

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

**( YÜKSEK LİSANS)**

**ALCHEMİLLA VULGARİS'İN L-NAME İLE  
HİPERTANSİYON OLUŞTURULAN SIÇANLARIN  
MEZENTERİK ARTERLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**İSMAİL HAKKI ALTUN**

**DANIŞMAN  
YARD.DOÇ.DR. SELÇUK TAKIR**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI  
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

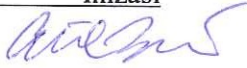




**İSTANBUL-2013**

## TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü FARMAKOLOJİ Anabilim Dalı FARMAKOLOJİ Programında İSMAİL HAKKI ALTUN tarafından hazırlanan Alchemilla vulgaris'in L-NAME ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanların mezenterik arteri üzerine etkilerinin İncelenmesi başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

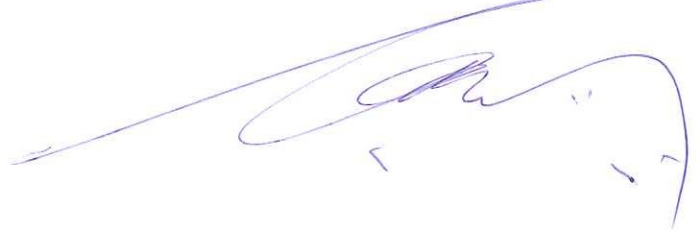
27 / 09 / 2013

### Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.PROF. DR. GÜL BAKTİR Yenyüzyıl üni, Eczacılık Fak, Farmakoloji abd	
2.PROF. DR. AFİFE MAT İstanbul üni, Eczacılık Fak, Farmakognozi abd	
3.PROF. DR. SÖNMEZ UYDEŞ DOĞAN İstanbul üni, Eczacılık Fak, Farmakoloji abd	
4.DOÇ. DR. GÖKÇE TOPAL TANYILMAZ İstanbul üni, Eczacılık Fak, Farmakoloji abd	
5.YARD. DOÇ. DR. SELÇUK TAKIR İstanbul üni, Eczacılık Fak, Farmakoloji abd	

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

**İSMAİL HAKKI ALTUN**

## İTHAF

“ Sayın Hocam’a ithaf ediyorum”

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca tavsiye ve yönlendirmeleriyle yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın *Yard. Doç. Dr. Selçuk TAKIR* 'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilimsel ve manevi desteğini hep yanımda hissettiğim Anabilim Dalı Başkanımız Sayın *Prof. Dr. Sönmez UYDEŞ-DOĞAN* 'a,

Eczacılık ve yüksek lisans eğitimim boyunca deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Sayın *Prof. Dr. Gül BAKTIR* 'a,

Tez çalışmalarımda destek ve yardımlarını gördüğüm Sayın *Yard. Doç. Dr. F. İlkay ALP-YILDIRIM* 'a ve manevi destek ve yönlendirmeleriyle yanımda olan Sayın *Doç. Dr. Alper OKYAR* 'a Sayın *Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ* 'a, Sayın *Yard. Doç. Dr. Deniz KALELİ-DURMAN* 'a Sayın *Dr. Ecz. Zeliha PALA* 'ya, Sayın *Dr. Ecz. Nihan ÇARÇAK* 'a

Tezimin tüm aşamalarında verdiği sonsuz destek ve güzel dostluğundan ötürü çalışma arkadaşlarım *Uzm. Ecz. Narin ÖZTÜRK* 'e, *Uzm. Ecz. Gülsev ÖZEN* 'e, *Ecz. Zeynep ORTAKÖYLÜ* 'ye, *Ecz. Dilek Öztürk* 'e, *Ecz. Selin YAMAĞOĞLU* 'na , *Uzm. Ecz. Deniz EKER* 'e, ve *Uzm. Ecz. Deniz YAVUZ* 'a, yardımlarını esirgemeyen *Suzan Danış* ve *Erdal Doğan* 'a,

Yaşamımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman takdir ve güvenleriyle beni yüreklendiren *Sevgili Ailem* 'e,

**SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.**

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: UDP14883

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	Xİİ
ÖZET .....	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1 GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2 GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 <i>Alchemilla vulgaris</i> L. ....	3
2.2 Geleneksel Tıpta Kullanımı .....	5
2.3 İçerdiği Aktif Kimyasal Bileşikler .....	6
2.3.1 Polifenolik Bileşikler .....	7
2.3.1.1 Flavonoidler .....	8
2.3.1.2 Kersetin .....	10
2.3.1.3 Gallik asit.....	11
2.4 Hipertansiyon .....	13
2.4.1 Hipertansiyonun Epidemiyolojisi .....	15
2.4.2 Hipertansiyonun Etiyolojisi .....	17
2.4.2.1 Esansiyel Hipertansiyon .....	17
2.4.2.2 Sekonder Hipertansiyon.....	17
2.4.3 Hipertansiyonun Patofizyolojisi .....	18
2.4.3.1 Genetik Yatkınlık.....	18
2.4.3.2 Fetal Dönemin Erişkin Hipertansiyondaki Rolü.....	19
2.4.3.3 Sempatik Sinir Sistemi Aktivasyonu .....	19
2.4.3.4 İnsülin Direnci .....	20
2.4.3.5 Artmış Sodyum Alımı.....	21

2.4.3.6	Renal Sodyum Tutulumu .....	21
2.4.3.7	Renin-Angjiyotensin-Aldosteron sistemi .....	22
2.4.3.8	Endotel Tabakası ve Hipertansiyon .....	22
2.4.4	Hipertansiyonun Tedavisi.....	25
2.4.4.1	Diüretikler .....	26
2.4.4.2	ADE İnhibitörleri .....	26
2.4.4.3	Anjiyotensin II reseptör blokerleri.....	26
2.4.4.4	Alfa-Adrenerjik Reseptör Blokörleri .....	27
2.4.4.5	Beta-Adrenerjik Reseptör blokörleri .....	27
2.4.4.6	Kalsiyum Kanal Blokörleri .....	28
2.4.4.7	Santral Etkili Sempatolitik İlaçlar.....	28
2.4.4.8	Adrenerjik Nöron Blokörleri .....	28
2.4.4.9	Direkt Etkili Vazodilatörler ve Potasyum Kanal Açıcı İlaçlar .....	29
2.4.4.10	Sadece Hipertansif Kriz Tedavisinde Kullanılan İlaçlar.....	29
2.5	DeneySEL Hipertansiyon Metodları .....	30
2.5.1	NO Sentezinin İnhibisyonu .....	31
2.6	Deney Hayvanlarında Kan Basıncı Ölçümü ve Takibi .....	32
3	GEREÇ VE YÖNTEM .....	34
3.1	Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri.....	34
3.2	Araç ve Gereçler .....	34
3.3	Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları.....	36
3.4	YÖNTEM.....	38
3.4.1	Fonksiyonel Çalışmalar .....	39
3.4.1.1	Sıçan Mezenterik Arterinin İzolasyonu .....	39
3.4.1.2	Arterlerin Standardizasyonu .....	39
3.4.1.3	Kastırıcı Ajanların İzole Sıçan Mezenterik Arterleri Üzerinine Etkilerinin İncelenmesi .....	40
3.4.1.4	İzole Sıçan Mezenterik Arterlerinin Endotel Aracılı Gevşeme Yanıtlarının İncelenmesi .....	40
3.4.1.5	İzole Mezenterik Arterlerinin Düz Kas Gevşeme Yanıtlarının İncelenmesi... ..	40
3.4.1.6	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arter Üzerine Etkisinin İncelenmesi .....	40

3.4.1.7	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisinin Mekanizmasının İncelenmesi .....	41
3.4.1.8	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arter Reaktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi .....	41
3.4.2	Sıçanlarda Hipertansiyon Oluşturulması .....	41
3.4.3	İstatistiksel Analiz .....	42
4	<b>BULGULAR</b> .....	43
4.1	İn vitro Deneyler .....	43
4.1.1	Kastırıcı Ajanların İzole Sıçan Mezenterik Arterleri Üzerine Etkileri.....	43
4.1.2	İzole Sıçan Mezenterik Arterlerinin Endotel Aracılı Gevşeme Yanıtları.....	45
4.1.3	İzole Sıçan Mezenterik Arterlerinin Düz Kas Gevşeme Yanıtları .....	45
4.1.4	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	47
4.1.4.1	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Metanol Ekstresinin Etkisi.....	47
4.1.4.2	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Su Ekstresinin Etkisi.....	49
4.1.4.3	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Sıvı Ekstrelerine Bağlı Görülen Gevşeme Yanıtlarının Etki Mekanizmasının İncelenmesi.....	51
4.1.5	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin, Spazmojen Ajanların Kasılma Yanıtları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi .....	61
4.1.5.1	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Metanol Ekstresinin Etkisi.....	61
4.1.5.2	<i>Alchemilla vulgaris</i> Bitkisinin Su Ekstresinin Etkisi.....	63
4.2	İn vivo Deneyler.....	65
4.2.1	Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimleri .....	65
4.2.2	Deney Hayvanlarının Kan Basıncı Değişimleri .....	67
5	<b>TARTIŞMA</b> .....	69
	<b>KAYNAKLAR</b> .....	74
	<b>HAM VERİLER</b> .....	86
	<b>FORMLAR</b> .....	87
	<b>ETİK KURUL KARARI</b> .....	88
	<b>PATENT HAKKI İZİNİ</b> .....	89
	<b>TELİF HAKKI İZİNİ</b> .....	90
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	91



**TABLULAR LİSTESİ**

Tablo 2-1: İskelet yapılarının farklı olmasına göre flavonoidlerin sınıflandırılması.....	9
Tablo 2-2WHO/ISH'a göre arteriyel kan basıncının sınıflandırılması.....	14
Tablo 4-1: Çeşitli inhibitörler ile inkübe edilen ve endoteli mekanik olarak hasarlanmış izole sıçan mezenterik arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}M$ ) ile elde edilen prekontraksiyon değerleri (mN/mm) ve <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin metanol ekstresine bağlı oluşan maksimum gevşeme yanıtları ( $E_{maks}$ ; %). .....	59
Tablo 4-2: Çeşitli inhibitörler ile inkübe edilen ve endoteli mekanik olarak hasarlanmış izole sıçan mezenterik arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}M$ ) ile elde edilen prekontraksiyon değerleri (mN/mm) ve <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin su ekstresine bağlı oluşan maksimum gevşeme yanıtları ( $E_{maks}$ ; %). .....	60
Tablo 4-3: Deney hayvanlarının ağırlık değişimleri.....	66
Tablo 4-4: Deney hayvanlarının kan basıncı değişimleri .....	68

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: <i>Alchemilla vulgaris</i> L. (Rosaceae) bitkisi .....	4
Şekil 2-2: Flavonoidlerin temel yapısı.....	8
Şekil 2-3: Dünyada 20 yaş üstü erkek ve kadınlarda hipertansiyon prevalansı (NHANES 2008) .....	16
Şekil 4-1: İzole sıçan mezenterik arterleri üzerine kümülatif $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $10^{-8}$ – $10^{-4}$ M) ve $\text{K}^+$ (10-120 mM) uygulanmasına bağlı elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi. ....	44
Şekil 4-2: $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile kastırılmış izole sıçan mezenterik arterleri üzerine kümülatif Ach ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) veya SNP ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) uygulanmasına bağlı elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi. ....	46
Şekil 4-3: $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin metanol ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi.....	47
Şekil 4-4: $\text{K}^+$ (40mM) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin metanol ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi.....	48
Şekil 4-5: $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin su ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi. ....	49
Şekil 4-6: $\text{K}^+$ (40mM) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin su ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi. ....	50
Şekil 4-7: $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstrlerine (0,01-10 mg/ml) bağlı görülen gevşeme yanıtlarına siklooksijenaz inhibitörü indometazin ( $10^{-5}$ M, 20 dk) etkisi.....	52
Şekil 4-8: $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstrlerine (0,01-10 mg/ml) bağlı görülen gevşeme yanıtlarına nitrik oksit sentetaz inhibitörü L-NOARG'ın ( $10^{-4}$ M, 20 dk) etkisi. ....	54
Şekil 4-9: $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstrlerine (0,01-10 mg/ml) bağlı görülen gevşeme yanıtlarına guanilat siklaz inhibitörü ODQ'nun ( $10^{-5}$ M, 20 dk) etkisi. ....	56
Şekil 4-10: $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstrlerine (0,01-10 mg/ml) bağlı	

görülen gevşeme yanıtlarına damarların endotel tabakasının mekanik olarak tahrip edilmesinin etkisi.....	58
Şekil 4-11: İzole sıçan mezenterik arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ( $10^{-8}$ - $10^{-4}M$ ) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin metanol ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.....	61
Şekil 4-12: İzole sıçan mezenterik arterlerinde $K^+$ (10-120mM) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin metanol ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.....	62
Şekil 4-13: İzole sıçan mezenterik arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ( $10^{-8}$ - $10^{-4}M$ ) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin su ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.....	63
Şekil 4-14: İzole sıçan mezenterik arterlerinde $K^+$ (10-120mM) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, <i>Alchemilla vulgaris</i> bitkisinin su ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.....	64

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

Ach: Asetilkolin

ATP: Adenozin trifosfat

DOCA: Deoksikortikosteron asetat

EDHF: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

L-NAME: N<sup>G</sup>-nitro-L-arjinin-metil ester

KCl: Potasyum klorür

LDL: Low density lipoprotein

MAO: Monoamin oksidaz

NA: Noradrenalin

NaCl: Sodyum klorür

PGF<sub>2α</sub>: Prostaglandin F<sub>2α</sub>

PGI<sub>2</sub>: Prostaglandin

sAMP: Siklik adenozin monofosfat

sGMP: Siklik guanozin monofosfat

SNP: Sodyum nitroprusiyat

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

JNC: Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure

## ÖZET

Altun, İ.H. (2013). *Alchemilla vulgaris*'in L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanların mezenterik arterleri üzerine etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

*Alchemilla vulgaris* L. (Rosaceae), halk arasında menstrual bozuklukların tedavisinde, diüretik, astrenjan ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu bitkinin yüksek düzeyde polifenolik bileşikler ve vazodilatör flavonoidler içerdiği ortaya konmuştur. Çalışmamızda üzerinde yeterince araştırma yapılmamış olan *Alchemilla vulgaris*'in (Rosaceae) sıvı ekstrelerinin, izole sıçan mezenterik arterleri ve oral olarak uygulanmasının kan basıncı üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bulgularımız 1) *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstrelerinin  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}$  M) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde güçlü gevşeme yanıtlarına 2)  $K^+$  (40mM) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde metanol ekstrenin gevşeme buna karşıt su ekstresinin ise ilave kasılma yanıtlarına neden olduğunu 3) damarların metanol ve su ekstre ile (10 mg/ml, 20 dak.) inkübasyonunun  $PGF_{2\alpha}$ 'ya ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) bağlı konsantrasyon yanıt eğrisinin maksimumunda ve  $-\text{LogEC}_{50}$  değerlerinde azalmaya 4)  $K^+$ 'a (10-100mM) bağlı konsantrasyon-yanıt eğrisinin maksimumunda ise metanol ekstrenin azalmaya, su ekstrenin ise artışa yol açtığını 5)  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde, her iki ekstreye karşı elde edilen gevşeme yanıtlarında endotelial vazodilatör faktörlerin veya endotel tabakasının rolünün olmadığını 6) *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin (300 mg/kg/gün) L-NAME hipertansif sıçanlara oral olarak uygulanmasının sıçanların kan basınçlarında düşmeye neden olduğu ancak su ekstrenin ise herhangi bir değişiklik yapmadığını göstermiştir. *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin damar gevşetici ve kan basıncını düşürücü etkisi hipertansiyonda alternatif bir tedavi yöntemi olabilir. Bununla birlikte ekstraksiyon metoduna bağlı olarak etkinin değişmesi bitkisel preparatların hazırlanışında standardizasyonun önemini göstermektedir. Çalışmamızın bu bitkinin klinik önemini ortaya koymaya yönelik çalışmalara hız vereceği düşüncesindeyiz.

**Anahtar Kelimeler :** *Alchemilla vulgaris*, mezenterik arter, L-NAME, vazodilatasyon, kan basıncı

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. **Proje No: UDP14883**

## ABSTRACT

Altun, İ.H. (2013). Investigation of the effects of *Alchemilla vulgaris* on the mesenteric artery in L-NAME- induced hypertensive rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Department Of Pharmacology. Master Thesis. İstanbul.

*Alchemilla vulgaris* L. (Rosaceae) is been traditionally used in the treatment of menstrual disorders, as a diuretic, astringent, and wound-healing among the public. In various studies it was revealed that the plant contains polyphenolic compounds and vasoactive flavonoids in high levels. Here in, we aimed to investigate the effects of liquid extracts of *Alchemilla vulgaris* (Rosaceae) on isolated mesenteric arteries and also blood pressures of rats, which has not been adequately studied. Our findings showed that 1) methanol extract of *Alchemilla vulgaris*, induced relaxation response 2) whereas; aqueous extract induced contrasting effects in mesenteric arteries precontracted with PGF<sub>2α</sub> and K<sup>+</sup> 3) pretreatment with methanol and aqueous extract (10mg/ml, 20 min.) decreased the maximum and -LogEC<sub>50</sub> of concentration-response curve of PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-8</sup>-10<sup>-4</sup>M) 4) the maximum of the concentration-response curve of K<sup>+</sup> (10-100mM) was decreased with the pretreatment of methanol extract whereas aqueous extract increased the maximum 5) in PGF<sub>2α</sub> precontracted mesenteric arteries the relaxation responses obtained with methanol and aqueous extracts of *Alchemilla vulgaris* were endothelium and endothelial vasodilators independent 6) oral administration of methanol extract of *Alchemilla vulgaris* reduced the blood pressure of L-NAME hypertensive rats whereas aqueous extract did not. The blood pressure-lowering and vasodilatory effect of *Alchemilla vulgaris* methanol extract may be an alternative therapy in the treatment of hypertension. On the other hand, the different effects due to the method of extraction indicate the importance of standardization in herbals. This study will give rise to the other studies that aimed to demonstrate clinical significance of this plant.

**Key Words:** *Alchemilla vulgaris*, mesenteric artery, L-NAME, vasodilation, blood pressure

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. **Project No. UDP14883**

## 1 GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının sürekli yüksek olması ile karakterize kronik bir hastalıktır. Uzun dönemde geri dönüşümsüz değişiklikler meydana getirerek başlıca kalp ve damarlarda, böbrek, göz ve diğer hayati organlarda yol açtığı ciddi komplikasyonlar nedeniyle kalıcı sakatlıklara ve ölüme sebep olan önemli bir toplumsal ve klinik sorundur. Damar endoteli ve damar düz kası, kan damarlarının tonüsü, yani periferik damar direncinin ve buna bağlı olarak da kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu fonksiyon endotel hücreleri tarafından sentezlenen çeşitli vazoaaktif maddeler tarafından sağlanmaktadır. Damar endoteli kaynaklı prostasiklin, asetilkolin, bradikinin vb vazodilatör etkili maddelerin lokal sentezindeki bir azalma veya anjiyotensin II, endotelin I gibi vazokonstriktör etkili maddelerin artan sentezi esansiyel hipertansiyon ve ateroskleroz başta olmak üzere çeşitli vasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır.

*Alchemilla vulgaris* L. (Aslan Pençesi, Rosaceae), halk arasında astrenjan, antiinflamatuvar, ağız aftlarında tedavi edici ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu bitkinin yüksek düzeyde polifenolik bileşiklerle birlikte vazoaaktif flavonoidler içerdiği ortaya konmuştur. Polifenolik bileşiklerin ve kersetin, apigenin gibi çeşitli flavonoidlerin serbest radikalleri yakalayarak antioksidan özellik gösterdiği ve damarlarda endotel disfonksiyonunu engelleyerek vazoprotektif, damar gevşetici, hipotansif ve antiaterojenik özellikte yararlı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu noktadan hareketle çalışmamızda yüksek düzeyde polifenolik bileşik içerdiği bilinen ancak, üzerinde yeterince araştırma yapılmamış *Alchemilla vulgaris* bitkisinin iki farklı metotla hazırlanmış sıvı ekstralarının izole sıçan mezenterik arterleri ve NO sentez inhibisyonu metodu (L-NAME hipertansif) ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda kan basıncı üzerine etkileri incelenecektir. Bu amaçla  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}M$ ) veya  $K^+$  (40mM) ile submaksimal olarak kastırılmış izole mezenterik arter preparatları üzerine *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstraları artan konsantrasyonlarda (0,01-10 mg/ml) ilave edilerek oluşan cevaplar ve ardından *Alchemilla vulgaris* bitkisinin her iki ekstralarının (10 mg/ml;20 dak.) uygulanmasının kasılma cevaplılığı üzerine etkisi

incelenmiştir. Daha sonra her iki ekstrenin etkisi çeşitli inhibitörler varlığında veya endotel tabakası mekanik olarak hasarlanmış (deendotelize) preparatlarda da test edilerek etki mekanizmasının aydınlatılmasına çalışılmıştır. İn vivo deneylerde ise her iki ekstrenin L-NAME hipertansif sıçanların kan basınçları üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Çalışmamız *Alchemilla vulgaris* bitkisinin sıvı ekstrelerinin damar tonüsü üzerindeki olası etkilerini ve etki mekanizmasının aydınlatılmasına olanak sunmaktadır. İn vivo ve in vitro koşullarda paralel olarak yürütülen bu çalışmada elde edilen bulgular, *Alchemilla vulgaris* bitkisinin kardiyovasküler hastalıklardaki klinik değerini ortaya koyacak ve ileri çalışmalara ışık tutacaktır. Ayrıca, *Alchemilla vulgaris* bitkisinin hakkındaki sınırlı literatür bilgiye sağlayacağı katkılar ile yeni çalışmaların planlanmasına olanak sağlayacağı da öngörülmektedir.



## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 *Alchemilla vulgaris L.*

*Alchemilla* türleri Rosaceae familyasının bir üyesi olup daha çok nemli ve gölgeli alanlarda yetişmektedir (Kaya ve ark. 2012). *Alchemilla* bitkisinin farklı türleri, yakından incelendiğinde Rosaceae familyasının diğer üyelerinden kolay bir şekilde ayırt edilebilecek özellikler taşımakta olduğu görülmektedir. *Alchemilla vulgaris L.* bitkisi, 20-60cm boyunda yükselici ve oldukça sık dallı bir bitkidir. Bitki dallarının içi boş, kısa, yumuşak tüylü ve yeşil-gri-sarı renklidir. Taban yaprakları böbrek şeklinde olup yarı dairemsi, çapı 8 cm kadar ve 7-9 lobludur. Gövde yaprakları ise daha küçük olup, 5-9 loblu stipulalı, serrat kenarlı ve hafif tüylü petiolleri kısa veya sapsızdır. Çiçekleri apetal, 3mm çapında ve sarı yeşildir. Kaliksleri 4 tanedir. Dişli ve geniş triangular şeklindedir. Pistilleri tek karpelden meydana gelmiş, stigma kapitat şeklindedir (European pharmacope 2005, Tanker ve ark. 2007).

