

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL HİPERTANSİYON MODELİ  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KİSSPEPTİNİN KAN  
BASINCI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**(Doktora Tezi)**

**Özlem YALÇINKAYA YAVUZ**

**Referans no: 10095104**

**EDİRNE – 2019**

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

**DENEYSEL HİPERTANSİYON MODELİ  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KİSSPEPTİNİN KAN  
BASINCI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**(Doktora Tezi)**

**Özlem YALÇINKAYA YAVUZ**

**Destekleyen Kurum: Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP 2017/200)**

**Tez No:**

EDİRNE – 2019

T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

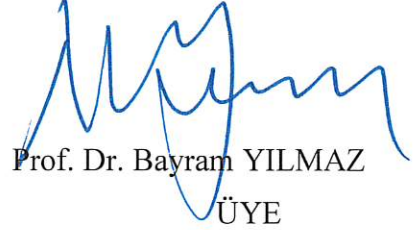
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU danışmanlığında doktora öğrencisi Özlem YALÇINKAYA YAVUZ tarafından tez başlığı “**DeneySEL Hipertansiyon Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Kisspeptinin Kan Basıncı Üzerindeki Etkisinin Araştırılması**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **03/07/2019** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Doktora Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR  
JÜRİ BAŞKANI

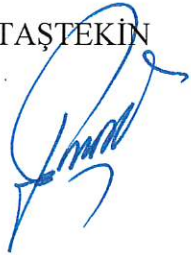
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU  
ÜYE



Prof. Dr. Bayram YILMAZ  
ÜYE



Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN  
ÜYE



Doç. Dr. Burcu GEMİCİ BAŞOL  
ÜYE



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ  
Enstitü Müdürü

## TEŐEKKÜR

Fizyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleőtirdiđim doktora eğitimim boyunca gōsterdiđi destek ve yardımlarının yanı sıra bilgi ve deneyimleriyle bana farklı bir bakıő açısı kazandıran değerli tez danıőman hocam sayın Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, fizyolojinin kıymetini oğreten, her baővurduđumda bana yol gōsteren ve vizyonuma bŸyŸk katkısı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR'a, Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK'e, Dr. Öğr. Üyesi MevlŸt YAPRAK'a ve Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA'ya, tez sŸrecimde bana katkı sağlayan, değerli önerilerini sunan Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN'e ve Prof. Dr. Necdet SŸT'e, çalıőmamızı destekleyen Trakya Ÿniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (TŸBAP), çalıőmama katılımlarıyla destek sağlayan ekip arkadaőlarıma ve kıymetli aileme teőekkŸr ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>KAN BASINCI</b> .....	3
<b>KAN BASINCININ DÜZENLENMESİ</b> .....	3
<b>RENİN-ANJİYOTENSİN-ALDOSTERON SİSTEMİ</b> .....	4
<b>ALDOSTERONUN KAN BASINCININ DÜZENLENMESİNDEKİ ROLÜ</b> .....	5
<b>HİPERTANSİYON</b> .....	6
<b>DENEYSSEL HİPERTANSİYON MODELLERİ</b> .....	8
<b>OKSİDATİF STRES VE HİPERTANSİYON</b> .....	10
<b>REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİN FİZYOLOJİK ROLÜ</b> .....	10
<b>ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ</b> .....	11
<b>NİTRİK OKSİT</b> .....	11
<b>KİSSPEPTİN</b> .....	12
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	15
<b>BULGULAR</b> .....	29
<b>TARTIŞMA</b> .....	62
<b>SONUÇLAR</b> .....	69
<b>ÖZET</b> .....	71
<b>SUMMARY</b> .....	73
<b>KAYNAKLAR</b> .....	75
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	83
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	86
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>ACC</b>	: American College of Cardiology
<b>AHA</b>	: American Heart Association
<b>ALT</b>	: Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	: Aspartat aminotransferaz
<b>BH4</b>	: Tetrahidrobiopterin
<b>CK</b>	: Creatine Kinase (Kreatin kinaz)
<b>DKB</b>	: Diyastolik kan basıncı
<b>ENaC</b>	: Epitelyal sodyum kanalı
<b>eNOS</b>	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
<b>FeNa</b>	: Fraksiyonel sodyum atılımı
<b>GPR54</b>	: G proteinlerine bağılı reseptör-54
<b>GSH</b>	: Glutatyon
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>HE</b>	: Hemotoksilen eozini
<b>NOS</b>	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
<b>Kiss1r</b>	: Kisspeptin reseptörü
<b>Kp</b>	: Kisspeptin
<b>L-NAME</b>	: NG-nitro-L-arjinin metil ester
<b>MAU</b>	: Mikroalbuminüri
<b>MDA</b>	: Malondialdehit

<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik Oksit Sentaz
<b>NTS</b>	: Nükleus traktus solitariusa
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit radikali
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil radikali
<b>OKB</b>	: Ortalama arteriyel kan basıncının
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	: Peroksinitrit
<b>RAAS</b>	: Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>SKB</b>	: Sistolik kan basıncı
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz

## GİRİŞ VE AMAÇ

Kan basıncının düzenlenmesi kardiyovasküler, böbrek, endokrin sistemler ile sinir sistemi arasındaki etkileşimle dengelenmektedir. Uzun süre yüksek seyreden kan basıncı zaman içinde organ hasarına neden olup, kalbe, kan damarlarına, böbreklere ve gözlere zarar verebilmektedir (1,2).

Hipertansiyon ya da yüksek kan basıncı ortalama arter basıncının normal kabul edilen değerin üzerinde olmasıdır (3). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre hipertansiyon, prevalansının yüksek olması sebebiyle, dünyada en önde gelen ölüm nedenidir (4). Türkiye İstatistik Kurumu ile Sağlık Bakanlığı'nın açıkladığı "Ölüm Nedeni İstatistikleri" raporuna göre Türkiye'de hipertansiyonun erkeklerde %10, kadınlarda ise %15,6 oranında ölüm sebebi olduğu bildirilmiştir (5). Bu sayısal verilere paralel bir biçimde, Türkiye'de Sosyal Güvenlik Kurumu'nun 2008 yılından bu yana en çok harcama yaptığı tedavi kalemi esansiyel hipertansiyon tedavisi olmuştur. Hipertansiyon toplumda sık görülmesi ve buna bağlı olarak yüksek ölüm oranı ile maliyeti nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur (6). Bu sebeple hipertansiyonu önlemeye, tanı ve tedavisinin anlaşılmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir.

Hipertansiyonun önlenmesi ve tedavisine yönelik araştırmalarda deneysel modeller yaygın olarak kullanılmaktadır. Deneysel modeller içinde en çok nitrik oksit sentaz'ın (NOS) inhibisyonuna bağlı oluşan hipertansiyon modeli üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (7). Nitrik oksit (NO), L-arjininden NOS enzimi ile sentezlenir ve vazodilatasyona neden olarak kan basıncının düzenlenmesine aracılık eder. NOS enziminin NG-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ile kronik olarak inhibe edilmesi glomerüler ve böbrek interstisyel hasarına neden olan vasküler direnç artışı ve sistemik hipertansiyon ile sonuçlandığı gösterilmiştir (8).



NO böbrek kan akımının düzenlemesi, glomerüler kapiller dolaşımın, böbrek sempatik sinir aktivitesi ve tübüloglomerüler geri bildirim mekanizması gibi böbrek fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Bu nedenlerden dolayı, L-NAME ile oluşturulan deneysel hipertansiyon modeli, insanlarda hipertansiyona bağlı gelişen böbrek hasarını incelemek için sıklıkla kullanılmaktadır (9, 10).

Kisspeptinler (Kp), Kiss-1 geni tarafından kodlanmaktadır. İlk olarak 1996 yılında keşfedilen Kiss-1 geni, melanoma ve göğüs kanseri metastazını baskılama yeteneğine sahip olmasıyla, metastaz supressör geni olarak tanımlandı (11). Bu gen tarafından kodlanan proteinlerin bağlandıkları reseptörleri önceleri G proteinlerine bağlı reseptör-54 (GPR54) olarak isimlendirilirken, günümüzde kisspeptin reseptörü (Kiss1r) olarak adlandırılmaktadır. Kisspeptinin ve reseptörlerinin su, elektrolit ve H<sup>+</sup> iyonlarının tübüler taşınması gibi renal tübüler fonksiyonda önemli bir rol oynadığı ile ilgili çalışmalar rapor edilmektedir (12). Serumda gebelik dışında kisspeptin düzeyinin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir. Yapılan çalışmalara göre hipertansif ve preeklamsili gebelerde kisspeptin düzeyleri azaldığı bildirilmiştir (13). Ancak sıçanlarda hipertansiyon modelinde kisspeptinin tedavi edici etkilerinin incelendiği çalışmalara, yaptığımız araştırmalara göre literatürde rastlanmamıştır. Mevcut çalışmamızda L-NAME ile deneysel hipertansiyon modeli oluşturularak; hem kisspeptinin düzeylerinin nasıl bir değişim gösterdiğini hem de kisspeptinin tedavi etkinliğini araştırmayı amaçladık. Bu amaç doğrultusunda kisspeptinin kan basıncı, böbrek fonksiyonları, böbrekteki histopatolojik değişiklikleri, oksidatif stres ve NO mekanizması üzerindeki etkilerini inceledik.

## **GENEL BİLGİLER**

### **KAN BASINCI**

Kanın damar çeperinin herhangi bir birim alanına uyguladığı basınç kan basıncı olarak tanımlanmaktadır. Kan kalpten pompalandığında atardamar duvarında oluşan en yüksek basınç sistolik kan basıncını, dinlenim durumunda oluşan en düşük basınç ise diyastolik kan basıncını meydana getirir. Kan basıncının uzun süreli yüksek olması kalp, böbrek, göz ve kan damarlarında içinde olduğu birçok organda hasara neden olmaktadır (1, 2).

### **KAN BASINCININ DÜZENLENMESİ**

Kan basıncının düzenlenmesi kalp damar, böbrek, sinir ve endokrin sistemler arasındaki etkileşimlerle dengelenmektedir. Kan basıncı kısa ve uzun vadeli kontrol, periferik ve merkezi sinir sistemi mekanizmaları, humoral kontrol ve damarlara bağlı faktörler olmak üzere birçok parametrenin birlikte çalışmasıyla düzenlenmektedir. Bu mekanizmalar üç grupta sınıflandırılabilir;

1-) Kısa süreli ve hızlı olarak etki gösteren mekanizmalar (Saniyeler veya dakikalar)

2-) Orta süreli etki gösteren mekanizmalar ( Dakika veya saatler )

3-) Uzun süreli etki gösteren mekanizmalar ( Günler, aylar ve yıllar )

(1, 14).

Kısa süreli ve hızlı olarak etki gösteren kan basıncı kontrol mekanizmaları baroreseptör ve kemoreseptör mekanizmalarını içermektedir. Karotid sinüs ve aort yayının arter duvarına yerleşen baroreseptörler sinir sonlanmalarıdır. Basıncın artması ile baroreseptörler gerilerek uyarılırlar ve yüksek frekansta uyarı gönderirler. Oluşan uyarılar santral sinir sistemine taşınır,

geribildirim ile otonom sinir sistemi yardımıyla dolaşım sistemine gönderilir. Sonuçta arter basıncı normal sınırlara iner (1, 15).

Kemoreseptörler arteryel kandaki  $PCO_2$ 'in yüksek, pH'ın ya da  $PO_2$ 'nin düşük olduğu durumlarda ve ayrıca aortik ile karotid cisimlere ulaşan kan akımı azaldığı durumlarda uyarılırlar. Bu durumlarda kemoreseptörler nükleus traktus solitariusa (NTS) daha fazla uyarı gönderirler. NTS'ye giden uyarılar güçlü bir periferel vazokonstriksiyon sağlayarak arter basıncını artırır. Kemoreseptör refleksi kan basıncının azaldığı durumlarda basıncın azalmasını engelleyici rol üstlenirler (16).

Orta sürede ve uzun sürede etki eden mekanizmalar ise renin-anjiyotensin-aldosteron sistemidir (RAAS).

## **RENİN-ANJİYOTENSİN-ALDOSTERON SİSTEMİ**

Kan basıncının ve sıvı-elektrolit dengesinin kontrolünde böbreğin önemli bir rolü vardır. Böbrekler su ve sodyum geri emilimini düzenler. Bu sebeple böbrek fonksiyon bozukluğu vücutta su ve sodyum tutulmasına yol açar ve yüksek kan basıncına yani hipertansiyona neden olur. Aynı zamanda böbrek önemli bir endokrin organdır. Böbrekler renin anjiyotensin aldosteron sisteminin önemli bileşeni olan renini salgılayarak kan basıncını düzenlenmesinde rol oynarlar (17).

Renin protein yapısında küçük bir enzim olup kan basıncı azaldığında böbreklerden salgınır. Reninin inaktif formu olan prorenin böbreklerin jukstaglomerüller hücrelerinde (JG hücreler) sentezlenir ve depolanır. Glomerüllerin hemen proksimalindeki afferent arteriyollerin duvarında bulunan JG hücreler farklılaşmış düz kas hücreleridir. Kan basıncının düşmesi JG hücrelerde çok miktarda prorenin molekülünün parçalanmasına ve renin salgınmasına yol açar. Reninin bir kısmı kan dolaşımına girerek tüm vücuda yayılırken, kalan kısmı da lokal sıvı içinde kalarak böbrek içi fonksiyonlarda görev alır.

Vazoaktif bir madde olmayıp kendisi enzim olan renin, plazma proteini olup globulin yapısındaki renin substratı (veya anjiyotensinojen) üzerine enzimatik bir etki ile 10 amino asitlik peptit yapısındaki anjiyotensin I'in oluşmasına neden olur. Orta derecede vazokonstriktör özelliklere sahip olan anjiyotensin I tek başına dolaşım içinde anlamlı değişiklikler yapmaya yeterli değildir. Yaklaşık 30 dakika kadar dolaşım içinde bulunan renin anjiyotensin I oluşturmaya devam eder. Oluşan anjiyotensin I, birkaç saniye sonra iki amino asidini kaybederek 8 amino asitli bir peptit olan anjiyotensin II haline dönüşür. Bu dönüşüm akciğer damarlarının endotelinde bulunan konverting adlı bir enzim tarafından katalizlenir.

Anjiyotensin II oldukça güçlü bir vazokonstriktör etkiye sahiptir ve dolaşım dışında da etkileri bulunmaktadır (1, 18).

Anjiyotensin II, sodyum/hidrojen değiştirici 3, elektrojenik sodyum bikarbonat kotransporter 1 ve Na<sup>+</sup>/ K<sup>+</sup>-ATPaz aktivitesini artırarak proksimal túbül içinde sodyum geri emilimini artırır. Aynı zamanda aldosteron sentezini ve adrenal glomerulosadan salınımını uyarır. Anjiyotensin II endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir ve büyük oranda oksidatif stresin aracılık ettiği renal, kardiyak ve vasküler hasara yol açan pro-fibrotik ve pro-inflamatuvar etkilere sahiptir. Anjiyotensin II, bu mekanizmalar yoluyla hipertansiyonda hedef organ hasarının gelişmesi ile yakından ilişkilidir (19). Anjiyotensin II dolaşımında birkaç dakika kaldıktan sonra değişik dokularda ve kanda bulunan anjiyotensinazlar tarafından inaktive edilir (20).

Anjiyotensin II'nin kan basıncının yükselmesini řu mekanizmalar ile sağlamaktadır:

1. Anjiyotensin II dolaşımında kaldığı süre içinde damarlarda hızlı bir şekilde vazokonstriksiyonu sağlar ve kan basıncını artırır. Arteriollerde vazokonstriksiyon daha güçlü iken venlerde daha az oranda oluşur. Arteriyollerin kasılması periferik direnci artırarak kan basıncını artırır. Venlerde meydana gelen orta dereceli kasılma ile kalbe venöz dönüş artar bu da kalbin artan kan basıncına karşı pompalama gücünü artırır.

2. Anjiyotensin II direkt olarak böbrekler üstünde etki gösterip su ve sodyum atılımını azaltarak böbreklerde su ve sodyum tutulmasını sağlar. Sonunda ekstraselüler sıvı hacmi yavaş şekilde artar, bu da günler içinde kan basıncının yükselmesine neden olur. Bu ekstraselüler sıvı hacmi mekanizmalarına bağlı olarak gelişen uzun süreli etki, akut vazokonstriktör etkiden daha güçlüdür.

3. Anjiyotensin II böbrek üstü bezlerinden aldosteron salgılanmasını sağlayarak böbrek túbüllerinden su ve tuz geri emilimini sağlar (21).

### **ALDOSTERONUN KAN BASINCININ DÜZENLENMESİNDEKİ ROLÜ**

Aldosteron sekresyonunun en güçlü düzenleyicilerinden biri anjiyotensin II'dir. Anjiyotensin II böbrek üstü bezlerinden aldosteron salgılanmasına sağlar ve böbrek túbüllerinden su ve sodyum geri emilimini sağlar. Bu sebeple renin-anjiyotensin sistemi aktive olduğunda aldosteron salgılanma hızı da eş zamanlı olarak artar. Aldosteronun en önemli fonksiyonlarından biri, böbrek túbüllerinden sodyum geri emilimini anlamlı olarak artırarak ekstraselüler sodyum miktarını artırmasıdır. Suyun tutulması ile birlikte ekstraselüler sıvı hacmi artmakta ve uzun dönemde kan basıncının artışına yol açmaktadır (1).

Aldosteron hipertansiyonda çok önemli bir rol oynar. Mineralokortikoid reseptörüne bağlanarak, yaygın olarak epitelyal sodyum kanalı (ENaC) olarak bilinen amilorite duyarlı sodyum kanalının aktivasyonunu içerir ve toplayıcı kanallardaki esas hücrelerde sodyum geri emiliminin uyarılmasına neden olur. Aldosteron ayrıca endotel disfonksiyonu, vazokonstriksiyon ve hipertansiyona katkıda bulunan birçok nonepitelyal etkiye sahiptir. Bunlar vasküler düz kas hücresi proliferasyonu, vasküler hücre dışı matriks birikimi, vasküler yeniden biçimlenme, fibroz ve artan oksidatif stresi içerir (22, 23).

Kan basıncının artmasında sodyum emilimindeki artış su alımındaki artışa oranla daha etkilidir. Bunun nedeni suyun emilir emilmez böbreklerden kolaylıkla atılabilmesi ancak sodyum aynı kolaylıkta atılamamasıdır. Vücutta sodyum biriktikçe dolaylı şekilde iki temel yol ile ekstraselüler sıvıyı arttırmaktadır;

1. Vücutta sodyum miktarı arttığında vücut sıvılarının osmolalitesi artar ve susama merkezini uyarır. Bu durum ekstraselüler sodyum konsantrasyonunu normal seviyelere düşürmek için kişinin fazla miktarda su içmesine neden olmaktadır. Böylece ekstraselüler sıvı hacmi artmaktadır.

2. Meydana gelen ekstraselüler sıvı osmolalitesindeki artış hipotalamik- arka hipofizer salgı mekanizmasını da uyarır ve antidiüretik hormon salınımını artırır. Antidiüretik hormon idrarla birlikte atılmadan önce böbrek tübül sıvısından yüksek miktarlarda suyun geri emilimine neden olur. Sonuçta idrar miktarı azalırken ekstraselüler sıvı hacmi artar (1).

## **HİPERTANSİYON**

Hipertansiyon ya da yüksek kan basıncı ortalama arter kan basıncının normal kabul edilen seviyenin üzerinde olması demektir. (1). Ofiste ölçülen kan basıncı hipertansiyon tanı, tedavi ve izleminde halen altın standart ölçüm yöntemidir. Yetişkinlerde hipertansiyonun saptanması ve değerlendirilmesi için kan basıncı seviyeleri Tablo 1'de gösterildiği gibi 2017 American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA) kılavuzuna göre sınıflandırılmıştır (24).

Hipertansiyon, toplumda sık görülmesi ve ciddi komplikasyonlara yol açması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde son yıllarda ilaç tedavisinde sağlanan önemli gelişmelere rağmen hipertansiyon önemli sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir. Çok sayıda çalışma kardiyovasküler mortalitenin sistolik ve diyastolik kan basıncıyla sürekli bir ilişki içinde olduğunu göstermiştir (2).

**Tablo 1. Kan basıncı değerlerinin sınıflandırılması**

Kan Basıncı Seviyeleri			2017 ACC/AHA Sınıflandırma Klavuzu
Sistolik (mm Hg)		Diastolik (mm Hg)	Kategori
< 120	ve	< 80	Normal kan basıncı
120-129	ve	< 80	Yükselmiş kan basıncı
130-139	veya	80-89	Evre 1 hipertansiyon
≥ 140	veya	≥ 90	Evre 2 hipertansiyon

### **Epidemiyoloji**

Ülkemizde hipertansiyon oldukça yaygın görülen bir sorundur. Türkiye’de erişkinlerdeki hipertansiyon prevalansı, farkındalığı, tedavisi ile bunları etkileyen faktörleri belirlemek için, ayrıca 2003 yılında yapılan çalışma sonuçları ile karşılaştırmak amacıyla 2012 yılında 2. bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada hipertansiyon ve tedavisi ile ilişkili ülkemizdeki gelişmeler belirlenmiştir. 12 bölgede, yaş grubu ve cinsiyet tabakalarında örneklem ile çalışma yapılmıştır. Hipertansiyon prevalansı 18 yaş üzeri tüm nüfusta %30,3, kadınlarda %32,3 ve erkeklerde %28,4’dır. Hipertansiyonun 18-29 yaş grubunda %5,0, 30-39 yaş grubunda %11,5, 40-49 yaş grubunda %29,7, 50-59 yaş grubunda %53,6, 60-69 yaş grubunda %85,2 ve 80 yaş ve üzerinde %76,3 olarak saptanmıştır. Normotansif olanların ortalama beden kitle indeksleri 26,2, hipertansiflerde ise 30,1’dir. Artan beden kitle indeksi hipertansiyon sıklığını da artırmaktadır. Antihipertansif ilaç kullanma %47,4, kadınlarda %59,7 ve erkeklerde %33,5’dir (3).

Ülkemizde hipertansif kişilerdeki böbrek hasarına ilişkin değerlendirmelerde, yaklaşık %6’sında kronik böbrek hastalığı, %27’sinde ise mikroalbuminüri olduğu rapor edilmektedir. Böbrek hastalığı ve diyabeti bilinenler dışlandığında, yalnız hipertansiyonu olan kişilerin % 9’unda mikroalbuminüri görüldüğü bildirilmektedir. Bu sonuçlar hipertansiyonun ülkemizde yaygın bir sorun olduğunu ve bu sorunun farkında olmadığımızı ve yeterince tedavi edilmediğini göstermektedir. Önlenebilir bir sorun olması bilinciyle hipertansiyonun azaltılması için bebeklik döneminden itibaren yaşam stili değiştirilmelidir. Hipertansiyonla ilişkili kardiyovasküler ve böbrek hasarı ile diğer hastalık risklerinin azaltılması da, topluma getireceği sosyoekonomik yük açısından hipertansiyonun üzerinde önemle durulması gereken sorunlardan biri olduğunu gösterir (25).

### **Etyopatogenez**

Kan basıncını belirleyen ve birbiriyle etkileşim içinde olan birçok faktör olması nedeniyle hipertansiyondan sorumlu tek bir etiyoloji ya da patofizyolojik mekanizma yoktur. Bu nedenle hipertansiyonun patogenezi multifaktöriyeldir. Hipertansiyon patogenezinde genetik faktörler, çevresel faktörler, sempatik sinir sistemi, RAAS, sodyum atılımı bozuklukları, insülin direnci ile intraselüler sodyum ve kalsiyum rol oynar (26).

### **Etyolojisi**

Hipertansiyon oluşum mekanizmasına göre esansiyel (primer, idyopatik, birincil) ve ikincil (sekonder) hipertansiyon olarak sınıflandırılmaktadır. Olguların yaklaşık %95'ini birincil hipertansiyon, %5'lik bölümünü ise ikincil hipertansiyon oluşturmaktadır. Esansiyel hipertansiyon tanımı kısaca hipertansiyonun bilinmeyen nedenlerle ortaya çıktığını belirtmektedir ve hastaların çoğunda güçlü bir kalıtsal yatkınlık bulunmaktadır. Esansiyel hipertansiyonda; yaş, genetik, sigara ve alkol alımı, serum kolesterolü, glukoz intoleransı ve obezite önemli rol oynayan faktörlerdir (1, 27).

İkincil hipertansiyon tanımlanabilir ve sıklıkla da tedavi edilebilir bir nedeni olan kan basıncı yükselmesidir. Renovasküler hipertansiyon erişkinlerde gözlenen ikincil hipertansiyon vakalarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Renovasküler hipertansiyonda bir veya her iki ana renal arterin veya dallarının tıkanmasına bağlı olarak kan basıncı yükselir. Renovasküler hipertansiyonun en sık görülen nedeni, ana renal arterin ateroskleroza bağlı stenozudur, geriye kalan olguların çoğu fibromusküler displazidir. Bunların ilki daha çok ileri yaş erkeklerde, diğeri ise özellikle genç kadınlarda görülür (28).

