



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA RENOVASKÜLER HİPERTANSİYONUN NEDEN
OLDUĞU DOKU HASARINA VE HEMODİNAMİK
DEĞİŞİKLİKLERE KARŞI NİGELLA SATİVA' NIN
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

NUR TAŞAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Göksel ŞENER

İSTANBUL-2010

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Farmakoloji

Tez Sahibi : Nur Taşar

Tez Başlığı : Sıçanlarda renovasküler hipertansiyonun neden olduğu doku hasarına ve hemodinamik değişikliklere karşı nigella sativa' nın koruyucu etkilerinin araştırılması

Sınav Yeri : Farmakoloji Anabilim Dalı

Sınav Tarihi : 30. 07.2010

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Göksel Şener

Kurumu

M. Ü. Eczacılık Fakültesi

İmza



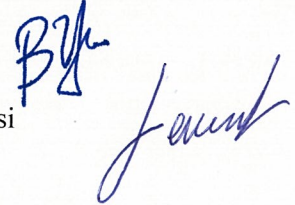
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Berrak Yeğen

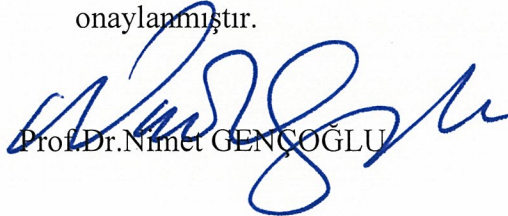
M. Ü. Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Levent Kabasakal

M. Ü. Eczacılık Fakültesi



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 27/08/2010 tarih ve 18. sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Nimet GENÇOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla 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 olmadığını beyan ederim.

13 /09/ 2010

Nur TAŞAR



I) TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca her konuda yakın ilgi ve büyük desteğini gördüğüm çok değerli hocam **Prof. Dr. Göksel Şener'e**, öğrenimim süresince benden bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız **Prof. Dr. Gül Ayanoğlu Dülger'e**, tez çalışmamın her safhasında desteğini her zaman hissettiğim ve yardımlarını esirgemeyen sevgili **Yrd. Doç. Dr. Ahmet Özer Şehirli'ye**, histoloji sonuçlarının değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı M.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı öğretim Üyesi **Doç. Dr. Şule Çetinel'e**, ekokardiografik incelemelerdeki yardımları için GATA Haydarpaşa Hastanesi **Yrd. Doç. Dr. Ömer Yiğiner'e** biyolojik parametrelerin analizleri ve değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Maltepe Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı **Yrd. Doç. Dr. Canan Hürdağ'a**, hayatım boyunca beni her zaman destekleyen ve emek harcayan sevgili ailem; annem **Selma Taşar'a**, babam **Rifat Taşar** ve kardeşim **Gökhan Taşar'a**, yüksek lisans öğrenimimin başlaması konusunda beni teşvik eden ve yardımını esirgemeyen **İnan Şahin'e** teşekkür ederim.

II) İÇİNDEKİLER

I) TEŞEKKÜR	III
II) İÇİNDEKİLER	IV
III) KISALTMALAR VE SİMGELER	VII
IV) ŞEKİL LİSTESİ	IX
V) RESİM LİSTESİ	X
VI) TABLOLAR LİSTESİ	XI

1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1 Hipertansiyon ve hipertansiyonun tarihçesi	5
4.1.1 Hipertansiyonun etyolojik olarak sınıflandırılması	6
4.1.2 Kan basıncının düzenlenmesi	7
4.2 Renovasküler hipertansiyon	7
4.2.1 Deneysel renovasküler hipertansiyon modelleri	8
4.2.2 Renovasküler hipertansiyonun mekanizması	9
4.3 Renovasküler hipertansiyonda serbest radikallerin rolü	12
4.4 Nigella sativa (Çörek otu tohumu)	14
4.4.1 Kimyasal içeriği ve yapısı	15
4.4.2 Nigella sativa'nın etki mekanizması	16
4.4.2.1 Antioksidan etkisi	16
4.4.2.2 Antihistaminik etkisi	17
4.4.2.3 Antienflamatuar etkisi	17
4.4.2.4 Bağışıklık sistemi üzerine etkisi	17
4.4.2.5 Antiviral etkisi	18
4.4.2.6 Antihelmintik etkisi	18

4.4.2.7 Antibakteriyal etkisi	18
4.4.2.8 Antitümör etkisi	18
5. GEREÇ VE YÖNTEMLER	20
5.1. Gruplar ve Deney Protokolü	20
5.2. Kan Basıncı Ölçümü	21
5.3. Serumda Yapılan İncelemeler	21
5.3.1. Serumda ADMA tayini	21
5.3.2. Serumda NO tayini	21
5.4. Dokuda Yapılan İncelemeler	21
5.4.1. Glutasyon (GSH) tayini	21
5.4.2. Malondiladehit (MDA) tayini	23
5.4.3. Dokuda Na ⁺ , K ⁺ -ATPaz aktivitesi tayini	24
5.4.4. Histolojik incelemeler	26
5.4.4.1. Işık mikroskopu (Hematoksilen-Eosin)	26
5.4.4.2. Işık mikroskopu (Masson's Trichrome)	26
5.4.5. İmmunhistokimyasal yöntem	27
5.5 İstatistik yöntemi	28
6. BULGULAR	29
6.1. Kan Basıncı Sonuçları	29
6.2. Vücut ağırlığı, Kalp ağırlığı ve Kalp/Vücut Ağırlığı Oranı	29
Sonuçları	
6.3. Ekokardiyografi Sonuçları	29
6.4. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) Sonuçları	30
6.5. Nitrik oksit (NO) Sonuçları	30
6.6. Glutasyon (GSH) Sonuçları	30
6.7. Malondialdehit (MDA) Sonuçları	30
6.8. Na ⁺ , K ⁺ -ATPaz Aktivitesi Sonuçları	30
6.9.Histoloji Sonuçları	31
6.9.1. Hematoksilen-Eozin Sonuçları	31
6.9.2. Mason Trikrom Sonuçları	31

6.10. İmmünohistokimya Sonuçları	31
6.10.1. eNOS Sonuçları	31
6.10.2. iNOS Sonuçları	31
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	47
8. KAYNAKLAR	53
9. ÖZGEÇMİŞ	63
10. ETİK KURUL ONAY RAPORU	64

III) KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

2B-1K	: 2 Böbrek-1 Klip
ADE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ADMA	: Asimetrik dimetilarjinin
ANOVA	: Varyans analizi
CCl4	: Karbon tetraklorür
DTQ	: Ditimokinon
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
EF	: Ejeksiyon fraksiyonu
FS	: Kısalma fraksiyonu
GSH	: Glutasyon
IVS	: İnterventriküler septal kalınlık
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LPO	: Lipid peroksidaz
LVDd	: Sol ventrikülün diyastoldeki çapı
LVDs	: Sol ventrikülün sistoldeki çapı
MCMV	: Mürin sitomegalovirüs
MDA	: Malondialdehit
Na ⁺ -K ⁺ ATPaz	: Sodyum, potasyum ATPaz
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NF-κB	: Nükleer faktör-kappaB
NO	: Nitrik oksit
NS	: Nigella sativa
O ₂ ^{-·}	: Süperoksit radikali
OH [·]	: Hidroksil radikali
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
PGF 2α	: Prostaglandin F2α
PW	: Sol ventrikül posterior duvar kalınlığı
RVH	: Renovasküler hipertansiyon

RW	: Relatif duvar kalınlığı
SF	: Serum fizyolojik
SOD	: Süperoksid dismutaz
THY	: Timol
THQ	: Timohidrokinon, nigellon
TQ	: Timokinon

IV) ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: Anjiotensin II oluşumu: endokrin renin-anjiyotensin sistemi.	9
Şekil 2	: Renovasküler hipertansiyonun mekanizması ve etkileri.	10
Şekil 3	: A II, reaktif oksijen türleri, proinflamatuvar sitokinler, inflamasyon ve doku hasarı arasındaki ilişki.	12
Şekil 4	: Nigella sativa yağındaki etkin maddelerin kimyasal yapıları: TQ, DTQ, THY ve THQ.	16
Şekil 5	: Renal artere klip uygulaması.	20
Şekil 6	: Kan Basıncı Sonuçları	36
Şekil 7a	: Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) Sonuçları	37
Şekil 7b	: Nitrik oksit (NO) Sonuçları	37
Şekil 8	: Glutasyon (GSH) Sonuçları	38
Şekil 9	: Malondialdehit (MDA) Sonuçları	39
Şekil 10	: Na⁺, K⁺ -ATPaz Aktivitesi Sonuçları	40
Şekil 11	: Beyin dokusunda ışık mikroskopisi değerlendirilmesi.	41
Şekil 12	: Kalp dokusunda ışık mikroskopisi değerlendirilmesi.	42
Şekil 13	: Böbrek dokusunda ışık mikroskopisi değerlendirilmesi.	43
Şekil 14	: Böbrek dokusunda mason trikrom boyama	44
Şekil 15	: Böbrek dokusunda eNOS immünohistokimya sonuçları	45
Şekil 16	: Böbrek dokusunda iNOS immünohistokimya sonuçları	46

V) RESİM LİSTESİ

Resim 1	: Nigella sativa bitkisi	14
Resim 2	: Nigella sativa tohumu	15

VI) TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1	: Kan Basıncı Sonuçları	32
Tablo 2	: Vücut ağırlığı, Kalp ağırlığı ve Kalp/Vücut Ağırlığı Oranı Sonuçları	33
Tablo 3	: Ekokardiyografi Sonuçları	34
Tablo 4	: Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) ve Nitrik oksit (NO) Sonuçları	35

1. ÖZET

Bu çalışmada renovasküler hipertansiyon (RVH) nedenli böbrek, kalp ve beyin dokularında oluşan hasara karşı nigella sativanın koruyucu etkileri araştırılmıştır. Sham (n=8) veya 2B-1K operasyonu yapılan Wistar albino sıçanlarına operasyonun 3. haftasından başlayarak devam eden 4 hafta süresince intraperitoneal olarak nigella sativa (0.2 mg/kg/gün; n=8) veya ayçiçek yağı verilmiştir. Kalp fonksiyonlarını değerlendirmek için indirek kan basıncı ölçümleri ve ekokardiyografik görüntüleme yapılmıştır. 7. haftanın sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve doku (kalp, beyin, böbrek) örnekleri alınmıştır. 2B-1K hipertansiyon, kan basıncını artırarak ve sol ventrikül fonksiyonunu azaltarak, periferik hedef organlardaki oksidatif doku hasarının göstergesi olan kalp, böbrek ve beyin dokularında glutatyon ve Na^+/K^+ -ATPaz'da önemli ölçüde düşüş yapmış aynı zamanda lipid peroksidasyonu artırmıştır. Ayrıca endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve indüklenbilir (iNOS) seviyeleri de 2B-1K'ye bağlı olarak değişmiştir. Bunlara ek olarak serumda asimetrik dimetilarginin (ADMA) seviyesi artmış ve nitrik oksit seviyesi ise azalmıştır. NS ile 4 haftalık tedavi sonunda incelenen parametrelerin değerleri geri çevrilmiş; endojen antioksidanların artışı ve lipid peroksidasyonun inhibisyonu ile hedef organlardaki hipertansiyon indüklü oksidatif hasar düzelmiş ve kardiyovasküler fonksiyonlar iyileştirilmiştir.

Anahtar Sözcükler : Glutatyon, lipid peroksidasyonu, Nigella sativa, renovasküler hipertansiyon.

2. SUMMARY

Protective effects of *Nigella sativa* against tissue damage and hemodynamic changes caused by renovascular hypertension in rats.

In the present study the protective effects of *nigella sativa* against renovascular hypertension (RVH)- induced kidney, heart and brain tissue damage were investigated. Wistar albino rats were divided into sham-operated (n=8) or 2B-1K groups, in which rats received either intraperitoneally *nigella sativa* (0.2 mg/kg/day; n=8), or vehicle (sunflower oil, n=8) starting by the 3rd week of the operation for the consecutive 4 weeks. Indirect blood pressure recordings and echocardiographic imaging were made to evaluate the cardiac function. At the end of the 7th week, the animals were decapitated and blood and tissue (heart, brain, kidney) samples were taken. 2K1C hypertension resulted in increased blood pressure, and reduced left ventricular function, leading to increased lipid peroxidation concomitant with significant reductions in glutathione, Na⁺/K⁺-ATPase in the cardiac, renal and brain tissues, indicate the presence of oxidative tissue damage in peripheral target organs. Furthermore endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) levels were found to be altered due to 2B-1K. In addition, asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels increased and nitric oxide levels were decreased in serum samples. On the other hand, 4-week treatment with NS reversed all the measured parameters, ameliorated hypertension-induced oxidative injury in the target organs and improved cardiovascular functions through the augmentation of endogenous antioxidants and the inhibition of lipid peroxidation by maintaining a balance in oxidant/antioxidant status.

Key Words: Glutathione, lipid peroxidation, *Nigella sativa*, renovascular hypertension.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansiyon günümüzün ve geleceğin önemi giderek artan bir sağlık sorunudur. Esansiyel olduğu gibi çeşitli nedenlere bağlanabilen sekonder form da bu sıklığın içinde yaklaşık %5-10 gibi bir orana sahiptir. Bunlardan biri olan renovasküler hipertansiyon (RVH) unilateral, bilateral ya da segmental renal hipoperfüzyona sebep olan lezyonlara bağlı vasküler rezistans artışı veya renal fonksiyon değişiklikleri sonucu ortaya çıkan kan basıncı yüksekliğidir. Kardiyovasküler sistemin maruz kaldığı bu yüksek basınç nedeniyle tüm organizmada çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında serbest radikal oluşumu nedeniyle ortaya çıkan doku hasarları önemli bir yer tutmaktadır.

Hücrelerde gerçekleşen oksijen metabolizması sonucunda zararlı reaktif oksijen türleri (ROS) oluşmaktadır. Normal koşullarda oksidan oluşum hızı ve miktarı oksidan eliminasyonu ile denge halindedir. Prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik sonucu oksidan maddelerin aşırı üretimi oksidan strese neden olur ki bu da hücrel antioksidan kapasiteyi tüketir. Böbrek ve vasküler dokular, patolojik koşullarda renal disfonksiyon ve damar hasarı oluşumunda önemli rol oynayan NADPH oksidaz türevli ROS yönünden oldukça zengindir. Deneysel çalışmalarda renovasküler olaylara bağlı olarak artan oksidatif stresin kardiyovasküler patolojide önemli rol oynadığı gösterilmiştir (101). Literatürde sıçanlarda yapılan 2-böbrek, 1-klip işlemi ile renal perfüzyon basıncının azalması sonucunda her iki böbrekte de anjiyotensin II' nin arttığı ve anjiyotensin II' ye bağımlı hipertansiyon olduğu belirtilmiştir (75). Deneysel renovasküler hipertansiyon geliştirilen domuzlarda yapılan bir çalışmada, renovasküler hipertansiyonun erken safhalarında plasma renin aktivitesi ve ortalama arteriyel basıncın artışının, sistemik oksidatif stres artışı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Dokularda bulunan oksidasyona duyarlı mekanizmaların aktivasyonu renal arter stenozu ve hipertansif böbrek hasarı oluşumunda önemli rol oynamaktadır (63). Renovasküler hastalığın erken safhalarında, C ve E vitamini gibi antioksidanların kronik olarak uygulanmasının böbrek kan akımını, glomerüler filtrasyon hızını ve lokal perfüzyonu düzenlediği de gösterilmiştir (19).

Nigella sativa, Ranunculaceae familyasına ait bir bitkidir (93). *N. Sativa* yağı HPLC ile analiz edildiğinde, thymoquinone (TQ), dithymoquinone (DTQ), thymohydroquinone (THQ), ve thymol (THY) nin *Nigella sativa*nın ana aktif bileşenleri olduğu bulunmuştur (48). *Nigella sativa*'nın antioksidan, hipotansif, analjezik, ürikozürük, koleretik, antiüremik, antidiyabetik ve antihistaminik gibi çeşitli farmakolojik özellikleri vardır (8). Reaktif oksijen türlerinin birçok hastalığın patogeneğinde rol oynaması doğal antioksidanların bu hastalıkların gelişmesini engelleyebileceğine dair ilgi uyandırmıştır (89). *Nigella sativa* tohumlarının potansiyel özelliği bir veya daha çok bileşenin antioksidan özelliklerine bağlı olarak toksisiteyi azaltmalarıdır (6). Literatürde, sıçan hipokampusünde geliştirilen serebral iskemik reperfüzyon hasarına karşı *Nigella sativa* yağı ve Thymoquinone' un lipid peroksidasyonunu azaltarak koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (49). Karbontetra klorüre maruz kalmış sıçanlarda yapılan bir çalışmada *Nigella sativa*' nın lipid peroksidasyonunu ve karaciğer enzimlerini azalttığı, antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği ve hatta kilo kaybını engellediği bulunmuştur (56). Radyoterapi insanda kanser terapisinde kullanılan çok yaygın bir tedavi yöntemi olmakla birlikte iyonizan radyasyonun reaktif oksijen radikallerinin (ROS) oluşumunu indüklediği bilinmektedir. Yapılan bir çalışma ile *Nigella sativa*' nın radyasyonun dokulardaki zararlı etkilerini antagonize ettiği belirlenmiştir (17). İskemi reperfüzyon (I/R) ile gastrik lezyon oluşumunda serbest radikallerin rolü olduğu bilinmektedir. *Nigella sativa* yağı' nın lipid peroksidasyon (LPO) ve laktat dehidrojenaz (LDH) seviyelerini azaltarak, glutatyon (GSH) ve süperoksid dismutaz (SOD) seviyelerini artırarak I/R ile indüklenmiş gastrik lezyonlara karşı koruyucu etkisi gösterdiği bulunmuştur (29).