*Alchemilla* bitkisinin tüm dünya üzerinde yaklaşık 300 türü bulunmaktadır. Asya ve Avrupa'da doğal olarak yetişen *Alchemilla* bitkisinin birçok türü de bahçelerde yetiştirilmektedir. Bu bitkinin en bilinen türleri, *Alchemilla vulgaris L.*, *A. aculitoba L.*, *A. alpina L.*, *A. xantochlora rothm.*, *A. speciosa bus* dır (Lamaison ve ark. 2001). Ülkemizde yaklaşık 80 türü bulunmakta ve birçoğu endemiktir. Özellikle Doğu Karadeniz Bölgesinde daha çok bilinmektedir. Türkiye'de *Alchemilla erythropoda*, *Alchemilla ikizdereensis*, *Alchemilla oriturcica* ve *Alchemilla trabzonica* gibi türleri endemik olarak yetişmekte ve "Aslanpençesi, Aslan ayağı, Fındık otu, Yeditepe ve Dokuz tepe" gibi isimlerle adlandırılmaktadır (Kaya ve ark. 2012, Davis 1985).



**Şekil 2-1: *Alchemilla vulgaris* L. (Rosaceae) bitkisi**

## 2.2 Geleneksel Tıpta Kullanımı

*Alchemilla vulgaris* bitkisinin bazı türleri ülkemizde Karadeniz Bölgesinde endemik olup, halk arasında dahilen menstrual bozuklukların tedavisinde, laksatif ve diüretik olarak, haricen de astrenjan ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (Baytop 1997, Kaya ve ark. 2012). Avrupa’da halk arasında da benzer şekilde astrenjan ve yara iyileştirici kullanımının yanı sıra antiinflamatuvar, ağız aftlarında tedavi edici kullanımı yaygındır (PDR Herbal medicine 2007, Shrivastava ve ark. 2007, Hamad ve ark. 2007). *Alchemilla vulgaris* bitkisinin gliserinde %3 lük ekstresi ile yapılan bir çalışmada, ağız aftlarında topikal olarak uygulanmasının tedavi edici olduğu, ağızdaki ülserasyonları azalttığı gösterilmiştir (Shrivastava ve ark. 2007). Dâhilen infüzyon ve dekoksasyonu hazırlanarak veya 2-4g drogun 150 ml sıcak su içerisinde bekletilerek çay şeklinde içilmesi menstrual bozukluklarda ve gastrointestinal şikâyetlerde tamamlayıcı tedavi olarak uygulaması mevcuttur. Bitkinin günlük dozu 5-10g arasındadır. Çay formu yemek aralarında günde 3 defa içilebilir (PDR Herbal medicine, 2007). Avrupa Birliği’nin bitkisel ilaçlardan sorumlu departmanı Komisyon E, bu bitkinin orta derece non spesifik diyarede kullanımını onaylamıştır (PDR Herbal Medicine, 2007). Bunun yanı sıra halk arasında ürogenital hastalıklarda ve antiseptik olarak kullanıldığı bilinmektedir (Kiselova ve ark. 2006). İtalya’da bitkinin yapraklarının infüzyon şeklinin midevi, tonik, hemostatik olarak kullanımı bulunmaktadır (D’Agostino ve ark. 1998). Hollanda’da adet bozuklukları, menopoz ve vajinit, böbrek ve mesane taşı, ödemde kullanımı söz konusudur (Van Nature, 2010).

*Alchemilla vulgaris* bitkisinin bitkisel ilaç olarak Arap tıbbında da kullanımına rastlanmaktadır. Arap tıbbında özellikle yara tedavisinde, gastrointestinal ağrılarda ve obeziteye karşı kullanımı söz konusudur (Said ve ark. 2008). Arap geleneksel tıbbında metabolizmayı hızlandırıcı ve obeziteye karşı etkili olduğu düşünülen ve ana etkili bitkisel preparat olarak *Alchemilla vulgaris* L. bitkisi içeren “Weighlevel” tabletlerinin kilo verdirici etkisinin incelendiği bir çalışmada, bu tabletlerin yemeklerden yarım saat önce alınmasının deneye alınan aşırı kilolu veya obez 66 gönüllünün vücut kitle indeksini 3 ay sonunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı ortaya konmuştur (Said ve ark. 2008). *Alchemilla vulgaris* bitkisinin geleneksel tıpta diyabette de

kullanımı yönünde bilgiler bulunmaktadır. Ancak Swanston ve arkadaşlarının (1990) normal ve streptozosin ile diyabet oluşturulmuş farelerde yaptıkları bir çalışmada bitkinin 1 gramının 400 ml kaynamış suda hazırlanan infüzyonunun farelerin plazma glikoz ve insülin düzeyleri üzerine etkisinin olmadığını ortaya koymuştur (Swanston ve ark.1990).

### 2.3 İçerdiği Aktif Kimyasal Bileşikler

*Alchemilla vulgaris* bitkisinde biyolojik olarak aktif birçok bileşik mevcuttur. Rosaceae familyasının diğer üyeleri gibi yüksek düzeyde polifenolik bileşikler içermektedirler. İçermiş olduğu polifenolik bileşikler genel olarak fenolik asitler, tanenler, flavonoidler ve organik asitlerden oluşmaktadır (PDR Herbal Medicine, 2007, European Pharmacopea 2005, D'Agostino ve ark. 1998, Smolyakova ve ark. 2011). Kiselova ve ark. (2006) yaptıkları bir çalışmada Bulgaristan'da yetişen ve geleneksel tıpta sıklıkla kullanılan 23 tıbbi bitkinin total polifenolik bileşiklerini incelemişlerdir. Bu çalışmada araştırmacılar *Alchemilla vulgaris* bitkisinin incelemeye aldıkları diğer tıbbi bitkilere kıyasla daha yüksek düzeyde polifenolik bileşik içerdiğini ortaya koymuşlardır.

Avrupa Farmakopesi bitkinin kurutulmuş drogunun %6 kadar tanen içerdiğini bildirmektedir (European Pharmacopea 2005). *Alchemilla vulgaris* bitkisinin sıvı ekstresi ile ince tabaka kromatografisinde yapılan bir çalışmada ise tanen yüzdesi %10 olarak verilmiş ve bitkinin az miktarda saponin de içerdiği bildirilmiştir (Djipa ve ark. 2000). Metanol ekstresi ile yapılan bir başka çalışmada ise bitkinin %0,65 oranında kersetin türevi ve %1,77 oranında 3-O-kamferol-6 $\alpha$ -O-(p-kumaril)-b-D-glukopiranozid içerdiği gösterilmiştir (D'Agostino ve ark. 1998).

### 2.3.1 Polifenolik Bileşikler

Polifenolik bileşikler içinde flavonoidlerin de olduğu yapısında fenolik asit ve fenolik alkoller gibi biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerden oluşmaktadırlar (Middleton ve ark. 2000). Bu bileşikler meyve, sebze, tahıl, zeytin yağı, baklagiller, çikolata, çay, kahve ve şarap gibi günlük hayatta sıklıkla kullanılan yiyeceklerin içerisinde bulunmaktadır (Scalbert ve ark. 2005). Yapılan çalışmalarda polifenolik bileşiklerce zengin besinlerin tüketildiği bir diyetle beslenmenin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Bonechi ve ark. 2012, Sumbul ve ark. 2011). Üzümün fermantasyonu ile elde edilen kırmızı şarabın polifenolik bileşiklerce zengin olduğu ve yapılan çeşitli çalışmalarda kan basıncını düşürdüğü bildirilmiştir (Kondrashov ve ark. 2012). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada kısa süreli oral uygulanmasının sıçanların kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden olduğu ve bu etkinin kırmızı şarabın içinde bulunan polifenolik bileşiklerin doğrudan damarları gevşetici etkisi sonucu ortaya çıktığı bildirilmiştir (Diebolt ve ark. 2001).

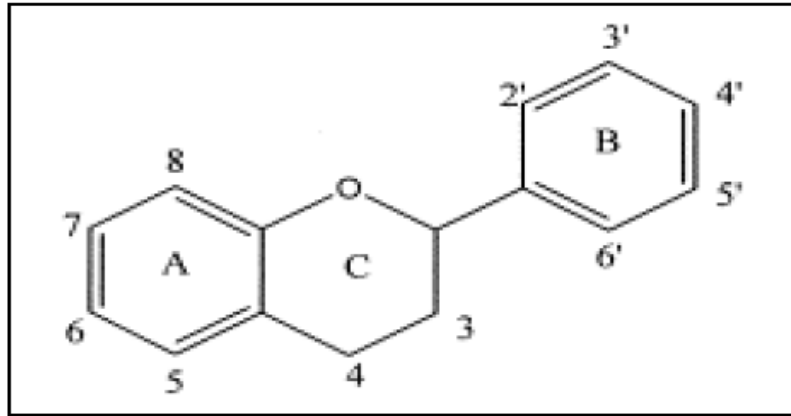
Bitkilerin polifenolik bileşik miktarı ile antioksidan özelliği arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Polifenolik bileşikler, serbest radikalleri tutarak antioksidan etkileri sonucu damarlarda endotel disfonksiyonunu düzelterek damar koruyucu ve antiaterojenik etki gösterirler (Ebadi 2007, Ajay ve ark. 2006). Bunun yanı sıra damarlarda eNOS aktivitesini arttırarak da endotel disfonksiyon oluşumunu engelleyici etkiye katkıda bulunurlar. (Sarr ve ark. 2006). Yine bir başka çalışmada kırmızı şaraptan elde edilen polifenolik bileşiklerin PI<sub>3</sub>K yolağını aktive ederek NO üretimini arttırdığı gösterilmiştir (Ndiaye ve ark. 2005).

Polifenolik bileşiklerin damarlar üzerine bu etkilerinin dışında başka yararlı etkileri de bulunmaktadır. Polifenolik yapıda bir bileşik olan resveratrol'un hiperkolesterolemili domuzlara uygulanması sonucu domuzların vucut kütle indeksini, total kolesterol düzeyini, LDL düzeyini azalttığı görülmüştür (Robich ve ark. 2010).

Polifenolik bileşiklerin antibakteriyel özellikleri de bulunmaktadır (Smith ve ark. 2003, Edenharder ve Grunhage, 2003). Yapılan çeşitli çalışmalarda bu etkilerinin serbest hidroksil radikalleri ve  $H_2O_2$  üretimlerini artırarak bakterilerde oto-oksidasyona neden olması sonucu ortaya çıktığı bildirilmiştir (Hanasaki ve ark. 1994, Hoshino ve ark. 1999).

### 2.3.1.1 Flavonoidler

Flavonoidler sarı renkli olmaları nedeniyle Latince'de sarı anlamına gelen 'flavus' sözcüğünden türetilmişlerdir. 15 C atomlu 2-fenil benzopiron yapısına sahiptirler. Bu yapıları nedeniyle polifenolik bileşik olarak kabul edilirler. İskelet yapılarının farklı olmasına göre çeşitli sınıflara ayrılmaktadır (Kahraman ve ark. 2002, Şekil 2-2, Tablo 2-1)



Şekil 2-2. Flavonoidlerin temel yapısı

**Tablo 2-1: İskelet yapılarının farklı olmasına göre flavonoidlerin sınıflandırılması.**

Sınıf	Örnek
Flavonlar	Apigenin, Luteolin
Flavonoller	Kamferol, Kersetin
Flavanonlar	Hesperidin
Kateşinler	Epikateşin
Antosiyanidinler	Siyanidin
Isoflavonlar	Genistein

Flavonoidler bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunmakta olup, karbonhidratlar, aminoasitler gibi çok çeşitli kaynaklardan türerler. Yapılan çok sayıda çalışmalarda flavonoidlerin, antitümör, antiviral, antitrombotik, antiinflamatuvar, vazodilatör, antiaterojenik, antioksidan özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (Grassi ve ark. 2009, Gonzales ve ark. 2011, Galeano ve ark. 2012).

Flavonoidlerin antioksidan etkileriyle lipid peroksidasyonunu engelleyerek kardiyoprotektif özelliklerinin olduğu bilinmektedir (Teissedre ve Waterhouse 2000, Trouillas ve ark. 2003). Flavonoidler serbest oksijen radikallerini yakalayarak kanda sirküle halde bulunan LDL'nin okside olmasını ve aterosjenik plaklar oluşturmasını

engellemektedirler. Bunun yanı sıra damar endotelinde NO üretimini arttırarak da bu duruma katkıda bulunurlar. Flavonoidlerin damarlar üzerine direkt etkileri çokça incelenmiştir. Bu amaçla flavonoidce zengin çeşitli bitkisel ekstraların ve saf olarak sentez edilmiş kersetin, apigenin, luteolin vb maddelerin damar gevşetici özelliklerinin olup olmadığı test edilmiştir. İzole sıçan torasik aortasında yapılan bir çalışmada kersetin, rutin gibi flavonoidlerin ve kristin, naringenin gibi flavonların damarlar üzerine gevşetici etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Ajay ve ark. 2003). Aynı çalışmada incelenen flavonoidlerin endotelden NO üretimini arttırarak vazodilatör etkiye neden oldukları ortaya konmuştur. Yine sıçan aortasında yapılan bir başka çalışmada da bir başka flavonoid yapıda madde olan apigeninin damarlarda endotel bağımlı gevşemeye neden olduğu, apigeninin gevşetici etkisinin L-NAME varlığında engellendiği ortaya konmuştur (Jin ve ark. 2009).

### 2.3.1.2 Kersetin

Kersetin bir flavondur ve *Alchemilla vulgaris* bitkisi içinde başlıca bulunan flavonoiddir. Bu bileşiğin antiinflamatuvar, antiprolatif, antimikrobiyal, antiviral ve antioksidan etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Shrivastava ve ark. 2007, Ebadi 2007). He ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yapılan bir çalışmada kersetin'in sitokrom P450 enzimleri olan CYP2C9 ve CYP3A4 enzim inhibitörü olduğunu ortaya koymuşlardır (He ve Edeki 2004).

Kersetinin bu etkilerinin yanı sıra mide ülserlerinde koruyucu etkisinin de olduğu bilinmektedir (Ebadi 2007). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada kersetinin etanol indüklü gastrik ülser ve özofagus reflülerinde koruyucu etkisi olduğu ve *Helicobacter pylori* bakterisinin gelişmesini az da olsa inhibe ettiği bildirilmiştir (Rao ve ark. 2008).

Kersetin'in hayvan deneylerinde anksiyolitik ve antidepresan etkisinin olduğu görülmüş ancak insanda benzer etkilerinin olup olmadığı hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır (Bhutada ve ark. 2010). Sıçanlara intraperitonel olarak kersetin



uygulanması ile REM uykunun belirgin derecede azalırken, non-REM uykunun arttığı görülmüştür (Kambe ve ark. 2010)

Kersetin'in kanser üzerindeki etkisini incelemek amacıyla çok fazla in vitro ve in vivo hayvan çalışmaları yapılmıştır. İn vitro çalışmalarda, kersetin'in bazı kemoterapötikler ile yaptığı potansiyel sinerjizmin yanısıra antioksidan, antiproliferatif, proapoptosis, hücre sinyal etkileri ve büyüme faktör baskılanmasını içeren çeşitli antikanser mekanizmaları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Zhou ve ark. 2010) . İn vivo çalışmalarda tümör gelişim hızını düzenleyerek kanserin oluşmasını azalttığı gösterilmiştir (Castillo ve ark. 1989) .

Kersetin aynı zamanda sıçan aorta halkalarında endotel bağımlı gevşemeye yol açmaktadır (Formica ve Regelson 1995). Hipertansif sıçanlarda yürütülen bir çalışmada kersetinin sıçanların kan basıncını düşürdüğü normotansif sıçanların kan basıncı üzerine etkisinin olduğu gösterilmiştir (Perez-vizcaino ve ark. 2009). Kersetinin bu etkisinin damarı doğrudan gevşeterek ortaya çıktığı düşünülmektedir. Damarlarda endotel tabakasından NO üretimini tetikleyerek NO açığa çıkmasına ve vazodilatasyona neden olduğu ortaya konmuştur (Ajay ve ark. 2003,2006). Duarte ve arkadaşları (1993) ise kersetinin endotelsiz aorta halkalarında gevşetici etkinin olmadığını göstermişlerdir.

### **2.3.1.3 Gallik asit**

Gallik asit; bitki tanenlerinin bir komponenti olup polifenolik yapıda bir bileşiktir. Çeşitli çalışmalarda antimutajenik, antikarsinojenik, antiinflamatuvar ve antioksidan etkilere sahip oldukları belirtilmiştir (Sanae ve ark. 2002). Antimutajenik ve antikarsinojenik etkisinin prooksidant aktivitesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Kroes ve ark. 1992). İnsan promiyelositik lösemi HL-60 hücreleri ile yapılan bir çalışmada gallik asidin bu hücrelerin oksidasyonuna neden olarak apoptozuna yol açtığı gösterilmiştir (Sakagami ve ark. 1997).

Gallik asitin diğer polifenolik bileşikler gibi vazoaktif etkilerinin olduğu bilinmektedir. İzole sıçan torasik aortasında yapılan bir çalışmada gallik asidin fenilefrinin oluşturduğu konstriksiyonu potansiyelize ettiği bu etkisinin NOS inhibitörü L-NAME ile engellendiği bununla birlikte sikloksijenaz inhibitörü indometazin ve ET-A reseptör antagonisti BQ-610'un etkisiz olduğu gösterilmiştir (Sanae ve ark. 2002).

## 2.4 Hipertansiyon

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının devamlı yükselmesi ile kendini gösteren bir kalp-damar hastalığıdır. Hipertansiyon, zamanla kalpte ve arterlerde geri dönüşümsüz değişiklik yapması nedeniyle önemli bir klinik sorun teşkil etmektedir. Dünya sağlık örgütü 2012 raporuna göre dünya genelinde kalp ve damar hastalıklarına yol açan nedenlerin içinde ilk sırada hipertansiyon yer almaktadır (WHO 2012). Kardiyovasküler mortalite ve morbidite hem sistolik hem de diyastolik kan basıncı ile yakından bir ilişki göstermektedir. Genel olarak; sistolik basıncın 140 mmHg ve üzeri ile diyastolik basıncın 90 mmHg ve üzeri olması hipertansiyonu ifade etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü/Uluslararası Hipertansiyon Cemiyeti (WHO-ISH)'nin hipertansiyon tanısı için 2003 yılında yayınladığı 18 yaş ve üzeri erişkinlerde kan basıncına ait ayrıntılı tanım ve sınıflandırma Tablo 2-2'de görülmektedir (Whitworth 2003). Yüksek Kan Basıncının Önlenmesi, Belirlenmesi ve Tedavisine İlişkin Amerika Birleşik Devletlerinin Birleşik Ulusal Komite 7 (JNC-7 2003) raporunda hipertansiyonun sınıflanması, tedavi yaklaşımları ve tedavi hedefleri düzenlenmiştir. Bu rapora göre hipertansiyonlu hastalarda kan basıncını 140/90 mmHg'nin altına düşürmek, diyabetli ve renal hastalığı olanlarda ise kan basıncını 130/80 mmHg'nin altına düşürmenin gerektiği bildirilmiştir (JNC-7 2003). Aynı raporda hedeflenen bu kan basıncına ulaşılmasında ilaç tedavisinin yanı sıra, kilo kontrolü, alkol ve sigara kullanımının bırakılması, sedanter yaşam tarzından uzaklaşılması, tuz kısıtlaması, yeterli potasyum ve kalsiyum alınması gibi non-farmakolojik yaklaşımların önemi de vurgulanmıştır.

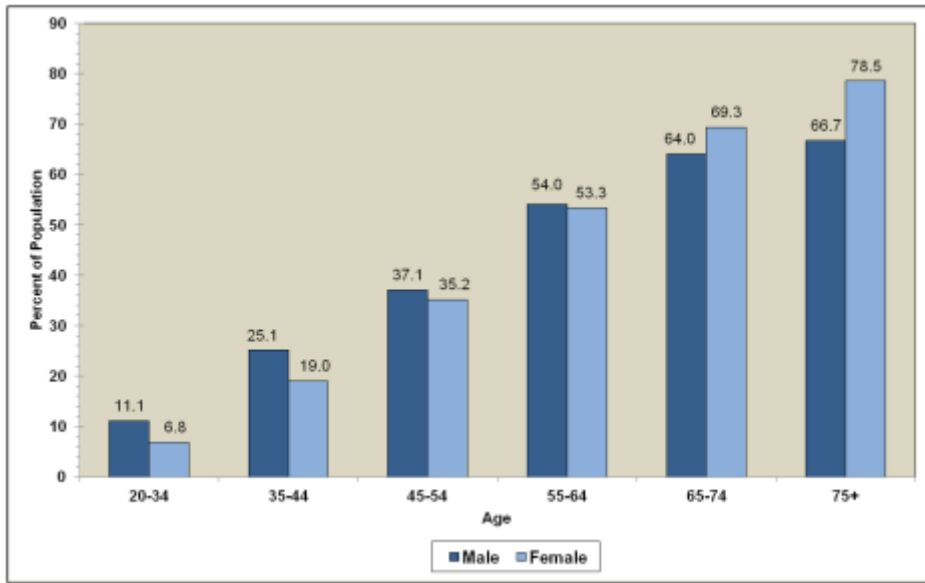
**Tablo 2-2WHO/ISH'a göre arteriyel kan basıncının sınıflandırılması**

<b>Kategori</b>	<b>Sistolik (mmHg)</b>		<b>Diastolik (mmHg)</b>
Optimum	<120	ve	<80
Normal	120-129	ve/veya	80-84
Yüksek Normal	130-139	ve/veya	85-89
1. Derece hipertansiyon	140-149	ve/veya	90-99
2. Derece hipertansiyon	160-169	ve/veya	100-109
3. Derece hipertansiyon	$\geq 180$	ve/veya	$\geq 110$
İzole sistolik hipertansiyon	$\geq 140$	ve	<90

### 2.4.1 Hipertansiyonun Epidemiyolojisi

Hipertansiyonun toplumda görülme sıklığı ırk, coğrafya, yaş ve cinsiyete göre değişiklik göstermektedir. Hipertansiyon, dünyada önlenebilir ölüm nedenleri içerisinde bir numaralı risk faktörüdür. 2000 yılı itibarıyla dünyada erişkin nüfusun % 26.4'ün hipertansiyonu olduğu ve bu oranın 2025 yılında % 29.2'ye çıkacağı öngörülmüştür (Patent 2003). Bir diğer deyişle, halen 972 milyon insanın hipertansiyonu vardır ve 25 yıl sonra bu rakam 1.5 milyarı aşacaktır. Hipertansiyonu olan bireylerin çoğu, ekonomik olarak gelişmekte olan ülkelerde yaşamaktadır. Ülkemizde hipertansiyon oldukça yaygın bir sorundur. Erişkin her 3 kişiden 1'inde hipertansiyon vardır. 2000 yılı nüfus verilerine göre ülkemizde yaklaşık 15 milyon hipertansif birey vardır (Patent 2003). Aynı çalışmanın verilerine göre kadınlarda hipertansiyonun görülme sıklığı erkeklerden daha yüksektir. Türkiye'de hipertansiflerin önemli bir kısmı (% 53), 25-45 yaş arası grubundadır. Ülkemizde 30 yaş altı bireylerde görülen hipertansiyon sıklığı % 12 gibi ihmal edilmeyecek düzeydedir. Altmış yaşından sonra hipertansiyon prevalansı % 60-80'lere kadar yükselmektedir (Patent 2003). Ülkemizde hipertansiyon prevalansı ile ilgili yapılan bir diğer çalışma TEKHARF çalışmasıdır (Onat ve ark. 2003). Bu çalışmada hipertansiyon prevalansının % 33,7 olduğu, yaş ilerledikçe prevalansın arttığı, ülkemiz kuzeyinde prevalansın % 40'ların üzerine çıktığı, güneyinde ise % 30'ların altına indiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmanın sonuçlarına göre hipertansiyonla birlikte bir diğer kardiyovasküler risk faktörü hiperkolesteroleminin de birlikte görüldüğü bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışma da ise hipertansiyon prevalansı % 31,8 bulunmuştur (Altun ve ark. 2005). Bu çalışmada hipertansiyon prevalansı kadınlarda % 36,1 iken erkeklerde % 27,7 olarak saptanmış ve deneklerin sadece % 40,7'sinin hastalıklarının farkında olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmanın sonuçlarına göre hastalıklarının teşhisi konmuş deneklerin % 31,1'inin anti hipertansif tedavi aldığı ve bunların ancak % 20,7'inin de kan basıncının kontrol altında tutulduğu saptanmıştır. Ülkemizde hipertansiyon prevalansını ortaya koymaya yönelik yapılan bir başka çalışma da ise, yetişkinlerde hipertansiyon prevalansı % 41,7 olarak bulunmuş ve araştırmaya alınanların ancak % 6'sının kan basıncının kontrol altında tutulduğu bildirilmiştir (Kozan ve ark. 2007).