### **DENEYSEL HİPERTANSİYON MODELLERİ**

Hipertansiyon etiyojisi tam olarak bilinmeyen pek çok genetik ve çevresel faktörün kompleks etkileşiminden doğan multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Patogenezinde birçok faktörün etkin olması nedeniyle farklı hipertansiyon modelleri üzerinde araştırmalar yapılmaktadır (29). Hipertansiyon araştırmalarında kullanılacak ideal hayvan modeli insandakine benzer özelliklere sahip olmalıdır. Ayrıca birçok araştırmacı;

- ✓ Maruz kalma süresinde ve dozunda,
- ✓ Hayvan türlerinde ve cinsiyetlerinde,
- ✓ Maruziyet başlangıcında,

- ✓ Hayvanların yaşlarında ve kan basıncı monitörizasyonunda kullanılan yöntemlerde çalışmalar arasında büyük farklılıklar olduğunu bildirmiştir (30). Hipertansiyon modelleri 4 ana başlık altında toplanmaktadır.

### **Genetik Hipertansiyon Modeli**

Genetik hipertansiyon sıçan modelleri; spontan hipertansif sıçan modeli, dahl tuza duyarlı sıçan modeli, transgenik hipertansiyon modeli, borderline (sınırdaki) hipertansif sıçan modelini içermektedir (31-33).

### **Renal Hipertansiyon Modeli**

Renal hipertansiyon modelleri renovasküler hipertansiyon modeli ve renoprival hipertansiyon modelini içermektedir (34).

### **Endokrin Hipertansiyon Modeli**

Endokrin hipertansiyon modelleri içerisinde tuz ve mineralokortikoidler modeli, psikososyal ve çevresel kaynaklı hipertansiyon modeli, nörojenik hipertansiyon modeli, Anjiotensin II kaynaklı hipertansiyon modeli ile oluşan hipertansiyon modellerini içermektedir (35, 36).

### **Nitrik Oksit Sentazın Kronik İnhibisyonuyla Meydana Gelen Hipertansiyon**

Nitrik oksit tonik vazodilatatör etkisi sayesinde sistemik vasküler direnci düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır. Bu model NO sentezini sağlayan NOS inhibisyonu ile oluşturulur (37). NOS inhibitörü olarak N( $\omega$ )-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME), N( $\omega$ )-monometil-L-arjinin (LNMA), N-iminoetil–ornitin (L-NIO) kullanılmaktadır. NO sentaz inhibitörü olan L-NAME'nin kronik oral uygulaması glomerüloskleroz, glomerüler iskemi ve interstisyel infiltrasyonla karakterize böbrek hasarının eşlik ettiği vasküler dirence bağlı hipertansiyona neden olur. Bu hipertansiyon, periferik vazokonstriksiyon ve bunu takip eden periferik vasküler dirençle ilişkilidir. NOS inhibitörünün kronik uygulaması sırasında kardiyak çıktının azaldığını gösteren kanıtlar mevcuttur. Biancardi ve ark. hipertansiyonun başlamasında ve devamlılığında, L-NAME'e yanıt olarak gelişen ve sempatik tonus ile sağlanan vazokonstriksiyonun önemli bir rol oynadığını göstermişlerdir (38). Benzer kan basıncı seviyeleri olan diğer modellerle karşılaştırıldığında, bu modelde kalp anomalileri göreceli olarak daha azdır. L-NAME'nin neden olduğu basınç artışı sol ventrikülde ventrikül kütlelerinde



artış olmaksızın, duvar kalınlığı ile ilişkili ventrikül hacminin azalmasına yol açar. Bu model insanlarda gelişen esansiyel hipertansiyon ile benzerlik göstermektedir (39).

## **OKSİDATİF STRES VE HİPERTANSİYON**

Genel olarak oksidatif veya oksidan stres terimi reaktif oksijen türleri (ROS) ve antioksidan savunmaların üretimi arasındaki dengesizliği ifade eder. Bu DNA, proteinler ve lipitler de dahil olmak üzere çeşitli hücresel bileşenlere zarar verebilen ROS'un seviyelerinde bir artışa yol açabilir. Mitokondri içindeki ROS üretiminin lokalize değişimleri enerji homeostazisini etkileyebilirken, nükleusta lokalize ROS üretimi transkripsiyonel olayları ve epigenetik kontrolü etkileyebilir (40).

Reaktif oksijen türlerinin hipertansiyon patofizyolojisinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. ROS normal hücre fonksiyonu için gerekli olmasına rağmen kronik hipertansiyonun gelişiminde ve beyin, böbrek ve kan damarlarındaki patolojik hasarın oluşmasında da önemli rol oynar. ROS, bir molekülün, bir alıcı moleküle transfer edilen bir elektronun ayrılmasıyla indirgendiği oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları tarafından oluşturulur. ROS 2 ana gruba ayrılabilir: serbest radikaller ve nonradikal türevler. Serbest radikaller dış yörüngesinde eşleşmeyen bir elektrona sahiptir, bu da onları oldukça reaktif kılar. Bunlar süperoksit ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $OH^-$ ), lipit peroksi-radikalleri ( $LOO^-$ ) ve alkoksi-radikalleri ( $LO^-$ ) içerir. Nitrik oksit aynı zamanda bir serbest radikaldir ve çoğu zaman reaktif bir azot türü olarak adlandırılır. Radikal olmayan ROS hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), hipokloröz asit ( $HOCl^-$ ) ve reaktif karbonillerdir. Bunlar eşlenmemiş elektronlara sahip değildirler ve daha uzun bir yarı ömür ile daha stabildirler fakat güçlü oksitleyici özelliklere sahiptirler (40).

## **REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİN FİZYOLOJİK ROLÜ**

Aslında ROS hücresel metabolizmanın toksik yan ürünleri olarak kabul edilmesine rağmen; çoğalma, farklılaşma, yaşlanma, konak savunması ve onarım süreçleri de dahil olmak üzere normal hücre fonksiyonu için kritik olan sinyal rollerine de sahiptir. Son çalışmalar  $H_2O_2$  de dahil olmak üzere ROS'un, yaşlanma sürecinden korunma ve korunma sinyalleri verebileceğini göstermektedir (41). Doğuştan gelen bağışıklığın bir parçası olarak, ROS sadece fagositlerdeki solunum patlamaları yoluyla konak savunmasına katkıda bulunmaz, aynı zamanda enflamatuar hücrelerin kemotaksisini enfeksiyon veya yaralanma bölgelerine bildirir. Bununla ilgili olarak ROS, matriks metalloproteinazların (MMPler) ekspresyonunu indükleyerek doku onarımına ve yeniden yapılanmaya da katılır (42). Normal hücre fonksiyonu

için hayati olan bu yanıtlar, hastalık durumlarında abartılı hale gelir ve patolojik süreçleri destekler.

Serbest oksijen radikallerinin lipidler ile reaksiyona girmesi sonucu çeşitli peroksitler, aldehitler, alkoller gibi ürünlerin açığa çıktığı reaksiyonlara lipit peroksidasyonu denir. Spontan olarak zincir reaksiyonu şeklinde başlayan lipit peroksidasyonu en yaygın olarak bilinen biyolojik serbest radikal reaksiyonudur. Lipit peroksidasyonun son ürünü olan ve yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, enzim aktivitelerinde değişikliğe yol açabilir ve membranlardan kolayca geçerek DNA yapısındaki nitrojen bazlar ile reaksiyona girebilir. Bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik etkileri vardır (43). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir. Fakat lipit peroksidasyonunun derecesi ile iyi korelasyon gösterdiği için lipit hasarının bir belirteci ve hücrel hasarın derecesinin ölçümünde kullanılır (44).

### **ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ**

Hücrelerde serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidan hasarı engellemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görevli savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi veya antioksidanlar denir. Antioksidanlar endojen kaynaklı ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar şeklinde sınıflandırılır. Endojen kaynaklı antioksidanlar ise enzimsel olanlar ve enzimsel olmayanlar olarak ikiye ayrılır. Enzimatik yapısında olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayanlar ise glutatyon (GSH), askorbik asit, melatonin, ürat, tokoferol,  $\beta$  karoten, sistein, seruloplazmin, transferrin ve albümindir. Ekzojen antioksidanlara ise folik asit, oksipürinol gibi ksantin oksidaz inhibitörleri, soya fasülyesi inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz ve trolox-C örnek verilebilir (45).

### **NİTRİK OKSİT**

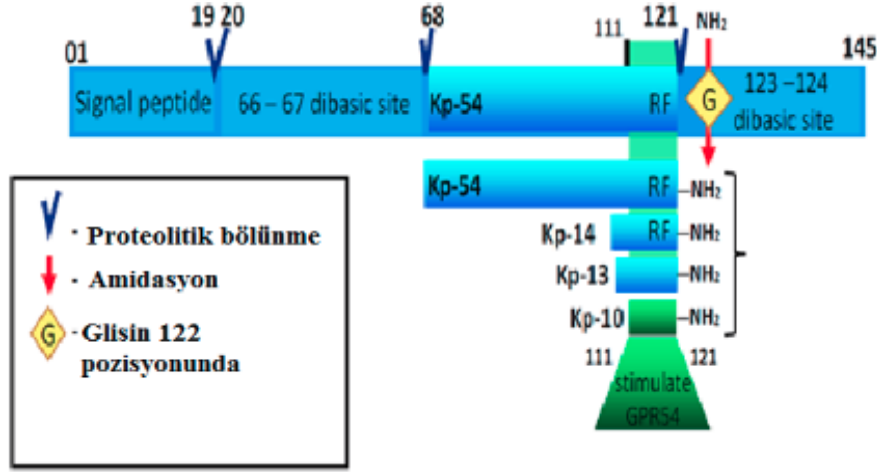
Nitrik oksitin, vasküler tonusun modülasyonunu içeren kardiyovasküler fonksiyon üzerinde, kan basıncı, sempatik etki, böbrek renin salımı ve böbrek sodyum atılımı dahil olmak üzere birçok fonksiyonu vardır. NOS enzimleri, memeli hücrelerinde endojen NO kaynaklarıdır. Önemli bir kofaktör olan tetrahidrobiopterin (BH<sub>4</sub>) veya substrat L-arjinin olmadığında NOS enzimleri ayrılmazlar ve NO yerine O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretirler. Bu duruma NOS kenetsizlenmesi denir. NOS kenetsizlenmesi hipertansiyon, ateroskleroz, diyabet gibi hastalıklarda ve iskemi/reperfüzyon hasarından sonra ROS kaynağı olarak belgelenmiştir. Bu hastalıkların birçoğunda BH<sub>4</sub>'ün oral desteği NOS'un kenetsizlenmesini tersine çevirir ve

endotel fonksiyonunu iyileştirir. Önemli olarak oral BH4'ün hayvanlarda, anjiyotensin II ve tuzla uyarılan hipertansiyonda, kan basıncının yükselmesini engellediği ve hipertansiyonu olan insanlarda kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (46). İnflamatuar monositler ile NO'nun aşırı üretimi ile NOS'un endotel hücre izoformunun kenetsizlenmesi arasında karşılıklı bir etkileşim olduğu bildirilmektedir (47). Buna ilaveten, BH4'ün uygulanması, endotel disfonksiyonunun, vasküler inflamasyonun ve bozulmuş kan akımı tarafından indüklenen aterosklerozun gelişmesini de önlediği rapor edilmiştir (48). NOS'un kenetsizlenmesinin başlıca nedeni tetrahidrobiopterinin peroksinitrit gibi oksidanlarla oksitlenmesidir. İlginç bir şekilde NADPH oksidaz tarafından üretilen ROS bu işlemde rol oynar ve NADPH oksidazı olmayan fareler, hipertansiyon durumunda tetrahidrobiopterin oksidasyonuna karşı korunurlar (49).

### **KISSPEPTİN**

Kisspeptinler (Kp), Kiss-1 geni tarafından kodlanan gen ürünleridir. İlk olarak 1996 yılında keşfedilen Kiss-1 geni, melanoma ve göğüs kanseri metastazını baskılama yeteneğine sahip olmasıyla, metastaz supressör geni olarak tanımlanmıştır (11). Kiss-1 gen bölgesi Pensilvanya Hershey'de keşfedildiği için bu kentin ünlü bir çikolata markası olan "Kiss"ten 'Ki' ön ekini, "supresör sekansı" anlamını taşıyan "SS" harflerini alarak "Kiss-1" gen adı verilmiştir (50). Bu gen tarafından kodlanan proteinlerin bağlandıkları reseptörler önceleri G proteinlerine bağlı reseptör-54 (GPR54) olarak ifade edilirken, günümüzde kisspeptin reseptörü (Kiss1r) olarak tanımlanmaktadır (51, 52). Kisspeptin büyük bir peptid grubu olan RF amidlerinin bir üyesidir. RF amidleri üreme, beslenme, kan basıncı regülasyonu ve ağrı modülasyonunda (en çok üreme ve enerji dengesi gibi) geniş rollere sahiptirler (24).

Aktif peptid özelliğindeki en büyük kisspeptin formu Kp-54, kanser ile ilgili çalışmalarda metastazı baskılamasından dolayı metastin olarak da adlandırılmıştır (53). En küçük kisspeptin formu olan Kp-10 reseptör aktivasyonu için yeterli C-terminal amino asit uzunluğuna sahiptir. Bu amino asit yapısının diğer kisspeptin formlarının hepsinde ortak olarak bulunduğu belirtilmektedir. Bu nedenle Kisspeptin 10, 13, 14, 54 formlarının reseptöre bağlanma ve hücre içi aktiviteleri benzerdir (54, 55).



**Şekil 1. Kisspeptin Formlarının İsimleri (56)**

Gottsch ve ark. 2004 yılında Kiss-1 mRNA'larının, beynin GnRH salınımını kontrol eden Arc nükleus, periventriküler nükleus (PeN) ve anteroventralperiventriküler nükleus (AVPV) bölgelerinde eksprese edildiğini göstermişlerdir (57). Hipotalamustaki GnRH nöronlarında bulunan Kiss1 reseptörlerine kisspeptinlerin bağlanmaları ile meydana gelen sinyaller medyan eminenslerden portal hipofizyel dolaşıma girerek GnRH salınmasını sağlar. Salınan GnRH hipofizden gonadotropinlerin (FSH, LH) salınımını gerçekleştirir (58).

Kisspeptin reseptörünün tahribatı sonucunda normal cinsiyet gelişimi gerçekleşemez. GnRH nöronlarından GnRH normal düzeylerde sentez edilse dahi LH/FSH salınımının gerçekleşmediği bildirilmiştir. Ayrıca hipofiz gonadotropik hücrelere dışarıdan verilen GnRH'a karşı yanıtızsız kaldığı vurgulanmaktadır (59). Kiss-1, Kisspeptin ve Kiss1r sisteminin hipofiz ve gonadal eksen üzerindeki merkezi etkilerinin yanında, kardiyovasküler kontrol, kanser bilimi, plasenta da ve enerji metabolizması alanlarında da etkilerinin olduğu belirtilmektedir (60-62). Kisspeptin-10'un sıçanlara doza bağımlı şekilde intravenöz verilmesiyle in vitro ve in vivo insülin seviyesinin artmasına yol açtığı, kisspeptin-13'ün ise bazal insülin seviyelerini değiştirmedeği tespit edilmiştir (48, 63). Kisspeptinin merkezi sinir sistemi ile birlikte testis, ovaryum, bağırsaklar, pankreas, karaciğer, kalp, akciğerler, kas, böbrekler ve plasentada sentezlendiği gösterilmiştir (64).

Kisspeptinin ve reseptörlerinin böbrek fonksiyonunda önemli bir rol oynadığı ile ilgili ilk kanıt Shoji ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterilmiştir. Kisspeptin su, elektrolit ve H<sup>+</sup> iyonlarının tübül taşınması gibi renal tübül fonksiyonda biyolojik rollerinin olabileceği bildirilmektedir. Bu bulgular, kisspeptinlerin ve reseptörlerinin böbrek fonksiyonunun lokal düzenlemesinde ve kronik böbrek yetmezliği patofizyolojisi ile ilişkili olabileceği yönündeki ihtimalleri artırmaktadır (12).

Son zamanlarda kisspeptin ailesinin üyelerinin de vazoaktif aktiviteye sahip olabilecekleri ileri sürülmüştür. KP-10, insan umbilikal ven endotel hücrelerinin göçünü ve daha sonra vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) sinyalizasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (61).

İntrauterin gelişme geriliği ve preeklampsi olan kadınlarda dolaşımdaki kisspeptin düzeyleri azalmakta ve düşük maternal düzeyler erken doğum riski ve düşük ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, fonksiyonel plasental dokunun bir endokrin markeri olan kisspeptin ciddi obstetrik komplikasyonlarla ilişkili olabilir (65).

Serumda gebelik dışında kisspeptin düzeyinin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir. Kisspeptin reseptörlerinin fetal adrenal bezin neokorteksinde yüksek oranda eksprese olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar, fetal adrenalinin, gebelik sırasında görülen yüksek düzeydeki metastin için bir hedefi temsil edebileceğini göstermektedir (66).

Yapılan son çalışmalar kisspeptinin kan basıncı üzerine etkisinin olabileceği yönündedir. Ancak kisspeptinin kan basıncı üzerine olan etkisini in vivo olarak araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen 290-320 g ağırlığında erkek Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Standart laboratuvar koşullarında ( $22 \pm 1$  °C ve 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan bu sıçanlara yem ve su ad libitum olarak verildi. Çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek-1) onay alındı.

Tüm hayvanlar randomize olarak, her grupta 10 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Deneyle başlanmadan önce tüm gruptardaki sıçanların kan basıncı ölçümleri yapıldı.

**1. Kontrol (K):** Sıçanlara intravenöz fizyolojik serum enjeksiyonundan 1 hafta sonra yani çalışmamızın 2. haftasından itibaren deri altı yerleştirilen ozmotik mini pompalarla (Alzet, AP2002) 2 hafta boyunca fizyolojik serum verildi. Bu gruptaki sıçanlara musluk suyu verildi.

**2. Kisspeptin (KP):** sıçanlara intravenöz fizyolojik serum enjeksiyonundan 1 hafta sonra yani çalışmamızın 2. haftasından itibaren deri altı yerleştirilen ozmotik mini pompalarla (Alzet, AP2002) 2 hafta boyunca 50 nmol/ gün dozunda kisspeptin verildi. Bu gruptaki sıçanlara musluk suyu verildi.

**3. Hipertansiyon (H),** hipertansiyon geliştirmek için sıçanlara tek doz intravenöz L-NAME (1,5 mg/100 g vücut ağırlığına) enjeksiyonundan sonra içme suyu ile L-NAME (150 mg/L) ad libitum 3 hafta verildi. İntravenöz L-NAME verildikten 1 hafta sonra yani çalışmamızın 2. haftasından itibaren deri altına yerleştirilen ozmotik mini pompalarla (Alzet, AP2002) 2 hafta boyunca fizyolojik serum verildi.

**4. Hipertansiyon+Kisspeptin (H+ KP),** Hipertansiyon geliştirmek için sıçanlara tek doz intravenöz L-NAME (1,5 mg/100 g vücut ağırlığına) enjeksiyonundan sonra içme suyu

L-NAME (150 mg/L) ad libitum 3 hafta verildi. İntravenöz L-NAME verildikten 1 hafta sonra yani çalışmamızın 2. haftasından itibaren deri altı yerleştirilen ozmotik mini pompalarla (Alzet, AP2002) 2 hafta boyunca 50 nmol/ gün dozunda kisspeptin verildi.

### **Ozmotik Mini Pompaların Yerleştirilmesi**

Deneyleerde on dört gün süreyle 0,5 µl/saat infüzyon yapma özelliğine sahip mini ozmotik pompalar (Alzet 2002, Kanada) kullanıldı. Ozmotik pompalar, pompa seti içerisinde birlikte gelen ucu künt özel bir iğne yardımıyla (K ve H grupları için fizyolojik serum, KP ve H+KP grupları için ise 50 nmol kisspeptin) hava kabarcığı kalmayacak şekilde dolduruldu. İnfüzyon kitine bağlanan metal kanüllü bir kapak parçası yerleştirildi. Ozmotik mini pompalar steril tüplere alınarak salınım noktaları yukarıda olacak şekilde fizyolojik serum içerisinde 37°C etüvde, implantasyon zamanına kadar 12 saat bekletildi. Sıçanlara cerrahi işlem yapılmadan önce 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin anestezisi uygulandı. İki skapulanın arası traş edildi ve batikon ile cerrahi bölge temizlendi. Ardından orta noktasına insizyon yapıldı ve ozmotik mini pompalar subkutan olarak yerleştirildi kesi bölgesi dikildi. Dikişler atıldıktan sonra sıçanlara sırasıyla önce batikon ardından % 5 lidokain içeren anestol sürüldü. Sıçanlar anestezinin etkisinden çıkana kadar 37°C ısıtılmış masada bekletildi. Sıçanlara 14 gün boyunca 50 nmol/ gün dozunda kisspeptin salınım yapması sağlandı.

Sıçanların ilk haftadan itibaren her hafta tail cuff pletismografisi yöntemiyle kuyruktan kan basıncı ölçümü yapıldı. Her dört gruptaki sıçanlar 3. hafta son gün 24 saatlik idrarları toplandıktan sonra; 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında sol ventrikülden kanları ve her iki böbreği alınarak ötenazi uygulandı.

Böbreklerin kapsülü alındıktan sonra bisturi yardımı ikiye bölünerek bir yarısı patolojik inceleme için % 10'luk formalin solüsyonuna konuldu. Diğer parçalar buzlu fosfat tamponu içine konulup daha sonra kurutma kâğıdı ile kurutulup eppendorflara alındıktan hemen sonra sıvı azot içerisine konuldu. Kit prosedürlerine göre sağ böbreğin bir parçası 0.01 M PBS (pH 7.2) tamponu içinde homojenize edildi ardından 5000 g 5 dk +4°C'de santrifüj edilerek hazırlandı. Analizler yapılmaya kadar -80°C'de saklandı. Kit çalışılacak serum örnekleri oda ısısında 2 saat süre ile bekletildikten sonra 1500 g 15 dk +4°C'de santrifüj edilerek elde edildi. Diğer kan ve idrar örnekleri tüplere alınarak soğutmalı santrifüj ile +4°C'de 3000 devirde 15 dk santrifüj edildi ve süpernatantları eppendorf tüplerine alınarak analiz yapılana kadar kadar -80 °C'ne konuldu.

## Kan Basıncının Ölçülmesi

Tüm gruplardaki sıçanlara her hafta tail-cuff pletismografi yöntemi ile kuyruktan kan basıncı ölçümü yapıldı (Resim 1). Kan basıncı ölçümlerine başlanmadan önce ısı kabinlerinin ortam ısısı yükseltildi, sıçanlar restreinerına alındı ve uyum sağlaması, sakinleşmesi için 15-30 dk lık bekleme süreleri belirlendi. Bu süre sonunda kuyruk arterinin dilatasyonu sağlanmış ve ölçümlere hazır hale getirilmiş oldu. Tüm sıçanlardan sistolik, diyastolik ve ortalama kan basıncı ölçümleri yapıldı. Her hayvandan 1'er dakikalık aralıklarla toplam 5 adet olacak şekilde ölçüm yapıldı, en yüksek ve en düşük 2 ölçüm çıkarılarak, kalan 3 ölçümün ortalamaları alınarak değerlendirilmeler yapıldı. Ortalama arteriyel kan basıncının hesaplanması:

$$OKB = DKB + (SKB - DKB)/3$$

OKB: Ortalama kan basıncı

SKB: Sistolik kan basıncı

DKB: Diyastolik kan basıncı



Şekil 2. Tail-cuff pletismografi yöntemi

## Kullanılan Gereçler

### Kullanılan Cihaz ve Aletler

Kan basıncı ölçüm cihazı	: MAY NIBP250, Türkiye
Otoanalizör	: Abbot Architect c16, Amerika
Derin dondurucu	: Thermo Elektron Corporation, USA
Spektrofotometre	: Spectronic Unicam Helios $\alpha$ , İngiltere
Homojenizatör	: Polytron Kinematica AG, İsviçre
Soğutmalı santrifüj	: MPW 350R, Polonya
Hassas terazi	: Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre



Otomatik pipetler	: Eppendorf Multipipette/Repeate(Xstream), Almanya
Vorteks	: Heidolp, Almanya
pH metre	: InoLab, Level 1, Almanya
Manyetik karıştırıcı	: Biosan MSH-300,Litvanya
Orbital çalkalayıcı	: Biosan PSU – 10i, Letonya
Su banyosu	: Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere
Cam malzemeleri	: Deney tüpleri, beherler vb.
Elisa plaka okuyucu	: Bio Tek Instruments, Inc (USA)
Elisa plaka yıkayıcı	: Bio Tek Instruments, Inc (USA)

### **Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Tiyobarbitürük asit	: Merck, Almanya
Sodyum dodesil sülfat	: Merck, Almanya
Butanol	: Merck, Almanya
NG-nitro-L-arjinin metil ester	: Sigma, İsviçre
Piridin	: Merck, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
Asetik asit	: Merck, Almanya
KCl	: Merck, Almanya
DTNB	: Sigma, Almanya
NaCl	: Sigma, Almanya
NND	: Sigma, Almanya
CuSO <sub>4</sub>	: Panreac, İspanya
EDTA	: Merck, Almanya
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Merck, Almanya
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Merck, Almanya
Glisin	: Merck, Almanya
Kisspeptin	: Sigma Aldrich (M2816)
Nitrik oksit ELİSA kit	: Enzo (ADI-917-020)
Mikroalbuminuri ELİSA kit	: Elabscience (E- EL- R0025)
Aldosteron ELİSA kit	: Elabscience (E- EL- R0554)
Kisspeptin ELİSA kit	: Elabscience (E-EL-R2530)
Okside Glutasyon ELİSA kit	: Elabscience ( E-BC-K098)
Redükte Glutasyon ELİSA kit	: Elabscience ( E-BC-K030)

Kisspeptin reseptör antikoru : Lifespan Biosciences (LS-B15332)  
Ozmotik mini pompa : Alzet Katalog no: AP 2002

### **Biyokimyasal Çalışmalar**

Serum örnekleri oda ısısında çözüldükten sonra üre, kreatinin, sodyum, potasyum, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), CK; idrar kreatinin ve sodyum ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizör ile ölçüldü. Kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanarak kg/vücut ağırlığına bölündü.

$$\text{Kreatinin klirensi (ml/dk)} = \frac{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times 24 \text{ saatlik idrar hacmi}}{\text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 1440 \text{ dakika}}$$

Fraksiyonel sodyum atılımı % olarak hesaplandı.

$$\text{FeNa (\%)} = \frac{\text{İdrar Na (mmol/L)} \times \text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 100}{\text{İdrar kreatinin (mg/dl)} \times \text{Serum Na (mmol/L)}}$$

### **Doku Örneklerinin Homojenizasyonu**

Tüm gruplardan elde edilen böbrek dokuları çalışma yapılıncaya kadar -80 °C'de saklandı. 0.15 KCL solüsyonu, MDA ve GSH düzeyleri için; 0.01 M PBS (pH 7.2) tamponu NO düzeyleri için %10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Tüpler buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edilerek hazırlanan homojenatlar 1500 g 15 dk +4°C'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi. ELİSA çalışmalarında kullanılan doku homojenatları ise 0.01 M PBS (pH 7.2) tamponu ile %10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlanarak 5000 g 5 dk +4°C'de santrifüj edilerek hazırlandı.