Bu çalışmada deney hayvanlarında geliştirilen renovasküler hipertansiyonun özellikle böbrek, kalp ve beyin dokularında oluşturacakları hasar belirlenerek bu hasarda serbest radikallerin rolü değerlendirilecektir. Ayrıca antioksidan özellikleri olan *Nigella sativa*' nın gerek kan basıncına ve gerekse dokulardaki oksidan hasara karşı koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1 Hipertansiyon ve hipertansiyonun tarihçesi

Hipertansiyon, yetişkin populasyonunun önemli bir kısmını ilgilendiren, kan basıncı yükselmesi ile karakterize, tedavi edilmezse yüksek oranda morbidite ve mortaliteye neden olan bir sağlık sorunudur (111). Kan basıncının 160 mmHg sistolik - 90 mmHg diyastolik basınç sınırlarını aştığı durumlarda hipertansiyon söz konusudur.

Ülkemizde 12 milyon civarında hipertansiyon hastası olduğu tahmin edilmektedir. En gelişmiş ülkelerde bile hastaların önemli bir kısmının (%30) hipertansif olduklarının farkında olmadıkları ve tedavi altında olan hastaların (%59) ise ancak % 30 civarının kan basınçlarında yeterli kontrol sağlandığı saptanmıştır (111).

Hipertansiyonun tarihi iki dönemde incelenmektedir: (9)

- 1) Hipertansiyon patofizyolojisinin tanımlandığı tedavi öncesi dönem (1970 öncesi)
- 2) Hipertansiyonda ilaç tedavisinin öneminin tespit edildiği tedavi dönemi.

Hipertansiyonda tedavi öncesi dönemde yapılan önemli gelişmeler;

- 1844'te, Bright arteriyel hipertansiyonun renal patoloji ve sol ventrikül hipertrofisi ile ilişkisini tanımlamıştır.
- 1874'de, Mahomed ilk arteriyel basınç ölçümünü ve esansiyel hipertansiyonun tanımını yapmıştır.
- 1898'de Tigerstet renini tanımlamıştır.
- 1895'de Oliver ve Schafer tarafından adrenalin keşfedilmiştir.
- 1912'de Pick, sekonder hipertansiyon - Feokromasitoma ilişkisini tanımlamıştır.
- 1914'de Volhard and Fahr, hipertansiyon dahil olmak üzere, malign - benign nefroskleroz ve arteriyel hastalıkların histopatolojisini açıklamıştır.
- 1932'de Cushing, sekonder hipertansiyon-Cushing sendromu ilişkisini tanımlamıştır.

- 1934’de Goldblatt, deney hayvanlarında renal arter stenozunun kan basıncını yükselttiğini göstererek olası mekanizmaları incelemiştir.
- 1953’de Simpson ve arkadaşları tarafından “aldosteron” keşfedilmiştir.
- 1955’de Conn, Conn sendromu olarak bilinen “primer aldesteronizm”i tanımlamış ve bu hastalardaki kan basıncı artışına dikkat çekerek sekonder hipertansiyon primer aldesteronizm ilişkisini tanımlamıştır.
- 1955’de, Von Euler sempatik sinir sisteminin nörotransmitteri olarak “noradrenalin”i tanımlarken, Peart, “Anjiyotensin II (A II)”nin renin sisteminin aktif peptidi olduğunu bildirmiştir.
- - 1958–1960’da Gross, Davis, Genest, Laragh renin ve aldosteron arasındaki ilişkiyi açıklamışlardır.

Tedavi döneminin başlamasıyla birlikte yapılan klinik çalışmalarla antihipertansif tedavinin değeri kanıtlanırken genetik alanındaki ilerlemelerle de çok sayıda nadir görülen hipertansiyonun sebebi tamamen karakterize edilmiştir (9).

4.1.1 Hipertansiyonun etyolojik olarak sınıflandırılması

Hipertansiyon etyolojik olarak primer (esansiyel) ve sekonder olarak sınıflandırılır (Tablo 1). Hipertansif hastaların %90’ından fazlasında hipertansiyon primerdir. %10’undan azında ise hipertansiyonun saptanabilen bir nedeni vardır. En sık görülen sekonder hipertansiyon nedenleri arasında kronik böbrek hastalığı ve renovasküler hastalıklar yer almaktadır (111).

Tablo 1. Hipertansiyonun etyolojik sınıflandırılması (111)

- 1- Primer veya esansiyel
- 2- Sekonder
 - a. Kronik böbrek hastalığı
 - b. Renovasküler hastalık
 - c. Endokrin nedenler
 - d. Aort koarktasyonu
 - e. Gebelikle ortaya çıkan
 - f. Nörolojik hastalıklar

g. İlaçlarla ortaya çıkan hipertansiyon

Primer hipertansiyonda tedavi prensibi doğrudan kan basıncını düşürmek ve yüksek kan basıncına bağlı değişimleri düzeltmek (46) iken sekonder hipertansiyonda amaç primer nedene yöneliktir (107). Örneğin hipertansiyon böbrekteki patolojik bozukluklara bağlı ise öncelikle bu durumun düzeltilmesi gerekir ve bu süre içinde antihipertansif ilaçlarla tedavi esastır (85).

4.1.2 Kan basıncının düzenlenmesi

Kan basıncı nöral, hümorale ve lokal faktörlerle düzenlenir. Kan basıncının kısa süreli adaptasyonu başlıca nöral olarak iletilen vazomotor değişikliklerle sağlanır. Regülasyona yardımcı diğer faktörler ise baroreseptör ve kemoreseptörlerdir. Otoregülasyon merkezi medulla oblongatadır. Kan basıncında düşme durumunda periferden vazomotor merkeze gelen uyarılar sempatik sistemin aktivasyonu ile vasküler düz kas kontraksiyonuna ve kalp hızında artışa yol açar. Nöral uyarıların iletilmesi norepinefrin ve epinefrin aracılığı ile olur. Kan basıncında yükselme durumunda ise sempatik aktivite azalır, parasempatik aktivite artar ve yukarıdaki kardiyak ve vasküler değişiklikler ters yönde değişir. Nöral uyarıların epinefrin ve norepinefrin aracılığı ile iletimi, organdaki spesifik reseptörlerin uyarılması ile sağlanır. Bu reseptörler alfa ve beta adrenerjik reseptör olarak iki gruptur ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Kan basıncının hümorale ve lokal regülasyonunda vazopressor ve vazodepresör hormonların rolü vardır (111). Dolayısıyla son yıllarda tedaviye yönelik çalışmalarda bu faktörlerin düzenlenmesi esas alınmaktadır.

4.2 Renovasküler Hipertansiyon

Sekonder hipertansiyonun en sık görülen sebeplerinden biri olan renovasküler hipertansiyon böbrek arterlerinde unilateral, bilateral ya da segmental hipoperfüzyona sebep olan lezyonlara bağlı vasküler rezistans artışı veya renal fonksiyon değişiklikleri sonucu ortaya çıkan kan basıncı yüksekliğidir. Diğer bir deyişle; renovasküler hipertansiyon, renal arter stenozu sonucu olarak gelişen bir hipertansiyondur.

Renal arter stenozu pek çok sebebe bağlı olarak gelişmekle beraber, vakaların %90' nın sebebi aterosklerotik renal arter stonozudur ki hastaların çoğu 50 yaşınn üstündedir. Renal arter stenozunun %10' luk kısmını ise renal arterde gelişen fibromüsküler displazi oluşturmaktadır (4).

Renovasküler hipertansiyon alanındaki çalışmalar kısaca aşağıdaki gibidir: (9)

Richard Bright, 1827 yılında böbrekte sertleşmenin ödem, proteinüri ve nabız alımındaki zorluk ile ilişkili olduğunu göstermiştir (15).

1874 yılında Mohamed renal hastalığı olan kişilerin arteriyel sistemlerinde yüksek tansiyon olduğunu bildirmiştir (68).

Goldblatt ve arkadaşları 1930' larda yaptıkları çalışmalarla böbrek ana renal arterine klip takılarak böbrek perfüzyonundaki azalmanın sürekli bir arteriyel basınç artışı sağladığını göstermişlerdir (38).

Yapılan araştırmalar böbrekteki vasküler tıkanmaların sistemik arteriyel basınçta artışa neden olduğunu göstermiştir ki bu çalışmalar hipertansiyonun patojenik mekanizmasının anlaşılmasına ilişkin yeni ufuklar açmıştır (35).

4.2.1 Deneysel renovasküler hipertansiyon modelleri

Renovasküler hipertansiyon için çeşitli deneysel modeller geliştirilmiştir. Bunlardan en çok kullanılan modeller:

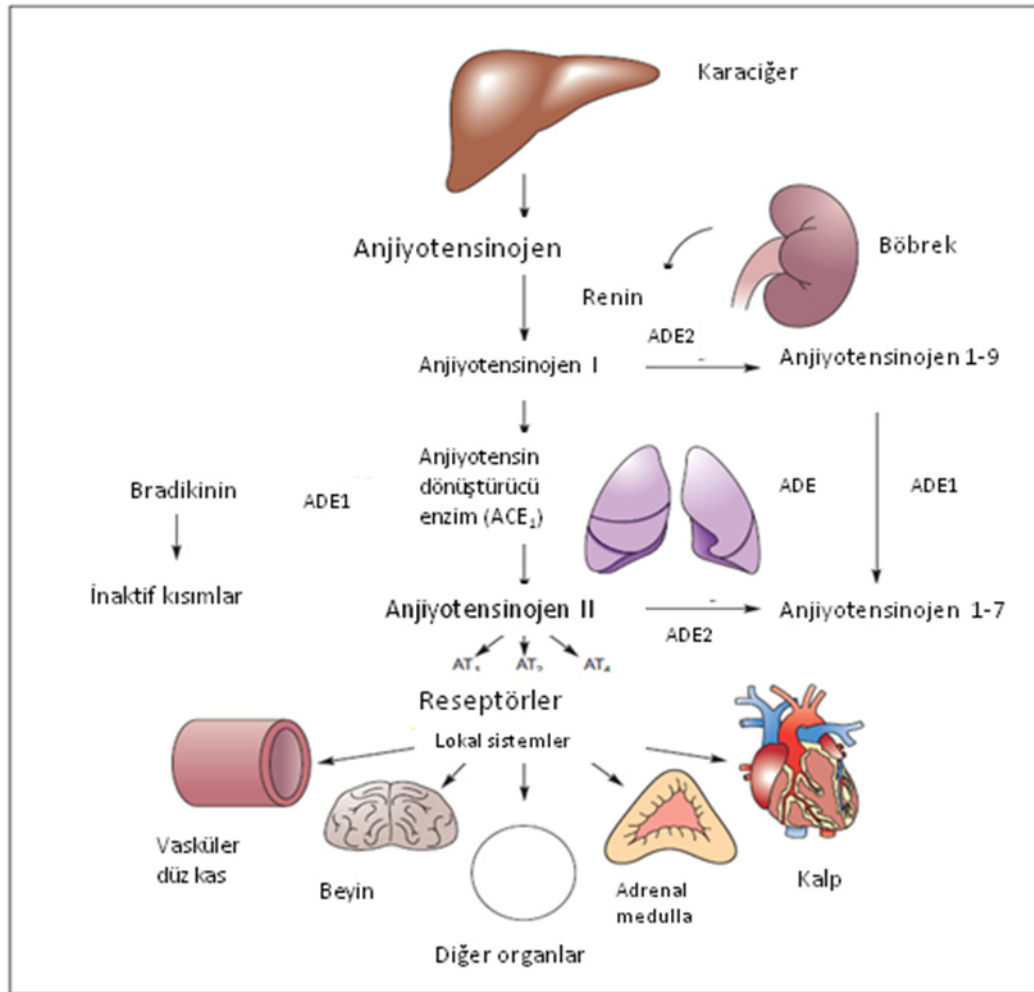
- 1) 2- Böbrek 1- Klip Deneysel Modeli: Sağlam böbreğin basınç natriürezine maruz kaldığı modeldir. Bu modelin uygulanması ile anjiyotensine bağlı hipertansiyon gelişir (62).
- 2) 1- Böbrek 1- Klip Deneysel Modeli: Klip takılmış tek bir böbreğin olduğu modeldir. Sodyum retansiyonu ve sıvı hacmi artışına bağlı hipertansiyon gerçekleşir (62).

Bu modeller fare, sıçan, köpek ve domuz gibi pek çok tür üzerinde uygulanmıştır (62).

Ayrıca, arter segmentlerinde yapılan çalışmalarda lümendeki %70-75 oranındaki daralmanın basınçta düşüş yaptığı gösterilmiştir (99).

4.2.2 Renovasküler hipertansiyonun mekanizması

Renovasküler hipertansiyonun oluşumundaki ana mekanizmanın renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonu aracılı olduğu gösterilmiştir Şekil-1 de renin anjiyotensin sistemi şematik olarak özetlenmiştir (34).

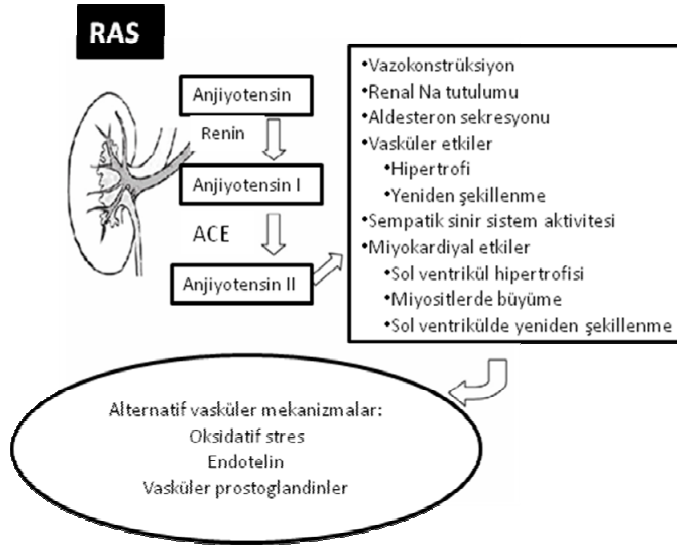


Şekil 1: Anjiyotensin II oluşumu: endokrin renin-anjiyotensin sistemi

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) uterus, plasenta, damar dokusu, kalp, beyin, adrenal korteks, böbrek, lökosit, alveolar makrofaj, periferik monosit, nöronal ve epididimal hücrelerde bulunmaktadır (27). Ancak ADE temel olarak endotelial hücrelerde bulunduğu için vücuttaki A II'nin ana oluşum yeri kan damarlarıdır (24).

Yapılan çalışmalarda ADE inhibitörü ile ön-tedavi uygulanan hayvanlarda tedavi süresince renovasküler hipertansiyon gelişiminin geciktirildiği, ve hatta genetik olarak anjiyotensin-1 reseptörü olmayan knock-out hayvanlarda ise renovasküler hipertansiyonun gelişmediği gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan transplantasyon çalışmaları hem sistemik hem de renal damarlardaki anjiyotensin reseptörlerinin bu sürece katkıda bulunduğunu göstermiştir (18, 23).

Renovasküler hipertansiyonda plazma renin aktivitesi gibi renin-anjiyotensin sisteminin ölçülebilen komponentleri geçici olarak yükselmektedir. Hem hayvanlarda hem de insanlarda yapılan çalışmalarda sistemik ve renal arteriyel basıncın ve/veya sodyum retansiyonunun artışına bağlı olarak renin salıverilmesi azalmaktadır. Ancak renovasküler hipertansiyonun en azından başlangıcında renin-anjiyotensin sistemi aktive olmaktadır. Bunu izleyen süreçte renin-anjiyotensin sistemi dışında endotelin salınımı, sempatik sinir sisteminin aktivasyonu, oksidatif stres gibi ilave faktörler arteriyel kan basıncının yüksek seviyelerde kalmasına katkıda bulunur (99). Artmış oksidatif stres, hipertansiyonun direk oluşturduğu renal hasara ek olarak endotele bağlı vazodilatasyonun bozulmasında da rol oynamaktadır (47).



Şekil 2: Renovasküler hipertansiyonun mekanizması ve etkileri

Tek taraflı renal arter stenozuna bağlı deneysel olarak geliştirilen renovasküler hipertansiyon çalışmasında, $\text{PGF}_{2\alpha}$ -izoprostanın sistemik plazma seviyelerinin arttığı

ve bu artışa yanıt olarak plazma renin seviyesi düşse bile ortalama arteriyel basıncın arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada hem stenotik hem de karşı böbrekteki endojen radikal süpürücü seviyelerinin düştüğü gösterilmiş ve sistemik oksidatif stres artışının RVH patogenezinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (63). RVH' ın erken dönemlerinde plazma renin seviyesi ve PGF_{2α}-izoprostan arasında gözlenen korelasyon A II ve oksidasyon aracılı yolak arasındaki bağlantıyı desteklemektedir (74). Anjiyotensin II nitrik oksidin biyoyararlanımını (NO) azaltan ve araşidonik asidin oksidasyonu ile izoprostan üreten reaktif oksijen türlerini oluşturan bir uyarıcıdır (80, 69). Ancak erken fazın aksine RVH' ın kronik fazında plazma renin aktivitesi normale döner ve bu süreçte izoprostan veya ortalama arteriyel basınç arasında korelasyon oluşur (63).

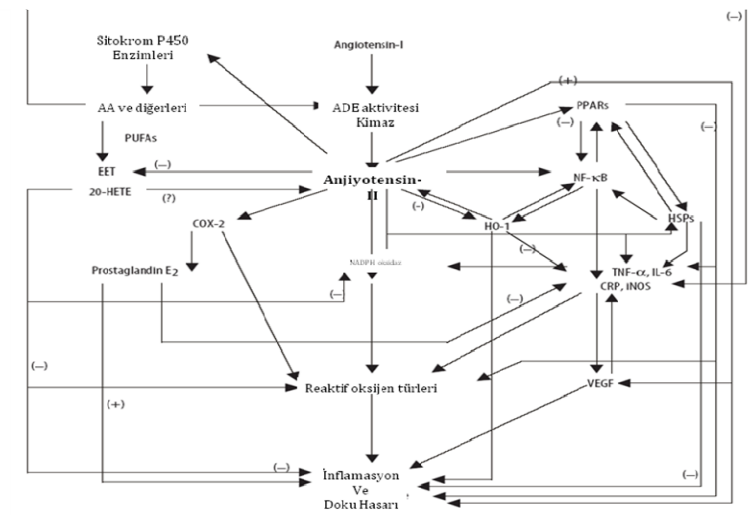
4.3 Renovasküler Hipertansiyonda Serbest Radikallerin Rolü

Oksidatif stresin hipertansiyon oluşumunda major bir rol oynadığına dair çok sayıda bulgu mevcuttur. Pek çok çalışmada indüklenmiş oksidatif stresin hipertansiyona ve buna bağlı olarak renal hasara sebep olduğu, antioksidanlarla yapılan tedavi sonucu hipertansiyonun önlendiği ve renal hasarın düzeldiği gösterilmiştir (64).