**Şekil 2-3:**Dünyada 20 yaş üstü erkek ve kadınlarda hipertansiyon prevalansı (NHANES 2008)



## **2.4.2 Hipertansiyonun Etiyolojisi**

Hipertansiyonun etiyojisi hakkındaki bilgiler çok kısıtlıdır. Bununla beraber öteden beri iki farklı hipertansiyon türü tanımlanmıştır. Bunlardan biri, gösterilebilir hiçbir organ hastalığının başlatmadığı arteriyal hipertansiyon olup primer veya diğer terimle esansiyel hipertansiyon, diğeri ise bir hastalık, ilaç veya besine bağılı olarak asıl hastalığın yanında ortaya çıkan sekonder hipertansiyondur. Yapılan çeşitli çalışmalar da hipertansiyon olgularının % 92-95'inin primer hipertansiyon olduğunu ortaya koymuştur (Amar ve ark. 2003, Calhaun ve ark. 2008, Thoenes ve ark. 2011)

### **2.4.2.1 Esansiyel Hipertansiyon**

Temel nedeni belli olmayan kronik tansiyon yüksekliğidir. Esansiyel hipertansiyon, olguların yaklaşık %95'ini oluşturur. Esansiyel hipertansiyonda kan basıncı yükselmesi total periferik damar rezistansının yükselmesine bağılıdır; ancak az sayıdaki bazı olgularda kalp debisi veya dolaşan kan hacmi de yükselmiştir. Esansiyel hipertansiyonunun patojenezinde, heredite; olguların yarıya yakın bir bölümünde rol oynar.

### **2.4.2.2 Sekonder Hipertansiyon**

Sekonder hipertansiyon bazı böbrek hastalıkları, endokrin hastalıklar vb, arteriyel kan basıncını yükselttiği bilinen primer patolojik bozuklukların bir komplikasyonu olarak ortaya çıkmaktadır. Kombinasyon tipi oral kontraseptif ilaçlar, kortikosteroidler, siklosporin, MAO inhibitörleri, eritropoietin ve sempatomimetikler ve efervesanların içinde aşırı sodyum alınmasına bağılı olarak ilaca-bağımlı geçici sekonder hipertansiyonda gelişmektedir (Kayaalp 2009).

### 2.4.3 Hipertansiyonun Patofizyolojisi

Hipertansiyon, bir kan basıncı regülasyonu bozukluğudur. Sistemik kan basıncını belirleyen ve birbirleriyle etkileşen birçok faktör olması nedeniyle hipertansiyondan sorumlu tek bir etiyoloji veya patofizyolojik mekanizma yoktur. Bu nedenle primer hipertansiyon olarak adlandırılmaktadır. Kan basıncının kontrolü böbrekler, santral sinir sistemi, periferik sinir sistemi, damar endoteli ve böbreküstü bezi arasındaki karmaşık etkileşimle sağlanmaktadır. Bu hastalık durumunda farklı kişilerde kan basıncı yükselmesine neden olan patofizyolojik mekanizmalar içinde farklı faktörlerin etkileşimi olmaktadır.

Hipertansiyonun patofizyolojisinde;

- Genetik Yatkınlık
- Fetal Dönem
- Sempatik Sinir Sistemi Aktivasyonu
- İnsülin Direnci
- Artmış Sodyum Alımı
- Renal Sodyum Tutulumu
- Renin-Angjiyotensin-Aldosteron sistemi
- Endotel Disfonksiyonu

gibi faktörler önemli rol oynamaktadır.

#### 2.4.3.1 Genetik Yatkınlık

Hipertansiyon gelişiminde etkili birçok gen olmasına rağmen hipertansiyon için aile içi geçiş Mendel veya multifaktöriyel kalıtım türlerine uymamaktadır (Hunt ve ark. 2002). Ailesel hipertansiflerde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda kan bağı olan akrabalar arasında kan basıncı düzeyleri dağılımının birbirleri ile uyumluluk gösterdiği,



yüksek kan basıncı düzeyine sahip ailelerin çocuklarının hipertansif, düşük kan basıncı düzeyine sahiplerin ise hipotansif olma eğiliminde oldukları saptanmış, bununla birlikte hipertansiyonun aile içi görülme sıklığında Mendelyan bir dağılımın olmadığı belirtilmiştir (Lifton ve ark. 2001). Ancak yapılan çeşitli çalışmalarda esansiyel hipertansiyon olgularının küçük bir azınlığında Mendel kalıtımına uyan bir dağılım olduğu hipertansiyona neden olma bir genetik bozukluğun aile içinde kuşaklar arasında iletiildiği bildirilmiştir (Lifton ve ark. 2001)

#### **2.4.3.2 Fetal Dönemin Erişkin Hipertansiyondaki Rolü**

Fetal beslenme yetersizliği sonucu düşük doğum ağırlığına sahip bebeklerin erişkin dönemde sistolik kan basınçlarının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Law ve ark. 2002). İntrauterin dönemde gelişme geriliğine bağlı böbrek gelişiminin geciktiği veya olmadığı olgularda erişkin dönemde hipertansiyon geliştiği bilinmektedir (Brenner ve Chertow 1993). Yine benzer şekilde yapılan çeşitli postmortem çalışmalarda, hipertansif hastaların böbreklerde bulunan nefron sayılarının azaldığı, hemen hemen normotansiflerin yarısı nefrona sahip oldukları gösterilmiştir (Keller ve ark. 2003).

#### **2.4.3.3 Sempatik Sinir Sistemi Aktivasyonu**

Sempatik sinir sistemindeki aktivite artışı, bilindiği gibi kalp atım sayısı ve kontraktilesini arttırarak, böbreklerden su tutulmasını sağlayarak, periferik damar direncini arttırarak kan basıncı artışına yol açmaktadır. Ayrıca böbrek üstü bezinden noradrenalin salgılanması, kalp debisini ve periferik damar direncini arttırırken, uzun dönemde damar düz kas hücrelerinde hipertrofiye yol açarak damarların remodelinginde (yeniden yapılanma) neden olmaktadır (DiBona ve Kopp 1997). Sempatik sinir sistemi aktivasyonu sonucu renal efferent sempatik lifler uyarılır, böylece renal kan akımında azalma ve renovasküler dirençte artma görülür. Renal sempatik uyarılma doğrudan sodyum reabsorbsiyonu ve jukstaglomerüler aparatın renin salınımını uyararak su tutulmasına ve bununla birlikte çok güçlü bir vazokonstriktör ajan olan anjiyotensin II sentezlenmesine ve salgılanmasına yol açarak

hipertansiyonun gelişmesine ve şiddetlenmesine neden olur (Guyton ve Hall 1996). Ancak sempatik sinir sisteminin sürekli uyarılması zamanla sempatik sinir sisteminin duyarsızlaşmasına ve deaktivasyonuna neden olmaktadır. Bu durum zamanla sempatik sinir sistemi aktivasyonunun hipertansiyon üzerine uzun dönem direkt etkilerinde azalma oluştururken bir başka mekanizmayla, damar duvarında hipertansiyona bağlı gelişen yapısal değişiklikler, kan basıncı düzeyinin yüksek kalmasına yol açtığı düşünülmektedir (Julius ve Schork 1978).

#### **2.4.3.4 İnsülin Direnci**

İnsülin direnci uzun süre insülin tedavisi gören hastalarda insuline karşı vücudun antikor oluşturması sonucu dışardan alınan insülinin artıkorla bağlanarak etkisinin kalmaması durumudur. Esansiyel hipertansiyonlularda insülin direnci sık görülür ve hipertansiyonla ilişkili toplam kardiyovasküler riskin artışında önemli rol almaktadır (Ferrannini ve ark. 1997). Özellikle obez hipertansiflerin hemen tamamı, insülinin karaciğer tarafından alınımının ve burada katabolize olmasının önemli ölçüde azalması sonucu hiperinsülinemiktir. Çeşitli prospektif gözlem çalışmalarında, açlık insülin düzeyi yüksek olan bireylerin açlık insülin düzeyi normal olan bireylere kıyasla ileri yaşlarda hipertansiyon gelişime riskinin 2-3 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (Haffner ve ark.1992). Hipertansiflerde insülinin vazodilatör etkisi, insülin direnci ve artmış sempatik sinir sistemi aktivitesine bağlı olarak zayıflamakta, diyetle alınan tuza karşı kan basıncı duyarlılığında artış oluşmaktadır. Bununla birlikte böbreklerden su ve tuz tutulumunun artarak ödem oluşmaktadır. Aynı zamanda damar düz kas hücresinde hücre içi sodyum ve kalsiyum düzeyleri artarak vazokonstriksiyon oluşmaktadır. İnsülin direnci ayrıca hem dolaylı hem de doğrudan etkiyle sempatik sinir sisteminin aktivasyonuna, vazodilatör prostaglandinlerin sentezinin azalmasına, endotelin salımının artmasına, anjiyotensin II düzeylerinin artması sonucu vazokonstriksiyonda artışa ve kan basıncının yükselmesine neden olmaktadır (Baron ve ark. 1993).

#### 2.4.3.5 Artmış Sodyum Alımı

Su böbreklerden sodyum ile birlikte reabsorbsiyona uğramaktadır. Dışardan sodyum alımının artması böbreklerden glomerüler filtrasyona uğrayan su miktarının artmasına ve bu sodyumun bir kısmının reabsorbe olması sonucu suyunda tutulumuna yol açmaktadır. Böbreklerden su tutulumunun artması kalp debisini ve sonucunda kan basıncını arttırmakta ve vücutta ödem oluşumuna neden olmaktadır. Sodyum alımının artması, ayrıca renal fonksiyonları ve vasküler reaktiviteyi değiştirerek hipertansiyon gelişimine zemin hazırlamaktadır. Batı tipi diyetle hipertansiyonu indükleyebilecek eşik değerin (60-120 mEq/gün) üzerinde sodyum tüketilmektedirler. Bununla birlikte yüksek sodyum tüketen bireylerin hepsinde hipertansiyon gelişmemekte, ancak eşzamanlı olarak renal sodyum atılımında bir bozukluk olanlarda hipertansiyon gelişimi görülmektedir. Yani sodyum alımının artması, hipertansiyon gelişiminde gerekli fakat tek başına yeterli olmayan bir faktördür. Fazla sodyumun kan basıncını artırıcı etkisinin dışında, kan basıncı yükseltici etkisinden bağımsız olarak inme riskini arttırması ve sol ventrikül hipertrofisine yol açması, hiperfiltrasyona bağlı renal fonksiyonların bozulması gibi diğer zararlı etkileri de bulunmaktadır (Barba ve ark. 1996).

#### 2.4.3.6 Renal Sodyum Tutulumu

Böbreklerden sodyumun geri alımının artışına yol açan çeşitli patojenik etkenler bulunmaktadır. Bunlardan birincisi; konjenital veya edinsel hastalıklar sonucunda nefron sayısı veya fonksiyonunda azalmaya bağlı olarak renal filtrasyon yüzeyinin azalmasıdır. Buna göre konjenital nedenlerle böbreklerdeki nefron sayısının az olması, süzülen kan miktarını ve böbreklerden idrara atılan sodyum miktarının az olmasına neden olmaktadır. Böbreklerden sekrete olamayan sodyum su tutulmasına yol açarak kan basıncını yükselterek sistemik hipertansiyonu indüklemektedir. Sodyum retansiyonuna neden olan ikinci mekanizma da basınç natriürez ilişkisinin bozulmasıdır. Bu mekanizmaya göre ise kan basıncının artması sodyum sekretasyonunda bozulmaya neden olarak kronik sistemik hipertansiyona neden olmaktadır (Hall ve ark. 1996).

### 2.4.3.7 Renin-Angjiyotensin-Aldosteron sistemi

Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi (RAAS) dolaşan kan hacmini ve kan basıncını düzenleyen en önemli mekanizmalardan biridir. Renin böbrekte jukstaglomerüler hücrelerden salgılanır ve karaciğerden plazmaya verilen anjiyotensinojenin anjiyotensin-I'e çevirilmesi reaksiyonunu katalize eder. Oluşan anjiyotensin-I anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) tarafından anjiyotensin-II'ye (A-II) çevrilir. RAAS'nin fizyolojik ve patolojik etkileri anjiyotensin-II üzerinden gerçekleşir. A-II'nin AT-1 ve AT-2 olmak üzere 2 tip reseptörü vardır ve etkilerinin çoğu AT-1 üzerinden olmaktadır. A-II'nin AT-1 reseptörüne bağlanmasıyla periferik damarlarda vazokonstriksiyon, aldosteron sentez ve salgınımı, renal tübül sodyum geri alımı sempatik sinir sistemi aktivitesi ve vazopressin salgınımına yol açar. Bununla birlikte renin salgınımı negatif feed back mekanizma ile inhibe olarak renin düzeyleri kontrol altında tutulur. Bu nedenle esansiyel hipertansiyonlularda bu inhibisyona bağlı olarak plazma renin düzeyinin düşük olması beklenir. Ancak hipertansiflerde plazma renin düzeyleri homojen olmayıp kan basıncı düzeyi ile orantılı değildir. Sadece %30'unda renin düzeyi düşük olup %50'sinde normal, %20'inde yüksektir (Baenett ve ark. 2004).

### 2.4.3.8 Endotel Tabakası ve Hipertansiyon

Endotel tabakası damar lümeninde dolaşan kan ile damar düz kası arasında fonksiyonel tek sıra hücrelerden oluşmuş bir katmandır. Endotel katmanı eskiden düşünüldüğü gibi kan damarlarının içini kaplayan, dokularla kan arasında bulunan pasif yarı geçirgen bir hücre tabakası değil, tersine sentezlediği ve salgıladığı mediyatörler ile vasküler homeostazda çok önemli rol oynayan, vücudun her tarafına yayılmış, pek çok yaşamsal faaliyeti yöneten bir organdır (Petty ve Pearson 1989). Endotel hücreleri homeostaz, vazoaktivite, hücre proliferasyonu, immun reaksiyonlar ve inflamatuvar olaylarda rol alır. Endotel tabakasının damar homeostazında bu derece önemli rol oynamasından dolayı vazospazm, trombüs oluşumu ve damar proliferasyonu ile seyreden hastalıkların patogenezinde endotel disfonksiyonunun önemli katkıları olduğu bilinmektedir (Gimbrone 1986). Vücut ile kan arasındaki kritik stratejik yeri işgal eden

ve birçok düzenleyici rolü üstlenen önemli bir endokrin, parakrin, otokrin fonksiyonları olan bir organdır. Endotel hücreleri vazoaaktif bir çok madde salgılar. Bu faktörlerin uyum içinde salgılanması damar sağlığının korunmasında önemli rol oynar. Damarların endotel tabakasından serbestlendiği bilinen bu faktörler arasında;

- Gevşetici faktörler; Nitrik oksit (NO), prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), hiperpolarize edici faktör, bradikinin, adrenomedullin, vb
- Kasıcı faktörler; Endotelin, tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), anjiyotensin II, serbest radikaller, vb bulunmaktadır.

### **Nitrik Oksit (NO)**

Nitrik oksit (NO) ve endotelin önemli güçlü vazoaaktif özellik göstermekte olup birçok hastalığın patogenezinde doğrudan rol oynamaktadırlar. L-arjininin guanidin N terminalinden nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından sentezlenir. NOS'un tip 1 (nöronal: nNOS), tip II (indüklenbilir: iNOS) ve tip III (endotelial: eNOS) olmak üzere 3 formu vardır.

NO, endotel hücrelerinden yarı ömrü çok kısa olan, kararsız bir bileşik olarak bilinir. Damar hücrelerinde ve trombositlerde çözülmüş guanilat siklazı aktive eder. Enzimden ayrılan NO nitrit'e (NO<sub>2</sub>) dönüşür ve ilk önce plazmaya daha sonra ise eritrositlere geçer. Eritrositlerde hemoglobin ile reaksiyona giren nitrit, nitrat'a (NO<sub>3</sub>) indirgenir. Kan akımı içine difüzyon olan NO'un bir kısmı direkt olarak eritrositler tarafından alınır oksihemoglobin (HbO<sub>2</sub>)'den gelen oksijenin ilavesiyle nitrate dönüştürülür. Oluşan nitrat plazmaya verilerek böbrekler yoluyla atılır. NO venöz kan içine salındığında non-oksijenize hemoglobin ile nitrosohemoglobin oluşur. Venöz kanın oksijenlenmesiyle nitrosohemoglobin oksijenle reaksiyona girer ve nitrat açığa çıkar. NO hipertansiyonun ve komplikasyonlarının patogenezinde rol oynayabilir. NO yapımını NOS üzerinden inhibe eden ajanlar arterlerde endotele bağımlı kasılmaya, kan akımında azalmaya ve sonuç olarak hipertansiyona neden olur ve buna bağlı hedef organ hasarına yol açar (Webb ve Ferro 1997).

### **Endotelin 1 (ET-1)**

Endotelinler (ET) 21 aminoasitli bir peptid zinciri olup 3 alt gruptan oluşur. Bunlar ET-1, ET-2 ve ET-3'tür. İlk olarak Endotelin-1 1988 yılında Yanagisawa ve arkadaşları tarafından vasküler endotel hücrelerinden saptanmış ve bilinen en potent endojen vazokonstriktör olarak tanımlanmıştır.(Yanagisawa ve ark. 1988). ET-1'in büyük bir kısmı damar duvarına doğru salınır. Bu sebeple ET-1'in plazma seviyeleri lokal doku miktarını tam olarak yansıtamaz (Wagner ve ark. 1992). ET-1 aracılığıyla vasküler miyositler damar tonüsü ve duyarlılık regülasyonu için ET-1 üretmeye hızlı bir şekilde adapte olurlar. ET-1'in yapımı ve salınımının en potent regülatörü fizyolojik bir faktör olan kan akımıdır. Kan akımındaki artış vazodilatasyona neden olur. Bunu endotel hücrelerindeki shear stress reseptörlerini aktive ederek yapar. Böylece nitrik oksit sentezlenir ve salınır. Böylece ET-1 yapımı ve salınımı azalır (Webb ve Ferro 1997)

### **Prostaglandin F<sub>2α</sub>**

Arakidonik asit metabolizması ürünleri olan prostaglandin F<sub>2α</sub> ve tromboksan A<sub>2</sub>'nin de arterlerin tonüsünün düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Nava ve ark. 1999). İzole arterler ile yapılan çeşitli çalışmalarda prostaglandin F<sub>2α</sub> ve tromboksan A<sub>2</sub> analogu U46619'un kastırıcı etkileri gösterilmiştir (Webb ve Ferro 1997, Ergül 1999). Bir çalışmada prostaglandin F<sub>2α</sub> ve tromboksan A<sub>2</sub> analogu U46619'un arterleri kastırıcı etkisi endotelin-1 ile karşılaştırılmış ve arterlerin endotelin-1'e karşı daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Ergül 1999).

#### 2.4.4 Hipertansiyonun Tedavisi

Kan basıncı yüksekliği olan hastaların tedavisinde birincil amaç, uzun dönemdeki total kardiyovasküler riskte maksimum azalmanın sağlanmasıdır. Bunun için kan basıncı yüksekliğinin yanısıra geriye çevrilebilir tüm ilişkili risk faktörlerinin tedavi edilmesi gerekir.

Hipertansiyon, farmakolojik ve non-farmakolojik tedavi yöntemleriyle tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Non-farmakolojik tedavi, obez veya fazla kilolu bireylerin ideal kiloya düşürülmesi, fiziksel aktivitenin artırılması, düzenli egzersiz, düşük sodyum diyeti uygulanması, günlük yiyeceklerin düzenlenmesi (meyve-sebze ağırlıklı; doymuş yağlardan fakir diyet), alkol ve sigaranın bırakılması gibi yaşam şeklini değiştirmeye yönelik çalışmaları kapsamaktadır.

Farmakolojik tedavi ise tüm non-farmakolojik yaklaşımların uygulanmasına rağmen yüksek olan ve kontrol altına alınamayan kan basıncının ilaç tedavisi ile düşürülmesini amaçlamaktadır. Günümüzde hipertansiyon tedavisinde kullanılan başlıca ilaçlar;

- Diüretikler (hidroklortiyazid, spironolakton vb.)
- ADE inhibitörleri (kaptopril, enalapril vb.)
- Anjiyotensin II reseptör blokerleri (kandesartan, losartan vb.)
- Adrenerjik  $\alpha$ - reseptör blokerleri (prazosin, terazosin vb.)
- Adrenerjik  $\beta$ -reseptör blokerleri (propranolol, atenolol vb.)
- Kalsiyum kanal blokerleri (verapamil, amlodipin vb.)
- Santral etkili antihipertansif ilaçlar (metildopa, klonidin vb.)
- Adrenerjik nöron blokerleri (rezerpin)
- Direkt etkili vazodilatörler (minoksidil, hidralazin vb.) yer almaktadır (Kayaalp 2009).

#### 2.4.4.1 Diüretikler

Böbrek tubulusları üzerine olan etkileriyle Na<sup>+</sup> ve su kaybını artıran ilaçlardır. Antihipertansif olarak daha çok tiazid türü diüretikler kullanılır; kıvrım diüretikleri veya tek başına potasyum-tutucu diüretikler daha az kullanılmaktadır. Diüretiklerin antihipertansif etki yapmalarında esas olarak su ve tuz kaybı, hipovolemi ve ekstrasellüler sıvı hacmi azalmalarına neden olmaları ve daha uzun sürede gelişen vazodilatasyon rol oynar. Tiazidler ödemli hastalıkların tedavisinde olduğu gibi akut şekilde ve özellikle yüksek dozda kullanıldıklarında sıvı ve elektrolit dengesini belirgin şekilde bozarlar. Bu grup ilaçlara örnek olarak tiazid türevi hidroklorotiazid ve ftalimidin türevi klortalidon'dur (Kayaalp 2009).