### **Malondialdehit Miktar Tayini**

Lipit peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA'nın sıcak ve asit ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi sonucunda ortaya çıkan pembe renk spektrofotometrik yöntemle ölçüldü (67, 68).

#### **Çözeltiler**

%8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)

%20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5 olarak ayarlandı)

%0.8'lik Titobarbitürik asit (TBA)

N-Bütanol/Piridin (15:1)

**Deneyin yapılışı:** 0.2 ml doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 1 saat süre ile 95 °C'deki sıcak su banyosunda tutuldu. Musluk suyu altında soğutulduktan sonra üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin eklenerek 1 dakika vorteksle karıştırıldı. Organik fazın ayrılması için 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ayıraç körüne karşı absorbanslar okundu.

#### **Sonuçların hesaplanması;**

$$C \text{ (nmol/ml)} = \frac{A \times V_t \times 10^9}{E \times V_s \times L \times 10^3}$$

A : Absorbans

V<sub>t</sub> : Total reaksiyon hacmi

10<sup>9</sup>: Molün nanomole çevrilmesi

V<sub>s</sub> : Total reaksiyon içindeki numune sayısı

E : Tüketim katsayısı (1.56 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)

L : Küvet çapı

10<sup>3</sup> : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/mg protein olarak ifade edildi.

## **Glutasyon Düzeyinin Ölçümü**

Ellman ayıracı ile doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması glutasyon düzeyinin belirlenmesi için kullanıldı (69).

### **Çözeltiler**

Proteinsizleştirme çözeltisi: 120 g NaCl, 6.68 g metafosforik asit ve 0.8 g sodyum-EDTA atıldı ve 400 ml distile suda çözüldü.

0.3 M Disodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>),

1 mM Ellman ayıracı: 4 mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit, DNTB), 10 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

**Deneyin yapılışı:** 0.25 ml doku homojenatı üzerine 0.75 ml 0.15 M KCl ve 1.5 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 20 dk 3000 rpm'de santrifüj edildi. 0.5 ml süpernatant üzerine 2 ml 0.3 M disodyum sülfat ve 0.5 ml ellman ayıracı eklendi. Spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ayıraç körüne karşı absorbanlar okundu. Ekstinksiyon katsayısı ( $\sum 0.136 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak GSH düzeyleri hesaplandı. Sonuçlar GSH/mg protein olarak bildirildi.

### **Nitrat ve Nitrit Tayini**

Nitrat ve nitrit tayini Cartos ve Wakid yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü (70).

### **Çözeltiler**

Kadmiyum granülleri: 0.1 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.

Glisin-NaOH buffer: 7.5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol NaOH çözeltisi ile pH'sı 9.7'ye ayarlandı. Bu çözelti 1 ay 0-8 °C'de stabildir.

Sülfanilamid: 5 g sülfanilamid 3 mol sıcak HCl içinde çözülür ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.

N-naphthylethylene diamine (NNDA): 50 g NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü. 2 ay 0-8 °C'de stabildir.

Çinko sülfat (ZnSO<sub>4</sub>): 75 mM; 10.8 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

Bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>): 5 mM; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.

Sodyum hidroksit (NaOH): 55 mM; 1.1 g alınıp 500 ml ye tamamlandı.

Standartlar: NaNO<sub>2</sub> standardı 10 mM'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlandı (69 mg NaNO<sub>2</sub>, 380 mg borat (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O) 100 ml içinde çözüldü).

KNO<sub>3</sub> standardı: 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mM'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde çözüldü.

### **Deneyin yapılışı:**

Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml distile su, 2 ml ZnSO<sub>4</sub>, 2.5 ml NaOH ilave edilip 10 dakika oda ısısında beklettikten sonra 4000 g'de 20 dakika santrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkanır. 1-2 dakika içinde CuSO<sub>4</sub> içinde çalkalanarak bekletilip, 3 defa da glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dakika içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı ile kurutuldu.

Sonucun hesaplanması: KNO<sub>3</sub>'ün 10 milimolarlık çözeltisinden 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilisyonlar hazırlandı ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulandı. Tüm tüplere 1 ml glisin-NaOH tamponu konuldu. 1'er ml deproteinize numunelerden ve standartlardan alındı. 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplerin üzerine konuldu. 90 dakika oda ısısında karıştırılarak beklendi.

### **Nitrit Ölçümü**

Bu tüplerden 90 dk'lık süre sonunda 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml N-naphthiletlen diamin (NNDA) ilave edildi. Karıştırıldı ve 45 dakika beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

Direkt nitrit ölçümü: NaNO<sub>2</sub> standartları 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilisyonlar hazırlandı ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere konuldu. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklendi. 45 dakika sonra 545 nm'de okuma yapıldı (Şekil 2).

### **Nitrat Aktivitesinin Hesaplanması**

Nitrit değerleri bulunan nitrat değerlerinden çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç  $\mu\text{mol/mg}$  protein olarak hesaplandı.



**Şekil 3. NO standart çalışması regresyon grafiği.**

### **Böbrek Doku Protein Düzeyinin Lowry Yöntemi ile Ölçülmesi**

Doku protein düzeyleri, alkali bakır tartarat ayırıcının peptid bağları ile kompleks yapması prensibine dayanan Lowry yöntemi ile saptandı (71). Her 7 yada 8 amino asit artığı 1 bakır atomunu bağlar. Fenol ayıracı; bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mavimor renk oluşur. Oluşan renk 660 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü.

### **Çözeltiler:**

Fenol ayıracı: 2 N folin ayırıcından 2.5 ml alınarak distile su ile 45 ml’ye tamamlanır. Bu ayıraç her kullanım için taze hazırlanmalıdır.

Alkali bakır ayıracı: 10 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.25 g Na-K Tartarat, 0.05 g CuSO<sub>4</sub>; ayrı ayrı tartılarak 0.5 N NaOH içinde balon jodede çözülür ve çözelti 0.5 N NaOH ile 100 ml’ye tamamlanır. Bu çözelti 4°C’de 1 ay saklanabilir.

%5 mg’lık Albumin standardı: %5 mg’lık albumin standardı hazırlamak için mevcut 5 g/dl’ lik albumin standardı kullanılmıştır. Albumin solüsyonundan 0.1 ml alınarak ve distile su ile 100 ml’ye tamamlanarak %5 mg’lık albumin standardı elde edilmiş olur. Deneyde kullanılacak standart protein konsantrasyonu %2 mg olarak belirlendiğinden, stok protein standardı sulandırılarak istenilen konsantrasyon elde edildi.

**Deneysel işlemler:** Doku süpernatantları 1/20 oranında serum fizyolojik ile sulandırılıp vorteks yardımı ile iyice karıştırılarak protein ölçümü için elverişli hale getirildi.

Numaralandırılmış deney, kör ve standart tüpleri hazırlandı. Deney tüpüne 1/50 oranında sulandırılmış olan süpernatanttan 0.5 ml standart tüpüne %2'lik standarttan 0.5 ml ve kör tüpüne de 0.5 ml distile su konuldu. Ardından her tüpe 0.5 ml alkali bakır ayırıcı ilave edildi. Tüpler vortekslenerek iyice karışmaları sağlandı. 10 dakika oda ısısında bekletildikten sonra her tüpe 2 ml fenol ayırıcı eklendi ve tekrar vortekslendi. 30 dakika 37°C'lik su banyosunda bekletildikten sonra; tüplerin köre karşı absorbanları 660 nm. dalga boyunda spektrofotometre ile okundu.

### **Protein Düzeyinin Hesaplanması**

Protein değerlerinin hesaplanması için aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Protein miktarı (\% mg protein)} = \frac{\text{Deney absorbanı} \times 20 \times 2 \times 2}{0.042}$$

20: Süpernatantın serum fizyolojik ile sulandırılma katsayısı

2: Süpernatantın 1 ml' ye tamamlanma katsayısı

2: Protein standardının konsantrasyonu

0.042: Standart proteinin absorbanı

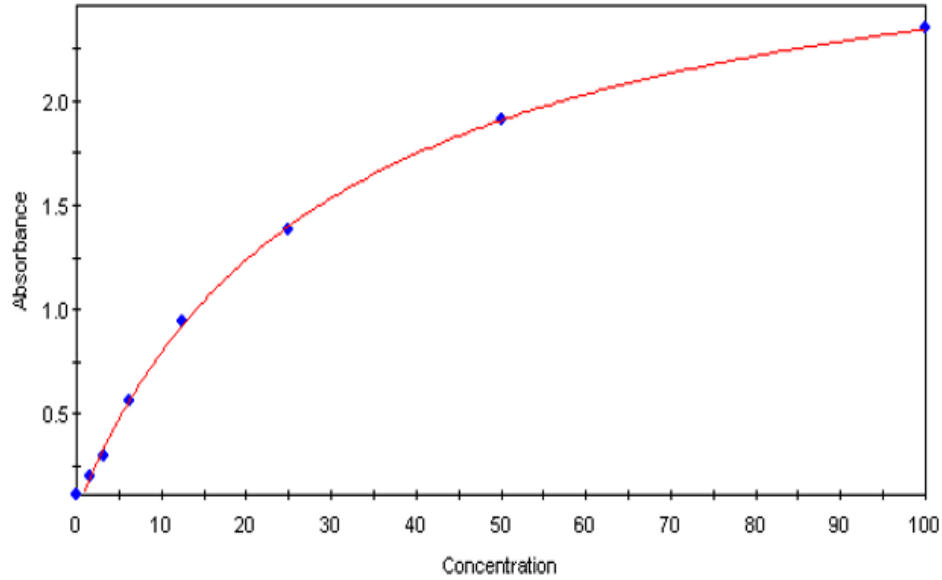
Protein miktarı (% mg protein) = Deney Absorbanı x 1904,76 olarak formüle edildi.

Elde edilen % mg protein, 100 ml'deki protein değeridir. Sonuç 100'e bölünerek protein miktarı mg/ml olarak hesaplandı.

### **Mikroalbuminuri Düzeylerinin Ölçümü**

İdrar örneklerinde yapılan mikroalbumin ölçümleri Elabscience Rat MAU ELISA (katalog no: E-EL-R0025) ticari test kiti kullanılarak yapıldı. Deneysel çalışmalar yapıncaya kadar -80°C'de saklanan örnekler ve kullanılacak çözeltiler oda ısısına getirildi. Kit prosedüründe belirtilen örnek ve standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 100 µL pipetlendi. Nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 90 dk etüvde bekletildi. Bu sürenin sonunda plaka içeriği dikkatli bir şekilde boşaltılarak, psedüründe belirtildiği gibi 100 kat dilüe edilen biotinlenmiş antikor 100 µL hacminde örnek ve standartlar olmak üzere tüm kuyucuklara pipetlendi, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Ardından laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 3 kez yıkama yapıldı. Prosedürde belirtildiği gibi 100 kat dilüe edilen HRP-Konjugat antikor her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 30 dk inkübe edildi. Ardından otomatik plaka temizleyici ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez yıkama yapıldı. Yıkamanın

ardından 90 µL substrat solüsyonu pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C’de 15 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm’de ELİSA reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. Çalışmanın standart regresyon grafiği Şekil 3’de verilmiştir.



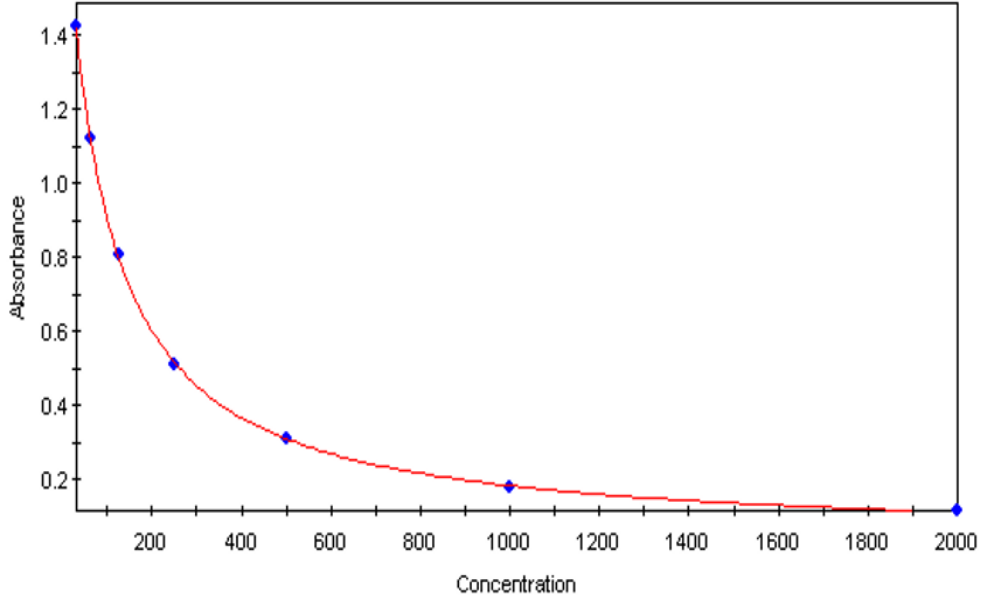
**Şekil 4. Mikroalbuminüri (MAU) standart çalışması regresyon grafiği**

#### **Aldosteron Düzeylerinin Ölçümü**

Serum ve idrar örneklerinde yapılan aldosteron ölçümleri Elabscience Rat ALD ELISA (katalog no: E-EL-R0554) ticari test kiti kullanılarak yapıldı. Deneysel çalışmalar yapılıncaya kadar -80°C’de saklanan örnekler ve kullanılacak çözeltiler oda ısısına getirildi. Kit prosedüründe belirtilen örnek ve standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 50 µL pipetlendi. Kit prosedüründe belirtildiği üzere 100 kat dilüe edilen biotinlenmiş antikor 50 µL hacminde örnek ve standartlar olmak üzere tüm kuyucuklara pipetlendi, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C’de 45 dk etüvde inkübasyona bırakıldı. Ardından laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 3 kez yıkama yapıldı. Prosedürde belirtildiği gibi 100 kat dilüe edilen HRP-Konjugat antikorunu her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C’de 30 dk inkübe edildi. Ardından otomatik plaka temizleyici ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından 90 µL substrat solüsyonu pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C’de 15 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu



ve 450 nm’de elisa reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. Çalışmanın standart regresyon grafiği Şekil 4’de verilmiştir.

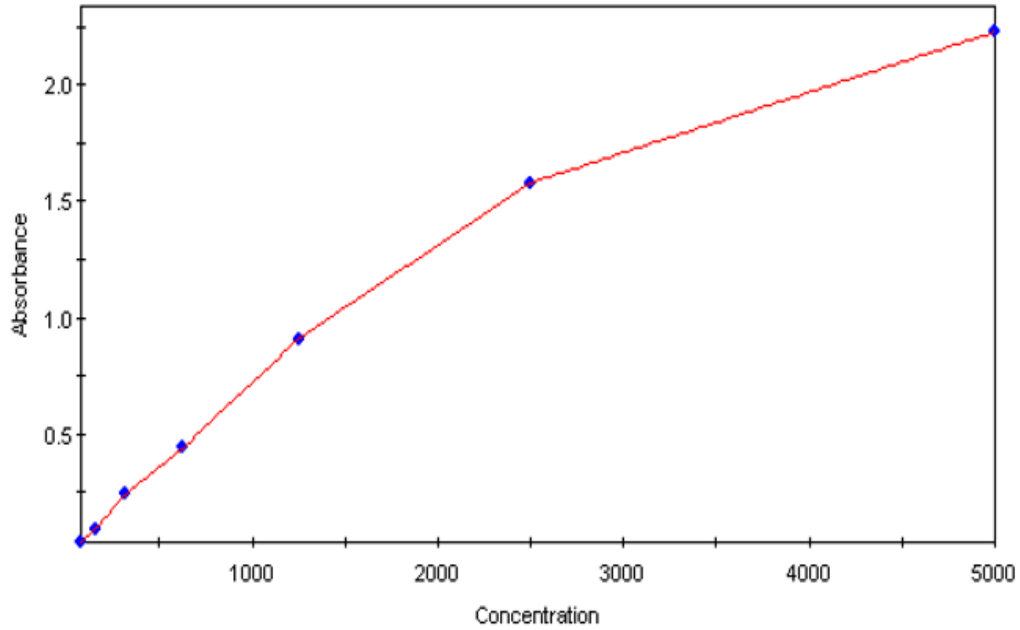


**Şekil 5. Aldosteron standart çalışması regresyon grafiği**

### **Kisspeptin Düzeyinin Ölçülmesi**

Serum, idrar ve doku örneklerinde Kisspeptin düzeyinin değerlendirilmesi için Elabscience markalı ELİSA (Cat. No: E-EL-R2530) kiti kullanıldı. Çalışma önce -80C’de muhafaza edilen serum, idrar ve doku örnekleri ve ayrıca kit prosedürüne uygun olarak muhafaza edilen tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Kit prosedüründe belirtilen örnek ve standartlar hazırlanarak ilgili kuyucuklara 100 µL pipetlendi ve 37°C’de 90 dk etüvde inkübasyona bırakıldı. Ardından kuyucuklardaki fazla çözelti uzaklaştırıldı ve kit prosedüründe belirtildiği üzere 100 kat dilüe edilen biotinlenmiş antikor 100 µL hacminde örnek ve standartlar olmak üzere tüm kuyucuklara pipetlendi, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C’de 60 dk etüvde inkübasyona bırakıldı. Ardından laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 3 kez yıkama yapıldı. Prosedürde belirtildiği gibi 100 kat dilüe edilen HRP-Konjugat antikorunu her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C’de 30 dk inkübe edildi. Ardından otomatik plaka temizleyici ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez yıkama yapıldı. Yıkamanın ardından 90 µL substrat solüsyonu pipetlenerek, nazikçe karıştırıldıktan sonra 37°C’de 15 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu pipetlenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm’de

elisa reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. Çalışmanın standart regresyon grafiği Şekil 5'te verilmiştir.



**Şekil 6. Kisspeptin standart çalışması regresyon grafiği**

### **Histolojik Çalışmalar**

Işık mikroskopik inceleme: Sagittal olarak ikiye bölünen sağ böbrek dokularının birer yarısı %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda 24 saat boyunca fikse edildi. Dokular parafin bloklara gömülerek, 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler ışık mikroskopunda patolojik değerlendirme için hematoksilin-eozin (HE) ile boyandı. Renal hasarın derecesini değerlendirmek için semikantitatif bir skala ile skorlama yapıldı. Renal hasarın derecesi; tübüler hücre nekrozu, sitoplazmik vakuol oluşumu, tübüler dilatasyon değerlendirilerek belirlendi. Skala değerlendirmesi:

- 0: Normal böbrek
- 1: Minimal hasar (%0-5 tutulum)
- 2: Hafif dereceli hasar
- 3: Orta dereceli hasar (%25-75 tutulum)
- 4: Şiddetli hasar (%75-100 tutulum) olarak değerlendirilmiştir.

Ek olarak kast gözlenen tübüller % cinsinden ifade edildi. Glomerüler skleroz yüzde (%) olarak, peritübüler fibrozis ise ortalama pozitif boyama alanı ile değerlendirildi.

## **İmmünohistokimyasal Değerlendirme**

İmmünohistokimyasal inceleme için, formalin tesbitli, parafine gömülü dokulardan hazırlanan 4 µm kalınlıktaki kesitler kullanıldı. Doku kesitleri, elektrostatik yüklü lamlara alındı ve 70 °C'de en az 1 saat kurutuldu. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm immünohistokimyasal boyama süreci tam otomatik immünohistokimya boyama cihazında (Ventana BenchMark Ultra, Ventana Medical System, Tucson, AZ) gerçekleştirildi. İşlem için uygun, biyotinsiz, HRP multimer bazlı, hidrojen peroksit substrat ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni içeren hazır kit (ultraView Universal DAB Detection Kit, Cat: 760-500) kullanıldı. Olgulara göre farklılık göstermekle birlikte tanı ve ayırıcı tanı için uygulanan immünohistokimyasal antikor paneli (KISS1R / GPR54, LS-B15332, iNOS Spring REF E3744, eNOS Neomarkers RB-9279-P) ve sitokeratini içermektedir. Zıt boyaması boyama cihazında, hematoksilen ve mavileştirici solüsyon ile tanımlanan kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaflandırılması ve lamel ile kapatılması aşamaları elde yapılarak işlem sonlandırıldı. Tüm immünopozitif hücreler, 10 büyük büyütme alanının (x200) rastgele bir bölümünde değerlendirildi. Her vaka için boyanmış hücreler puanlandı ve yüzde olarak verildi. Boyama yaygınlığı 0 (% 0-5), 1 (% 6-24), 2 (% 25-49), 3 (% 50-74) ve 4 ( $\geq$ % 75) olarak derecelendirildi. Boyanma yoğunluğu, 0 (negatif), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (güçlü) olarak derecelendirildi. 0-300 arasında immünoreaktivite skoru almak için iki değer çarpıldı (72-75).

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak gösterildi. Niceliksel verilerin normal dağılım uygunluğu Shapiro Wilk test ile incelendi. Çalışmada 4 grup bulunmasına karşın tüm grupların 2'li karşılaştırmalarıyla ilgilenilmediğinden ANOVA dizaynları yerine Kontrol – Kisspeptin, Kontrol – Hipertansiyon ve Hipertansiyon – Hipertansiyon + Kisspeptin grupları arasında normal dağılım gösteren değişkenlerin karşılaştırılmasında Student t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalında SPSS20.0 ( Lisans No: 10240642 ) paket programı kullanılarak yapıldı.

## BULGULAR

Çalışmamızda sıçanlara L-NAME verilmesiyle oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde 4 grupta 40 adet Spraque-Dawley erkek sıçan ile çalışıldı. Deney protokolünün 21. gününde anestezi altında sıçanlardan kan ve doku örnekleri alındı. Çalışma boyunca gruplarda herhangi bir ölüm görülmedi. Ancak hipertansiyon grubundan bir sıçandan son gün kan basıncı ölçümü alınamadı, anestezi altında göğüs bölgesi açıldıktan sonra iç kanama geçirdiği görüldü. Bu sıçanın verileri istatistiksel analizlerde kullanılmadı.