Hipertansiyon özellikle de tuza duyarlı hipertansiyon renal hasar oluşmasında önemli ve bağımsız bir risk faktörüdür (98) ve hipertansiyon ve oksidatif stres arasında güçlü bir ilişki vardır. Pek çok çalışmada esansiyal hipertansiyonlu hastalarda antioksidan kapasitenin düştüğü ve reaktif oksijen türlerinin salınımının arttığı gösterilmiştir (60, 79). Esansiyal hipertansiyonlu hastalarda eritrositlerde SOD aktivitesi azalmış (88, 79) ve E vitamini seviyesi de düşmüştür (59). Kan basıncının kontrol edilemediği hipertansiyon hastalarında lökositlerden O₂⁻ ve H₂O₂ salınımı ve lipid peroksitlerinin plazma seviyeleri artmaktadır (88). Bu hastalarda antihipertansif tedavi ile serbest radikal üretimi ve lipid peroksitleri normal seviyelerine düşmüştür (79).

A II diğer hümmoral düzenleyicilerle etkileşerek doku ve hücrelerde kendi fonksiyonlarını gerçekleştirir. A II düz kas hücrelerinin büyümesini ve metabolizmasını etkiler ve NADPH oksidazı aktive ederek serbest radikal oluşumunu

başlatır (30, 42, 37). Serbest radikaller özellikle süperoksit anyonu potent bir vazodilatör ve antiagregan olan NO'yu inaktive eder. Diğer taraftan A II hem NO oluşumunu azaltır hem de süperoksit oluşumunu artırır. Ayrıca anjiyotensin potent bir vazokonstrüktör olan endotelin oluşumunu da artırır ki endotelinin hipertansiyon, kalp yetmezliği ve pre-eklampsı gibi hastalıkların oluşumunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu yüzden ADE aktivitesinin artışı sadece A II oluşumunu artırmaz aynı zamanda serbest radikal, endotelin oluşumu ve salınımını artırırken NO ve bradikin seviyesini azaltır. Bu nedenle AII hipertansiyon, ateroskleroz ve diğer kardiyovasküler hastalıkların gerek başlangıç gerekse ilerleyen dönemlerinde önemli rol oynar (86, 16). ADE pek çok dokuda bulunduğu için ADE aktivitesinin artışı bu dokularda ya da pek çok organda A II aracılı hasara neden olur. Bu yüzden ADE ve A II'nin hipertansiyon, ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği, miyokard infarktüsü, diyabet, böbrek hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, endokrin bozukluklar, psikiyatrik bozukluklar, gastrointestinal rahatsızlıklar, demans, Alzheimer hastalığı, cilt hastalıkları, kan hastalıkları, ve pek çok akut ve kronik inflamatuvar durumların oluşumunda rolleri olduğu düşünülmektedir (24).



Şekil 3: A II, reaktif oksijen türleri, proinflatuar sitokinler, inflamasyon ve doku hasarı arasındaki ilişki

A II' nin vasküler inflamasyon ve ateroskleroz oluşumundaki etkileri incelendiğinde, ateroskleroz ve ona bağlı komplikasyonların patogenezinde etkili

olan pro-inflamatuar ve pro-oksidan genlerin ekspresyonunu başlatan ana sitokin NF- κ B' yi aktive ettiği gösterilmiştir (100, 14, 87).

Vaziri ve arkadaşları intakt genetik olarak normotansif sıçanlarda glutatyonu azaltmak suretiyle direk oksidatif stres uygulayarak oksidatif stresin hipertansiyon oluşumundaki direk etkisini göstermişlerdir (105).

Farklı hipertansiyon tiplerinin patolojisinde rol oynayan esas serbest radikal süperoksit anyonudur. Süperoksit anyonu ya direk vazokonstrüktör olarak etki gösterir ya da NO ile birleşerek onun bioyararlanımını düşürür ve vazokonstriksiyonu artırır (22). Süperoksit ve NO' nun birleşmesiyle daha potent bir oksidan olan peroksinitrit oluşur ki bu da proteinlerdeki tirozin rezidülerini nitritleyerek onların fonksiyonlarını değiştirir (39). Hipertansif sıçanların tedavisinde liposom-enkapsüle süperoksit dismutaz (SOD) veya SOD mimetikleri kullanılmış ve kan basıncını ve süperoksit anyon üretimini önemli oranda düşürdükleri görölmüştür. Vasküler duvardaki en büyük süperoksit kaynağı NADH/NADPH sistemidir (53, 103). Reckelhoff ve arkadaşları A II' nin düşük subpressor dozlarda bile in vivo olarak oksidatif stres oluşturabildiğini ve bunun da kronik kan basıncı yükselmesini tetiklediğini göstermişlerdir (81).

A II'nin hayvan deneylerinde süperoksit oluşturmak suretiyle arteriyel duvarda ve böbrek dokusunda oksidatif stresi tetikleyen ana basınç-peptidi olduğu gösterilmiştir. Bu durum NO tüketimine ve yeni oksidanların oluşumuna neden olmaktadır ki bu da dokularda daha fazla hasara sebep olmaktadır. Süperoksit radikali vazokonstrüktör etkilerinin yanısıra düz kas hücrelerinin büyümesini de uyarmaktadırlar (109).

Hipertansiyon, koroner damarlarda endotel fonksiyon bozukluğu ile de ilişkilidir, hem in vivo hem de in vitro olarak özellikle sol ventrikül hipertrofisi geliştikten sonra miyokardiyal perfüzyonun bozulduğu gösterilmiştir (45, 50). Vasküler reaktivitedeki etkisine ek olarak vasküler duvarın diğer başka fonksiyonları üzerine de etkisi vardır. Kan basıncındaki artış trombogenesisinde değişimlere neden olur ve endotel permeabilitesini artırır (83, 106). Vasküler endotel, bariyer olarak görev yaparak homeostazı koruduğu gibi antikoagölan ve antiinflamatuar özellikleri

vardır. Vasküler duvarın bariyer fonksiyonu vasküler bütünlüğün ve endotelial fonksiyonun korunması ile sağlanır (78). Hipertansiyon-indüklü miyokardiyal disfonksiyonun mekanizmalarından biri hem insanlarda (47) hem de hayvan (25) modellerinde gösterilen oksidatif stres artışıdır. Yapılan çalışmalarda kısa süreli antioksidan uygulaması ile koroner epikardiyal endotel fonksiyonun düzeldiği gösterilmiştir (47, 97). Uzun süreli antioksidan uygulandığında total SOD ve 2 izoformunun aktivitesinin normal seviyelere geldiği böylece endojen süpürücü aktivitenin korunduğu da görülmüştür (78).

4.4 *Nigella sativa* (Çörekotu tohumu)

Tedavi açısından ümit vadeci özelliği olan *Nigella sativa* Ranunculaceae ailesine ait bir dikotiledondur (40).

Nigella sativa güney Avrupa, kuzey Afrika ve Anadolu’ da bulunmaktadır (89). Yurdumuzun başlıca Batı ve Orta kesimlerinde yetiştirilmekte olup çiçekleri açık mavi renkte ve aktinomorf olan, ince parçalı yapraklı, bir yıllık kültür bitkisidir. Meyvesi, 5 folikülün tepeye kadar birleşmesiyle meydana gelmiş bir kapsüldür. Stiluslar ise meyve tepesinde uzun ve dik olarak kalır. Tohumları siyah ve köşelidir (10).



Resim 1: *Nigella sativa* bitkisi

Orta asyanın birçok ülkesinde tedavi amacıyla 2000 yıldan fazladır kullanılmaktadır (33). *Nigella sativa* tohumları eski Mısır ve Yunanlı hekimler

tarafından başağrısı, nasal konjesyon, diş ağrısı, barsak kurtlarına karşı ve adet söktürücü ve laktasyonu artırmak için kullanılmıştır (40, 31).

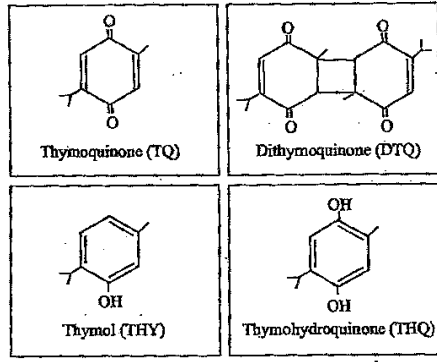


Resim 2: Nigella sativa tohumu

Nigella sativa tohumları siyah tohum, black cumin veya “Habatul-Barakah” olarak bilinmektedir ve Orta ve uzak doğuda bronşiyal astım, baş ağrısı, dizanteri, enfeksiyon, obezite, sırt ağrısı, hipertansiyon ve gastrointestinal problemler gibi pek çok hastalıkta geleneksel bir ilaç olarak kullanılmaktadır (92, 5). Egzema gibi cilt hastalığında ise kullanımı bütün dünyaca kabul edilmiştir (40).

4.4.1 Kimyasal İçeriği ve Yapısı

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılan analizlerde Nigella sativa yağında başlıca 4 ana aktif maddenin bulunduğu gösterilmiştir. Bunlar timokinon (TQ), ditimokinon (DTQ), timohidrokinon (THQ, nigellon) ve timol (THY) dür (73). Ayrıca karbonhidrat, yağ, vitamin, mineral, protein ve dokuz esansiyel amino asitten sekizini de içermektedir. Ayrıca tohumlar karaciğerde A vitaminine dönüşen karoten içerirler ve kalsiyum, demir ve potasyum kaynağıdır (73, 21).



Şekil 4: Nigella sativa yağındaki etkin maddelerin kimyasal yapıları: TQ, DTQ, THY ve THQ.

4.4.2 Nigella sativa' nın Etki Mekanizması

Nigella sativa'nın bileşimindeki maddelerin çok çeşitli olması ve her birinin terapötik etkinliklerinin farklı olması nedeniyle Nigella sativa pek çok farklı farmakolojik etki göstermektedir. Antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antitümör ve immünomodülatör etkinlikler bunlardan bazılarıdır (89).

4.4.2.1 Antioksidan etkisi

O₂, OH ve NO (oksidatif stres) gibi serbest oksijen radikalleri elektrik yüklü moleküllerdir ve hücrelere saldırarak hücre yapılarını bozarlar (8). Nigella sativa tohumlarının etkilerinden biri de antioksidan özellikleri ile toksisiteyi azaltmalarıdır (89).

Karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan toksisite durumunda, Nigella sativa yağının hepatotoksisiteye karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Artmış K⁺ ve Ca⁺² serum seviyelerini, LPO (lipid peroksidaz) ve karaciğer enzim seviyelerini düşürmüş, azalmış eritrosit, lökosit, hemoglobin (66, 65) ve antioksidan enzim seviyeleri artırmış (55) ve serum lipid profilini düzeltmiştir (32).

Sıçanlarda potasyum bromat (KBrO₃) 'ın neden olduğu renal oksidatif hasar çalışmasında profilaktik olarak uygulanan Nigella sativa ekstresinin dokuda LPO ve oksidatif hasarı belirgin derecede düşürdüğü ve glutatyon ve antioksidan enzim kapasitesini geri döndürdüğü gösterilmiştir (57).

Sıçanlara iskemi/reperfüzyon uygulandıktan sonra Nigella sativa yağı veya TQ uygulanmış ve LDH, GSH ve SOD seviyelerinin normale döndüğü gösterilmiştir (29).

4.4.2.2 Antihistaminik etkisi

Nigella sativa tohumlarının aktif bileşenlerinin histamin kaynaklı inflamatuvar hastalıklarda etkili olduğu gösterilmiştir. Nitekim bu tohumların uzun yıllardır geleneksel halk ilaçları kapsamında kullanıldığı da bilinmektedir (89).

Yapılan bir klinik çalışmada, Nigella sativa yağının alerjik rinit, bronşiyal astım, atopik egzema gibi alerjik hastalıklarda İmmünoglobülin E (IgE) ve eozonofil sayısını, plazma ve idrarda endojen kortizolü düşürdüğü gösterilmiş ve Nigella sativa yağının alerjik hastalıkların tedavisinde adjuvan olarak kullanımının olumlu etkileri olabileceği ileri sürülmüştür (54).

4.4.2.3 Antienflamatuvar etkisi

Akut veya kronik inflamasyonun başlaması ve ilerlemesinde eikosonoid, oksidan, sitokin gibi medyatörler ve inflamatuvar hücreler, makrofajlar ve nötrofillerden salınan litik enzimler rol oynamaktadır (61). NO başta olmak üzere reaktif oksijen türleri doku hasarına sebep olan bir dizi toksik oksidatif reaksiyonu başlatırlar. Yapılan pek çok in vitro çalışma ile Nigella sativa yağının ve aktif bileşenlerinin inflamasyondan sorumlu medyatörlerin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (89).

4.4.2.4 Bağışıklık sistemi üzerine etkisi

İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada Nigella sativa yağının CD4 (yardımcı lenfosit) / CD8 (baskılayıcı lenfosit) oranını %55; doğal öldürücü hücreleri ise (NKC) %30 arttırdığı saptanmıştır (44). Bir hafta süreyle Nigella sativa tohumunun sulu ekstresi alındığında doğal öldürücü hücrelerin miktarı ve YAC-1 tümör hücrelerine karşı sitotoksiteleri yaklaşık iki kat artmıştır (3). Nigella sativa yağı direkt olarak yenildiğinde yaşlılarda immun direnci artırır (110). Farelerde “cisplatin”in neden olduğu hemoglobin ve total lökosit sayısındaki düşüşe engel

olmuştur. *Nigella sativa* verilen farelerde toplam lökosit sayısı %3.2 oranında artmıştır (71). *Nigella sativa*'nın, T hücrelerinin bağışıklık sistemindeki etkisini arttırıcı özelliği vardır (89).

4.4.2.5 Antiviral etkisi

Murine sitomegalovirus (MCMV) immun yetmezliği olan hayvanlarda ölümcül olan bir herpes virüs hastalığıdır (84). Yapılan bir in vivo çalışmada *Nigella sativa* yağı ile tedavi yapıldığında MCMV enfeksiyonuna karşı belirgin bir antiviral etkinin olduğu gösterilmiştir ki bu da *Nigella sativa* yağının antiviral tedavideki umut vaadedici potansiyelini göstermektedir (90).

4.4.2.6 Antihelmintik etkisi

Şistozomiyaz üçüncü dünya ülkelerinde görülen tropikal parazitik bir hastalıktır. Bu hastalıktan korunmak için aşılama gibi tedaviler denenmiş olsa da yine de en etkili tedavi biçiminin kemoterapi olduğu görülmüştür (20). *Nigella sativa* tohum ekstresi ve TQ bu hastalığın tedavisinde büyük başarı göstermiştir. *S. mansoni* ile enfekte farelere *Nigella sativa* yağı verildiğinde karaciğerdeki *S. mansoni* kurtlarının sayısı azalmıştır (2).

4.4.2.7 Antibakteriyal etkisi

Nigella sativa *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* gibi maya ve mantar gibi pek çok bakteri türüne karşı antibakteriyel etkinlik göstermektedir (70). Ayrıca eter ekstresinin pek çok antibiyotikle sinerjistik etki gösterdiği belirtilmiştir (43). Hatta ekstrenin *V. cholera*, *E. coli* ve *Shigella dysenteriae*'nin bütün türleri dahil antibiyotiklere direnç geliştirmiş bakterilere karşı da etkili olduğu kanıtlanmıştır (70).

4.4.2.8 Antitümör etkisi

Nigella sativa'nın hem yağının hem de tohumundaki aktif bileşenlerin anti-tümör etkinlik gösterdiği in-vitro ve in-vivo çalışmalarla gösterilmiştir. *Nigella sativa*

yağının insanlarda değişik kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir (52).

Nigella sativa'nın tümörleri yok etme mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber metastaz yapan faktörleri inhibe ettiği düşünülmektedir (89).

Dietilnitrozamin veya parsiyel heptektomi ile hepatik tümör geliştirilen sıçanlar *Nigella sativa* ekstraktı ile ağızdan beslendiklerinde hepatik tümörün baskılandığı görülmüştür (51). Yine metilnitrozüre veya 1,2-dimetilhidrazin ile indüklenen kolon karsinogenezi *Nigella sativa* yağı ile baskılanmıştır (91).

Nigella sativa yağının anti tümör etkisinde TQ'un rolü üzerinde durulmaktadır. Nitekim TQ ile yapılan bir çalışmada içme suyuna ilave edilen TQ'un benzo(α)piren ile indüklenen mide tümörünü önemli derecede baskılandığı görülmüştür (7).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda 200-300 g ağırlığında her iki cinsten Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar, deney öncesinde iki haftalık sürede laboratuvar koşullarına ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık) alıştırdı. [Bu çalışma Marmara üniversitesi Hayvan Etik Kurulu' nun onayı (Karar No: 77.2008.mar) alınarak yapılmıştır.]

5.1. Gruplar ve Deney Protokolü

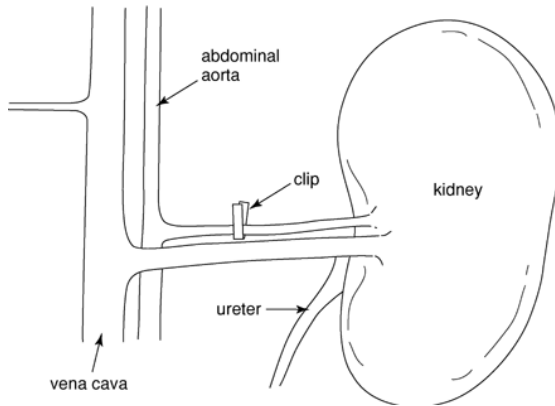
Çalışmamızda her biri 8 sıçandan oluşan 4 grup oluşturuldu.

GRUP 1: Kontrol Grubu: Anestezi altında sham operasyonu yapılan hayvanlara 4 hafta süresince taşıyıcı (ayçiçek yağı) intraperitoneal olarak uygulandı.

