

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**SIÇANLARDA DENEYSEL HİPERTANSİYON MODELİNDE RUTİN'İN
CHEMERİN VE eNOS EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Zafer TALAYHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tuba PARLAK AK

TUNCELİ – 2024

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA DENEYSEL HİPERTANSİYON MODELİNDE RUTİN'İN
CHEMERİN VE eNOS EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Zafer TALAYHAN
(190090011)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tuba PARLAK AK

TUNCELİ – 2024

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA DENEYSEL HİPERTANSİYON MODELİNDE RUTİN'İN
CHEMERİN VE eNOS EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ**

**Zafer TALAYHAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 25/ 01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza

Doç. Dr. Burcu GÜL
(Fırat Üniversitesi)

BAŞKAN

İmza

Doç. Dr. Tuba PARLAK AK
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza

Doç. Dr. Ebru İfakat
ÖZCAN
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, Şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

25/01/2024

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Zafer TALAYHAN

Danışman
Doç. Dr. Tuba PARLAK AK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca, beni engin bilgi ve tecrübeleri ile yönlendiren danışman hocam Doç. Dr. Tuba PARLAK AK'a,

Laboratuvar analizlerinin yapılması için sağladıkları imkânlardan ötürü Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mine YAMAN'a

Hayatıma girdiği ilk andan itibaren beni daima destekleyen canım eşim Büşra Nur TALAYHAN'a teşekkür ederim.

Zafer TALAYHAN
TUNCELİ-2024



İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IV
TABLolar LİSTESİ.....	V
RESİMLER LİSTESİ.....	VI
SEMBOLLER LİSTESİ.....	VII
KISALTMALAR LİSTESİ.....	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kan Basıncı ve Hipertansiyon.....	3
2.1.1. Böbrek aktivitesi.....	4
2.1.2. Hipertansiyonun klinik önemi.....	5
2.1.3. Hipertansiyon patogenezi.....	5
2.1.4. NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME).....	6
2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	7
2.2.1. Rutin.....	8
2.3. Adipokinler.....	9
2.3.1. Chemerin.....	9
3. MATERYAL VE METOD.....	12
3.1. Deney Hayvanı.....	12
3.2. Kimyasallar.....	12
3.3. Çalışma Düzeni.....	12
3.4. Kan Basıncının Ölçülmesi.....	13
3.5. Doku Örneklerinin Toplanması.....	14
3.6. Histopatolojik Değerlendirme.....	14
3.7. İmmünohistokimyasal Boyama.....	15
3.8. İstatistiksel Analiz.....	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	17
4.1. Canlı Ağırlık Bulguları.....	17
4.2. Ortalama Sistolik Kan Basıncı Bulguları.....	17
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	17
4.3.1. Böbrek dokusuna ait histopatolojik bulgular.....	17
4.3.2. Aorta dokusuna ait histopatolojik bulgular.....	22
4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	27
4.4.1. Böbrek dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular.....	27
4.4.1.1. CMKLR1 ekspresyonu.....	27
4.4.1.2. eNOS ekspresyonu.....	30
4.4.2. Aorta dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular.....	33
4.4.2.1. CMKLR1 ekspresyonu.....	33
4.4.2.2. eNOS ekspresyonu.....	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
6. KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Rutin'in kimyasal yapısı	9
Şekil 2.2. Chemerin'in metabolik etkileri	10
Şekil 4.1. Kontrol grubu böbrek dokusunda normal histolojik görünüm.....	19
Şekil 4.2. Rutin grubu böbrek dokusunda normal histolojik görünüm	19
Şekil 4.3. L-NAME grubu böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler	20
Şekil 4.4. L-NAME grubu böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler	20
Şekil 4.5. L-NAME grubu böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler	21
Şekil 4.6. L-NAME+Rutin grubu böbrek dokusunda hafif histopatolojik değişiklikler.....	21
Şekil 4.7. Kontrol grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm.....	23
Şekil 4.8. Kontrol grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm.....	23
Şekil 4.9. Rutin grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm	24
Şekil 4.10. Rutin grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm	24
Şekil 4.11. L-NAME grubu aorta dokusunda histopatolojik değişiklikler.....	25
Şekil 4.12. L-NAME grubu aorta duvar kalınlığında artış.....	25
Şekil 4.13. L-NAME+Rutin grubu aorta dokusunda hafif histopatolojik değişiklikler.....	26
Şekil 4.14. L-NAME+Rutin grubu aorta duvar kalınlığında azalış	26
Şekil 4.15. Kontrol grubu böbrek dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi.....	28
Şekil 4.16. Rutin grubu böbrek dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi	28
Şekil 4.17. L-NAME grubu böbrek dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi.....	29
Şekil 4.18. L-NAME+Rutin grubu böbrek dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi.....	29
Şekil 4.19. Negatif kontrol böbrek dokusu.....	30
Şekil 4.20. Kontrol grubu böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi.....	31
Şekil 4.21. Rutin grubu böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi	31
Şekil 4.22. L-NAME grubu böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi	32
Şekil 4.23. L-NAME+Rutin grubu böbrek dokusunda eNOS imünoreaktivitesi	32
Şekil 4.24. Negatif kontrol böbrek dokusu.....	33
Şekil 4.25. Kontrol grubu aorta dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi.....	35
Şekil 4.26. Rutin grubu aorta dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi.....	35
Şekil 4.27. L-NAME grubu aorta dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi.....	36
Şekil 4.28. L-NAME+Rutin grubu aorta dokusunda CMKLR-1 immünoreaktivitesi.....	36
Şekil 4.29. Negatif kontrol aorta dokusu.....	37
Şekil 4.30. Kontrol grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi.....	38
Şekil 4.31. Rutin grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi	38
Şekil 4.32. L-NAME grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi.....	39
Şekil 4.33. L-NAME+Rutin grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi	39
Şekil 4.34. Negatif kontrol aorta dokusu.....	40

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. 18 yaş ve üstündeki erişkinler için kan basıncı sınıflandırılması	4
Tablo 3.1. %10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunun hazırlanması	15
Tablo 4.1. Çalışma gruplarına ait ortalama sistolik kan basıncı değerleri.....	17
Tablo 4.2. L-NAME indüklü hipertansiyonda böbrek dokusundaki histopatolojik değişiklikler üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması	18
Tablo 4.3. L-NAME indüklü hipertansiyonda aorta dokusundaki histopatolojik değişiklikler üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması	22
Tablo 4.4. L-NAME indüklü hipertansiyonda böbrek dokusundaki CMKLR1 immünoreaktivitesi üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması.....	27
Tablo 4.5. L-NAME indüklü hipertansiyonda böbrek dokusundaki eNOS immünoreaktivitesi üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması	30
Tablo 4.6. L-NAME indüklü hipertansiyonda aorta dokusundaki CMKLR1 immünoreaktivitesi üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması.....	34
Tablo 4.7. L-NAME indüklü hipertansiyonda aorta dokusundaki eNOS immünoreaktivitesi üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması	37

RESİMLER LİSTESİ

Resim 3.1. Sıçanların canlı ağırlıklarının tartılarak kaydedilmesi.....	13
Resim 3.2. Sıçanların kuyruk veninden non-invaziv kan basıncı ölçümü.....	14



SEMBOLLER LİSTESİ

%	: Yüzde
<	: Küçük
>	: Büyük
±	: Yaklaşık olarak
≤	: Küçük eşit
≥	: Büyük eşit
BW	: Vücut ağırlığı
°C	: Derece santigrat
g	: Gram
H⁺	: Hidrojen
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mmHg	: Milimetre civa
Na	: Sodyum
O₂	: Oksijen
p	: Anlamlılık
pg	: Pikogram
pH	: Tampon çözelti
µm	: Mikrometre

KISALTMALAR LİSTESİ

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
A-I	: Anjiyotensin-I
A-II	: Anjiyotensin-II
CMKLR 1	: Chemerin Kemokin Reseptörü 1
DKB	: Diyastolik Kan Basıncı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
ESC	: Avrupa Kardiyoloji Derneği
ESH-ESC	: Avrupa Hipertansiyon Derneği–Avrupa Kardiyoloji Derneği
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
H&E	: Hematoksilen-Eozin
iNOS	: İndüklenebilir Nos
L-NAME	: Nε-Nitro-L-Arjinin Metil Ester
L-NNA	: NG-Nitro-L-Arjinin
MÜDAM	: Munzur Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
MÜHADYEK	: Munzur Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Na	: Sodyum
NAD(P)H	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NF- κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
OKB	: Ortalama Kan Basıncı
RAAS	: Renin-Anjiyotensin-Aldostreon Sistemi
RARRES2	: Retinoik Asit Reseptörü Yanıtlayıcı Protein 2
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RVH	: Renovasküler Hipertansiyon
SKB	: Sistolik Kan Basıncı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör-α

ÖZET

Bu çalışma, NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ile oluşturulan deneysel hipertansiyon modelinde Rutin'in Chemerin (Chemerin chemokine-receptor 1-CMKLR1) ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonları üzerine etkisinin araştırılmasını amaçlamıştır.

Araştırmada, erişkin 28 adet Sprague-Dawley erkek sıçan her grupta 7'şer adet olmak üzere seçilip toplam 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna; 21 gün boyunca günlük 0.5 ml zeytinyağı oral gavajla verildi. L-NAME grubuna; 21 gün boyunca günlük 50 mg/kg/BW dozunda L-NAME zeytinyağı ile birlikte oral gavajla verildi. L-NAME+Rutin grubuna; 21 gün boyunca günlük 50 mg/kg/BW dozunda L-NAME zeytinyağı ile birlikte ve akabinde 100 mg/kg/BW dozunda Rutin distile suyla süspanse hale getirilerek oral gavajla verildi. Rutin grubuna; 21 gün boyunca günlük 100 mg/kg/BW dozunda Rutin distile suyla süspanse hale getirilerek oral gavajla uygulandı.

Tüm sıçanların çalışmanın 0., 7., 14. ve 21. günlerinde ölçülen kan basıncı değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlendi ($p<0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanların sistolik kan basıncı (SKB) değerlerinde önemli bir artış olduğu ($p<0.05$) tespit edildi. L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubunda ise SKB değerlerinde anlamlı bir azalış olduğu ($p<0.05$) belirlendi. Kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokularında belirgin histopatolojik değişiklikler tespit edilirken, L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubunda bu değişikliklerin hafiflediği belirlendi. Kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokusunda artmış CMKLR1 ve azalmış eNOS immünoreaktiviteleri saptanırken ($p<0.05$), L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubunda azalmış CMKLR1 ve artmış eNOS immünoreaktiviteleri dikkati çekti ($p<0.05$).

Sonuç olarak, Rutin'in deneysel hipertansiyon modelinde Chemerin ve eNOS immünoreaktiviteleri üzerine düzenleyici etkilerinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hipertansiyon, rutin, chemerin, eNOS, sıçan

ABSTRACT

Effect of Rutin on Chemerin and eNOS Expressions in an Experimental Hypertension Model in Rats

This study aimed to investigate the effect of Rutin on Chemerin (Chemerin chemokine-receptor 1-CMKLR1) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expressions in the experimental hypertension model created with NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME).

In the study, 28 adult Sprague-Dawley male rats were selected, 7 in each group, and divided into a total of 4 groups. Control group; 0.5 ml of olive oil was given daily by oral gavage for 21 days. L-NAME group; L-NAME was given by oral gavage together with olive oil at a daily dose of 50 mg/kg/BW for 21 days. L-NAME+Rutin group; L-NAME was given together with olive oil at a daily dose of 50 mg/kg/BW for 21 days, and subsequently Rutin at a dose of 100 mg/kg/BW was suspended in distilled water and given by oral gavage. Rutin group; Rutin at a daily dose of 100 mg/kg/BW was suspended in distilled water and administered by oral gavage for 21 days.

A significant difference was determined between the groups in terms of blood pressure values of all rats measured on the 0th, 7th, 14th and 21st days of the study ($p<0.05$). It was determined that there was a significant increase ($p<0.05$) in the systolic blood pressure (SBP) values of the L-NAME group rats compared to the control group. It was determined that there was a significant decrease in MBP values in the L-NAME+Rutin group compared to the L-NAME group ($p<0.05$). While significant histopathological changes were detected in the kidney and aorta tissues of L-NAME group rats compared to the control group, these changes were found to be attenuated in the L-NAME+Rutin group compared to the L-NAME group. While increased CMKLR1 and decreased eNOS immunoreactivities were detected in the kidney and aorta tissues of L-NAME group rats compared to the control group ($p<0.05$), decreased CMKLR1 and increased eNOS immunoreactivities were noted in the L-NAME+Rutin group compared to the L-NAME group ($p<0.05$).

As a result, it was concluded that Rutin had regulatory effects on Chemerin and eNOS immunoreactivities in the experimental hypertension model.

Keywords: Hypertension, rutin, chemerin, eNOS, rat.

1. GİRİŞ

Yakın geçmişte birbirinden ayrı sağlık problemleri olarak bilinen hipertansiyon, diabetes mellitus (DM), dislipidemi, diabetik ve/veya hipertansif nefropati, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların artık birbirleriyle sıkı bir ilişki halinde olduğu bilinmektedir. Bahsedilen bu problemlerin tamamında esas rolün aslında vasküler sistemde yer aldığı ortaya konulduğundan dolayı uygulanacak tedavi stratejileri de vasküler patolojiyi düzeltmeye yönelik olmaktadır (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006).

Bu hastalıkların içinde yer alan hipertansiyon; beyin, kalp ve böbrekler üzerindeki hedef etkileri nedeniyle kardiyovasküler problemlere bağlı mortalite ve morbidite durumları açısından hayati bir risk faktörü olmaktadır. Mikrodolaşımdaki yapısal farklılıklar, hipertansiyon ile hedef organ hasarı arasındaki asıl ilişkiyi oluşturmaktadır. Oksidatif stres, inflamasyon veya endotel disfonksiyonu gibi diğer mekanizmaların hedef organ hasarının patogenezinde kilit bir göreve sahip olduğu ve bu nedenle tedavi için önemli birer aşamayı oluşturdukları bilinmektedir (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006).

İnsan ve hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen klinik ve deneysel çalışmalarda hipertansiyonun oksidatif stres oluşumuna katkı sunduğu, benzer şekilde oksidatif stresin de hipertansiyon oluşumuna sebep olduğu belirtilmiştir (Özaras ve ark., 1998; Hamilton ve ark., 2001, Hamilton ve ark., 2002; Sainz ve ark., 2005). Birçok araştırmada da arteriyel hipertansiyon patogenezinde oksidatif stresin rol oynadığı kanıtlanmıştır (Chan ve ark., 2006; Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006; Fiordaliso ve ark., 2006).

Hipertansiyon, reaktif oksijen radikallerinin artışı ile ilişkili bir durum olarak tanımlanmaktadır. Reaktif oksijen radikallerinin esas kaynağı ise nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NAD(P)H) oksidaz, ksantin oksidaz, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve mitokondriyal solunum zinciri olarak bilinmektedir (Hamilton ve ark., 2001, Hamilton ve ark., 2002; Sainz ve ark., 2005; Chan ve ark., 2006; Fiordaliso ve ark., 2006). Glutasyonun tükenmesiyle beraber reaktif oksijen radikalleri düzeylerindeki artışın hipertansiyona neden olabileceği ifade edilmektedir. Bununla birlikte bazı antioksidan bileşiklerin artmış reaktif oksijen radikalleri seviyeleri ile bağlantılı endotelial disfonksiyonu iyileştirdikleri ve hipertansiyon oluşturulan sıçan modellerinde kan basıncını azalttıkları bilinmektedir (Özaras ve ark., 1998; Hamilton ve ark., 2001, Hamilton ve ark., 2002; Sainz ve ark., 2005; Chan ve ark., 2006; Fiordaliso ve ark., 2006; Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006). Serbest oksijen radikalleri ve antioksidan enzimlerin ise

nörolojik temelli sorunların etiopatogenezindeki etkileri gerçekleştirilen deneysel ve klinik çalışmalarla belirlenmiştir (Kurusaki ve ark., 2005; Modi ve Lowder, 2006).

Toplumda yüksek prevalansa sahip hipertansiyonun tedavisinde flavanoidler gibi potansiyel yararlı bileşenler önemli araştırma hedefleri arasında yer almaktadır. Son yıllarda dolaşımın düzenlenmesinde rol oynayabilecek regülatör peptidlerin varlığı dikkati çekmiş ve bu peptidlerin mekanizmalarını ve salınımlarını etkileyen faktörlerin tam olarak anlaşılmasının hipertansiyon da dahil olmak üzere metabolik bozuklukların tanı ve tedavisinde yeni olanaklar sağlayabileceği iddia edilmiştir. Fakat peptidler ve metabolik hastalıklar arasındaki ilişkinin altında yatan spesifik mekanizmayı aydınlatmak için daha fazla çalışmaya gereksinim bulunmaktadır. Dolayısıyla hipertansiyonu oluşturan faktörlerin daha iyi anlaşılabilmesi için bazı peptidlerin moleküler karakterizasyonu, hücresel sinyal yolları ve düzenleme kapasitelerinin daha kapsamlı araştırılmasına ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Sunulan tez çalışması ile sıçanlarda oluşturulan deneysel hipertansiyon modelinde Rutin'in böbrek ve aorta dokusundaki Chemerin ve eNOS ekspresyonları üzerine etkilerini araştırmayı amaçlayarak bu alanda gerçekleştirilecek deneysel ve klinik araştırmalara katkı sağlanması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kan Basıncı ve Hipertansiyon

Kan basıncı, damar içerisinde bulunan kanın damar duvarına yapmış olduğu basınç olarak tanımlanmaktadır. Bu basınç, periferik ve merkezi nöral mekanizmalarla beraber vasküler faktörlerin yanı sıra kısa ve uzun vadeli kontrol mekanizmaları olmak üzere birçok ölçünün beraber çalışmasıyla düzenlenmektedir (Pacurari ve ark., 2014). Kardiyovasküler sistemin yanı sıra renal ve endokrin sistemlerin kontrolü ile düzenlenen kan basıncının, uzun süre yüksek değerlerde bulunması zamanla bazı organlara hasar vermektedir. Bu organlardan özellikle kalp, böbrek, göz ve kan damarları yüksek kan basıncından oldukça fazla etkilenmektedir (Preston ve ark., 2014; Guyton and Hall, 2013). Kan basıncının normal değerlerinden yüksek çıkması ise kronik hipertansiyona yol açmaktadır (Lan ve ark., 2015).

Yüksek kan basıncı bir diğer deyişle hipertansiyon ortalama arter basıncının referans değerinin üzerinde olması olarak tanımlanmaktadır (URL-1, 2024). Kan basıncı genellikle sistolik ve diyastolik basınç olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır. Kanın, kalp kasıldığı anda damar duvarına yaptığı basınç olarak bilinen sistolik kan basıncı (SKB) yaşın ilerlemesiyle birlikte artış göstermektedir. Diyastolik kan basıncı (DKB) ise bir sonraki kasılmadan önce gevşeme esnasındaki basınç olarak tanımlanmaktadır (Önder ve Akıllı, 1998). Yetişkinlerde kan basıncı değerlerinin sınıflandırılması için ESH-ESC (European Society of Hypertension - European Society of Cardiology: ESH-ESC)'nin 2013 yılındaki klavuzları kriter olarak kabul edilmektedir (Mancia ve ark., 2013). İnsanlarda optimal değerler SKB/DKB için 120/80 mm Hg kabul edilmesine rağmen normal değerler 130/85 mm Hg olarak bilinmektedir. 18 yaş ve üstü erişkin bireylerde tekrarlanan arteriyel kan basıncı ölçümleri sonucunda SKB'nın 140 mmHg, DKB'nın 90 mmHg değerlerinden daha yüksek olduğu durum hipertansiyon olarak tanımlanmaktadır (Tablo 2.1) (URL-2, 2024).

Genel hipertansiyon birçok mekanizmanın sebep olduğu heterojen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Yüksek kan basıncı, temelde primer ve sekonder hipertansiyon olarak iki kısma ayrılmaktadır. Hipertansiyon vakalarının yaklaşık % 95'ini primer (birincil), geriye kalan kısmını ise sekonder (ikincil) hipertansiyon olguları

oluşturmaktadır. Sekonder hipertansiyon sebepleri içerisinde yer alan kronik böbrek yetmezliği ise klinikte oldukça önem arz etmektedir (Schocken ve ark., 2008).

Tablo 2.1. 18 yaş ve üstü yetişkinler için kan basıncı sınıflandırılması (URL-2, 2024).

Gruplar	Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	Diastolik Kan Basıncı (mmHg)
İdeal (optimal)	<120	<80
Normal	120-129.9	80-84.9
Yüksek Normal	130-139.9	85-89.9
Evre 1 Hipertansiyon	140-159.9	90-99.9
Evre 2 Hipertansiyon	160-179.9	100-109.9
Evre 3 Hipertansiyon	≥180	≥110
İzole Sistolik Hipertansiyon	≥140	<90

2.1.1. Böbrek aktivitesi

Böbreğin kan basıncının ve sıvı-elektrolit dengesinin kontrol edilmesinde anahtar bir görevi bulunmaktadır. Bundan dolayı böbrek disfonksiyonu vücutta su ve sodyum tutulmasına, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminde (RAAS) dengesizliklere neden olarak hipertansiyona yol açmaktadır (Pacurari ve ark., 2014). RAAS kaskadı karaciğerden salgılanan bir protein olan anjiyotensinojen ile başlamaktadır. Böbreklerden salgılanan renin enzimi bu substratı anjiyotensin I'ye (A-I) dönüştürmektedir. A-I daha sonra anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) yolu ile anjiyotensin II'ye (A-II) çevrilerek A-II reseptörlerine bağlanmaktadır. Bunun neticesinde vazokonstriksiyon yoluyla kan basıncı artmakta, renal tubuler ve glomerüler fonksiyon değişmekte, kalpte hipertrofi, fibrozis ve vazokonstriksiyon ortaya çıkmaktadır (Hall ve Hall, 2020).

Gerçekleştirilen böbrek transplantasyon çalışmalarında böbreğin tuz tutucu karakteristiğinin hipertansiyon oluşumunda anahtar bir rol aldığı ve bu kalıtsal defektin böbrek tubulus hücrelerinde gözlendiği ortaya koyulmuştur. Bununla beraber, renal sodyum atılım bozukluğunun yanı sıra renin ve nefron heterojenliği, nefron sayısının azlığına bağlı basınç natriürezisinin yeniden ayarlanmasının ve genetik mekanizmaların da hipertansiyon oluşumunda etkin rol oynadığı bilinmektedir (Kaplan, 1998). Hipertansiyonun süresi ve şiddeti ile eşlik eden metabolik bozukluklara bağlı olarak da

böbreklerdeki hem yapısal ve hem de işlevsel bozuklukların artabileceği ortaya konulmuştur (Özgen, 2010).

2.1.2. Hipertansiyonun klinik önemi

Hipertansiyon, etiolojisinde genetik etkenleri ve çevresel faktörleri barındıran, kalp-damar hastalıkları içerisinde en sık karşılaşılan heterojen, çok faktörlü bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Bu durum, dünya genelinde görülme sıklığının yüksek olması ve nihai organ hasarlarına yol açması sebebiyle büyük önem arz etmektedir (Monassier ve ark., 2006). Asemptomatik bir şekilde herhangi ciddi bir belirti oluşturmada başta böbrekler olmak üzere kalp ve diğer organlara mühim hasarlar verebilen bu hastalık kalp rahatsızlıklarına bağlı ölümlerin yaklaşık % 45'inden, felçe bağlı ölümlerin ise yaklaşık % 51'inden doğrudan sorumlu tutulmaktadır (Ünver ve ark., 2020). Bununla beraber ileri yaş, obezite, diyet alışkanlığı, fiziksel aktivite eksikliği ve diyabet gibi risk faktörleri ile hipertansiyon oluşumu arasında önemli bir korelasyonun bulunduğu bilinmektedir (Ventura ve Lavie, 2019).