Gruplara ait böbrek dokusu GSH düzeyi  $\mu\text{mol/mg}$  protein, MDA düzeyi  $\text{nmol/mg}$  protein, NO düzeyi  $\mu\text{mol/mg}$  protein; serum ve idrar kisspeptin, aldosteron düzeyleri  $\text{pg/ml}$ , NO düzeyi  $\mu\text{mol/L}$ , sodyum, potasyum düzeyi  $\text{mmol/L}$ , üre, kreatinin düzeyleri  $\text{mg/dl}$ , ALT, AST ve CK düzeyleri  $\text{U/L}$ , kreatinin düzeyi  $\text{mg/dl}$ , MaU düzeyi  $\mu\text{g/ml}$ , kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplandı. Fraksiyonel sodyum atılımı (FeNa) % olarak hesaplandı. Deney gruplarına ait biyokimyasal veriler Tablo 2, Tablo 3 ve Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 2. Grupların serum parametrelerine ait verileri**

<b>Gruplar</b>	<b>Kontrol (K) (n=10)</b>	<b>Kisspeptin (KP) (n=10)</b>	<b>Hipertansiyon (H) (n=9)</b>	<b>Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)</b>	<b>p&lt;0,05 ise anlamlı</b>
<b>Parametreler</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	
<b>Kisspeptin (pg/ml)</b>	102,77 ± 47,87	73,99 ± 22,77	90,86 ± 20,21	85,09 ± 28,49	K-KP = 0,103 K-H = 0,486 H - H+KP = 0,103
<b>Aldosteron (pg/ml)</b>	219,02 ± 34,35	292,49 ± 105,33	235,43 ± 97,91	320,88 ± 144,27	K-KP = 0,121 K-H = 0,424 H- H+KP = 0,155
<b>NO (µmol/L)</b>	46,80 ± 7,74	42,55 ± 6,73	38,89 ± 6,78	25,20 ± 2,58	K-KP = 0, 206 K-H = 0,030 H-H+KP = 0,000
<b>Sodyum (mmol/L)</b>	143,20 ± 0,92	141,90 ± 5,11	143,44 ± 4,03	142,00 ± 5,27	K-KP = 0,818 K-H = 0,407 H-H+KP = 0,457
<b>Potasyum (mmol/L)</b>	5,82 ± 0,66	5,49 ± 0,64	5,71 ± 0,42	5,00 ± 0,36	K-KP = 0,139 K-H = 0,789 H-H+KP = 0,002
<b>Üre (mg/dl)</b>	36,90 ± 5,11	35,20 ± 4,87	37,89 ± 2,57	40,00 ± 6,53	K-KP = 0,456 K-H = 0,608 H-H+KP = 0,364
<b>Kreatinin (mg/dl)</b>	0,27 ± 0,09	0,27 ± 0,05	0,24 ± 0,05	0,25 ± 0,05	K-KP = 0,576 K-H = 0,678 H-H+KP = 0,814
<b>ALT (U/L)</b>	66,00 ± 11,35	62,10 ± 12,82	72,11 ± 4,20	76,80 ± 8,27	K-KP = 0,481 K-H = 0,140 H-H+KP = 0,137
<b>AST (U/L)</b>	199,30 ± 29,17	209,60 ± 39,99	208,67 ± 25,35	187,40 ± 20,87	K-KP = 0,519 K-H = 0,464 H-H+KP = 0,061
<b>CK (U/L)</b>	1311,30 ± 503,00	1247,00 ± 349,74	1419,56 ± 346,30	1162,00 ± 256,76	K-KP = 0,744 K-H = 0,589 H-H+KP = 0,081

**Tablo 3. Grupların böbrek dokusu parametrelerine ait verileri**

<b>Gruplar</b>	<b>Kontrol (K) (n=10)</b>	<b>Kisspeptin (KP) (n=10)</b>	<b>Hipertansiyon (H) (n=9)</b>	<b>Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)</b>	<b>p&lt;0,05 ise anlamlı</b>
<b>Parametreler</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	
<b>MDA (nmol/mg protein)</b>	0,18 ± 0,05	0,15 ± 0,03	0,33 ± 0,07	0,17 ± 0,01	K-KP=0,151 K-H=0,001 H-H+KP=0,000
<b>GSH (µmol/mg protein)</b>	8,54 ± 3,73	8,40 ± 3,82	11,50 ± 4,37	18,92 ± 6,49	K-KP=0,934 K-H=0,141 H-H+KP=0,011
<b>NO (µmol/mg protein)</b>	196,98 ± 21,21	188,89 ± 26,49	193,99 ± 19,62	190,04 ± 27,94	K-KP=0,461 K-H=0,755 H-H+KP=0,724

**Tablo 4. Grupların idrar parametrelerine ait verileri**

<b>Gruplar</b>	<b>Kontrol (K) (n=10)</b>	<b>Kisspeptin (KP) (n=10)</b>	<b>Hipertansiyon (H) (n=9)</b>	<b>Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)</b>	<b>p&lt;0,05 ise anlamlı</b>
<b>Parametreler</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	<b>Ort±SD</b>	
<b>Kisspeptin (pg/ml)</b>	54,03 ± 21,15	60,44±29,88	64,30±47,50	51,09±43,74	K-KP=0,595 K-H=1,000 H-H+KP=0,145
<b>Aldosteron (pg/ml)</b>	1732,84 ± 565,97	1877,49 ± 459,85	1728,08 ± 604,21	2031,21 ± 565,02	K- KP =0,538 K-H=0,986 H-H+ KP =0,538
<b>NO (µmol/L)</b>	263,32±53,93	221,07±49,8 5	211,71±62,81	206,91±41,54	K-KP=0,086 K-H=0,071 H-H+KP=0,845
<b>MaU (µg/ml)</b>	21,34±14,60	16,86±7,13	19,08±16,94	21,80±16,91	K-KP=0,683 K-H=0,744 H-H+KP=0,568
<b>Kreatinin (mg/dl)</b>	89,89±10,56	90,28±11,89	87,39±22,98	93,95±15,44	K-KP=0,939 K-H=0,760 H-H+KP=0,939
<b>Sodyum (mmol/L)</b>	164,60±33,51	153,90±55,3 3	148,67±50,86	143,60±19,09	K-KP=0,607 K-H=0,439 H-H+KP=0,607
<b>Kreatinin klirensi (ml/dk)</b>	3,37±0,98	2,94 ±0,85	3,44±1,18	3,55±0,95	K-KP=0,307 K-H=0,891 H-H+KP=0,307
<b>FeNa (%)</b>	0,35±0,16	0,32±0,12	0,27±0,04	0,27±0,09	K-KP=0,715 K-H=0,171 H-H+KP=0,715
<b>İdrar hacimleri (ml)</b>	13,55 ± 1,76	12,20 ± 2,29	13,22 ± 1,95	13,15 ± 2,19	K-KP=0,204 K-H=0, 263 H-H+KP=0,617

**Tablo 5. Grupların sistolik kan basıncı parametrelerine ait verileri**

Gruplar	Kontrol (K) (n=10)	Kisspeptin (KP) (n=10)	Hipertansiyon (H) (n=9)	Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)	p<0,05 ise anlamlı
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	
1. gün	130,63 ± 3,96	130,60 ± 3,34	146,19 ± 2,19	145,83 ± 6,99	K-KP = 0,544 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,870
1. hafta	127,30 ± 2,63	128,03 ± 1,91	149,22 ± 5,40	152,07 ± 8,87	K-KP = 0,344 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,513
2. hafta	127,97 ± 2,73	128,37 ± 1,95	158,00 ± 9,56	143,37 ± 6,66	K-KP = 0,569 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,002
3. hafta	126,07 ± 2,17	128,10 ± 1,22	167,52 ± 9,00	151,83 ± 16,68	K-KP = 0,128 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,022

**Tablo 6. Grupların diyastolik kan basıncı parametrelerine ait verileri**

Gruplar	Kontrol (K) (n=10)	Kisspeptin (KP) (n=10)	Hipertansiyon (H) (n=9)	Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)	p<0,05 ise anlamlı
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	
1. gün	109,40 ± 8,72	108,10 ± 7,71	121,0 ± 5,70	121,13 ± 9,79	K-KP = 0,677 K-H = 0,004 H-H+KP = 0,806
1. hafta	102,57 ± 5,86	103,63 ± 4,66	123,40 ± 8,69	121,46 ± 11,34	K-KP = 0,520 K-H = 0,001 H-H+KP = 0,935
2. hafta	100,17 ± 7,58	102,80 ± 4,24	128,11 ± 14,24	119,77 ± 9,25	K-KP = 0,449 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,253
3. hafta	104,83 ± 3,71	100,93 ± 6,93	139,56 ± 9,88	124,22 ± 14,45	K-KP = 0,173 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,017



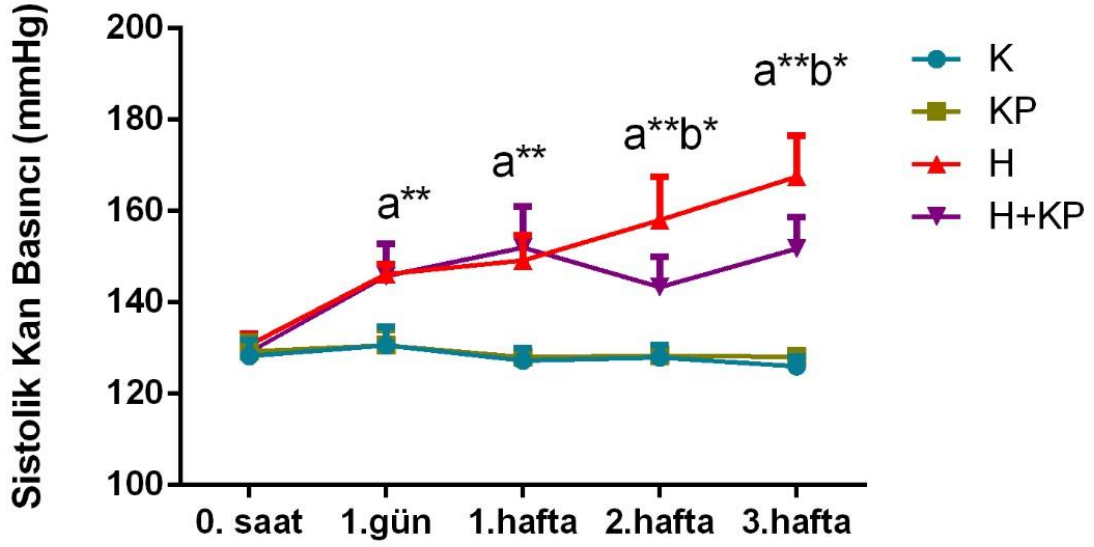
**Tablo 7. Grupların ortalama arteriyel kan basıncı parametrelerine ait verileri**

Gruplar	Kontrol (K) (n=10)	Kisspeptin (KP) (n=10)	Hipertansiyon (H) (n=9)	Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)	p<0,05 ise anlamlı
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	
1. gün	116,48 ± 6,98	115,60 ± 5,59	129,42 ± 4,16	129,37 ± 8,51	K-KP = 0,760 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,986
1. hafta	110,81± 4,43	111,77 ± 3,51	132,01± 7,20	131,67 ± 10,43	K-KP = 0,599 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,34
2. hafta	109,43 ± 5,74	111,32 ± 3,37	138,07 ± 12,47	127,63 ± 8,16	K-KP = 0,381 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,052
3. hafta	111,91± 2,86	109,99 ± 4,89	148,88 ± 9,22	136,54 ± 18,88	K-KP = 0,472 K-H = 0,000 H-H+KP = 0,034

**Tablo 8. Grupların kalp hızı parametrelerine ait verileri**

Gruplar	Kontrol (K) (n=10)	Kisspeptin (KP) (n=10)	Hipertansiyon (H) (n=9)	Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)	p<0,05 ise anlamlı
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	
1. gün	346,27 ± 26,96	352,23 ± 21,00	312,15 ± 20,41	307,30 ± 20,50	K-KP=0,650 K-H=0,007 H-H+KP=0,683
1. hafta	345,37 ± 26,16	349,23 ± 22,27	314,15 ± 25,86	312,70 ± 19,84	K-KP=0,307 K-H=0,010 H-H+KP=0,653
2. hafta	328,50 ± 29,37	345,57 ± 14,37	312,41 ± 16,00	325,53 ± 25,22	K-KP=0,070 K-H=0,050 H-H+KP=0,253
3. hafta	347,57± 32,34	352,23 ±10,32	353,63 ± 25,82	336,27 ± 25,53	K-KP=0,880 K-H=0,838 H-H+KP=0,165

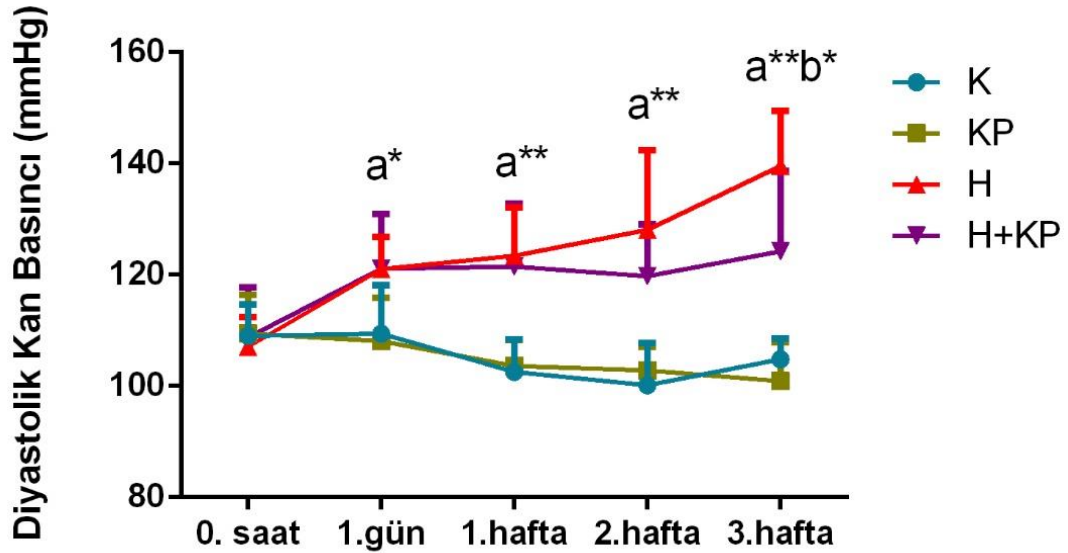
Sistolik kan basınçları gruplar arası değerlendirildiğinde K ve H grupları arasında 1.,2. ve 3. haftalarda p= 0, 000 düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. Gözlenen bu artış L-NAME ile deneysel hipertansiyon modeli oluştuğunu göstermektedir. K ve KP grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. H ve H+KP grupları arasında ise 3. hafta p=0,022 düzeyinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Gruplara ait sistolik kan basıncı değerlerinin dağılımı

\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,001$ ; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

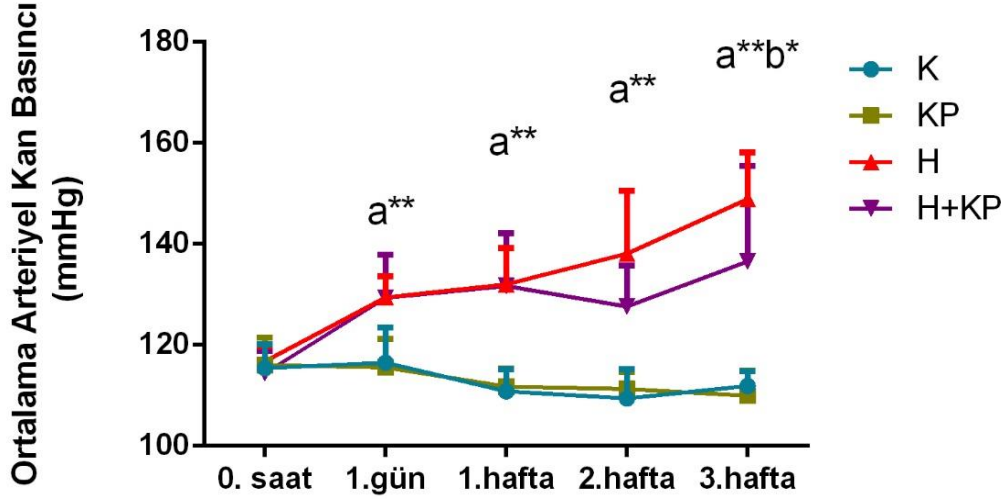
Gruplar arası diyastolik kan basınçları değerlendirildiğinde K ve H grupları arasında 1. hafta  $p = 0,004$  düzeyinde, 2.hafta  $p = 0,001$  düzeyinde, 3. ve 4. hafta  $p = 0,000$  düzeyinde anlamlı bir artış gözlemlendi. K ve KP grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. H ve H+KP grupları arasında ise 4. hafta  $p = 0,017$  düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi (Şekil 8).



Şekil 8. Gruplara ait diyastolik kan basıncı değerlerinin dağılımı

\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,001$ ; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

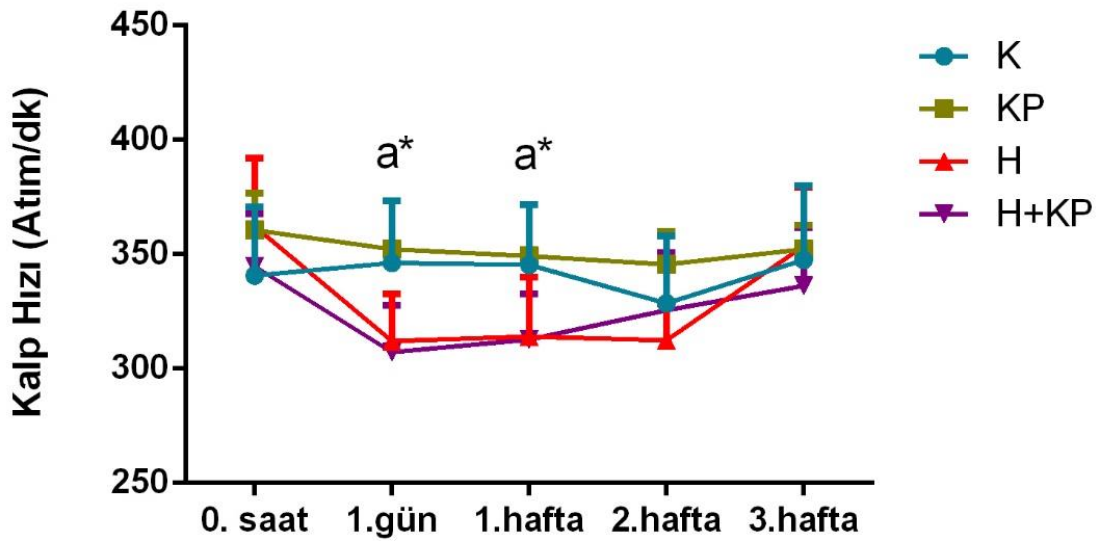
Ortalama arteriyel kan basınçları gruplar arası değerlendirildiğinde K ve H grupları arasında 1., 2., 3. ve 4. Hafta  $p = 0,000$  düzeyinde anlamlı bir artış gözlemlendi. H ve H+KP grupları kıyaslandığında 4. hafta  $p = 0,034$  düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 9).



Şekil 9. Gruplara ait arteriyel kan basıncı değerlerinin dağılımı

\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,001$ ; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

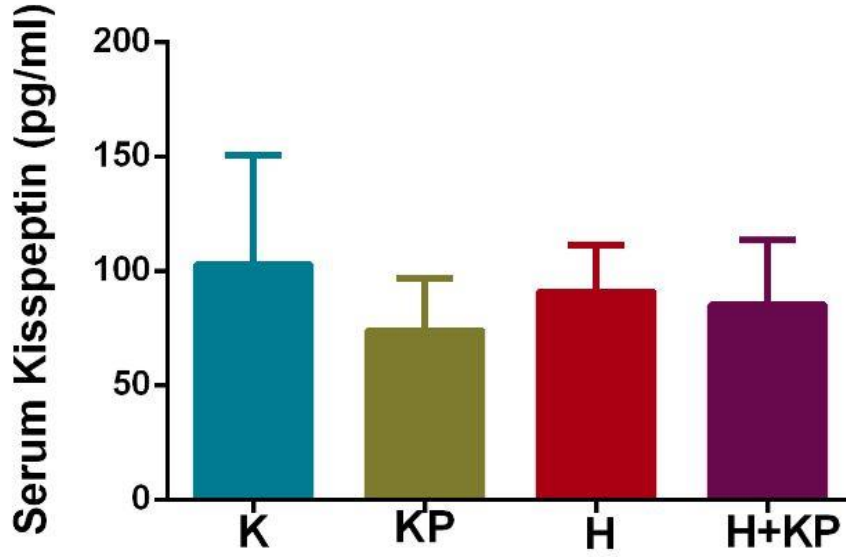
Kalp hızı gruplar arası karşılaştırıldığında K ve H grupları arasında 1. hafta  $p = 0,007$  ve 2. hafta  $p = 0,01$  düzeyinde anlamlı azalma gözlemlendi. K ve KP grupları ile H ve H+KP grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 10).



Şekil 10. Gruplara ait kalp hızı değerlerinin dağılımı

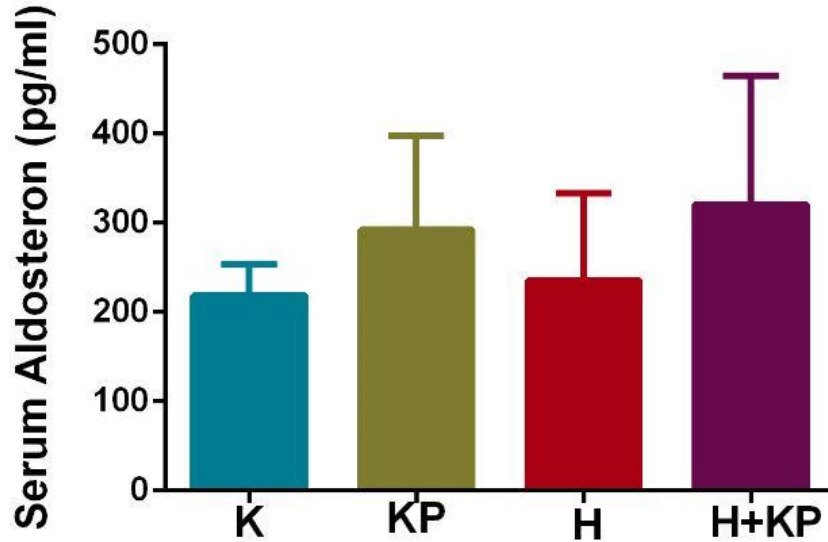
\*:  $p < 0,05$ ; a: kontrol ile karşılaştırma

Gruplar arası serum kisspeptin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 11).



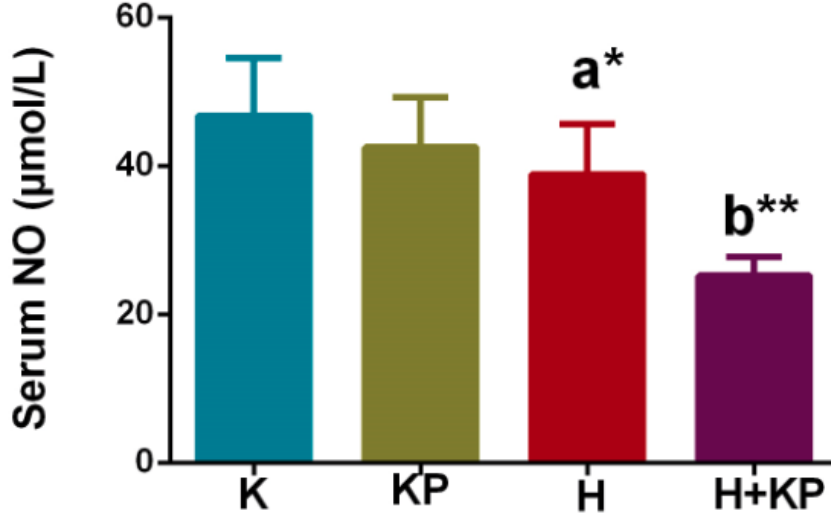
Şekil 11. Gruplara ait serum kisspeptin değerlerinin dağılımı

Gruplar arası serum aldosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 12).



Şekil 12. Gruplara ait serum aldosteron değerlerinin dağılımı

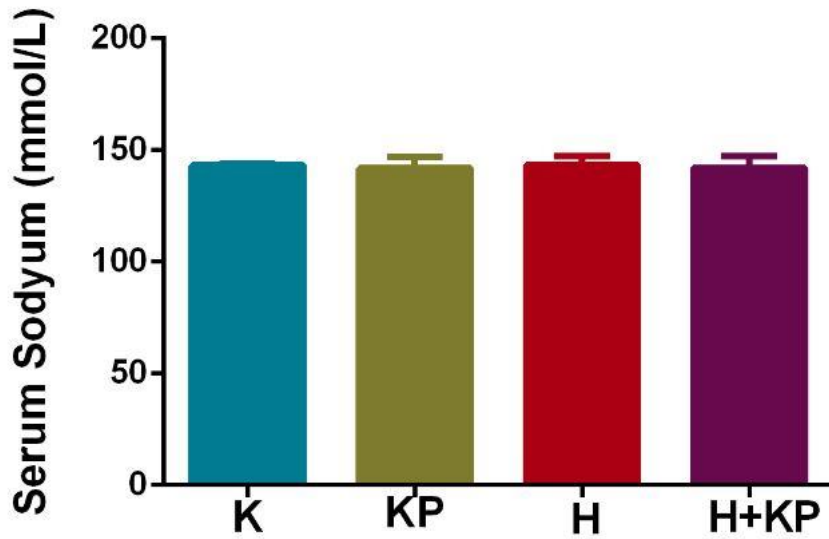
Gruplar arası serum NO düzeylerinde K ve H grupları arasında karşılaştırma yapıldığında H grubunda  $p = 0,03$  düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. H ve H+KP grupları arasında  $p = 0,000$  düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. (Şekil 13).