GRUP 2: Nigella sativa (NS) Grubu: Anestezi altında sham operasyonu yapılan hayvanlara 4 hafta süresince 0.2 mg/kg Nigella sativa yağı intraperitoneal olarak uygulandı.

GRUP 3: Renovasküler Hipertansiyon + Ayçiçek Yağı Grubu: Şekil 5'de gösterildiği gibi sol böbreğe klip takılmak suretiyle 2B-1K ile deneysel olarak renovasküler hipertansiyon oluşturulan sıçanlara cerrahi işlemden 3 hafta sonra başlayarak 4 hafta süresince taşıyıcı (ayçiçek yağı) intraperitoneal olarak uygulandı.

GRUP 4: Renovasküler Hipertansiyon + Nigella sativa Grubu: 2B-1K ile deneysel olarak renovasküler hipertansiyon oluşturulan sıçanlara cerrahi işlemden 3 hafta sonra başlayarak 4 hafta süresince 0.2 mg/kg Nigella sativa yağı intraperitoneal olarak uygulandı.



Şekil 5: Renal artere klip uygulaması.

7 haftalık toplam deney süresince operasyon öncesinde, operasyon sonrasında ve tedavi sonunda tüm gruplardaki her bir hayvanın kan basınçları ve ekokardiografik incelemeleri yapılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Bu sürenin sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve doku (kalp, beyin, böbrek) örnekleri alındı. Dekapitasyondan hemen sonra çıkarılan kalpler serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra filtre kağıdı ile kurutuldu, tartıldı.

Tüm gruplardan alınan kan örneklerinde, asimetric dimetilarginin (ADMA) ve nitrik oksit (NO) test ölçümleri yapıp antioksidan düzeyi değerlendirildi. Doku örneklerinde ise glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), Na⁺, K⁺ -ATPaz, eNOS ve iNOS tayinleri ile histolojik incelemeler yapıldı.

5.2. Kan Basıncı Ölçümü

Kan basıncı sistolik kan basıncı olarak (mmHg) tail cuff yöntemi ile (Biopac MP35 Systems, Inc.), t₁ (cerrahi operasyon öncesinde), t₂ (cerrahi operasyondan 3 hafta sonra) ve t₃ (tedavi sonunda) periyotlarında ölçüldü. Her sıçana ait kan basıncı değeri 3 okumanın ortalaması olarak alındı.

5.3. Serumda Yapılan İncelemeler

5.3.1. Serumda ADMA tayini

Serumda ADMA tayini, ADMA Direct Elisa Kit ile yapıldı.

5.3.2. Serumda NO tayini

NO tayini Roche marka Nitric oxide Colorimetric Assay kit ile yapıldı.

5.4. Dokuda Yapılan İncelemeler

5.4.1. Glutatyon (GSH) tayini:

Dokuda GSH (Glutatyon) tayini Beutler yöntemine göre yapıldı (13). Ika Werk homojenizatöründe buz üstünde 150 mM KCl çözeltisiyle dokuların %10'luk homojenatları hazırlandı.

Gerekli Çözeltiler:

0,3 M Na₂HPO₄

10 mM DTNB (Ditiyo nitro benzen, Ellman): 39.63 mg DTNB % 1'lik sodyum sitrat ile 10 ml'ye tamamlandı.

% 20'lik TCA (Trikloroasetik asit)

Standart Glutasyon Çözeltisi: 50 mg glutasyon distile suda çözüldü, 5 ml'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

0.4 ml % 10'luk homojenat

+

0.2 ml % 20'lik TCA



Karıştırıldı.

15 dakika 3000 devir/dakikada santrifüj edildi.



Üst fazda GSH çalışıldı, çökelti atıldı.

Kör	Standart	Numune
0.2 ml 150mM KCl	0.2 ml standart çözeltisi	0.2 ml üst faz

1 ml 0.3 M Na₂HPO₄ + 0.05 ml Ellman çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı, 5 dakika bekletildi ve oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 412 nm' de okundu.

5.4.2. Malondialdehit (MDA) tayini:

Dokuda malondialdehit (MDA) tayini, Beuge yöntemine göre yapıldı (12). Malondialdehit tayininde GSH tayini için hazırlanan % 10'luk homojenatlar kullanıldı.

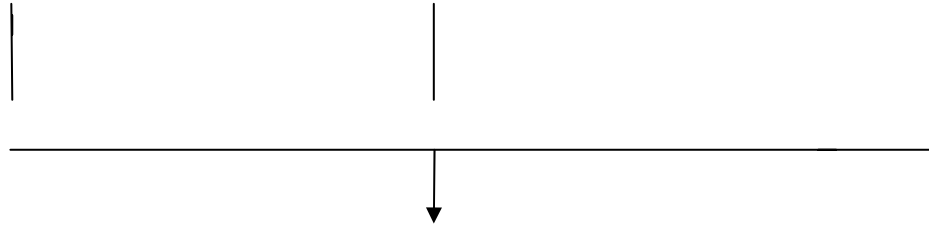
Gerekli Çözeltiler

TBA (Tiyobarbitürik asit) çözeltisi: % 0.375 g TBA ve % 15'lik TCA içeren çözelti, 0.25N HCl ile hazırlandı.

Standart Çözeltisi: 1,1,3,3 tetraetoksipropan'ın 10 mM'lık stok çözeltisinden farklı seyreltmeler yapılarak çalışıldı.

Deneyin Yapılışı:

Kör	Standart	Numune
0.5 ml 150 mM KCl	0.5 ml standart çözeltisi	0.5 ml böbrek homojenat



1 ml % 0.375 TBA

15 dakika kaynar su banyosuna bırakıldı
ve sonra tüpler oda sıcaklığında
soğutuldu

10 dakika 3000 devir/dakikada santrifüj edildi.



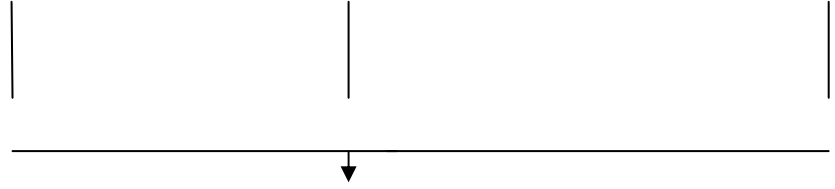
Üst faz alınarak oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 532 nm'de okundu.

5.4.3. Dokuda Na⁺, K⁺ -ATPaz aktivitesi tayini:

Dokuda Na⁺ K⁺-ATP az aktivitesi tayini Soltoff ve Mandel (96) yöntemi ile yapıldı. Dokular 0.32 M sukroz çözeltisi ile homojenize edildi. % 10luk homojenatları hazırlandı. 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi.

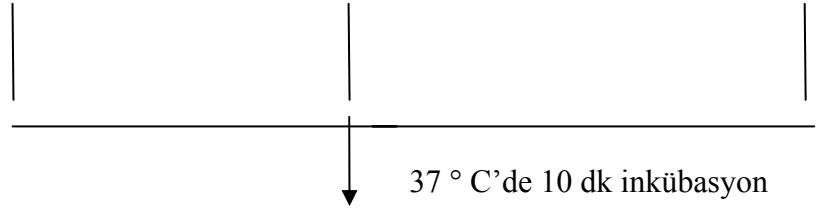
Deneyin Yapılışı:

	<u>KÖR</u>	<u>TOTAL</u> ATPaz	<u>Mg²⁺-ATP az</u>
A çözeltisi	0.75 ml	0.75 ml	-
B çözeltisi	-	-	0.75 ml
Ouabain	-	-	0.5 ml
Distile su	0.5 ml	0.5 ml	-
Üst faz	-	0.1 ml	0.1 ml
Distile su	0.1 ml	-	-



37 ° C’de 5 dk inkübasyon

ATP	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
-----	--------	--------	--------



37 ° C’de 10 dk inkübasyon

TCA	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
-----	--------	--------	--------

FOSFOR TAYİNİ

<u>Std K�r�</u>	<u>Std</u>	<u>Num, k�r�</u>	<u>Total ATP az</u>	<u>Mg-</u>
<u>ATPaz</u>				
0.5 ml TCA	0.5 ml std.	0.5 ml üst faz	0.5 ml üst faz	0.5 ml
	çalışma çözeltisi			üst faz

1 ml amonyum molibdat çözeltisi

0.4 ml Fiske-subbarow çözeltisi

3.1 ml distile su

↓ 5 dk. beklet

Spektrofotometrede 690 nm’de oku.

5.4.4. Histolojik İncelemeler:

5.4.4.1. Işık mikroskobu (Hematoksilen-Eozin): Dokular % 10'luk formol'e alındıktan sonra en az 3 saat veya 1 gece çeşme suyunda yıkandı ve artan alkol konsantrasyonları ile dehidratasyon (% 70'lik alkol ile 15 dakika, % 90'lık alkol ile 15 dakika, % 96'lık alkol ile 30 dakika, %100'lük alkol ile iki kere 30 dakika, % 100'lük toluen ile 2 kere 30 dakika) yapıldı, ardından 1 gece parafinde 60 °C'de bekletildi, ertesi gün doku parafin bloklara gömüldü. Bloklama işleminden sonra dokulardan 5-6 mm kalınlığında kesitler alınarak lama yerleştirildi ve parafinden kurtarma işlemi için 2 saat toluende bırakıldı, ardından alkolün azalan konsantrasyonları ile suya indirgenme (% 100'lük alkol ile 2 dakika, % 90'lık alkol ile 2 dakika, % 70'lik alkol ile 2 dakika muamele edildi.) yapıldı ve distile suya bırakıldı, 15 dakika hematoksilin ile muamele edildikten sonra çeşme suyunda 10 dakika morartma işlemi için bırakıldı. Eosin ile 5 dakika ilave olarak distile su uygulandıktan sonra tekrar alkolün artan konsantrasyonları ile dehidratasyon (% 70'lik alkol ile 2 dakika, %90'lık alkol ile 2 dakika, % 96'lık alkol ile 2 dakika, % 100'lük alkol ile 10 dakika) yapıldı ardından toluen ile 2 kere yıkandı (1. Banyo 5 dakika, 2. Banyo 10 dakika) ve entellan ile dokunun üzeri kapatıldı, doku ışık mikroskobu düzeyinde incelendi.

5.4.4.2. Işık Mikroskobu (Mason Trikrom): Dokular % 10' luk formole alındıktan sonra en az 3 saat veya 1 gece çeşme suyunda yıkandı ve artan alkol konsantrasyonları ile dehidratasyon (% 70' lik alkol ile 15 dakika, % 90' lık alkol ile 15 dakika, % 96' lık alkol ile 30 dakika, %100' lük alkol ile iki kere 30 dakika, % 100'lük ksilen ile 2 kere 30 dakika) yapıldı, ardından 1 gece parafinde 60 °C' de bekletildi, ertesi gün doku parafin bloklara gömüldü. Bloklama işleminden sonra dokulardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak lama yerleştirildi ve parafinden kurtarma işlemi için 2 saat ksilende bırakıldı, ardından alkolün azalan konsantrasyonları ile suya indirgenme (% 100' lük alkol ile 2 dakika, % 90' lık alkol ile 2 dakika, % 70' lik alkol ile 2 dakika muamele edildi.) yapıldı ve distile suya bırakıldı. Weigert's iron hematoksilinde 10 dakika boyanarak 10 dakika akarsuda yıkandı. Distile suda tekrar yıkanarak Biebrick scarlet asid fuksinde 10 dakika boyandıktan sonra tekrar distile suya alınıp fosfomolibdik fosfotungustik asid

solusyonda 10 dakika farklılaştırarak anilin mavisi solusyonunda 5 dakika boyanarak %1' lik asetik asit solusyonunda 2 dakika ilave olarak distile su uygulandıktan sonra tekrar alkolün artan konsantrasyonları ile dehidratasyon (% 70' lik alkol ile 2 dakika, %90' lık alkol ile 2 dakika, % 96' lık alkol ile 2 dakika, % 100' lük alkol ile 10 dakika) yapıldı ardından ksilen ile 2 kere yıkandı (1. Banyo 5 dakika, 2. Banyo 10 dakika) ve entellan ile dokunun üzeri kapatıldı, doku ışık mikroskobu düzeyinde incelendi.

5.4.5. İmmunhistokimyasal yöntem

Parafin bloklardan 3µm kalınlığında alınan böbrek kesitleri 30 dakika 75°C de tutulduktan sonra ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek suya kadar getirildi. Sitrat diva (pH=6.2) (DV Sitogen 2004 LX, MX) içerisinde Decloacking chamber'da (76) (110 °C) 40 dakika tutularak antijen iyileştirmesi yapılan kesitler 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Kesitler oda sıcaklığında ve nemli ortamda %3 Hidrojen peroksit (H_2O_2)'de (SycTek ACA 125) endojen peroksidaz aktivitesinin engellenmesi için 15 dakika tutulduktan sonra distile suyla çalkalanıp Tris tampon (TBS)'na (SycTek TBT 500) (pH=7.4) alındı. Daha sonra oda sıcaklığında 5 dakika UV blok (SycTek AA125) uygulandı. Kesitler eNOS (rabbit Pab RB9279-P) ve iNOS (rabbit Pab RB 9242-P1) antikorlarında 1 saat tutuldu. Antikorlar, diluent (Large volume UltrAb TA-125 UD) 'de eNOS için 1:100, iNOS 1:50 oranında sulandırıldı. Kesitler TBS'de 3-4 kez 5'er dakika yıkandıktan sonra 20 dakika oda sıcaklığında biyotinlenmiş anti-polyvalent sekonder antikoru (TS-060-HR, SycTek ABF125) ile inkube edildi. Daha sonra TBS'de yıkandı ve peroksidaz enzimi ile işaretli streptavidin (TS-060-HR, HRP SycTek ABG125)'de oda sıcaklığında 20 dakika tutuldu. Renkli reaksiyon ürününün oluşması için 5 dakika DAB (Thermo Scientific RTU TA-060-HD) kromojen ile inkube edildikten sonra distile su ile yıkanarak, Mayer hematoksilen zıt boyaması yapıldı. Entellan (Shandon Ref:999040) ile kapatıldı. Dokudaki NOS reaksiyonun dağılımı Leica ışık mikroskobu ile incelendi ve Image Pro-Plus sistemi aracılığıyla fotoğrafları çekildi.

5.5. İstatistik Yöntemi

İstatistiksel değerlendirme tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ileri analiz olarak Tukey's testi ile yapıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olduğu durumlar anlamlı olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

Çalışmamızda vücut ağırlığı, kalp ağırlığı, kalp/vücut ağırlığı oranı, kan basıncı, ekokardiografi ölçümleri, serumda ADMA, NO; beyin, kalp ve böbrek dokuları histolojik olarak ve eNOS ve iNOS değerleri açısından incelenmiş ve bu dokularda ise GSH, MDA, Na⁺, K⁺- ATPaz aktiviteleri, ANOVA ile karşılaştırılmış ve ikili karşılaştırmalarda Turkey's testi kullanılmıştır.

6.1. Kan Basıncı Sonucu (Tablo 1, Şekil 6)

Kan basıncı sonuçları değerlendirildiğinde RVH ve RVH-NS gruplarında t₂ kan basıncı değerlerinin t₁ kan basıncı değerlerine göre anlamlı olarak arttığı (p<0.001), RVH-NS grubunun t₃ değerinin ise RVH grubunun t₃ değerine göre anlamlı olarak azaldığı (p<0.001) görülmüştür.

6.2. Vücut ağırlığı, Kalp ağırlığı ve Kalp/Vücut Ağırlığı Oranı Sonuçları (Tablo 1)

Vücut ağırlığı bakımından deney sonunda yapılan ölçümlerde kontrol, RVH ve RVH-NS gruplarında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Kalp ağırlığı bakımından deney sonunda yapılan ölçümlerde RVH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış (p<0.001) görülürken, RVH-NS grubunda RVH grubuna göre anlamlı bir azalma (p< 0.05) görülmüştür.

Kalp/vücut ağırlığı oranları incelendiğinde RVH grubuna ait değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde arttığı (p<0.001) görülmüştür. Buna karşılık RVH-NS grubuna ait kalp/vücut ağırlığı oranı RVH grubuna göre anlamlı olarak düşük (p<0.05) bulunmuştur.

6.3. Ekokardiyografi Sonuçları (Tablo 2)

Ekokardiyografi sonuçlarını değerlendirdiğimizde, interventriküler septal kalınlık, sol ventrikül posterior duvar kalınlık, relatif duvar kalınlık, sol ventrikülün sistoldeki çap, sol ventrikülün diastoldeki çap değerlerinin RVH grubunda kontrol

grubuna göre anlamlı olarak arttığı, RVH-NS grubunda ise bu değerlerdeki artışın anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. Ejeksiyon fraksiyonu ve kısalma fraksiyonu değerlerinin ise RVH grubunda azaldığı görülmüş, buna karşılık RVH-NS grubuna ait bu değerlerin RVH grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur.

6.4. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) Sonuçları (Tablo 3, Şekil 7a)

Serumda ADMA düzeyleri RVH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış ($p<0.001$), bu artışın NS tedavisi ile anlamlı olarak azaldığı ($p<0.01$) gözlenmiştir.

6.5. Nitrik oksit (NO) Sonuçları (Tablo 3, Şekil 7b)

Serumda NO düzeyleri RVH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalma ($p<0.001$), RVH-NS grubunda ise RVH grubuna göre anlamlı bir artış ($p<0.05$) gözlenmiştir.

6.6. Glutatyon (GSH) Sonuçları (Şekil 8)

Beyin, kalp ve böbrek dokularında glutatyon düzeyleri kontrol grubuna göre RVH grubunda anlamlı olarak düşük ($p<0.001$) bulunmuştur. Bu düşüşün NS ile tedavi uygulanan RVH grubunda anlamlı olarak önlendiği ($p<0.01$) görülmüştür.

6.7. Malondialdehit (MDA) Sonuçları (Şekil 9)

Beyin, kalp ve böbrek dokularında malondialdehit düzeyleri kontrol grubuna göre RVH yapılan grupta anlamlı olarak artış ($p<0.001$) bulunmuştur. NS uygulaması ile RVH grubundaki bu artış anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.01$).