Hipertansiyon sıklığının ayrıca ırksal ve bölgesel değişim gösterdiği bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri ve pek çok Avrupa ülkesinde yetişkin nüfusun yaklaşık % 25-30'unda hipertansiyon görüldüğü ifade edilmiştir (Ventura ve Lavie, 2019). Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması verilerine göre (URL-2 2024) ülkemizde yetişkin yaş grubunda hipertansiyon prevalansı % 31.8 olarak bildirilmiştir. Ayrıca, hipertansiyonlu hastaların sadece % 40.7'sinin hastalıklarının farkında olduğu tespit edilmiş, % 31.1'inin antihipertansif tedavi aldığı ve tedavi alanların sadece % 20.7'sinin kan basıncı değerlerinin kontrol altında tutulduğu rapor edilmiştir (Kılıçkap ve ark., 2018).

2.1.3. Hipertansiyon patogenezi

Hipertansiyon, önemli komplikasyonlara sebep olmasının yanı sıra toplumda fazla görülmesi nedeniyle öne çıkan bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilmektedir. Kalp, beyin ve böbrekler gibi önemli organlar üzerindeki etkileri nedeniyle kardiyovasküler problemlere bağlı mortalite ve morbidite açısından ciddi bir risk faktörü olan hipertansiyonun (Cohuet ve Struijker-Boudier, 2006) çok faktörlü temellere dayanan patogenezinde, sodyum (Na) hipotezi ve endotelyum disfonksiyonu en kabul edilen yaklaşımlar olarak bilinmektedir. Çevresel damar direnci artışıyla seyreden hipertansiyon,

nitrik oksit (NO) ve prostasiklin gibi endotelyum kaynaklı vazodilatatör sistemlerin zaafiyetiyle ilişkilendirilmektedir (Yılmaz ve ark., 1987). Çok güçlü bir vazodilatatör olan NO'nın arteriyel kan basıncı ile bölgesel kan akımının düzenlenmesinde anahtar rolü olduğu ve NO sentez ve/veya salınımının azalmasının hipertansiyon patogenezinin sorumlu tutulabileceği bildirilmektedir (Rochette ve ark., 2013).

NO organizmada, L-arjininin L-sitrüline dönüşümü esnasında ortaya çıkmakta ve bu reaksiyonu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi gerçekleştirmektedir. Tepkimeyi katalizleyen NOS'un tip 1 formu; nöronal NOS (nNOS), tip 2 indüklenbilir NOS (iNOS) ve tip 3 endotelial NOS (eNOS) üç izoformu bulunmaktadır. Ayrıca nNOS ve eNOS'a birlikte yapısal NOS da denilebilmektedir. Kalsiyuma bağımlı olan nNOS ve eNOS, sürekli olarak az miktarda sentezlenmektedir. Makrofajlar, miyositler, düz kas hücreleri ve hepatositlerde bulunan iNOS, bazı sitokinlerin uyarısıyla NO üretmektedir (Onat ve ark., 2002; Gürdöl ve Ademoğlu, 2005).

2.1.4. NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME)

Nitrik oksit, NOS enzimleri tarafından L-arjinin'den sentezlenmekte ve vazodilatasyona yol açarak kan basıncının düzenlenmesine aracılık etmektedir. Diğer taraftan, NG-nitro-L-arjinin (L-NNA) ve NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) gibi L-arjinin analoglarının NOS enzimlerinin kronik inhibisyonuna sebep olarak arteriyel kan basıncının artmasına ve hipertansiyon gelişmesine yol açtığı da bilinmektedir (Landmesser ve ark., 2003). Hipertansiyon çalışmalarında sıçan modellerinin sıkça tercih edilmesinden dolayı (Schwerg ve ark., 2017) L-NAME tarafından indüklenen hipertansiyon, yüksek memelilerde sıklıkla kullanılan bir model olarak bildirilmektedir. L-NAME ile tedavi edilen sıçanların kan damarlarında eNOS protein ekspresyonunun ve plazma NO seviyelerinin tükenmesinin down-regülasyonu neticesinde sistemik vazokonstriksiyona, artan vasküler direnç ve yüksek kan basıncına yol açıldığı ifade edilmiştir (Romero ve Reckelhoff, 1999). Ayrıca bu enzim inhibisyonunun glomerüler ve interstisyel renal hasara yol açan vasküler direnç artışı ve sistemik hipertansiyon ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Ribeiro ve ark., 1992).

Oksidatif stresin, hipertansiyonda reaktif oksijen türlerinin (ROS) arttırılmış biyoyararlanımı ile kategorize edilen hayvan ve insanlarda hipertansiyon etiyolojisine katkıda bulunduğu kabul edilmektedir. L-NAME kaynaklı hipertansiyon ile oksidatif stres

göstergeleri arasında bir ilişkinin olduğu ifade edilmiştir. Özellikle L-NAME'in yüksek dozda (40 mg/kg/gün) vasküler süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), plazma malondialdehit ve plazma protein karbonil gibi oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerini yükselttiği belirtilmiştir (Romero ve Reckelhoff, 1999). Yükseltilmiş ROS seviyelerinin, vasküler düz kas hücresi çoğalmasını uyardığı ve NO mevcudiyetini azaltarak arteriyel direnci arttırdığı, bunun da vasküler gevşemenin zarar görmesine neden olduğu bildirilmiştir (Parslow ve ark., 2005).

Renovasküler hipertansiyonda meydana gelen ROS, böbrek ve damarlarda oksidatif zarar oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda, deneysel hipertansiyon modellerinde ve klinik hipertansiyonda, süper oksit anyon ve hidrojen peroksit oluşumunun fazlalaştığı, NO sentezinin ve antioksidanların biyoyararlılığının azaldığı ortaya konulmuştur (Taşar ve ark., 2014). Dolayısıyla, ROS oluşumunun azaltılması veya antioksidanların artırılması ile serbest radikallere karşı amaçlanan tedavilerin vasküler hasarı ve böbrek disfonksiyonunu azaltabileceği ve böylece hipertansif organ hasarını engelleyerek veya mevcut hasarı gerileterek faydalı olabileceği öne sürülmüştür (Touyz, 2004).

2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumuna engel olmak ve sebep oldukları hasarları önlemekle birlikte detoksifikasyonu gerçekleştirmek üzere vücutta görevli olan savunma sistemlerine antioksidan adı verilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016). Antioksidanlar, radikalik zincir tepkimelerinin başlamasını veya yayılmasını engelleyerek diğer moleküllerin oksidasyonlarını geciktiren veya durduran bileşikler olarak bilinmektedirler (Velioglu ve ark., 1998). Peroksidasyon tepkimelerine engel olarak ya da ROS'ları toparlayıp lipid peroksidasyonuna engelleyen antioksidanlar aynı zamanda, oksidatif hasarın DNA üzerindeki etkilerini ve hücre bölünmesinde ortaya çıkan kontrolsüz artışı azaltarak kansere karşı koruyucu rol oynamaktadırlar (Özdem ve Şadan, 1994; Erisir ve ark., 2010). Antioksidanlar; enzimatik ve non-enzimatik, engelleyici ya da onarım sistemleri, endojen ve ekzojen, primer ve sekonder, doğal veya sentetik olanlar gibi farklı biçimlerde sınıflandırılmaktadır (Pisoschi ve Pop, 2015). Endojen ve ekzojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini devam ettirmek için serbest radikalleri etkisiz hale getirmektedirler (Sen ve Chakraborty, 2011).

Antioksidanlar, serbest radikaller üzerindeki etkilerini, serbest radikali daha zayıf bir radikale dönüştürerek aktivitesini azaltarak yok etme, aktivitesini azaltma veya inaktif

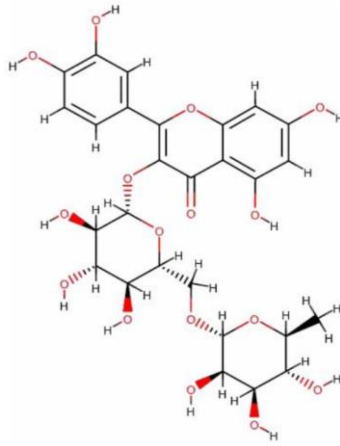
hale dönüştürme, serbest radikale bağlanıp etkisiz hale getirme ve serbest radikallerin meydana getirdikleri hasarı onarma olmak üzere 4 temel yol aracılığıyla gerçekleştirmektedir (Takenaka ve ark., 1991; Traber ve Packer, 1995; Durak ve ark., 1996).

2.2.1. Rutin

Bitki ürünleri ve aktif bileşenleri, doku ve organları oksidatif stresten koruyabilen doğal antioksidan kaynaklarıdır (Joshi ve ark., 2017). Zamanımızda geleneksel olarak kullanılan bitkisel maddelerin birçoğunun çeşitli farmakolojik özelliklere sahip olduğu ve bu özelliklerin temelde flavonoid bileşiklerinden kaynaklandığı bilinmektedir (Khan ve ark., 2012; Nafees ve ark., 2015). Bitki tıbbında gözlenen güncel gelişmeler, flavonoidlerin birçok hastalığın tedavisine yardımcı olabileceğini göstermektedir (Oyagbemi ve ark., 2020). Flavonoidler, serbest radikallerin detoksifikasyonunda anahtar rol oynayan ve meyve, sebze ve tıbbi bitkilerde belirgin bir şekilde bulunan polifenol bileşiklerin büyük bir grubu olarak tanımlanmaktadır (Khan ve ark., 2012; Nafees ve ark., 2015). Meyve ve sebzelerin yanı sıra mantarlarda ikincil metabolitler olarak bulunan flavonoidler; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, flavanoller ve antosiyanidinler olarak sınıflandırılmaktadırlar (Budzynska ve ark., 2019).

Rutin adı bünyesinde rutin etken maddesi bulunduran *Ruta graveolens* bitkisinden gelmektedir (Ganeshpurkar ve Saluja, 2017). Rutoside olarak da adlandırılan Rutin (3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksiflavon-3-rhamnoglucoside), flavonol kuersetin ile disakkarit rutinozunu birbirine bağlayan glikozittir. Bu flavonoid glikozit, çok çeşitli bitkilerde bulunmakta ve günlük diyetle tüketilen ve birçok gıda maddesi, sebze ve içeceklerde bulunan önemli flavonoidlerden biri olarak dikkati çekmektedir (Hosseinzadeh ve Nassiri-Asl, 2014). Kimyasal formülü, $C_{27}H_{30}O_{16}$ olan Rutin'in kimyasal yapısı Şekil 2.2'de gösterilmektedir (Ganeshpurkar ve Saluja, 2017). Özellikle narıncıya, dut, kıızılcık ve karabuğdayda bulunan Rutin'in (Singh ve ark., 2018) çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik özellikleri ile olağanüstü bir değerlendirmeye sahip beslenme biyoflavonoidi olduğu ifade edilmiştir (Sampson ve ark., 2002). Diğer biyoflavonoidlere göre daha az toksik etkilere sahip olması, oksitlenmeyen moleküler özellikler taşıması nispeten güvenli ve etkili bir antioksidan olabileceğini göstermektedir (Qu ve ark., 2019).

Rutin'in antioksidan, antikarsinojenik, antiviral, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antiplatelet, sitoprotektif, nöroprotektif, kardiyoprotektif ve vazoprotektif özellikleri tespit edilmiştir (Sheu ve ark., 2004; Choi ve ark., 2006; Ganeshpurkar ve Saluja, 2017). Ayrıca oksidatif stres, inflamasyon, lipogenez ile glikoz ve lipid modülasyonu neticesinde karaciğer ve yağ dokusunda metabolizma üzerine pozitif etkisi de kanıtlanmıştır (Choi ve ark., 2006; Wu ve ark., 2011). Ek olarak, birçok araştırma Rutin'in iskemi/reperfüzyon renal hasarda böbrekleri koruma üzerine önemli etkisi olduğunu göstermiştir (Korkmaz ve Kolankaya, 2010; Korkmaz ve Kolankaya, 2013).



Şekil 2.1. Rutin'in kimyasal yapısı (Ganeshpurkar ve Saluja, 2017).

2.3. Adipokinler

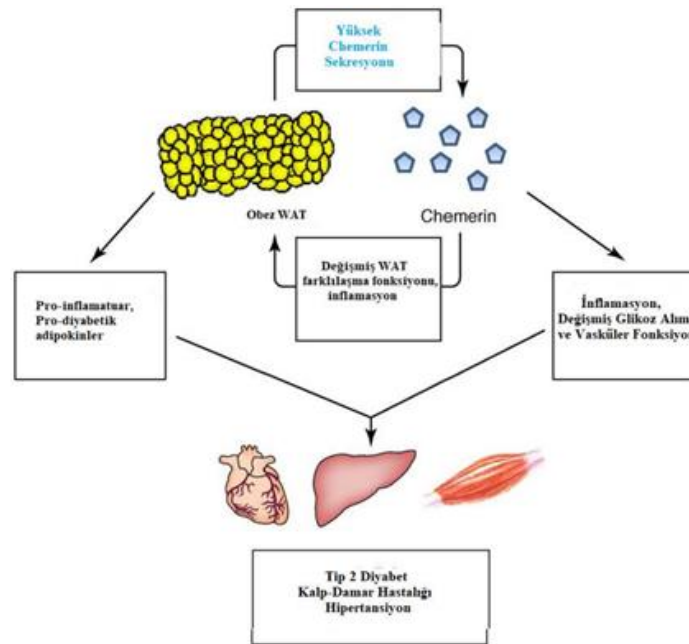
Adipoz doku, enerjinin depo edildiği bir doku olmasının yanı sıra endokrin bir organ gibi metabolizmayı düzenleyen dinamik bir yapıya sahiptir (Coelho ve ark., 2013). Bu dokuda, adipositler ve adipositler arasındaki bağ dokudan otokrin, parakrin ve endokrin etkileri bulunan 'adipokin' ya da 'adipositokin' denilen proteinler salgılanmaktadır (Gimble, 2003). Yağ dokusu tarafından salgılanan bu adipokinlerden bazılarının hipertansiyonun da dahil olduğu metabolik sendrom patogenezinde önemli bir rol oynadıkları bilinmektedir (Lehr ve ark. 2012).

2.3.1. Chemerin

1997'de psöriatik cilt lezyonlarında ilk olarak keşfedilen Chemerin (Nagpal ve ark., 1997) 2003 yılında kemotaksiste rol oynayan bir protein olarak ortaya konulmuştur. 2007 yılında adipogenez ve adiposit metabolizmasını düzenlediği; adiposit farklılaşması, glikoz ve

lipid metabolizmasında rol aldığı gösterilerek bir adipokin olarak sınıflandırılmıştır (Bozaoglu ve ark., 2007; Roh ve ark., 2007). İnsan ve fare adipositlerinden elde edilen Chemerin'in kemokin reseptörü 1'in (CMKLR1) doğal bir ligantı olduğu (Roh ve ark., 2007; Booth ve ark., 2015) ve her ikisinin de beyaz adipoz dokudan (WAT) salgılandığı bilinmektedir (Colhoun ve ark., 2003; Pearson ve Manolio, 2008). CMKLR1 reseptörü, Chem R23 veya DEZ olarak da ifade edilmektedir (Nagpal ve ark., 1997). Retinoik asit reseptörü yanıtlayıcı protein 2 (RARRES2) geni tarafından kodlanan Chemerin, in vivo olarak otokrin, parakrin ve hatta endokrin rolleri olan adipokinlerden biri olarak tanımlanmaktadır (Rourke ve ark., 2013). Gerçekleştirilen araştırmaların ışığında yağ dokusunun Chemerin sinyali için hem üretim yeri hem de hedefi olduğu düşünülmektedir (Roh ve ark., 2007; Booth ve ark., 2015).

Chemerin, 163 aminoasitten ibaret preprochemerin formunda sentezlendikten sonra serin ve sistein proteazlarca bir dizi enzimatik süreçten geçip vücuttaki esas fonksiyonlarını yerine getirmesini sağlayan chemerineF, chemerineK ve chemerineS gibi izoformlarına dönüşmektedir. Bu izoformlar çeşitli reseptörlere bağlanarak vücutta hayati görevleri yerine getirmektedir (Mattern ve ark., 2014; Li ve ark., 2020). Chemerin'in yağ dokusu, akciğer, deri, kardiyovasküler sistem, üreme sistemi, sindirim sistemi, iskelet ve eklemler gibi çoklu organlarda inflamatuvar ve metabolik hastalıkların patogenezinde çeşitli roller gösterdiği bildirilmiştir (Helfer ve Wu, 2018). Chemerin'in metabolik etkileri Şekil 2.3'de gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Chemerin'in metabolik etkileri (Celik ve Söğüt, 2019).

Chemerin reseptörü CMKLR1'in vasküler endotel hücrelerde eksprese edildiği ve ekspresyon seviyesinin Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α), İnterlökin-1 β (IL-1 β) veya İnterlökin-6 (IL-6) dahil olmak üzere inflamatuvar sitokinler tarafından düzenlendiği keşfedilmiştir (Kaur ve ark., 2010). Bu nedenle, Chemerin'in vasküler endotel hücrelerinin inflamatuvar durumunda bir rol oynaması muhtemeldir ve bu nedenle obezite ile ilişkili arteriyel hipertansiyonun patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Yamawaki, 2011).



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanı

Bu çalışmada; Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen 8-10 haftalık 28 adet erişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan (200-250 g) kullanıldı. Sıçanlar, çalışma süresince Munzur Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki (MÜDAM) standart laboratuvar şartlarında (% 40-60 nem, 24 ± 3 °C sıcaklık, 12 saat aydınlık:12 saat karanlık döngüsü) barındırılarak beslendi. Sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen tüm prosedürler, Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Sağlık Rehberi Ulusal Enstitüleri kapsamında ve Munzur Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (MÜHADYEK) tarafından onaylanan etik kurul izini (Etik Kurul Kararı: 07.02.2022/2022-02/220211-01) alınarak yürütüldü.

3.2. Kimyasallar

N ω -nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME) (CAS-No: 51298-62-5) ve Rutin hydrate (CAS-No: 207671-50-9) Sigma-Aldrich, Co., (USA)'dan temin edildi.

3.3. Çalışma Düzeni

Sıçanlar, istatistiksel ve methodsal olarak minimum popülasyon sayısı baz alınarak her grupta 7'şer adet olmak üzere rastgele seçilip toplam 4 gruba ayrıldı. Çalışmanın 0., 7., 14. ve 21. günlerinde canlı ağırlıkları tartılarak kaydedildi (Resim 3.1).

Grup I (Kontrol): Sıçanlara 21 gün boyunca günlük 0.5 ml zeytinyağı oral gavajla uygulandı.

Grup II (L-NAME): Sıçanlara 21 gün boyunca günlük 50 mg/kg/BW dozunda L-NAME zeytinyağı ile birlikte oral gavajla uygulandı (Raju ve ark., 2019).

Grup III (L-NAME+Rutin): Sıçanlara 21 gün boyunca günlük 50 mg/kg/BW dozunda L-NAME zeytinyağı ile birlikte ve akabinde 100 mg/kg/BW dozunda Rutin (Oyagbemi ve ark., 2020) distile suyla süspanse hale getirilerek oral gavajla uygulandı.

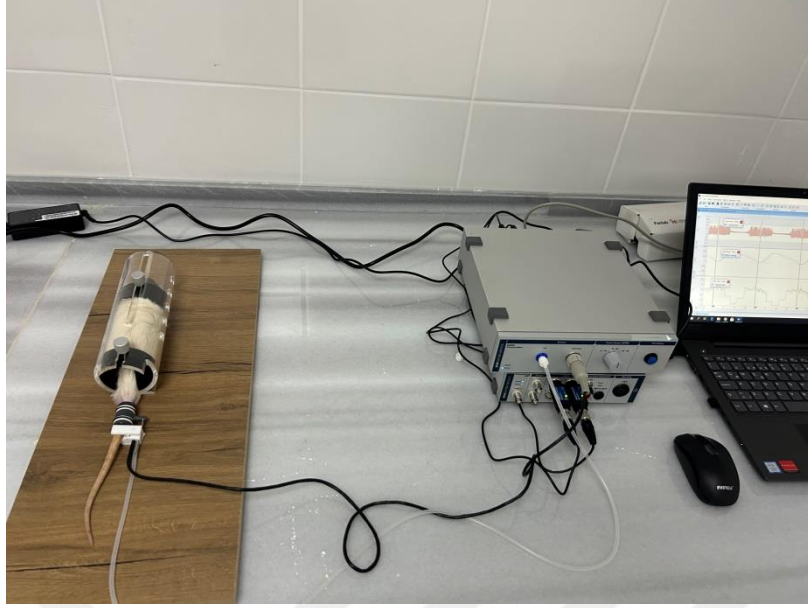
Grup IV (Rutin): Sıçanlara 21 gün boyunca günlük 100 mg/kg/BW dozunda Rutin distile suyla süspanse hale getirilerek oral gavajla uygulandı.



Resim 3.1. Sıçanların canlı ağırlıklarının tartılarak kaydedilmesi

3.4. Kan Basıncının Ölçülmesi

Çalışmanın 0., 7., 14. ve 21. günlerinde; sıçanların kuyruk veninden non-invaziv kan basıncı yükseltici sistemi (ADInstruments, PowerLab26T, NIBP MLT125, Avustralya) kullanılarak tail-cuff metoduyla kan basıncı ölçümleri yapıldı (Resim 3.2). Ölçümlere başlamadan ortam ısısının yükselmesi ve sıçanların restrainera uyum göstermesi amacıyla 15-20 dk'lık bekleme zamanı oluşturuldu. Tüm sıçanların sistolik kan basıncı ölçümleri gerçekleştirildi. Her sıçandan 5'er dakikalık aralıklarla 5 adet olacak şekilde ölçümler yapıldı ve ortalamaları alınarak değerlendirmeler yapıldı.



Resim 3.2. Sıçanların kuyruk veninden non-invaziv kan basıncı ölçümü

3.5. Doku Örneklerinin Toplanması

Sıçanlar, son uygulamadan 24 saat sonra anestezi altında dekapite edilip laparotomi yapıldı. Hızlıca böbrek ve aorta dokuları alınarak histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler için tespit solüsyonuna bırakıldı.

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Sıçanlardan alınan böbrek ve aorta dokuları histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için % 10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunda (Tablo 3.1) immersiyon yöntemi ile 24-30 saat süreyle tespit edildi. Akabinde akarsu altında yıkanan dokular rutin histolojik takip prosedürleri için % 70, % 80, % 96'lık ve % 100'lük dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı. Daha sonra saydamlaştırma işlemi için ksilol serileri ile muamele edilen dokular ksilol-parafin karışımında 45 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi. Bu süre sonunda dokular üç farklı parafin serisinde birer saat bekletilerek parafin blokları hazırlandı. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom (Thermo Scientific, HM325) ile 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesitler alındı. Alınan doku kesitleri histopatolojik incelemeler için hematoksilin-eozin (H&E) boyama yöntemine göre boyandı (Sahin ve Aydın, 2013). Doku kesitleri Zeiss'in ZEN 3.5 blue edition yazılımına sahip Axiocam 208 color dijital kamera ile donatılmış, Zeiss'in Axiolab 5 mikroskobu

(Carl Zeiss Ltd.) ile 20x büyütmede incelendi. Böbrek dokusundaki glomeruler, tubuler ve interstisyel dokunun histopatolojik değerlendirmeleri Abdel-Rahman ve ark. (2017)'na göre yapılırken aorta dokusunun duvar yapısına katılan katmanlarının histopatolojik değerlendirmeleri Kanthlal ve ark. (2020)'na göre gerçekleştirildi. Histopatolojik değişikliklerin yarı niceliksel analizleri; (-) puan (negatif puan): yapısal değişiklik yok, (+) puan (1 pozitif puan): hafif, (++) puan (2 pozitif puan): orta, (+++) puan (3 pozitif puan) : önemli bir yapısal değişiklik olarak belirlendi.