Şekil 13. Gruplara ait serum NO değerlerinin dağılımı

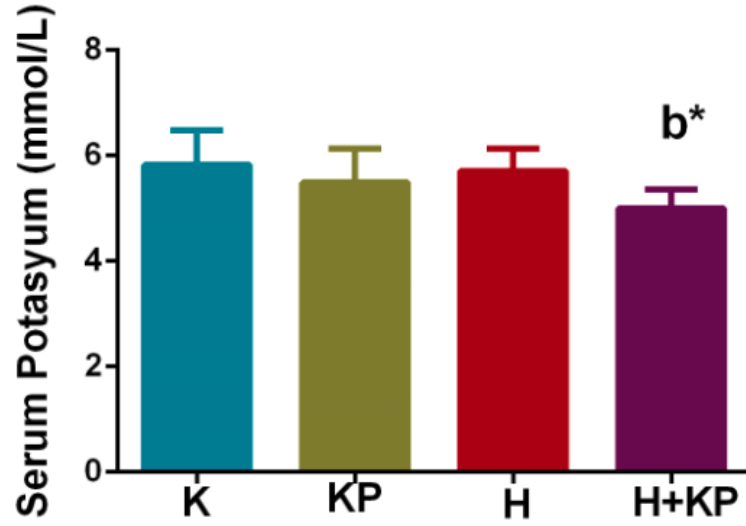
\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,001$ ; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

Gruplar arası serum sodyum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi (Şekil 14).



Şekil 14. Gruplara ait serum sodyum değerlerinin dağılımı

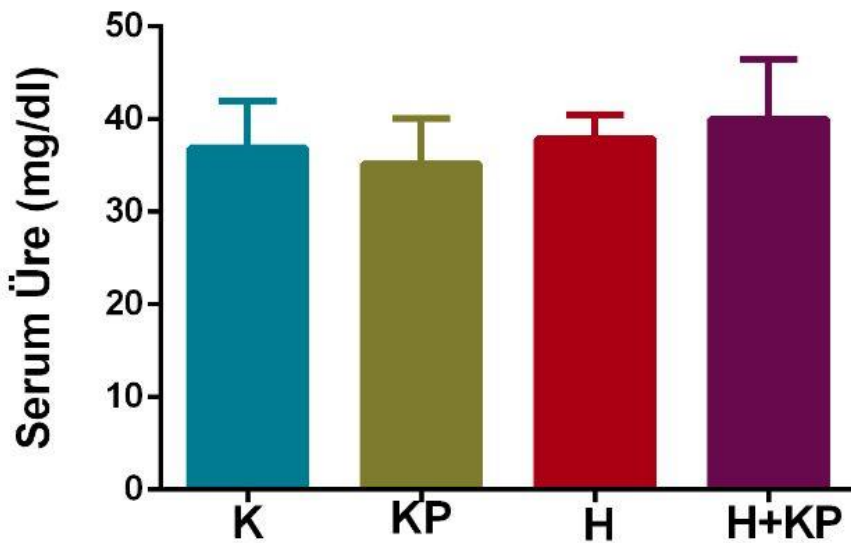
Gruplar arası serum potasyum düzeylerinde H ve H+KP grupları arasında H+KP grubunda  $p = 0,002$  düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi (Şekil 15).



Şekil 15. Gruplara ait serum potasyum değerlerinin dağılımı

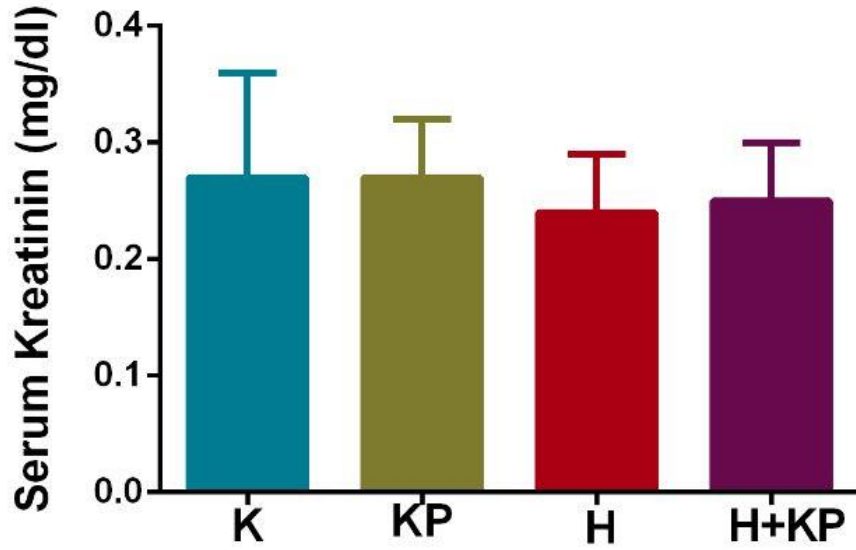
\*:  $p < 0,05$ ; b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

Gruplar arası üre düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi (Şekil 16).



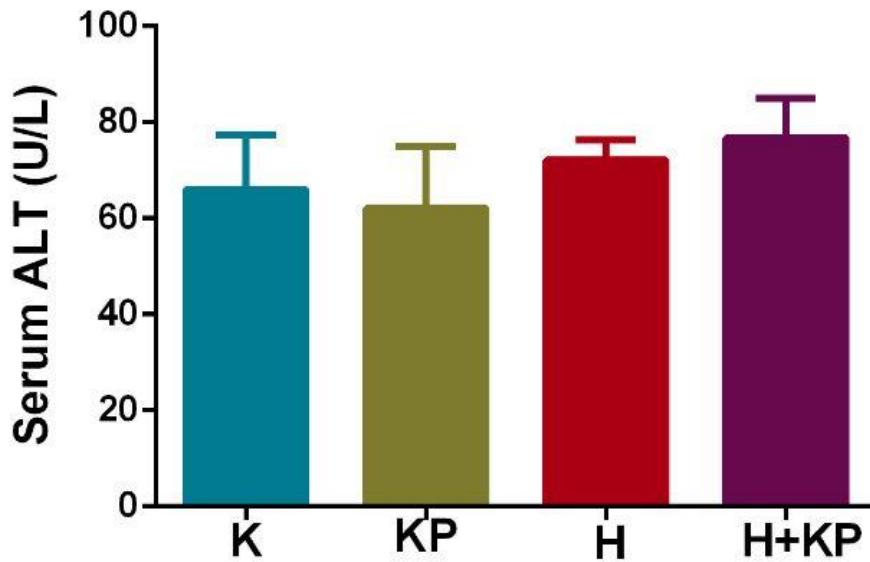
Şekil 16. Gruplara ait üre değerlerinin dağılımı

Serum kreatinin düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 17).

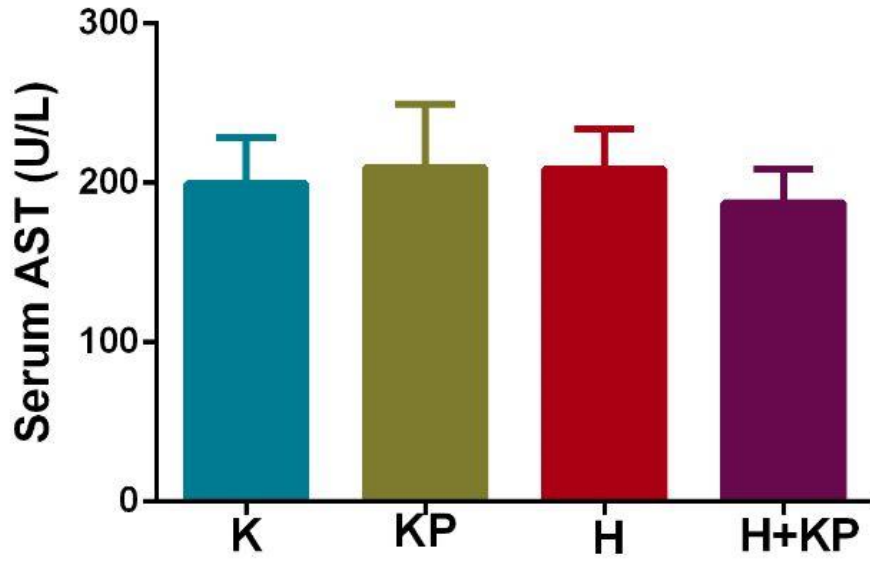


Şekil 17. Gruplara ait serum kreatinin değerlerinin dağılımı

ALT ve AST düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 18 ve Şekil 19).

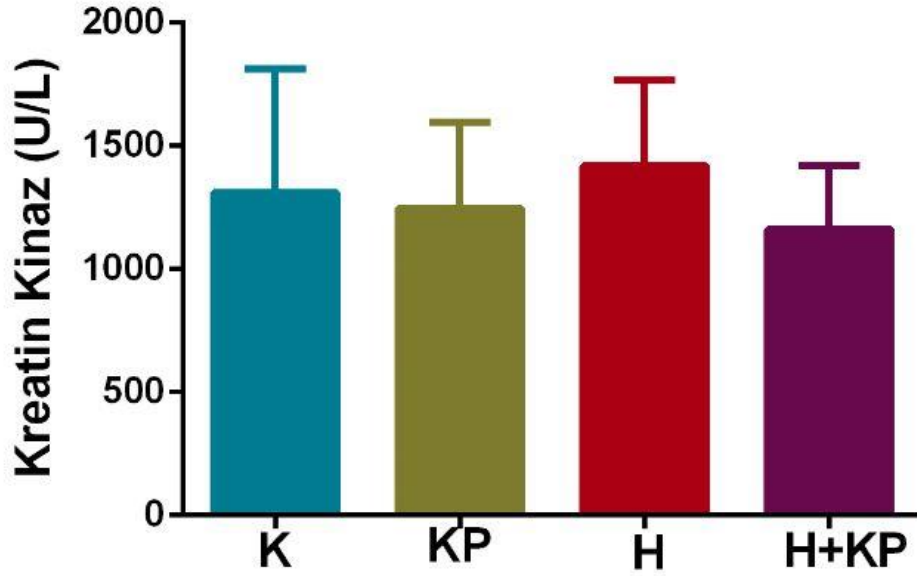


Şekil 18. Gruplara ait ALT değerlerinin dağılımı



Şekil 19. Gruplara ait AST değerlerinin dağılımı

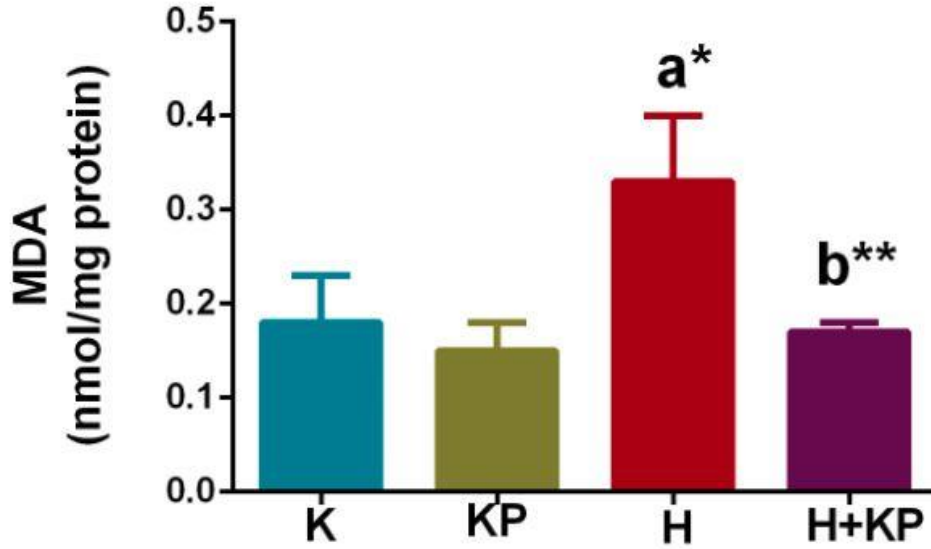
Kreatin kinaz düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 20).



Şekil 20. Gruplara ait kreatin kinaz değerlerinin dağılımı



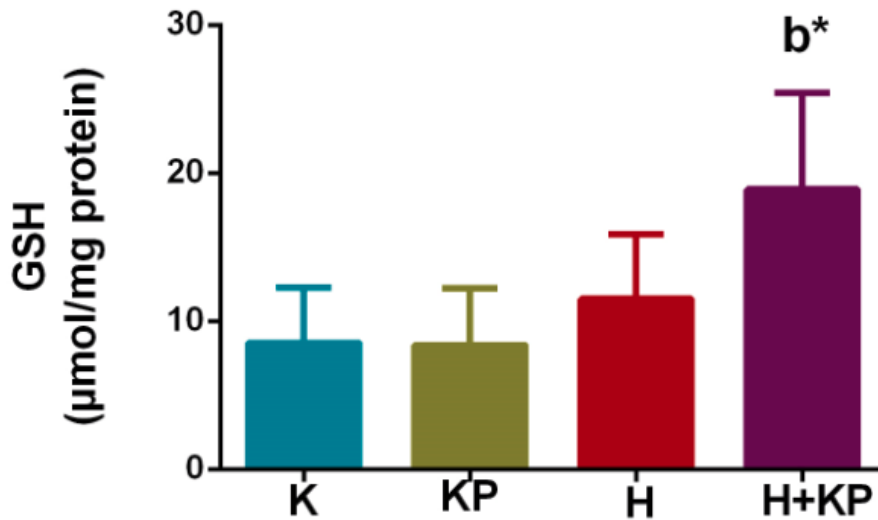
MDA düzeylerinde K ve H grupları arasında karşılaştırma yapıldığında H grubunda  $p = 0,001$  düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. H ve H+KP grupları arasında H+KP grubunda  $p = 0,000$  düzeyinde anlamlı bir azalma gözlemlendi (Şekil 21).



Şekil 21. Gruplara ait böbrek MDA değerlerinin dağılımı

\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,001$ ; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

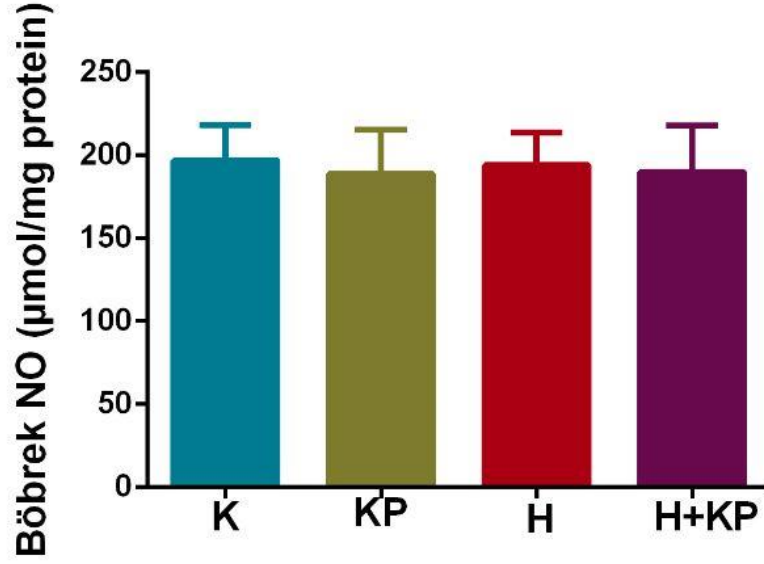
GSH düzeylerinde H ve H+KP grupları arasında H+KP grubunda  $p = 0,011$  düzeyinde anlamlı bir artma gözlemlendi. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi (Şekil 22).



Şekil 22. Gruplara ait böbrek GSH değerlerinin dağılımı

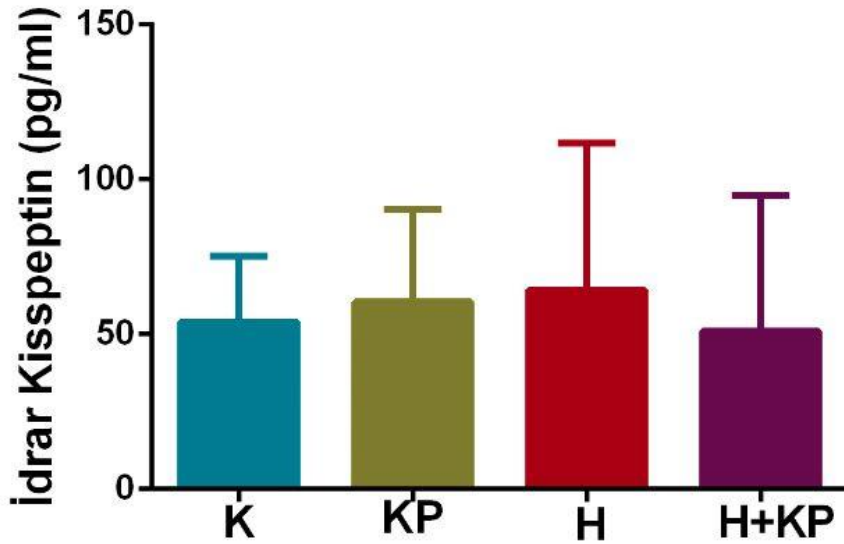
\*:  $p < 0,05$ ; b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

Böbrek NO düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 23).



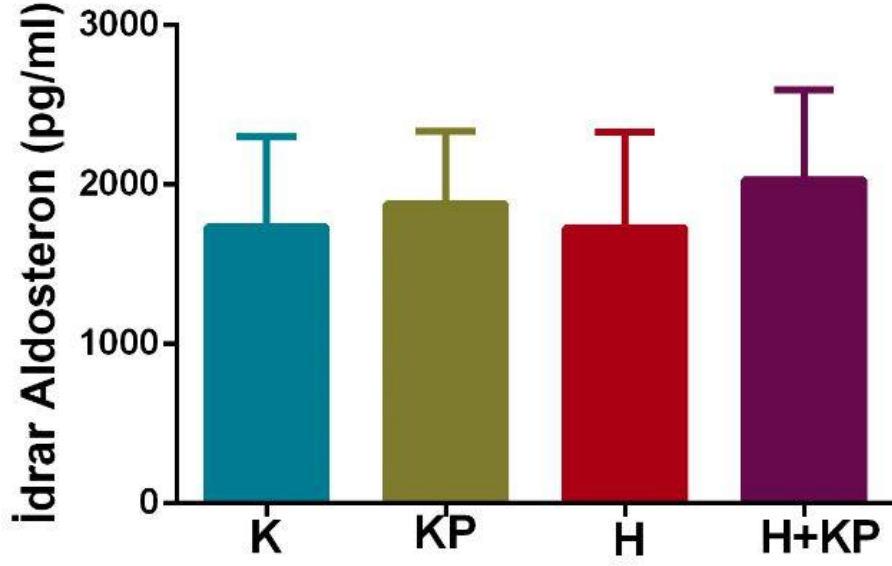
Şekil 23. Gruplara ait böbrek NO değerlerinin dağılımı

İdrar kisspeptin düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 24).



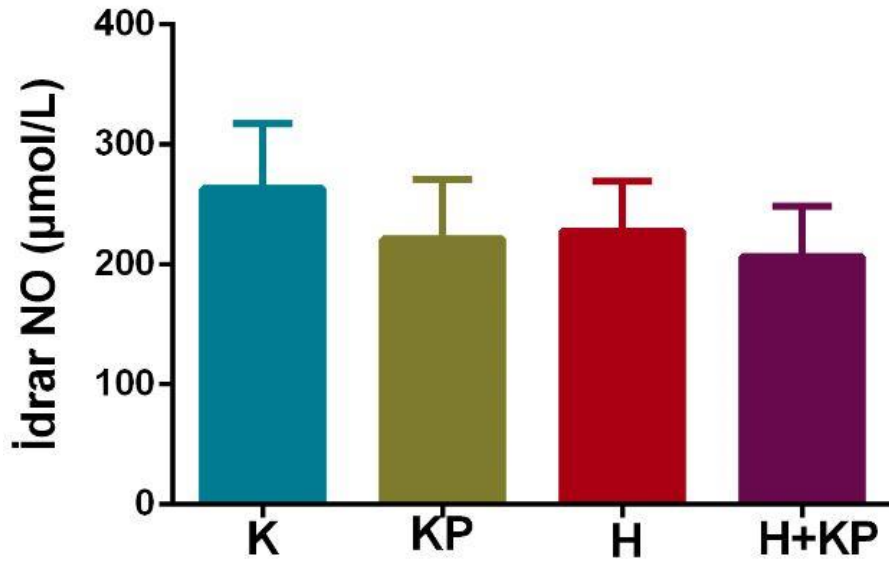
Şekil 24. Gruplara ait idrar kisspeptin değerlerinin dağılımı

İdrar aldosteron düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 25).



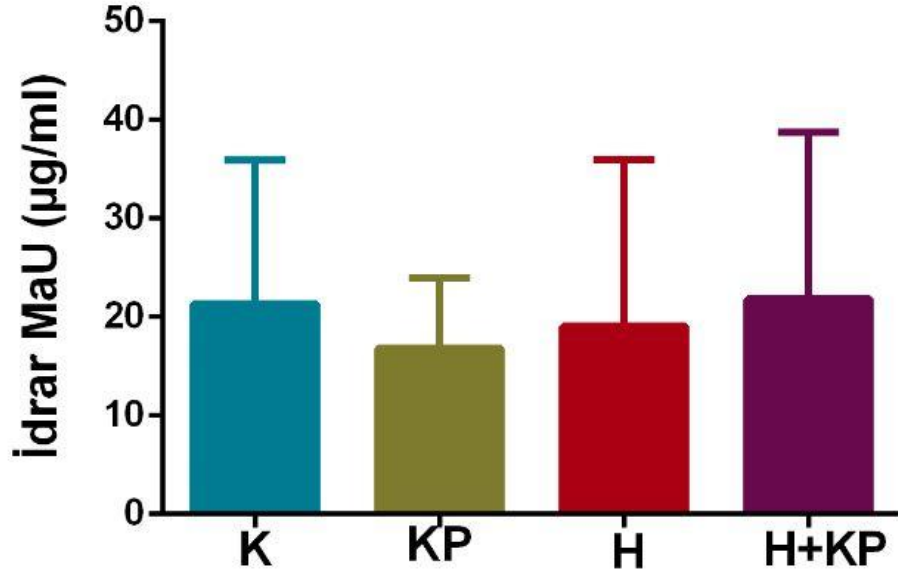
Şekil 25. Gruplara ait idrar aldosteron değerlerinin dağılımı

İdrar NO düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 26).



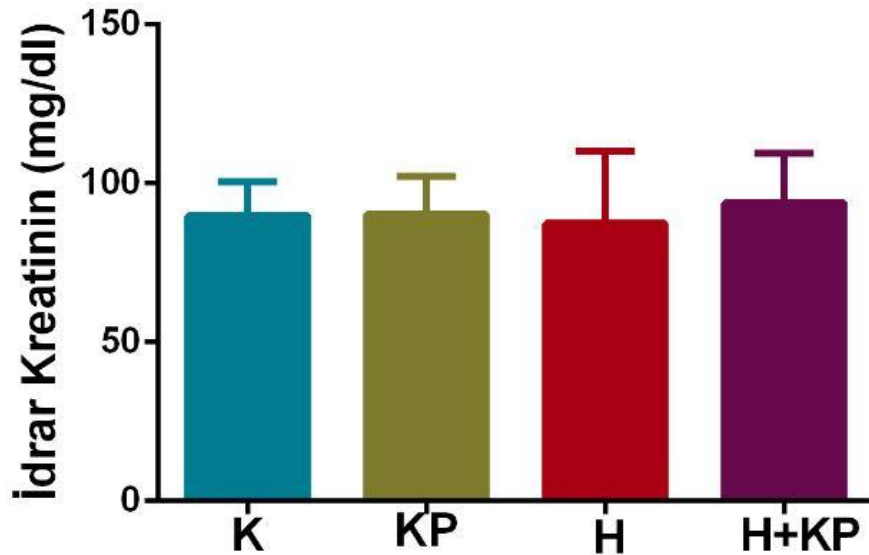
Şekil 26. Gruplara ait idrar NO değerlerinin dağılımı

İdrar mikroalbüminüri düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 27).



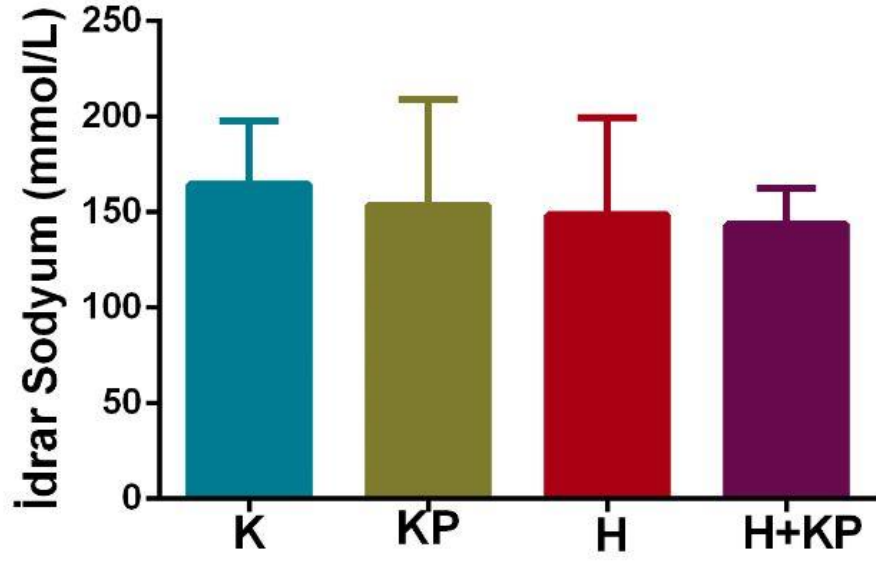
Şekil 27. Gruplara ait idrar mikroalbüminüri değerlerinin dağılımı

İdrar kreatinin düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 28).