6.8. Na^+ , K^+ -ATPaz Aktivitesi Sonuçları (Şekil 10)

Beyin, kalp ve böbrek dokularında Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi RVH grubunda anlamlı olarak düşük ($p<0.001$) bulunmuştur. Buna karşın NS tedavisi RVH grubundaki bu düşüş anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$).

6.9. Histoloji Sonuçları

6.9.1. Hematoksilen-Eozin sonuçları (Şekil 11,12,13)

Renovasküler hipertansiyon oluşturulmuş sıçanların alınan dokularında (kalp kası, beyin ve böbrek) kontrol grubuna oranla belirgin hasar olduğu gözlemlendi. NS verilen renovasküler hipertansif gruplarda ise hasarın değişik seviyelerde gerilediği izlendi. Kalp kasında kas demetlerinin hasar grubunda yer yer düzensizlik gösterdiği, kalp hücrelerinin arasında bulunan interkalar bağlantıların bozulduğu ve interstisyumda konjesyon bulunduğu gözlemlendi. NS ile hasarın gerilediği ve bağlantıların yeniden düzenlendiği izlendi. Beyin dokusunda hasar grubunda interstisyel alandaki yer yer gözlenen ödem sonucu yapı bozulmalarının NS ile gerilediği ve böbrek dokusunda da yine hasar grubunda gözlenen ileri derecedeki tübüler epitelyum bozulmasının NS ile düzelme gösterdiği izlendi.

6.9.2. Mason trikrom sonuçları (Şekil 14)

Kolajen oluşumu RVH grubunda kontrol grubuna göre artarken NS tedavisi ile kollajen oluşumu azalmıştır.

6.10. İmmunhistokimya Sonuçları

6.10.1. eNOS Sonuçları (Şekil 15)

Böbrek dokusunda eNOS ekspresyonu RVH grubunda kontrol grubuna göre azalırken NS tedavisi ile tekrar arttığı gözlenmiştir.

6.10.2. iNOS Sonuçları (Şekil 16)

Böbrek dokusunda RVH grubunda iNOS ekspresyonu kontrol grubuna göre artmıştır. NS tedavisi sonucunda iNOS ekspresyonun kontrol gruba benzer olduğu gözlenmiştir.

Tablo 1: Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan renovasküler hipertansiyon (RVH)' da kontrol, nigella sativa (NS), RVH ve RVH-NS gruplarına ait kan basıncı değerleri.

	Kontrol	NS	RVH	RVH-NS
Kan basıncı (mmHg)				
t ₁	121 ± 1.9	118 ± 1.9	116 ± 2.0	117 ± 1.9
t ₂	122 ± 2.1	119 ± 2.0	156 ± 3.2 ***	145 ± 2.4 ***
t ₃	125 ± 2.2	121 ± 2.1	185 ± 4.8 ***	151 ± 3.6 ***, ⁺⁺⁺

Ortalama değer ± standart hata

*** p<0.001 t₁ zamanına göre

⁺⁺⁺ p<0.001 RVH grubuna göre karşılaştırmalar

Tablo 2: Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan renovasküler hipertansiyon (RVH)' da kontrol, nigella sativa (NS), RVH ve RVH-NS gruplarına ait vücut ağırlığı, kalp ağırlığı, kalp/vücut ağırlığı oranı değerleri.

	Kontrol	NS	RVH	RVH-NS
Vücut ağırlığı (g)	281 ± 6.1	276 ± 13.2	307 ± 5.3	293 ± 11.4
Kalp ağırlığı (g)	628 ± 27.1	635 ± 28.8	953 ± 79.2 ^{&&&}	747 ± 43.3 ⁺
Kalp/vücut ağırlığı oranı (mg/g)	2.40 ± 0.11	2.45 ± 0.12	3.17 ± 0.10 ^{&&&}	2.62 ± 0.16 ⁺

Ortalama değer ± standart hata

⁺ p<0.05 RVH grubuna göre

^{&&&} p<0.001 kontrol grubuna göre karşılaştırmalar

Tablo 3. Kontrol, nigella sativa (NS), renovasküler hipertansiyon (RVH) ve RVH-NS grubu sıçanlara ait interventriküler septal kalınlık (IVS), sol ventrikül posterior duvar kalınlığı (PW), relatif duvar kalınlığı (RW), sol ventrikülün sistoldeki çapı (LVDs), sol ventrikülün diastoldeki çapı (LVDd), ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve kısalma farksiyonu (FS) değerleri.

	Kontrol	NS	RVH	RVH-NS
IVS (mm)	2.10 ± 0.06	2.45 ± 0.11	3.03 ± 0.12 ***	2.51 ± 0.17 ⁺
PW (mm)	1.84 ± 0.06	1.86 ± 0.07	2.54 ± 0.09 ***	2.18 ± 0.13 ⁺
RWT	0.63 ± 0.02	0.65 ± 0.03	1.10 ± 0.07 ***	0.81 ± 0.09 ⁺
LVDs (mm)	2.71 ± 0.22	2.76 ± 0.21	4.45 ± 0.17 ***	3.43 ± 0.25 ⁺
LVDd (mm)	4.22 ± 0.11	4.07 ± 0.11	5.48 ± 0.15 ***	4.77 ± 0.18 *, ⁺⁺
EF (%)	79.7 ± 2.7	77.5 ± 3.4	59.8 ± 3.1 **	74.7 ± 4.1 ⁺
%FS (%)	42.4 ± 3.4	41.3 ± 2.7	24.5 ± 1.7 ***	36.3 ± 2.9 ⁺

Ortalama değer ± standart hata

* p<0.01, ** p<0.01, *** p<0.001 kontrol grubuna göre

⁺p<0.05, ⁺⁺p<0.01 RVH grubuna göre karşılaştırmalar.

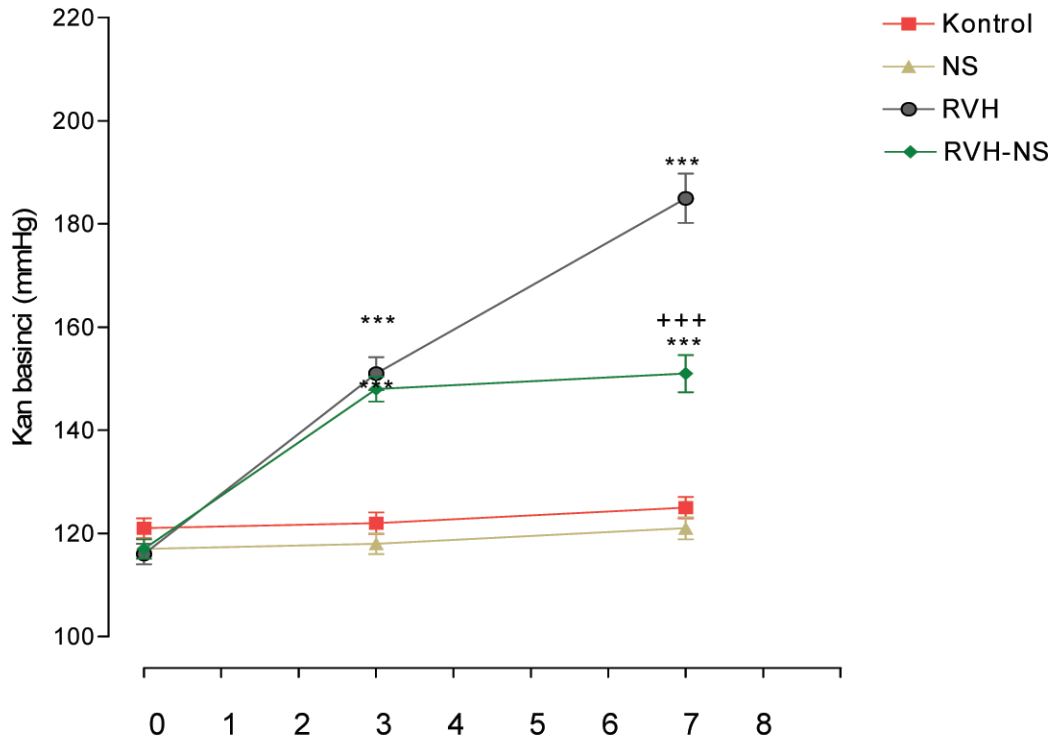
Tablo 4. Kontrol, nigella sativa (NS), renovasküler hipertansiyon (RVH) ve RVH-NS grubu sıçanlara ait serum asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ve nitrik oksit (NO) değerleri.

	Kontrol	NS	RVH	RVH-NS
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	0.34 ± 0.04	0.36 ± 0.05	0.74 ± 0.05 ***	0.47 ± 0.06 ++
NO ($\mu\text{mol/L}$)	53.3 ± 4.6	44.7 ± 4.3	23.9 ± 3.4 ***	42.6 ± 3.9 +

Ortalama değer $\pm$ standart hata

*** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre

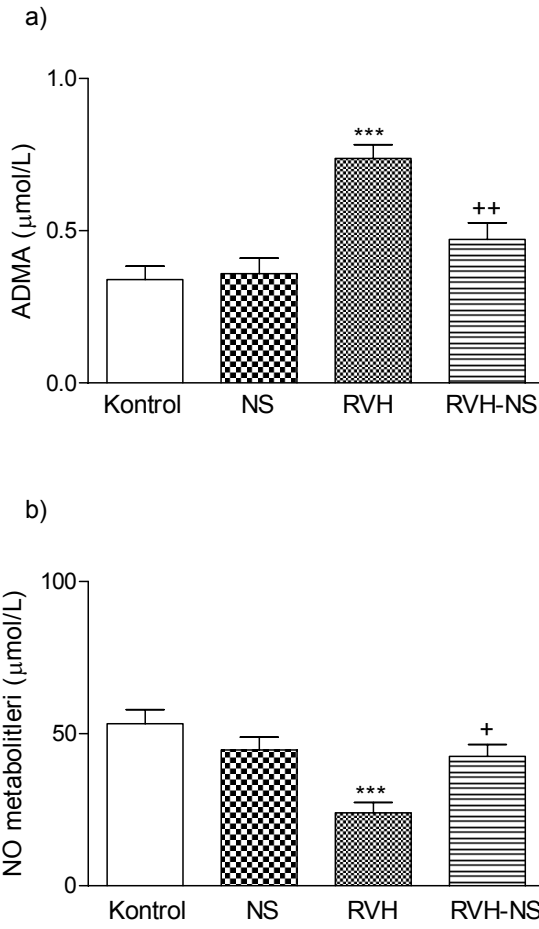
+ $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$, RVH grubuna göre karşılaştırmalar



Şekil 6. Kontrol, nigella sativa (NS), renovasküler hipertansiyon (RVH) ve RVH-NS grubu sıçanların kan basıncı

*** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre,
 +++ $p < 0.01$ RVH grubuna göre karşılaştırmalar

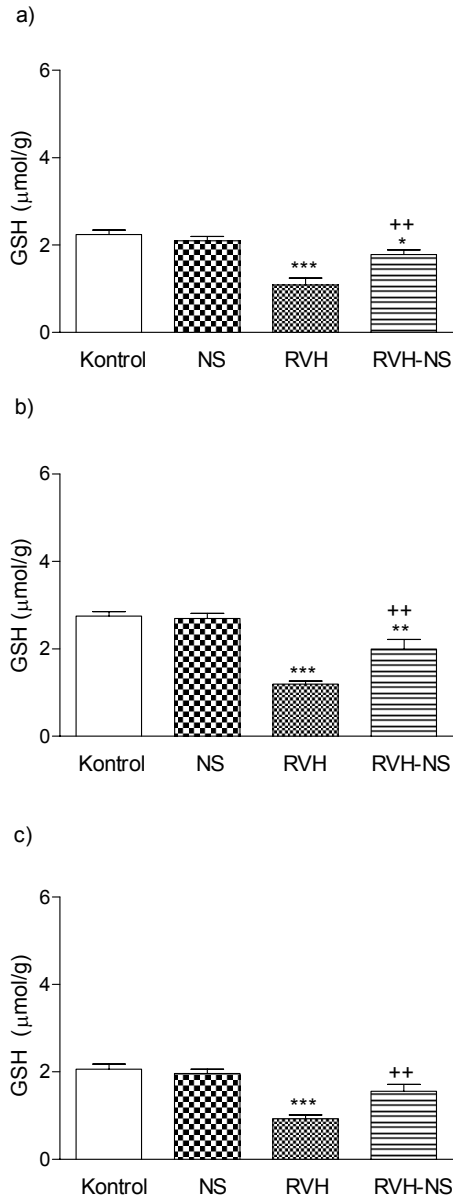
t_1 değerleri kontrol grupları ile benzerdir.



Şekil 7. Kontrol, NS, RVH ve RVH-NS grubu sıçanlara ait serum a) ADMA b) NO metabolitleri değerleri

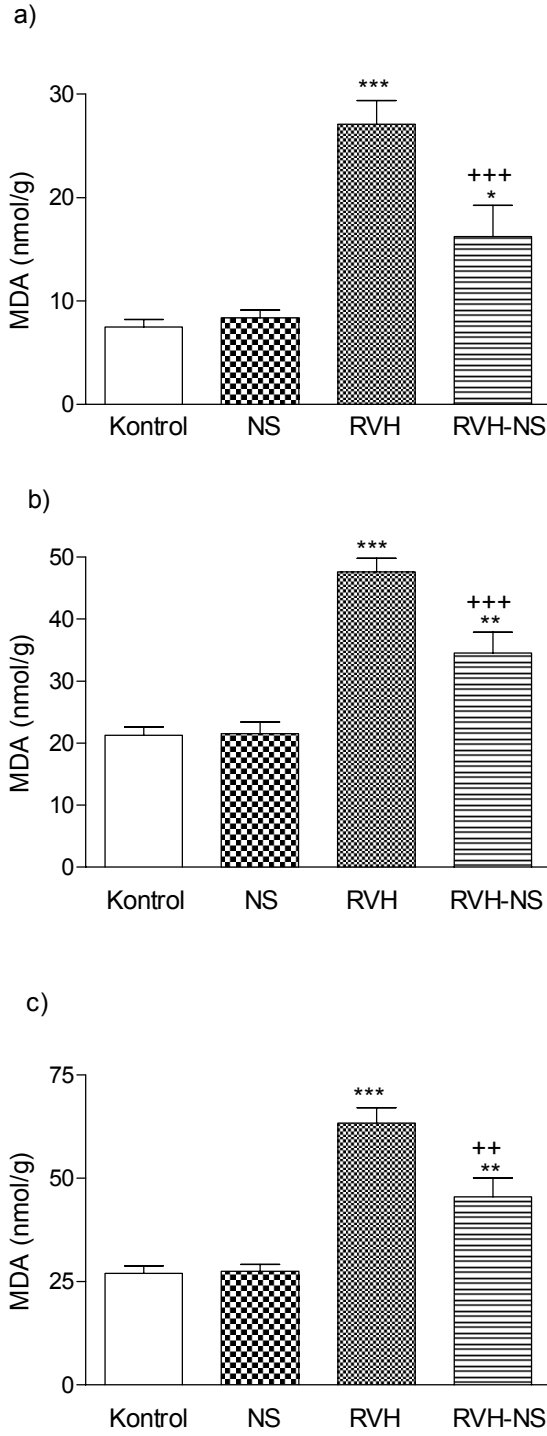
*** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre,

⁺ $p < 0.05$, ⁺⁺ $p < 0.01$, RVH grubuna göre karşılaştırmalar



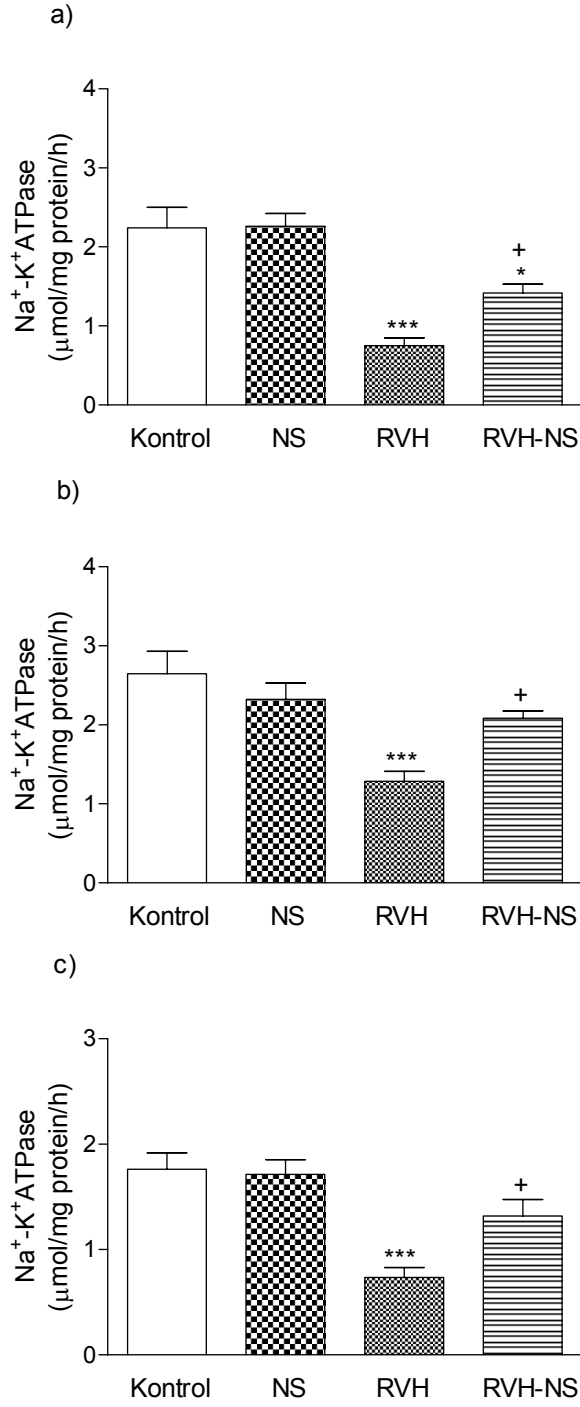
Şekil 8. Kontrol, NS, RVH ve RVH-NS grubu sıçanlarda a) beyin, b) kalp ve c) böbrek dokularının GSH sonuçları

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre,
++ $p < 0.01$ RVH grubuna göre karşılaştırmalar



Şekil 9. Kontrol, NS, RVH ve RVH-NS grubu sıçanlarda a) beyin, b) kalp ve c) böbrek dokularının MDA sonuçları