Tablo 3.1. % 10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunun hazırlanması (Suvana ve ark., 2018).

Kimyasal	Miktar
Çeşme suyu	900 mL
Formaldehid (% 37)	100 mL
Sodyum fosfat, monobazik, monohidrat	4 g
Sodyum fosfat, dibazik, anhidroz	6.5 g

pH: 7.2-7.4 arasında olmalıdır.

3.7. İmmunohistokimyasal Boyama

İmmunohistokimya boyama prosedürü Avidin-biotin-peroksidaz kompleksi yöntemine göre gerçekleştirildi (Hsu ve ark., 1981). Alınan doku kesitleri, ksilol ile deparafinize edildikten sonra azalan dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidratasyon işlemi uygulandı. Daha sonra, kesitler antijen maskelenmesinin ortadan kaldırılması için sitrat tampon solüsyonu (pH:6) içerisine daldırılarak, mikrodalgada, 15 dakika süre ile kaynatıldı. Bu işlemten sonra, kesitler oda ısısında yaklaşık olarak 20 dakika soğutuldu. Daha sonra kesitler Phosphate Buffered Saline (PBS) solüsyonu (Sigma-Aldrich Chemical Co., USA) ile 3'er kez tekrarlanarak 5'er dakika yani toplam 15 dakika boyunca yıkandı. Akabinde, kesitler endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için H₂O₂ blok solüsyonu (Hydrogen Peroxide Block, TP-015-HA, Thermo Fisher Scientific Co., USA) ile 15 dakika inkübe edildi. PBS ile 3x5 dakika yıkanan kesitlere spesifik olmayan bağlanmaları önlemek için 10 dakika Ultra V Block (TP-015-HA, Thermo Fisher Scientific Co., USA) solüsyonu uygulandı. Gerçekleştirilen bu işlemlerden sonra kesitler, Anti-CMKLR1

(Katalog no: STJ92262, dilüsyon oranı 1/100; St John's Laboratory, UK) ve eNOS (Katalog no: bs-0163R, dilüsyon oranı 1/100; Bioss, USA) poliklonal antikorları ile 1 gece boyunca +4 C°'de nemli ortamda inkübe edildi. Negatif kontrol için primer antikor yerine PBS solüsyonu damlatıldı.

Dokular primer antikor uygulamalarından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkanarak sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-015-HA, Thermo Fisher Scientific Co., USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Akabinde, dokular tekrar PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TP-015-HA, Thermo Fisher Scientific Co., USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra dokular tekrar PBS ile yıkandı. Dokulara 3,3'-diaminobenzidin (DAB) chromogen ve substrate (TP-015-HD, Thermo Fisher Scientific Co., USA) içeren solüsyon damlatıldı ve ışık mikroskopunda görüntü işareti alınınca dokular çeşme suyu ile yıkandı. Dokuların zıt boyaması Mayer hematoksilen ile yapıldıktan sonra dokular tekrar çeşme suyundan geçirilerek boyama işlemi tamamlandı. Kesitler uygun kapatma solüsyonu (Aqua Mount, Thermo Fisher Scientific Co., USA) ile kapatıldı.

Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelendi ve kesitlerdeki boyama miktarı beş farklı mikroskop sahasının taranmasıyla değerlendirildi. "Boyamalar 0=negatif, 0.5=eser, 1=hafif, 2=orta ve 3=yoğun olmak üzere 0-3 arasında sayısal bir puanlama ile hesaplandı. Negatif alanlara 0, <% 25 boyama alanlarına 0.1, % 26-50 boyama alanlarına 0.4, % 51-75 boyama alanlarına 0.6 ve % 76-100 boyama alanlarına 0.9 değerleri verildi. Nihai histoskor hesaplaması: histoskor=alan×yoğunluk formülü kullanılarak yapıldı" (Aydın ve ark., 2016).

3.8. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel verilere IBM SPSS/PC (Sürüm 21.0, IBM Co., North Castle, New York, ABD) yazılım programı kullanılarak normallik Shapiro Wilks testi uygulandı. Parametrik olmayan veriler ise Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri ile karşılaştırıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Canlı Ağırlık Bulguları

Tüm sıçanların çalışmanın başlangıcında ve sonunda ölçülen canlı ağırlık değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p>0.05$).

4.2. Ortalama Sistolik Kan Basıncı Bulguları

Tüm sıçanların çalışmanın 0., 7., 14. ve 21. günlerinde ölçülen kan basıncı değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlendi ($p<0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanların SKB değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu ($p<0.05$) tespit edildi. L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanların SKB değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu ($p<0.05$) belirlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çalışma gruplarına ait ortalama sistolik kan basıncı (SKB) değerleri

Gruplar	0. gün	7. gün	14. gün	21. gün
Kontrol	125.05 $\pm$ 4.51	126.19 $\pm$ 3.12 ^c	125.28 $\pm$ 2.43 ^b	131.30 $\pm$ 4.77 ^b
Rutin	130.22 $\pm$ 5.49	127.75 $\pm$ 6.20 ^c	131.53 $\pm$ 4.45 ^b	129.80 $\pm$ 3.92 ^b
L-NAME	128.37 $\pm$ 4.26	149.83 $\pm$ 2.86 ^a	156.40 $\pm$ 3.87 ^a	162.43 $\pm$ 5.88 ^a
L-NAME+Rutin	126.44 $\pm$ 3.99	142.61 $\pm$ 5.73 ^b	127.75 $\pm$ 6.19 ^b	137.39 $\pm$ 6.21 ^b

Veriler her grup için ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir ($p<0.05$). a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlıdır. L-NAME: NG-nitro-L-arjinin-metil ester

4.3. Histopatolojik Bulgular

4.3.1. Böbrek dokusuna ait histopatolojik bulgular

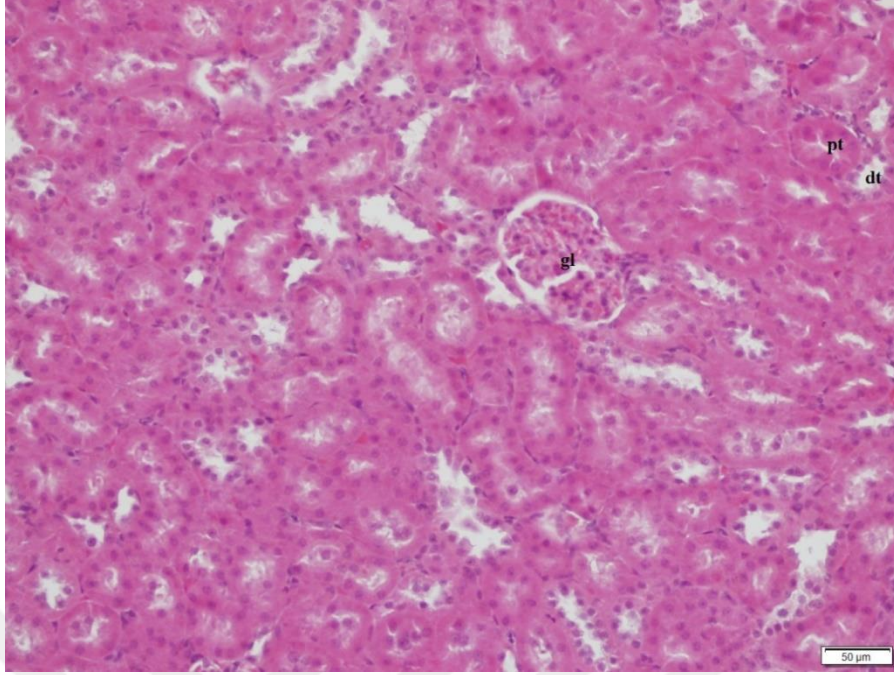
Tüm grupların histopatolojik skor sonuçları Tablo 4.2’de verildi. Kontrol (Şekil 4.1) ve Rutin (Şekil 4.2) grubu sıçanlara ait böbrek dokusunun H&E ile boyanan kesitleri ışık mikroskobu altında incelendiğinde korteks bölgesinde Bowman boşluğu ile çevrili Bowman kapsüllerinde normal glomerulus ile renal histomorfoloji gözlemlendi. Renal tubuller ve tubuler hücreler de normal görünüm sergiledi. Buna karşılık, kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek dokusunda belirgin histopatolojik değişiklikler tespit

edildi. Bu değişikler; glomerulusta dejenerasyon ve atrofi ile bazal membranda kalınlaşma ile birlikte anormal görünüm olarak saptandı. Proksimal ve distal tubullerin epitel hücrelerinde vakuolizasyon, dejenerasyon ve nekroz ile bu tubullerin lümeninde birikmiş dejenere ve deskuame epitel hücreleri belirlendi. Ayrıca tubul lümeninde ödem ve hiyalin döküntüler ile intertubuler alanda hemoraji ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı (Şekil 4.3, 4.4, 4.5). Diğer taraftan, L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek dokusunun glomerulus ve renal tubullerinde hafif histopatolojik lezyonlar gözlendi. Tubuler epiteldeki dejeneratif ve nekrotik değişiklikler hafif iken tubuler lümenindeki hiyalin döküntüler ile intertubuler alandaki inflamatuvar hücre infiltrasyonları da azalmıştı (Şekil 4.6).

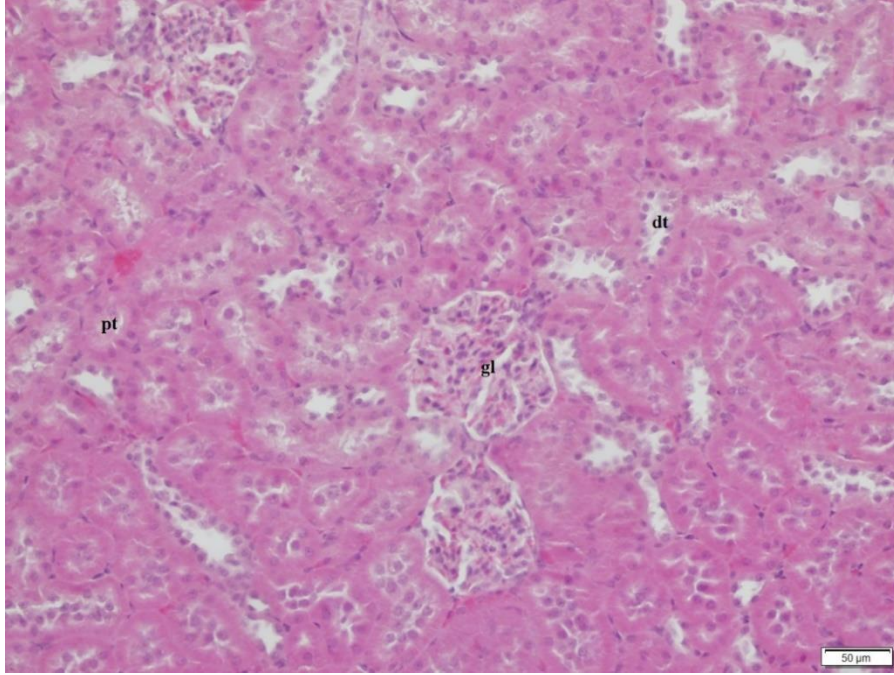
Tablo 4.2. L-NAME indüklü hipertansiyonda böbrek dokusundaki histopatolojik değişiklikler üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması

Gruplar	Glomerüler dejenerasyon, atrofi, anormal bazal membran	Tubuler vakuolizasyon ,dejenerasyon, deskuamasyon	Tubul lümeninde ödem ve hiyalin döküntü	İntertubuler hemoraji	İnflamatuvar hücre infiltrasyonu
Kontrol	-	-	-	-	-
Rutin	-	-	-	-	-
L-NAME	+3	+3	+3	+2	+1
L-NAME+Rutin	+1	+1	+1	-	-

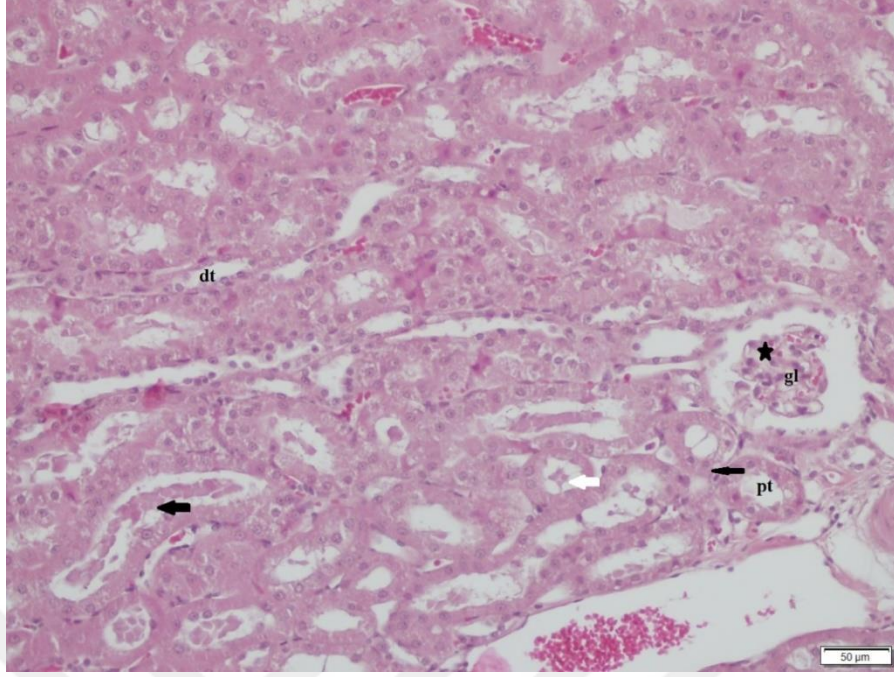
(-) puan (negatif puan): yapısal değişiklik yok, (+) puan (1 pozitif puan): hafif, (++) puan (2 pozitif puan): orta, (+++) puan (3 pozitif puan): ciddi bir histopatolojik değişikliği ifade etmektedir. L-NAME: NG-nitro-L-arjinin-metil ester



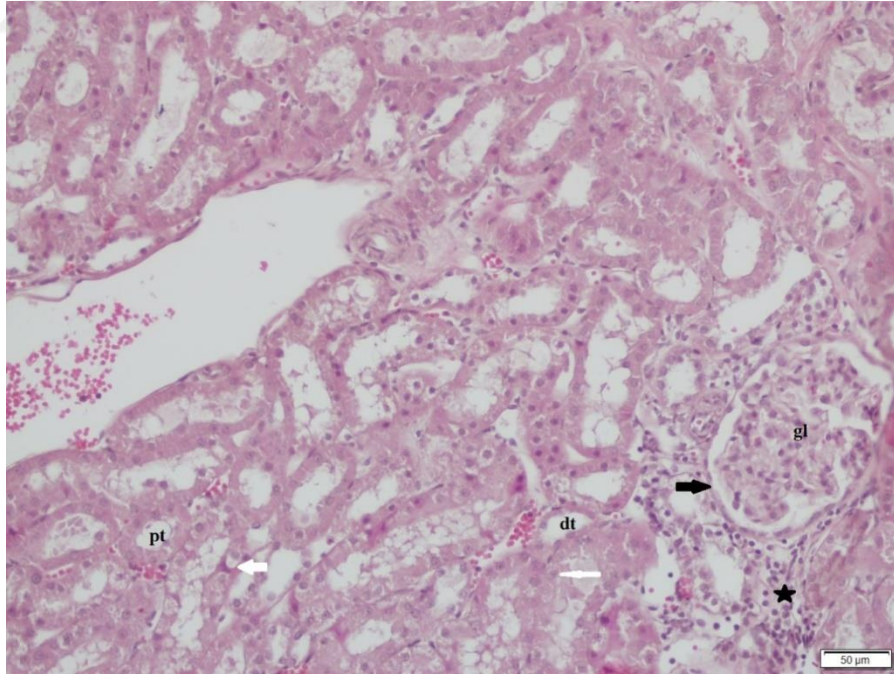
Şekil 4.1. Kontrol grubu böbrek dokusunda normal histolojik görünüm. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (H&E X20)



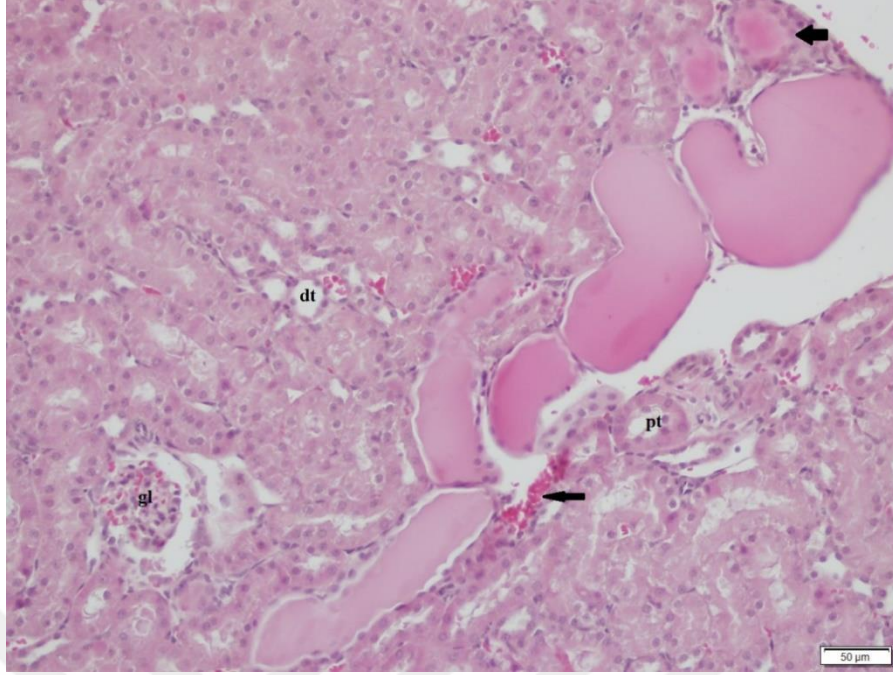
Şekil 4.2. Rutin grubu böbrek dokusunda normal histolojik görünüm. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (H&E X20)



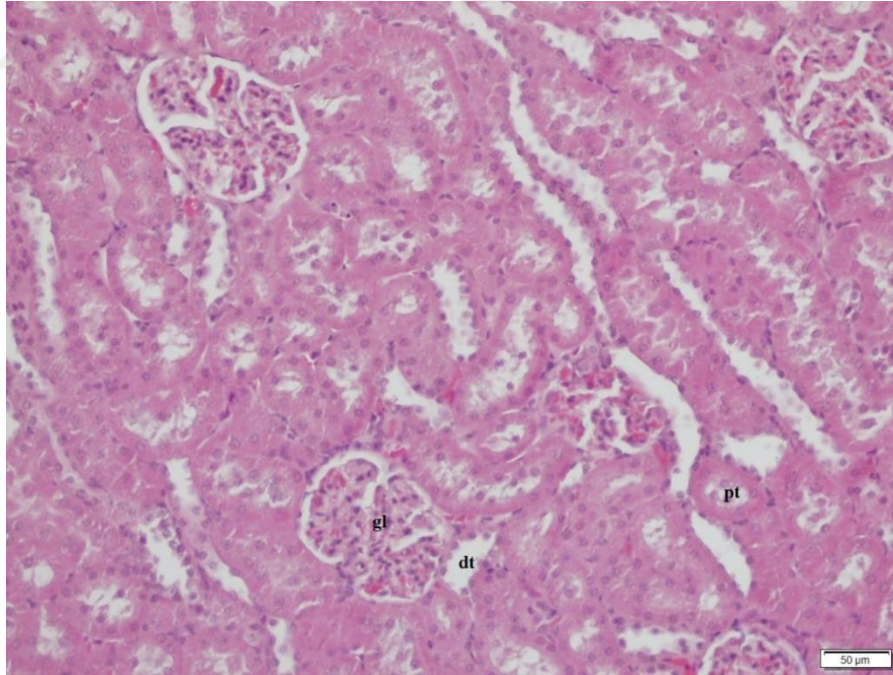
Şekil 4.3. L-NAME grubu böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul, siyah yıldız: dejenerasyon ve atrofi, kalın siyah ok: hiyalin döküntü, ince siyah ok: dejenerasyon, beyaz ok: dejenere ve deskuame epitel hücreleri (H&E X20)



Şekil 4.4. L-NAME grubu böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul, siyah ok: bazal memranda kalınlaşma, kalın beyaz ok: vakuolizasyon, ince beyaz ok: nekroz, siyah yıldız: inflamatuvar hücre infiltrasyonu (H&E X20)



Şekil 4.5. L-NAME grubu böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul, kalın siyah ok: ödem, ince siyah ok: hemoraji (H&E X20)



Şekil 4.6. L-NAME+Rutin grubu böbrek dokusunda hafif histopatolojik değişiklikler. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (H&E X20)

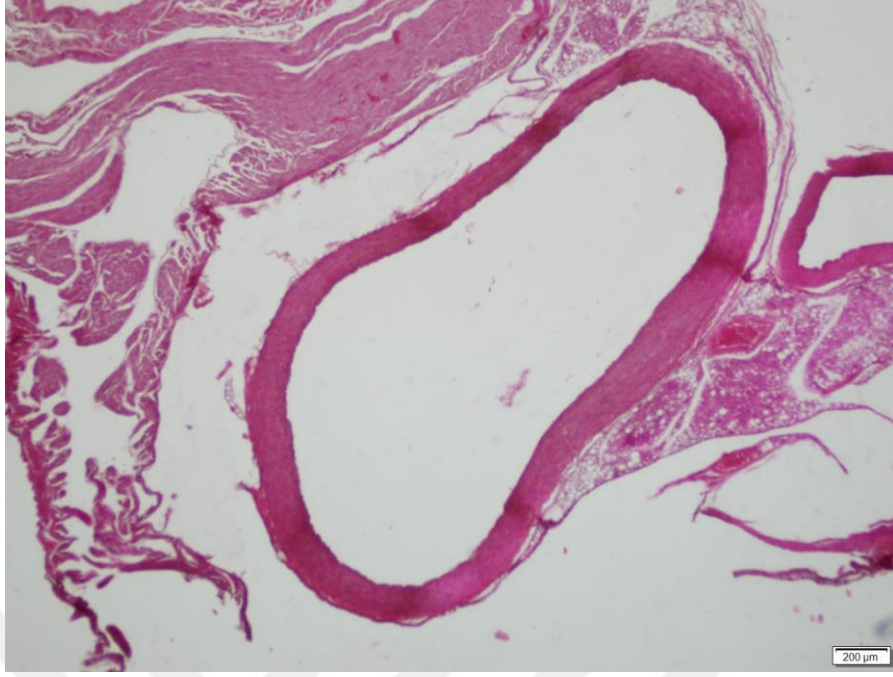
4.3.2. Aorta dokusuna ait histopatolojik bulgular

Tüm grupların histopatolojik skor sonuçları Tablo 4.3’de verildi. Kontrol (Şekil 4.7, 4.8) ve Rutin (Şekil 4.9, 4.10) grubu sıçanlara ait aorta dokusunun H&E ile boyanan kesitleri ışık mikroskobu altında incelendiğinde duvar yapısının içten dışa doğru intima, media ve adventisya tabakaları ile normal görünüm sergilediği tespit edildi. Buna rağmen, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait aorta dokusunda belirgin histopatolojik değişiklikler tespit edildi. Bu değişiklikler; tüm duvar kalınlığında ve media tabakasındaki vasküler düz kas hücrelerinde artış ile anormal görünüm şeklinde saptandı (Şekil 4.11, Şekil 4.12). Öte yandan, L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait aorta dokusunun duvar kalınlığının ve vasküler düz kas hücrelerinin azaldığı dikkati çekti (Şekil 4.13, 4.14).

