,163	0,796		0,044
ADMA	r	0,257	0,258	0,448	0,006	,767*	1
	p	0,577	0,577	0,313	0,990	0,044	

Elde edilen bulgulara göre, sadece apelin- T-AOC parametreleri arasında negatif korelasyon bulunmuş diğer araştırma parametreleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

5. TARTIŞMA

Canlıların yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmesi için enerjiye ihtiyacı bulunmaktadır. Bu da, glukoz ve yağ asitleri gibi moleküllerin oksidasyonu ile elde edilmektedir. Ancak bu maddelerin oksidasyonu sonucunda bir taraftan enerji açığa çıkarken, diğer taraftan da reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan ve yapısında oksijen içeren serbest radikaller oluşur. Oluşan bu serbest radikaller birçok kronik hastalığın başlamasına neden olabilir. Antioksidatif etki sonucunda antioksidanlar, canlı hücrelerde oluşan serbest radikaller ile reaksiyona girerek bu bileşiklerin oksidasyonunu önlemektedir [153].

Yaşam tarzları hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynayabilir [154]. Sağlık davranışları ve hastalıklar arasında potansiyel bir bağlantı vardır. Örneğin meyve ve sebzeler hastalıkları önlemeye yardımcı olabilecek bir dizi besin içerir ve hastalık teşhisi konmuş kişiler arasında sonuçları potansiyel olarak iyileştirebilir. Bunlar karotenoidler, folat, C vitamini, E vitamini, selenyum, flavonoidler ve diğer çeşitli fitokimyasallardır. Bu maddeler antioksidan olarak hareket ederler [155].

Vücudun antioksidan savunması, diyetle alınan antioksidanların alımı, endojen antioksidanların seviyeleri ve antioksidanların tüketimini belirleyen vücutta devam eden oksidasyon süreçleri gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Farklı antioksidanlar bakımından zengin gıdalar ve bu gıdaları en fazla tüketen bireylerin daha iyi antioksidan kapasitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Antioksidanlar bakımından zengin gıdalar tüketildiğinde antioksidan kapasitesi daha güçlü olma eğilimindedir [156]. Bir dizi hastalık, azalmış antioksidan durum ve oksidatif stres ile ilişkilidir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda, belirli bileşiklerin önemli düzeyde antioksidatif etkilerinin bulunduğu saptanmıştır ve sahip oldukları etkiler nedeniyle antioksidanların birçok kronik hastalığı önleyici etki gösterdiği ortaya konulmuştur [157,158]. Epidemiyolojik çalışmalar, diyetle yüksek antioksidan alımının, kardiyovasküler hastalık ve bazı kanser risklerinin azalmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir.

Oksidatif stresin önüne geçilmesi amacıyla değerlendirilen, antioksidan özellik taşıyan birçok madde yapılan çalışmalar kapsamında araştırılmaktadır. Kurkumin de bilinen antioksidanlardan biridir. Bu antioksidanın olumsuz bazı durumlarda kullanım seçenekleri değerlendirilmiş olmasına rağmen apelinergic sisteme karşı etkilerinin değerlendirildiği bir

çalışmaya ise rastlanmamıştır [159]. Bu amaçla çalışmamızda; vitamin D ve farklı dozlarda kurkumin uygulanan sıçanlarda apelin, elabela, nitrik oksit, asimetrik dimetiltarjinin, total oksidan kapasite ve total antioksidan kapasite düzeyleri araştırıldı. Kurkumin ve D vitamini ile apelinergic sistem ve oksidan-antioksidan durum arasındaki ilişki çalışmamızın temelini oluşturmaktadır. Oksidatif durum, esas olarak oksidan ve antioksidanların birleşik etkisini ve ayrıca bunlar arasındaki etkileşimleri yansıtan serum total oksidan ve total antioksidan kapasite ölçümü aracılığıyla değerlendirilmiştir.

Antiinflamatuvar özelliğe sahip olmakla birlikte kurkuminin oksidatif stres, kardiyovasküler hastalıklar, tip II diyabet ve obeziteyi önlemede etkili olduğu bildirilmektedir [160]. Ayrıca içerdiği güçlü antioksidan özelliğe sahip maddeler ile de hücrelerde LDL'yi oksidasyona karşı korur [161]. Kurkuminin, özellikle koroner kalp hastalıkları ve kalp krizi risklerini azaltıcı etkileri, antikarsinojen etkileri bazı hastalıkları tedavi edici nitelikleri bulunduğu belirtilmektedir [42]. Antioksidan aktiviteleri olan kurkumin, sağlığı koruma ve hastalıkları önlemede etkili bir reaktif olarak kullanılabilir. Shen ve arkadaşları, gerçekleştirdiği araştırmada kurkuminin antioksidan aktiviteyi artırarak ROS'un oluşturulmasını azalttığını rapor etmiştir [162]. Çalışmamızda kurkumin etken maddesinin sağlıklı durumda proinflamatuvar/immünoregülatör, oksidan parametrelerine etkisine dair süreci araştırmada bu veriler öncü olmuştur. Kurkumin NOS aktivitesini de inhibe eder. Bu nedenle potansiyel olarak geniş bir antiinflamatuvar etki spektrumuna sahip olduğu saptanmıştır [162].

Küçük bir molekül ve bir serbest radikal olan NO, vasküler homeostazda çok önemli bir rol oynamaktadır. NO, damar sistemi içinde pleiotropik etkiler gösterir ve damar gevşetici etkilerine ek olarak, NO'nun trombosit yapışmasını ve agregasyonunu inhibe ettiği, trombosit üretimini modüle ettiği, vasküler düz kas hücresi proliferasyonunu inhibe ettiği, vasküler geçirgenliği modüle ettiği ve ayrıca antiinflamatuvar etkiler gösterdiği rapor edilmiştir [163]. ROS aktivitesindeki bir artışın endotel hücrelerinde eNOS'u yukarı regüle ettiği gösterilmiştir [164]. Buna karşın eNOS ekspresyonunun NO tarafından aşağı regülasyonuna cGMP'nin aracılık ettiği gösterilmiştir [165]. Yapılan bir çalışmada akut lenfositik lösemili hastalardan elde edilen hücrelerde kurkumine maruz kaldıktan sonra hücre içi NO seviyelerinin önemli ölçüde arttığı bulunmuştur [166]. Bizim sağlıklı ratlar üzerinde uygulanan çalışmamızda gruplar arası NO seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır.

Vasküler NO sentezi, asimetrik dimetiltarjinin tarafından bozulabilir [167]. ADMA ve L-NMMA, NO sentezini bloke etmeye ek olarak O₂ üretmek için ayrılabilir [168]. ADMA ve L-NMMA, proteinler üzerindeki metillenmiş arjinin kalıntılarının proteolizinden türetilir [167]. Hipertansiyon hastalarında yüksek ADMA seviyeleri rapor edilmiştir. NOS bağımlı NO üretiminin düzenlenmesi, çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar, substratlar, yardımcı faktörler ve enzimlerin dahil olduğu karmaşık bir olaydır. Çalışmalar ADMA'nın sadece hastalık ve hastalık şiddetinin bir belirteci olmadığını ve patofizyolojik olarak anlamlı ADMA kan konsantrasyonları ile sonuçlandığını göstermiştir, NO'yu inhibe ettiği gösterilmiştir [169,170]. ADMA 'nın artışı, hipertansiyon, hiperkolesteremi, diabetes mellitus, sigara gibi koroner arter risk belirteçlerinden kabul edilmektedir. ADMA hiperkolesterolemili insanlar ve hayvanlarda önemli oranda yüksek bulunmuştur [171]. Çalışmamızda ADMA parametresinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu farklılığın Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup V, ve Grup II ile Grup III arasında olduğu tespit edilmiştir.