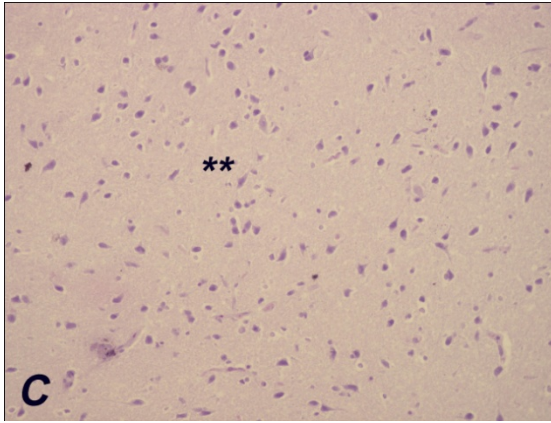
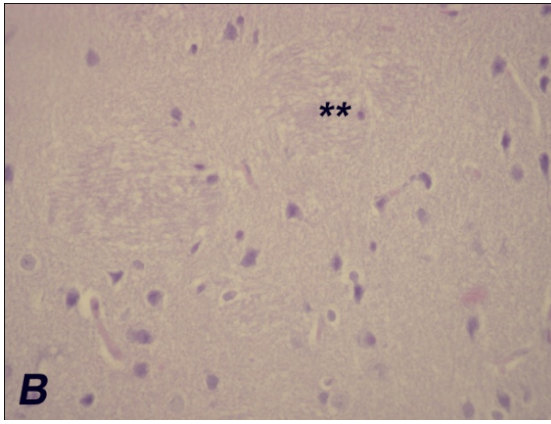
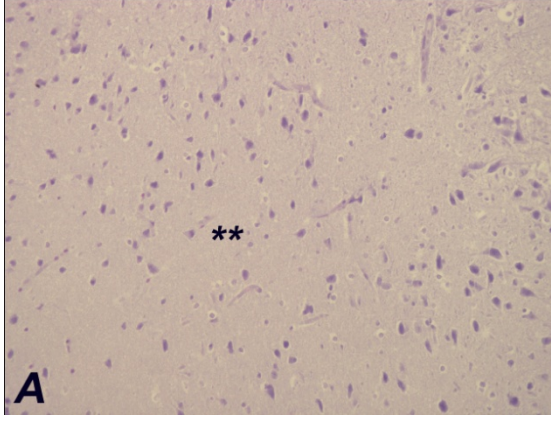
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre,
 ++ $p < 0.01$, +++ $p < 0.001$ RVH grubuna göre karşılaştırmalar



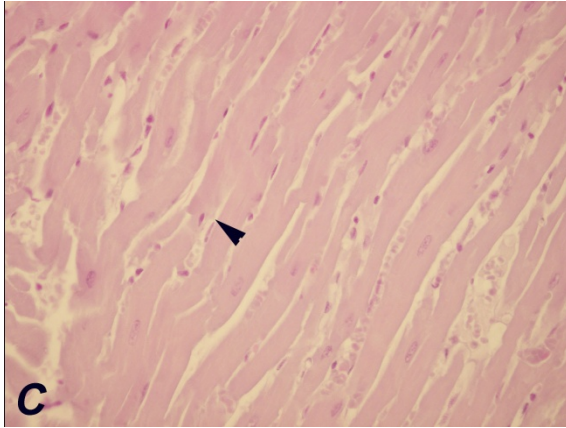
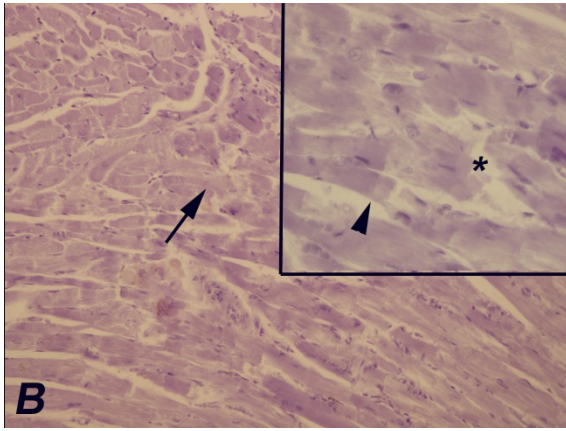
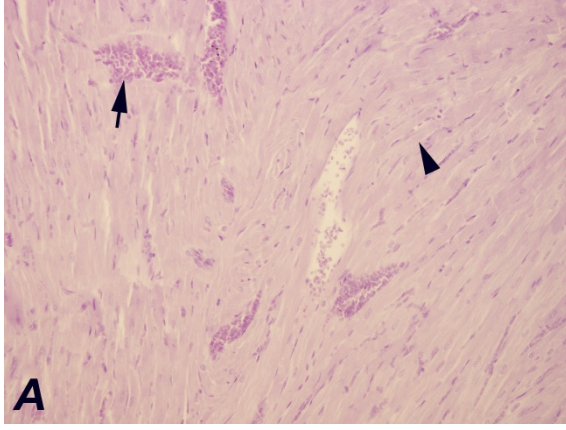
Şekil 10. Kontrol, NS, RVH ve RVH-NS grubu sıçanlarda a) beyin, b) kalp ve c) böbrek dokularının Na⁺, K⁺-ATPaz sonuçları

* p<0.05, *** p<0.001 kontrol grubuna göre,

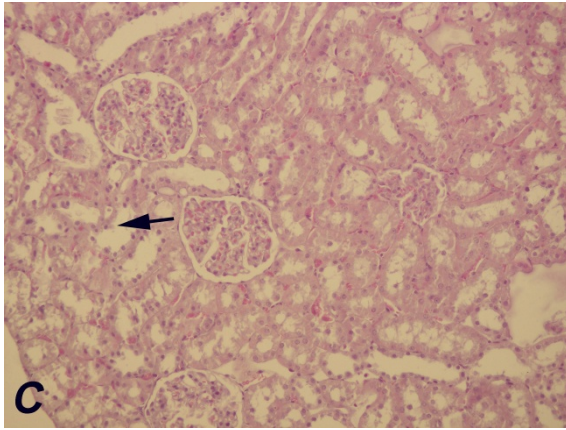
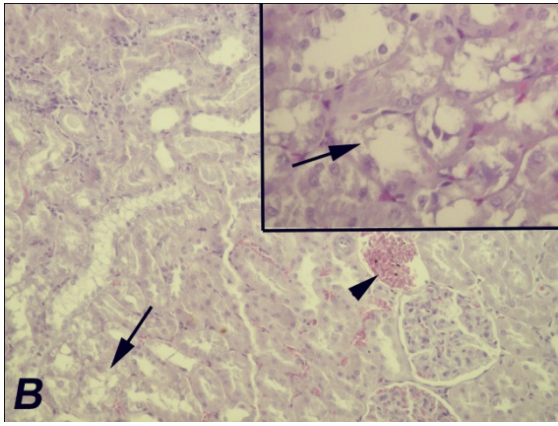
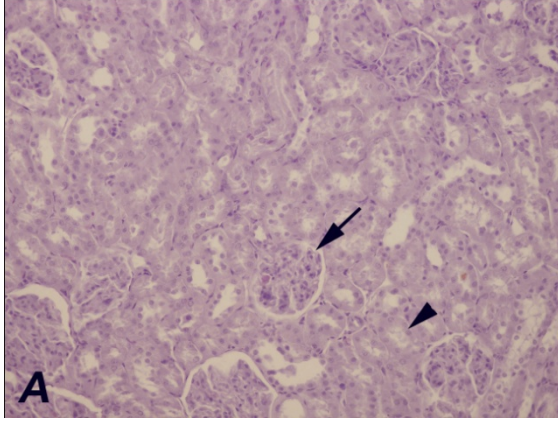
⁺ p<0.05 RVH grubuna göre karşılaştırmalar



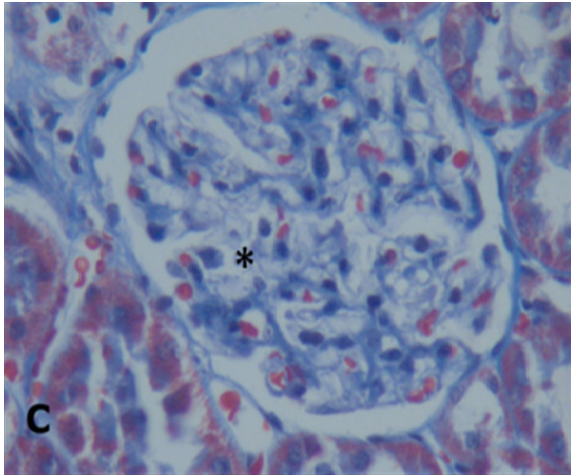
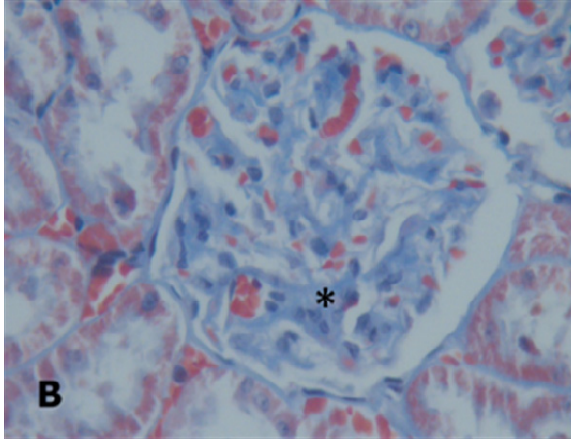
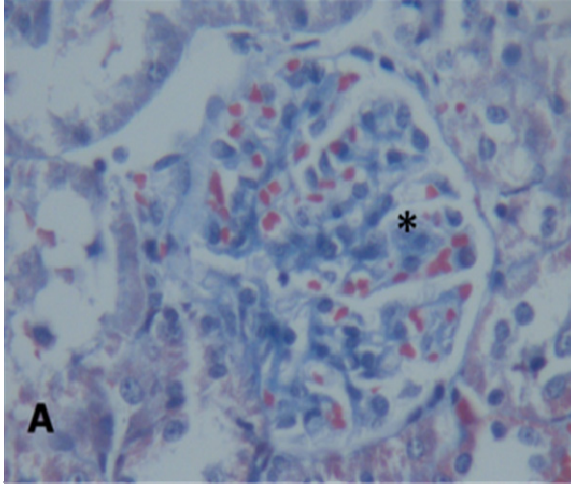
Şekil 11: Beyin dokusunda ışık mikroskopisi değerlendirilmesi. A: Kontrol grubu: Düzgün yapıdaki nöron ve glial hücrelerin interstisyel alanda (**) dağılımı izlenmekte, B:RVH grubu: İnterstisyel alanda yer yer gözlenen ödem düşündüren yapısal bozukluklar (**), C: RVH + NS grubu: Ödemin gerilediği interstisyel alanda (**) düzenli olarak izlenen nöron ve glial hücreler.



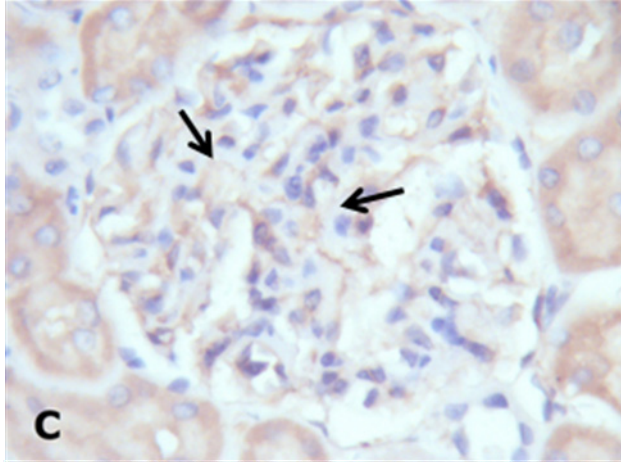
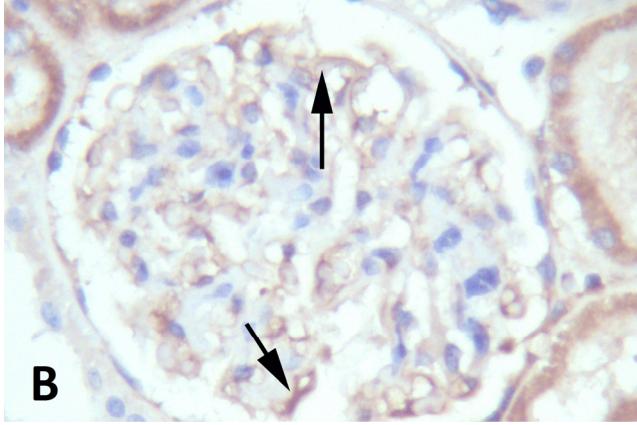
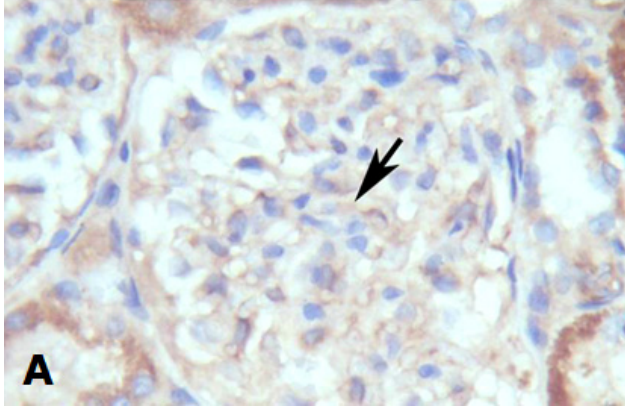
Şekil 12: Kalp dokusunda ışık mikroskopisi değerlendirilmesi. A: Kontrol grubu: Kalp kasında muntazam görünüm sergileyen kas demetleri (►) ve aralarında yerleşmiş olan kapiler yapılar (→) izlenmekte, B: RVH grubu: Kas demetlerinin düzeninin yer yer bozulduğu (→), interstisyumda ödem (*) ve interkalar bağlantılarda (►) açılmalar gözlenmekte, C: RVH + NS grubu: İnterkalar bağlantılardaki açılmalarda gerileme ve kas demetlerinin düzeninin yeniden sağlandığı (►) gözlenmekte.



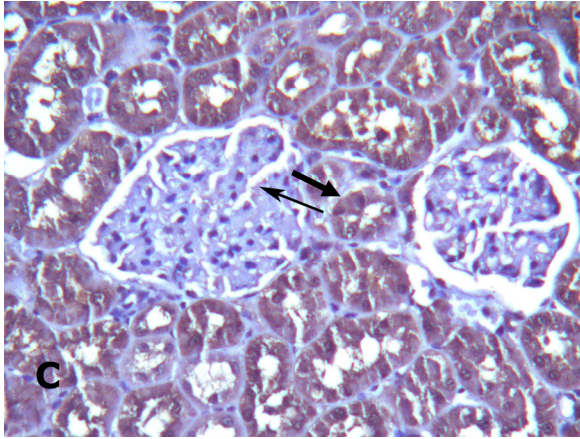
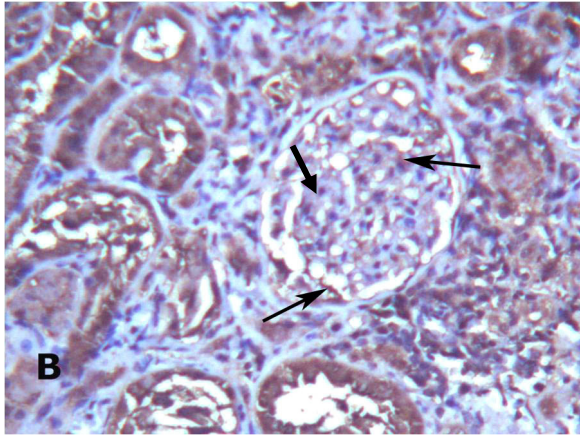
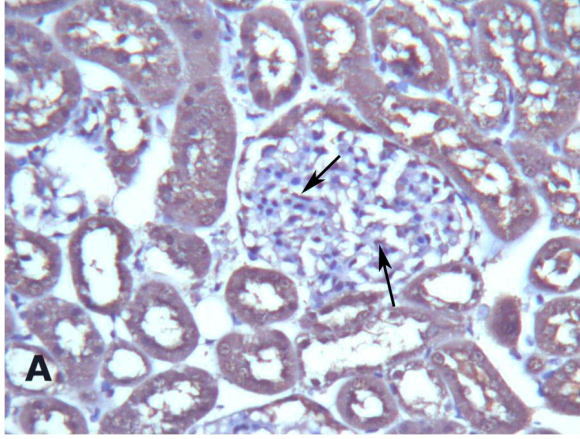
Şekil 13: Böbrek dokusunda ışık mikroskopisi değerlendirilmesi. A: Kontrol grubu: Düzgün görünümlü tübül (➤) ve glomerül (➡) yapıları, B: RVH grubu: İnterstisyumda konjesyon (➤) ve tübül epitelinde bozulmalar (➡), C: RVH + NS grubu: Tübüler bozulmanın (➡) ve interstisyel ödemin oldukça gerilediği gözlenmekte.



Şekil 14: Böbrek dokusunda mason trikrom boyama: A) Kontrol grubu: Böbrek glomerül kapiler yapılarındaki boyanma (*), B) RVH grubu: Kapiler yapılarındaki kolajen miktarında artış (*), C) RVH-NS grubu: Kapiler yapılarındaki kolajen miktarında azalma (*).



Şekil 15: Böbrek dokusunda eNOS (x40) immünohistokimya: A) Kontrol grubu: Böbrek glomerül kapiler yapılarındaki boyanma (→), B) RVH grubu: Kapiler yapılarındaki boyanma yoğunluğunda azalma (→), C) RVH-NS grubu: Kapiler yapılarındaki boyanma yoğunluğunda artış (→).



Şekil 16: Böbrek dokusunda iNOS(x20) immünhistokimya: A) Kontrol grubu: Böbrek glomerül kapiler yapılarındaki boyanma (→) , B) RVH grubu: Kapiler yapılarındaki boyanma yoğunluğunda artış (→), C) RVH-NS grubu: Kapiler yapılarındaki boyanma yoğunluğunda azalma (→).