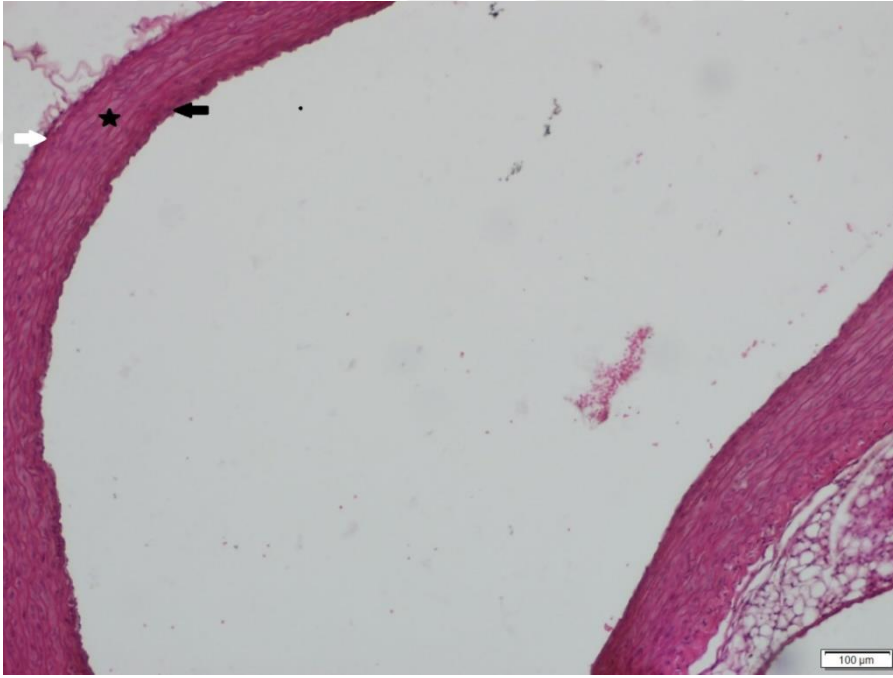
Tablo 4.3. L-NAME indüklü hipertansiyonda aorta dokusundaki histopatolojik değişiklikler üzerine Rutin’in etkisinin skorlanması

Gruplar	Duvar kalınlığında artış	Vasküler düz kas hücrelerinde artış
Kontrol	-	-
Rutin	-	-
L-NAME	+3	+3
L-NAME+Rutin	+1	+1

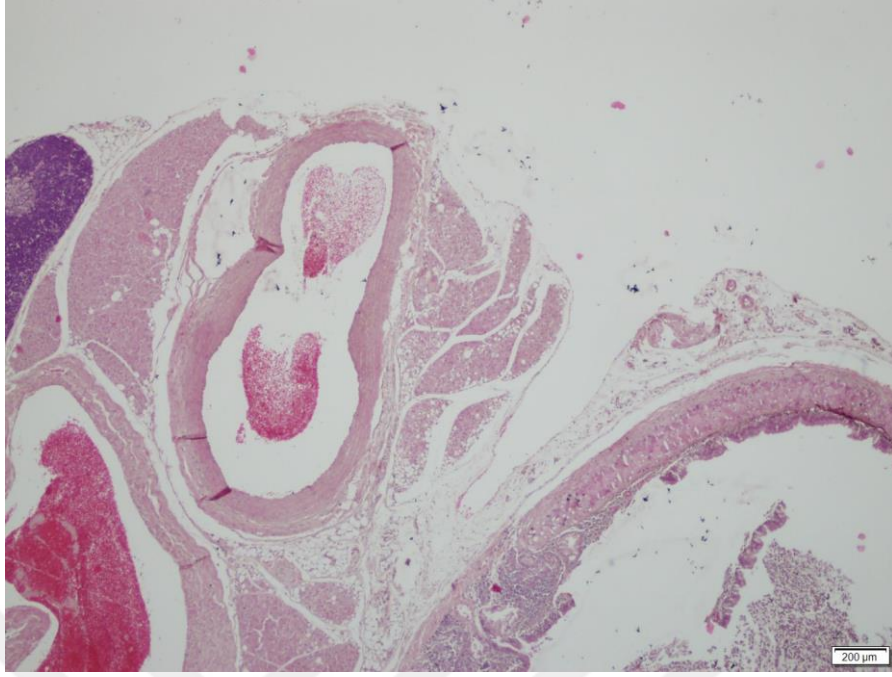
(-) puan (negatif puan): yapısal değişiklik yok, (+) puan (1 pozitif puan): hafif, (++) puan (2 pozitif puan): orta, (+++) puan (3 pozitif puan): ciddi bir histopatolojik değişikliği ifade etmektedir. L-NAME: NG-nitro-L-arjinin-metil ester.



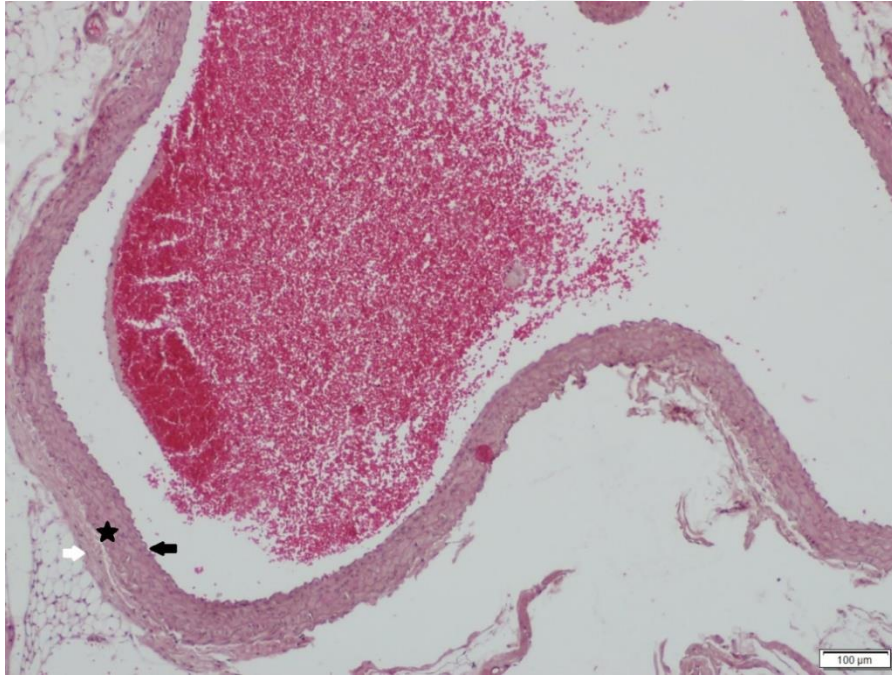
Şekil 4.7. Kontrol grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm (H&E X4)



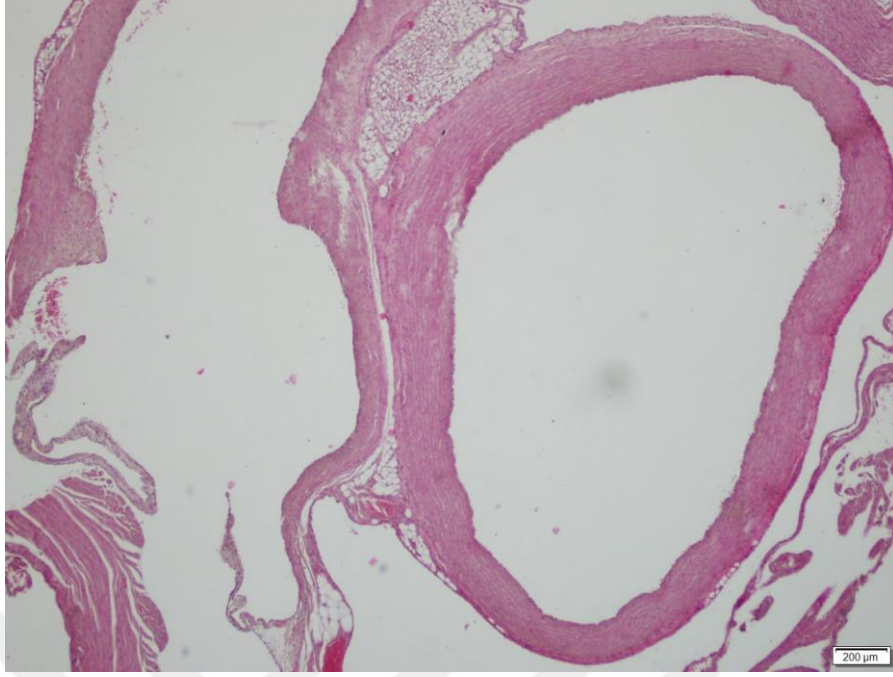
Şekil 4.8. Kontrol grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm. Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (H&E X10)



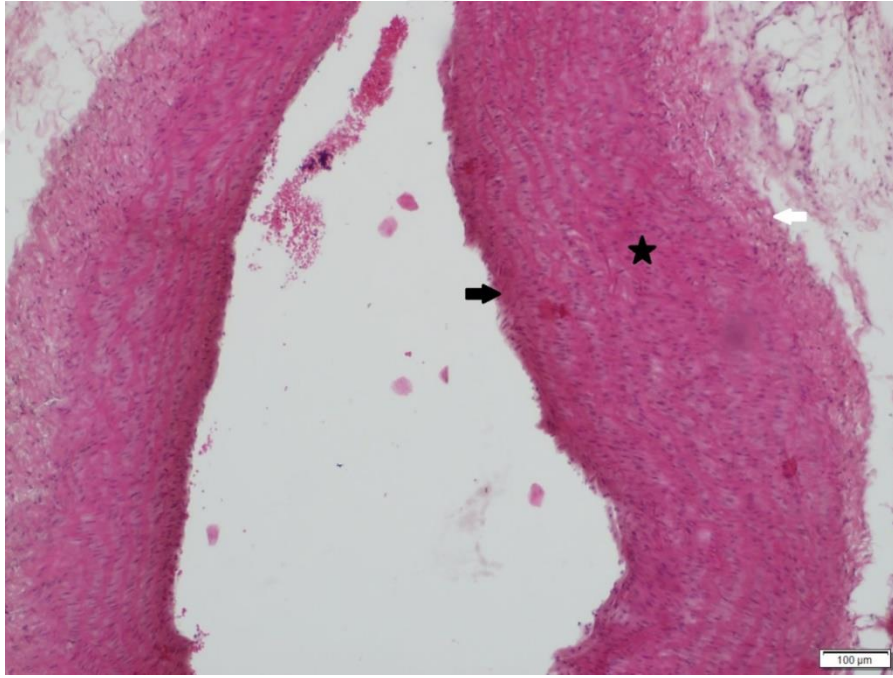
Şekil 4.9. Rutin grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm (H&E X4)



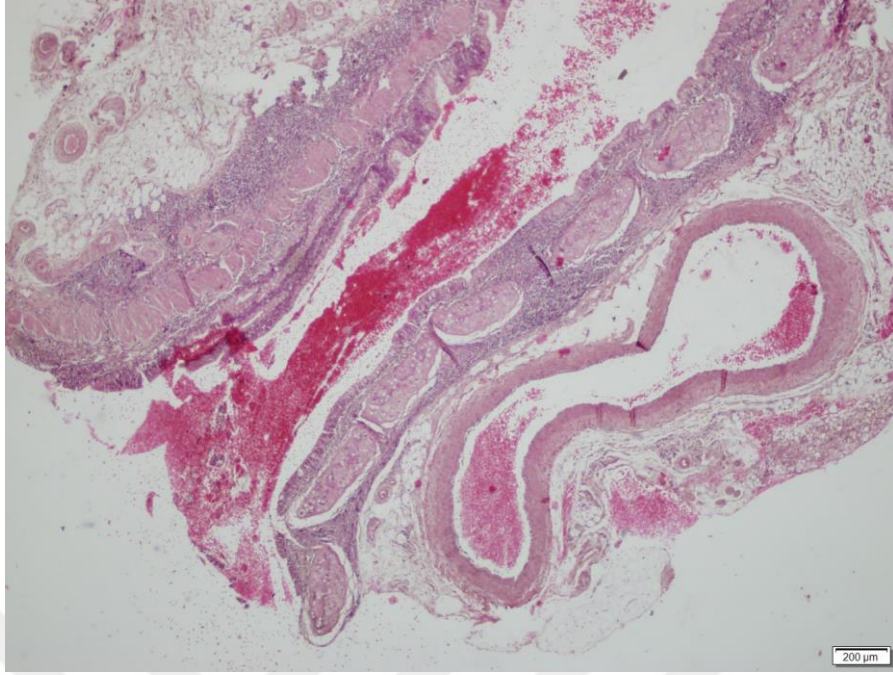
Şekil 4.10. Rutin grubu aorta dokusunda normal histolojik görünüm. Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (H&E X10)



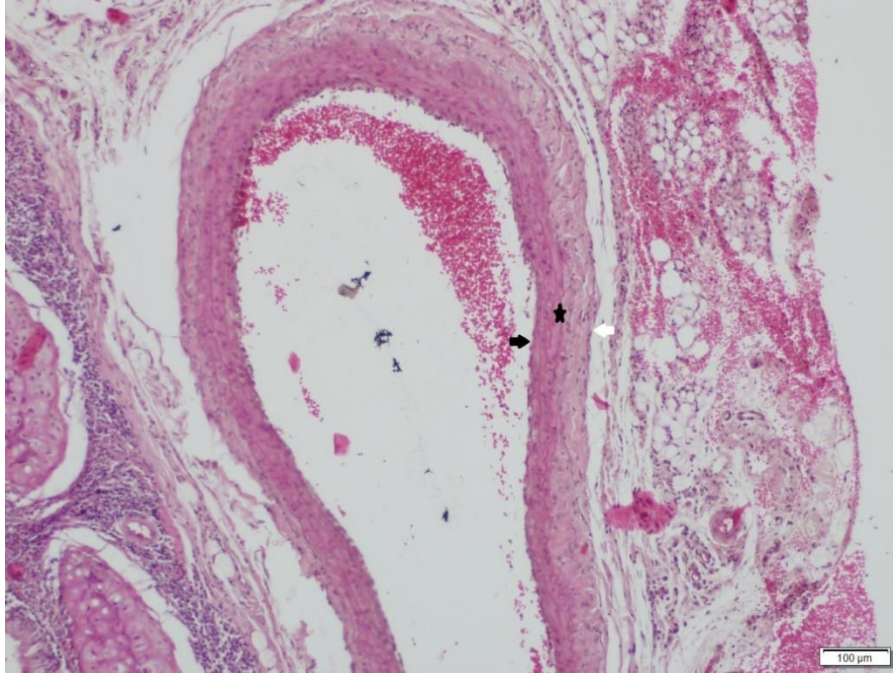
Şekil 4.11. L-NAME grubu aorta dokusunda histopatolojik değişiklikler (H&E X4)



Şekil 4.12. L-NAME grubu aorta duvar kalınlığında artış. Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (H&E X10)



Şekil 4.13. L-NAME+Rutin grubu aorta dokusunda hafif histopatolojik değişiklikler (H&E X4)



Şekil 4.14. L-NAME+Rutin grubu aorta duvar kalınlığında azalış. Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (H&E X10)

4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.4.1. Böbrek dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular

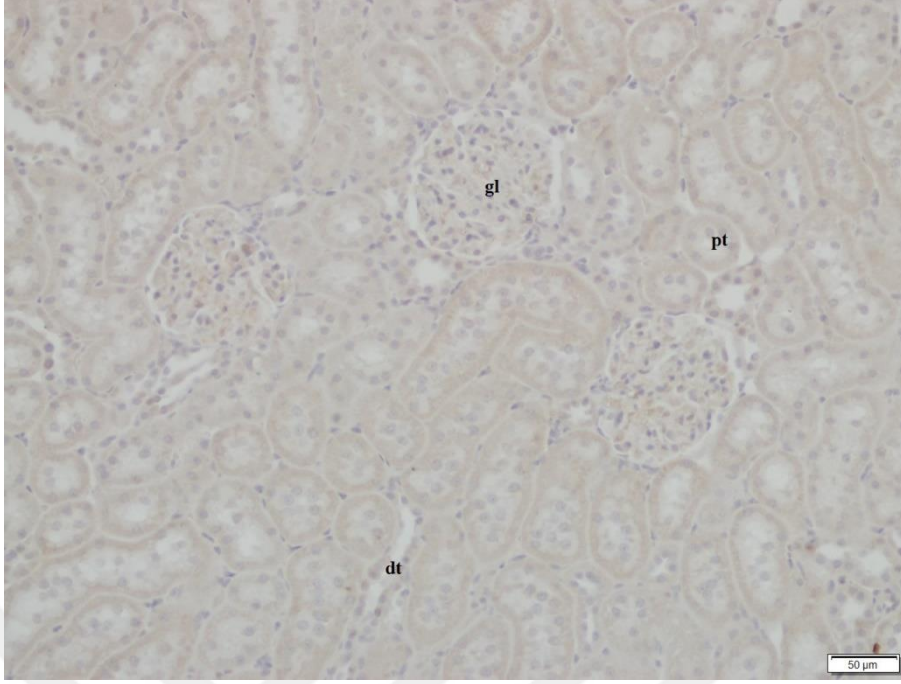
4.4.1.1. CMKLR1 ekspresyonu

Tüm grupların CMKLR1 immünoreaktivite histoskorlarının sonuçları Tablo 4.4’de verildi. Kontrol (Şekil 4.15) ve Rutin (Şekil 4.16) grubu sıçanlara ait böbrek dokusunun immünohistokimyasal olarak boyanan kesitleri ışık mikroskobu altında incelendiğinde CMKLR1 immüno reaktivitesine rastlanmadı. Buna karşılık, kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek dokusunun glomeruluslarında ve distal tubullerinde CMKLR1 immünoreaktivitesinin arttığı gözlemlendi (Şekil 4.17). Diğer taraftan, L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek dokusunun glomerulus ve distal tubullerinde CMKLR1 immünoreaktivitesinin azaldığı dikkati çekti (Şekil 4.18). Negatif kontrol dokusunda ise CMKLR1 pozitifliği gözlenmedi (Şekil 4.19).

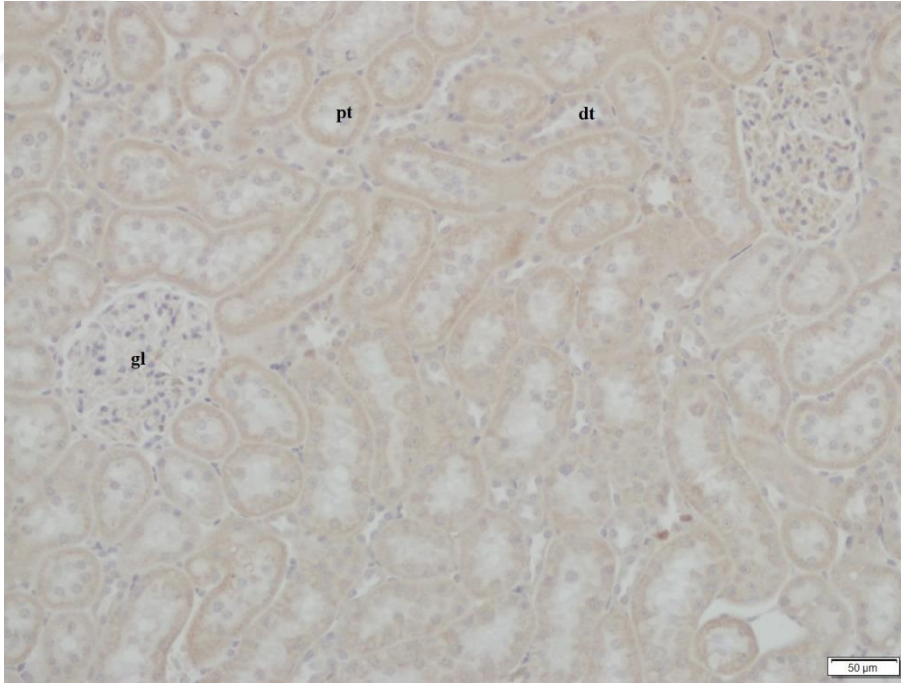
Tablo 4.4. L-NAME indüklü hipertansiyonda böbrek dokusundaki CMKLR1 immünoreaktivitesi üzerine Rutin’in etkisinin skorlanması

Gruplar	CMKLR1
Kontrol	0.05 ± 0.42 ^c
Rutin	0.05 ± 0.37 ^c
L-NAME	2.65 ± 0.51 ^a
L-NAME+Rutin	1.18 ± 0.33 ^b

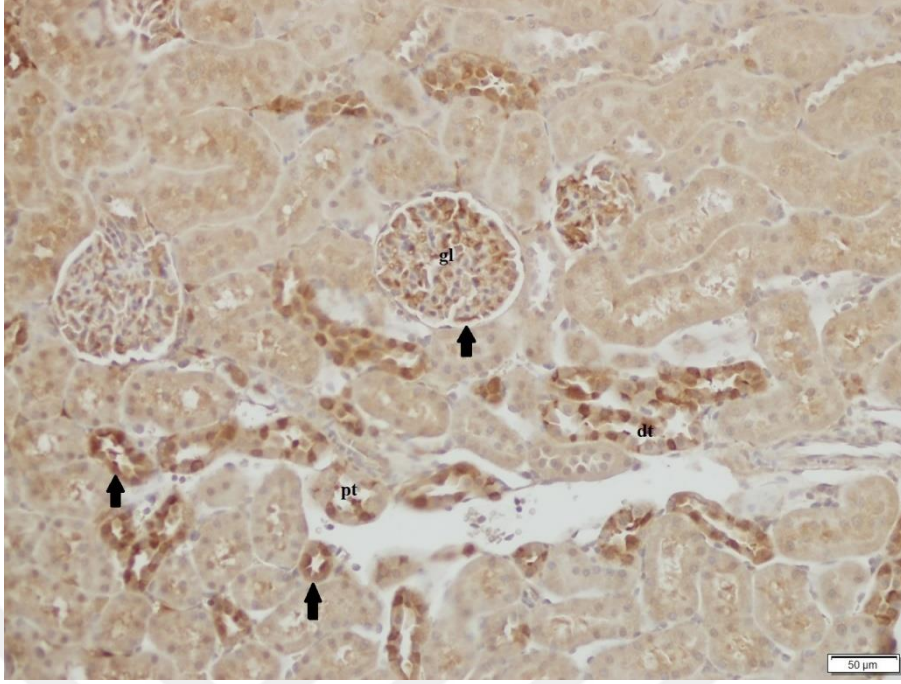
Veriler her grup için ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (p<0.05). a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlıdır. L-NAME: NG-nitro-L-arjinin-metil ester, CMKLR1: Chemerin’in kemokin reseptörü 1.