Elabela, yetişkinlerin apelin reseptörlerine yarışmalı olarak bağlanır [23]. Elabela, inotropik bir ajan ve güçlü bir vazodilatör olarak işlev görür. Elabela, enfarktüs sonrası indüklenir. Elabela'nın yetişkin organizmadaki önemini daha fazla araştırmak için kardiyak örnekler, miyokard enfarktüsüne (MI) maruz kalan farelerden MI'dan 4 hafta sonra toplanmıştır. Elabela, apelin ve APJ mRNA'ları daha sonra incelenmiştir. Kalpte apelin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir [161]. Bizim çalışmamızda, elabela seviyeleri ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Diğer bir apelinergik sistem bileşeni olan apelinin inaktif edilmesi patolojik bir ortamda kardiyak hipertrofiyi şiddetlendirir. Apelin farklı fizyolojik koşullarda kardiyak büyümeyi modüle eder. Bu Ang II sinyali teşvik eden hipertrofiyi kolaylaştıran apelin eksikliğine bağlı olabilir [60]. Uzun süreli egzersizin oksidatif stres ve ATP yoluyla kas hasarına neden olduğu ise bilinmektedir. Kasılma sırasında apelin kaslar tarafından serbest bırakılır. Ayrıca, Vinel ve diğerleri apelinin iskelet kası rejenerasyonunu düzenlediğini göstermiştir [29]. Kas hücrelerinin aktivasyonu ve kaslarda oksidatif hasar önleyici süreç ile güçlü bir korelasyon keşfettiler. Apelinin iskelet kası enerji metabolizması üzerindeki etkileri in vitro olarak incelenmiştir. İskelet kası hücrelerinden farklılaşan birincil miyotüp kültürleri 24 saat apelin ile tedavi edildikten sonra, ATP üretim oranı önemli ölçüde artmıştır. Apelin dolaşımında bulunduğu için endokrin bir şekilde işlev görebilir. Sentetik peptitlerin kullanıldığı reseptör

çalışmalarına dayalı olarak, dolaşımdaki apelin APJ eksprese eden hücrelerde hücre içi cAMP seviyelerini arttırabilir [172]. Ancak, apelinin arteriyel tonüsü, kalp kasılmasını ve yiyecek ve su alımını düzenlediğini gösteren çalışmalarda apelinin farmakolojik dozları kullanılmıştır. Bu nedenle, fizyolojik endojen apelin konsantrasyonlarının bu etkileri kesin değildir [173].

Obezitede dolaşımdaki apelin seviyesi yükselir. Yağ dokusu apelin mRNA ve plazma apelin düzeyleri obezite, bozulmuş glukoz toleransı ve diyabette artar. Obez kadınlarda 3 aylık diyetle bağlı kilo kaybına (6.7 ± 3.7 kg) yanıt olarak plazma apelin ve adipoz doku apelin mRNA seviyeleri azalır [174]. Apelin in vitro olarak adipositler tarafından salgılandığından plazma apelin düzeyleriyle yağ depoları arasında korelasyon beklenebilir [175]. Hiperinsülinemi ve insülin direnciyle ilişkili olarak plazma apelin düzeyleri obezitede yükseliş gösterir [176]. Hiperinsülinemik obez farelerin apelin seviyesi yükselmiştir. İnsülinin aksine, glukozun apelin sentezi üzerinde bir etkisi yoktur [177]. Bizim çalışmamızda gruplar arasında apelin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Richman ve Rhodes'un diyetle dayalı kanıtları sundukları araştırma, kurkuminin ve diğer antioksidan nitelikli polifenollerin ratlarda gerçekleştirilen deneysel kolit modelinde yararlı etkinliğine dair bilgiler içermektedir. Kurkuminin antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Kurkuminin hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar yapılmıştır [178]. Kurkuminin biyoyararlanımı, potansiyel kullanım için tartışmalardan biridir. Kurkuminin, biyoyararlanımını sınırlayan hızlı bağırsak ve hepatik metabolizmaya uğradığı bilinmektedir. Kurkumin, hücre büyümesinden ve proliferasyonundan sorumlu birçok hücresel yolu etkileyebilir. Kurkumin çok çeşitli moleküler hedeflere sahiptir. Sıçanlarda yapılan bir oral gavaj çalışmasında, 1 g/kg formüle edilmemiş kurkumin dozu, plazmada neredeyse ihmal edilebilir miktarlar göstermiştir [117]. Yapılan bir çalışmada akciğer kanserli farelere tedavi öncesi 100 mg/kg kurkumin takviyesi verilmiş ve tümörlü hücrelerin boyut ve ağırlıklarında önemli ölçüde azalma kaydedilmiştir [179]. Bizim çalışmamızda kurkumin ve D vitamini uygulamalarının, çalışmamız kapsamında belirtilen doz ve sürelerde, ölçülen T-AOC ve ADMA parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa neden olurken diğer parametrelerde önemli bir değişime yol açmadığı gözlenmiştir. Kurkumin verilen gruplar ve gruplar arası farklılıklar üzerinde, kurkuminin zayıf biyoyararlanımı ve ratlarda çok daha hızlı bir metabolizmaya sahip olması etkili

olabilir. Bunun yanı sıra biyomarkerların diyetten kolayca etkilenmediği, net bir doz-yanıt etkisinin gözlenemediği ve daha uzun süreli çalışmaların faydalı olabileceği düşünülebilir.

D vitamini, immün aracılı bozukluklarda immünoregülatuvar bir etkiye sahiptir. Birçok hastalıkta, genel popülasyona göre daha fazla D vitamini eksikliği prevalansı vardır ve bu eksiklikle hastalığın daha kötü seyri arasında olası bir ilişki mevcuttur [145]. Yardımcı bir tedavi olarak D vitamininin hastalık kontrolüne katkıda bulunabileceğine dair bazı kanıtlar olmasına rağmen, bu kanıtlar D vitamini kullanımını haklı çıkarmak için yeterli değildir. Bu gibi sonuçlar konuyla ilişkili çalışmaların artışı desteklemektedir ve çalışmamızın önemini vurgulamaktadır. Son yıllarda mevcut kanıtlar ışığında, D vitamininin iskelet kası içindeki rolü büyük ilgi görmüştür. D vitaminin iskelet kası örneklerinde saptanması tartışmalı bir konudur. Bu öncelikle düşük düzeylerinden kaynaklanır. D vitamini ile ilgili metabolitler iskelet kası içindeki mitokondriyal fonksiyonu artırabilir ve mitokondriyal solunumda artışa neden olabilir [180]. Kronik böbrek hastalarında D vitamini eksikliğinin yüksek oranda olduğu gösterilmiştir [181].