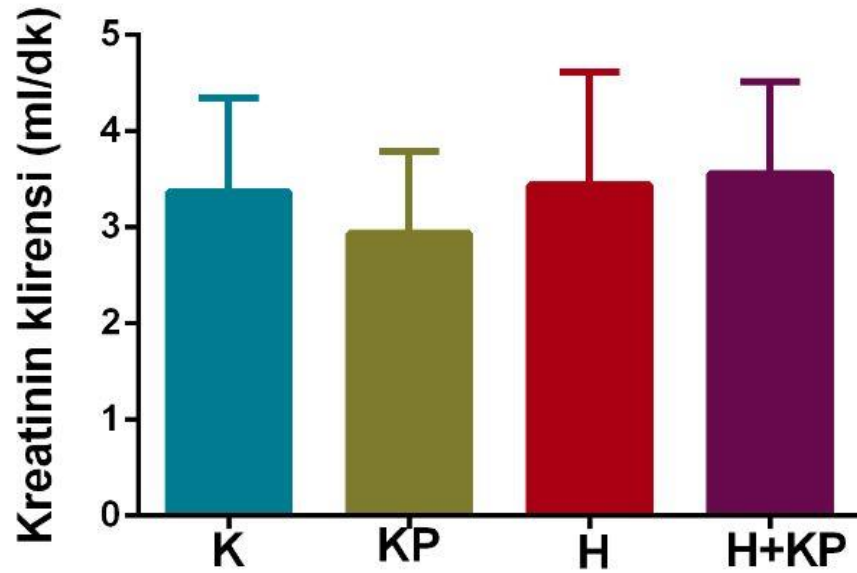
Şekil 28. Gruplara ait idrar kreatinin değerlerinin dağılımı

İdrar sodyum düzeylerinde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 29).



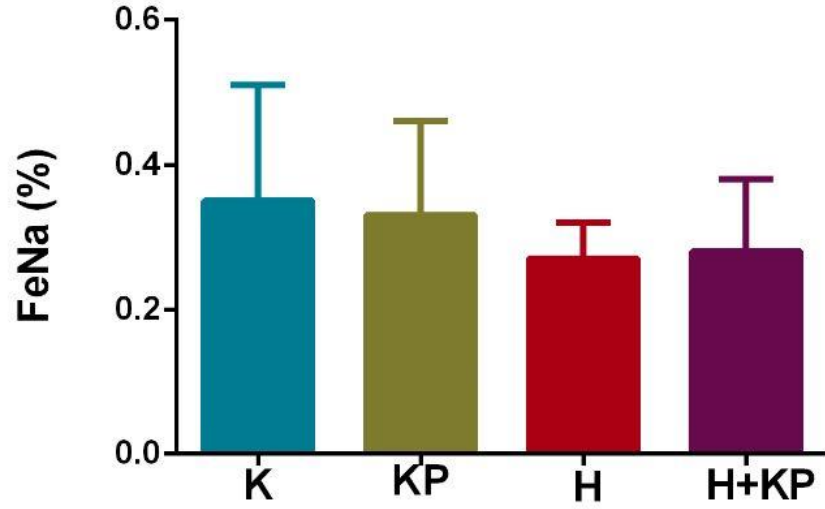
Şekil 29. Gruplara ait idrar sodyum değerlerinin dağılımı

Kreatinin klirensi düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 30).



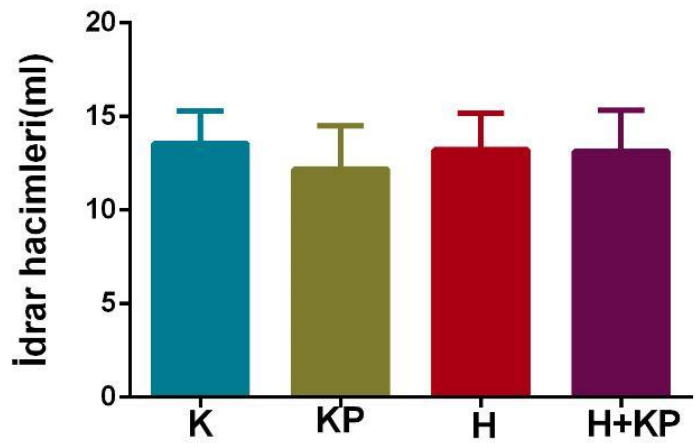
Şekil 30. Gruplara ait kreatinin klirensi değerlerinin dağılımı

Fraksiyonel sodyum atılımı düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 31).



Şekil 31. Gruplara ait fraksiyonel sodyum atılımı değerlerinin dağılımı

İdrar hacimleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (Şekil 32).



Şekil 32. Gruplara ait idrar hacim değerlerinin dağılımı

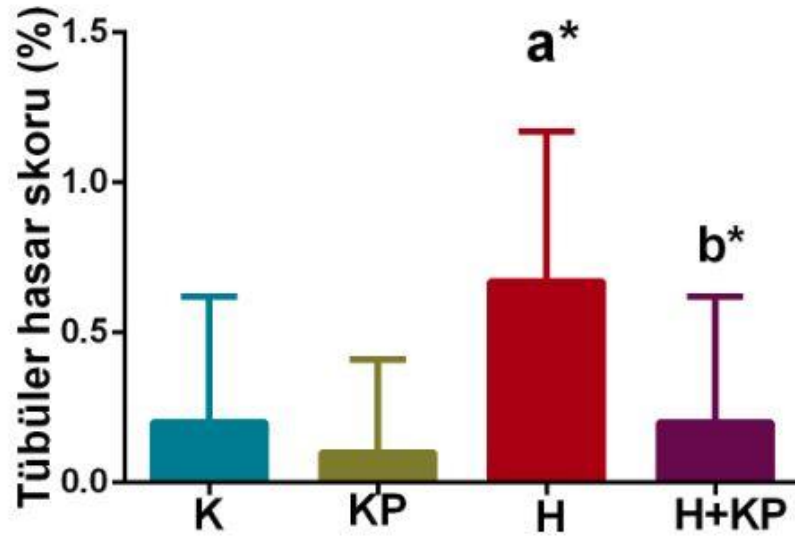
## Histopatolojik Sonuçlar

Böbrek dokularının ışık mikroskobu altında incelemesinde, her bir sıçanın böbrek hasar derecesi ve % kast değerleri için 100 alanda tarama yapıldı. Kast değerleri 0 ila 4 arasında skorlanarak hesaplanırken; glomerüler skleroz yüzde (%) olarak, peritübüler fibrozis ise ortalama pozitif boyama alanı ile değerlendirildi. Hesaplanan bu değerler Tablo 9'da ve Şekil 33, Şekil 34, Şekil 35 ve Şekil 36'da gösterilmiştir.

Kontrol ve kisspeptin gruplarında düzenli yapıda glomerüller ve tübüller izlendi. Vasküler polde damarda patolojik bulgu izlenmedi. Hipertansiyon grubunda tübüler hasar, peritübüler fibrozis, glomerüler skleroz ve kast bulguları izlendi Mikroskopik incelemelerde kırmızı ok, glomerülleri, siyah ok ile gösterilen kısım proksimal tübülü göstermektedir. Mikroskopik kesitlerde hipertansiyon grubunda kırmızı ok ile gösterilen glomerüllerde kapiller konjesyon ve hafif dereceli skleroz ile siyah ok ile gösterilen kast ve peritübüler fibrozis miktarında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu saptandı. Hipertansiyon+kisspeptin grubunda tübüler hasar ve kast oluşumunda anlamlı bir azalma gözlemlendi. Grupların ışık mikroskobu görüntüleri Şekil 37, Şekil 38, Şekil 39 ve Şekil 40'da gösterildi.

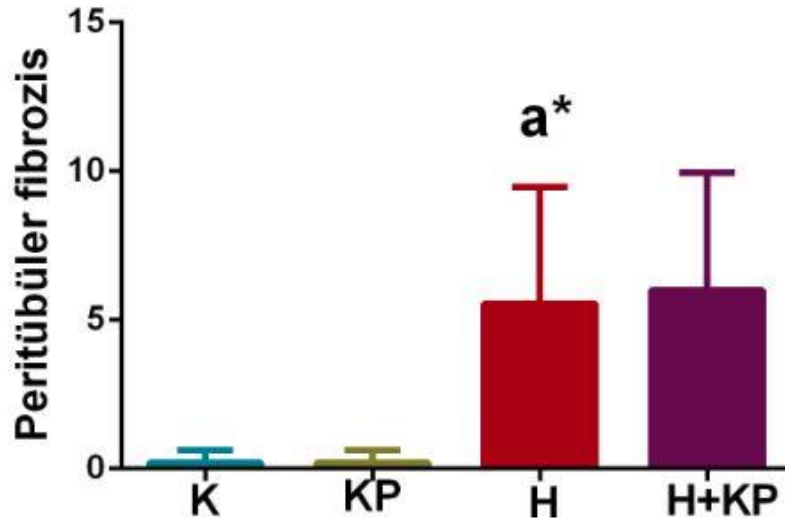
**Tablo 9. Grupların histopatolojik parametrelerine ait verileri**

Gruplar	Kontrol (K) (n=10)	Kisspeptin (KP) (n=10)	Hipertansiyon (H) (n=9)	Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)	p<0,05 ise anlamlı
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	
<b>Tübüler hasar skoru</b>	0,20 ± 0,42	0,10 ± 0,31	0,67 ± 0,50	0,20 ± 0,42	K-KP= 0,542 K-H= 0,045 H-H+KP= 0,04
<b>Peritübüler fibrozis</b>	0,20 ± 0,42	0,20 ± 0,42	5,56 ± 3,91	6,00 ± 3,94	K-KP= 1,000 K-H= 0,003 H-H+KP= 0,793
<b>Glomerüler sklerozis</b>	0,20 ± 0,42	0,10 ± 0,31	9,11 ± 1,05	9,20 ± 1,03	K-KP= 0,542 K-H= 0,000 H-H+KP= 0,849
<b>Kast (%)</b>	0,60 ± 0,84	0,60 ± 0,70	1,67 ± 0,50	0,50 ± 0,53	K-KP= 0,866 K-H= 0,009 H-H+KP= 0,001



Şekil 33. Gruplara ait tübüler hasar skoru değerlerinin dağılımı

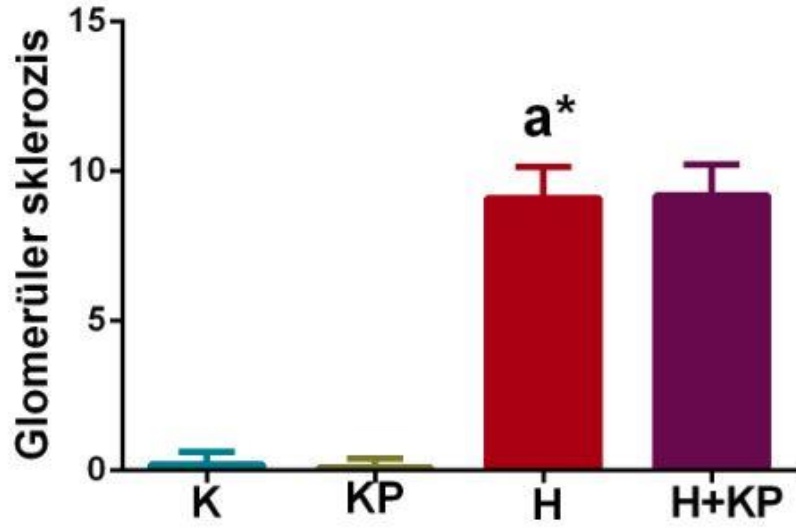
\*:  $p < 0,05$ ; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma



Şekil 34. Gruplara ait peritübüler fibrozis değerlerinin dağılımı

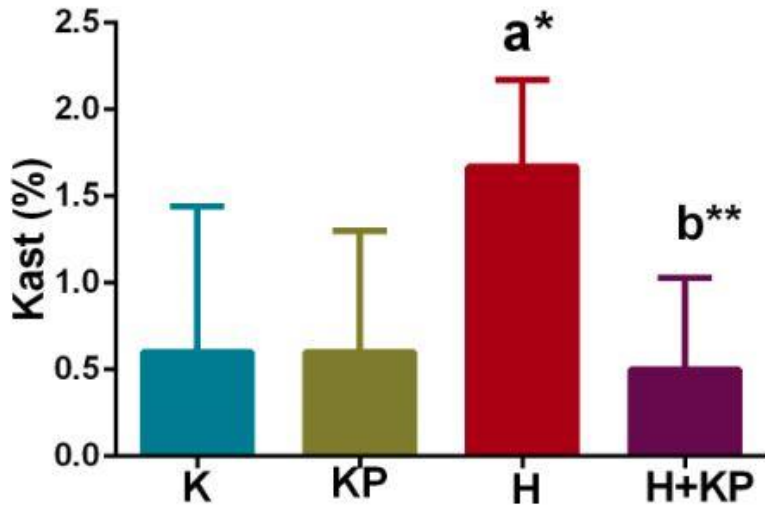
\*:  $p < 0,05$ ; a: kontrol grubu ile karşılaştırma





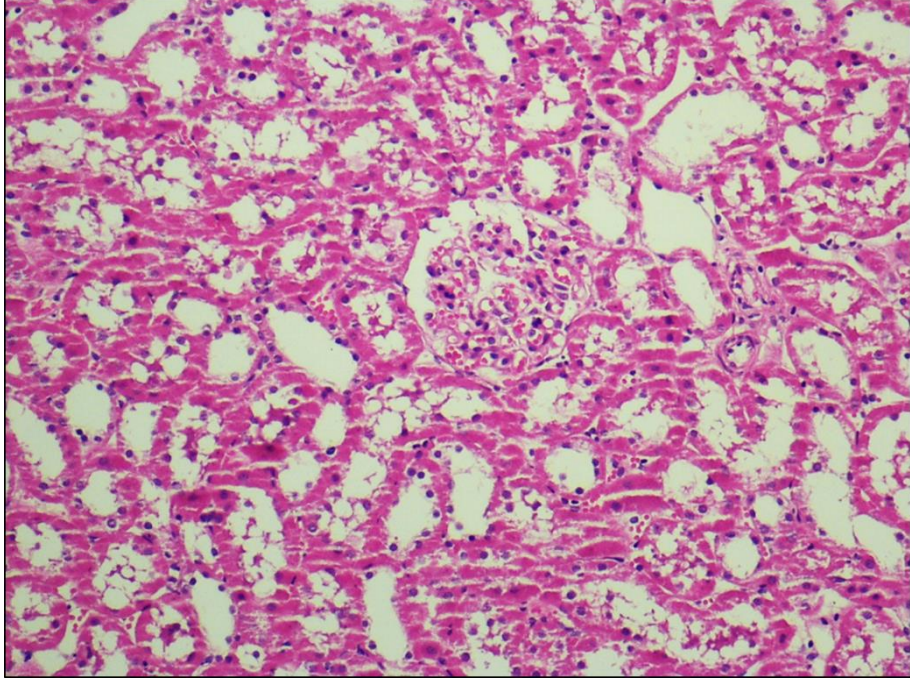
Şekil 35. Gruplara ait glomerüler sklerozis değerlerinin dağılımı

\*:  $p < 0,05$ ; a: kontrol grubu ile karşılaştırma

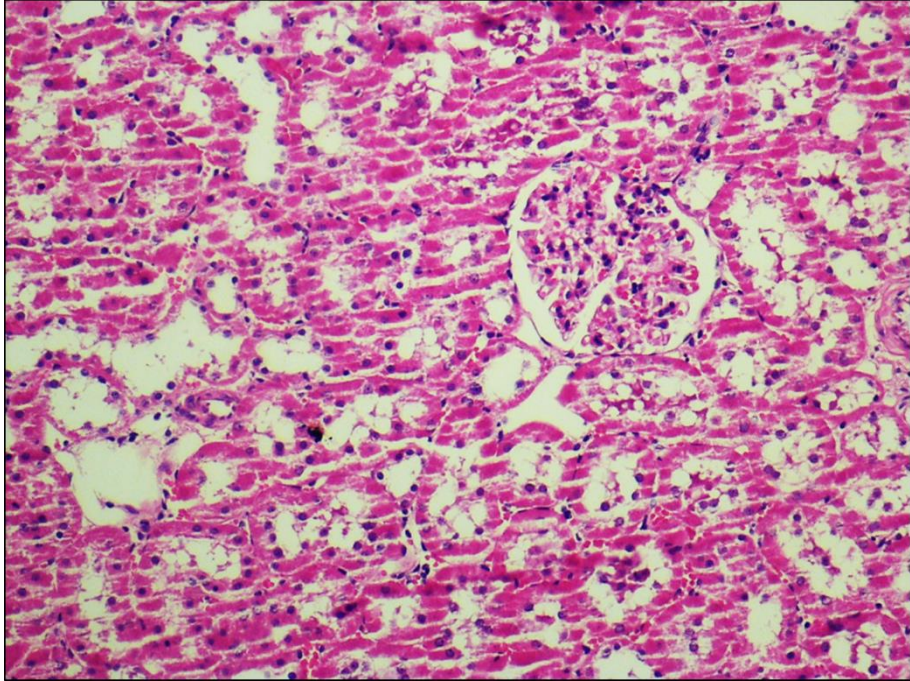


Şekil 36. Gruplara ait kast değerlerinin dağılımı

\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p \leq 0,001$ ; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

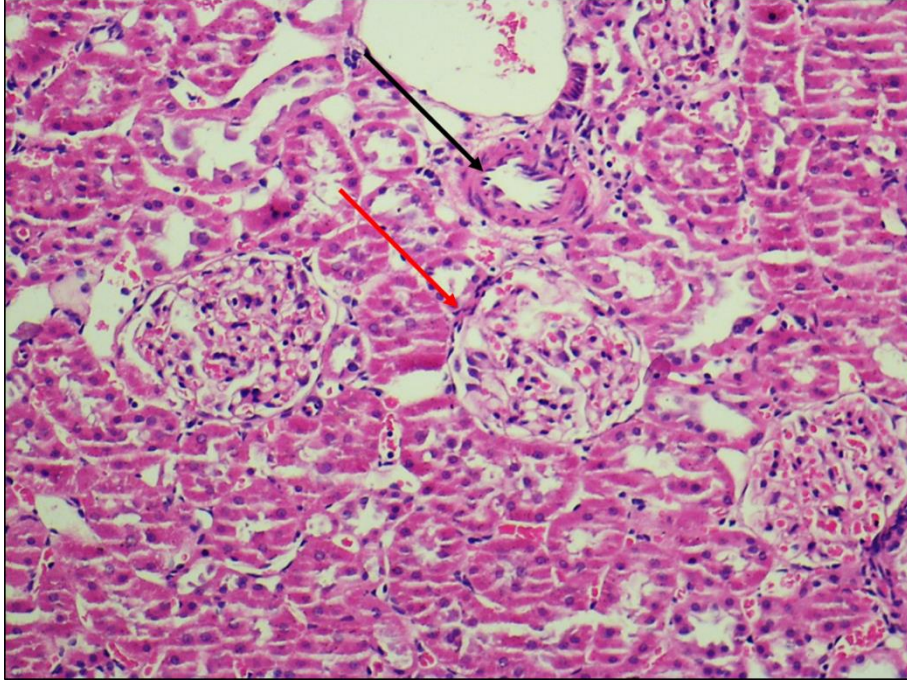


**Şekil 37. Hematoksilen-eozin ile boyanmış kontrol grubunun böbrek kesiti (HEx200)**

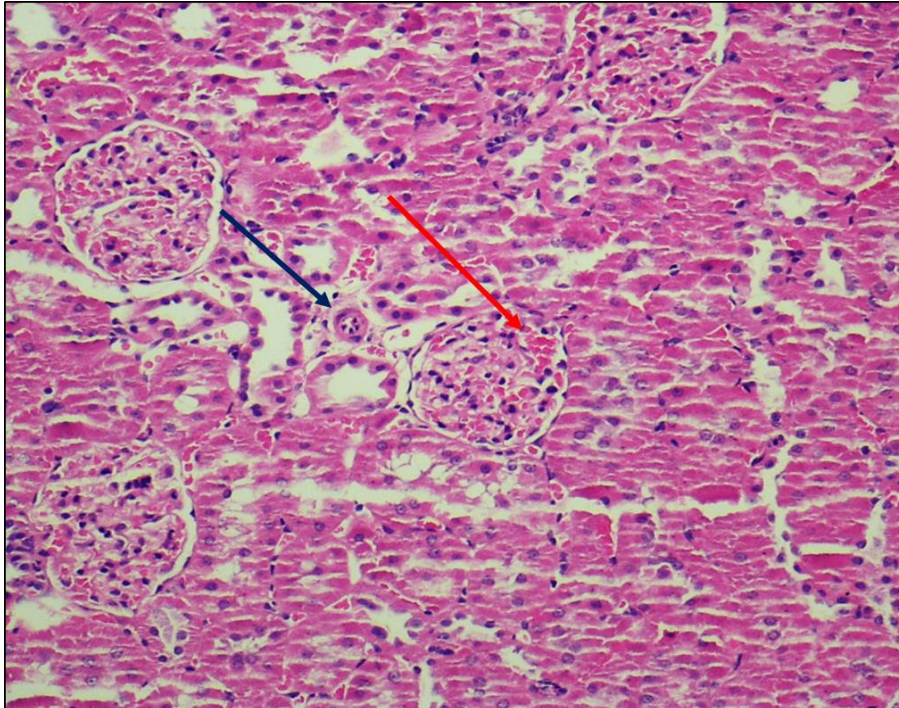


**Şekil 38. Hematoksilen-eozin ile boyanmış kisspeptin grubunun böbrek kesiti (HEx200)**





**Şekil 39. Hematoksilen-eozin ile boyanmış hipertansiyon grubunun böbrek kesiti (HEx200)**



**Şekil 40. Hematoksilen-eozin ile boyanmış hipertansiyon+kisspeptin grubunun böbrek kesiti (HEx200)**

## Böbrek Dokusu İmmünoreaktivite Sonuçları

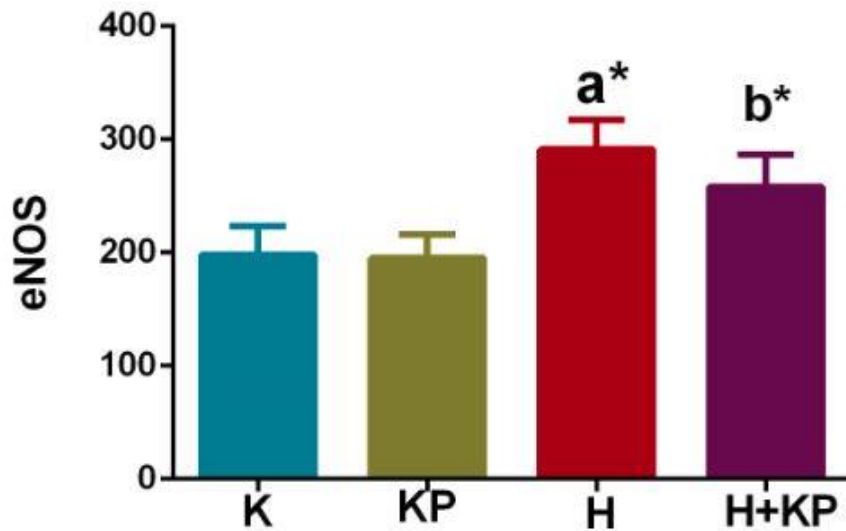
Tüm gruplara ait eNOS, iNOS ve kisspeptin reseptör immünreaktivite değerlerini gösteren sonuçları Tablo 10’da gösterilmiştir.