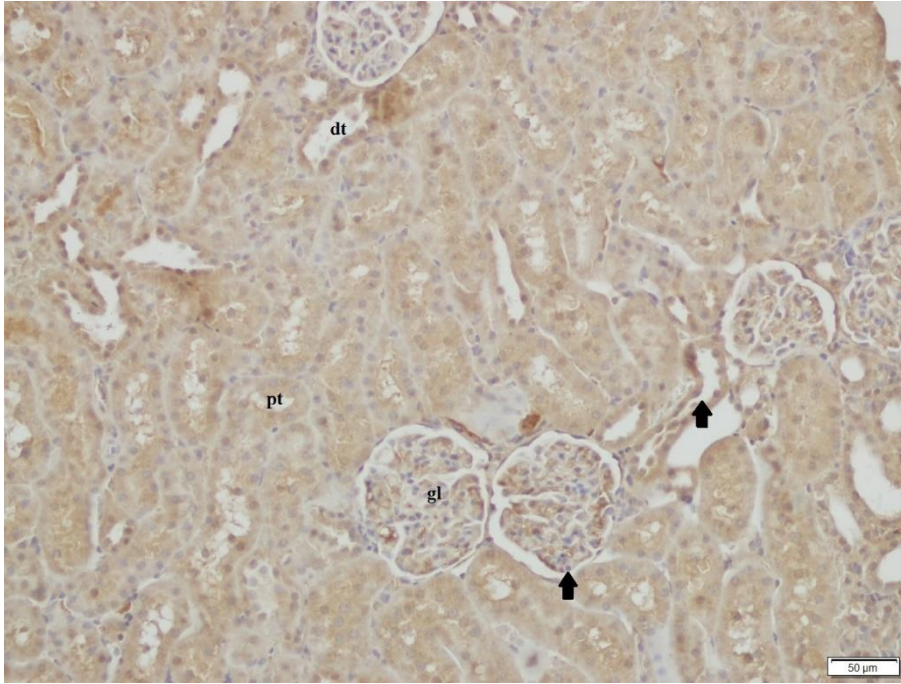
Şekil 4.15. Kontrol grubu böbrek dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



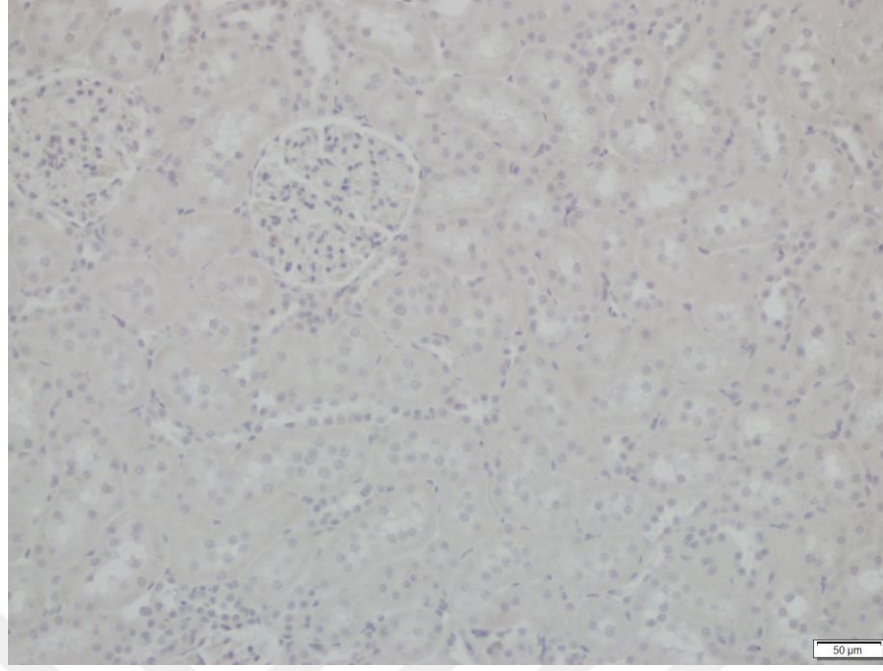
Şekil 4.16. Rutin grubu böbrek dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi. gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



Şekil 4.17. L-NAME grubu böbrek dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi (oklar). gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



Şekil 4.18. L-NAME+Rutin grubu böbrek dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi (oklar). gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



Şekil 4.19. Negatif kontrol böbrek dokusu (Mayer's haematoksilen X20)

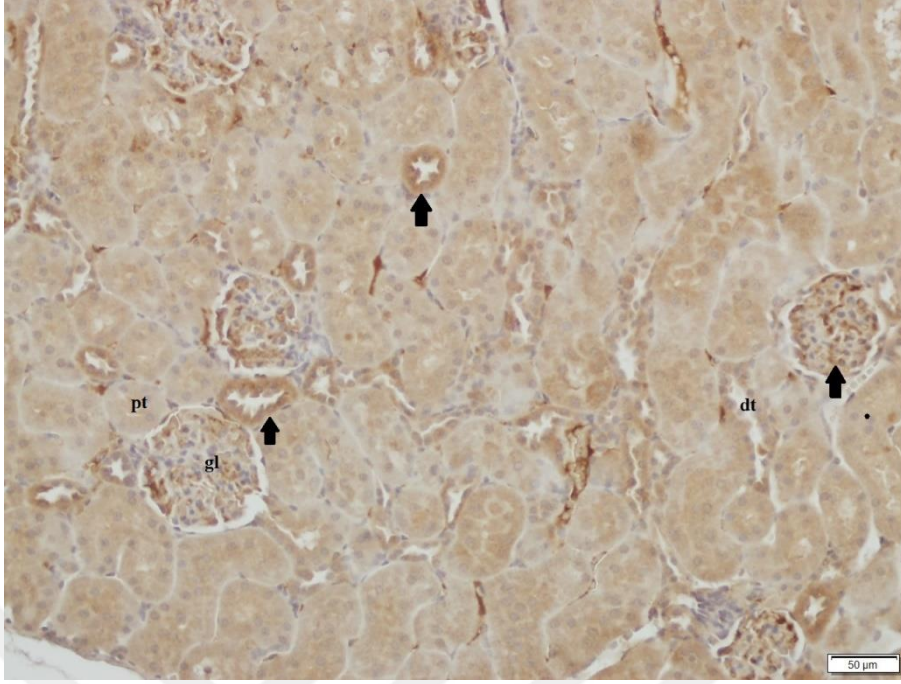
4.4.1.2. eNOS ekspresyonu

Tüm grupların eNOS immünoaktivite histoskorlarının sonuçları Tablo 4.5’de verildi. Kontrol (Şekil 4.20) ve Rutin (Şekil 4.21) grubu sıçanlara ait böbrek dokusunun glomeruluslarında ve distal tubullerinde eNOS immünoaktivitesine rastlandı. Buna rağmen, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek dokusunda eNOS immünoaktivitesinin azaldığı belirlendi (Şekil 4.22). Öte yandan, L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek dokusunun glomerulus ve distal tubullerinde eNOS immünoaktivitesinin arttığı göze çarptı (Şekil 4.23). Negatif kontrol dokusunda ise eNOS pozitifliği gözlenmedi (Şekil 4.24).

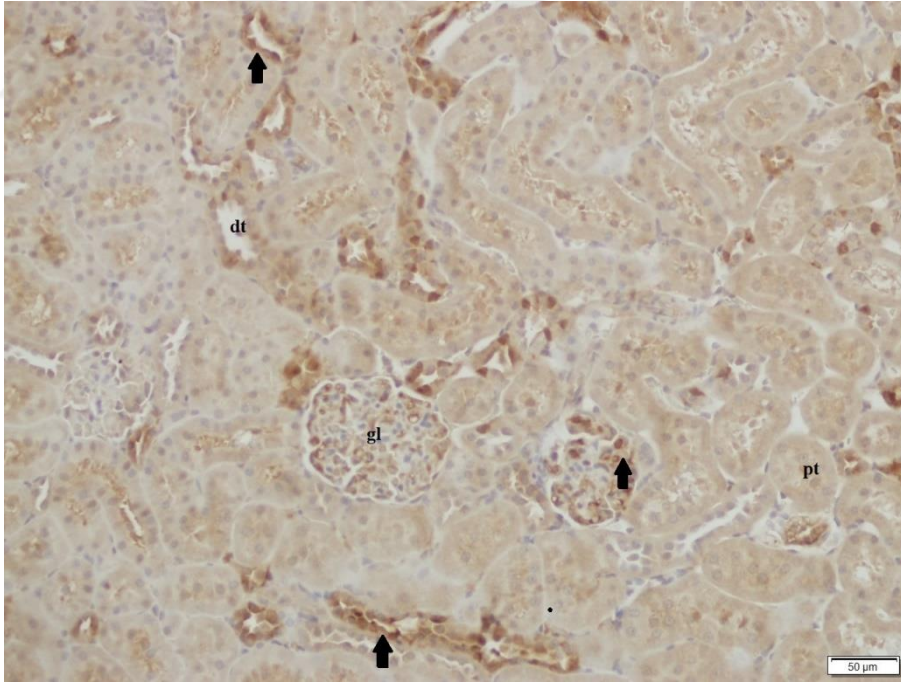
Tablo 4.5. L-NAME indüklü hipertansiyonda böbrek dokusundaki eNOS immünoaktivitesi üzerine Rutin’in etkisinin skorlanması

Gruplar	eNOS
Kontrol	2.69 ± 0.48 ^a
Rutin	2.70 ± 0.41 ^a
L-NAME	0.98 ± 0.56 ^c
L-NAME+Rutin	1.91 ± 0.53 ^b

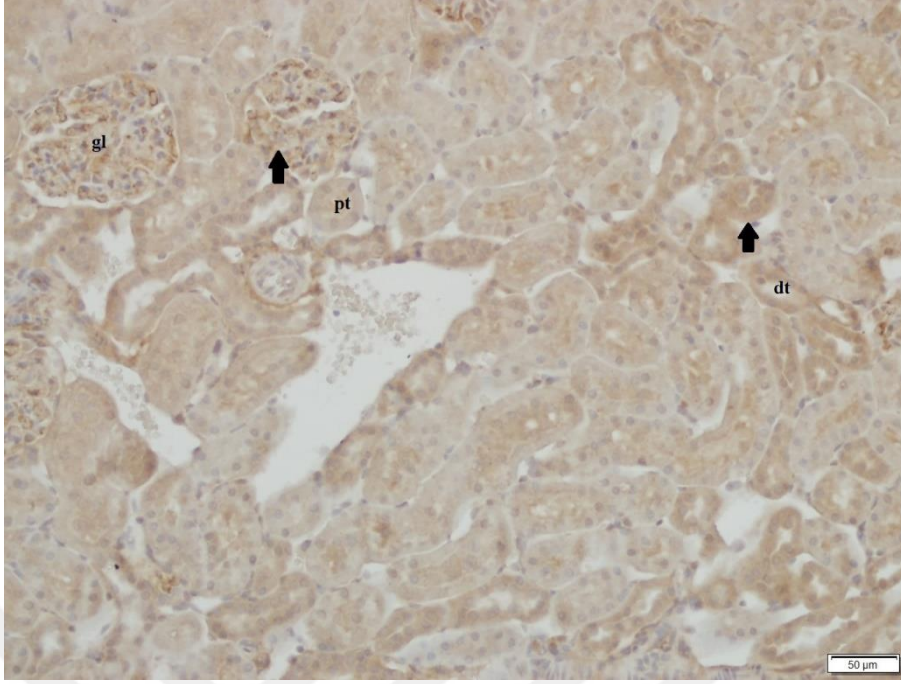
Veriler her grup için ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir (p<0.05). a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlıdır. L-NAME: NG-nitro-L-arjinin-metil ester, eNOS: endotelial nitrik oksit sentaz.



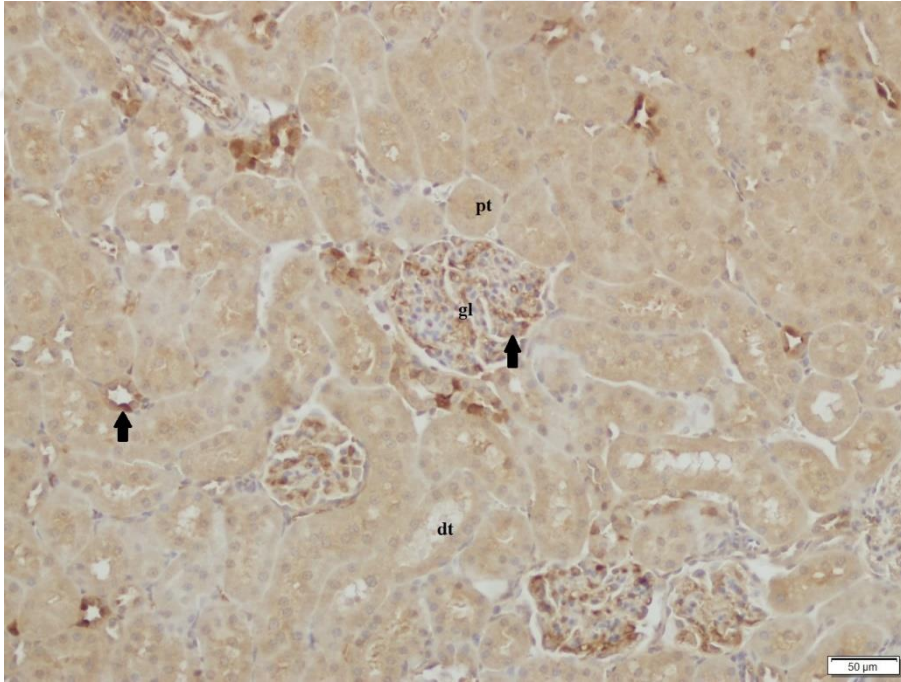
Şekil 4.20. Kontrol grubu böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (oklar). gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



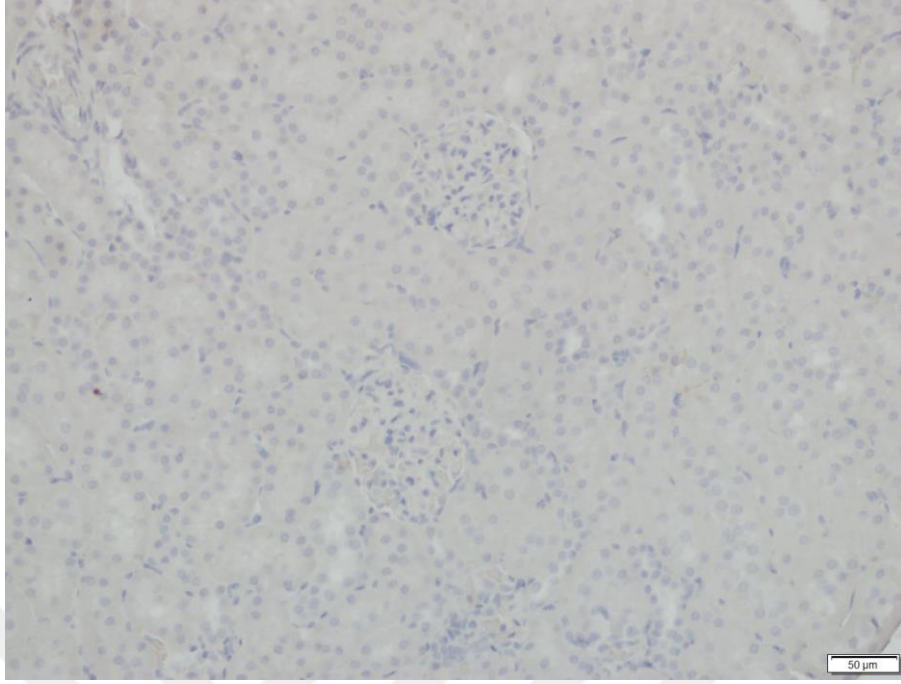
Şekil 4.21. Rutin grubu böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (oklar). gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



Şekil 4.22. L-NAME grubu böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (oklar). gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



Şekil 4.23. L-NAME+Rutin grubu böbrek dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (oklar). gl: glomerulus, dt: distal tubul, pt: proksimal tubul (Mayer's haematoksilen X20)



Şekil 4.24. Negatif kontrol böbrek dokusu (Mayer's haematoksilen X20)

4.4.2. Aorta dokusuna ait immünohistokimyasal bulgular

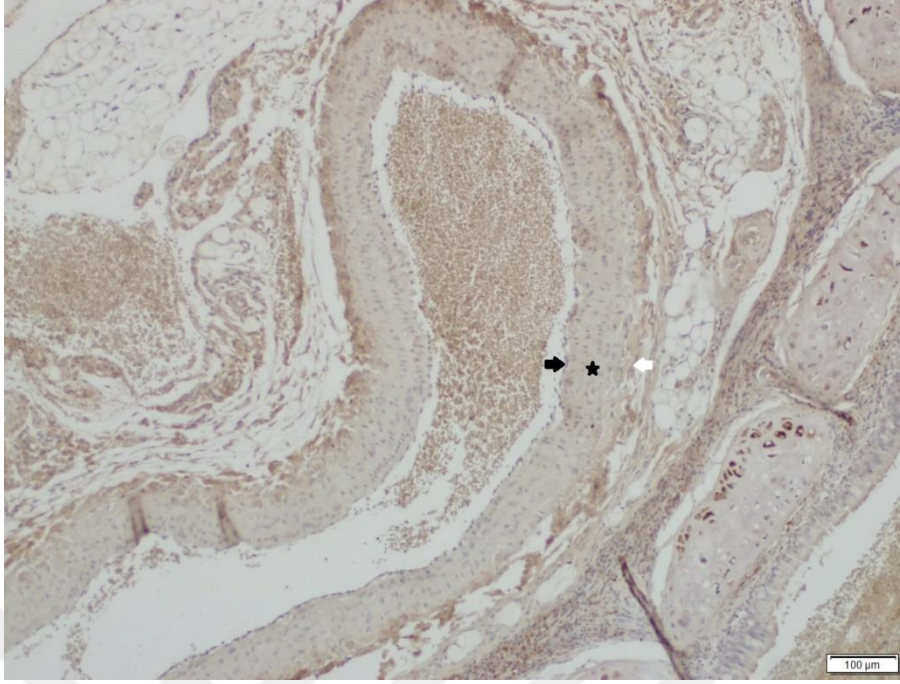
4.4.2.1. CMKLR1 ekspresyonu

Tüm grupların CMKLR1 immünoreaktivite histoskorlarının sonuçları Tablo 4.6'da verildi. Kontrol (Şekil 4.25) ve Rutin (Şekil 4.26) grubu sıçanlara ait aorta dokusunun immünohistokimyasal olarak boyanan kesitleri ışık mikroskobu altında incelendiğinde hafif CMKLR1 immünoreaktivitesine rastlandı. Bununla birlikte, kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanlara ait aorta dokusunun özellikle intima tabakasındaki endotel hücrelerinde, media katmanındaki düz kas hücrelerinde ve adventisya katmanında CMKLR1 immünoreaktivitesinin arttığı gözlemlendi (Şekil 4.27). Fakat L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait aorta dokusunun katmanlarında CMKLR1 immünoreaktivitesinin azaldığı dikkati çekti (Şekil 4.28). Negatif kontrol dokusunda ise pozitiflik gözlenmedi (Şekil 4.29).

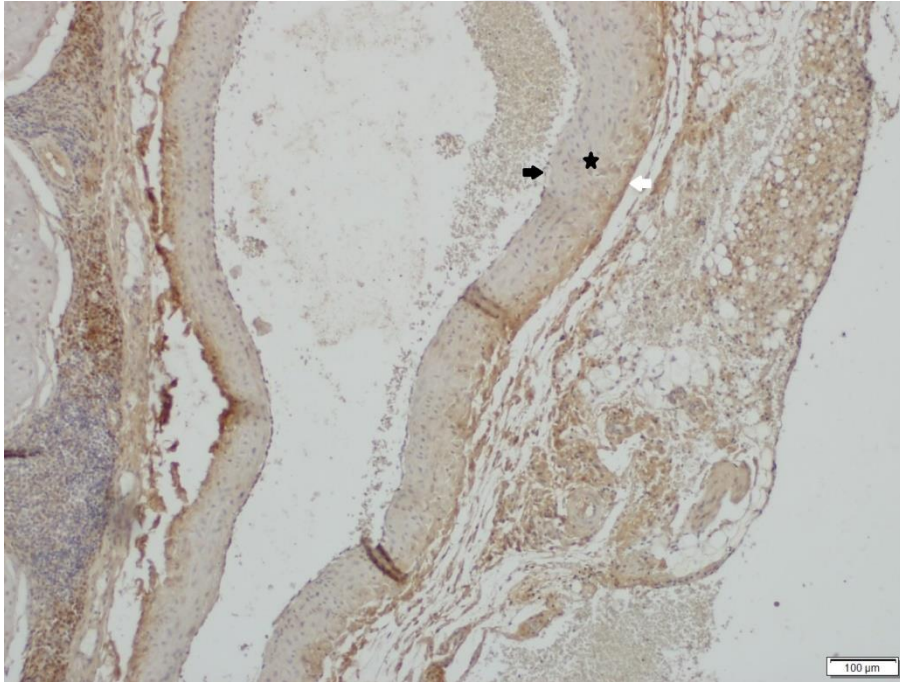
Tablo 4.6. L-NAME indüklü hipertansiyonda aorta dokusundaki CMKLR1 immünoreaktivitesi üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması

Gruplar	CMKLR1
Kontrol	0.06 ± 0.40^c
Rutin	0.05 ± 0.31^c
L-NAME	2.60 ± 0.59^a
L-NAME+Rutin	1.17 ± 0.38^b

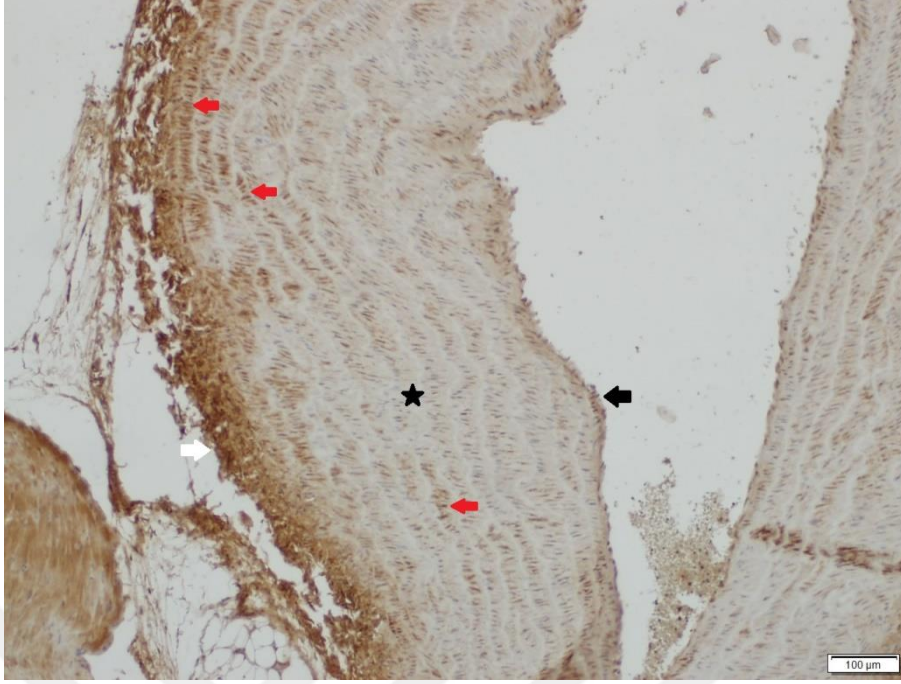
Veriler her grup için ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir ($p < 0.05$). a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlıdır. L-NAME: NG-nitro-L-arjinin-metil ester, CMKLR1: Chemerin'in kemokin reseptörü 1.