Çalışmamızda, T-AOC seviyelerinde tüm gruplar karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III ve Grup III ile Grup V arasındaki bu farklılığa D vitamininin neden olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda T-AOC seviyesinin en yüksek olduğu grup D vitamini verilen gruptu. Bu gruptan sonra ise sırasıyla en yüksek T-AOC seviyelerine sahip olan gruplar; Grup VI (400 mg/kg kurkumin +D vitamini verilen grup); Grup IV (200 mg/kg kurkumin +D vitamini verilen grup); Grup II (200 mg/kg kurkumin verilen grup); Grup I (kontrol grubu) ve Grup V (400 mg/kg kurkumin verilen grup) idi.

D vitamini kaynağı olarak sadece güneş ışığı baz alınıp gerçekleştirilen Avrupa'daki çalışmalarda, güneş ışığıyla olan temasın azalması durumunun bir çok hastalık patogeneğinde rol aldığı ve güneş ışığıyla kurulan bu hipotezin, inflamasyonu regüle eden D vitamini senteziyle bağlantılı olduğunu saptadıkları belirtilmiştir [182]. Çalışmamızda araştırmaların sonuçlarıyla örtüşen veriler elde edilmiştir. D vitamini grupları ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, D vitamini grubunun T-AOC seviyelerinin anlamlı şekilde arttığı görüldü. D vitamini enterositler tarafından daha kullanılabilir bir ürün özelliğindedir, hızlı cevap niteliği taşıyan, hızlı sindirilen-emilen bir maddedir. Kurkumin ise emilimi düşük bir maddedir, çoğunluğu idrar ya da dışkı yoluyla atılmaktadır. Vücutta birikmez ve başka

bileşiklere dönüşen kimyasal bir üründür. Vücutta depo edilen ve antioksidan özellik gösteren D vitaminin etkinliğini daha iyi göstermiş olması, kurkuminin ise farklı doz ve formülasyonlardaki, daha uzun süreli uygulamalarının, etkinliğinin daha belirgin gözlemlenebilmesi açısından yararlı olması muhtemeldir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kurkumin ve D vitamininin apelinergic sistem ve oksidan-antioksidan durum üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

- T-AOC parametresinde tüm gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$). Bu farklılığın Grup I ile Grup III, Grup II ile Grup III ve Grup III ile Grup V arasında olduğu tespit edilmiştir ve D vitamininin etkileri olabileceği düşünülmektedir.
- ADMA parametresinde tüm gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu farklılığın Grup I ile Grup II, Grup I ile Grup V, ve Grup II ile Grup III arasında olduğu tespit edilmiştir ve kurkuminin etkileri olabileceği düşünülmektedir.
- Grup I'de NO-TOS parametreleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($p<0,027$). Grup III'de apelin-elabela parametreleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($p<0,018$). Grup IV'de NO-TOS parametreleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($p<0,014$). Grup VI'da ise apelin-T-AOC parametreleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur ($p<0,008$).

Kurkumin, birçok serbest radikali süpürücü etkiye sahiptir ve antioksidan enzimlerin düzeylerini arttırarak oksidatif stresi azaltmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız bir diğer etken madde olan D vitamini yetersizliğinde ise oksidatif stres artmaktadır. Apelinergic sistem, anjiyogenik, kardiyoprotektif, pozitif inotropik ve antihipertansif özellikleri ile oldukça önemli kardiyovasküler etkilere sahiptir. Güçlü pozitif inotropik etkisi ile kalp yetmezliği tedavisinde umut vadeden apelin ve elabelanın, vazodilatör etkileri ile de esansiyel hipertansiyon ve pulmoner hipertansiyon gibi yaygın hipertansif hastalıklarda etkin bir tedavi alternatifi sağlayabileceği düşünülmektedir. Apelinergic sistemle ilgili yapılan araştırmalarda bu sistemin çok farklı etkileri olmakla birlikte özellikle kardiyovasküler etkileri öne çıkmaktadır. Apelin ve/veya elabela peptitlerinin klinik olarak kısa yarı ömürleri ve kullanımlarının pratik olmaması nedeniyle küçük moleküllü APJ agonistlerinin geliştirilmesi ve optimizasyon çalışmaları devam etmektedir.

Mevcut çalışmalarda kurkumin ve D vitamininin apelinergic sistem üzerindeki etkilerine değinilmemiştir. Kurkumin ve D vitamininin oksidan durum üzerine etkisine ilişkin bazı

alışmalar mevcut olmakla birlikte, çalışmamız bu iki önemli bileşimin apelinerjik sistem üzerine etkisini ve ölçülecek diğler parametrelerle ilişkisini araştırmaya yönelik ilk çalışmadır. Deneysel çalışmamız ve gerçekleştirilecek daha ileri araştırmaların, konu ile ilgili gerek multidisipliner yaklaşımların geliştirilmesi gerekse insan sağlığı açısından faydalı bilimsel çıktılarının artışına katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.



KAYNAKLAR

1. Willis, K. F., & Rayner, J. A. (2013). Integrative medical practitioners and the use of evidence. *European Journal of Integrative Medicine*, 5(5), 410-417.
2. Gasparetto, J. C., Martins, C. A. F., Hayashi, S. S., Otuky, M. F., & Pontarolo, R. (2012). Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(2), 172-189.
3. Leporatti, M. L., & Ivancheva, S. (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *Journal of ethnopharmacology*, 87(2-3), 123-142.
4. Cotton, C. M. (1996). *Ethnobotany: principles and applications*. John Wiley & Sons.
5. Fritzell, J., & Lundberg, O. (Eds.). (2007). *Health inequalities and welfare resources: continuity and change in Sweden*. Policy Press.
6. Sies, H. (1991). Oxidative stress II. *Oxidants and antioxidants*.
7. Halliwell, B. (1999). Chemistry of free radical and related reactive species'; Transition metal, Hydroxyl radical. *Free radicals in biology and medicine*, 53-55.
8. Davi, G., Di Minno, G., Coppola, A., Andria, G., Cerbone, A. M., Madonna, P., Patrono, C. (2001). Oxidative stress and platelet activation in homozygous homocystinuria. *Circulation*, 104(10), 1124-1128.
9. Is, Y., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*, 54(3), 176-186.
10. Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 82(2), 291-295.
11. Van den Berg, R., van Vliet, T., Broekmans, W. M., Cnubben, N. H., Vaes, W. H., Roza, L., van den Berg, H. (2001). A vegetable/fruit concentrate with high antioxidant capacity has no effect on biomarkers of antioxidant status in male smokers. *The Journal of nutrition*, 131(6), 1714-1722.
12. Serafini, M., & Del Rio, D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox report*, 9(3), 145-152.
13. Niculescu, L., Stancu, C., Sima, A., Toporan, D., & Simionescu, M. (2001). The total peroxyl radical trapping potential in serum-an assay to define the stage of atherosclerosis. *Journal of cellular and molecular medicine*, 5(3), 285-294.
14. Valabhji, J., McColl, A. J., Richmond, W., Schachter, M., Rubens, M. B., & Elkeles, R. S. (2001). Total antioxidant status and coronary artery calcification in type 1 diabetes. *Diabetes care*, 24(9), 1608-1613.

15. Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Ascherio, A., Giovannucci, E., Colditz, G. A., & Willett, W. C. (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *New England Journal of Medicine*, 328(20), 1450-1456.
16. Knekt, P., Jarvinen, R., Reunanen, A., & Maatela, J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Bmj*, 312(7029), 478-481.
17. Jin, R. C., & Loscalzo, J. (2010). Vascular nitric oxide: formation and function. *Journal of blood medicine*, 1, 147.
18. Leiper, J., & Vallance, P. (1999). Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovascular research*, 43(3), 542-548.
19. Lundberg, J. O., Weitzberg, E., & Gladwin, M. T. (2008). The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature reviews Drug discovery*, 7(2), 156-167.
20. Moncada, S. R. M. J. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol rev*, 43, 109-142.
21. Dimitroulas, T., Giannakoulas, G., Sfetsios, T., Karvounis, H., Dimitroula, H., Koliakos, G., & Settas, L. (2008). Asymmetrical dimethylarginine in systemic sclerosis-related pulmonary arterial hypertension. *Rheumatology*, 47(11), 1682-1685.
22. Szokodi, I., Tavi, P., Földes, G., Voutilainen-Myllylä, S., Ilves, M., Tokola, H., ... & Ruskoaho, H. (2002). Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circulation research*, 91(5), 434-440.
23. De Mota, N., Reaux-Le Goazigo, A., El Messari, S., Chartrel, N., Roesch, D., Dujardin, C., Llorens-Cortes, C. (2004). Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(28), 10464-10469.
24. O'Carroll, A. M., Lolait, S. J., Harris, L. E., & Pope, G. R. (2013). The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *J Endocrinol*, 219(1), R13-35.
25. Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buléon, M., Cani, P.D., Attane C., Guigne C., and Valet, P. (2008). Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell metabolism*, 8(5), 437-445.
26. Than, A., Zhang, X., Leow, M. K. S., Poh, C. L., Chong, S. K., & Chen, P. (2014). Apelin attenuates oxidative stress in human adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 289(6), 3763-3774.
27. Han, S., Englander, E. W., Gomez, G. A., & Greeley Jr, G. H. (2017). Apelin regulates nuclear factor- κ B's involvement in the inflammatory response of pancreatitis. *Pancreas*, 46(1), 64-70.
28. Rai, R., Ghosh, A. K., Eren, M., Mackie, A. R., Levine, D. C., Kim, S. Y., Cedernaes J., Ramirez V., Procissi D., Smith L. H., Woodruff T.K., Bas J., Vaughan, D. E. (2017).

- Downregulation of the apelinergic axis accelerates aging, whereas its systemic restoration improves the mammalian healthspan. *Cell reports*, 21(6), 1471-1480.
29. Vinel, C., Lukjanenko, L., Batut, A., Deleruyelle, S., Pradere, J. P., Le Gonidec, Dray, C. (2018). The exerkine apelin reverses age-associated sarcopenia. *Nature medicine*, 24(9), 1360-1371.
 30. Akbay, G. D., & Pekcan, A. G. (2016). Zerdeçal: Beslenme ve Sağlık Yönünden Değerlendirilmesi. *Beslenme ve Diyet* Poon, H. F., Calabrese, V., Scapagnini, G., & Butterfield, D. A. (2004). Free radicals and brain aging. *Clinics in geriatric medicine*, 20(2), 329-359.
 31. Becit, M., Aydın Dilsiz, Başaran, A. (2017). Effects of curcumin on cisplatin cytotoxicity in HepG2 cells.
 32. Maradana, M. R., Thomas, R., & O'Sullivan, B. J. (2013). Targeted delivery of curcumin for treating type 2 diabetes. *Molecular nutrition & food research*, 57(9), 1550-1556.
 33. Bright, J. J. (2007). Curcumin and autoimmune disease. *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*, 425-451.
 34. Taylor, C. L., Sempos, C. T., Davis, C. D., & Brannon, P. M. (2017). Vitamin D: moving forward to address emerging science. *Nutrients*, 9(12), 1308.
 35. Nicholson, I., Dalzell, A. M., & El-Matary, W. (2012). Vitamin D as a therapy for colitis: a systematic review. *Journal of Crohn's and Colitis*, 6(4), 405-411.
 36. O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H., Tsui, L. C., Kennedy, J. L., Nguyen, T. (1993). A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 136(1-2), 355-360.
 37. Zhang, Y., Wang, Y., Lou, Y., Luo, M., Lu, Y., Li, Z., Miao, L. (2018). Elabela, a newly discovered APJ ligand: similarities and differences with Apelin. *Peptides*, 109, 23-32.
 38. Scimia, M. C., Hurtado, C., Ray, S., Metzler, S., Wei, K., Wang, J., Ruiz-Lozano, P. (2012). APJ acts as a dual receptor in cardiac hypertrophy. *Nature*, 488(7411), 394-398.
 39. Charo, D. N., Ho, M., Fajardo, G., Kawana, M., Kundu, R. K., Sheikh, A. Y., Quertermous, T. (2009). Endogenous regulation of cardiovascular function by apelin-APJ. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*.
 40. Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and biophysical research communications*, 251(2), 471-476.
 41. Murza, A., Belleville, K., Longpré, J. M., Sarret, P., & Marsault, É. (2014). Stability and degradation patterns of chemically modified analogs of apelin-13 in plasma and cerebrospinal fluid. *Peptide Science*, 102(4), 297-303.
 42. Wang, W., McKinnie, S. M., Farhan, M., Paul, M., McDonald, T., McLean, B., Oudit, G. Y. (2016). Angiotensin-converting enzyme 2 metabolizes and partially inactivates

- pyr-apelin-13 and apelin-17: physiological effects in the cardiovascular system. *Hypertension*, 68(2), 365-377.
43. McKinnie, S. M., Fischer, C., Tran, K. M., Wang, W., Mosquera, F., Oudit, G. Y., Vederas, J. C. (2016). The metalloprotease neprilysin degrades and inactivates apelin peptides. *ChemBioChem*, 17(16), 1495-1498.
 44. Shin, K., Chapman, N. A., Sarker, M., Kenward, C., Huang, S. K., Weatherbee-Martin, N., Rainey, J. K. (2017). Bioactivity of the putative apelin proprotein expands the repertoire of apelin receptor ligands. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1861(8), 1901-1912.
 45. Chandrasekaran, B., Dar, O., & McDonagh, T. (2008). The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *European journal of heart failure*, 10(8), 725-732.
 46. Rai, R., Ghosh, A. K., Eren, M., Mackie, A. R., Levine, D. C., Kim, S. Y., Cedernaes J., Ramirez V., Procissi D., Smith L. H., Woodruff T.K., Bas J., Vaughan, D. E. (2017). Downregulation of the apelinergic axis accelerates aging, whereas its systemic restoration improves the mammalian healthspan. *Cell reports*, 21(6), 1471-1480.
 47. Lee, D. K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A. P., Liu, Y., O'Dowd, B. F. (2000). Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *Journal of neurochemistry*, 74(1), 34-41. Daviaud, D., Boucher, J., Gesta, S., Dray, C., Guigne, C., Quilliot, D., Castan-Laurell, I. (2006). TNF α up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue. *The FASEB Journal*, 20(9), 1528-1530.
 48. Daviaud, D., Boucher, J., Gesta, S., Dray, C., Guigne, C., Quilliot, D., Castan-Laurell, I. (2006). TNF α up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue. *The FASEB Journal*, 20(9), 1528-1530.
 49. Langelaan, D. N., Bebbington, E. M., Reddy, T., & Rainey, J. K. (2009). Structural insight into G-protein coupled receptor binding by apelin. *Biochemistry*, 48(3), 537-548.
 50. Evans, N. A., Groarke, D. A., Warrack, J., Greenwood, C. J., Dodgson, K., Milligan, G., & Wilson, S. (2001). Visualizing differences in ligand-induced β -arrestin-GFP interactions and trafficking between three recently characterized G protein-coupled receptors. *Journal of neurochemistry*, 77(2), 476-485.
 51. Masri, B., Morin, N., Pedebernade, L., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2006). The apelin receptor is coupled to Gi1 or Gi2 protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *Journal of Biological Chemistry*, 281(27), 18317-18326.
 52. Pauli, A., Norris, M. L., Valen, E., Chew, G. L., Gagnon, J. A., Zimmerman, S., Schier, A. F. (2014). Toddler: an embryonic signal that promotes cell movement via Apelin receptors. *Science*, 343(6172).
 53. Chng, S. C., Ho, L., Tian, J., & Reversade, B. (2013). ELABELA: a hormone essential for heart development signals via the apelin receptor. *Developmental cell*, 27(6), 672-680.