**Tablo 10. Grupların immünohistokimyasal parametrelerine ait verileri**

Gruplar	Kontrol (K) (n=10)	Kisspeptin (KP) (n=10)	Hipertansiyon (H) (n=9)	Hipertansiyon + Kisspeptin (H+KP) (n=10)	p<0,05 ise anamlı
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	
eNOS	198,00 ± 25,30	195,00 ± 21,21	291,11 ± 26,19	258,00 ± 28,98	K-KP= 0,86 K-H= 0,000 H-H+KP= 0,022
iNOS	35,00 ± 8,50	36,00 ± 10,75	231,67± 29,15	214,50 ± 30,04	K-KP=0,93 K-H=0,000 H-H+KP=0,209
Kisspeptin Reseptör	186,00 ± 12,65	184,00 ± 15,06	271,11± 26,19	273,00 ± 26,27	K-KP=0,69 K-H= 0,000 H-H+KP= 0,897

### eNOS Değerlendirmesi

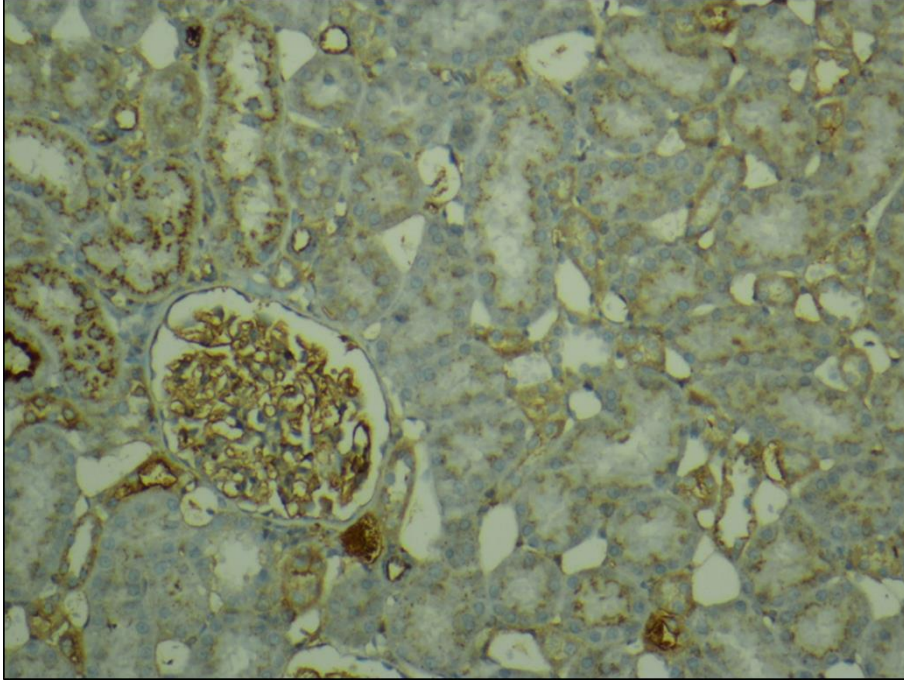
Gruplara ait eNOS değerlerini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri Tablo 10’da ve Şekil 41’de gösterildi. Tüm gruplarda glomerül kapillerlerinde ve proksimal tübüllerde boyanma izlenmiştir, hipertansiyon ve hipertansiyon+kisspeptin grubu kıyaslandığında hipertansiyon+kisspeptin grubunda hafif dereceli boyanma azalması görülmüştür. Grupların eNOS immünreaktivitesine ait resimler Şekil 42-45’de gösterildi.



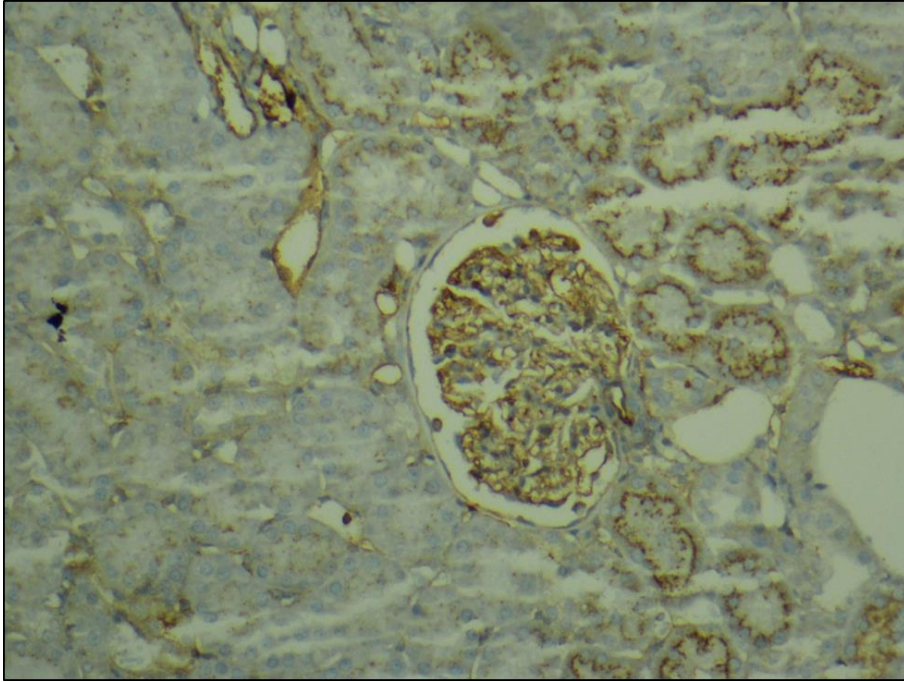
**Şekil 41. Gruplara ait eNOS değerlerinin dağılımı**

\*: p<0,05; a: kontrol, b: hipertansiyon grubu ile karşılaştırma

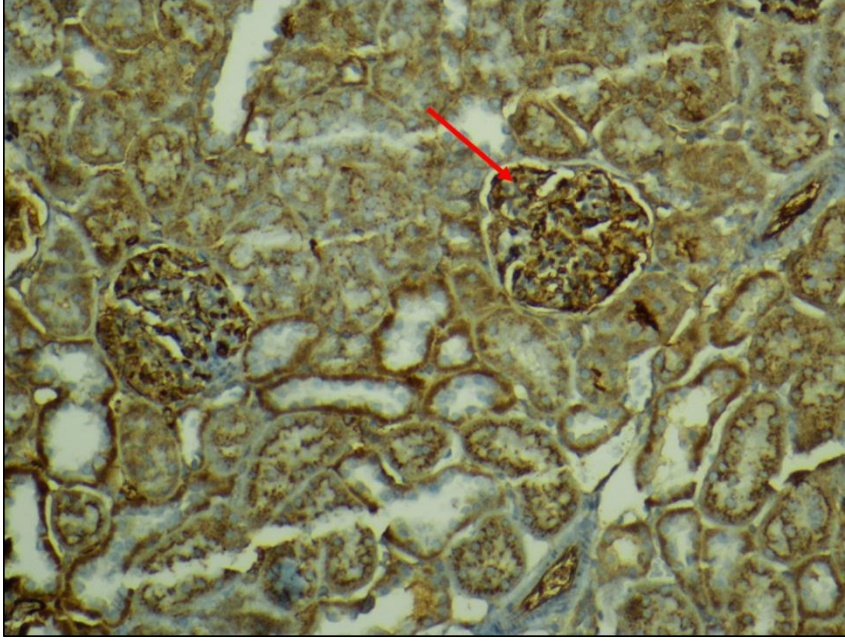




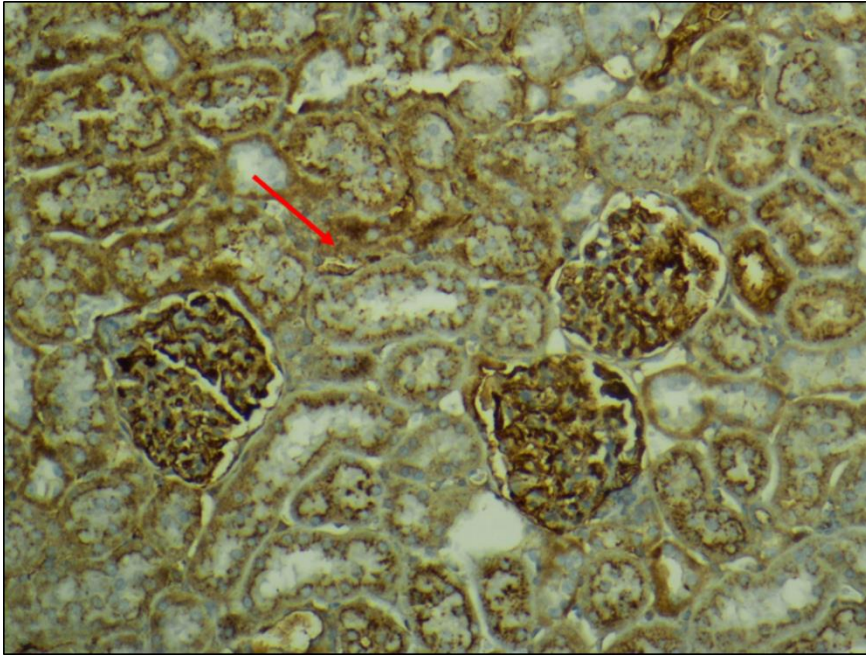
**Şekil 42. Kontrol grubu eNOS immünreaktivitesi (X200)**



**Şekil 43. Kisspeptin grubu eNOS immünreaktivitesi (X200)**



**Şekil 44. Hipertansiyon grubu eNOS immünreaktivitesi (X200)**

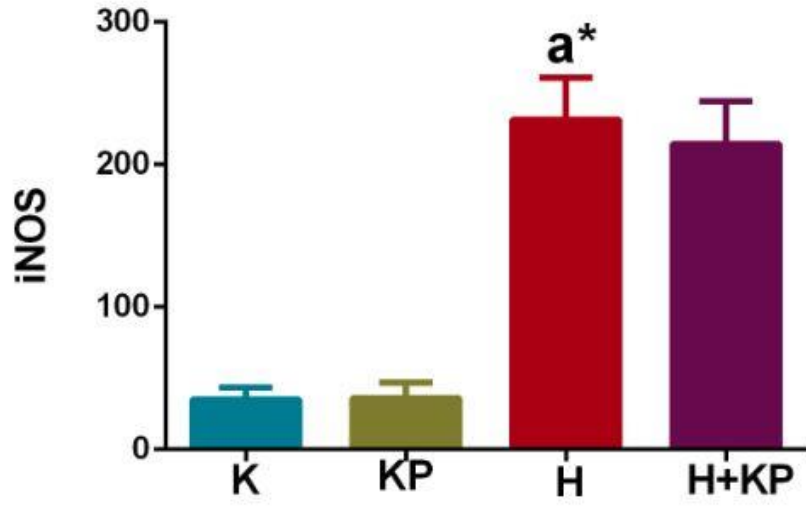


**Şekil 45. Hipertansiyon+Kisspeptin grubu eNOS immünreaktivitesi (X200)**

### **iNOS Değerlendirmesi**

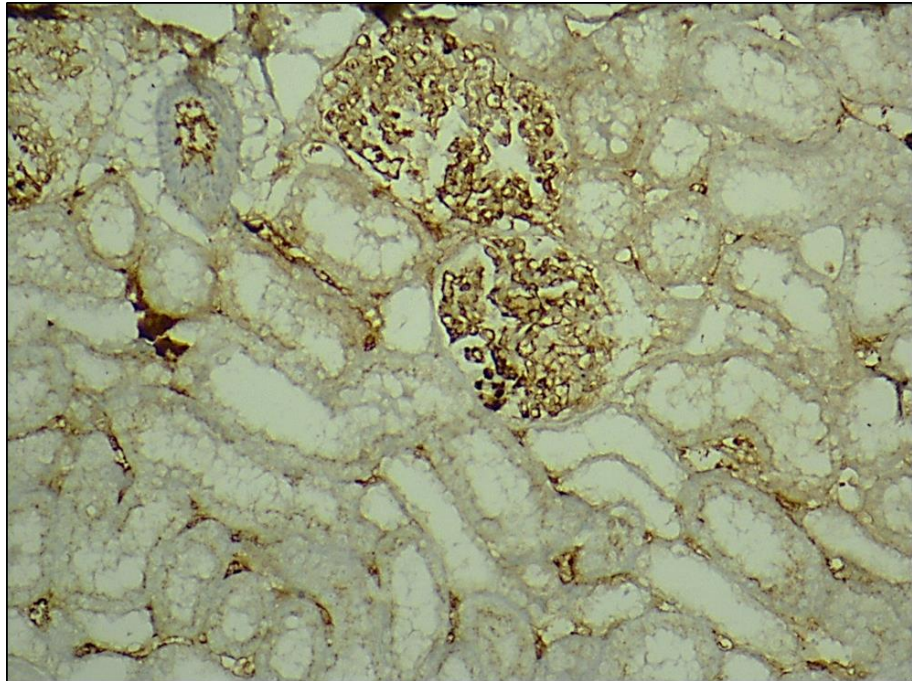
Gruplara ait iNOS değerlerini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri Tablo 10'da ve Şekil 46'da gösterildi. Tüm gruplarda distal kıvrımlı tübüllerde boyanma izlenmiştir kontrol ve kisspeptin gruplarında fokal ve hafif dereceli boyanma izlenirken, hipertansiyon ve hipertansiyon+kisspeptin gruplarında yaygın ve kuvvetli boyanma görüldü. Grupların iNOS immünreaktivitesine ait resimler Şekil 47-50'de gösterildi.



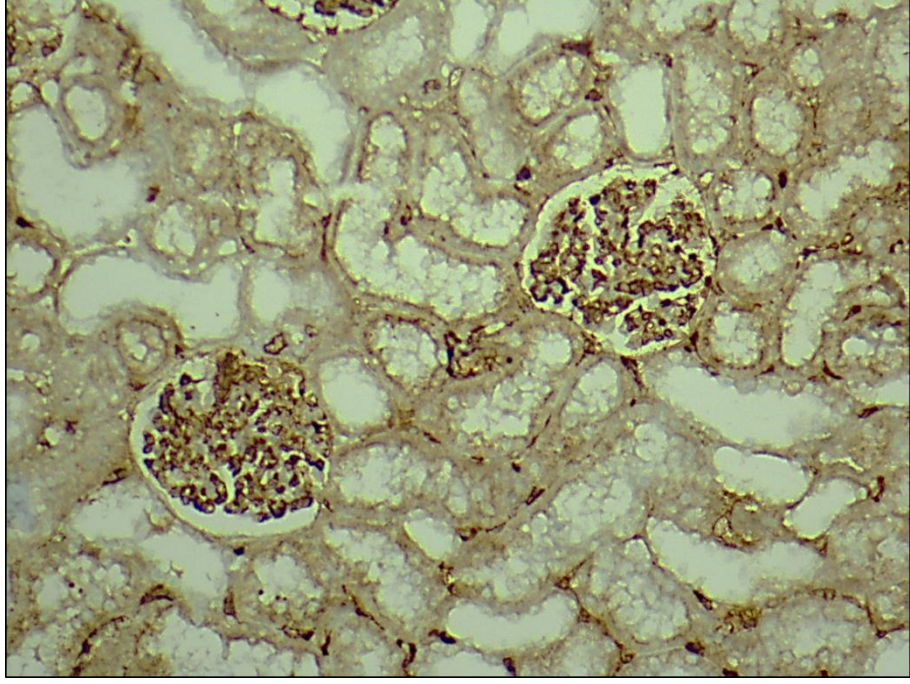


Şekil 46. Gruplara ait iNOS değerlerinin dağılımı

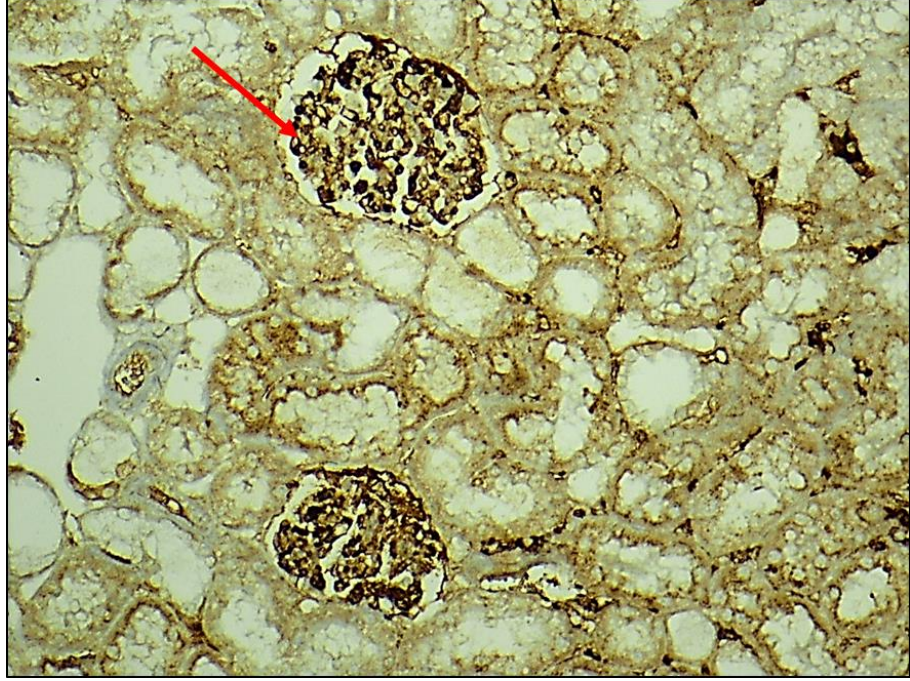
\*:  $p < 0,05$ ; a: kontrol grubu ile karşılaştırma



Şekil 47. Kontrol grubu iNOS immünreaktivitesi (X200)

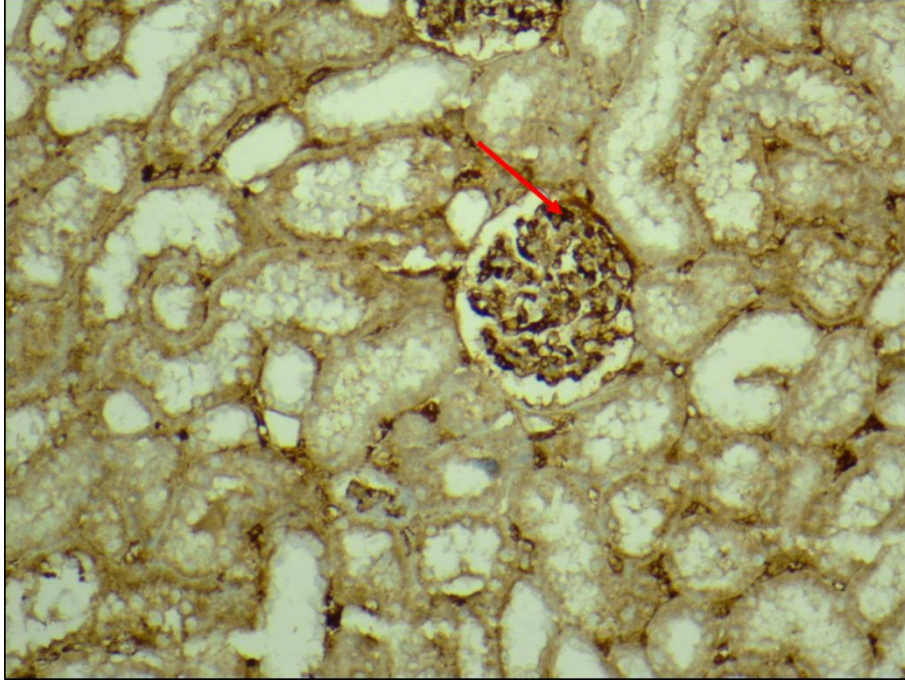


Şekil 48. Kisspeptin grubu iNOS immünreaktivitesi (X200)



Şekil 49. Hipertansiyon grubu iNOS immünreaktivitesi (X200)



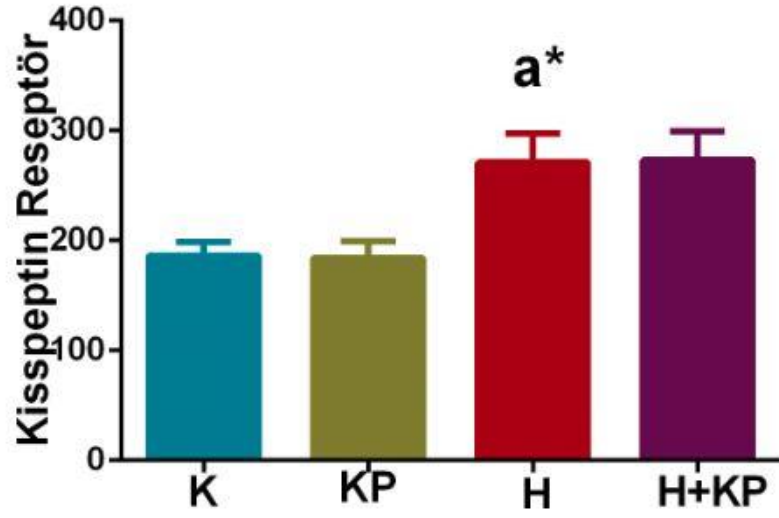


**Şekil 50. Hipertansiyon+Kisspeptin grubu iNOS immünreaktivitesi (X200)**

### **Böbrek Dokusunda Kisspeptin Reseptör İmmünreaktivitesi**

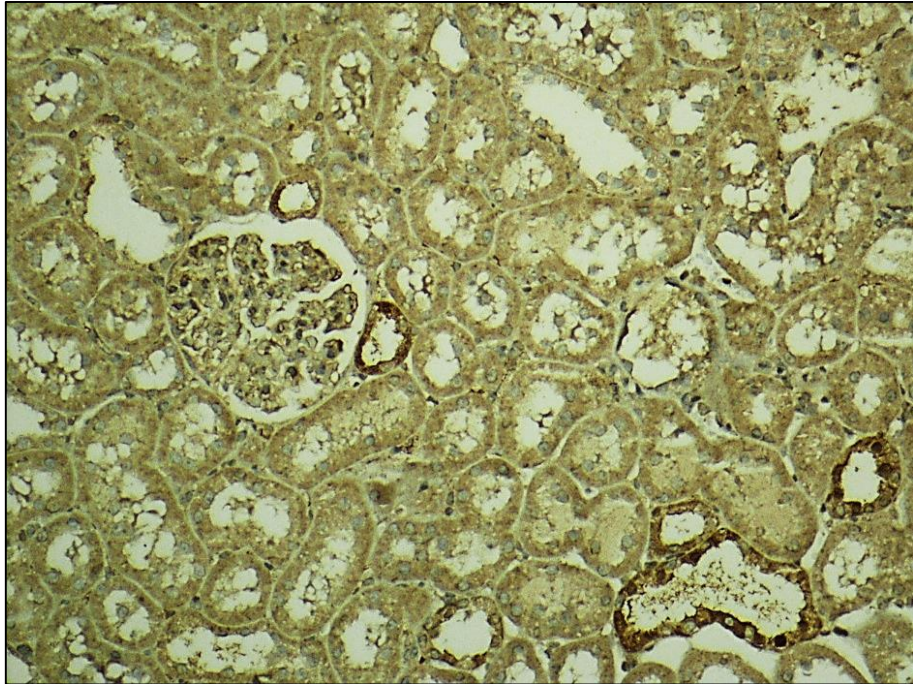
Sıçanların böbrek kesitleri immünohistokimyasal olarak kisspeptin reseptör antikoru ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler tübüllerde ve kapillerlerde hedef hücrelerin boyanmasının yoğunluğuna göre yapıldı. Sonuçlar Tablo 10'da ve Şekil 51'de gösterildi.

Glomerül kapillerlerinde ve kapillerlerde kontrol ve kisspeptin gruplarında fokal ve hafif dereceli boyanma izlenirken, hipertansiyon ve hipertansiyon+kisspeptin gruplarında yaygın ve kuvvetli boyanma görüldü (kırmızı ok). Tübüllerde belirgin boyama görülmezken, intersitisyumda zayıf boyanma görüldü. Grupların kisspeptin reseptör immünreaktivitesine ait resimler Şekil 52-55'te gösterildi.