#### 2.4.4.2 ADE İnhibitörleri

Anjiyotensin dönüştürücü enzimin (ADE) inhibisyonu anjiyotensin II' nin plazma ve dokulardaki düzeyini azaltarak damarları genişletirler, böbrek kan akımını arttırmırlar. Hafif hipertansiyonlularda monoterapi olarak kullanılabilirler. En sık görülen yan tesirleri öksürük yapmalarıdır. ADE inhibitörlerinin spesifik etkileri ile ilgili önemli bir kontrendikasyonu, nadir görülen bir durum olan bilateral renal arter stenozu'dur ilaçlara örnek olarak kaptopril, enalapril, benazepril, fosinopril ve kinaprildir (Kayaalp 2009).

#### 2.4.4.3 Anjiyotensin II reseptör blokerleri

Anjiyotensin II'nin kardiyovasküler ve diğer yapılardaki etkisine aracılık eden başlıca 2 tür reseptörü vardır. Kardiyovasküler sistemdeki ve diğer birçok etkilerine AT<sub>1</sub> reseptörler aracılık eder. Bu arada AII'nin kalp ile damar dokusunda hipertrofi yapıcı etkinlikleri tamamiyle veya esas olarak bu tür reseptörler aracılığıyla oluşur. Bunlar kalp, damar düz kası, böbrek glomerülleri ve tubulusları, adrenal korteks, trombositler, adipositler ve plasentada bulunur. Halen tedavide kullanılan anjiyotensin



reseptör blokörleri AT<sub>1</sub> reseptörlerin selektif antagonistleridir. Anjiyotensinle yarışmaya girerek onun reseptöre bağlanmasını ve dolayısıyla etkilerini yarışmalı şekilde antagonize ederler. (Kayaalp 2009)

#### **2.4.4.4 Alfa-Adrenerjik Reseptör Blokörleri**

Fenoksibenzamin ve fentolamin gibi selektif olmayan alfa-adrenerjik reseptör blokörleri ortostatik tipte belirgin bir hipotansiyon oluştururlar, ayrıca bulantı, kusma, baş ağrısı, taşikardi ve palpasyon gibi yan tesirleri sık meydana getirdikleri ve hipotansif etkilerine karşı görece kısa sürede tolerans geliştiği için esansiyel hipertansiyonun rutin tedavisinde kullanılmazlar. Taşikardi yapmaları hem hipotansiyonun yaptığı refleks sempatik hiperaktivasyona ve hemde kalpteki adrenerjik sinir uçlarında alfa-2 adrenerjik reseptörleri bloke ederek sinir ucundan noradrenalin salıverilmesini arttırabilmelerine bağlıdır. Bu gruptaki ilaçlara örnek olarak; prazosin, doksazosin mezilat, alfuzosin verilebilir.

#### **2.4.4.5 Beta-Adrenerjik Reseptör blokörleri**

Beta-blokörlerin vazodilatasyon yapmalarını ve böylece total periferik damar rezistansını düşürmeleri bir kaç yol ile olabilmektedir. Bunlar; renin salgılanmasının inhibisyonu, baroreseptör duyarlılığının arttırılması, sempatik adrenerjik sinir uçlarından noradrenalin salıverilmesinin azalması ve beyin sapındaki sempatik merkezlerin inhibisyonudur. Beta-blokörlerle hipertansiyon tedavisine başlandığında kan basıncındaki düşme geç olarak gelişir ve 1-2 haftada maksimuma erişir. Bu nedenle tedavinin başlangıcında bu kadarlık bir süre geçmeden ve doz ayarlaması sırasında belirli bir doz 1-2 hafta denenmeden daha yukarı doza geçmemek gerekir. Bu gruptaki ilaçlara örnek olarak; propranolol, atenolol, betaksolol,nebivolol ve labetolol verilebilir (Kayaalp 2009).

#### 2.4.4.6 Kalsiyum Kanal Blokörleri

Kalsiyum kanal blokörleri, sitoplazma membranındaki voltaja-bağımlı kalsiyum kanallarının üzerinde bulunan reseptörlerine yüksek afiniteli bir şekilde bağlanarak hücre içi  $Ca^{2+}$  girişini azaltırlar. Bunun sonucu olarak damarları gevşetirler. Kalsiyum kanal blokörü ilaçlar, hafif ve orta derecedeki esansiyel hipertansiyonun tedavisinde tek ilaç olarak kullanılabilirler. İskemik kalp hastalığı olan hastalarda uzun süreli tedaviden sonra kalsiyum antagonisti ilacın birden kesilmesinin bazı hastalarda ağır iskemik nöbete hatta akut myokard infarktüsüne neden olabileceği bildirilmiştir. Bu gruptaki ilaçlara örnek olarak amlodipin, diltiazem ve verapamil verilebilir (Kayaalp 2009).

#### 2.4.4.7 Santral Etkili Sempatolitik İlaçlar

Santral sempatolitik ilaçlar  $\alpha_2$ -reseptörleri aktive eden klonidin, guanfasin, guanabenz ve adrenerjik sinir uçlarında  $\alpha_2$ -agonist bir madde olan alfa-metilnoradrenaline dönüşen prekürsör ilaç olan metildopa'dır. Söz konusu ilaçlar santral sinir sistemi (SSS)'ne kolayca geçebilirler ve antihipertansif olarak kullanılan ufak miktarlarda verildiklerinde periferde alfa-mimetik nitelikte bir etki yapmaksızın, sadece santral alfa-agonist etkinlik gösterirler. Bu grup ilaçlardan metildopa hafif ve orta hipertansiyon olgularında, genellikle bir tiazid diüretikle kombine edilerek kullanılabilir. Bu ilacın en sık görülen yan etkisi ortostatik hipotansiyon, yorgunluk duyumsama, sedasyon ve erkeklerde seksüel işlev bozukluğudur (Kayaalp 2009).

#### 2.4.4.8 Adrenerjik Nöron Blokörleri

Bu grup ilaçlardan rezerpin, adrenerjik sinir uçlarında sitoplazma içinde binlercesi bir arada bulunan ve nörotransmitter noradrenalini depolayan veziküllerin membranını etkileyerek; sitoplazmadan veziküllerin içine noradrenalini ve onun prekürsörü dopamini pompalayan veziküler amin pompasını geri dönüşümsüz biçimde

bloke eder. Böylece depo vezikülleri içindeki noradrenalinini boşaltır ve adrenerjik sinir ucunda tutulan noradrenalin miktarını azaltır. Böylece kalp damar sistemi üzerindeki sempatik tonüsü azaltarak kan basıncını düşürürler.

#### **2.4.4.9 Direkt Etkili Vazodilatörler ve Potasyum Kanal Açıcı İlaçlar**

Bu grup ilaçlar; hidralazin, minoksidil'dir. Bu ilaçlar damar düz kas hücresinde potasyum kanallarını açarak hiperpolarizasyon yaparlar. Damar düz kas hücresinin hiperpolarizasyonu hücre içinden dışına  $Ca^{2+}$  çıkışına neden olur. Hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeylerinin azalması da damar düz kasının gevşemesine neden olarak vazodilatasyonla sonuçlanır. Bunun yanı sıra intraselüler depolardan sitoplazma içine  $Ca^{2+}$  salıverilmesi de azalarak vazodilatör etkiye katkıda bulunur. Hidralazin esansiyel hipertansiyon tedavisinde ilk ilaç olarak kullanılmaz. Orta ve ağır hipertansiyon olgularında genellikle, bir diüretik ve beta-blokör ilacın kombinasyonuna yeterli derecede yanıt vermeyen olgularda, onlara kombine edilmek suretiyle kullanılır. Hidralazin'in uzun süre kullanılması, sistematik lupus eritematosu taklit eden bir iyatrojenik lupus sendromu ve polinörit oluşturur (Kayaalp 2009).

#### **2.4.4.10 Sadece Hipertansif Kriz Tedavisinde Kullanılan İlaçlar**

Bu grup ilaçlar arasında sodyum nitroprusiyat, diazoksid, kaptopril, nifedipin, labetalol bulunmaktadır ve hipertansiyonun rutin tedavisinde kullanılmazlar. Sadece hipertansif krizde kan basıncını kısa zamanda ve kontrollü bir şekilde düşürmek için kullanılırlar. Hipertansif kriz, arteriyel kan basıncının aşırı derecede yükselmesinin eşlik ettiği ve girişim yapılmadığı takdirde hipertansif ensefolapati, intrakranial kanama ve akut sol kalp yetmezliği ile ona bağlı akciğer ödeminin gelişebildiği acil bir durumdur. Tedavinin amacı akut hedef organ zedelenmelerini önlemek veya kısıtlamaktır (Kayaalp 2009).

## 2.5 Deneysel Hipertansiyon Metodları

Hipertansiyon multifaktöryel bir hastalık olup patofizyolojisinin anlaşılmasında ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde deney hayvanlarından sıklıkla yararlanılmaktadır. Buna göre deney hayvanlarında insanlarda görülen hipertansiyon modelini taklit etmek ve hastalık etmenlerini incelemek amaçlanmaktadır. Bu hastalığın anlaşılmasında, olası tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde deneysel hayvan modellerinin kullanılması kaçınılmazdır. Ayrıca bu hayvan modellerinde hastalığın gelişiminin ayrıntılı olarak test edilemesi de mümkün olabilmektedir. İdeal bir deneysel hipertansiyon modeli aşağıdaki kriterleri sağlayabilmelidir:

- Küçük hayvanlarda uygulanabilir olmalıdır.
- Gerçekleştirilmesi basit ve daima tekrarlanabilir olmalıdır.
- Tahmin edilebilir ve kontrol edilebilir semptomlar göstermelidir.
- İnsan hipertansiyonu ile bazı biçimleriyle kıyaslanabilir olmalıdır.
- Ekonomik, teknik hususlar ve hayvan refahı açısından tatmin edici olmalıdır.
- Bir ajanın potansiyel antihipertansif özellikleri öngörülebilirdir (Doggrell ve Brown 1998).

Bu noktadan hareketle çok sayıda deneysel hipertansiyon modeli geliştirilmiştir. Bu modellerin büyük bir bölümünde fareler ve sıçanlar tercih edilmektedir. Rodentler hem maliyet, hem uygulanabilirlik hem de tekrarlanabilirlik açısından çok fazla olanak sağlamaktadırlar. Ancak tüm bu olumlu yönlerine karşılık dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar arasında her ne kadar geliştirilen modeller teorik olarak insanlarda görülen hipertansiyona benzerlik gösterse de arada tür farkı bulunmaktadır. Ayrıca geliştirilen modellerin hemen hemen tamamı sekonder hipertansiyon olup bir ilaç, cerrahi yöntem veya genetik manüplasyonla oluşturulmaktadır. Buna karşılık insanlarda görülen esansiyel hipertansiyonun nedeni bilinmemekte ve çok kompleks mekanizmalar söz konusu olmaktadır. Deneysel hipertansiyon modellerin arasında en sık tercih edilenleri aşağıdakiler gibidir;

- **Spontan ve Genetik Hipertansiyon Modelleri**
  - Spontan Hipertansif Sıçanlar
  - Spontan Hipertansif İnme-Eğilimli Sıçanlar
  - Dahl Tuz-duyarlı Sıçanlar
  - Transgenik Sıçan (TGR) Modeli
- **Diyet veya Farmakolojik Ajanlar ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri**
  - Aşırı Tuz Yükleme
  - DOCA-Tuz Modeli
  - NO Sentezinin İnhibisyonu
- **Cerrahi Girişim ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri**
  - Çift Böbrek-Tek Darlık Modeli
  - Tek Böbrek-Tek Darlık Modeli
- **Diğer Hipertansiyon Modelleri**
  - Obezite-İlişkili Hipertansiyon
  - Psikojenik Hipertansiyon

### 2.5.1 NO Sentezinin İnhibisyonu

NO sentaz enziminin L-NAME (N $\omega$ -Nitro-L-arginin metil ester) gibi L-arginin analogları ile inhibe edilmesi sonucunda total periferik direncin artmasına bağlı olarak kan basıncının yükselerek oluşan hipertansiyon modelidir (Ribeiro ve ark. 1992). Kronik NOS inhibisyonu esansiyel hipertansiyon araştırmalarında kullanılmakla birlikte mekanizması henüz aydınlatılamamıştır. Vazodilatör NO sentezinin engellenmesine bağlı total periferik direnç artışı ile birlikte, artmış renal sodyum tutulumunun, sempatik sistem aktivasyonunun ve çeşitli vazodilatör maddelerin, kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun oluşumuna katkısı olduğu öne sürülmektedir (Zatz ve Baylis 1998). NOS inhibitörlerinin uygulanması deney hayvanlarının içme sularına her gün katılmak suretiyle, oral gavaj yöntemiyle veya ilacın subkütan infüzyonu şeklinde

gerçekleştirilmektedir (Priviero ve ark. 2007). Bu yöntem sıçandan başka köpek ve domuzda da kullanılmaktadır (Ito ve ark. 1995). Uygulama kolaylığı ve uygulanan hayvanlarda daha az ölüm oranına neden olması açısından diğer hipertansiyon modellerine kıyasla daha fazla tercih edilmektedir (Doggrell ve Brown 1998).

## 2.6 Deney Hayvanlarında Kan Basıncı Ölçümü ve Takibi

Hayvanlarda gelişen hipertansiyonun belirlenmesi ve takibinin sağlanması için deneyin süresine ve şartlarına bağlı olarak kan basıncının çeşitli yöntemlerle ölçümü gerçekleştirilmektedir. Kan basıncı ölçümü sırasında anestezi kullanımı, sadece hayvanın immobilizasyonunda güçlük yaşandığı durumlarda tavsiye edilmektedir. (Kolatkar ve ark. 1973). Deney hayvanlarında kan basıncı direkt (invazif) veya indirekt (noninvazif) yöntemlerle ölçülmektedir. Seçilecek yöntemin uygunluğu çalışmanın konusuna bağlıdır. Araştırmacı açısından önemli olan nokta, deney tasarımına göre en kesin ve en güvenilir veriyi sağlayabilecek yöntemin seçilmesidir.

- Direkt Ölçüm Yöntemleri
  - Radyoteleometri
  - “Fluid-filled” kateter-transdüser sistemi
  - Transdüser uçlu kateter kullanımı
- İndirekt Ölçüm Yöntemleri
  - Kuyruk-manşon yöntemi (Tail-cuff)

Kuyruk-manşon (tail-cuff) yönteminde deney hayvanının sistolik kan basıncı değeri ölçülmektedir. Sistolik kan basıncı; kuyruğa yerleştirilmiş olan manşonun şişirilmesi ve boşaltılması sırasında kan akımında değişikliğin olduğu andaki manşon basıncı ölçülerek belirlenmektedir. Ölçüm kuyruktaki kaudal arterin pulsatil kan akışının izlenmesi esasına dayanır. Cerrahi müdahale gerektirmez, kısa ya da uzun süreli çalışmalarda anestezi uygulanmadan deney hayvanlarında sistolik kan basıncının

tekrarlanarak ölçülmesine olanak sağlar. Fakat günlük ortalama sistolik kan basıncını ölçmek mümkün değildir ve tekrarlanan ölçümlerde önemli farklılıklar görülebilir. Ölçüm öncesinde deney hayvanının bir ısı pedi üzerine konması ve etrafında ısıyı muhafaza edecek ortamın sağlanması gerekmektedir. Aksi takdirde pulsatil kan akımı ölçülemeyebilir (Kurtz ve ark. 2005).

### 3 GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri

Çalışmamızda ortalama 200-250g ağırlığında Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'ndan temin edilmiş ve hayvanlar deney süresince ad libitum olarak standart pellet sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Deney hayvanlarına içme suyu olarak kontrol gruplarında çeşme suyu ve hipertansiyon oluşturulan grupta ise her gün taze hazırlanmış ve 60 mg/kg dozunda (0.5 mg/mL) L-NAME içeren çeşme suyu verilmiştir. Hayvanlar  $20 \pm 2$  °C'de, %40-50 nem ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunun sağlandığı bir ortamda muhafaza edilmişlerdir.

Deneyler İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 04/11/2010 tarihli, 161 no'lu Etik Kurul kararına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2 Araç ve Gereçler

- *Alchemilla vulgaris* bitkisi (500g)
- UV-Spektrofotometre
- Hidrofil Pamuk
- Ayırıcı huniler 2x100 ml
- 10 ve 50 ml pipetler
- Pasteur's pipeti
- %25 hidrojen klorür
- Etil asetat



- %0,05 metenamin
- Aseton
- 2x25 ml beher
- Kondensatör
- Allihn Kondensatör
- Liebig kondensatör
- Dereceli deney tüpleri
- 2x50 ml
- 1x100 ml
- 4x10 ml
- 2x25 ml
- Dört kanallı myograf sistemi ( DMT & ADInstruments; Model 610M)
- Diseksiyon mikroskobu (Zeiss 2000)
- Soğuk ışık kaynağı (Schott)
- Kuyruktan Kan Basıncı Ölçüm Sistemi (NIBP) (Tail-cuff) (ADInstruments; Model ML125/R)
- Lateks membran (Tail-cuff için) (ADInstruments)
- Hayvan sabitleyicisi (Restrainer) (ADInstruments)
- % 95 O<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı tüpü
- Otomatik mikropipet
- Eppendorf polietilen tüpler
- Cerrahi makas ve pens
- 40 µm çapında paslanmaz çelik tel
- Vorteks (Velp Scientifica)
- Petri kutusu

- Termostatlı su banyosu (Thermomiks)
- Santrifüj (3000 devir/dk) (Ettich)
- Elektronik Hassas Terazî (Sartorius)
- Derin dondurucu (-20°C) (Electrolux)
- Bilgisayar ve yazılım programları:
  - Bilgisayar ve yazıcı
  - “ADInstruments Powerlab DMT Normalization v1 for Windows” yazılım programı
  - “ADInstruments Powerlab NIBP LabChart6” yazılım programı
  - GraphPad Prism 6 demo yazılım programı

### 3.3 Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları

*Alchemilla vulgaris* bitkisi Hollanda'nın Utrecht Üniversitesi  $\beta$ -Fakültesi Medisinal Kimya&Kimyasal Biyoloji biriminden Dr. CJ Kees Beukelman tarafından Hollanda Jacob&Hoy firmasından temin edilmiş ve fakültemizin Farmakognozi Anabilim Dalında sıvı ekstraktları hazırlanmıştır.

***Alchemilla vulgaris* (Rosaceae) metanol ekstresi :** Bitki materyali Soxhlet aparatında 18 saat tüketilmiş ve rotovaporu da yoğunlaştırıldıktan sonra liyofilize edilmiştir.

***Alchemilla vulgaris* (Rosaceae) su ekstresi :** Bitki materyali 24 saat oda sıcaklığında maserasyona bırakılmıştır. 6 saat geri çeviren soğutucu altında su banyosunda tüketildikten sonra liyofilize edilmiştir.

**No-Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür (L-NAME; Sigma):** Non-selektif NOS enzim inhibitörü.

NO sentezini inhibe ederek deneysel hipertansiyon oluşturmak için kullanılmıştır. Sıçanların içme sularına her gün 60 mg/kg dozunda (0.6 mg/mL) eklenmiş ve her gün taze hazırlanarak uygulanmıştır.

**Noradrenalin (Sigma):** Vazokonstriktör ajan.

Stok çözeltisi  $10^{-4}$ M olarak 0,001N HCl içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Maddenin stabilizasyonunun sağlanması amacıyla hazırlama esnasında 1 mg/ml askorbik asit (Merck) ilave edilmiştir. Stok çözeltisi ve dilüsyonlar ışıktan korunmuştur.

**KCl (Merck):** Vazokonstriktör ajan.

Stok çözeltisi  $10^{-2}$ M olarak distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

**Prostaglandin F<sub>2α</sub> (Pfizer; Dinolytic):** Vazokonstriktör ajan.

$10^{-4}$ M olan stok çözeltisi ve bu stoktan hazırlanan dilüsyonlar kullanılmıştır.

**Asetilkolin HCl (Sigma):** Endotel bağımlı gevşetici ajan.

Stok çözeltisi  $10^{-4}$ M olarak 0,001N HCl içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

**Sodyum nitroprusiyat (Sigma):** Düz kas gevşetici ajan, nitrovazodilatör.

Stok çözeltisi  $10^{-4}$ M olarak distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltisi ve dilüsyonlar ışıktan korunmuştur.

**İndometazin:** Siklooksijenaz inhibitörü.

Stok çözeltisi  $10^{-5}$ M olarak %5 NaHCO<sub>3</sub>'de hazırlanmıştır.

**1H-[1,2,4] oxadiazolo-[4,3-a] quinoxalin-1-one (ODQ) :** Selektif çözümlenür gunilat siklaz inhibitörü. Stok çözeltisi  $10^{-5}$ M olarak DMSO' da hazırlanmıştır.

**NG-nitro-L-arginin (L-NOARG):** Nitrik oksit sentetaz inhibitörü.

Stok çözeltisi  $10^{-4}$ M olarak distile suda hazırlanmıştır.

Deneylerde kullanılan kimyasal maddelerin solüsyonları derin dondurucuda muhafaza edilen stoklardan Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisinde dilüe edilerek her gün taze olarak hazırlanmıştır. Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisinin içeriği şu şekildedir:

(NaCl: 135mM, KCl: 5mM, NaHCO<sub>3</sub>: 20mM, Glukoz: 10mM, CaCl<sub>2</sub>: 2.5mM, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 1.3mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 1.2mM, EDTA: 0.026mM).

### 3.4 YÖNTEM

Çalışmalarımız normotansif ve deneysel hipertansif sıçanlarda ve bu hayvanlardan izole edilen mezenterik arterlerde yürütülmüştür.

Çalışmamızda uyguladığımız deneyler temel olarak iki gruba ayrılmıştır. Bunlar;

#### 1. İn vitro deneyler

##### A. Ekstrelerin etkisinin incelenmesi

- i. Metanol ekstrenin etkisinin incelenmesi
- ii. Su ekstrenin etkisinin incelenmesi

##### B. Etki mekanizmalarının incelenmesi

- i. Metanol ekstrenin etki mekanizmasının incelenmesi
- ii. Su ekstrenin etki mekanizmasının incelenmesi

##### C. Kasılma cevaplılığı üzerine etkisinin incelenmesi

- i. Metanol ekstrenin spazmojen ajanların kasılma cevaplılığı üzerine etkisinin incelenmesi
- ii. Su ekstrenin spazmojen ajanların kasılma cevaplılığı üzerine etkisinin incelenmesi

#### 2. İn vivo deneyler.

##### A. Normotansif sıçan grubu

##### B. Sıçanlarda L-NAME ile hipertansiyon grubu

- i. Metanollü ekstrenin (300 mg/kg/gün p.o) sistolik kan basıncı üzerine etkisinin incelenmesi
- ii. Su ekstrenin (300 mg/kg/gün p.o) sistolik kan basıncı üzerine etkisinin incelenmesi

### 3.4.1 Fonksiyonel Çalışmalar

#### 3.4.1.1 Sıçan Mezenterik Arterinin İzolasyonu

Wistar albino sıçanlar dekapitasyon ile feda edildikten sonra, abdomenleri açılarak ileal bölgeden süperior mezenterik arterin ikinci sıra dalları izole edilmiştir. İzole edilen arterler Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içeren petri kutularına alınmış ve diseksiyon mikroskobu altında çevre dokulardan temizlenmiştir. Ardından her bir damardan myograf sisteminin doku tutucuları arasına girecek uzunlukta preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatların her biri 40 µm çapında iki paslanmaz çelik telden geçirilmek suretiyle myografin doku tutucuları arasına yerleştirilmiştir. Bu tellerden biri güç duyarlı (force displacement) transdüser, diğeri ise mikrometreye fikse edilmiştir.