54. Zhang, Y., Wang, Y., Lou, Y., Luo, M., Lu, Y., Li, Z., ... & Miao, L. (2018). Elabela, a newly discovered APJ ligand: similarities and differences with Apelin. *Peptides*, 109, 23-32.
55. Xi, Y., Yu, D., Yang, R., Zhao, Q., Wang, W., Wang, J., Gong, D. (2019). Recombinant fc-elabela fusion protein has extended plasma half-life and mitigates post-infarct heart dysfunction in rats. *International Journal of Cardiology*, doi:10.1016/j.ijcard.2019.04.089
56. Ho, L., Tan, S. Y., Wee, S., Wu, Y., Tan, S. J., Ramakrishna, N. B., Reversade, B. (2015). ELABELA is an endogenous growth factor that sustains hESC self-renewal via the PI3K/AKT pathway. *Cell Stem Cell*, 17(4), 435-447.
57. Deng, C., Chen, H., Yang, N., Feng, Y., & Hsueh, A. J. (2015). Apela regulates fluid homeostasis by binding to the APJ receptor to activate Gi signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 290(30), 18261-18268.
58. Chun, H. J., Ali, Z. A., Kojima, Y., Kundu, R. K., Sheikh, A. Y., Agrawal, R., Quertermous, T. (2008). Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *The Journal of clinical investigation*, 118(10), 3343-3354.
59. Siddiquee, K., Hampton, J., McAnally, D., May, L. T., & Smith, L. H. (2013). The apelin receptor inhibits the angiotensin II type 1 receptor via allosteric trans-inhibition. *British journal of pharmacology*, 168(5), 1104-1117.
60. Sato, T., Suzuki, T., Watanabe, H., Kadowaki, A., Fukamizu, A., Liu, P. P., Kuba, K. (2013). Apelin is a positive regulator of ACE2 in failing hearts. *The Journal of clinical investigation*, 123(12), 5203-5211.
61. Papadopoulos, D. P., Makris, T., Perrea, D., Zerva, K., Tsioufis, C., Faselis, C., & Papademetriou, V. (2014). Apelin and relaxin plasma levels in young healthy offspring of patients with essential hypertension. *The Journal of Clinical Hypertension*, 16(3), 198-201.
62. Przewlocka-Kosmala, M., Kotwica, T., Mysiak, A., & Kosmala, W. (2011). Reduced circulating apelin in essential hypertension and its association with cardiac dysfunction. *Journal of hypertension*, 29(5), 971-979.
63. Japp, A. G., Cruden, N. L., Amer, D., Li, V., Goudie, E., Johnston, N., Newby, D. (2008). Vascular effects of apelin in vivo in man. *Journal of the American College of Cardiology*, 52(11), 908-913. doi:10.1016/j.jacc.2008.06.013
64. Barnes, G. D., Alam, S., Carter, G., Pedersen, C. M., Lee, K. M., Hubbard, T. J., Newby, D. E. (2013). Sustained cardiovascular actions of APJ agonism during renin–angiotensin system activation and in patients with heart failure. *Circulation: Heart Failure*, 6(3), 482-491.
65. Japp, A. G., Cruden, N. L., Barnes, G., Van Gemeren, N., Mathews, J., Adamson, J., Newby, D. E. (2010). Acute cardiovascular effects of apelin in humans. *Circulation*, 121(16), 1818-1827.

66. Seyedabadi, M., Goodchild, A. K., & Pilowsky, P. M. (2002). Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration. *Autonomic Neuroscience*, 101(1-2), 32-38.
67. Han, X., Zhang, D. L., Yin, D. X., Zhang, Q. D., & Liu, W. H. (2013). Apelin-13 deteriorates hypertension in rats after damage of the vascular endothelium by ADMA. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 91(9), 708-714.
68. Perjés, Á., Skoumal, R., Tenhunen, O., Kónyi, A., Simon, M., Horváth, I. G., Szokodi, I. (2014). Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C ϵ -and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms. *PloS one*, 9(4), e93473.
69. Farkasfalvi, K., Stagg, M. A., Coppen, S. R., Siedlecka, U., Lee, J., Soppa, G. K., Terracciano, C. M. (2007). Direct effects of apelin on cardiomyocyte contractility and electrophysiology. *Biochemical and biophysical research communications*, 357(4), 889-895.
70. Azizi, Y., Faghihi, M., Imani, A., Roghani, M., Zekri, A., Mobasheri, M. B., Moghimian, M. (2015). Post-infarct treatment with [Pyr1]apelin-13 improves myocardial function by increasing neovascularization and overexpression of angiogenic growth factors in rats. *European Journal of Pharmacology*, 761, 101-108. doi:10.1016/j.ejphar. 2015.04.034
71. Perjés, Á., Kilpiö, T., Ulvila, J., Magga, J., Alakoski, T., Szabó, Z., ... & Kerkelä, R. (2016). Characterization of apela, a novel endogenous ligand of apelin receptor, in the adult heart. *Basic research in cardiology*, 111(1), 1-12.
72. Foussal, C., Lairez, O., Calise, D., Pathak, A., Guilbeau-Frugier, C., Valet, P., Kunduzova, O. (2010). Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy. *FEBS Letters*, 584(11), 2363-2370. doi:10.1016/j.febslet.2010.04.025
73. Selesniemi, K., Lee, H. J., Niikura, T., & Tilly, J. L. (2009). Young adult donor bone marrow infusions into female mice postpone age-related reproductive failure and improve offspring survival. *Aging (Albany NY)*, 1(1), 49.
74. Shen, J., Tsai, Y. T., DiMarco, N. M., Long, M. A., Sun, X., & Tang, L. (2011). Transplantation of mesenchymal stem cells from young donors delays aging in mice. *Scientific reports*, 1(1), 1-7.
75. Fujie, S., Sato, K., Miyamoto-Mikami, E., Hasegawa, N., Fujita, S., Sanada, K., Iemitsu, M. (2014). Reduction of arterial stiffness by exercise training is associated with increasing plasma apelin level in middle-aged and older adults. *PloS one*, 9(4), e93545.
76. Scicinski, J., Oronsky, B., Ning, S., Knox, S., Peehl, D., Kim, MM, Fanger, G. (2015). Kansere HAYIR: Nitrik oksit ve epigenetik nitrik oksit donörü RRx-001'in karmaşık ve çok yönlü rolü. *Redoks biyolojisi* , 6 , 1-8.
77. Ceneviva, G. D., Tzeng, E., Hoyt, D. G., Yee, E., Gallagher, A., Engelhardt, J. F., Pitt, B. R. (1998). Nitric oxide inhibits lipopolysaccharide-induced apoptosis in pulmonary artery endothelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 275(4), L717-L728.