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bütün dünyada 600 milyondan fazla insan hipertansiyon hastasıdır (104). Popölasyonun büyük bir kısmı esansiyal hipertansiyon hastası iken, %1-5'i sekonder hipertansiyon hastasıdır. Renovasküler hipertansiyon ise ikinci grubun büyük bir kısmını oluşturmaktadır (67).

Nigella sativa ise içerdği etkin maddeler nedeniyle yüzyıllardır pek çok hastalığın tedavisinde kullanılan bir bitkidir. Özellikle thymoquinone etkin maddesinin oksidan süpürücü özelliği sayesinde antioksidan olarak da kullanılmaktadır (89). Literatürde *Nigella sativa* bitkisinin hipertansif hastalar üzerindeki ve antioksidan etkilerine dair yapılmış pek çok çalışma vardır. Dehkordi ve arkadaşları NS tedavisinin etkinliğini araştırmak için orta şiddette hipertansif insanlara oral NS ekstresi verilerek randomize, çift-kör, plasebo kontrollü bir çalışma yapmışlar ve NS ekstresi alan gruplarda plasebo gruplarına göre sistolik ve diyastolik kan basınçlarının düştüğünü göstermişlerdir (26).

Normal koşullarda oksidan oluşumu ve eliminasyonu belli bir dengede korunmaktadır. Ancak prooksidanlar ve antioksidanlar arasında denge bozulduğunda oksidatif stres oluşmaktadır ki bu durum oksidanların aşırı üretimi ve hücrel antioksidan kapasitenin aşılması ile ortaya çıkan patolojik bir durumdur. Böbrek ve damarlar NADPH oksidaz enzim aktivitesine sahip olup bu aktivasyona bağlı olarak reaktif oksijen türevlerinin oluşumu için oldukça zengin bir kaynaktır. Bu nedenle patolojik koşullarda renal disfonksiyon ve vasküler hasar oluşmasında önemli rol oynarlar (101). Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($HO^{\bullet}$), nitrik oksit ve peroksinitrit gibi reaktif oksijen türlerinin hipertansiyon ve endotel hasarda rol aldıkları bilinmektedir (102). Yine hipertansif insanlarda özellikle $O_2^{\bullet-}$ nin arttığı ve antioksidan kapasitenin azaldığı da bildirilmiştir (64).

Manning ve arkadaşları deneysel olarak tuza duyarlı hipertansiyon geliştirdikleri Dahl-S sıçanlarda, renal $O_2^{\bullet-}$ üretiminin renal hasarda artış ve renal hemodinamide bozulmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Antioksidan tedavisi olarak uyguladıkları vitamin C, E ve tempolün ise renal $O_2^{\bullet-}$ üretimini azalttığını, renal

hasarı önlediğini, renal hemodinamileri düzelttiğini ve ayrıca kan basıncını da düşürdüğünü göstermişlerdir (64). Literatürde Ang-II indüklü hipertansiyon oluşumunda oksidatif stres komponentlerinin rolünü açıklamak için yapılmış pek çok çalışma bulunmaktadır (82). Haas ve arkadaşları (41) domuzlarda, Reckelhoff ve arkadaşları (81) ise sıçanlarda Ang-II' ye bağlı gelişen hipertansiyonda araziidonik asidin oksidatif bir metaboliti olan F₂-izoprostan'ın plazma seviyesinin arttığını ilk olarak gösteren araştırmacılar olmuşlardır. Nishiyama ve arkadaşları sıçanlarda Ang-II'nin uzun süreli uygulamasının oksidatif stresi stimüle ettiğini göstermişlerdir (72). Biz de çalışmamızda, deneysel olarak geliştirdiğimiz renovasküler hipertansif sıçanlarda antioksidan kullanarak hipertansiyon nedenli oksidatif hasar üzerine etkilerini inceledik.

Çalışmamızda sıçanların sol böbreğine klip takılarak renovasküler hipertansiyon oluşturulmuştur. Klip takıldıktan 3 hafta sonra Nigella sativa 4 hafta süresince uygulanmıştır. Klip takılmadan önce ve sonra ve Nigella sativa uygulaması sonrasında kan basıncı ölçülmüş, ekokardiografik incelemeleri yapılmıştır. Deney sonunda dekapite edilen sıçanların kan ve doku (beyin, kalp ve böbrek) örnekleri alınmıştır. Renovasküler hipertansiyon uygulaması ile ortaya çıkabilecek hasarın belirlenmesi ve bu hasarların oluşmasında serbest radikallerin rolü, gerek histolojik ve gerekse biyokimyasal incelemelerle belirlenerek, güçlü bir serbest radikal süpürücü ve antioksidan olan Nigella sativanın bu hasara karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır.

Deneysel çalışmalar renovasküler hipertansiyonu başlatan faktörün renin–anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonu olduğunu ve hipertansiyonun devamında ise sodyum retensiyonu, endotelial fonksiyon bozukluğu ve reaktif oksijen türlerine bağlı vazokonstriksiyonun rol oynadığını bildirmiştir (36). Ancak hipertansiyonun kronik fazında plazma renin aktivitesinin hipertansiyon seviyesi ile orantılı olmadığı, bu dönemde oksidatif stresin bir göstergesi olan izoprostan seviyesinin kan basıncı ile orantılı olarak arttığı da bilinmektedir (63).

Higashi ve arkadaşları renovasküler hipertansif insanlarda yaptıkları çalışmada serum malondialdehit (MDA) -modifiye LDL seviyesinin arttığını göstermişlerdir (47). Welch ve arkadaşları ise 2B-1K ile anjitenin II bağımlı hipertansiyon geliştirilen sıçanlarda MDA seviyesinin arttığını, tempol ile bu seviyenin düştüğünü göstermişlerdir (108). Bizim çalışmamızda da hipertansif hayvanların beyin, kalp ve böbrek dokularında oksidatif stresin bir göstergesi olan MDA seviyesini yüksek bulunmuş, buna karşın NS uygulaması ile bu seviyenin düştüğü görülmüştür, serumda ölçülen NO seviyesi ise RVH uygulama sonrasında düşük bulunurken, NS tedavisi sonrasında kontrol grubuna yakın değerlere yaklaştığı görülmüştür. Literatürde *Nigella sativa*'nın antioksidan etkisi ile lipid peroksidasyonunu azaltarak doku koruyucu etkisi pek çok çalışmada gösterilmiştir. Hepatotoksik bir ajan olan karbon tetraklorür (CCl₄) uygulaması ile karaciğer fibrozu geliştirilen sıçanlarda *Nigella sativa* (NS) tedavisi artan MDA ve karaciğer enzim düzeylerini düşürmüştür (56). Başka bir çalışmada ise iskemi-reperfüzyon hasarında NS yağının ve onun aktif bileşeni olan Thymoquinone (TQ)'un artan MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü gösterilmiştir (49).

Glutasyon, hücreleri serbest radikaller ve peroksitler gibi serbest oksijen radikallerinden koruyan bir antioksidandır. Abdel-Wahhab ve arkadaşları Sprague-Dawley sıçanlarda NS yağının antioksidan etkilerini aflatoksinle bağılı toksisitede araştırmışlar ve aflatoksinin neden olduğu glutasyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyelerindeki azalmanın NS yağı tedavisi ile geri döndüğünü göstermişlerdir (1). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da kan basıncı artışı ile oksidatif hasar gelişmiş ve çalıştığımız tüm dokularda antioksidan GSH düzeyleri düşmüştür. NS yağı tedavisi uygulanan RVH grubunda ise GSH seviyesindeki azalma engellenmiştir. Bu sonuçlarımız NS yağının tedavisinin GSH düzeylerindeki düşüşü engelleyerek dokunun antioksidan kapasitesini koruduğunu ve böylece dokuda lipid peroksidasyonunu engelleyerek oksidan hasara karşı dokunun korunduğunu düşündürmektedir.

Nitrik oksit sentazın yarışmalı inhibitörü olan ADMA, protein arjinin metiltransferaz (PRMT) ile protein arjinin rezidülerinin metilasyonu sırasında

sentezlenir ve proteoliz sırasında salınır. ADMA düzeylerindeki artışın bir çok kardiyovasküler hastalığın patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir. Kronik renal yetmezliği, hiperlipidemi, diyabet, arteryal hipertansiyon, hiperhomosistenemi ve kalp yetmezliğinde ADMA'nın plazma konsantrasyonu artmaktadır (11). Yaptığımız çalışmada literatürlerde de belirtildiği gibi RVH gelişen sıçanlarda serumda ADMA seviyesinin arttığını, NS uyguladığımızda ise bu artışın azaldığını gözlemledik. ADMA'nın tedavili gruptaki bu düşüşü çalışma parametrelerimiz doğrultusunda kan basıncındaki azalma ile açıklanmaktadır. Diğer bir deyişle kan basıncı azalması ve beraberinde oksidan yanıtın azalması ADMA'daki artışı da engellemiş olabilir.

Khattab ve arkadaşları L-NAME ile hipertansiyon geliştirilen sıçanlara 4 hafta süreyle TQ (0.5 ve 1 mg/kg/gün p.o.) ile tedavi uygulamışlardır. L-NAME alan grupta serum kreatinin artarken böbrek dokusunda GSH seviyesi azalmış ve böbrek hasarı gelişmiştir. Buna karşılık TQ tedavisi biyokimyasal parametreleri geri çevirirken sistolik kan basıncında L-NAME aracılı artış da önlenmiştir. Araştırmacılar TQ'nun renal hasar ve kan basıncı üzerine olan bu olumlu etkilerinin antioksidan özellikleri ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (58).

Na^+, K^+ -ATPaz, hücre membranında bulunan çeşitli iyonların aktif transportundan sorumlu membran-bağımlı bir enzimdir. Hücrenin iyonik ve osmotik dengesini sağlayan bu enzimin aktivitesinin azalması serbest radikal reaksiyonları ve lipid peroksidasyonu ile indirekt olarak membran hasarının göstergesidir (94, 95). Yaptığımız çalışmada da beyin, kalp ve böbrek dokularında Na^+, K^+ -ATPaz seviyesi ölçülmüştür. RVH geliştirilen grupta pompa aktivitesi membrandaki hasar nedeniyle azalırken, NS uygulama sonrasında lipid peroksidasyonunun önlenerek hücre membranının korunmuş olması dolayısıyla pompanın aktivitesindeki azalmanın da önlendiği görülmüştür.

Alejandro R. Chade ve arkadaşları domuzlarda renal arter stenozu geliştirmişler ve günlük vitamin C (1g) ve vitamin E (100IU/kg) uygulamışlardır. Vitamin alan grupta eNOS renal üretiminin arttığını, NAD(P)H-oksidad, iNOS aktivitelerinin ve nitrotozin, ve NF-KB düzeylerinin azaldığını görmüşlerdir. Bu araştırmacılar elde

ettikleri bu bulguların süperoksidin ve inflamasyonun azalması ile paralel olduğunu bildirmişlerdir (19). Çalışmamızda ise RVH uygulaması ile iNOS artarken, eNOS azalmış ve NS tedavisi ile bu değerler tersine çevrilmiştir.

Hipertansiyonun altta yatan koroner kalp hastalığı için önemli bir risk faktörü olduğu ve aterosklerotik süreci hızlandığı bilinmektedir. Ayrıca arteriyel kan basıncındaki artışın vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu indüklediği, fenotiplerini değiştirdiği ve kalsiyuma karşı iletkenliği ve hassasiyeti değiştirdiği bildirilmiştir (34). Bütün bu gözlemler hipertansiyonun vasküler duvarda sağlığa zararlı pek çok değişiklik olduğunu işaret etmektedir. Daha önce yapılan çalışmalar da hipertansiyonun hem vasküler endoteli hem de düz kas tabakasının fonksiyonunu bozduğu göstermiştir (78). Rodriguez-Porcel ve arkadaşları deneysel olarak geliştirdikleri hipertansiyon modelinde sol ventrikül yetmezliği henüz gelişmeden de miyokardiyal mikrovasküler fonksiyonların ve miyokard perfüzyon cevaplarının bozulduğunu göstermişlerdir (77). Bu araştırmacılar yaptıkları bir başka çalışma ile de uzun süreli antioksidan uygulamanın miyokard mikrovasküler üzerine önemli fonksiyonel etkilerini araştırmışlar ve yüksek dozda vitamin alımının hipertansiyona karşı miyokardiyal perfüzyon ve permabilite cevaplarının korunmasında etkili olduğunu göstermişlerdir (78). Literatürde benzer çalışmalar vardır; yeterli miktarda antioksidan alımının kardiyovasküler sonuçları iyileştirdiği gösterilmiştir (64). D. Dobrian ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1K-1C uyguladıkları sıçanlara tempol veya anjiyotensin tip 1 reseptör inhibitörü olan losartan birlikte veya ayrı ayrı uygulamışlardır. Tedavi sonunda tempol veya losartan ile tedavi edilen gruplarda aort duvarının alanı kontrol grubuna göre %18 azalırken, losartan ve tempolün birlikte uygulandığı grupta %30 azalmıştır. (28). Biz de yaptığımız çalışma ile deneysel olarak RVH geliştirdiğimiz sıçanlarda interventriküler septal kalınlık, sol ventrikül posterior duvar kalınlık, relatif duvar kalınlık, sol ventrikülün sistoldeki çap ve sol ventrikülün diastoldeki çap değerlerinin artan kan basıncı ile birlikte arttığını, NS uyguladığımızda ise bu artışın engellendiğini gözlemledik. Ejeksiyon fraksiyonu ve kısalma fraksiyonu değerleri ise RVH grubunda azalırken NS uygulandığında ise artmış olarak bulunmuştur.

Çalışmamızın tüm bulguları eşliğinde, 2B-1K metodu uygulanan sıçanlarda kan basıncının anlamlı olarak artarak sıçanlarda hipertansiyon geliştiği, bu hayvanların kalp/vücut ağırlığı oranının arttığı ve ekokardiyografik değerlerin değiştiği gözlenmiştir. Renovasküler hipertansiyona bağlı oksidan hasarın göstergesi olan serumda ADMA'nın arttığı ve NO seviyesinin azaldığı, beyin, kalp ve böbrek dokularında ise GSH, Na^+ , K^+ -ATPaz ve eNOS seviyelerinin azaldığı, iNOS ve MDA seviyesinin ise arttığı gözlemlenmiştir. Yaptığımız çalışmada kullandığımız antioksidan özellikli NS'nin incelediğimiz parametreleri kontrol değerlerine yaklaştırdığını gördük. Literatürde de takip ettiğimiz üzere renovasküler hipertansiyon nedenli gelişen oksidatif hasarı engelleyebilmek için çeşitli antioksidanların kullanıldığı bilinmektedir. Bu hipotezler ve çalışmamızın sonuçları doğrultusunda renovasküler hipertansiyonun serbest radikaller aracılığı ile yapısal ve fonksiyonel hasara neden olduğu ve bu hasarın Nigella sativa ile önlenebileceği dolayısıyla hipertansif insalarda NS yağı ile destek tedavinin faydalı etkileri olabileceği düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Abdel-Wahhab MA, Aly SE. (2005). Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *J Appl Toxicol*, 25(3):218-223.
2. Aboul-Ela EI. (2002). Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat Res*, 516:11-7.
3. Abuharfeil NM, Salim M, Von Kleist S. (2001). Augmentation of natural killer cell activity in vivo against tumour cells by some wild plants from Jordan. *Phytoter Res*, 15:109-13.
4. Alhadad A. (2008). Management of renal artery stenosis-an update. *Libyan J Med*, 3 (2) 26-30.
5. Al-Rowais NA. (2002). Herbal medicine in the treatment of diabetes mellitus. *Saudi Med J*, 23:1327-31.
6. Ali BH, Blunden G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res*, 17:299-305.
7. Badary OA, Al-Shabanah OA, Nagi MN, Al-Rikabi AC, Elmazar MM. (1999). Inhibition of benzo(a)pyrene-induced forestomach carcinogenesis in mice by thymoquinone. *Eur J Cancer Prev*, 8:435-40.
8. Bandhopadhyay U, Das D, Banerjee RK. (1999). Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Curr Sci*, 77:658-66.
9. Battegay EJ, Lip GYH, Bakris GL. (Eds), (2005). Hypertension Principles and Practice. Taylor & Francis Group. p.4-5.
10. Baytop A. (1991). Farmasötik Botanik Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi. s.169.
11. Beltowski J, Kedra A. (2006). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacological Reports*, 58:159-178.
12. Beuge JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymol* 1978; 52: 302-311.
13. Beutler E. (1975). Glutathione in red blood cell metabolism. A manual of biochemical methods. New York: Grune&Stratton. p.112-114.
14. Brasier AR, Jamaluddin M, Han Y, Patterson C, Runge MS. (2000). Angiotensin II induces gene transcription through cell-type dependent effects on the nuclear factor κ B (NF- κ B) transcription factor. *Mol Cell Biochem*, 212:155-69.

15. Bright R. (1827) Reports of medicinal cases selected with a view of illustrating symptoms and cure of diseases by a reference to morbid anatomy. *Longmans*, 1. London: Richard Taylor for Longman, Rees, Orme, Brown, and Green.
16. Cai H, Harrison DG. (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular disease: the role of oxidant stress. *Circ Res*, 87:840-44.
17. Cemek M, Enginar H, Karaca T, ÜnakP. (2006). In vivo Radioprotective Effects of Nigella sativa L Oil and Reduced Glutathione Against Irradiation-Induced Oxidative Injury and Number of Peripheral Blood Lymphocytes in Rats. *Photochem Photobiol*, 82(6):1691-6.
18. Cervenka L, Horacek V, Hubacek JA, Oliverio MI, Coffman TM, Navar LG. (2002). Vaneckova I Essential role of AT1-A receptor in the development of 2K1C hypertension. *Hypertension*, 40:735-41.
19. Chade AR, Rodriguez-Porcel M, Herrmann J, Zhu X, Grande JP, Napoli C, Lerman A, Lerman LO. (2004). Antioxidant intervention blunts renal injury in experimental renovascular disease. *J Am Soc Nephrol*, 15:958-966.
20. Chitsulo L, Loverde P, Engels D. (2004). Schistosomiasis. *Nat Rev Microbiol*, 2:12-3.
21. Chun H, Shin DH, Hong BS, Cho WD, Cho HY, Yang HC. (2002). Biochemical properties of polysaccharides from black pepper. *Biol Pharm Bull*, 25:1203-8.
22. Cosentino F, Sill JC, Katusic ZS. (1994). Role of superoxide anions in the mediation of endothelium –dependent contractions. *Hypertension*, 23:229-23542.
23. Crowley SD, Gurley SB, Oliverio MI , Pazmino AK, Griffiths R, Flannery PJ, Spurney RF, Kim HS, Smithies O, Le TH, Coffman TM. (2005) Distinct roles for the kidney and systemic tissues in blood pressure regulation by the renin-angiotensin system. *J Clint Invest*, 115(4):1092-9.
24. Das UN. (2005). Is angiotensin-II endogenous pro-inflammatory molecule?. *Med Sci Monit*, 11(5):155-162.
25. De Nigris F, Lerman LO, Condorelli M, Lerman A, Napoli C. (2001). Oxidation-sensitive transcription factors and molecular mechanisms in the arterial wall. *Antioxid Redox Signal*, 3:1119-1130.
26. Dehkordi FR, Kamkhah AF. (2008). Antihypertensive effect of Nigella sativa seed extract in patients with mild hypertension. *Fundam clin Pharmacol*, 22(4):447-52.