#### 3.4.1.2 Arterlerin Standardizasyonu

Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içeren myograf sistemine yerleştirilen damarlar %95 O<sub>2</sub> + %5 CO<sub>2</sub> gaz karışımı ile havalandırılmış ve 37 °C’de bir saat süreyle dengelenmeye bırakılmıştır. Dengelenme süresi boyunca Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi her 10 dakikada bir değiştirilmiştir. Dengelenme süresinin ardından mezenterik arterler için normalizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Normalizasyon işlemi esnasında mezenterik arterlere uygulanan gerim kademeli olarak arttırılmış ve pasif damar duvar gerimi-iç çevre ilişkisi çalışılmıştır. Böylece normal fizyolojik koşullarda, tamamen gevşemiş damarın içinden geçen kanın damar duvarına yaptığı basıncın (transmural basınç; 13,3 kPa [100 mm-Hg], %90’ına karşılık gelen iç çevre belirlenerek mezenterik arterlerin gerimi mikrometre yardımı ile bu düzeye getirilmiştir (Mulvany ve Halpern 1977). Uygun ön gerime getirilen bu arterler 30 dakika süreyle tekrar dengelenmeye bırakılmıştır ve ardından 20’şer dakika ara ile iki defa potasyum klorür (K<sup>+</sup>; 120mM) ve noradrenalin (NA;10<sup>-4</sup>M) kombinasyonu (NAK) ile kastırılarak standardize edilmiştir.

### 3.4.1.3 Kastırıcı Ajanların İzole Sıçan Mezenterik Arterleri Üzerinine Etkilerinin İncelenmesi

İzole sıçan mezenterik arterlerinde kastırıcı ajanların etkileri prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ;  $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ve potasyum klorürün ( $K^+$ ; 10-120mM) damarlar üzerine kümülatif olarak uygulanması sonucu konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilerek incelenmiştir.

### 3.4.1.4 İzole Sıçan Mezenterik Arterlerinin Endotel Aracılı Gevşeme Yanıtlarının İncelenmesi

İzole sıçan mezenterik arterlerinde endotel fonksiyonunun belirlenmesi amacı ile  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak endotelden NO serbestlenmesine neden olarak gevşeme oluşturan asetilkolin ( $Ach$ ;  $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) uygulanmıştır.

### 3.4.1.5 İzole Mezenterik Arterlerinin Düz Kas Gevşeme Yanıtlarının İncelenmesi

İzole sıçan mezenterik arterlerinde düz kas gevşeme kapasitelerinin belirlenmesi amacı ile  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak endotelden bağımsız olarak düz kasta gevşeme oluşturan sodyum nitroprusiyat ( $SNP$ ;  $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) uygulanmıştır.

### 3.4.1.6 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arter Üzerine Etkisinin İncelenmesi

İzole sıçan mezenterik arter halkalarının endotel ve düz kas fonksiyonlarının belirlenmesinin ardından *Alchemilla vulgaris* bitkisinin sıvı ekstrelerinin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}$ M) veya  $K^+$  (40mM) ile submaksimal olarak

kastırılmış izole mezenterik arter preparatları üzerine *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstreleri artan konsantrasyonlarda (0,01-10 mg/ml) ilave edilerek oluşan cevaplar incelenmiştir.

#### **3.4.1.7 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisinin Mekanizmasının İncelenmesi**

İzole sıçan mezenterik arter halkalarında *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstresine bağlı cevapların elde edilmesinin ardından mekanizmaya yönelik çalışmalara geçilmiştir. Bu amaçla damarlar nitrik oksit sentaz inhibitörü NG-nitro-L-arjinin (L-NOARG;  $10^{-4}$ M, 20 dk.), guanilat siklaz inhibitörü ODQ ( $10^{-5}$ M, 20dk.) siklooksijenaz inhibitörü indometazin ( $10^{-5}$ M, 20dk.) ile inkübe edilerek ve *Alchemilla vulgaris* bitkisinin hem metanol hem de su ekstrelerinin etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Paralel olarak endotel tabakası mekanik olarak hasarlanmış (deendotelize) preparatlarda da *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstrelerinin etkileri test edilmiştir.

#### **3.4.1.8 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arter Reaktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi**

İzole sıçan mezenteik arterlerinde kastırıcı ajanlar  $PGF_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ve  $K^{+}$  (10-120mM) damarlar üzerine kümülatif olarak uygulanması sonucu konsantrasyon-yanıt eğrilerinin elde edilmesinin ardından *Alchemilla vulgaris* bitkisinin her iki ekstrelerinin (10 mg/ml;20 dak.) uygulanmasının kasılma cevaplılığı üzerine etkisi incelenmiştir.

#### **3.4.2 Sıçanlarda Hipertansiyon Oluşturulması**

Çalışmamızda sıçanlar rastgele olarak 4 gruba ayrılmış ve 1. Grup kontrol olarak sadece içme suyu almıştır. Grup 2,3,4 ise 5 hafta içme sularına her gün taze olarak hazırlanan, 60 mg/kg dozda non-selektif NOS enzim inhibitörü L-NAME almıştır (Ribeiro ve ark. 1992). Grup 3. *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol

ekstresini Grup 4. *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su estresini (300 mg/kg/gün) dozunda 3. Haftadan itibaren 2 hafta boyunca almıştır (Plotnikov ve ark. 2006). Hayvanların günlük su tüketimi, daha önce yürütülen ön çalışmaya göre, her gün takip edilerek (bir sıçan için 35-40 ml/gün) tespit edilmiş ve içme sularına eklenecek L-NAME dozu bu tüketime göre belirlenmiştir.

Kontrol ve hipertansif gruplardaki hayvanların vücut ağırlıkları ve sistolik kan basınçları haftada bir yapılan ölçümler ile 5 hafta boyunca takip edilmiştir. Sistolik kan basıncının ölçümünde kuyruk-manşon yöntemi (tail-cuff) kullanılmıştır. Deney süresi ve takibi boyunca hayvanların yaşam koşullarına dikkat edilmiş ve bu süre içinde hayvanlarda meydana gelen komplikasyonlar ve değişiklikler izlenmiştir.

### 3.4.3 İstatistiksel Analiz

Veriler “ortalama±standart hata” şeklinde gösterilmiştir. Deney gruplarında belirtilen “n”, hayvan sayısını ya da farklı hayvanlardan izole edilerek çalışılan arter sayısını göstermektedir. Kasılma yanıtları ‘mN/mm’, gevşeme yanıtları ise prekontraksiyona göre ‘% gevşeme’ cinsinden verilmiştir. -LogEC<sub>50</sub> değeri kasılma ve gevşeme yönünde etki gösteren maddelerin maksimum yanıtlarının %50’sini oluşturan agonist konsantrasyonun (EC<sub>50</sub>) negatif logaritmasını ifade etmektedir. Agonistlerle elde edilen maksimum yanıtlar ise “E<sub>maks</sub>” olarak ifade edilmiştir.

Deney sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Student’s t-testi (gruplar arası farkın anlamlılık testi) ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Post hoc testler için Tukey-Kramer testi kullanılmıştır. ‘p’ değeri 0,05’ten küçük olan karşılaştırmalar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

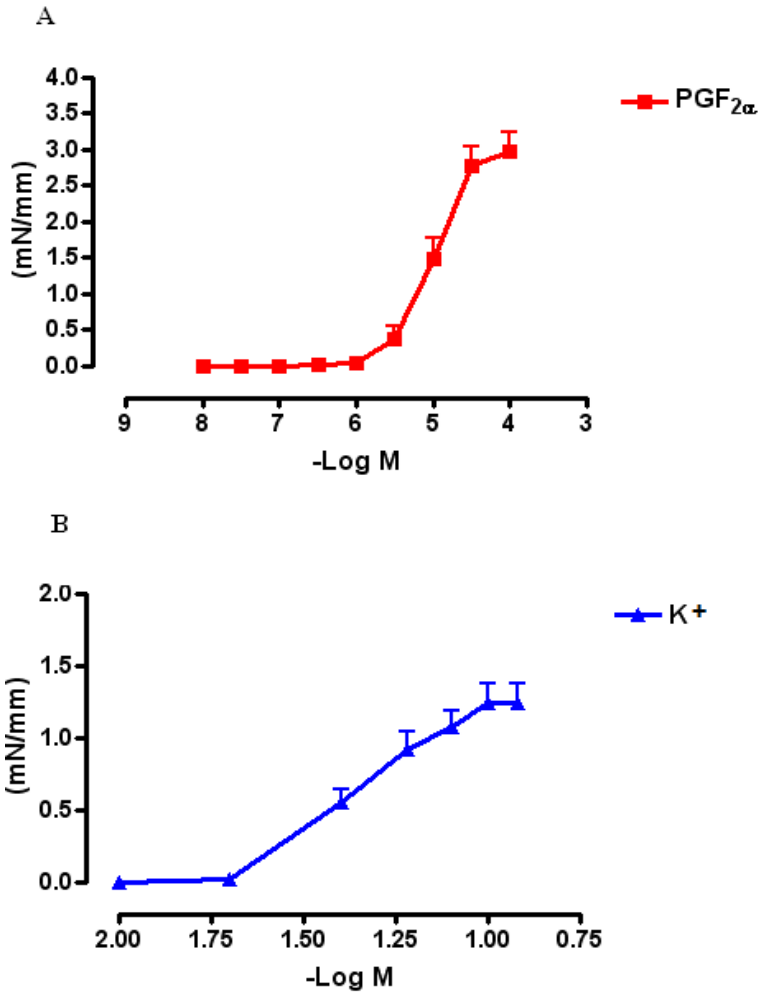


## 4 BULGULAR

### 4.1 İn vitro Deneyley

#### 4.1.1 Kastırıcı Ajanların İzole Sıçan Mezenterik Arterleri Üzerine Etkileri

İzole sıçan mezenterik arterleri üzerine kümülatif  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ – $10^{-4}$ M) ve  $\text{K}^+$  (10-120mM) uygulanması konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtlarına neden olmuştur ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ;  $E_{\text{maks}}=2,96\pm0,28$  mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50}=4,88\pm0,07$  n=16;  $\text{K}^+$ ;  $E_{\text{maks}}=1,24\pm0,13$  mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50}=1,96\pm0,06$  n=17; Şekil 4-1).



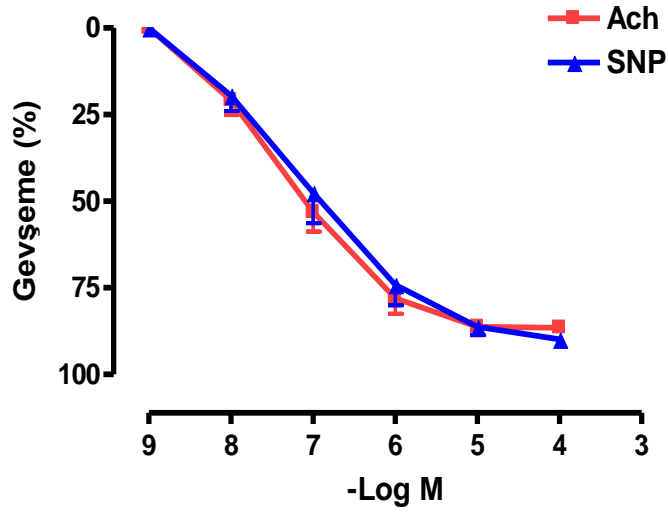
Şekil 4-1: İzole sıçan mezenterik arterleri üzerine kümülatif (A) PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-8</sup>-10<sup>-4</sup>M) ve (B) K<sup>+</sup> (10-120 mM) uygulanmasına bağlı elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi.

#### 4.1.2 İzole Sıçan Mezenterik Arterlerinin Endotel Aracılı Gevşeme Yanıtları

İzole sıçan mezenterik arterlerinin endotel fonksiyonunun belirlenmesi amacıyla  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak Ach ( $10^{-8}$ – $10^{-4} \text{M}$ ) uygulanması konsatrasyon-bağımlı gevşeme yanıtlarına neden olmuştur ( $E_{\text{maks}} = \%86,56 \pm 1,54$ ,  $n = 20$ ; Şekil 4-2).

#### 4.1.3 İzole Sıçan Mezenterik Arterlerinin Düz Kas Gevşeme Yanıtları

İzole sıçan mezenterik arterlerinin düz kas gevşeme kapasitesinin belirlenmesi amacıyla  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak SNP ( $10^{-8} \text{M}$ – $10^{-4} \text{M}$ ) uygulanması konsatrasyon-bağımlı gevşeme yanıtlarına neden olmuştur ( $E_{\text{maks}} = \%89,96 \pm 1,72$ ,  $n = 20$ ; Şekil 4-2).



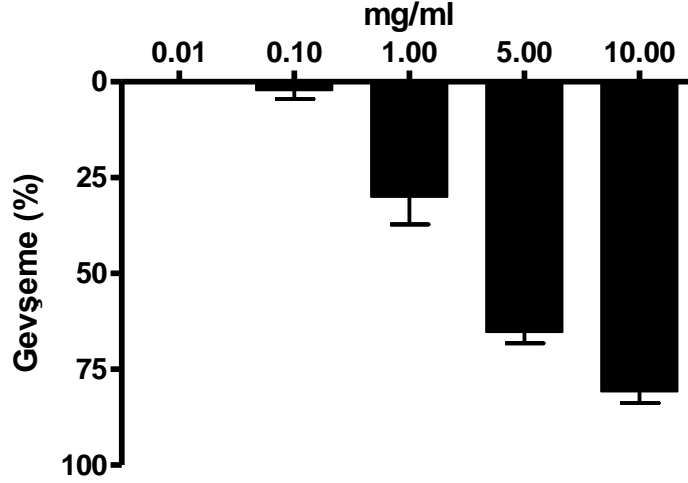
Şekil 4-2:  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile kastrılmış izole sıçan mezenterik arterleri üzerine kümülatif Ach ( $10^{-8}$ - $10^{-4} \text{M}$ ) veya SNP ( $10^{-8}$ - $10^{-4} \text{M}$ ) uygulanmasına bağlı elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi.

#### 4.1.4 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisinin İncelenmesi

##### 4.1.4.1 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Metanol Ekstresinin Etkisi

##### 4.1.4.1.1 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) İle Prekontrakte Edilmiş İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisi

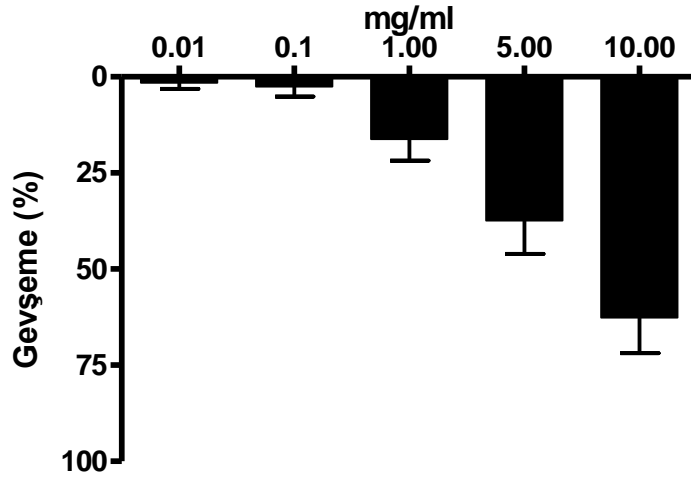
İzole sıçan mezenterik arter halkalarının endotel ve düz kas fonksiyonlarının belirlenmesinin ardından *Alchemilla vulgaris* bitkisinin sıvı ekstrelerinin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile submaksimal olarak kastırılmış izole mezenterik arter preparatları üzerine *Alchemilla vulgaris* bitkisinin (0,01-10 mg/ml) metanol ekstresinin kümülatif olarak uygulanması damarlarda konsantrasyon-bağımlı gevşeme yanıtlarına neden olmuştur ( $E_{\text{maks}} = \% 80,86 \pm 3,01$ ,  $n = 8$ , Şekil 4-3).



Şekil 4-3:  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi.

#### 4.1.4.1.2 K<sup>+</sup> (40mM) İle Prekontrakte Edilmiş İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisi

*Alchemilla vulgaris* bitkisinin (0,01-10 mg/ml) metanol ekstresinin K<sup>+</sup> (40mM) ile submaksimal olarak kastırılmış izole mezenterik arter preparatları üzerine kümülatif olarak uygulanması damarlarda konsantrasyon-bağımlı gevşeme yanıtına neden olmuştur (E<sub>maks</sub>= %62,68±9,29, n=7, Şekil 4-4).

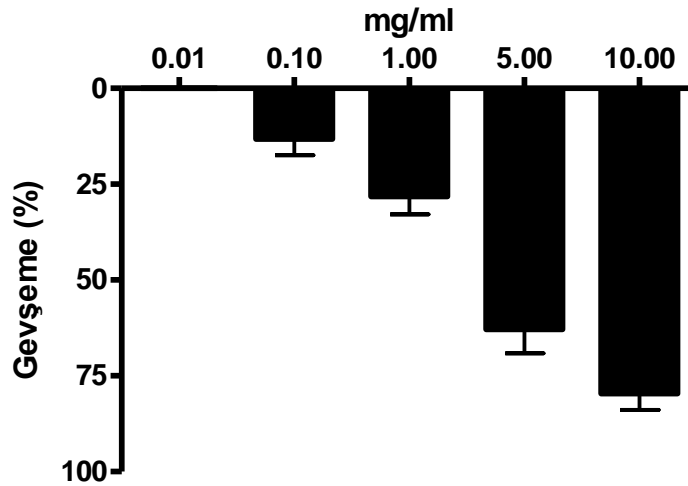


Şekil 4-4: K<sup>+</sup> (40mM) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi.

#### 4.1.4.2 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Su Ekstresinin Etkisi

##### 4.1.4.2.1 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) İle Prekontrakte Edilmiş İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisi

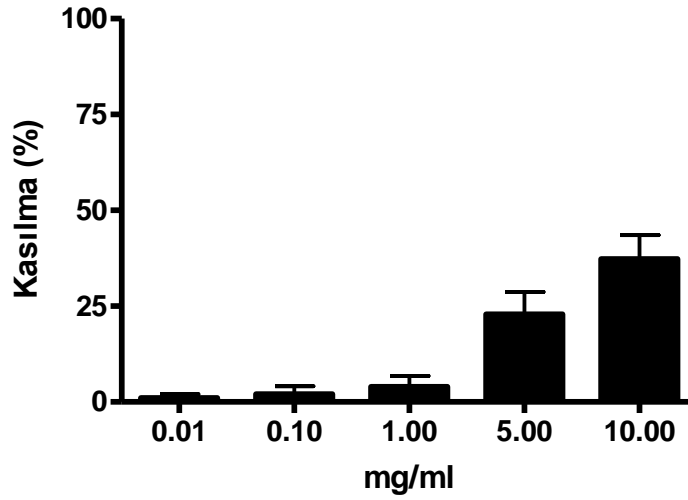
*Alchemilla vulgaris* bitkisinin (0,01-10 mg/ml) metanol ekstresine ait gevşeme yanıtlarının elde edilmesinin ardından su ekstresinin etkileri incelenmiştir. Bu amaçla benzer şekilde  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile submaksimal olarak kastırılmış izole mezenterik arter preparatları üzerine *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresinin (0,01-10 mg/ml) kümülatif olarak uygulanması damarlarda konsantrasyon-bağımlı gevşeme yanıtlarına neden olmuştur ( $E_{\text{maks}} = \%79,68 \pm 4,26$ ,  $n = 15$  ; Şekil 4-5).



Şekil 4-5:  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi.

#### 4.1.4.2.2 K<sup>+</sup> (40mM) İle Prekontrakte Edilmiş İzole Sıçan Mezenterik Arteri Üzerine Etkisi

*Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresinin (0,01-10 mg/ml) K<sup>+</sup> (40mM) ile submaksimal olarak kastırılmış izole mezenterik arter preparatları üzerine kümülatif olarak uygulanması damarlarda konsantrasyon-bağımlı kasılma yanıtına neden olmuştur (E<sub>maks</sub> = %37,25±6,28, n=10, Şekil 4-6).



Şekil 4-6: K<sup>+</sup> (40mM) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterleri üzerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresinin (0,01-10 mg/ml) etkisi.

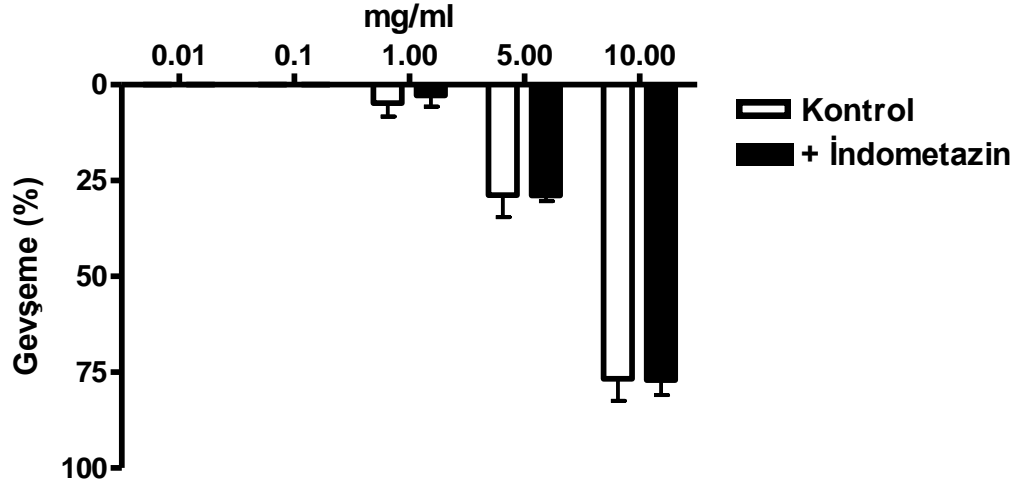


#### 4.1.4.3 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Sıvı Ekstrelerine Bağlı Görülen Gevşeme Yanıtlarının Etki Mekanizmasının İncelenmesi

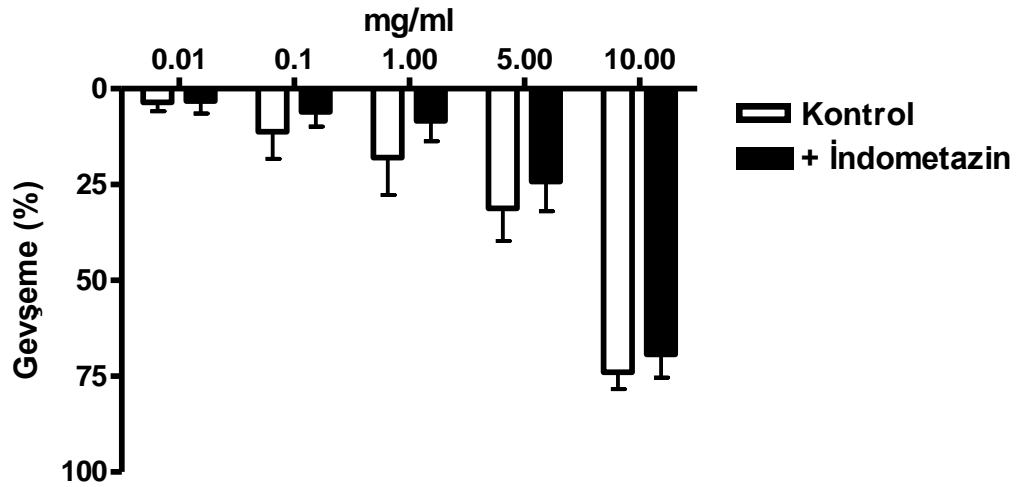
##### 4.1.4.3.1 Siklooksijenaz İnhibitörü İndometazinin (İndo, $10^{-5}$ M, 20 dk) Etkisi

*Alchemilla vulgaris* (0,01-10 mg/ml) bitkisinin sıvı ekstrelerinin etkilerinin mekanizmasını incelenmesi amacıyla damarların siklooksijenaz inhibitörü indometazin ( $10^{-5}$ M, 20dk.) ile inkübe edilmesi *Alchemilla vulgaris* bitkisinin hem metanol hem de su ekstrelerinin maksimum gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Metanol ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%76,77 \pm 5,81$ ; +İndometazin  $E_{maks} = \%77,12 \pm 3,96$ , n = 8 ve Su ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%74,01 \pm 4,41$ ; +İndometazin  $E_{maks} = \%69,34 \pm 6,14$ , n = 6 ;p>0,05, Şekil 4-7, Tablo 4-1, Tablo 4-2)

A.