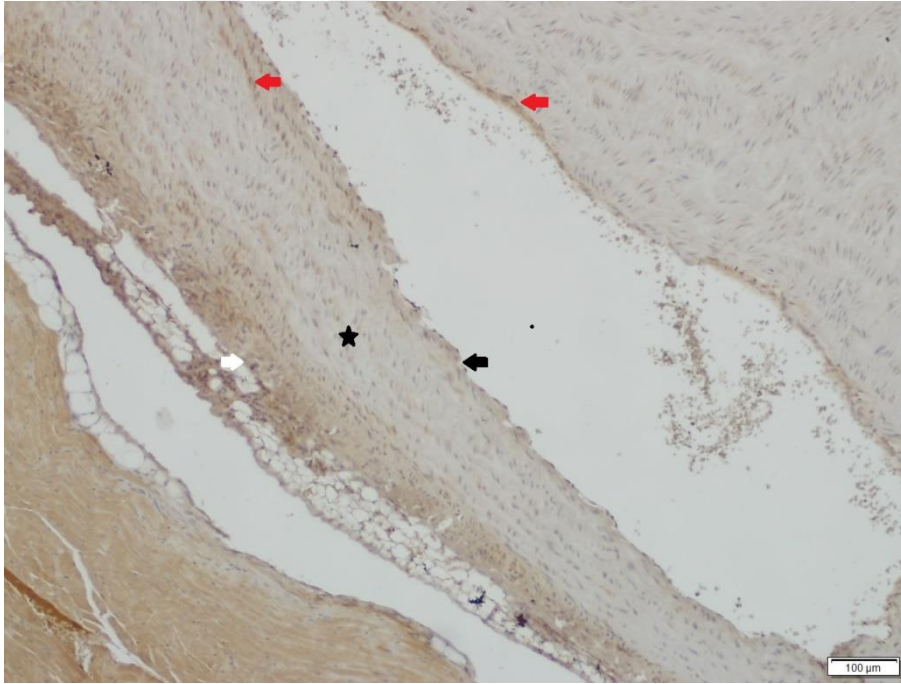
Şekil 4.25. Kontrol grubu aorta dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi. Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



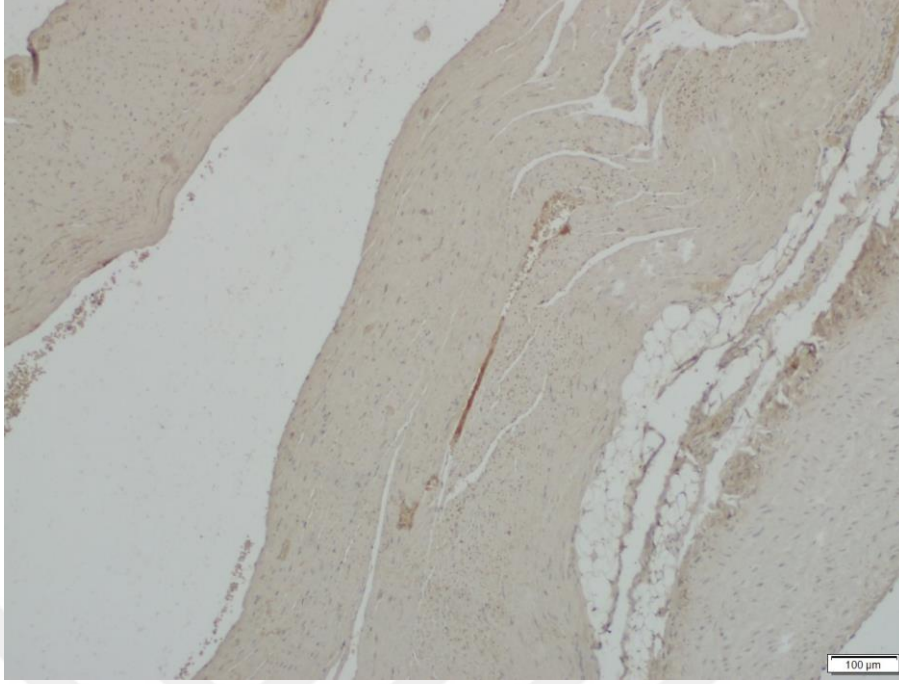
Şekil 4.26. Rutin grubu aorta dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi. Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



Şekil 4.27. L-NAME grubu aorta dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi (kırmızı oklar). Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



Şekil 4.28. L-NAME+Rutin grubu aorta dokusunda CMKLR1 immünoreaktivitesi (kırmızı oklar). Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



Şekil 4.29. Negatif kontrol aorta dokusu (Mayer's haematoksilen X10)

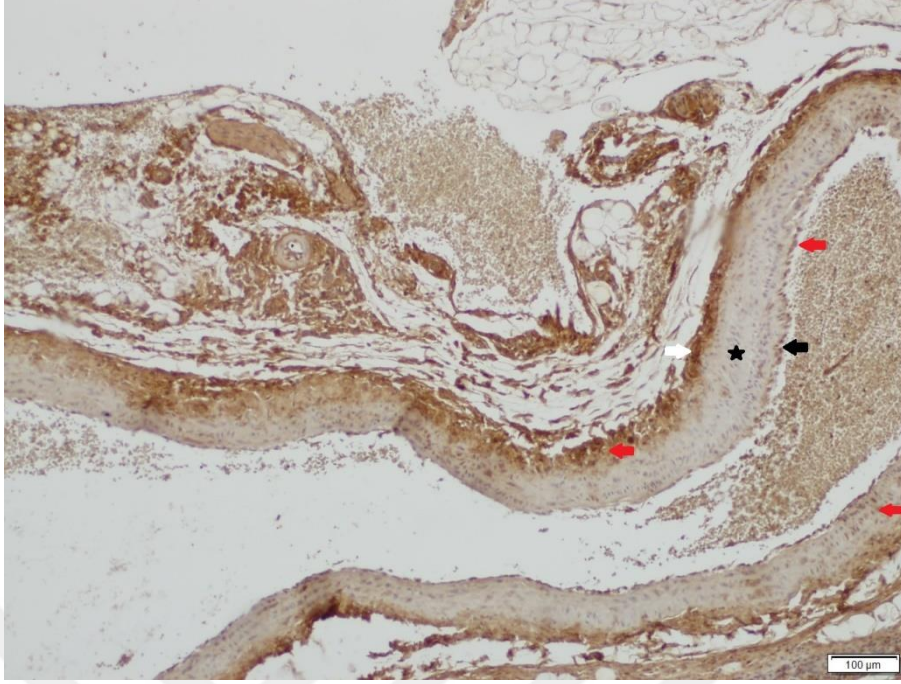
4.4.2.2. eNOS ekspresyonu

Tüm grupların eNOS immünoaktivite histoskorlarının sonuçları Tablo 4.7'de verildi. Kontrol (Şekil 4.30) ve Rutin (Şekil 4.31) grubu sıçanlara ait aorta dokusunun katmanlarında eNOS immünoaktivitesine rastlandı. Buna rağmen, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait aorta dokusunda eNOS immünoaktivitesinin azaldığı ortaya konuldu (Şekil 4.32). Öte taraftan, L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait aorta dokusunda özellikle endotel hücrelerinde eNOS immünoaktivitesinin arttığı gözlemlendi (Şekil 4.33). Negatif kontrol dokusunda ise pozitiflik gözlenmedi (Şekil 4.34).

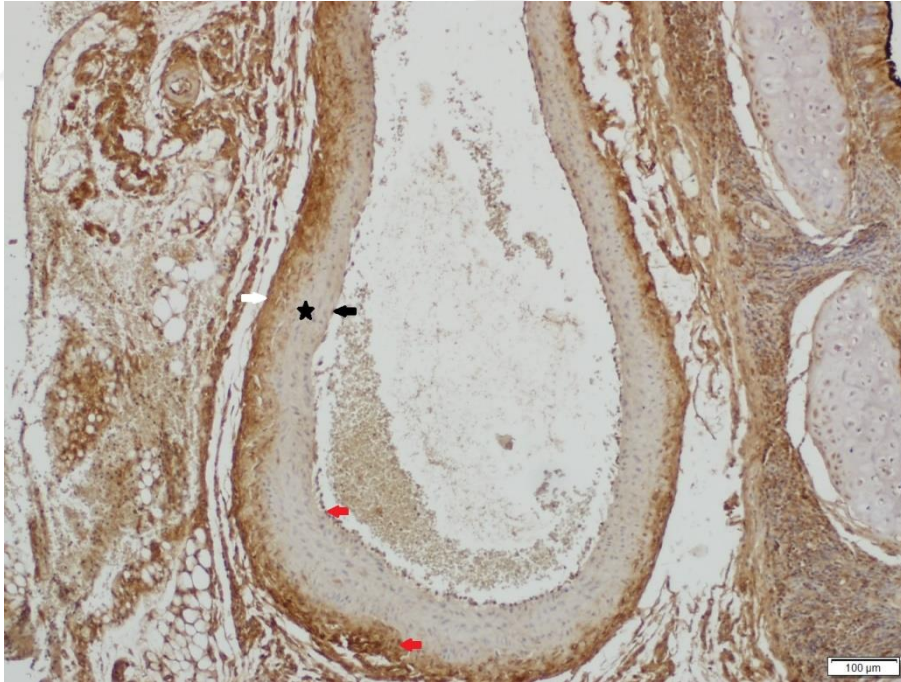
Tablo 4.7. L-NAME indüklü hipertansiyonda aorta dokusundaki eNOS immünoaktivitesi üzerine Rutin'in etkisinin skorlanması

Gruplar	eNOS
Kontrol	2.70 ± 0.52^a
Rutin	2.70 ± 0.39^a
L-NAME	0.99 ± 0.46^c
L-NAME+Rutin	1.99 ± 0.45^b

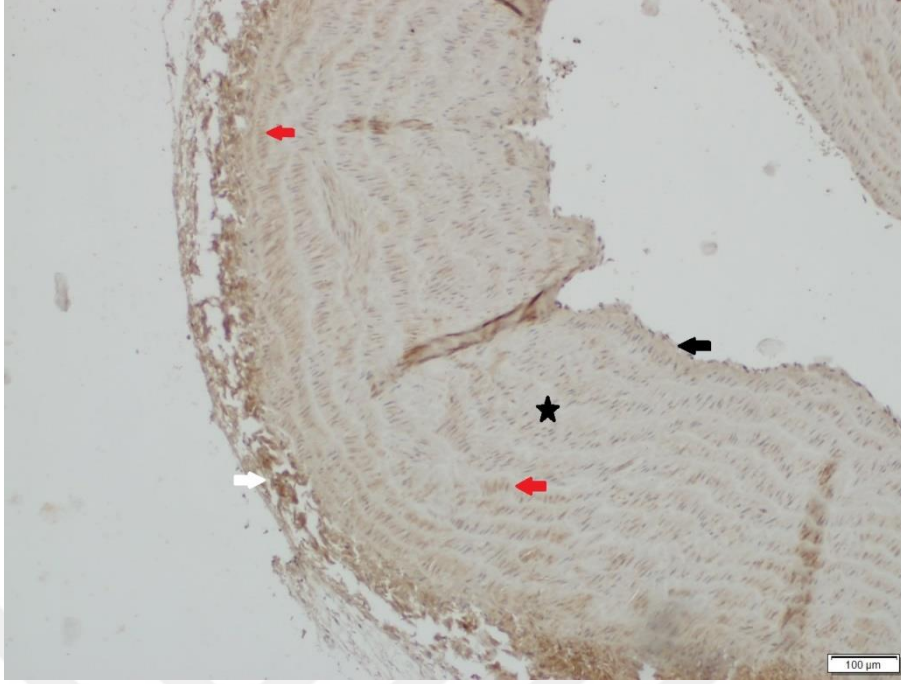
Veriler her grup için ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir ($p < 0.05$). a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark anlamlıdır. L-NAME: NG-nitro-L-arjinin-metil ester, eNOS: endotelial nitrik oksit sentaz.



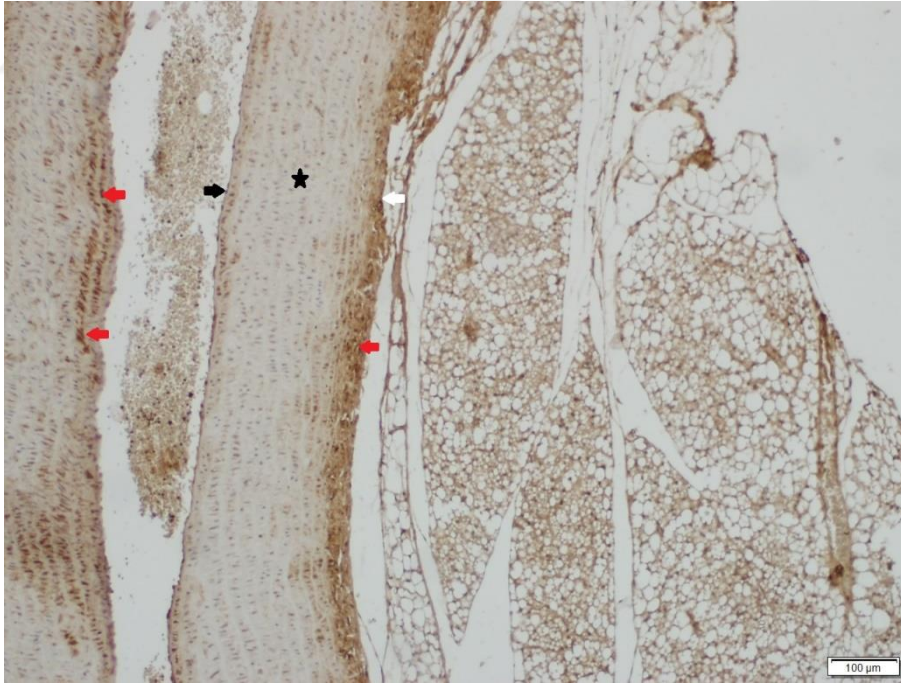
Şekil 4.30. Kontrol grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (kırmızı oklar). Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



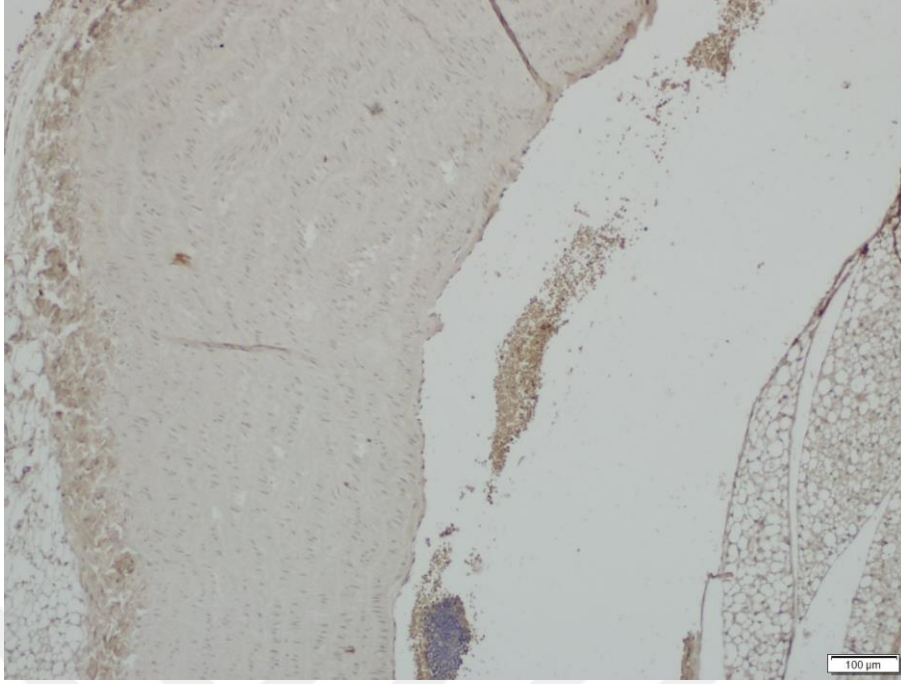
Şekil 4.31. Rutin grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (kırmızı oklar). Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



Şekil 4.32. L-NAME grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (kırmızı oklar). Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



Şekil 4.33. L-NAME+Rutin grubu aorta dokusunda eNOS immünoreaktivitesi (kırmızı oklar). Siyah ok: intima tabakası, yıldız: media tabakası, beyaz ok: adventisya tabakası (Mayer's haematoksilen X10)



Şekil 4.34. Negatif kontrol aorta dokusu (Mayer's haematoksilen X10)

Hipertansiyon, ilk olarak Irvine Paige tarafından yüksek kan basıncının genetik, çevresel, anatomik, adaptif, nöral, endokrin, humoral ve hemodinamik faktörler dahil olmak üzere birçok unsur arasındaki etkileşimi içerdiğini öne sürdüğü mozaik teorisinde tanımlandığı gibi karmaşık, çok faktörlü ve çok sistemli bir hastalıktır (Oparil ve ark., 2018). O zamandan bu yana hipertansiyonun altında yatan çok sayıda bileşeni birbirine bağlayan moleküler ve hücresel süreçlerin keşfedilmesinde büyük ilerleme kaydedilmiştir. 2013 yılında David Harrison, Paige'in mozaik teorisini yeniden gözden geçirerek, hipertansiyonda çeşitli hücresel olayları ve organ sistemlerini koordine eden ana faktörler olarak ortak moleküler mekanizmaları, özellikle oksidatif stres ve inflamasyonu vurgulamıştır (Harrison, 2013).

Oksidatif stres, aşırı ROS üretimi ve değişen oksidasyon-redüksiyon (redoks) durumuyla karakterize edilmektedir. Bu moleküler olaylar, hipertansiyonda bozulmuş vasküler fonksiyona, kardiyovasküler yeniden yapılanmaya, böbrek fonksiyon bozukluğuna, bağışıklık hücresi aktivasyonuna ve sempatik sinir sistemi uyarılmasına katkıda bulunan önemli süreçler olan inflamasyona, proliferasyona, apoptoza, migrasyona ve fibroza yol açan protein oksidasyonunu ve düzensiz hücre sinyali indüklemektedir (Harrison, 2013; Harvey ve ark., 2015; Oparil ve ark., 2018; Stanley ve ark., 2019).

Kardiyovasküler ROS'un önemli bir kaynağı fagositik olmayan NADPH oksidaz ailesidir (kemirgenlerde Nox1, Nox2 ve Nox4 ve insanlarda Nox1, Nox2, Nox4 ve Nox5) (Lassegue ve Clempus, 2003; Knock, 2019). Nox izoformlarının ekspresyonu ve aktivasyonu hipertansiyonda artmakta ve hipertansiyonla ilişkili hedef organ hasarında kardiyovasküler, renal ve immun hücrelerde oksidatif stresin olası bir nedeni olarak bildirilmektedir (Touyz ve Schiffrin, 2001; Lassegue ve Clempus, 2003; Montezano ve ark., 2011). ROS'un diğer enzimatik kaynakları arasında mitokondriyal oksidazlar, ksantin oksidaz, endoplazmik retiküler oksidazlar ve bağlanmamış NOS bulunmaktadır.

Oksidatif stres, genetik hipertansiyon (spontan hipertansif sıçanlar ve felce eğilimli spontan hipertansif sıçanlar), endokrin kaynaklı hipertansiyon (A-II, aldosteron, deoksikortikosteron asetat), cerrahi olarak indüklenen hipertansiyon (2 böbrek 1 klip, aortik bantlama), diyet kaynaklı hipertansiyon (tuz, yağ, çinko), nörojenik hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon ve preeklampsi dahil olmak üzere hipertansiyonun çeşitli deneysel modellerinde artan kan basıncıyla nedensel olarak ilişkilendirilmiştir (Touyz ve ark., 2020).

Deneysel hayvan modellerinin gelişimi esas olarak hipertansiyon gelişimi ve tedavisinde etkili ilaç arayışlarının bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Birçok deneysel hipertansiyon modeli geliştirilmesine rağmen, insanlarda ortaya çıkan hipertansiyon ile en uyumlu olan modelin L-NAME gibi NOS inhibitörlerinin kullanılmasıyla oluşturulduğu ve bu modelin yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Shepherd ve Katusic, 1991). NOS inhibitörleri ile indüklenen hipertansiyon modelinin periferik vasküler daralmaya sebep olduğu ve damar direncini arttırdığı bilinmektedir (Biancardi ve ark., 2007).

Sunulan tez çalışmasında sıçanlara 21 gün boyunca 50 mg/kg/BW dozunda L-NAME verilmesiyle oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde 100 mg/kg/BW dozunda Rutin uygulamasının etkileri incelendi. Bu amaçla kontrol, L-NAME, L-NAME+Rutin ve Rutin grupları oluşturuldu. Çalışmanın 0., 7., 14. ve 21. günlerinde tüm sıçanların kuyruk veninden tail-cuff metoduyla ölçülen kan basıncı değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($p < 0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanların SKB değerlerinde anlamlı bir artışın olduğu ($p < 0.05$) tespit edildi. Mevcut sonuçlarımız deneysel hipertansiyon modelinin gerçekleştiğini göstermektedir. Kan basıncında gözlenen artışın literatürde L-NAME ile oluşturulan deneysel hipertansiyon modelleri ile uyumluluk gösterdiği belirlendi (Paredes ve ark., 2018; Ntchapda ve ark., 2020; Panthiya ve ark., 2022).

Flavonoidler, tipik besleyici değerden yoksun olsalar da, giderek daha çok koroner kalp hastalığı, kanserler ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi çeşitli hastalıklara karşı muhtemel koruyucular olarak hareket eden değerli diyet bileşenleri olarak kabul edilmektedir. Bunlar, birçok hidroksil/fenolik gruba sahip, yüksek antioksidan özellikler gösteren, naturel yapıdaki sekonder metabolitlerdir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, flavonoidlerin sahip oldukları etki mekanizmaları ile oksidatif stres oluşumunu azalttıkları ve antioksidan savunma sistemini destekleyerek oksidan/antioksidan dengeyi antioksidan tarafa doğru yönlendirdikleri anlaşılmaktadır (İleriturk ve ark., 2021a; İleriturk ve ark., 2021b). Turunçgillerden elde edilen Rutin çeşitli antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-ülser, anti-alerjik, anti-kanserojen ve anti-mutojenik aktiviteler göstermesinin yanı sıra farmakolojik özelliklerinden dolayı olağanüstü derecede önem kazanmış bir besinsel flavonoid olarak bilinmektedir (Kandemir ve ark., 2020). Çalışmamızda L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanların SKB değerlerinde anlamlı bir azalışın olduğu ($p<0.05$) belirlendi. Rutin uygulanmasıyla L-NAME hipertansif sıçanların kan basıncındaki azalışı gösteren sonuçlarımızın literatür ile uyumluluk gösterdiği belirlendi (Raju ve ark., 2019; Oyagbemi ve ark., 2020). Raju ve ark. (2019), 21 gün boyunca 50 mg/kg dozunda L-NAME uygulanmasıyla indüklenmiş hipertansif sıçanlarda 200 ve 400 mg/kg/BW doz seviyelerinde oral yolla uygulanan Rutin'in L-NAME kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SKB'nı önemli ölçüde azaltarak antihipertansif etki gösterdiğini rapor etmiştir. Çalışmacılar, bu etkiyi L-NAME kaynaklı NO sentezinin inhibisyonuna bağlı olarak Rutin uygulamasıyla ACE aktivitesinin inhibisyonundan kaynaklanabileceğini ifade etmiştir. Ayrıca Oyagbemi ve ark. (2020) da 40 mg/kg dozunda L-NAME uygulanmış sıçanlara 100 mg/kg/BW dozunda verilen Rutin'in antioksidan ve anti-inflamatuvar aktivitesine dikkati çekmiştir. Araştırmacılar, Rutin'in antihipertansif etki mekanizmasının renal ACE ve mineralokortikoid reseptör inhibisyonu yoluyla gerçekleştiğini öne sürmüştür.

Hücresel düzeyde, ROS'un düzenlenmiş üretimi metabolizma için önemliyken aşırı miktarda ROS birikimi hücre hasarı, DNA mutasyonları ve hatta programlanmış hücre ölümü (apoptoz) gibi birçok patolojik durumu tetikleyebilmektedir (Bayr, 2005; Yang ve ark., 2019). ROS gibi serbest radikaller direkt olarak hücresel yapılara saldırabilmekte ve hücre içi sinyal yollarını etkileyerek böbrek hasarına yol açan sistemik yanıtları tetiklemektedir. ROS özellikle nükleer faktör kappa B (Nf- κ B), p53, protein kinaz C (PKC) gibi birçok önemli hücresel sinyal moleküllerini etkileyerek (Li ve Gobe, 2006;

Yuan ve ark., 2015; Zhang ve Sun, 2015) inflamasyon, apoptoz ve DNA hasarı gibi süreçleri başlatmakta ve böbrek dokusunda disfonksiyona neden olmaktadır. Böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve sıvı-elektrolit dengesinin korunmasında önemli bir rol oynayan arteriyollerde, glomerüler ve tubuler hücrelerde, makula densa ve podositlerde ROS'a daha çok rastlanmaktadır (Mennuni ve ark. , 2014). Ayrıca böbrekte oksidatif stresten etkilenen bir başka yapı olan proksimal tubullerdeki artan ROS üretimi, Na⁺/H⁺ değiştirici (NHE3) aktivitesini azaltarak Na⁺ geri emilimini düşürerek apoptoz ve nekroz gibi hücre hasar mekanizmalarını tetikleyebilmektedir (Ratliff ve ark., 2016).