78. Pervin, S., Singh, R., Hernandez, E., Wu, G., & Chaudhuri, G. (2007). Fizyolojik konsantrasyonlardaki nitrik oksit, insan meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu artırmak için translasyon makinesini hedefler: rapamisin/eIF4E yolunun memeli hedefinin katılımı. *Kanser Araştırması* , 67 (1), 289-299.
79. Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., & Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(24), 9265-9269.
80. Evans, J. L., & Goldfine, I. D. (2013). Aging and insulin resistance: just say iNOS. *Diabetes*, 62(2), 346-348.
81. Pautz, A., Art, J., Hahn, S., Nowag, S., Voss, C., & Kleinert, H. (2010). Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *Nitric oxide*, 23(2), 75-93.
82. Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European heart journal*, 33(7), 829-837.
83. Ghasemi, M., Mayasi, Y., Hannoun, A., Eslami, S. M., & Carandang, R. (2018). Nitric oxide and mitochondrial function in neurological diseases. *Neuroscience*, 376, 48-71.
84. Kadekaro, M. (2004). Nitric oxide modulation of the hypothalamo-neurohypophyseal system. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37(4), 441-450.
85. Gkaliagkousi, E., Ritter, J., & Ferro, A. (2007). Platelet-derived nitric oxide signaling and regulation. *Circulation research*, 101(7), 654-662.
86. Bian, K., & Murad, F. (2014). What is next in nitric oxide research? From cardiovascular system to cancer biology. *Nitric Oxide*, 43, 3-7.
87. Jin, R. C., & Loscalzo, J. (2010). Vascular nitric oxide: Formation and function. *Journal of Blood Medicine*, 2010(1), 147-162. doi:10.2147/JBM.S7000 [doi]
88. Bratic, I., & Trifunovic, A. (2010). Mitochondrial energy metabolism and ageing. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1797(6-7), 961-967.
89. Bedford, M. T., & Clarke, S. G. (2009). Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why. *Molecular cell*, 33(1), 1-13.
90. Bedford, M. T., & Richard, S. (2005). Arginine methylation: an emerging regulator of protein function. *Molecular cell*, 18(3), 263-272.
91. Valkonen, V. P., Päivä, H., Salonen, J. T., Lakka, T. A., Lehtimäki, T., Laakso, J., & Laaksonen, R. (2001). Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *The Lancet*, 358(9299), 2127-2128.
92. Zoccali, C., Bode-Böger, S. M., Mallamaci, F., Benedetto, F. A., Tripepi, G., Malatino, L. S., Böger, R. H. (2001). Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *The Lancet*, 358(9299), 2113-2117.

93. Leiper, J., & Vallance, P. (1999). Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovascular research*, 43(3), 542-548.
94. Selçuk, M. T., Selçuk, H., Temizhan, A., Maden, O., Ulupinar, H., Baysal, E., Saşmaz, A. (2008). The effect of plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) level and L-arginine/ADMA ratio on the development of coronary collaterals. *Turk Kardiyoloji Dernegi Arsivi: Turk Kardiyoloji Derneginin Yayin Organidir*, 36(3), 150-155.
95. Wolf, C., Lorenzen, J. M., Stein, S., Tsikas, D., Störk, S., Weidemann, F., Thum, T. (2012). Urinary asymmetric dimethylarginine (ADMA) is a predictor of mortality risk in patients with coronary artery disease. *International journal of cardiology*, 156(3), 289-294.
96. Cooke, J. P. (2000). Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 20(9), 2032-2037.
97. Commoner, B., Townsend, J., & Pake, G. E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, 174(4432), 689-691.
98. Harman, D. (1981). The aging process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(11), 7124-7128.
99. Batandier, C., Fontaine, E., Kériel, C., & Leverve, X. M. (2002). Determination of mitochondrial reactive oxygen species: methodological aspects. *Journal of cellular and molecular medicine*, 6(2), 175-187.
100. Lee, M., Hyun, D. H., Jenner, P., & Halliwell, B. (2001). Effect of proteasome inhibition on cellular oxidative damage, antioxidant defences and nitric oxide production. *Journal of neurochemistry*, 78(1), 32-41.
101. Eyries, M., Collins, T., & Khachigian, L. M. (2004). Modulation of growth factor gene expression in vascular cells by oxidative stress. *Endothelium*, 11(2), 133-139.
102. Suematsu, M., Suzuki, H., Delano, F. A., & Schmid-Schönbein, G. W. (2002). The inflammatory aspect of the microcirculation in hypertension: oxidative stress, leukocytes/endothelial interaction, apoptosis. *Microcirculation*, 9(4), 259-276.
103. Lien, Y. C., Kung, H. N., Lu, K. S., Jeng, C. J., & Chau, Y. P. (2008). Involvement of endoplasmic reticulum stress and activation of MAP kinases in b-lapachone-induced human prostate cancer cell apoptosis. *Histology and histopathology*.
104. Bonomini, F., Tengattini, S., Fabiano, A., Bianchi, R., & Rezzani, R. (2008). Atherosclerosis and oxidative stress. *Histology and histopathology*.
105. Locatelli, F., Pozzoni, P., Tentori, F., & Del Vecchio, L. (2003). Epidemiology of cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(suppl_7), vii2-vii9.
106. Leiva, E., Mujica, V., Sepúlveda, P., Guzmán, L., Núñez, S., Orrego, R., Arredondo, M. A. (2013). High levels of iron status and oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *Biological trace element research*, 151(1), 1-8.

107. Niki, E. (2009). Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(5), 469-484.
108. Poon, H. F., Calabrese, V., Scapagnini, G., & Butterfield, D. A. (2004). Free radicals and brain aging. *Clinics in geriatric medicine*, 20(2), 329-359.
109. Huff, L. A., Yan, S., & Clemens, M. G. (2021). Mechanisms of Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Control in the DNA Damage Response to Oxidative Stress, Epigenetic Regulation, and Persistent Innate Immune Suppression Following Sepsis. *Antioxidants*, 10(7), 1146.
110. Estévez, M., & Xiong, Y. (2019). Intake of oxidized proteins and amino acids and causative oxidative stress and disease: recent scientific evidences and hypotheses. *Journal of food science*, 84(3), 387-396.
111. Aydemir, B., & Sarı, E. K. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(2), 56-60.
112. Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
113. Akbay, G. D., & Pekcan, A. G. (2016). Zerdeçal: Beslenme ve Sağlık Yönünden Değerlendirilmesi. *Beslenme ve Diyet* Poon, H. F., Calabrese, V., Scapagnini, G., & Butterfield, D. A. (2004). Free radicals and brain aging. *Clinics in geriatric medicine*, 20(2), 329-359.
114. Lestari, M. L., & Indrayanto, G. (2014). *Curcuim. Profiles Drug Subst. Excip. Relat. Methodol*, 39, 113-204. doi: 10.1016. B978-0-12-800173-8.00003-9.
115. Goel, A., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin as “Curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochemical pharmacology*, 75(4), 787-809.
116. Shoba, G., Joy, D., Joseph, T., Majeed, M., Rajendran, R., & Srinivas, P. S. S. R. (1998). Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta medica*, 64, 353-356.
117. Metzler, M., Pfeiffer, E., Schulz, S. I., & Dempe, J. S. (2013). Curcumin uptake and metabolism. *Biofactors*, 39(1), 14-20.
118. Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular pharmaceutics*, 4(6), 807-818.
119. Sugiyama, Y., Kawakishi, S., & Osawa, T. (1996). Involvement of the β -diketone moiety in the antioxidative mechanism of tetrahydrocurcumin. *Biochemical pharmacology*, 52(4), 519-525.
120. Iñiguez, M. A., Rodríguez, A., Volpert, O. V., Fresno, M., & Redondo, J. M. (2003). Cyclooxygenase-2: a therapeutic target in angiogenesis. *Trends in molecular medicine*, 9(2), 73-78.