27. Dezsö B, Jacobsen J, Poulsen K. (1989) Evidence for the presence of angiotensins in normal, unstimulated alveolar macrophages and monocytes. *Hypertension*, 7:5-11.
28. Dobrian AD, Schriver SD, Prewitt RL. (2001). Role of angiotensin II and free radicals in blood pressure regulation in a rat model of renal hypertension. *Hypertension*, 38:361-366.
29. El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S. (2003). Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischemia/reperfusion in rats. *J Ethnopharmacol*, 84:251-8.
30. El Bekay R, Alvarez M, Monteseirin J, Alba G, Chacon P, Vega A, Martin-Nieto J, Jimenez J, Pintado E, Bedoya FJ, Sobrino F. (2003). Oxidative stress is a critical mediator of the angiotensin II signal in human neutrophils of mitogen-activated protein kinase, calcineurin, and the transcription factor NF- κ B. *Blood*, 102:662-71.
31. El-Dakhakhny M. (1965). Studies on Egyptian *Nigella sativa* L:IV. Some pharmacological properties of the seeds' active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. *Arzneimittelforschung*, 15:1227-9.
32. El-Dakhakhny M, Mady NI, Halim MA. (2000). *Nigella sativa* L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittelforschung*, 50:832-6.
33. Farrarh KM, Atoji Y, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Takewaki T. (2004). Mechanisms of the hypoglycemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozosin-induced diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science*, 77:123-129.
34. Frohlich ED, Ventura HO. (2009). An Atlas of Investigation and Management of Hypertension. Clinical Publishing. 1st ed, Oxford, p.12.
35. Garovic V, Textor SC. (2005a). Renovascular hypertension and ischemic nephropathy. *Circulation*, 112:1362-74.
36. Garovic V, Textor SC. (2005b). Renovascular hypertension: current concepts. *Semin Nephrol*, 25:261-271.
37. Griendling KK, Minien CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. (1994). Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 74:1141-48.

38. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. (1934) Studies on experimental hypertension. I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med*, 59:347-379.
39. Goldstein S, Czapski G, Lind J, Merenyi G. (2000). Tyrosine nitration by simultaneously generation of (.)NO and O-(2) under physiological conditions: how the radicals do the job. *J Biol Chem*, 275:3031-3036.
40. Goreja WG. (2003). Black seed: Nature's Miracle Remedy. NY: Amazing Herbs Press. New York.
41. Haas JA, Krier JD, Bolterman RJ, Juncos LA, Romero JC. (1999). Low-dose angiotensin II increases free isoprostane levels in plasma. *Hypertension*, 34:983-986.
42. Hahn AW, Johas U, Buhler FR, Resink TJ. (1994). Activation of human peripheral monocytes by angiotensin II. *FEBS Lett*, 347:178-80.
43. Hanafy MS, Hatem ME. (1991). Studies on antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *J Ethnopharmacol*, 34:275-8.
44. Haq A, Lobo PI, Al-Tufanil M, Rama NR, Al-Sedairy ST. (1999). Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography. *Int J Immunopharmacol*, 21:283-95.
45. Harrison DG, Marcus ML, Dellsperger KC, Lamping KG, Tomanek RJ. (1991). Pathophysiology of myocardial perfusion in hypertension. *Circulation*, 83(suppl III):III-14-III-18.
46. Houston MC. (1993). The management of hypertension and associated risk factors for the prevention of long-term cardiac complications. *J Cardiovasc Pharmacol*, 21 (Suppl.2):2-13.
47. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Matsuura H, Oshima T, Chamaya K. (2002) Endothelial function and oxidative stress in renovascular hypertension. *N Engl J Med*, 346:1954-1963.
48. Hogg N. (1998). Free radicals in disease. *Semin Reprod Endocrinol*. 16: 241-8.
49. Hosseinzadeh H, Parvardeh S, Asl MN, Sadeghnia HR, Ziaee T. (2006). Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine*, 14:621-627.
50. Houghton JL, Strogatz DS, Torosoff MT, Smith VE, Fein SA, Kuhner PA, Philbin EF, Carr AA. (2003). African Americans with LVH demonstrate depressed

sebsitivity of the coronary microcirculation to stimulatedrelaxation.

Hypertension, 42:269-276.

51. Iddamaldeniya SS, Wickramasinghe N, Thabrew I, Ratnatunge N, Thammitiyagodage MG. (2003). Protection against diethylnitroseamine-induced hepatocarcinogenesis by anindigenous medicine comprised of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax glabra*: a preliminary study. *J Carcinog*, 2:6.
52. Islam SN, Begum P, Ahsan T, Huque S, Ahsan M. (2004). Immunosuppressive and cytotoxic properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res*, 18:395-8.
53. Jones SA, O'Donnell VB, Wood JD, Broughton JP, Hughes EJ, Jones OT. (1996). Expression of phagocyte NADPH oxidase components in human endothelial cells. *Am J Physiol*, 271:1626-1634.
54. Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ, (2003). Effect of *Nigella sativa* (balck seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother Res*, 17:1209-14.
55. Kanter M, Meral I, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, Uygan I. (2003). Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 50:264-8.
56. Kanter M, Coskun O, Budancamanak M. (2005). Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L and *Urtica dioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World J Gastroenterol*, 11(42):6684-6688.
57. Khan N, Sharma S, Sultana S. (2003). *Nigella sativa* (balck cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis:diminution of oxidative stress. *Hum Exp Toxicol*, 22:193-203.
58. Khattab MM, Nagi MN. (2007). Thymoquinone supplementation attenuates hypertension and renal damage in nitric oxide deficient hypertensive rats. *Phytother Res*, 21(5):410-4.
59. Kumar DS, Das UN. (1993). Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension? *Free Radic Res Commun*, 19:59-66.
60. Lacy F, O'Connor DT, Schmid-Schonbein GW. (1998). Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertensive. *J Hypertens*, 16:291-303.
61. Lefkowitz DL, Gelderman MP, Fuhrmann SR, Graham S, Starnes III JD, Lefkowitz SS, (1999). Neutrophilic myeloperoxidase-macrophage interactions perpetuate

- chronic inflammation associated with experimental arthritis. *Clin Immunol*, 91:145-55.
62. Lerman LO, Schwartz RS, Grande JP, et al. (1999) Noninvasive evaluation of a novel swine model of renal artery stenosis. *J Am Soc Nephrol*, 10:1455-65.
 63. Lerman LO, Nath KA, Porcel MR, Krier JD, Schwartz RS, Napoli C, Romero JC. (2001) Increased oxidative stress in experimental renovascular hypertension. *Hypertension*, 37:541-546.
 64. Manning RD, Tian N, Meng S. (2005). Oxidative stress and antioxidant treatment in hypertension and the associated renal damage. *Am J Nephrol*, 25:311-317.
 65. Meral I, Yener Z, Kahraman T, Mert N. (2001). Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 48:593-9.
 66. Meral I, Kanter M. (2003). Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on selected mineral status and hematological values in CCl₄-treated rats. *Biol Trace Elem Res*. 96:263-70.
 67. Mitty HA, Shapiro RS, Parsons RB, Silberzweig JE. (1996). Renovascular hypertension. *Radiologic clinics of North America*, 5:1017-1036.
 68. Mohamed FA. (1874). The etiology of Bright's disease and the prealbuminuric stage. *Med Chir Trans*, 57:197-228.
 69. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ II. (1990). A series of prostoglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87: 9383-9387.
 70. Morsi NM. (2000). Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiol Pol*, 49:63-74.
 71. Nair SC, Salomi MJ, Panikkar B, Panikkar KR. (1991). Modulatory effects of *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on Cisplatin-induced toxicity in mice. *J Ethnopharmacol*, 31:75-83.
 72. Nishiyama A, Seth DM, Navar LG. (2002). Renal interstitial fluid concentrations of angiotensins I and II in anesthetized rats. *Hypertension*, 39:129-134.
 73. Omar A, Ghosheh S, Abdulghani A, Houdi A, Crookscor PA. (1999). High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed. (*Nigella sativa* L.) *J Pharm Biomed Anal*, 19:757-62.

74. Oskarsson HJ, Heistad DD. (1997). Oxidative stress produced by angiotensin too: implications for hypertension and varcular injury. *Circulation*, 95:557-559.
75. Palm F, Connors SG, Mendonca M, Welch WJ, Wilcox DC. (2008). Angiotensin II Type 2 Receptors and Nitric Oxide Sustain Oxygenation in the Clipped Kidney of Early Goldblatt Hypertensive Rats. *Hypertension*, 51:345-351.
76. Pasha T, Montone KT, Tomaszewski JE. (1995). Nuclear antigen retrieval utilizing steam heat. *Lab Invest* 72:167A.
77. Porcel RM, Lerman A, Herrman J, Schwartz RS, Sawamura T, Condorelli M, Napoli C, Lerman LO. (2003). Hypertension execerbates the effect of hypercholesterolemia on the myocardial microvasculature. *Cardiovasc Res*, 58:213-221.
78. Porcel MR, Herrman J, Chade AR, Krier JD, Breen JF, Lerman A, Lerman LO. (2004). Long-term antioxidant intervention improves myocardial microvascular function in experimental hypertension. *Hypertension*, 43:493-498.
79. Prabha PS, Das UN, Koratkar R, Sagar PS, Ramesh G. (1990). Free radical generation, lipid peroxidation and essential fatty acids in uncontrolled essential hypertension. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids*, 41:27-33.
80. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griending KK, Harrison DG. (1996). Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contribution to alteration of vasomotor tone. *J clin Invest*, 97:1916-1923.
81. Reckelhoff JF, Zhang H, Srivastava K, Roberts LJ 2nd, Morrow JD, Romero JC. (2000). Subpressor doses of angiotensin II increase plasma F(2)-isoprostanes in rats. *Hypertension*, 35:476-479.
82. Reckelhoff JF, Romero JC. (2003). Role of oxidative stress in angiotensin-induced hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284:893-912.
83. Reddy HK, Campbell SE, Janicki JS, Zhou G, Weber KT. (1993). Coronary microvascular fluid flux and permeability: influence of angiotensin II, aldosterone, and acute arterial hypertension. *J Lab Clin Med*, 121:510-521.
84. Renolds RP, Rahija RJ, Schenkman DI, Richter CB. (1993). Experimental murine cytomegalovirus infectionin severe combined immunodeficient mice. *Lab anim Sci*, 43:291-5.
85. Reid LJ. (1991). The treatment of hypertension: A therapeutic philosophy for the 1990s. *J. Cardiovasc. Pharmacol*, 18(Suppl 2):64-67.

86. Ross R. (1999). Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340:115-26.
87. Ruiz-Ortega M, Lorenzo B, Ruperez M, Blanco J, Egido J. (2001). Systemic infusion of angiotensin II into normal rats activates nuclear factor- κ B and AP-1 in the kidney: role of AT(1) and AT(2) receptors. *Am J Pathol*, 158:1743-56.
88. Russo C, Olivieri O, Girelli D, Faccini G, Zenari ML, Lombardi S, Corrocher R. (1998) Anti-oxidant status and lipid peroxidation in patients with essential hypertension. *J Hypertens*, 16:1267-1271.
89. Salem ML. (2005). Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*, 5:1749-1770.
90. Salem ML, Hossain MS. (2000). Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection. *Int J Immunopharmacol*, 22(9):729-40.
91. Salim EI, Fukushima S. (2003). Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds against rat colon carcinogenesis. *Nutr Cancer*, 45:195-202.
92. Schleicher P, Saleh M. (1998). Black seed cumin: the magical Egyptian herb for allergies, asthma, and immune disorders. Rochester, Vermont:Healing Arts Press. P.90.
93. Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J. (2000). Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem*, 267:4904-11.
94. Sehirli O, Sener E, Sener G, Cetinel S, Erzik C, Yeğen BC. (2008a). Ghrelin improves burn-induced multiple organ injury by depressing neutrophil infiltration and the release of pro-inflammatory cytokines. *Peptides*, 29(7):1231-1240.
95. Sehirli O, Tatlıdöğru E, Yüksel M, Erzik C, Cetinel S, Yeğen BC, Sener G. (2008b). Antioxidant effect of alpha-lipoic acid against ethanol-induced gastric mucosal erosion in rats. *Pharmacol*, 81(2):173-180.
96. Soltoff SP, Mandel LJ. Active ion transport in the renal proximal tubule. I. Transport and metabolic studies. *J Gen Physiol*. 1984; 84(4):601-22.
97. Solzbach U, Hornig B, Jeserich M, Just H. (1997). Vitamin C improves endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in hypertensive patients. *Circulation*, 96: 1513-1519.

98. Swinford RD, Portman RJ. (2004). Measurement and treatment of elevated blood pressure in the pediatric patient with chronic kidney disease. *Adv Chron Kidney Dis*, 11:143-161.
99. Textor SC. (2009). Current approaches to renovascular hypertension. *Med Clin*, 93:717-732.
100. Tham DM, Martin-McNulty B, Wang YX, Wilson DW, Vergona R, Sullivan ME, Dole W, Rutledge JC. (2002). Angiotensin II is associated with activation of NF- κ B mediated genes and downregulation of PPARs. *Physiol Genomics*, 11:21-30.
101. Touyz RM. (2004). Reactive oxygen species, vascular oxidative stress and redox signaling in hypertension: What is the clinical significance? *Hypertension*, 44:248-252.
102. Tsu Si Touyz RM. (2006). Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: still alive. *Can J Cardiol*, 22:947-951.
103. Ushio-Fukai M, Zafari AM, Fukui T, Ishizaka N, Griendling KK. (1996). P22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hyperthrophy in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 271:23317-23321.
104. Vasdev S, Gill V. (2005). Antioxidants in the treatment of Hypertension. *International Journal of Angiology*, 14:60-73.
105. Vaziri ND, Wang XQ, Oveisi F, Rad B. (2000). Induction of oxidative stress by glutathion depletion causes severe hypertension in normal rats. *Hypertension*, 36:423-429.
106. Wahlander H, Haraldsson B, Friberg P. (1993). Myocardial capillary diffusion capacity in rat hearts with cardiac hyperthrophy due to pressure and volume overload. *Am J Physiol*, 265:61-68.
107. Walsh PC, Gittes RF, Perimutter AD, Stamey TA. (Eds), (1986). Renovascular hypertension. in Campbell's Urology. 5th ed, Saunders Company. Philadelphia. 2298-2325.
108. Welch WJ, Mendonca M, Aslam S, Wilcox CS. (2003). Roles of oxidative stress and AT1 receptors in renal hemodynamics and oxygenation in the postclipped 2K,1C kidney. *Hypertension*, 41(2)692-696.
109. Wilcox C. (2002). Reactive oxygen species: roles in blood pressure and kidney function. *Curr Hypertens Rep*, 2:160-166.

110. Wu D, Meydani M, Leka S, Nightingale Z, Handelman GJ, Blumberg JB, (1999).
Effect of dietary supplementation with black currant seed oil on the immune
response of healthy elderly subjects. *Am J Clin Nutr*, 70:536-543.
111. Yasavul Ü. (2003). Hacettepe İç Hastalıkları Kitabı. Hacettepe Üniversitesi
Yayınları. S.1214-1217.

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	NUR	Soyadı	TAŞAR
Doğum Yeri	SAMSUN	Doğum Tarihi	27.02.1984
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	40645967450
E-mail	nurtasar@yahoo.com	Tel	0535 836 00 06

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Marmara Üniversitesi-Eczacılık Fakültesi	2006
Lise	Sungurlu Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
1.	Ar-Ge Elemanı	BİLİM İLAÇ SANAYİ TÜRK A.Ş.	2006-2008
2.	Ruhsatlandırma Uzmanı	İ.E. ULAGAY İLAÇ SANAYİ TÜRK A.Ş.	2008-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İYİ	İYİ	İYİ

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	82.5							

Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	67.685	65.014	62.343
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS OFFICE	İYİ

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Sertifikaları/Ödülleri/Diğer

- PCT/TR2009/000029. Oral tablet compositions containing nateglinide and surfactant ph adjusting agent.

10. ETİK KURUL ONAY RAPORU



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU**

PROJENİN ADI : Sıçanlarda renovasküler hipertansiyonun neden olduğu doku hasarına ve hemodinamik değişikliklere karşı Nigella sativa' nın koruyucu etkilerinin araştırılması"

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof. Dr. Goksel Şener

PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Ecz. Nur Taşar, Prof. Dr. Berrak Yeğen, Öğr. Gör. Özer Şehirli, Yrd. Doç. Dr. Selami Süleymanoğlu Yiğiner,

PROJENİN YÜRÜTÜLECEĞİ LABORATUVAR : M. Ü. Eczacılık Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı

ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI : 18/12/2008 - 77.2008. mar

Sayın : Prof. Dr. Göksel Şener

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na "Sıçanlarda renovasküler hipertansiyonun neden olduğu doku hasarına ve hemodinamik değişikliklere karşı Nigella sativa' nın koruyucu etkilerinin araştırılması" isimli projeniz "Hayvan Deneyleri Etik Kurulu " tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Doç. Dr. Zafer GÖREN
Hayvan Deneyleri Etik Kurul
Yürütücü Sekreteri

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, "Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na" bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir. Araştırmacıların proje ile yapılan bütün vavınlarında proje onay tarih ve numarası belirtmesi zorunludur.