Hipertansiyonun böbrek damar yatağındaki etkisinin mikrosirkülasyon derecesine bağlı olduğu bilinmektedir. Böbrekteki kan akımı ve basıncını sağlamada görevli preglomerüler otoregülatör mekanizmanın yetersizliği sonucunda da renal hasar oluşumunun hızlandığı ifade edilmektedir (Bidani ve Griffin, 2004). Gerçekleştirilen deneysel modeller, böbrekteki ROS üretimindeki artışın yüksek kan basıncıyla doğru orantılı olduğunu ve hipertansiyonun ilerlemesini hızlandığını göstermiştir. Yüksek O₂^{•-} seviyeleri, hem vasküler hem de tubuler elemanlarda işlev bozukluğuna yol açarak H₂O₂, basınç natriürezinin modülasyonunda rol almaktadır. Bu modülasyon, preglomerüler vasküler reaktivitenin azaltılmasını ve medüller kan akışının artmasını içermektedir (Araujo ve Wilcox, 2014; Yang ve ark. , 2018).

Sunulan tez çalışmasında L-NAME verilmesiyle oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde sıçanların böbrek ve aorta dokularında çeşitli morfolojik değişiklikler gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanların böbrek dokularında glomerulusta dejenerasyon ve atrofi ile bazal membranda kalınlaşma ile birlikte anormal görünüm gözlenirken proksimal ve distal tubullerin epitel hücrelerinde vakuolizasyon, dejenerasyon ve nekroz ile bu tubullerin lümeninde birikmiş dejenere ve deskuame epitel hücreleri belirlendi. Ayrıca tubul lümeninde ödem ve hiyalin döküntüler ile intertubuler alanda hemoraji ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. Belirlenen bu morfolojik değişiklikler neticesinde böbrek hasarının oluştuğunu ifade edebiliriz. Böbrek yapısında gözlenen histopatolojik değişikliklerin literatürde L-NAME ile indüklenen deneysel hipertansiyon çalışmaları ile uyumluluk gösterdiği belirlendi (Greish ve ark., 2020; Nagarajan ve ark., 2023). Ayrıca çalışma sonuçlarımız, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait aorta dokusunda belirgin histopatolojik değişikliklerin olduğunu gösterdi. Bu değişiklikler; tüm duvar kalınlığında ve media tabakasındaki vasküler düz kas hücrelerinde artış olarak saptandı. Bulgularımızın

literatürde L-NAME ile gerçekleştirilen deneysel hipertansiyon çalışmaları ile uyumluluk sergilediği tespit edildi (Kanthlal ve ark., 2020; Panthiya ve ark., 2022; Maneesai ve ark., 2023).

Pagoda ağacının çiçeklerinde, meyvelerinde ve karabuğday tohumlarında büyük miktarlarda bulunan Rutin (Lova ve ark., 2021), oksidatif hasarı azaltabilen etkili bir doğal antioksidan olarak bilinmektedir (Choi ve ark., 2021). Rutin'in, hidrojen atomlarını oksijen radikallerine, süperoksit anyon radikallerine ve hidroksil radikallerine bağışlayarak klasik bir hücre hasarlayıcısı olan (Yang ve ark., 2019) ROS'u temizleyerek görev yaptığı rapor edilmiştir (Caglayan ve ark., 2019a). Rutin'in ayrıca antioksidan savunma sisteminin aktivitelerini önemli ölçüde iyileştirmesinin yanı sıra azaltılmış glutatyon (GSH) içeriğini de yenilediği ifade edilmiştir (Caglayan ve ark., 2019b). Sunulan çalışmada L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokularındaki histopatolojik değişikliklerin hafiflediği gözlemlendi. Rutin uygulanmasıyla L-NAME hipertansif sıçanların böbrek dokularındaki histopatolojik değişikliklerin azalışını gösteren sonuçlarımız, literatürde kısıtlı olarak yer alan Rutin'nin kullanıldığı deneysel hipertansiyon çalışmaları ile uyumluluk gösterdi (Oyagbemi ve ark., 2020). Bununla beraber, çalışma sonuçlarımız L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait aorta dokularındaki histopatolojik değişikliklerin hafiflediğini ortaya koydu. Bahsedilen bulgularımızın tartışılacağı Rutin'nin kullanıldığı hipertansiyon araştırmaları literatürde tespit edilemediğinden sunulan tez çalışmasının ilk çalışma olduğu söylenebilir.

Renal anjiyotensin sistemiyle uyumlu normal kan akışı, fizyolojik hemostazın sürdürülmesinde ve kan basıncının ayarlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. NOS'un endotelial izoformunun (eNOS) normal renal hemodinamiklerin sürdürülmesindeki önemi iyi bilinmektedir (Desjardins ve Balligand, 2006). Endotel fonksiyonu temel olarak eNOS tarafından üretilen NO'nun üretimine ve biyoyararlanımına bağlı olmaktadır. Deneysel hayvan modellerinde, NO seviyesinin azalması birçok hipertansif modelin ortak paydasıdır (Nishimoto ve ark., 2002) ve intrarenal NO'nun doğrudan inhibisyonu kan basıncında bir artışa neden olmaktadır (Baylis ve ark., 1992). Endotelial NO oluşumunun bozulması, hipertansiyon ve aterosklerozla ilişkili, ilerleyici böbrek hasarına neden olan önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Harrison, 1997). Ek olarak, eNOS ekspresyonu ve NO'nun biyoyararlanımı çeşitli sinyal iletim molekülleri, büyüme faktörleri reseptörleri ve sitokinler tarafından değiştirilebilmektedir (Herrera ve Garvin, 2005). Deneysel hipertansiyon modelinin oluşturulduğu sunulan tez çalışmasında, sıçanların böbrek ve aorta

dokularında eNOS ekspresyonları açısından immünohistokimyasal değişiklikler belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek dokusunda eNOS immünoaktivitesinin azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Bulgularımızın literatürde L-NAME ile gerçekleştirilen deneysel hipertansiyon çalışmaları ile uyumluluk sergilediği tespit edildi (Abdel-Rahman ve ark., 2017; Abdel-Zaher ve ark., 2018). Ek olarak çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait aorta dokusunda da eNOS immünoaktivitesinin azaldığını ortaya koydu ($p<0.05$). Aorta dokusundaki bu azalışın literatürde L-NAME ile indüklenen deneysel hipertansiyon çalışmaları ile uyumluluk gösterdiği belirlendi (Sharma ve ark., 2012; Hong ve ark., 2021).

Epidemiyolojik çalışmalar, diyetteki flavonoid alımı artışının, kardiyovasküler hastalık riskindeki azalmayla ilişkili olduğunu göstermiştir (Arts ve Hollman, 2005). Flavonoidlerin kardiyovasküler koruyucu etkilerine birden fazla mekanizma aracılık edebilirken olası bir yol olarak, eNOS ekspresyonunun ve NO sentezinin artırılması ifade edilmektedir. Daha yüksek eNOS seviyeleri tarafından üretilen artan NO'nin endotel disfonksiyonuna ve ateroskleroza yol açan yolakları engelleyebildiği öne sürülmüştür (Appeldoorn ve ark., 2009). Ugusman ve ark. (2014), Rutin'in eNOS mRNA ekspresyonunu, protein sentezini ve eNOS aktivitesini indükleyerek İnsan Umbilikal Ven Endotelial Hücrelerinde (HUVEC) NO üretimini desteklediğini rapor etmiştir. Deneysel hipertansiyon modelinin oluşturulduğu sunulan tez çalışmasında, sıçanların böbrek ve aorta dokularında eNOS ekspresyonları açısından immünohistokimyasal değişiklikler belirlenmiştir. L-NAME grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokusunda eNOS immünoaktivitesinin arttığı dikkati çekti ($p<0.05$). Rutin verilmesiyle L-NAME hipertansif sıçanların böbrek ve aorta dokularındaki eNOS immünoaktivitesinin artışını gösteren bulgularımızın tartışılacağı Rutin'in kullanıldığı hipertansiyon araştırmaları literatürde tespit edilemediğinden sunulan tez çalışmasının ilk çalışma olduğu ifade edilebilir.

Chemerin, kardiyovasküler sistemdeki metabolik bozuklukların ve inflamatuvar hastalıkların patogenezinde birçok rolü olan bir adipokindir (Macvanin ve ark., 2022). Bu adipokininin sistemik düzeyleri; beden kitle indeksi (BKİ), insülin direnci ve serum trigliseridleri gibi obezite ile ilişkili fenotiplerle pozitif korelasyon göstermekte ve bu da onun metabolik hastalıklardaki işlevini düşündürmektedir (Rourke ve ark., 2013). Özellikle renal Chemerin ekspresyonunun böbrek hasarına bağlı inflamasyon ve fibrozis süreçleriyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Mocker ve ark., 2019). Bununla birlikte koroner arter

hastalığı varlığı ile serum Chemerin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon gözlenmesinden dolayı bu adipokin düzeylerinin koroner lezyonların şiddetini belirlediği de ileri sürülmüştür (Dong ve ark., 2011; Yan ve ark., 2012). Özellikle perivasküler dokudaki Chemerin sekresyonunun aort ve koroner ateroskleroz ile pozitif korelasyon gösterdiği ifade edilmiştir (Spiroglou ve ark., 2010). Öte yandan primer hipertansiyonu olan yetişkin hastaların, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek serum Chemerin konsantrasyonlarına sahip olduğu gözlenmiştir (Ji ve ark., 2014). Reseptörü CMKLR1'in kan damarlarının endotelinde ve düz kas katmanlarında tanımlanmış olması, vasküler tonusu ve düz kas kasılmalarını hafiflettiği için Chemerin'in hipertansiyon gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Ferland ve Watts, 2015).

Sunulan tez çalışmasında L-NAME ile oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde sıçanların böbrek ve aorta dokularında CMKLR1 ekspresyonları açısından immünohistokimyasal değişiklikler tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek dokusunda CMKLR1 immünoaktivitesinin arttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Sonuçlarımızın literatürde kısıtlı olarak yer alan deneysel hipertansiyon çalışmaları ile uyumluluk gösterdiği tespit edildi (Mocker ve ark., 2019). Ayrıca çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait aorta dokusunda da CMKLR1 immünoaktivitesinin arttığı belirlendi ($p<0.05$). Literatürde kısıtlı olarak yer alan deneysel hipertansiyon modelleri ile aorta dokusundaki bu artışın uyumluluk gösterdiği belirlendi (Weng ve ark., 2013).

Yapılan araştırmalar, obezite ve ilişkili anormallikleri azaltmak için potansiyel hedefler olarak diyet polifenollerinin uygulanmasına odaklanmaktadır (Aloo ve ark., 2023). Bu diyet polifenollerinden bazılarının, obeziteyi ve inflamasyon dahil obeziteyle ilişkili komplikasyonları hafifletmek için gerekli biyolojik özellikleri sergilediği gösterilen curcumin ve resveratrol içerdiği bildirilmektedir (Kang ve ark., 2010; Wang ve ark., 2014). Beyaz yağ dokusu (WAT), inflamasyonun şiddetlenmesi sırasında ayrılmaz bir rol oynadığından (Villarroya ve ark., 2018), inflamasyonu hafifletmek ve metabolik komplikasyonlarla mücadele etmek için polifenollerin kahverengileşmeyi uyarmadaki terapötik etkilerini keşfetmeye güçlü bir ihtiyaç duyulmaktadır (Silvester ve ark., 2019; Mazibuko-Mbeje ve ark., 2020). İlginç biyoaktif bileşiklerden biri olan Rutin, çeşitli biyolojik ve terapötik etkileri nedeniyle büyüyen bir araştırma grubu olan doğal bir flavonoid olarak bilinmektedir (Yuan ve ark., 2017). Mevcut kanıtlar, Rutin'in WAT

kahverengileşmesini uyarabildiğini ve genel enerji metabolizma mekanizmalarını teşvik edebildiğini göstermektedir (Yuan ve ark., 2017; Ma ve ark., 2022). Kemirgenlerde ve insanlarda obeziteyle daha da artan, yeni tanımlanmış bir adipokin olan Chemerin ve onun fonksiyonel reseptörü olan CMKLR1'in WAT tarafından yapısal olarak bol miktarda eksprese edildiği bilinmektedir (Helfer ve Wu, 2018). Çok yakın zamanda, Muvhulawa ve ark. (2023) Rutin'in, TNF- α 'nın neden olduğu inflamasyonu hafiflettiğini ve 3T3-L1 adipositlerinde yağ kahverengileşmesini başlattığını ifade ederek anti-obezite tedavisi için potansiyel terapötik çıkarımlara sahip olduğunu ifade etmiştir.

Deneysel hipertansiyon modelinin oluşturulduğu sunulan tez çalışmasında, sıçanların böbrek ve aorta dokularında CMKLR1 ekspresyonları açısından immünohistokimyasal değişiklikler belirlenmiştir. L-NAME grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokusunda CMKLR1 immünoaktivitesinin azaldığı dikkati çekti ($p<0.05$). Rutin verilmesiyle L-NAME hipertansif sıçanların böbrek ve aorta dokularındaki CMKLR1 immünoaktivitesinin azalışını gösteren bulgularımızın tartışılacağı Rutin'in kullanıldığı hipertansiyon araştırmaları literatürde tespit edilemediğinden sunulan tez çalışmasının ilk çalışma olduğu söylenebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda sıçanlara 21 gün boyunca 50 mg/kg/BW dozunda L-NAME verilmesiyle oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde 100 mg/kg/BW dozunda Rutin uygulamasının etkileri incelendi. Bu amaçla kontrol, L-NAME, L-NAME+Rutin ve Rutin grupları oluşturuldu.
- Çalışmamızın 0., 7., 14. ve 21. günlerinde tüm sıçanların kuyruk veninden tail-cuff metoduyla ölçülen kan basıncı değerleri açısından gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık izlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanların OKB değerlerinde önemli bir artışın olduğu ($p<0.05$), L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanların OKB değerlerinde önemli bir azalışın olduğu ($p<0.05$) belirlendi.
- L-NAME verilmesiyle oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde sıçanların böbrek ve aorta dokularının ışık mikroskopik incelemesiyle çeşitli morfolojik değişiklikler tespit edildi. L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokularındaki histopatolojik değişikliklerin ise hafiflediği gözlemlendi.
- L-NAME ile oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde sıçanların böbrek ve aorta dokularında CMKLR1 ekspresyonları açısından immünohistokimyasal değişiklikler tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokularında CMKLR1 immünoaktivitesinin arttığı ($p<0.05$), L-NAME grubuna kıyasla L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokularında ise CMKLR1 immünoaktivitesinin azaldığı göze çarptı ($p<0.05$).
- Çalışmamızda sıçanların böbrek ve aorta dokularındaki eNOS ekspresyonları açısından immünohistokimyasal değişiklikler belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokularında eNOS immünoaktivitesinin azaldığı ($p<0.05$), L-NAME grubu ile karşılaştırıldığında L-NAME+Rutin grubu sıçanlara ait böbrek ve aorta dokularında ise eNOS immünoaktivitesinin arttığı dikkati çekti ($p<0.05$).
- Tez çalışmamızdan elde edilen tüm bu bulgular değerlendirildiğinde Rutin'in hipertansiyon sonucu indüklenen kan basıncı artışı ve histopatolojik değişiklikler üzerinde potansiyel rolleri olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca Rutin'in hipertansiyonla ilişkili yolaklar oldukları düşünülen CMKLR1 ve eNOS

imm noreaktivitesini de modüle edebileceği  ne sürülmektedir. Ancak bulgularımızın etki mekanizmasını net olarak göstermek için çeşitli çalışmalarla desteklenmesi ve Rutin'in bu modeldeki etkisinin ifade edilebilmesi için daha kapsamlı ve ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.



6. KAYNAKLAR

- Abdel-Rahman, R.F., Hessin, A.F., Abdelbaset, M., Ogaly, H.A., Abd-Elsalam, R.M., Hassan, S.M.,** 2017. Antihypertensive effects of roselle-olive combination in L-NAME-induced hypertensive rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017:1–24.
- Abdel-Zaher, A.O., Farghaly, H.S.M., El-Refaiy, A.E.M., Abd-Eldayem, A.M.,** 2018. Protective effect of the standardized leaf extract of *Ginkgo biloba* (EGb761) against hypertension-induced renal injury in rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 40:703–714.
- Aloo, S.-O., Ofosu, F.K., Kim, N.H., Kilonzi, S.M., Oh, D.H.,** 2023. Insights on dietary polyphenols as agents against metabolic disorders: obesity as a target disease. *Antioxidants*, 12:416.
- Appeldoorn, M.M., Venema, D.P., Peters, T.H.F., Koenen, M.E., Arts, I.C.W., Vincken, J.-P., Gruppen, H., Keijer, J., Hollman, P.C.H.,** 2009. Some phenolic compounds increase the nitric oxide level in endothelial cells in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17):7693–7699.
- Araujo, M., Wilcox, C.S.,** 2014. Oxidative stress in hypertension: role of the kidney. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(1):74-101.
- Arts, I.C.W., Hollman, P.C.H.,** 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1):317S–325S.
- Aydın, S., Kuloglu, T., Ozercan, M.R., Albayrak, S., Aydın, S., Bakal, U., Yilmaz, M., Kalayci, M., Yardim, M., Sarac, M., Kazez, A., Kocdor, H., Kanat, B., Ozercan, İ.H., Gonen, M., Bilgen, M., Balgetir, F.,** 2016. Irisin immunohistochemistry in gastrointestinal system cancers. *Biotechnic & Histochemistry*, 91(4):242–250.
- Baylis, C., Mitruka, B., Deng, A.,** 1992. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *The Journal of Clinical Investigation*, 90:278–281.
- Bayr, H.,** 2005. Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*, 33(12):S498–S501.
- Biancardi, V.C., Bergamaschi, C.T., Lopes, O.U., Campos, R.R.,** 2007. Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(3):401–408.
- Bidani, A.K., Griffin, K.A.,** 2004. Pathophysiology of hypertensive renal damage: implications for therapy. *Hypertension*, 44(5):595–601.
- Booth, A., Magnuson, A., Fouts, J., Foster, M.,** 2015. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 21(1):57–74.

- Bozaoglu, K., Bolton, K., McMillan, J., Zimmet, P., Jowett, J., Collier, G., Walder, K., Segal, D., 2007.** Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology*, 148(10):4687–4694.
- Budzynska, B., Faggio, C., Kruk-Slomka, M., Samec, D., Nabavi, S.F., Sureda, A., Devi, K.P., Nabavi, S.M., 2019.** Rutin as neuroprotective agent: from bench to bedside. *Current Medicinal Chemistry*, 26:5152–5164.
- Caglayan, C., Demir, Y., Kucukler, S., Taslimi, P., Kandemir, F.M., Gulçin, İ., 2019a.** The effects of hesperidin on sodium arsenite-induced different organ toxicity in rats on metabolic enzymes as antidiabetic and anticholinergics potentials: a biochemical approach. *Journal of Food Biochemistry*, 43(2):e12720.
- Caglayan, C., Kandemir, F.M., Yildirim, S., 2019b.** Rutin protects mercuric chloride-induced nephrotoxicity via targeting of aquaporin 1 level, oxidative stress, apoptosis and inflammation in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 54:69–78.
- Celik, M.N., Söğüt, M.Ü., 2019.** Probiotics improve chemerin levels and metabolic syndrome parameters in obese rats. *Balkan Medical Journal*, 36(5):270.
- Chan, S.H.H., Tai, M.H., Li, C.Y., Chan, J.Y.H., 2006.** Reduction in molecular synthesis or enzyme activity of superoxide dismutases and catalase contributes to oxidative stress and neurogenic hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 40:2028–2039.
- Choi, I., Park, Y., Choi, H., Lee, E.H., 2006.** Anti-adipogenic activity of rutin in 3T3-L1 cells and mice fed with high-fat diet. *Biofactors*, 26:273–281.
- Choi, S.S., Park, H.R., Lee, K.A., 2021.** A comparative study of rutin and rutin glycoside: antioxidant activity, anti-inflammatory effect, effect on platelet aggregation and blood coagulation. *Antioxidants* 10, 1696.
- Coelho, M., Oliveira, T., Fernandes, R., 2013.** Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Archives of Medical Science*, 9(2):191.
- Cohuet, G., Struijker-Boudier, H., 2006.** Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: Therapeutic potential. *Pharmacology and Therapeutics*, 111:81–98.
- Colhoun, H.M., McKeigue, P.M., Smith, G.D., 2003.** Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 361:865–872.
- Desjardins, F., Balligand, J.L., 2006.** Nitric oxide-dependent endothelial and cardiovascular disease. *Acta Clinica Belgica*, 61:326–334.
- Dong, B., Ji, W., Zhang, Y., 2011.** Elevated serum chemerin levels are associated with the presence of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Internal Medicine*, 50:1093–1097.

- Durak, K., Kaleli, T., Tuncel, P., Özbek, R., Turan, K., 1996.** Antioxidant effect of alfatocopherol on fracture haematoma in rabbit. *Journal of International Medical Research*, 24:419–424.
- Erisir, M., Kandemir, FM., Benzer, F., 2010.** Koç katımının kandaki malondialdehit ve bazı antioksidanlar üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 5(2):49–54.
- Ferland, D.J., Watts, S.W., 2015.** Chemerin: A comprehensive review elucidating the need for cardiovascular research. *Pharmacological Research*, 99:351–361.
- Fiordaliso, F., Cuccovillo, I., Bianchi, R., Bai, A., Doni, M., Salio, M., De Angelis, N., Ghezzi, P., Latini, R., Masson, S., 2006.** Cardiovascular oxidative stress is reduced by an ACE inhibitor in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Life Sciences*, 79:121–129.
- Ganeshpurkar, A., Saluja, A.K., 2017.** The pharmacological potential of rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25:149–164.
- Gimble, J.M., 2003.** Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 3(5):705–713.
- Greish, S.M., Abdel-Hady, Z., Mohammed, S.S., Abdel-Hamed, A.R., Masoud, R.E., Eltamany, D.A., Abogresha, N.M., 2020.** Protective potential of curcumin in L-NAME-induced hypertensive rat model: AT1R, mitochondrial DNA synergy. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 12(5):134–146.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2013.** Tıbbi Fizyoloji. In: Yeğen BÇ, editor. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. pp. 201–228.
- Gürdöl, F., Ademoğlu, E., 2005.** Biyokimya. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. pp. 746–747.
- Hall, J.E., Hall, M.E., 2020.** Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book: Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book. Elsevier Health Sciences.
- Hamilton, C.A., Brosnan, M.J., McIntyre, M., Graham, D., Dominiczak, A.F., 2001.** Superoxide excess in hypertension and aging: a common cause of endothelial dysfunction. *Hypertension*, 37:529–534.
- Hamilton, C.A., Brosnan, M.J., Al-Benna, S., Berg, G., Dominiczak, A.F., 2002.** NAD(P)H oxidase inhibition improves endothelial function in rat and human blood vessels. *Hypertension*, 40:755–762.
- Harrison, D.G., 1997.** Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *The Journal of Clinical Investigation*, 100:2153–2157.