B.

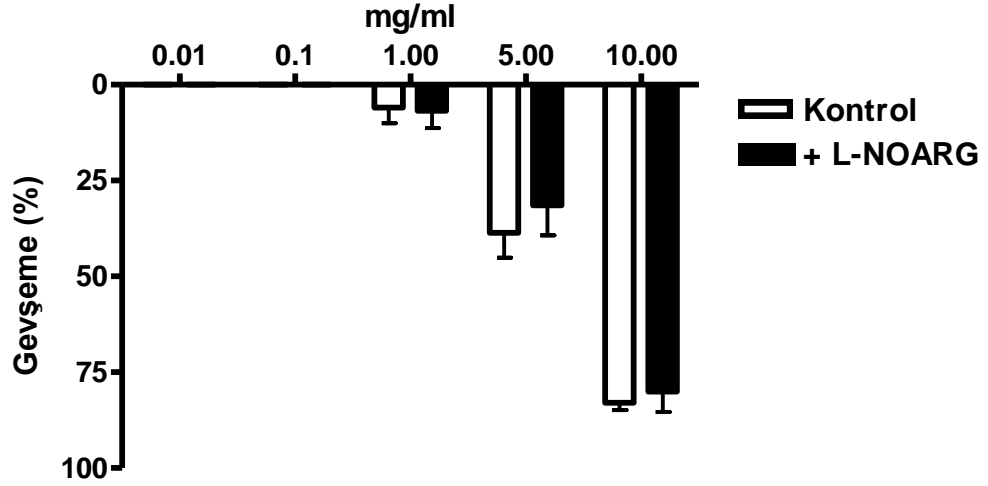


Şekil 4-7:PGF<sub>2α</sub> ( $3 \times 10^{-5}M$ ) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstrelerine (0,01-10 mg/ml) bağlı görülen gevşeme yanıtına siklooksijenaz inhibitörü indometazinin ( $10^{-5}M$ , 20 dk) etkisi.

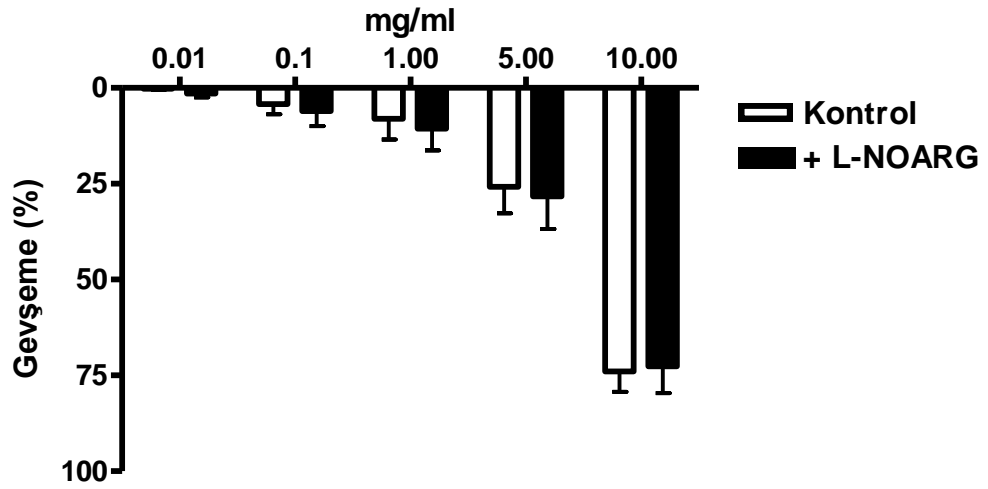
#### 4.1.4.3.2 Nitrik Oksit Sentetaz İnhibitörü L-NOARG'ın ( $10^{-4}$ M) Etkisi.

*Alchemilla vulgaris* (0,01-10 mg/ml) bitkisinin sıvı ekstralarının etkilerinin mekanizmasını incelenmesi amacıyla damarların nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NOARG ( $10^{-4}$ M, 20dk.) ile inkübe edilmesi *Alchemilla vulgaris* bitkisinin hem metanol hem de su ekstralarının maksimum gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Metanol ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%83,03 \pm 1,95$ ; +L-NOARG  $E_{maks} = \%80,16 \pm 5,33$ , n = 8 ve Su ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%74,04 \pm 5,35$ ; +L-NOARG  $E_{maks} = \%72,69 \pm 6,99$ , n = 6 ;p>0,05, Şekil 4-8, Tablo 4-1, Tablo 4-2)

A.



B.

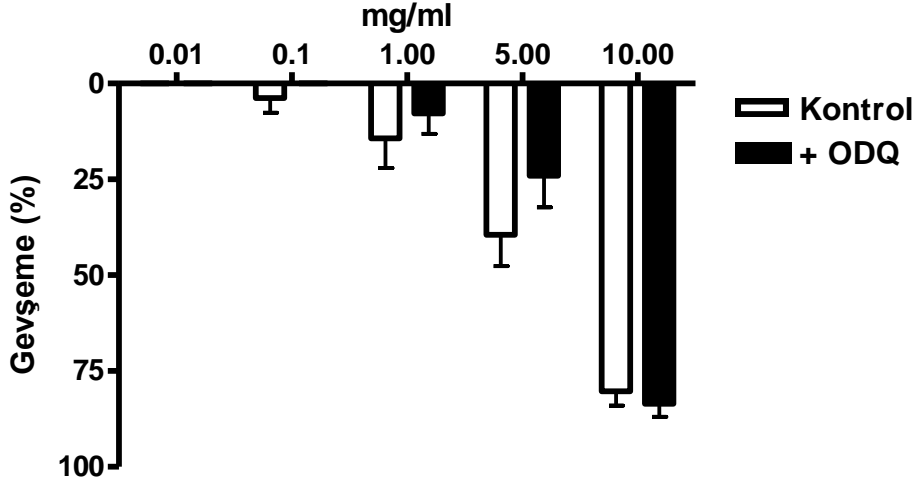


Şekil 4-8:  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstraktlarına (0,01-10 mg/ml) bağlı görülen gevşeme yanıtlarına nitrik oksit sentetaz inhibitörü L-NOARG'ın ( $10^{-4} \text{M}$ , 20 dk) etkisi.

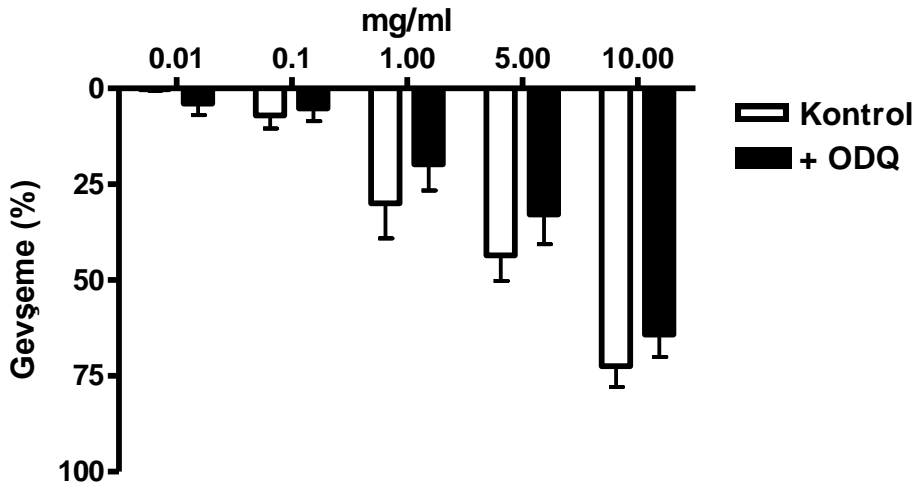
#### 4.1.4.3.3 Guanilat Siklaz İnhibitörü ODQ'nun ( $10^{-5}$ M) Etkisi

*Alchemilla vulgaris* (0,01-10 mg/ml) bitkisinin sıvı ekstrelerinin etkilerinin mekanizmasını incelenmesi amacıyla damarların guanilat siklaz inhibitörü ODQ ( $10^{-5}$  M, 20dk.) ile inkübe edilmesi *Alchemilla vulgaris* bitkisinin hem metanol hem de su ekstrelerinin maksimum gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Metanol ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%80,34 \pm 3,76$ ; +ODQ  $E_{maks} = \%83,62 \pm 3,42$ , n = 8 ve Su ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%72,53 \pm 5,43$ ; +ODQ  $E_{maks} = \%64,26 \pm 5,84$ , n = 6 ;  $p > 0,05$ , Şekil 4-9, Tablo 4-1, Tablo 4-2).

A.



B.

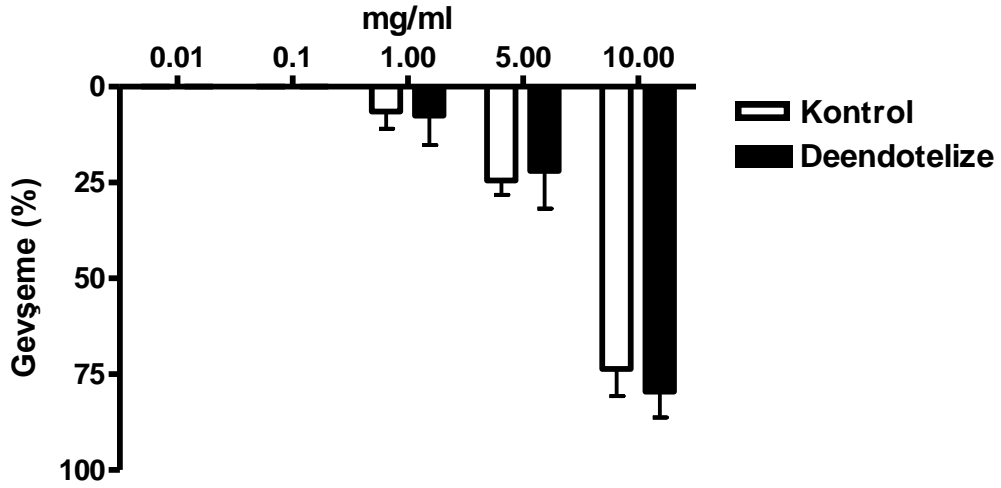


Şekil 4-9:  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}M$ ) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstrilerine (0,01-10 mg/ml) bağlı görülen gevşeme yanıtına guanilat siklaz inhibitörü ODQ'nun ( $10^{-5}M$ , 20 dk) etkisi.

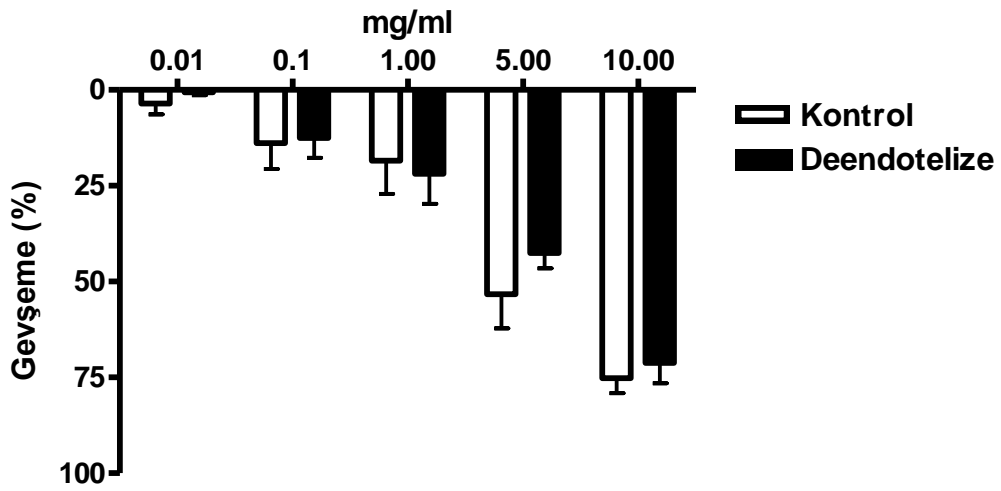
#### 4.1.4.3.4 Endotel Tabakası Hasarının Etkisi

*Alchemilla vulgaris* (0,01-10 mg/ml) bitkisinin sıvı ekstralarının etkilerinin mekanizmasını incelenmesi amacıyla damarların endotel tabakası mekanik olarak tahrip edilmesi *Alchemilla vulgaris* bitkisinin hem metanol hem de su ekstralarının maksimum gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Metanol ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%73,70 \pm 7,08$ ; Deendotelize  $E_{maks} = \%79,59 \pm 6,79$ , n= 6 ve Su ekstre: Kontrol  $E_{maks} = \%75,29 \pm 3,92$ ; Deendotelize  $E_{maks} = \%71,30 \pm 5,32$ , n=6 ;  $p > 0,05$ , Şekil 4-10, Tablo 4-1, Tablo 4-2).

A.



B.



Şekil 4-10:  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}\text{M}$ ) ile prekontrakte izole sıçan mezenterik arterlerinde *Alchemilla vulgaris* bitkisinin (A) metanol ve (B) su ekstrilerine (0,01-10 mg/ml) bağlı görülen gevşeme yanıtına damarların endotel tabakasının mekanik olarak tahrip edilmesinin etkisi.



**Tablo 4-1: Çeşitli inhibitörler ile inkübe edilen ve endoteli mekanik olarak hasarlanmış izole sıçan mezenterik arterlerinde  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}M$ ) ile elde edilen prekontraksiyon değerleri (mN/mm) ve *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresine bağlı oluşan maksimum gevşeme yanıtları ( $E_{maks}$ ; %).**

	(mN/mm)	$E_{maks}$ (%)	n
<b>Metanol Ekstre</b>			
<b>Kontrol</b>	1,72±0,27	76,77±5,81	8
<b>+ İndo (<math>10^{-5}M</math>)</b>	1,31±0,16	77,12±3,96	8
<b>Kontrol</b>	1,33±0,20	83,03±1,95	8
<b>+ L-NOARG (<math>10^{-4}M</math>)</b>	1,87±0,23	80,16±5,33	8
<b>Kontrol</b>	1,75±0,32	80,34±3,76	8
<b>+ ODQ (<math>10^{-5}M</math>)</b>	2,08±0,32	83,62±3,42	8
<b>Kontrol</b>	1,75±0,29	73,70±7,08	6
<b>Deendotelize</b>	1,42±0,44	79,59±6,79	6

$E_{maks}$ = Maksimum gevşeme yanıtı

**-LogEC<sub>50</sub>**= Maksimum gevşeme yanıtının % 50'ini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri

**n**= İzole arter sayısı

**p>0,05** = Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılığı ifade eder.

**Tablo 4-2: Çeşitli inhibitörler ile inkübe edilen ve endoteli mekanik olarak hasarlanmış izole sıçan mezenterik arterlerinde  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}M$ ) ile elde edilen prekontraksiyon değerleri (mN/mm) ve *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresine bağlı oluşan maksimum gevşeme yanıtları ( $E_{maks}$ ; %).**

	(mN/mm)	$E_{maks}$ (%)	n
<b>Su Ekstre</b>			
<b>Kontrol</b>	0,96±0,17	74,61±4,41	6
+ İndo ( $10^{-5}M$ )	0,67±0,06	69,64±6,14	6
<b>Kontrol</b>	1,29±0,17	74,04±5,35	6
+ L-NOARG ( $10^{-4}M$ )	1,76±0,35	72,69±6,99	6
<b>Kontrol</b>	1,38±0,34	72,53±5,43	6
+ ODQ ( $10^{-5}M$ )	1,65±0,29	64,26±5,84	6
<b>Kontrol</b>	1,19±0,47	75,29±3,92	6
<b>Deendotelize</b>	1,06±0,22	71,30±5,32	6

$E_{maks}$ = Maksimum gevşeme yanıtı

$-\text{Log}EC_{50}$ = Maksimum gevşeme yanıtının % 50'ini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri

n= İzole arter sayısı

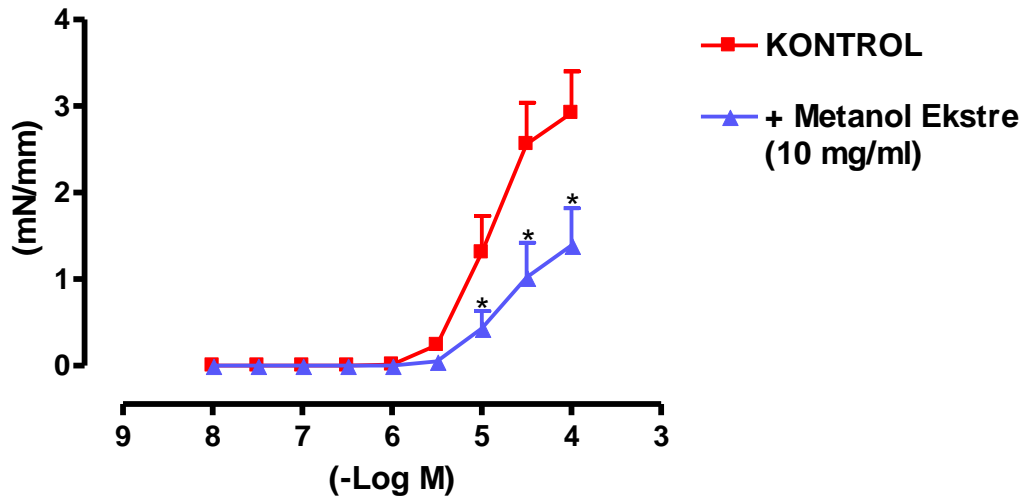
$p > 0,05$  = Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılığı ifade eder.

#### 4.1.5 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Sıvı Ekstrelerinin, Spazmojen Ajanların Kasılma Yanıtları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

##### 4.1.5.1 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Metanol Ekstresinin Etkisi

##### 4.1.5.1.1 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) Konsantrasyon-Yanıt Eğrisi Üzerine Etkisi

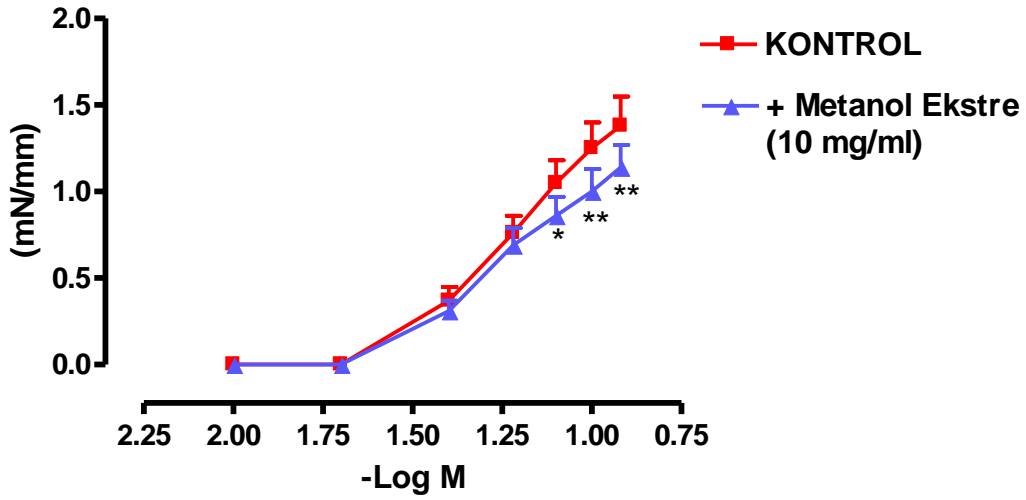
*Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstralarının prekontrakte izole sıçan mezenterik arteri üzerine etkisinin incelenmesinin ardından her iki ekstrenin damarların kastırıcı ajanlara karşı kasılma yanıtları üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla izole sıçan mezenterik arterlerinde  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ile konsantrasyon-yanıt eğrisi elde edildikten sonra damarlar *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresi ile (10 mg/ml) 20 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Damarların metanol ekstresi (10mg/ml, 20 dak.) ile inkübasyonu  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ile elde edilen maksimum kasılma yanıtlarında ve  $-\text{LogEC}_{50}$  değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden olmuştur (Kontrol  $E_{\text{maks}} = 2,92 \pm 0,48$  mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50} = 4,80 \pm 0,09$  ve +Metanol ekstre (10mg/ml)  $E_{\text{maks}} = 1,39 \pm 0,43$  mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50} = 4,58 \pm 0,09$ ;  $n = 8$ ;  $p < 0,05$  Şekil 4-9).



Şekil 4-11: İzole sıçan mezenterik arterlerinde  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.