121. FitzGerald, G. A., & Ricciotti, E. (2011). Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31(5), 986-1000.
122. Koeberle, A., Northoff, H., & Werz, O. (2009). Curcumin blocks prostaglandin E2 biosynthesis through direct inhibition of the microsomal prostaglandin E2 synthase-1. *Molecular cancer therapeutics*, 8(8), 2348-2355.
123. Bezáková, L., Košťálová, D., Obložinský, M., Hoffman, P., Pekárová, M., Kollárová, R., & Sturdík, E. (2014). Inhibition of 12/15 lipoxygenase by curcumin and an extract from *Curcuma longa* L. *Ceska a Slovenska farmacie: casopis Ceske farmaceuticke spolocnosti a Slovenske farmaceuticke spolocnosti*, 63(1), 26-31.
124. Ben P, Liu J, Lu C, et al. Curcumin promotes degradation of inducible nitric oxide synthase and suppresses its enzyme activity in RAW 264.7 cells. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(2):179-186.
125. Marquardt, J. U., Gomez-Quiroz, L., Camacho, L. O. A., Pinna, F., Lee, Y. H., Kitade, M., Thorgeirsson, S. S. (2015). Curcumin effectively inhibits oncogenic NF- κ B signaling and restrains stemness features in liver cancer. *Journal of hepatology*, 63(3), 661-669.
126. Aggarwal BB, Gupta SC, Sung B. Curcumin: An orally bioavailable blocker of TNF and other pro-inflammatory biomarkers. *Br J Pharmacol*. 2013;169(8):1672-1692.
127. Menon, V. P., & Sudheer, A. R. (2007). Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*, 105-125.
128. Balogun, E., Hoque, M., Gong, P., Killeen, E., Green, C. J., Foresti, R., (2003). Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element. *Biochemical Journal*, 371(3), 887-895.
129. Ak, T., & Gülçin, İ. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-biological interactions*, 174(1), 27-37.
130. Arbiser JL, Klauber N, Rohan R, et al. Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Mol Med*. 1998;4(6):376-383.
131. Fu Z, Chen X, Guan S, Yan Y, Lin H, Hua ZC. Curcumin inhibits angiogenesis and improves defective hematopoiesis induced by tumor-derived VEGF in tumor model through modulating VEGF-VEGFR2 signaling pathway. *Oncotarget*. 2015;6(23):19469-19482.
132. Shao ZM, Shen ZZ, Liu CH, et al. Curcumin exerts multiple suppressive effects on human breast carcinoma cells. *Int J Cancer*. 2002;98(2):234-240.
133. Shanmugam, M. K., Rane, G., Kanchi, M. M., Arfuso, F., Chinnathambi, A., Zayed, M. E., & Sethi, G. (2015). The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. *Molecules*, 20(2), 2728-2769.

134. Ogiwara H, Ui A, Shiotani B, Zou L, Yasui A, Kohno T. Curcumin suppresses multiple DNA damage response pathways and has potency as a sensitizer to PARP inhibitor. *Carcinogenesis*. 2013;34(11):2486-2497.
135. Wang JB, Qi LL, Zheng SD, Wu TX. Curcumin induces apoptosis through the mitochondria-mediated apoptotic pathway in HT-29 cells. *J Zhejiang University Science B*. 2009;10(2):93-102.
136. Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular pharmacology*, 4(6), 807-818.
137. Metzler, M., Pfeiffer, E., Schulz, S. I., & Dempe, J. S. (2013). Curcumin uptake and metabolism. *Biofactors*, 39(1), 14-20.
138. Patil VM, Das S, Balasubramanian K. Quantum chemical and docking insights into bioavailability enhancement of curcumin by piperine in pepper. *The Journal of Physical Chemistry* 2016;120(20):3643-3653.
139. Taylor, C. L., Sempos, C. T., Davis, C. D., & Brannon, P. M. (2017). Vitamin D: moving forward to address emerging science. *Nutrients*, 9(12), 1308.
140. Greenway, A., & Zacharin, M. (2003). Vitamin D status of chronically ill or disabled children in Victoria. *Journal of paediatrics and child health*, 39(7), 543-547.
141. Autier, P., Mullie, P., Macacu, A., Dragomir, M., Boniol, M., Coppens, K., Boniol, M. (2017). Effect of vitamin D supplementation on non-skeletal disorders: a systematic review of meta-analyses and randomised trials. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 5(12), 986-1004.
142. Grover, S. R., & Morley, R. (2001). Vitamin D deficiency in veiled or dark-skinned pregnant women. *The Medical Journal of Australia*, 175(5), 251-252.
143. Allen, K. J., Panjari, M., Koplin, J. J., Ponsonby, A. L., Vuillermin, P., Gurrin, L. C., S. C. (2015). VITALITY trial: protocol for a randomised controlled trial to establish the role of postnatal vitamin D supplementation in infant immune health. *BMJ open*, 5(12).
144. Normanac, AW, Song, X., Zanello, L., Bula, C. ve Okamura, WH (1999). Hızlı ve genomik biyolojik yanıtlara, agonist steroid hormonu, 1 α , 25 (OH) 2vitamin D₃'ün farklı şekilleri aracılık eder. *Steroidler* , 64 (1-2), 120-128.
145. Christakos, S., Seth, T., Hirsch, J., Porta, A., Moulas, A. ve Dhawan, P. (2013). D vitamini biyolojisi, transgenik fare modellerinin araştırılmasıyla ortaya çıkarıldı. *Yıllık beslenme incelemesi* , 33 , 71-85.
146. Holick MF. Vitamin D: A millenium perspective. *J. Cell. Biochem*. 2003;88(2):296-307.
147. Fong, J. ve Khan, A. (2012). Hipokalsemi: birinci basamak için tanı ve yönetimde güncellemeler. *Kanadalı aile hekimi* , 58 (2), 158-162.