- Harrison, D.G.**, 2013. The mosaic theory revisited: common molecular mechanisms coordinating diverse organ and cellular events in hypertension. *Journal of the American Society of Hypertension*, 7:68–74.
- Harvey, A., Montezano, A.C., Touyz, R.M.**, 2015. Vascular biology of ageing implications in hypertension. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 8:112–121.
- Helfer, G., Wu, Q.F.**, 2018. Chemerin: a multifaceted adipokine involved in metabolic disorders. *Journal of Endocrinology*, 238:R79–R94.
- Herrera, M., Garvin, J.L.**, 2005. Recent advances in the regulation of nitric oxide in the kidney. *Hypertension*, 45:1062–1067.
- Hong, M.H., Kim, H.Y., Jang, Y.J., Na, S.W., Han, B.H., Yoon, J.J., Seo, C.S., Lee, H.S., Lee, Y., Kang, J.D.G.**, 2021. New therapeutic insight into the effect of Ma Huang Tang on blood pressure and renal dysfunction in the L-NAME-induced hypertension, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 13.
- Hosseinzadeh, H., Nassiri-Asl, M.**, 2014. Review of the protective effects of rutin on the metabolic function as an important dietary flavonoid. *Journal of Endocrinological Investigation*, 37:783–788.
- Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H.**, 1981. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 29(4):577–580.
- Ileriturk, M., Benzer, F., Aksu, E.H., Yildirim, S., Kandemir, F.M., Dogan, T., Dortbudak, M.B., Genc, A.**, 2021a. Chrysin protects against testicular toxicity caused by lead acetate in rats with its antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic properties. *Journal of Food Biochemistry*, 45(2):e13593.
- Ileriturk, M., Doğan, T., Kandemir, Ö.**, 2021b. Investigation of the effect of berberine with arginase activity and oxidant-antioxidant parameters on bortezomib-induced spleen injury in rats. *Kocatepe Veterinary Journal*, 14(1):6–15.
- Ji, Q., Lin, Y., Liang, Z., Yu, K., Liu, Y., Fang, Z., Liu, L., Shi, Y., Zeng, Q., Chang, C., Chai, M., Zhou, Y.**, 2014. Chemerin is a novel biomarker of acute coronary syndrome but not of stable angina pectoris. *Cardiovascular Diabetology*, 13:145.
- Joshi, D., Mittal, D.K., Shukla, S., Srivastav, S.K., Dixit, V.A.**, 2017. Curcuma longa Linn. extract and curcumin protect CYP 2E1 enzymatic activity against mercuric chloride induced hepatotoxicity and oxidative stress: a protective approach. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(6):373–382.
- Kandemir, F.M., Hanedan, B., Aktaş, M.S., Küçükler, S., ve Çağlayan, C.**, 2020. Ratlarda sisplatinden kaynaklanan nefrotoksisite üzerine rutin iyileştirici etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 34(3):147–151.

- Kang, L., Heng, W., Yuan, A., Baolin, L., Fang, H.,** 2010. Resveratrol modulates adipokine expression and improves insulin sensitivity in adipocytes relative to inhibition of inflammatory responses. *Biochimie*, 92:789–796.
- Kaplan, N.M.,** 1998. Primary Hypertension: Pathogenesis. In: Kaplan NM (Ed.). *Clinical hypertension. 7th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, A Waverly Co.* pp. 41–99.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş.,** 2016. Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1(1):65–76.
- Kaur, J., Adya, R., Tan, B.K., Chen, J., Randeva, H.S.,** 2010. Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: chemerin-induced endothelial angiogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 391:1762–1768.
- Kanthlal, S.K., Joseph, J., Paul, B., Vijayakumar, M., Umadevi, P.,** 2020. Antioxidant and vasorelaxant effects of aqueous extract of large cardamom in LNAME induced hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension*, 42(7):581–589.
- Khan, R.A., Khan, M.R., Sahreen, S.,** 2012. Protective effects of rutin against potassium bromate induced nephrotoxicity in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12:204.
- Kılıçkap, M., Barçın, C., Göksülük, H., Karaaslan, D., Özer, N., Kayıkçıoğlu, M., Ural, D., Yılmaz, M.B., Abacı, A., Arıcı, M., Altun, B., Tokgözoğlu, L., Şahin, M.,** 2018. Türkiye’de hipertansiyon sıklığı ve kan basıncı verileri: Kardiyovasküler risk faktörlerine yönelik epidemiyolojik çalışmaların sistematik derleme, meta-analiz ve metaregresyonu. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 525–545.
- Knock, G.A.,** 2019. NADPH oxidase in the vasculature: expression, regulation and signalling pathways; role in normal cardiovascular physiology and its dysregulation in hypertension. *Free Radical Biology and Medicine*, 1:385–427.
- Korkmaz, A., Kolankaya, D.,** 2010. Protective effect of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. *Journal of Surgical Research*, 164:309–315.
- Korkmaz, A., Kolankaya, D.,** 2013. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Canadian Journal of Surgery*, 56: 6–14.
- Kurusaki, R., Muramatsu, Y., Kato, H., Watanabe, Y., Imai, Y., Itoyama, Y., Araki, T.,** 2005. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor perindopril on interneurons in mptp-treated mice. *European Neuropsychopharmacology*, 15:57–67.

- Lan, C-Z., Ding, L., Su, Y-l., Guo, K., Wang, L., Kan, H-W., Ou, Y-R., Gao, S., 2015.** Grape seed proanthocyanidins prevent DOCA-salt hypertension-induced renal injury and its mechanisms in rats. *Food and Function*, 6(7):2179–2186.
- Landmesser, U., Dikalov, S., Price, S.R., McCann, L., Fukai, T., Holland, S.M., Mitch, W.E., Harrison, D.G., 2003.** Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *The Journal of Clinical Investigation*, 111:1201–1209.
- Lassegue, B., Clempus, R.E., 2003.** Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 2:R277–R297.
- Lehr, S., Hartwig, S., Sell, H., 2012.** Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics: Clinical Applications*, 6:91–101.
- Li, J., Gobe, G., 2006.** Protein kinase C activation and its role in kidney disease. *Nephrology*, 11(5):428–434.
- Li, J., Lu, Y., Li, N., Li, P., Wang, Z., Ting, W., Liu, X., Wu, W., 2020.** Chemerin: A Potential Regulator of Inflammation and Metabolism for Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Pulmonary Rehabilitation. *Biomed Research International*, 2020:4574509.
- Lova, G.M., Calniceanu, H., Popa, A., Szuhaneck, C.A., Marcu, O., Ciavoi, G., Scrobota, I., 2021.** The antioxidant effect of curcumin and rutin on oxidative stress biomarkers in experimentally induced periodontitis in hyperglycemic wistar rats. *Molecules*, 26(5):1332.
- Ma, B.B., Hao, J.H., Xu, H.M., Liu, L., Wang, W.D., Chen, S.Z., Wu, H.W., 2022.** Rutin promotes white adipose tissue "browning" and brown adipose tissue activation partially through the calmodulin-dependent protein kinase kinase beta/AMP- activated protein kinase pathway. *Endocrine Journal*, 69:385–397.
- Macvanin, M.T., Rizzo, M., Radovanovic, J., Sonmez, A., Paneni, F., Isenovic, E.R., 2022.** Role of chemerin in cardiovascular diseases. *Biomedicines*, 10:2970.
- Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Böhm, M., et al., 2013.** 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of Hypertension*, 34(28):2159–2219.
- Maneesai, P., Potue, P., Khamseekeaw, J., Sangartit, W., Rattanakanokchai, S., Poasakate, A., Pakdeechote, P., 2023.** Kaempferol protects against cardiovascular abnormalities induced by nitric oxide deficiency in rats by suppressing the TNF- α pathway. *European Journal of Pharmacology*, 960(2023):176112.

- Mattern, A., Zellmann, T., Beck-Sickinger, A.G.,** 2014. Processing, signaling, and physiological function of chemerin. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 66(1):19–26.
- Mazibuko-Mbeje, S.E., Ziqubu, K., Dlodla, P.V., Tiano, L., Silvestri, S., Orlando, P., Nyawo, T.A., Louw, J., Kappo, A.P., Muller, C.J.F.,** 2020. Isoorientin ameliorates lipid accumulation by regulating fat browning in palmitate-exposed 3T3-L1 adipocytes. *Metabolism Open*, 6(2020):100037.
- Mennuni, S., Rubattu, S., Pierelli, G., Tocci, G., Fofi, C., Volpe, M.,** 2014. Hypertension and kidneys: unraveling complex molecular mechanisms underlying hypertensive renal damage. *Journal of Human Hypertension*, 28(2):74–79.
- Mocker, A., Hilgers, K.F., Cordasic, N., Wachtveitl, R., Menendez-Castro, C., Woelfle, J., Hartner, A., Fahlbusch, F.B.,** 2019. Renal chemerin expression is induced in models of hypertensive nephropathy and glomerulonephritis and correlates with markers of inflammation and fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20:6240.
- Modi, S., Lowder, D.M.,** 2006. Medications for migraine prophylaxis. *American Family Physician*, 73(1):72–78.
- Monassier, L., Combe, R., Fertak, L.E.,** 2006. Mouse models of hypertension. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 3:273–281.
- Montezano, A.C., Burger, D., Ceravolo, G.S., Yusuf, H., Montero, M., Touyz R.M.,** 2011. Novel Nox homologues in the vasculature: focusing on Nox4 and Nox5. *Clinical Science (Lond)*, 1:131–141.
- Muvhulawa, N., Dlodla, P.V., Mthembu, S.X.H., Ziqubu, K., Tiano, L., Mazibuko-Mbeje, S.E.,** 2023. Rutin attenuates tumor necrosis factor- α -induced inflammation and initiates fat browning in 3T3-L1 adipocytes: potential therapeutic implications for anti-obesity therapy. *South African Journal of Botany*, 160:697–704.
- Nafees, S., Rashid, S., Ali, N., ve Hasan, S.K., Sultana, S.,** 2015. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in wistar rats: role of NF κ B/MAPK pathway. *Chemico-Biological Interactions*, 231:98–107.
- Nagarajan, M., Maadurshni, G.B., Manivannan, J.,** 2023. Exposure to low dose of Bisphenol A (BPA) intensifies kidney oxidative stress, inflammatory factors expression and modulates Angiotensin II signaling under hypertensive milieu. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 38:e23533.
- Nagpal, S., Patel, S., Jacobe, H., DiSepio, D., Ghosn, C., Malhotra, M., Teng, M., Duvic, M., Chandraratna, R.A.,** 1997. Tazarotene-induced gene 2 (TIG2), a novel retinoid-responsive gene in skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 109(1):91–95.

- Nishimoto, Y., Tomida, T., Matsui, H., Ito, T., Okumura, K., 2002. Decrease in renal medullary endothelial nitric oxide synthase of fructose-fed, salt sensitive hypertensive rats. *Hypertension*, 40:190–194.
- Ntchapda, F., Bonabe, C., Atsamo, A.D., Kemeta Azambou, D.R., Bekono Fouda, Y., Imar Djibrine, S., Seke Etet, P.F., Theophile, D., 2020. Effect of aqueous extract of *Adansonia digitata* stem bark on the development of hypertension in L-NAME-induced hypertensive rat model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–10.
- Onat, T., Emerk, K., Sönmez, E.Y., 2002. İnsan Biyokimyası. Palma Yayıncılık Ankara. pp. 487–488.
- Oyagbemi, A.A., Bolaji-Alabi, F.B., Ajibade, T.O., Adejumobi, O.A., Ajani, O.S., Jarikre, T.A., ve ark., 2020. Novel antihypertensive action of rutin is mediated via inhibition of angiotensin converting enzyme/mineralocorticoid receptor/angiotensin 2 type 1 receptor (ATR1) signaling pathways in uninephrectomized hypertensive rats. *Journal of Food Biochemistry*, 44(12):e13534.
- Oparil, S., Acelajado, M.C., Bakris, G.L., Berlowitz, D.R., Cifková, R., Dominiczak, A.F., Grassi, G., Jordan, J., Poulter, N.R., Rodgers, A., Whelton, P.K., 2018. Hypertension. *Nature Reviews Disease Primers*, 4:18014–18020.
- Özaras, R., Talhan, V., Aydın, S., Uzun, H., Öztekin, G., Tunçkale, A., Dondurmacı, S., 1998. A non-sulphydryl ACE inhibitor, fosinopril, attenuates oxidative stress in essential hypertension. *Free Radical Biology and Medicine*, 25:95.
- Önder, R., Akıllı, A., 1998. Hipertansiyon, Ladin Matbaacılık, İzmir. pp: 5–6.
- Özdem, S.S., Şadan, G., 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 11:63–71.
- Özgen, Z., 2010. Hafif orta evre primer hipertansiyonlu hastalarda tuz kısıtlamasının kan basıncı, aterosklerozite ve nefron fonksiyonuna etkisi. Trakya Üniversitesi, Edirne.
- Preston, R.R., Wilson, T.E., Işoğlu-Alkaç, Ü., Ermutlu, M.N., Yılmaz, B., 2014. Fizyoloji: Lippincott görsel anlatımlı çalışma kitapları, İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. Pp. 232–244.
- Pacurari, M., Kafoury, R., Tchounwou, P.B., Ndebele, K., 2014. The renin-angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling. *International Journal of Inflammation*, 2014:689360.
- Parslow, R.A., Sachdev, P., Salonikas, C., Lux, O., Jorm, A.F., Naidoo, D., 2005. Associations between plasma antioxidants and hypertension in a community-based sample of 415 Australians aged 60–64. *Journal of Human Hypertension*, 19(3):219–226.

- Panthiya, L., Tocharus, J., Onsa-ard, A., Chaichompoo, W., Suksamrarn, A., Tocharus, C.,** 2022. Hexahydrocurcumin ameliorates hypertensive and vascular remodeling in L-NAME-induced rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1868(3):166317.
- Paredes, M.D., Romecin, P., Atucha, N.M., O'Valle, F., Castillo, J., Ortiz, M.C., García-Estañ, J.,** 2018. Beneficial effects of different flavonoids on vascular and renal function in L-NAME hypertensive rats. *Nutrients* 10(4):484.
- Pearson, T.A., Manolio, T.A.,** 2008. How to interpret a genome-wide association study. *The Journal of the American Medical Association*, 299(11):1335–1344.
- Pisoschi, A.M., Pop, A.,** 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97:55–74.
- Raju, G., Goud, P.P., Nvl, S.R.,** 2019. Antihypertensive effect of rutin: pharmacological and computational approach. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(8):87–92.
- Ratliff, B.B., Abdulmahdi, W., Pawar, R., Wolin, M.S.,** 2016. Oxidant mechanisms in renal injury and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 25(3):119–146.
- Ribeiro, M.O., Antunes, E., De Nucci, G., Lovisolo, S.M., Zatz, R.,** 1992. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension*. 20(3):298–303.
- Roh, S.G., Song, S.H., Choi, K.C., Katoh, K., Wittamer, V., Parmentier, M., Sasaki, S.I.,** 2007. Chemerin—a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 362(4):1013–1018.
- Rochette, L., Lorin, J., Zeller, M., Guillard, J.C., Lorgis, L., Cottin, Y., Vergely, C.,** 2013. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets. *Pharmacology and Therapeutics*, 140:239–257.
- Romero, J.C., Reckelhoff, J.F.,** 1999. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. *Hypertension*, 34:943–949.
- Rourke, J.L., Dranse, H.J., Sinal, C.J.,** 2013. Towards an integrative approach to understanding the role of chemerin in human health and disease. *Obesity Reviews*, 14:245–262.
- Sahin, I., Aydın, S.,** 2013. Serum concentration and kidney expression of salusin- α and salusin- β in rats with metabolic syndrome induced by fructose. *Biotechnic & Histochemistry*, 88(3-4):153–160.
- Sainz, J., Wangensteen, R., Rodriguezgomez, I., Moreno, J., Chamorro, V., Osuna, A., Bueno, P., Vargas, F.,** 2005. Antioxidant enzymes and effects of tempol on

- the development of hypertension induced by nitric oxide inhibition. *American Journal of Hypertension*, 18(6):871–877.
- Sampson, L., Rimm, E., Hollman, P.C., de Vries, J.H., Katan, M.B.,** 2002. Flavonol and flavone intakes in US health professionals. *Journal of the American Dietetic Association*, 102:1414–1420.
- Sen, S., Chakraborty, R.,** 2011. Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy. In: Andreescu S HM, editor. *The Role of Antioxidants in Human Health*. 1083: American Chemical Society pp. 1–37.
- Schocken, D.D., Benjamin, E.J., Fonarow, G.C., Krumholz, H.M., Levy, D., Mensah, G.A., Narula, J., Stuart Shor, E., Young, J.B., Hong, Y.,** 2008. Prevention of heart failure: a scientific statement from the American Heart Association Councils on Epidemiology and Prevention, Clinical Cardiology, Cardiovascular Nursing, and High Blood Pressure Research; Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group; and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Group. *Circulation* 117(19):2544–2565.
- Schwerg, M., Slagman, A., Stangl, K., Stangl, V.,** 2017. Copeptin, resistant hypertension and renal sympathetic denervation. *Biomarkers*, 22(3-4):311–314.
- Sharma, D.K., Manral, A., Saini, V., Singh, A., Srinivasan, B.P., Tiwari, M.,** 2012. Novel diallyldisulfide analogs ameliorate cardiovascular remodeling in rats with LNAME-induced hypertension. *European Journal of Pharmacology*, 691:198–208.
- Shepherd, J.T., Katusic, Z.S.,** 1991. Endothelium-derived vasoactive factors: I. Endothelium-dependent relaxation. *Hypertension*, 18:76–85.
- Sheu, J.R., Hsiao, G., Chou, P.H., Shen, M.Y., Chou, D.S.,** 2004. Mechanisms involved in the antiplatelet activity of rutin, a glycoside of the flavonol quercetin, in human platelets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4414–4418.
- Silvester, A.J., Aseer, K.R., Yun, J.W.,** 2019. Dietary polyphenols and their roles in fat browning. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 64:1–12.
- Singh, S., Dubey, V., Meena, A., Siddiqui, L., Maurya, A.K., Luqman, S.,** 2018. Rutin restricts hydrogen peroxide-induced alterations by up-regulating the redox-system: An in vitro, in vivo and in silico study. *European Journal of Pharmacology*, 835:115–125.
- Spiroglou, S.G., Kostopoulos, C.G., Varakis, J.N., Papadaki, H.H.,** 2010. Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: differential expression and relation to atherosclerosis. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 17(2):115–130.
- Stanley, C.P., Maghzal, G.J., Ayer, A., Talib, J., Giltrap, A.M., Shengule, S., ve ark.,** 2019. Singlet molecular oxygen regulates vascular tone and blood pressure in inflammation. *Nature*, 566:548–552.

- Suvarna, K., Layton, C., Bancroft, J.,** 2018. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 8 Edition, Amsterdam: Elsevier Health Sciences.
- Takenaka, Y.M.M., Yasuda, H., Mino, M.,** 1991. The effect of alpha-tocopherol as an antioxidant on the oxidation of membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 285:344–350.
- Taşar, N., Şehirli, Ö., Yiğiner, Ö., Süleymanoğlu, S., Yüksel, M., Yeğen, B., Şener, G.,** 2014. Protective effects of *Nigella sativa* against hypertension-induced oxidative stress and cardiovascular dysfunction in rats. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16(2):141–149.
- Traber, M.G., Packer, L.,** 1995. Vitamin E: beyond antioxidant function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6 Suppl):1501S–1509S.
- Touyz, R.M., Schiffrin, E.L.,** 2001. Increased generation of superoxide by angiotensin II in smooth muscle cells from resistance arteries of hypertensive patients: role of phospholipase D dependent NAD(P)H oxidase-sensitive pathways. *Journal of Hypertension*, 19(7):1245–1254.
- Touyz, R.M.,** 2004. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension*, 44(3):248–252.
- Touyz, R.M., Rios, F.J., Alves-Lopes, R., Neves, K.B., Camargo, L.L., Montezano, A.C.,** 2020. Oxidative stress: a unifying paradigm in hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*, 36:659–670.
- URL-1,** 2024. *Türk Kardiyoloji Derneği Ulusal Hipertansiyon Tedavi ve Takip Kılavuzu*. https://tkd.org.tr/kilavuz/k03/3_18530.htm?wbnum=1103.
- URL-2,** 2024. *Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması* Patent2. <https://turkhipertansiyon.org/pdf/patent-2.pdf>.
- Ugusman, A., Zakaria, Z., Chua, KH., Megat, NA., Nordin, M., Mahdy, ZA.,** 2014. Role of rutin on nitric oxide synthesis in human umbilical vein endothelial cells. *The Scientific World Journal*, 2014:1–9.
- Ünver, H.M., Kökver, Y., Çiftçi, A.,** 2020. Hipertansiyon tahmini için temel bileşen analizinin kullanımı. *Uluslararası Mühendislik Araştırma ve Geliştirme Dergisi*, 12(3):42–51.
- Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.,** 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:4113–4117.

- Ventura, H.O., Lavie, C.J.,** 2019. Epidemiology and managing aspects of hypertension. *Current Opinion in Cardiology*, 34(4):329–330.
- Villarroya, F., Cereijo, R., Gavalda-Navarro, A., Villarroya, J., Giralt, M.,** 2018. Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *Journal of Internal Medicine*, 284:492–504.
- Yamawaki, H.,** 2011. Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34:307–310.
- Yan, Q., Zhang, Y., Hong, J., Gu, W., Dai, M., Shi, J., Zhai, Y., Wang, W., Li, X., Ning, G.,** 2012. The association of serum chemerin level with risk of coronary artery disease in Chinese adults. *Endocrine*, 41:281–288.
- Yang, B., Chen, Y., Shi, J.,** 2019. Reactive oxygen species (ROS)-based nanomedicine. *Chemical Reviews*, 119(8):4881–4985.
- Yang, Q., Wu, F.R., Wang, J.N., Gao, L., Jiang, L., Li, H.D., Ma, Q., Liu, X.Q., Wei, B., Zhou, L., Wen, J., Ma, T.T., Li, J., Meng, X.M.,** 2018. Nox4 in renal diseases: An update. *Free Radical Biology and Medicine*, 124:466–472.
- Yilmaz, G., Aksulu, H.E., Demirel, E., Ercan, Z.S., Zengil, H., Türker, R.K.,** 1987. Modulation by endothelium of the vascular effects of angiotensin II. *Agents and Actions*, 21:184–190.
- Yuan, Y., Wang, H., Wu, Y., Zhang, B., Wang, N., Mao, H., Xing, C.,** 2015. P53 contributes to cisplatin induced renal oxidative damage via regulating P66shc and MnSOD. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 37(4):1240–1256.
- Yuan, X., Wei, G., You, Y., Huang, Y., Lee, H.J., Dong, M., Lin, J., Hu, T., Zhang, H., Zhang, C., Zhou, H., Ye, R., Qi, X., Zhai, B., Huang, W., Liu, S., Xie, W., Liu, Q., Liu, X., Cui, C., Li, D., Zhan, J., Cheng, J., Yuan, Z., Jin, W.,** 2017. Rutin ameliorates obesity through brown fat activation. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 31:333–345.
- Zhang, H., Sun, S.C.,** 2015. NF- κ B in inflammation and renal diseases. *Cell & Bioscience*, 5(1):63.
- Weng, S., Sprague, J.E., Oh, J., Riek, A.E., Chin, K., Garcia, M., Bernal-Mizrachi, C.,** 2013. Vitamin D deficiency induces high blood pressure and accelerates atherosclerosis in mice. *Public Library of Science One*, 8:e54625.
- Wang, S., Moustaid-Moussa, N., Chen, L., Mo, H., Shastri, A., Su, R.,** 2014. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25:1–18.

- Wu, C.H., Lin, M.C., Wang, H.C., Yang, M.Y., Jou, M.J., Wang, C.J., 2011.** Rutin inhibits oleic acid induced lipid accumulation via reducing lipogenesis and oxidative stress in hepatocarcinoma cells. *Journal of Food Science*, 6: T65-72.
- Qu, S., Dai, C., Lang, F., Hu, L., Tang, Q., Wang, H., Zhang, Y., Hao, Z., 2019.** Rutin attenuates vancomycin-induced nephrotoxicity by ameliorating oxidative stress, apoptosis, and inflammation in rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(1):e01545–01518.