#### 4.1.5.1.2 KCl (10-100mM) Konsantrasyon-Yanıt Eğrisi Üzerine Etkisi

İzole sıçan mezenterik arterlerinin *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresi (10mg/ml, 20 dk) ile inkübasyonu  $K^+$ (10-120mM) ile elde edilen konsantrasyon yanıt eğrisinde  $-\text{LogEC}_{50}$  değerlerini değiştirmeksizin maksimum kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden olmuştur (Kontrol  $E_{\text{maks}}=1,38\pm0,17$  mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50}=1,16\pm0,03$  ve +Metanol ekstre (10mg/ml)  $E_{\text{maks}}=1,14\pm0,13$ mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50}=1,17\pm0,03$ , n = 8, p<0,05 Şekil 4-10)

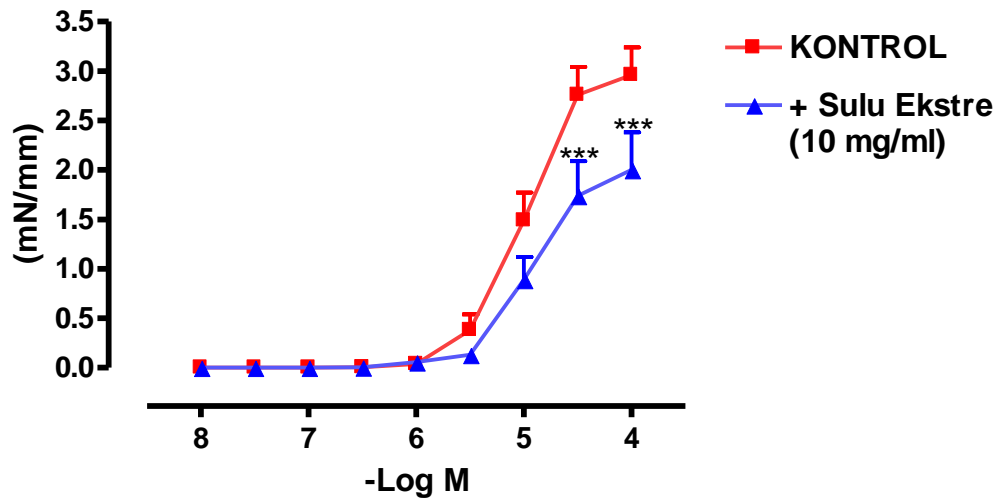


Şekil 4-12: İzole sıçan mezenterik arterlerinde  $K^+$ (10-120mM) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.

#### 4.1.5.2 *Alchemilla vulgaris* Bitkisinin Su Ekstresinin Etkisi

##### 4.1.5.2.1 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) Konsantrasyon-Yanıt Eğrisi Üzerine Etkisi

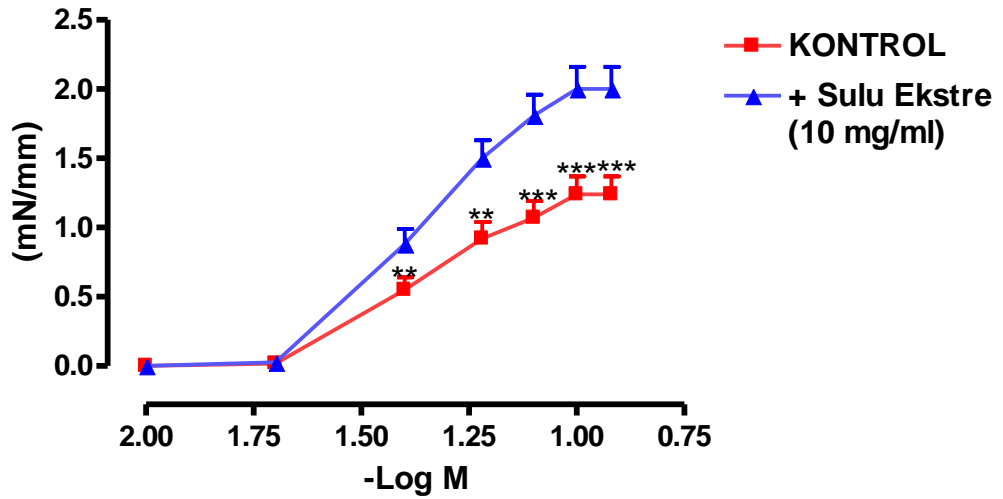
*Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin damarların kastırıcı ajanların kasılma yanıtları üzerine etkilerinin incelenmesinin ardından su ekstrenin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla izole sıçan mezenterik arterlerinde  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ile konsantrasyon-yanıt eğrisi elde edildikten sonra damarlar *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresi ile (10 mg/ml) 20 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Damarların su ekstre (10mg/ml, 20 dk) ile inkübasyonu  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ile elde edilen konsantrasyon yanıt eğrisinde  $-\text{LogEC}_{50}$  değerlerini değiştirmeksizin maksimum kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden olmuştur (Kontrol  $E_{\text{maks}}=2,56\pm0,17$  mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50}=4,89\pm0,12$  ve +Su ekstre (10mg/ml)  $E_{\text{maks}}=1,67\pm0,41$ mN/mm,  $-\text{LogEC}_{50}=4,79\pm0,12$ , n = 8, p<0,05 Şekil 4-11).



Şekil 4-13: İzole sıçan mezenterik arterlerinde  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.

#### 4.1.5.2.2 K<sup>+</sup> (10-120mM) Konsantrasyon-Yanıt Eğrisi Üzerine Etkisi

İzole sıçan mezenterik arterlerinin *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresi (10mg/ml, 20 dk) ile inkübasyonu K<sup>+</sup>(10-120mM) ile elde edilen konsantrasyon yanıt eğrisinde -LogEC<sub>50</sub> değerlerini değiştirmeksizin maksimum kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmaya neden olmuştur (Kontrol E<sub>maks</sub>=1,14±0,12 mN/mm, -LogEC<sub>50</sub>=1,29±0,04 ve +Su ekstre (10mg/ml) E<sub>maks</sub>=2,05±0,11mN/mm, -LogEC<sub>50</sub>=1,33±0,04, n = 10, p<0,05 Şekil 4-12)



Şekil 4-14: İzole sıçan mezenterik arterlerinde K<sup>+</sup>(10-120mM) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrisi üzerine, *Alchemilla vulgaris* bitkisinin su ekstresinin (10mg/ml, 20 dk) etkisi.

## 4.2 İn vivo Deneyleler

### 4.2.1 Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimleri

*Alchemilla vulgaris* bitkisinin sıvı ekstralarının izole sıçan mezenterik arterleri üzerine etkilerinin incelenmesinin ardından in vivo deneylelere geçilmiş ve bu amaçla deney hayvanlarında hipertansiyon oluşturulmuştur. İlk olarak sıçanların günlük su tüketimleri incelenmiş ve hayvanların ortalama 35 ml civarında su tükettiği belirlenmiştir. Kontrol (Grup 1) ve hipertansif gruptaki (Grup 2,3,4) hayvanların vücut ağırlıkları haftada bir yapılan ölçümler ile 5 hafta boyunca takip edilmiştir. Yapılan haftalık ölçümler sonucunda kontrol, hipertansif, 2 hafta süre ile metanol ekstresi (300 mg/kg/gün) ve su ekstresi (200 mg/kg/gün) alan grupta ait deney hayvanlarının vücut ağırlıklarında herhangi bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir (Tablo 4-3).

**Tablo 4-3: Deney hayvanlarının ağırlık değişimleri**

	<b>Başlangıç</b>	<b>3. hafta</b>	<b>5. Hafta</b>	<b>n</b>
<b>Kontrol</b>	225,00±8,66	235,20±10,29	243,30±8,82	5
<b>+L-NAME</b>	225,90±5,47	233,60±4,74	236,80±3,26	5
<b>+Metanol Ekstre</b>	237,20±6,75	241,30±6,16	242,20±6,25	5
<b>+Su Ekstre</b>	230,90±4,92	236,80±3,26	236,20±5,94	5



#### 4.2.2 Deney Hayvanlarının Kan Basıncı Değişimleri

Wistar albino sıçanların içme sularına 5 hafta süreyle non-selektif nitrik oksit sentetaz inhibitörü L-NAME 60 mg/kg/gün dozunda ilave edilmesi 5 hafta sonunda hayvanların sistolik kan basıncı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artışa neden olmuştur (Kontrol  $E_{maks}= 84,44\pm 6,38$  mm/Hg,  $n=5$  ve Hipertansif  $E_{maks}=156,50\pm 2,76$ ,  $n=5$ ,  $p<0,05$ ) (Tablo 4-4). Deney hayvanlarının L-NAME (60 mg/kg/gün) verilerek hipertansif hale getirilmesinin ardından *Alchemilla vulgaris* bitkisinin sıvı ekstrelerinin oral olarak uygulanmasının sıçanların sistolik kan basınçları üzerine etkisi incelenmiştir. L-NAME hipertansif sıçanlara sistolik kan basınçlarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdiği 3. haftadan itibaren gavaj yoluyla oral olarak 300 mg/kg/gün dozunda *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresi uygulanması sıçanların sistolik kan basıncı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya yol açmıştır. Benzer şekilde 3. haftadan itibaren gavaj yoluyla oral olarak 300 mg/kg/gün dozunda *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresi uygulanması ise deney hayvanlarının sistolik kan basınçlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamış ancak L-NAME uygulanmasına bağlı görülen kan basıncı artışının engellemiştir (Tablo 4-4).

**Tablo 4-4: Deney hayvanlarının kan basıncı değışimleri**

	<b>Başlangıç</b>	<b>3 hafta</b>	<b>5. Hafta</b>	<b>n</b>
<b>Kontrol</b>	84,44±6,38	86,07±5,52	83,04±4,62	5
<b>+L-NAME</b>	94,95±5,25	139,70±5,91*	156,50±2,76	5
<b>+Metanol Ekstre</b>	85,60±7,02	142,50±2,97*	119,60±2,50#\$	5
<b>+Su Ekstre</b>	86,88±6,26	146,87±3,74*	138,50±2,14\$	5

\*p<0.05 kontrol grubu kan basıncı değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

#p<0.05 3. hafta kan basıncı değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

\$p<0.05 L-NAME ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanların 5. hafta kan basıncı değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

## 5 TARTIŞMA

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgular 1) *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstralarının  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} M$ ) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde güçlü gevşeme yanıtlarına 2)  $K^+$  (40mM) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde metanol ekstrenin gevşeme buna karşıt su ekstrenin ise ilave kasılma yanıtlarına neden olduğunu 3) damarların metanol ve su ekstre ile (10mg/ml, 20dak.) inkübasyonunun  $PGF_{2\alpha}$ 'ya ( $10^{-8}$ - $10^{-4} M$ ) bağlı konsantrasyon yanıt eğrisinin maksimumunda ve  $-\text{LogEC}_{50}$  değerlerinde azalmaya 4)  $K^+$ 'a (10-100mM) bağlı konsantrasyon-yanıt eğrisinin maksimumunda ise metanol ekstrenin azalmaya, su ekstrenin ise artışa yol açtığını 5)  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} M$ ) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde, her iki ekstreye karşı elde edilen gevşeme yanıtlarında endotelial vazodilatör faktörlerin veya endotel tabakasının rolünün olmadığını 6) *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin (300 mg/kg/gün) L-NAME hipertansif sıçanlara oral olarak uygulanmasının sıçanların kan basınçlarında düşmeye neden olduğu ancak su ekstrenin ise herhangi bir değişiklik yapmadığını göstermiştir.

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının devamlı yükselmesi ile kendini gösteren bir kalp-damar hastalığı olup, Dünya sağlık örgütü 2012 raporuna göre dünya genelinde kalp ve damar hastalıklarına yol açan nedenlerin içinde ilk sırada yer almaktadır (WHO 2012). Son yıllarda giderek artan sayıda araştırmacı hipertansiyon tedavisinde farmakolojik yaklaşımların yanı sıra bitkisel preparatların etkinliğini de test etmektedir. Yapılan çok sayıda çalışmada polifenolik bileşikler ve flavonoidlerce zengin diyetle beslenmenin kalp damar hastalıkları riskini azalttığı ortaya konmuştur (Grassi ve ark. 2009, Gonzales ve ark. 2011, Galeano ve ark. 2012). Yine bu doğrultuda yapılan birçok çalışmada bu bileşiklerce zengin olduğu bilinen bitkisel preparatlardan hazırlanan ekstraların kan basıncını düşürücü ve damar gevşetici etkileri ortaya konmuştur (Ajay 2003, 2006, Perez-vizcaino ve ark. 2009, Kondrashov ve ark. 2012). Bununla birlikte farklı metodlarla elde edilen bitkisel ekstraların kan basıncı ve damarlar üzerine etkilerini değerlendiren yeterince çalışma yoktur. Ülkemizde halk

arasında dahilen menstrual bozuklukların tedavisinde, laksatif ve diüretik olarak, haricen de astrenjan ve yara iyileştirici olarak (Baytop 1997, Kaya ve ark. 2012), Avrupa'da da benzer şekilde astrenjan ve yara iyileştirici kullanımının yanı sıra antiinflamatuvar, ağız aftlarında tedavi edici olarak kullanılan ve yüksek düzeyde polifenolik bileşikler ve vazoaktif flavonoidler içeren *Alchemilla vulgaris* bitkisinin iki farklı ekstresinin damarlar ve kan basıncı üzerine etkilerini incelediğimiz bu çalışmamızda *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstralarının  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde güçlü gevşeme,  $\text{K}^+$  (40mM) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde ise su ekstrenin ilave kasılma yanıtına neden olduğu gösterilmiştir.  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ve  $\text{K}^+$  iki farklı mekanizma ile damarlarda kasılma oluşturan spazmojen ajanlardır.  $\text{PGF}_{2\alpha}$  damarlarda reseptör aracılı kasılmaya neden olurken,  $\text{K}^+$  ise damar düz kası membranında depolarizasyona neden olarak doğrudan L-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının açılması ve hücre içine kalsiyum iyonun girmesi sonucu kasılma oluşturmaktadır (Orallo 1996). Yapılan çok sayıda çalışmada polifenolik bileşiklerin ve bazı flavonoidlerin damarlarda gevşemeye neden olduğu bilinmektedir (Ajay ve ark. 2003, 2006, Perez-vizcaino ve ark. 2009). Elde ettiğimiz bulgular daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. Bununla birlikte su ekstrenin  $\text{K}^+$  ile prekontrakte damarlarda kasılma yanıtına neden olması dikkat çekmektedir. *Alchemilla vulgaris* bitkisinin kimyasal içeriğinin ortaya konulmasına yönelik çalışmalarda bu bitkinin kersetin türevi glukoronit bileşikler ve gallik asit içerdiği gösterilmiştir (D'Agostino ve ark. 1998). Biz de daha önce yapmış olduğumuz bir çalışmamızda metanollü ve su ekstralarının yüksek düzeyde flavonoid bileşikler, kersetin ve gallik asit içerdiğini gösterdik. Yine aynı çalışmamızda metanol ekstrenin su ekstreyle kıyasla yaklaşık 10 kat daha fazla kersetin, buna karşılık su ekstrenin ise 2 kat daha fazla gallik asit içerdiğini ortaya koyduk (yayınlanmamış veri). Şeker yapısının yer değiştirmesinin (glikolizasyon) flavonoidlerin damar gevşetici etkilerini azalttıkları bilinmektedir (Ajay ve ark. 2003). Yüksek konstrasyonda  $\text{K}^+$  iyonu varlığında kersetinin C-5 atomundaki  $-\text{OH}$  grubu substitue olmakta ve kersetinin gevşetici etkisinde azalma görülmektedir. Bununla birlikte gallik asidin de damarlarda kasılmaya neden olduğu bilinmektedir (Sanae ve ark. 2002).  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5} \text{M}$ ) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde metanollü ekstrenin daha güçlü gevşemeye neden olduğu (Şekil 4-3)  $\text{K}^+$  (40mM) ile prekontrakte damarlarda gevşetici etkinin azalma eğilimide olduğu görülmektedir (Şekil 4-4). Metanollü ve su ekstralarına

bağlı görülen farklı cevaplılıklar yüksek  $K^+$  iyonu varlığında flavonoidlerin azalan etkisi ve her iki ekstrenin farklı düzeyde kersetin ve gallik asit içerikleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir. *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstralarının spazmojen ajanların kasılma yanıtları üzerine etkilerini incelediğimiz deneylerimizde elde ettiğimiz bulgular her iki ekstrenin direkt etkileri ile uyumluluk göstermektedir. Damarların metanol ve su ekstre ile (10 mg/ml, 20 dak.) inkübasyonunun  $PGF_{2\alpha}$ 'ya ( $10^{-8}$ - $10^{-4}$ M) bağlı konsantrasyon-yanıt eğrisinin maksimumunda ve  $-\text{LogEC}_{50}$  değerlerinde azalmaya neden olduğu bununla birlikte  $K^+$  'a (10-100mM) bağlı konsantrasyon-yanıt eğrisinin maksimumunda ise metanol ekstrenin azalmaya, su ekstrenin artışa yol açtığı gözlenmiştir. Bulgularımız metanol ve su ekstralarının damarların kasılma cevaplılıklarını, hem akut hemde preventif uygulamalarda, reseptör aracılı kasılma oluşturan spazmojen ajanlara karşı azalttığını, bununla birlikte su ekstrenin depolarizasyon ile kasılma oluşturan ajanların kasılma cevaplılıklarında tam tersi yönde etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

Polifenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin damarlarda endotel bağımlı gevşeme yanıtlarına neden oldukları bilinmektedir (Ajay ve ark. 2003, Uydeş-Doğan 2005). Çalışmamızda her iki ekstrenin  $PGF_{2\alpha}$  ( $3 \times 10^{-5}$ M) ile prekontrakte edilmiş izole sıçan mezenterik arterlerinde endotelial vazodilatör faktörlerin ve endotel tabakasının muhtemel rolünü test ettik. İlginç olarak her iki ekstreye karşı elde edilen gevşeme yanıtlarında endotelial vazodilatör faktörlerin veya endotel tabakasının rolünün olmadığı gözlemlendi. Bitki ekstralarının antioksidan aktiviteleri ile polifenolik bileşik miktarları arasında bir pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (Kiselova 2006, Rice-Evans 1995). Polifenolik bileşikler serbest radikalleri yakalayarak veya metal iyonları ile şelat yaparak endotel disfonksiyonunu düzeltmekte ve NO biyoyararlanımını arttırmaktadır (Grassi ve ark. 2010). Bununla birlikte polifenollerin prooksidan rol oynayarak reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna da neden oldukları bilinmektedir (Hanasaki ve ark. 1994). Ayrıca vazodilatör bir flavonoid olan kersetinin endotelden bağımsız da gevşeme yanıtlarına neden olduğu bilinmektedir (Duarte ve ark. 1993, Perez-Vizcaino ve ark. 2009). Bulgularımız endotelial vazodilatör faktörler olan NO, prostasiklinin *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ve su ekstralarına bağlı görülen gevşeme yanıtlarında rolünün olmadığını düşündürmektedir.

Hipertansiyon multifaktöryel bir hastalık olup patofizyolojisinin anlaşılmasında ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde deney hayvanlarından sıklıkla yararlanılmaktadır. Bu noktadan hareketle çok sayıda deneysel hipertansiyon modeli geliştirilmiştir. Bu modellerin büyük bir bölümünde fareler ve sıçanlar tercih edilmektedir. Rodentler hem maliyet, hem uygulanabilirlik hem de tekrarlanabilirlik açısından çok fazla olanak sağlamaktadırlar. Deneysel hipertansiyon modellerin arasında NO sentaz enziminin L-NAME (N $\omega$ -Nitro-L-arginin metil ester) gibi L-arginin analogları ile inhibe edilmesi sık tercih edilen yöntemlerden birisidir (Ribeiro ve ark. 1992). Kan basıncı periferik damar direnci ve kalp debisi tarafından regüle olmaktadır. Periferik damar direncinin veya kalp debisinin artması kan basıncında artışa yol açmaktadır (Amar ve ark. 2003, Calhoun ve ark. 2002, Thoenes ve ark. 2011). Periferik damar direncinin veya kalp debisinin düzenlenmesinde sempatik sinir sistemi aktivasyonu, insülin direnci, artmış sodyum alımı, renin-angjiyotensin-aldosteron sistemi, endotel disfonksiyonu vb çok sayıda faktörün rol oynamaktadır (Kayaalp 2009). Kronik NOS inhibisyonunun NO sentezinin engellenmesine bağlı total periferik direnç artışı ile birlikte renal sodyum tutulumu ve sempatik sistem aktivasyonuna yol açtığı düşünülmektedir (Zatz ve Baylis 1998). Polifenolik bileşiklerin ve kersetin, apigenin, luteolin gibi çeşitli flavonoidlerin vazodilatör etkilerinin yanı sıra kan basıncını düşürücü etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (Gosh ve Scheepens 2009, Grassi ve ark. 2009). Çalışmamızda *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin (300 mg/kg/gün) L-NAME ile hipertansif hale getirilmiş sıçanlara oral olarak uygulanmasının sıçanların kan basınçlarında düşmeye neden olduğu ancak su ekstrenin herhangi bir değişiklik yapmadığı gözlenmiştir. *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresine (300 mg/kg/gün) bağlı görülen kan basıncını düşürücü etki invitro deneylerimizin sonuçlarıyla da uyumludur. Metanol ekstrenin farklı mekanizmalarla kasılma oluşturan spazmojen ajanlarla prekontrakte damarlarda güçlü gevşemelere ve bu ajanlarla elde edilen maksimum kasılma yanıtlarında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte su ekstre reseptör aracılı spazmojen ajanlara karşı gevşetici etki gösterirken depolarizasyonla kasılma oluşturan ajanlara karşı kasılma oluşturmamıştır. İn vitro deneylerde elde edilen bulgularımız, invivo deneylerde elde ettiğimiz bulgularımız olan metanollü ekstre ile L-NAME hipertansif sıçanların kan basıncında belirgin düşmenin görülmesi ancak su ekstrenin sıçanların kan basınçlarında

belirgin bir düşüğe neden olmamasına rağmen L-NAME uygulamasına bağlı görülen kan basıncı artışını engellemesini desteklemektedir.