148. DeLuca, H. F. (2008). Evolution of our understanding of vitamin D. *Nutrition reviews*, 66(suppl_2), S73-S87.
149. Omdahl, J. L., Morris, H. A., & May, B. K. (2002). Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation. *Annual review of nutrition*, 22(1), 139-166.
150. Zella LA, Shevde NK, Hollis BW, Cooke NE, Pike JW. (2008). Vitamin D-binding protein influences total circulating levels of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ but does not directly modulate the bioactive levels of the hormone in vivo. *Endocrinology*;149(7):3656-67.
151. Shimada, T., Kakitani, M., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Takeuchi, Y., Fujita, T., T. (2004). Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *The Journal of clinical investigation*, 113(4), 561-568.
152. Tripkovic, L., Lambert, H., Hart, K., Smith, C. P., Bucca, G., Penson, S., Lanham-New, S. (2012). Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 95(6), 1357-1364.
153. Noda, J. ve Ljungström, E. (2002). Doymamış alkollerin NO₃ oksidasyonu ile bağlantılı olarak aerosol oluşumu. *Atmosferik Ortam* , 36 (3), 521-525.
154. Parsons, A., Daley, A., Begh, R., & Aveyard, P. (2010). Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. *Bmj*, 340.
155. Norat, T., Aune, D., Chan, D., & Romaguera, D. (2014). Fruits and vegetables: updating the epidemiologic evidence for the WCRF/AICR lifestyle recommendations for cancer prevention. *Advances in nutrition and cancer*, 35-50.
156. Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M. C., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S. F., (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of nutrition*, 132(3), 461-471.
157. Norberto, S., Silva, S., Meireles, M., Faria, A., Pintado, M., & Calhau, C. (2013). Sağlığın teşviki ve geliştirilmesinde yaban mersini antosiyaninleri: Metabolik bir genel bakış. *Fonksiyonel Gıdalar Dergisi* , 5 (4), 1518-1528.
158. Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48(10), 4581-4589.
159. Hayden, M. R., & Tyagi, S. C. (2004). Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle. *Nutrition & metabolism*, 1(1), 1-15.

160. Tulipani, S., Armeni, T., Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J. M., Gonzalez-Paramás, A. M., Santos-Buelga, (2014). Strawberry intake increases blood fluid, erythrocyte and mononuclear cell defenses against oxidative challenge. *Food chemistry*, 156, 87-93.
161. Lobo de Sá, F. D., Butkevych, E., Natramilarasu, P. K., Fromm, A., Mousavi, S., Moos, V., (2019). Curcumin mitigates immune-induced epithelial barrier dysfunction by *Campylobacter jejuni*. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4830.
162. Shen, S. Q., Zhang, Y., Xiang, J. J., & Xiong, C. L. (2007). Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *World journal of gastroenterology: World Journal of Gastroenterology*, 13(13), 1953.
163. Jin, R. C., & Loscalzo, J. (2010). Vascular nitric oxide: formation and function. *Journal of blood medicine*, 1, 147.
164. Zhen, J., Lu, H., Wang, X. Q., Vaziri, N. D., & Zhou, X. J. (2008). Upregulation of endothelial and inducible nitric oxide synthase expression by reactive oxygen species. *American journal of hypertension*, 21(1), 28-34.
165. Vaziri, N. D., & Wang, X. Q. (1999). cGMP-mediated negative-feedback regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by nitric oxide. *Hypertension*, 34(6), 1237-1241.
166. Kellner, C., & Zunino, S. J. (2004). Nitric oxide is synthesized in acute leukemia cells after exposure to phenolic antioxidants and initially protects against mitochondrial membrane depolarization. *Cancer letters*, 215(1), 43-52.
167. Leiper, J., & Vallance, P. (1999). Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovascular research*, 43(3), 542-548.
168. Antoniadou, C., Shirodaria, C., Leeson, P., Antonopoulos, A., Warrick, N., Van-Asche, T., (2009). Association of plasma asymmetrical dimethylarginine (ADMA) with elevated vascular superoxide production and endothelial nitric oxide synthase uncoupling: implications for endothelial function in human atherosclerosis. *European heart journal*, 30(9), 1142-1150.
169. Cooke, J. P. (2005). ADMA: its role in vascular disease. *Vascular Medicine*, 10(1_suppl), S11-S17.
170. Böger, R. H., Maas, R., Schulze, F., & Schwedhelm, E. (2005). Elevated levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a marker of cardiovascular disease and mortality. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 43(10), 1124-1129.
171. BUĞDAYCI, G., & SERİN, E. Asimetrik Dimetilarginin (ADMA). *Duzce Medical Journal*, 7(2), 36-41.
172. Hanai, H., Iida, T., Takeuchi, K., Watanabe, F., Maruyama, Y., Andoh, A., Koide, Y. (2006). Curcumin maintenance therapy for ulcerative colitis: randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4(12), 1502-1506.

173. Olmedo-Martín, R. V., González-Molero, I., Oliveira, G., Amo-Trillo, V., & Jiménez-Pérez, M. (2019). Vitamin D in Inflammatory Bowel Disease: Biological, Clinical and Therapeutic Aspects. *Current drug metabolism*, 20(5), 390-398.
174. Lim, S., McMahon, C. D., Matthews, K. G., Devlin, G. P., Elston, M. S., & Conaglen, J. V. (2018). Absence of myostatin improves cardiac function following myocardial infarction. *Heart, Lung and Circulation*, 27(6), 693-701.
175. Frangogiannis, N. G. (2014). The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling. *Nature Reviews Cardiology*, 11(5), 255-265.
176. Bełtowski, J. (2006). Apelin and visfatin: unique. *Medical Science Monitor*, 12(6), RA112-RA119.
177. Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigné, C., Mazzucotelli, A., (2005). Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4), 1764-1771.
178. Caponnetto, S., Iannantuono, G. M., Barchiesi, G., Magri, V., Gelibter, A., & Cortesi, E. (2017). Prolactin as a potential early predictive factor in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab. *Oncology*, 93(1), 62-66.
179. Puglisi, M., Dolly, S., Faria, A., Myerson, J. S., Popat, S., & O'brien, M. E. R. (2010). Treatment options for small cell lung cancer—do we have more choice?. *British journal of cancer*, 102(4), 629-638.
180. Richman, E., & Rhodes, J. M. (2013). evidence-based dietary advice for patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 38(10), 1156-1171.
181. Emsley, H. C., Smith, C. J., Tyrrell, P. J., & Hopkins, S. J. (2008). Inflammation in acute ischemic stroke and its relevance to stroke critical care. *Neurocritical care*, 9(1), 125-138.
182. Ulitsky, A., Ananthakrishnan, A. N., Naik, A., Skaros, S., Zadvornova, Y., Binion, D. G., & Issa, M. (2011). Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 35(3), 308-316.



EKLER

EK - 1. Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 25/11/2020
TOPLANTI NO : 2020-19
DOSYA NO : 2020-128
KARAR NO : 2020-18-160

Yürürlüğe konulan Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr.Aysun HACIŞEVKİ'nin yaptığı, araştırmacı olarak Uz.Veteriner Hekim H. Atilla İŞGÖREN, Dr. Öğr. Üyesi Burcu BABA ve Dyt. Derya TETİK'in katıldığı "Kurkumin ve D vitamininin Apelinergic Sistem Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı çalışma Kurulumuzca değerlendirilmiş ve söz konusu çalışmanın Üniversite senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi" ne göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sığır
Hayvan Sayısı : 42
Geçerlilik Süresi : 01/01/2021-01/07/2021

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof. Dr. Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	

EK - 1. (devam) Etik Kurul Onay Formu

Doç. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Doç. Dr. Halit KANCA (Üye)	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Dr. Vet. Hek. Nigar YERLİKAYA (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	K	
Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Uzm. Vet. Hek. Atilla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	Oylamaya katılmadı
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı :TETİK, Derya
Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (Ecz) ABD	Devam ediyor
Lisans	Başkent Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Fakültesi, 2017 Beslenme ve Diyetetik Bölümü	

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2012-devam ediyor	Ankara Üniversitesi	İdari Personel

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

-

Hobiler

Fotoğrafçılık, yemek yapmak, film izlemek



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...