Bilgilerimize göre çalışmamız yüksek düzeyde polifenolik bileşikler ve flavonoid içerdiği bilinen bir bitkinin farklı iki yöntemle hazırlanmış ekstralarının mikrodamarlar üzerine direkt, preventif etkilerinin ve kan basıncı düşürücü rolünün incelendiği ilk çalışma olma özelliğindedir. *Alchemilla vulgaris* bitkisinin metanol ekstresinin damar gevşetici ve kan basıncını düşürücü etkisi hipertansiyonda alternatif bir tedavi yöntemi olabilir. Bununla birlikte ekstraksiyon metoduna bağlı olarak etkinin değişmesi bitkisel preparatların hazırlanışında standardizasyonun önemini göstermektedir. Çalışmamızın bu bitkinin klinik önemini ortaya koymaya yönelik çalışmalara hız vereceği düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

- Ajay, M., Gilani, A.U., ve Mustafa, M.R. (2003). Effects of Flavonoids on Vascular Smooth Muscle of The Isolated Rat Thoracic Aorta. *Life Sciences*. **74**: 603–12
- Ajay, M., Achike, F.I., Mustafa, A.M., Mustafa, M.R. (2006) Direct Effectes of Quercetin on Impaired Reactivity of Spontaneously Hypertensive Rat Aortae: Comparative Study with Ascorbic Acid. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. **33**: 345–350
- Altun, B., Arıcı M., Nergizoğlu, G., Derici, U., Karatan, O., Turgan, C., Sindel, S., Erbay, B., Hasanoğlu, E., Çağlar, S. (2005). Prevalence, Awareness, Treatment and Control of Hypertension in Turkey (the Patent study) in 2003. *J ournal of Hypertension*, **23**(10): 1817-23
- Amar, J., Chamontin, B., Genes, N., Cantet, C., Salvador, M., Cambou, J.P. (2003). Why is Hypertension So Frequently Uncontrolled in Secondary Prevention? *Journal of Hypertension* **21**: 1199-25
- Barba, G., Cappucio, F.P., Russo, L., Stinga, F., Iacone, R., Strazzullo, P. (1996). Renal Function and Blood Pressure Response to Dietary Salt Restriction in Normotensive men. *Hypertension*. **27**(5):1160-4
- Baron, AD., Brechtel-Hook, G., Johnson, A. (1993) Skeletal Muscle Blood Flow. A Possible Link Between Insulin Resistance and Blood Pressure. *Hypertension*; **21**:129-35
- Baytop, T. (1997). (2. Eds.): Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. *Türk Dil Kurumu Yayınları*, Ankara, Türkiye, 578-9



- Bhutada, P., Mundhada, Y., Bansod, K., Ubgade, A., Quazi, M., Umathe, S., Mundhada, D. (2010). Reversal by Quercetin of Corticotrophin Releasing Factor Induced Anxiety- And Depression-Like Effect in Mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biology Psychiatry*. **6**:955-60
- Bonechi, C., Martini, S., Ciani, L., Lamponi, S., Rebmann, H., Rossi, C., Ristori, S. (2012) Using Liposomes as Carriers for Polyphenolic Compounds: The Case of Trans-resveratrol. *Public Library Of Science* **7(8)**:e41438
- Brenner, B.M. ve Chertow G.M. (1993) Congenital oligonephropathy: An inborn cause of adult hypertension and progressive renal injury? *Current Opinion Nephrology Hypertension*. **2**:691.
- Calhoun, D.A., Nishizaka, M.K., Zaman, M.A., Thakkar, R.B., Weissmann, P. (2002). Hyperaldosteronism Among Black and White Subjects With Resistant Hypertension. *Hypertension* **40**: 892-6
- Castillo, M.H., Perkins, E., Campbell, J.H., Doerr, R., Hassett, J.M., Kandaswami, C., Middleton, E. Jr. (1989) The Effects of The Bioflavonoid Quercetin On Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck Origin. *American Journal of Surgery*. **158(4)**:351-5.
- Davis, P.H. Hedge, (1975) The Flora of Turkey: Past, Present and Future , Vol. 1-9, University Press, Edinburgh
- D'Agostino, M., Dini, I., Ramundo, E., Senatore, F. (1998) Flavonoid Glycosides of *Alchemilla vulgaris* L. *Phytotherapy research*. **12**, 162-163
- Di Bona, G.F. ve Kopp, U.C. (1997). Neural Control of Renal Function. *Physiological Reviews* **77**:76-97

- Diebolt, M., Bucher, B., Andriantsitohaina, R. (2001) Wine Polyphenols Decrease Blood Pressure, Improve NO Vasodilation, and Induce Gene Expression. *Hypertension*. **38** 159-165
- Djipa, C.D., Delmee, M., ve Quetin-Leclercq, J. (2000) Antimicrobial Activity of Bark Extracts of *Syzygium Jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. **71** (1-2):307-13
- Duarte, J., Pérez-Vizcaíno, F., Zarzuelo, A., Jiménez, J., Tamargo, J. (1993) Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. *Eurepan Journal of Pharmacology*. **239**(1-3):1-7
- Doggrell, S.A., Brown, L. (1998). Rat Models of Hypertension, Cardiac Hypertrophy and Failure. *Cardiovascular Research*. **39**(1): 89-105
- Ebadi M., Pharmacodynamic basis of Herbal Medicine. (2nd ed.) (2007) Boca Raton: *CRC Press Taylor & Francis*
- Edenharder, R., ve Grunhage, D. (2003) Free Radical Scavenging Abilities of Flavonoids as Mechanism of Protection Against Mutagenicity Induced by Tert-butyl Hydroperoxide or Cumene Hydroperoxide in *Salmonella Typhimurium* TA102. *Mutation Research*. **540**(1):1-18.
- Ergül A. (1999). Hypertension in Black Patients, An Emerging Role of Endothelin System in Salt Sensitive Hypertension. *Hypertension*. **36**: 62-67
- European Pharmacopea 2005. *Alchemilla vulgaris* for homoeopathic preparations.
- Ferrannini, E., Natali, A., ve Capaldo, B. (1997). Insulin Resistance, Hyperinsulinemia, and Blood Pressure. *Hypertension*. **30**:1144-9
- Formica, J., Regelson, W. (1995). Review of The Biology of Quercetin and Related Bioflavonoids. *Food Chemistry Toxicology*. **33** (12):1061-80

- Galeano, M., Calabro, V., Prince, P.D., Litterio, C. (2012). Flavonoids and Metabolic Syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1259:87-94
- Gimbrone, MA., (1986). Vascular Endothelium in Homeostasis and Thrombosis. Edinburgh: *Churchill Livingstone*. 1-13
- Gonzalez, R., Ballester, I., Lopez, R., Suarez, M.D. (2011). Effects of Flavonoids and Other Polyphenols on Inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **51**: 331-362
- Ghosh, D. ve Scheepens, A. Vascular action of polyphenols. (2009) *Molecular Nutrition & Food Research*: 53(3):322
- Grassi, D., Desideri, G., Croce, G., Tiberti, S., Aggio, A., Ferri, C. (2009). Flavonoids, Vascular Function and Cardiovascular Protection. *Current Pharmaceutical Design*. **15**: 1072-1084
- Guyton, A.C.ve Hall, J.E. (1996). *Medical Physiology 9<sup>th</sup> edition*. Philadelphia, PA, W.B. Saunders Company.
- Haffner, SM., Ferrannini, E., ve Hazuda, H.P. (1992). Clustering of Cardiovascular Risk Factors in Confirmed Prehypertensive Individuals. *Hypertension*: **20**:38-45.
- Hall, J.E., Brands, M.W., ve Shek, E.W. (1996). Central Role of The Kidney And Abnormal Fluid Volume Control in Hypertension. *Journal of Human Hypertension*. **10**(10):633-9
- Hamad, I., Erol-Dayi, O., Pekmez, M., Onay-Uçar, E., Arda, N. (2007). Free Radical Scavenging Activity and Protective Effects of *Alchemilla Vulgaris* (L.). *Journal of Biotechnology*. S40-42
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., ve Fukui, S. (1994). The Correlation Between Active Oxygen Scavenging and Antioxidative Effects of Flavonoids. *Free Radical & Biology Medicine*; **16**: 845–850

- He, N., Edeki, T. (2004). The Inhibitory Effects of Herbal Components on CYP2C9 and CYP3A4 Catalytic Activities in Human Liver Microsomes. *American Journal Therapeutics*. **11**(3):206-12
- Hoshino, N., Kimura, T., Yamaji, A., Ando, T. (1999). Damage to The Cytoplasmic Membrane of Escherichia Coli by Catechin-Copper (II) Complexes. *Free Radical Biology Medicine*. **27**:1245–1250.
- Hunt, SC., Hopkins, P.N. ve Lalouel, J.M. (2002). Hypertension. In: King RA, Rotter JI, Motulsky AG,. The Genetic Basis of Common Diseases. 2nd ed.: *Oxford University Press*;. 127-54
- Ito, A., Egashira, K., Kadokami, T., Fukumoto, Y., Takayanagi, T., Nakaike, R., Kuga, T., Sueishi, K., Shimokawa, H., Takeshita, A. (1995). Chronic Inhibition of Endothelium-Derived Nitric Oxide Synthesis Causes Coronary Microvascular Structural Changes and Hyperreactivity to Serotonin in Pigs. *Circulation*. **92**(9): 2636-44.
- Jin, BH., Qian, L.B., Chen, S., Li, J., Wang, HP., Bruce, I.C. (2009). Apigenin Protects Endothelium-Dependent Relaxation of Rat Aorta Against Oxidative Stress. *European Journal of Pharmacology*. **616**(1-3):200-5.
- JNC 7 (2003). National High Blood Pressure Education Program. Seventh report of the Joint Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. **42**: 1206-52
- Julius, S. ve Schork, M.A. (1978). Predictors of Hypertension. *Annals of the New York Academy Sciences*. **304**:38-58.
- Kahraman, A., Serteser M., ve Köken, T. (2002) Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*. **3** 01-08

- Kambe, D., Kotani, M., Yoshimoto, M., Kaku, S., Chaki, S., Honda, K. (2010) Effects of Quercetin on The Sleep-Wake Cycle in Rats: Involvement of Gamma-Aminobutyric Acid Receptor Type A in Regulation of Rapid Eye Movement Sleep. *Brain Research*. **1330**:83-8
- Kaya, B., Menemen, Y. ve Saltan, F.Z. (2012). Flavonoid Compounds Identified In Alchemilla L. Species Collected In The North-Eastern Black Sea Region Of Turkey. *Afr J Tradit Complement Altern Medicine*. **9**(3): 418-425
- Kayaaalp, O. (2009). *Tibbi Farmakoloji*, 13. baskı. Ankara, Türkiye, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti.
- Keller, G., Zimmer, G. ve Mall, G. (2003) Nephron Number in Patients with Primary Hypertension. *The New England Journal of Medicine*. **348**(2):101-8.
- Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska. B., Yankova, T. (2006). Correlation Between the In Vitro Antioksidant Activity and Polyphenol Content of Aqueous Extract from Bulgarian Herbs. *Phytotherapy Research*. **20**, 961-965
- Kolatkari, S.B., Kulkarni, S.D., ve Joglekar, G.V. (1973). Quantitative Evaluation of Blood Pressure Responses in Dogs to Various Vasoactive Agents Under the Influence of Commonly Used Anaesthetics. *Indian Journal of Pharmacology*. **5**: 378-83.
- Kondrashov, A., Vranková, S., Dvořáková, I., Sevcík, R., Parohová, J., Barta, A., Pecháňová, O., Kováčová, M. (2012) The Effects of New Alibernet Red Wine Extract on Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Production in Spontaneously Hypertensive Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Article ID 806285, 8 pages

- Kozan, O., Oguz, A., Abaci, A., Erol, C., Ongen, Z., Temizhan, A., Celik, S.(2007). Prevalence of the metabolic syndrome among Turkish adults. *European Journal of Clinical Nutrition*; **61**(4):548-53.
- Kroes, B., Van-den-Berg, A., Quarles-van-Ufford, H., Van-Dijk, H., Labadie, R. (1992) Anti-inflammatory Activity of Gallic acid. *Planta Medica*. **58**: 499-504
- Kurtz, T.W., Griffin. K.A., Bidani. A.K., Davisson. R.L., Hall. J.E. (2005). Recommendations for Blood Pressure Measurement in Humans and Experimental Animals. *Arterioscler Thromb Vascular Biology*. **25**(3):e22-23
- Lamaison, J.L., Carnat, A., Petitjean-Freytet, C., Carnat, A.P. (1991) Quercetin-3-Glucuronide, Main Flavonoid Of Alchemilla, Alchemilla Xanthochlora Rothm. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. **49**(4):186-9
- Law, C.M., Shiell, A.W. ve Newsome, C.A. (2002). Fetal, Infant, and Childhood Growth and Adult Blood Pressure: A Longitudinal Study From Birth to 22 Years of Age. *Circulation*. **105**(9):1088-92.
- Lifton, R.P., Gharavi, A.G. ve Geller, D.S. (2001). Molecular Mechanisms of Human Hypertension. *Cell*; **104**(4):545-56.
- Middleton, E.J.R., Kandaswami, C., ve Theoharides, T.C. (2000). The Effect of Flavonoids On Mammalian Cells : Implications for Inflammation, Heart Disease And Cancer *Pharmacological Reviews*. **52**(4): 673-751
- Mulvany, M.J. ve Halpern, W. (1977). "Contractile Properties of Small Arterial Resistance Vessels in Spontaneously Hypertensive and Normotensive Rats." *Circulum Research*. **41**(1): 19-26.

- Nava, E., Wiklund, N.P., ve Salazar, F.J. (1999). Changes in Nitric Oxide Release in Vivo in Response to Vasoactive Substances. *British Journal of Pharmacology*. **119**:1211-1216
- Ndiaye, M., Chataigneau, M., Lobysheva, I., Chataigneau, T., Schini-Kerth, V.B. (2005). Red Wine Polyphenol-induced, Endothelium-Dependent NO-mediated Relaxation is Due to The Redox-Sensitive PI3-kinase/Akt-dependent Phosphorylation of Endothelial NO-Synthase in The Isolated Porcine Coronary Artery. *Federation of American Societies for Experimental Biology*. **19**(3):455-7
- National Health and Nutrition Examination Survey.(NHANES). (2008) editor. Hyattsville, MD. Analytic and Reporting Guidelines: The National Health and Nutrition Examination Survey. In: US Department of Health and Human Services: Centers for Disease Control and Prevention
- Uydeş-Doğan, B.S., Takir, S., Ozdemir, O., Kolak, U., Topçu, G., Ulubelen, A. 2005. The Comparison of The Relaxant Effects of Two Methoxylated Flavones In Rat Aortic Rings. *Vascular Pharmacology* **43**(4):220-6
- Onat, A., Ceyhan, K., Erer, B., Başar, O., Uysal, O., Sansoy, V. (2003). Systolic, Diastolic, And Pulse Pressures As Coronary Risk Factor In A Population With Low Cholesterol Levels: A Prospective 10 Year Evaluation. *Clinical Cardiology*. **26**(2):91-7
- Orallo, F. (1996) Regulation of Cytosolic Calcium Levels in Vascular Smooth Muscle. *Pharmacology Therapie*. **69**(3):153-71.
- PDR For Herbal Medicines (2007) (4<sup>th</sup> edition) Montvale: *Thomson Healthcare Inc.*
- Perez-Vizcaino, F., Duarte, J., ve Jimenez, R. (2009). Antihypertensive Effect of The Flavonoid Quercetin. *Pharmacological Reports*. **61**: 67-75

- Petty, R.G., Pearson, J.D. (1989). Endothelium-the Axis of Vascular Health and Disease. *Journal of The Royal College of Physicians of London*. **23**: 92-101
- Plotnikov, M.B., Aliev, O.I., Andreeva, V.Yu., Vasil'ev, A.S., Kalinkina, G.I. (2006) Effect of Alchemilla Vulgaris Extract on the Structure and Function of Erythrocyte Membranes During Experimental Arterial Hypertension. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. **141** (6):708-11
- Priviero, F.B., Teixeira, C.E., Claudino, M.A., De Nucci, G., Zanesco, A., Antunes, E. (2007). Vascular Effects of Long-Term Propranolol Administration After Chronic Nitric Oxide Blockade. *European Journal of Pharmacology*. **571**(2-3): 189-96.
- Rao, Y.K., Fang, S.H., N.G., Tzeng, Y.M. (2008). Antiinflammatory Activities of Flavonoids and A Triterpene Caffeate Isolated From Bauhinia Variegata. *Phytotherapy Research*. **22**: 957-962
- Ribeiro, M.O., Antunes, E., De Nucci, G., Lovisollo, S.M., Zatz, R. (1992). Chronic Inhibition of Nitric Oxide Synthesis. A New Model of Arterial Hypertension. *Hypertension*. **20**(3): 298-303
- Rice-Evans, C., Miller, N., Bolwell, P., Bramley, P., Pridham, J. (1995) The Relative Antioxidant Activities of Plant-Derived Polyphenolic Flavonoids. *Free Radical Research*. **22**:75-383
- Robich, M.P., Chu, L.M., ve Chaundray, M. (2010). Anti-Angiogenic Effect of High-Dose Resveratrol in A Swinw Model of Metabolic Syndrome. *Surgery*. **148**: 453-462
- Said, O., Saad, B., Fulder S., Khalil, K., Kassis, E. (2008). Weight Loss in Animals and Humans Treated with 'Weighlevel', a Combination of Four Medicinal Plants Used In Traditional Arabic and Islamic Medicine. *eCam* Page 1 of 7



- Sakagami, H., Satoh, K., Hatano, T., Yoshida, T., Okuda, T. (1997) Possible Role of Radical Intensity and Oxidation Potential for Gallic Acid-Induced Apoptosis. *Anticancer Research*. **17**(1A):377-80
- Sanae, F., Miyaichi, Y., ve Hisao, H. (2002). Potentiation of Vasoconstrictor Response and Inhibition of Endothelium- Dependent Vasorelaxation by Gallic Acid in Rat Aorta. *Planta Medica*. **68**: 690-693
- Sarr, M., Chataigneau, M., ve Martins, S. (2006) Red Wine Polyphenols Prevent Angiotensin II- Induced Hypertension and Endothelial Dysfunction in Rats: Role of NADPH Oxidase, *Journal of Cardiovascular Research*. **71**: 794-802
- Scalbert, A., Johnson, I., ve Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: Antioxidant and Beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **81**(1): 215–217
- Shrivastava, R., Cucuat N. ve W.J, Gareth. (2007). Effects of Alchemilla Vulgaris and Glycerine on Epithelial and Myofibroblast Cell and Cutaneous Lesion Healing in Rats. *Phytotherapy Research*. **21**(4): 369-373
- Smith, A., Imlay, J., ve Mackie, R. (2003). Increasing The Oxidative Stress Response Allows Escherichia Coli to Overcome Inhibitory Effects of Condensed Tannins. *Appl Environment Microbiology* **69**: 3406–3411
- Smolyakova, M., Andreeva, V.Y., Kalinkina, G.I., Avdeenko, S.N., Shchetinin, P.P. (2011). Development of Extraction Techniques and Standardization Methods for a Common Lady's Mantle ( Alchemilla vulgaris ) Extract. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. **45**: 27-30
- Swanston-Flatt, S., Day, C., Bailey, C., Flatt P. (1990) Traditional Plant Treatments for Diabetes. Studies in Normal en Streptozotocin Diabetic Mice. *Diabetologia*. **33**: 462-464

- Sumbul, S., Ahmad, M.A., Mohd, A., Mohd, A. (2011) Role of Phenolic Compounds in Peptic Ulcer. *Journal of Pharmacy&Bioallied Sciences*. **3**(3):361-7
- Tanker, N., Koyuncu, M. ve oşkun, M. (2007). *Farmasötik Botanik Uygulama*. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi
- Teissedre, P. ve Waterhouse, A.L. (2000). Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins by Phenolic substances in Different Essential Oils Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48** (9): 3801-5.
- Thoenes, M., Tebbe, U. ve Rosin, L. (2011) Blood Pressure Management In A Cohort of Hypertensive Patients in Germany Treated by Cardiologist. *Clinical Researc of Cardiolog.y* **100**(6): 483-491
- Trouillas, P., Calliste, C., Allais, D., Simon, A., Marfak, A., Delage, C. (2003) Antioxidant, Anti-inflammatory and Antiproliferative Properties of Sixteen Water Plant Extracts Used in The Limousin Countryside as Herbal Teas. *Food Chemistry*. **80**: 399-407.
- Van Nature, (2010) Knowledge Center for Clinical PNI and Nutritional Medicine, Monografieen, *Alchemilla vulgaris, fytotherapie*.  
[http://www.vannature.nl/monografie/Alchemilla\\_vulgaris.html](http://www.vannature.nl/monografie/Alchemilla_vulgaris.html).
- Wagner, O.F., Christ, G., ve Wojta, T. (1992). Polar Secretion of Endothelin-1 by Cultured Endothelial Cells. *Journaol of Biology Chemistry*. **16**: 66-68
- Webb, D., Ferro, C.J. (1997). Endothelium Dysfunction and Hypertension.: *Drugs*. **53**(1): 30-41
- Whitworth, J.A. (2003). 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension.*J Hypertens*. **21**(11): 1983-92.

World Health Organisation (WHO) (2012). World Health Report  
[http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2012/world health statistics 20120516/en/](http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2012/world_health_statistics_20120516/en/)

Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., Yazaki, Y. (1988). A Novel Potent Vasoconstrictor Peptide Produced by Vascular Endothelial Cells. *Nature*. **332**: 411-415

Zatz, R., Baylis, C. (1998). Chronic Nitric Oxide Inhibition Model Six Years On. *Hypertension*. **32**(6): 958-64.

Zhou, W., Kallifatidis, G., Baumann, B., Rausch, V., Mattern, J., Gladkich, J., Giese, N., Moldenhauer, G., Wirth, T., Büchler, M.W., Salnikov, A.V., Herr, I. (2010) Dietary Polyphenol Quercetin Targets Pancreatic Cancer Stem Cells. *International Journal of Oncology*. **37**(3):551-61.

## HAM VERİLER

**FORMLAR**

## ETİK KURUL KARARI



T.C  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 161

04.11.2010

Sn. Yrd.Doç. Dr. Selçuk TAKIR  
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Karar No: 161  
Başvuru 01/10/2010

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Eczacı İsmail Hakkı ALTUN'a ait "Alchemilla Vulgaris'in L-NAME ile Hipertansiyon Oluşturulan Sıçanların Mezenterik Arteri Üzerine etkilerinin İncelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ  
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIKIR  
Üye

Prof. Dr. Ahmet BELCE  
Üye

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK  
Üye

Yard.Doç.Dr.Alper OKYAR  
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK  
Üye

Uzm. Vet.Hek.Fatma TEKELİ  
Üye

Avukat Selma DEMİR  
Üye

Mak. Yük.Müh. Burak OLGUN  
Üye

## **PATENT HAKKI İZİNİ**

**TELİF HAKKI İZİNİ**



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	İsmail Hakkı	<b>Soyadı</b>	ALTUN
<b>Doğ.Yeri</b>	Batman	<b>Doğ.Tar.</b>	25.02.1985
<b>Uyruğu</b>	T.C	<b>TC Kim No</b>	49609835880
<b>Email</b>	<a href="mailto:ihakkialtun@gmail.com">ihakkialtun@gmail.com</a>	<b>Tel</b>	05053496772

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>		
<b>Lisans</b>	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2009
<b>Lise</b>	Batman Anadolu Lisesi	2003

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
<b>1.</b>	Mesul Müdür	ALTUN ECZANESİ	2010-
<b>2.</b>	Mesul Müdür	YUSUF ECZANESİ	2009-2010
<b>3.</b>			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	iyi		

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>	91.191	89.260	86.293
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	iyi

## **Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**

### **Poster Sunumları:**

*Alchemilla vulgaris* (Rosaceae) sıvı ekstresinin sıçan mezenterik arteri üzerindeki etkisinin incelenmesi, İ.H. Altun, S. Takır ,S. Süzgeç-Selçuk, A. Mat, B..S. Uydeş-Doğan. XXI. Ulusal Farmakoloji Kongresi 19-22 Ekim, Eskişehir, TÜRKİYE

### **Kongre Ve Sempozyum Katılımları:**

- The Federation of European Pharmacological Societies (EPHAR) 6 th Congress, 17 – 20 July 2012, Granada, SPAIN.
- XXI. Ulusal Farmakoloji Kongresi 19-22 Ekim, Eskişehir, TÜRKİYE
- Symposium on Pharmacoeconomics: Basic principles and valuation of healthy states. 24 may 2013. İstanbul, TURKEY

### **Sertifikalar:**

- İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı.

### **Özel İlgil Alanları (Hobileri):**

Ülke gezmek , müze gezmek, yüzmek,