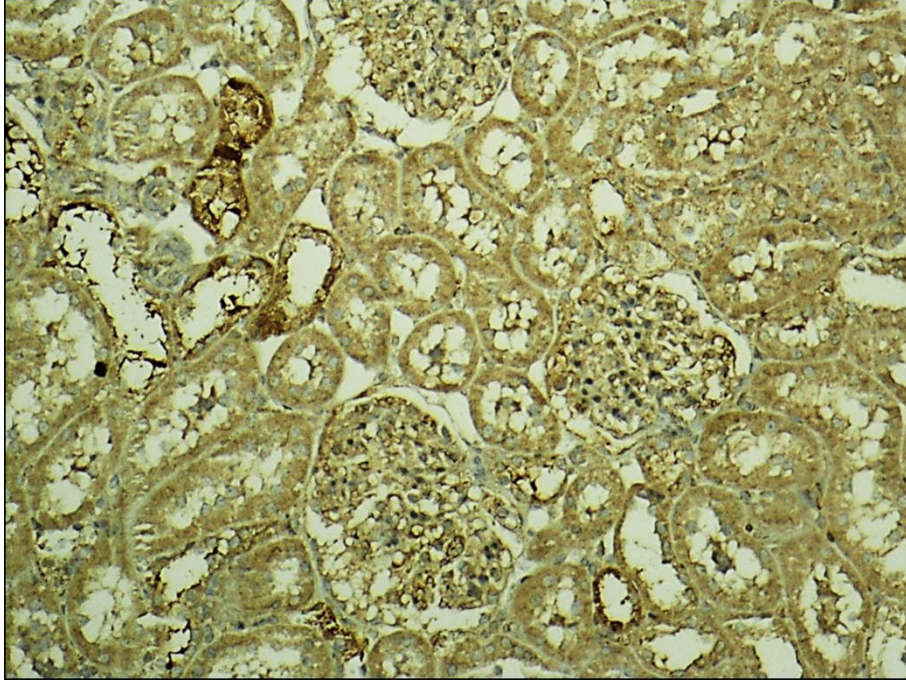
Şekil 51. Gruplara ait kisspeptin reseptörü değerlerinin dağılımı

\*:  $p < 0,05$ ; a: kontrol grubu ile karşılaştırma

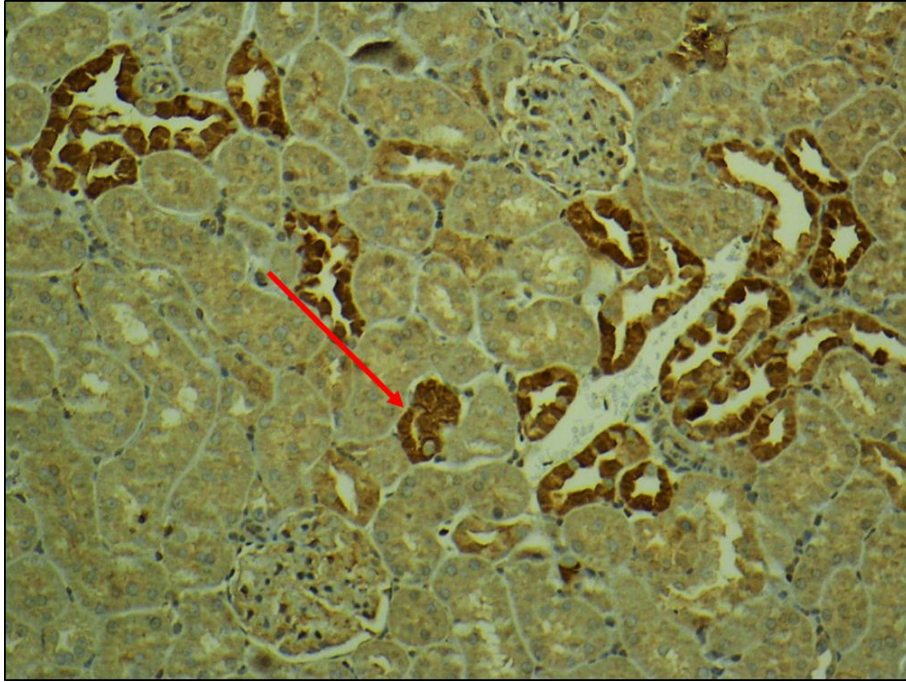


Şekil 52. Kontrol grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200)

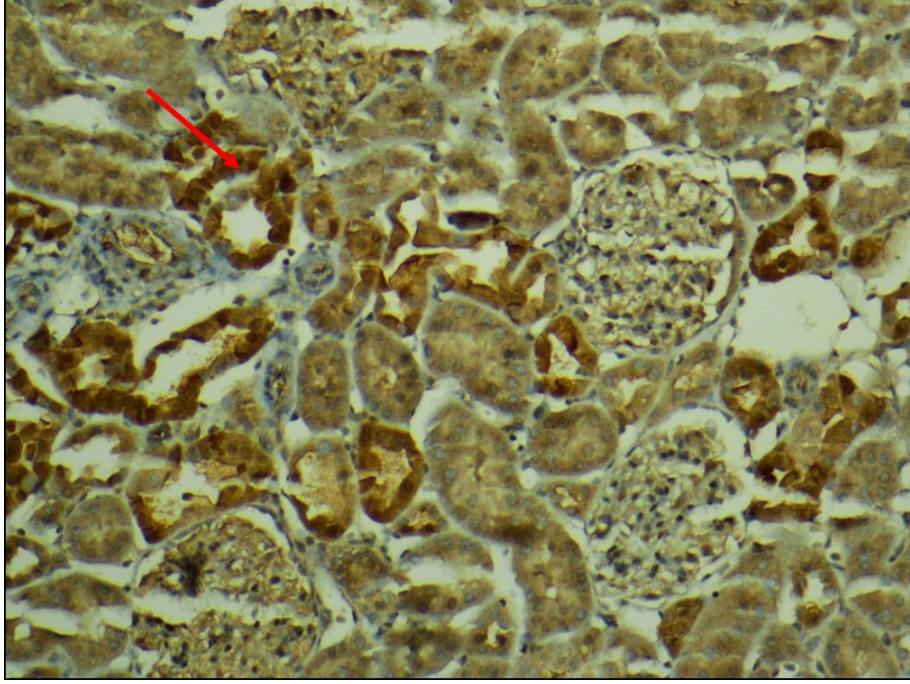




**Şekil 53. Kisspeptin grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200)**



**Şekil 54. Hipertansiyon grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200)**



**Şekil 55. Hipertansiyon+Kisspeptin grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200)**

## TARTIŞMA

L-NAME ile deneysel hipertansiyon modeli oluşturduğumuz çalışmamızda hipertansiyon grubunda; 1) Böbrek dokusu kisspeptin reseptörü immünreaktivitesinde anlamlı bir artış görüldü ancak serum ve idrar kisspeptin düzeylerindeki farklılık anlamlı değildi. 2) Artan ortalama arteriyel kan basıncı üzerinde kisspeptin tedavisi anlamlı bir azalma gösterdi. 3) Böbrek histopatolojik incelemesinde tübüler hasar, glomerüler skleroz, peritübüler fibrosis ve kast oluşumunda anlamlı artışlar görüldü. 4) Kisspeptin tedavisi böbrek tübüler hasar ve kast oluşumu üzerinde anlamlı azalma saptandı. 5) Glomerüler fonksiyonlarında anlamlı bir fark görülmedi. 6) Lipit peroksidasyonunun belirteci olan MDA düzeylerinde meydana gelen anlamlı artış kisspeptin tedavisi ile anlamlı azalma gösterdi. 7) Böbrek GSH düzeyinde anlamlı bir fark yok iken kisspeptin tedavisinde anlamlı bir artış saptadık. 8) Böbrek NO düzeylerinde anlamlı bir fark yok iken serum NO düzeylerinde anlamlı bir azalma vardı. 9) Böbrek eNOS ve iNOS immünreaktivitesinde anlamlı artış görülürken kisspeptin tedavisi eNOS immünreaktivite düzeyinde anlamlı azalma gösterdi. 10) Serum ve idrar aldosteron düzeylerinde anlamlı bir fark görülmedi.

Hipertansiyon, ciddi komplikasyonlara yol açması ve toplumda sık görülmesi nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Birçok genetik ve çevresel faktörün kompleks etkileşiminden oluşan hipertansiyon multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul edilmektedir (14). Hipertansiyonla ilişkili kardiyovasküler hastalık ve böbrek hasarı risklerinin azaltılması da, topluma getireceği yük açısından hipertansiyonun üzerinde önemle durulması gereken bir sorun olduğunu gösterir. Birçok faktörün hipertansiyonun patogenezinde etkin olması nedeniyle, hipertansiyon modelleri çok çeşitlidir. Ancak esansiyel hipertansiyona daha çok benzerlik gösteren model NOS inhibitörü ile oluşturulan hipertansiyon modelleridir. NOS inhibitörü

olarak N( $\omega$ )-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME), N( $\omega$ )-monometil-L-arjinin (LNMA), N-iminoetil–ornitin (L-NIO) kullanılmaktadır. Bu hipertansiyon modeli, periferel vazokonstrüksiyon ve bunu takip eden periferel vasküler dirençle ilişkilidir. NO sentaz inhibitörü olan L-NAME'nin kronik oral uygulaması glomerüloskleroz, glomerüler iskemi ve interstisyel infiltrasyonla karakterize böbrek hasarının eşlik ettiği hipertansiyona neden olur. Çalışmamızda sıçanlara L-NAME 1,5 mg/100 g tek doz intravenöz ve içme suyunda 150 mg/L dozunda 3 hafta boyunca verilerek deneysel hipertansiyon modeli oluşturuldu ve bu modelde kisspeptinin etkileri incelendi. Sistolik ve diyastolik kan basınçları ile ortalama arteriyel kan basıncı değerleri kontrol grubuna göre hipertansiyon grubunda 1. haftadan itibaren anlamlı yükselme gösterdi. L-NAME'i sıçanlara vererek oluşturduğumuz deneysel hipertansiyon modelinde hipertansiyon grubunda kontrol grubuna göre kan basıncı değerlerinin anlamlı yükselme gösterdiğini bulduk. Elde ettiğimiz kan basıncındaki artış sonuçlarımız literatürde L-NAME ile benzer doz ve sürede oluşturulan hipertansiyon modeli sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (76, 77).

Hipertansiyon grubuna göre hipertansiyon+kisspeptin grubunda sistolik ve ortalama arteriyel kan basıncı değerleri 3. haftadan itibaren anlamlı düşme gösterirken; diyastolik kan basıncı 4. haftada anlamlı düşme gösterdi. Tüm dünyada gebeliklerin %10'da görülen hipertansif bozukluklar gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde gebelikte en sık görülen komplikasyonlardır (78). Nijher ve ark. (13) yaptığı çalışmaya göre sağlıklı erkeklere kisspeptin-54'ün 0, 0.5, 1, 2, 4 pmol/ kg/min dozunu ve sağlıklı kadınlara kisspeptin-54'ün 0, 0.8, 2.4, 6.4 nmol/ kg dozunu intravenöz infüzyon olarak uyguladıklarında sistolik ve diyastolik kan basınçları ile kalp hızlarının, test edilen dozların herhangi birinde değişikliklerle neden olmadığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada sağlıklı gebeler ile gebeliğe bağlı hipertansiyon gelişen ve preeklampsili kadınlarda plazma kisspeptin konsantrasyonları ile sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri incelenmiştir. Gebeliğin üçüncü trimesterinde dolaşımdaki kisspeptin konsantrasyonlarının gebe olmayan kadınlara göre yaklaşık 7000 kat arttığı bildirilmiştir. Ancak sağlıklı gebe kontrollerinde, gebeliğe bağlı hipertansiyonlu kadınlarda ve preeklampsili kadınlarda plazma kisspeptin konsantrasyonları ile diyastolik veya sistolik kan basıncı arasında korelasyon olmadığı rapor edilmiştir. L-NAME ile hipertansiyon geliştirdiğimiz çalışmamızda tedavi amacıyla kisspeptin verdiğimiz grupta sistolik kan basıncı ve ortalama arteriyel basınçta anlamlı azalma görüldü. Adali ve ark. (79) normotansif gebelerle preeklampsili gebelerin maternal plazma kisspeptin düzeylerinin incelediği çalışmalarında preeklampsili gebelerde maternal plazma kisspeptin düzeylerinin belirgin olarak düşük olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada gebelikte yüksek plazma kisspeptin konsantrasyonlarının

hipertansiyon gelişiminde rolü olmadığını ileri sürmüşlerdir. Bu sonuçlarımız kisspeptinin hipertansiyonun uzun süreli tedavi stratejilerinde kullanılabileceğini ve bu amaçla ön klinik çalışmalara yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Birçok fizyolojik süreç reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri olarak bilinen dengesiz ve yüksek derecede reaktif kimyasal moleküller üretir. Oksitleyici özelliklere sahip reaktif moleküllerin üretiminin artması hücrel antioksidan kapasitesini bozarak oksidatif stres gelişimine neden olur. Bu da moleküller ve hücrel doku hasarına, ciddi metabolik bozukluklara ve hipertansiyon gibi patolojik bozukluklara neden olur. Hipertansiyon ve endotelial hasarın patofizyolojisinde artmış pro-oksidan üretim ve azalmış antioksidan biyoyararlanımın önemli rol oynadığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Radikal aracılı toksisiteyi önlemek için, glutatyon (GSH) gibi antioksidan maddeler reaktif türleri ortadan kaldırır ve hücrel redoks dengesinin korunmasına yardımcı olur. Glutatyon metabolizmasındaki bozukluklar hipertansiyonla ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda hipertansiyonda dokuda redükte glutatyon seviyeleri azalırken, okside glutatyon seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir (80). Çalışmamızda hipertansiyon grubunda böbrek dokusu total GSH düzeyinde anlamlı değişiklik görülmedi kisspeptin tedavisi verilen H+KP grubunda H grubuna göre anlamlı artma saptandı.

Çalışmamızda serbest radikal hasarının bir göstergesi ve lipid peroksidasyonun son ürünü olan böbrek dokusu MDA düzeylerinde hipertansiyon grubunda anlamlı artış saptandı. MDA düzeyindeki bu artış antioksidan enzimlerin üstesinden gelemeyeceği kadar böbrekte fazla radikal oluştuğunu göstermektedir. Biz de çalışmamızda daha önce yapılan deneysel hipertansiyon çalışmalarında olduğu gibi sıçan böbreklerinde MDA seviyesinde anlamlı artış saptadık (81). Aslan ve ark. uterus iskemisi ve reperfüzyonunda kisspeptinin etkisini incelemişlerdir. Kisspeptin iskemisi reperfüzyonda yükselen MDA düzeylerini anlamlı şekilde düşürürken, iskemisi reperfüzyonda azalan GSH düzeylerini anlamlı şekilde artırmıştır. Bu sonuçlar kisspeptinin ekzojen uygulama ile antioksidan etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir (82). Benzer şekilde biz de çalışmamızda kisspeptin tedavisi uyguladığımız hipertansiyonlu sıçanlarda MDA'nın azaldığını GSH'nin arttığını bulduk. Çalışmamızda kan basıncında görülen azalmalar kisspeptinin oksidatif stresi azaltması sonucu olabilir.

Çalışmamızda böbreklerin histopatolojik değerlendirilmesinde tübüler hasar, glomerüller skleroz, peritübüler fibrosis ve kast oluşumunda anlamlı düzeyde artış saptandı. Yapılan çalışmalarda L-NAME verilerek oluşturulan hipertansiyon modelinde peritübüler fibrosis, intersitisyel hasar ve glomerüller skleroz oluştuğu bildirilmektedir. Bizim çalışmamızın histopatolojik sonuçları literatür ile uyum göstermektedir (83). Kisspeptin tedavisi böbrekte



meydana gelen tübüler hasar ve kast yüzdesini azaltmaktadır. Bu da kisspeptinin böbrek hasarında iyileştirici etkisinin olabileceği yönündeki kanıtları artırmaktadır. Shoji ve ark. yaptığı çalışmada, kisspeptin ve reseptörünün sıçan böbreğinin toplayıcı kanal hücreleri ve vasküler düz kas hücrelerde eksprese edildiğini göstermişlerdir. Ayrıca kisspeptin reseptörlerinin mRNA ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek; ancak kisspeptin reseptörünün protein ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulmuşlardır (84). Biz de hipertansiyon grubunda böbrek kisspeptin reseptör immünreaktivitesinde artış saptadık. Bu bulgular, kisspeptin ve reseptörünün böbrek fonksiyonunun lokal düzenlemesinde, böbrek fizyolojisi ve patofizyolojisi ile ilişkili olabileceği yönündeki ihtimalleri artırır.

Çalışmamızda böbrek tübüler işlev bozukluğunun bir göstergesi olan fraksiyonel sodyum atılımında hipertansiyon grubunda anlamlı bir farklılık görülmedi. Glomerüler filtrasyon hızını gösteren kreatin klirensinde de gruplar arası fark görülmedi. Ancak serum sodyum düzeylerinde anlamlı farklılık görülmemesine rağmen potasyum düzeylerinde hipertansiyon+kisspeptin grubunda hipertansiyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Bu azalma hipertansiyon+kisspeptin grubunda serum aldosteron düzeyindeki anlamlı olmayan artıştan kaynaklanabilir. Serum ALT, AST ve CK düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık oluşmadığı saptandı. ALT düzeylerinin yükselmesinin karaciğer hasarı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (85). Bu nedenle ALT düzeylerinde anlamlı farklılık oluşmaması bize karaciğer hasarının oluşmadığını düşündürmektedir

RAAS sistemine rağmen, kan basıncı regülasyonunda L-arginin NO yolağı önemli rol oynar. Endotelden türetilmiş vazodilatatör faktör NO, birçok fizyolojik ve patolojik süreçte yer alan yaygın bir biyolojik aracı ve vasküler tonun önemli bir düzenleyicisidir. NO sürekli olarak endotelden salınır ve vasküler ton düzenlemesine katılır (81). Vücutta çeşitli fonksiyonlarda görev alan ve yaygın olarak bulunan NOS enzimlerinin, üç farklı izoformu bulunmaktadır. Bunlar indüklenmiş NOS (iNOS), endotelyal NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS)'dur. Fizyolojik fonksiyonlar için gerekli NO eNOS ve nNOS tarafından sentezlenmektedir. iNOS, diğer NOS izoformlarına göre, uzun süreli ve daha çok miktarda NO sentezlenmesine sebep olur. Bu da NO'nun fizyolojik etkilerini artırır ve inflamatuvar süreçlerde hemen hemen bütün hücreler iNOS aracılığı ile yüksek düzeyde NO  retirler. Fazla  retilen NO ya bu radikalın stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrate dönüşür ya da süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitriti oluşturur. Böylece NO fizyolojik etkisi inhibe edilir ve sonuçta oksidatif etkisi ortaya çıkar. Süperoksit ve nitrik oksit arasındaki fizyolojik denge vasküler ton s n düzenlenmesi için önemli olduğu rapor edilmektedir. Peroksinitrit nitrik oksit toksisitesinin



başlıca sorumlusudur. Kısaca NO ve süperoksit üretiminin fazla olduğu süreçlerde peroksinitrit oluşumu kaçınılmazdır (86, 87). Kontrol ve hipertansiyon grubunun NO düzeyleri karşılaştırıldığında serum NO anlamlı bir azalma göstermektedir. İmmünohistokimya sonuçlarından eNOS ve iNOS aktivasyonun kontrol grubuna göre hipertansiyon grubunda anlamlı bir artış gösterdiği saptadık. L-NAME uygulamasının NO sentezini bloke ettiği düşünüldüğünde, belirli dokularda ex vivo bulunan yüksek NOS aktivitesinin, yüksek seviyede NOS gen ekspresyonundan kaynaklandığını varsayabiliriz. Gerçekten de, L-NAME'in varlığı, NOS ekspresyon regülasyonunda anahtar faktör olan NO ve transkripsiyon faktörü nükleer faktör kB (NF-kB) arasındaki dengeyi etkileyerek, hem iNOS hem de eNOS ekspresyonunun hızını artırmaktadır. NO'nun, NF-kB aktivasyonunu veya NF-kB inhibitörünü indükleyip stabilize ettiği ve böylece NOS transkripsiyonunun hızını modüle ettiği düşünülmektedir. Bu anlamda, L-NAME'nin NOS inhibisyonu ile oluşan NO seviyesindeki azalma, NF-kB aktivasyonuna ve dolayısıyla NOS ekspresyonunun artmasına yol açabilir. Paradoksal olarak, L-NAME uygulamasının in vivo NOS ekspresyonu üzerindeki etkisinin tedavi süresine ve araştırılan dokuya bağlı olarak değişebileceği bildirilmektedir (88). 4 hafta boyunca 40 mg/kg/gün L-NAME, Sprague-Dawley sıçan kavernöz dokusunda eNOS ve iNOS ekspresyonunu ve Wistar sıçanlarda kalp ve böbreklerinde eNOS'u artırdığı, ancak beyin dokusunda eNOS ekspresyonunu etkilemediği gösterilmiştir (89). Bununla birlikte, aynı L-NAME dozu, 5 haftalık tedaviden sonra Wistar sıçanlarda aortada eNOS veya iNOS ekspresyonunu etkilemediği, 7 haftalık tedavide ise kalpte eNOS ekspresyonunu artırdığı ve tersine beyinde eNOS ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (90). Biz de çalışmamızda hipertansiyon grubunda böbrek dokusunda eNOS ve iNOS immünreaktivitesinde anlamlı artış saptadık bu bulgu literatür bulgularını desteklemektedir. Kisspeptin tedavisi eNOS immünreaktivitesinde anlamlı bir azalma sağladı.

Farelerde, kisspeptin enjeksiyonlarının nNOS'un katalitik aktivitesini etkilediği ve NO salınımını doğrudan kisspeptin tarafından etkilenebileceğini rapor etmişlerdir (91, 92). Hipertansiyon+Kisspeptin grubunda serum NO düzeylerindeki anlamlı azalma NO salınımı ile kisspeptin arasındaki etkileşimden kaynaklanabilir. Bu veriyi desteklemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

Sıvı-elektrolit dengesinin ve kan basıncının kontrolünde Renin-Anjiyotensin- Aldosteron sistemi önemli rol oynamaktadır. Anjiyotensin II oldukça güçlü bir vazokonstriktör etkiye sahiptir ve dolaşım dışında da etkileri bulunmaktadır. Aldosteron sentezini ve adrenal glomerulozadan salınımını teşvik ederek, proksimal tübül içinde sodyum geri emilimini artırır. Serum ve idrar aldosteron düzeylerini incelediğimiz çalışmamızda; serum aldosteron düzeyinde

hipertansiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış gözlemlendi. Literatürde NO'nun, zona glomerulosa hücrelerinde steroidogenezi azaltarak ve angiotensin I reseptörlerini downregüle ederek, aldosteron sekresyonunu doğrudan baskıladığını öne sürmüşlerdir. L-NAME verilerek NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyonda aldosteron salınımındaki artış NO düzeyindeki azalma sonucu olailir (93-95).

Kisspeptinin gebelik dışında serumda düzeyinin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir. Kisspeptin reseptörlerinin fetal adrenal bezin neokorteksinde yüksek oranda eksprese olduğu bildirilmiştir. Normotansif gebelikte hem plazma renin aktivitesinin hem de aldosteron düzeylerinin giderek arttığı ve gebe olmayan, normotansif kadınlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar kisspeptinin hem fetal adrenal hücrelerde hem de hücre kültürü adrenal hücrelerinde aldosteron üretimini artırdığını göstermiştir. Bu nedenle fetal ve/veya maternal dolaşımında görülen yüksek düzeydeki plasental türevli kisspeptin, aldosteronun fetal ve/veya maternal adrenal üretimini etkileyebilir (66). Biz de çalışmamızda kisspeptin verdiğimiz gruplarda serum aldosteron düzeylerinde anlamlı olmayan artış saptadık.

Yapılan çalışmalarda kisspeptin 10'un intravenöz veya subkutan uygulamasında, 55 saniyelik bir yarı ömür gösterdiği bildirilmiştir (96). Chan ve ark. (97) insan plazmasına in vitro koşullarda kisspeptin-10 infüzyonundan sonra 37 °C'de inkübe ettikleri çalışmalarında kisspeptinin 60 dakikadan daha uzun süre 37 °C'de inkübe edilen numunelerde kantitatif sınırının (0.5 ng / ml) altına düştüğünü ve in vitro yarı ömrünün çok kısa olduğunu bildirmişlerdir. Thompson ve ark. çalışmalarında kisspeptin-10, kisspeptin-14 ve kisspeptin-54'ü akut subkutan 0.1, 0.3, 1, and 50 nmol dozlarında uygulamışlardır. Kisspeptin-10 ve kisspeptin-14'ün plazma LH üzerinde istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığını, ancak kisspeptin-54'ün plazma LH üzerinde anlamlı bir artış oluşturduğunu göstermişlerdir. 0.1, 0.3, 1, and 50 nmol kisspeptin-54 dozu plazma total testosteron üzerinde anlamlı bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada yeni hazırlanmış 1 nmol kisspeptin-54'ün akut subkutan uygulaması ile 37 °C'de inkübe edilmiş 1 nmol kisspeptin-54'ün alzet mini ozmotik pompayla 14 gün boyunca verilmesinde plazma LH ve toplam testosteronu anlamlı şekilde arttırdığını göstermişler. Yeni hazırlanmış kisspeptin-54 ile alzet pompasında 14 gün boyunca verilen kisspeptin-54'ün plazma LH veya total testosteron üzerine etkisi arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Ancak 50 nmol / gün kisspeptin-54'ün kronik subkutan uygulamasında plazma inhibin B'yi önemli ölçüde azalttığını, plazma aktivin A, plazma testosteron ve plazma LH ve FSH üzerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını rapor etmişlerdir (98). Yapılan başka bir çalışmada kisspeptinin yaşlanma nedeniyle yumurtalık foliküler gelişimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için, kisspeptin ve

kisspeptin antagonisti P234'ü 28 gün boyunca ovaryuma salınımı için mini-ozmotik bir pompa yerleştirmişlerdir. İntraovarian kisspeptinin üreme yaşlanmasında foliküler gelişim ve yumurtlamanın düzenlenmesinde yerel bir rol oynadığını belirterek göstermişlerdir (99). Ozmotik mini pompalarla normal vücut sıcaklığı 37,5-38,5 °C olan sıçanlara 14 gün süre ile kisspeptin verilen çalışmamızda aktivitenin azalmasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Aktivite azalması; çalışmamızda gruplar arasında kisspeptin düzeylerinde anlamlı farklılık görülmemesinin nedeni olabilir. Çalışmamızdaki kisspeptin dozunu (50 nmol/gün) literatürdeki çalışmaların dozuna uygun olarak belirledik(100). Kisspeptin dozu ile ilgili veriler sınırlıdır, farklı yöntemler ve ön analitik yöntemlerin yetersizliği nedeniyle sonuçların açık olmadığı rapor edilmektedir (56). Kisspeptinin üreme işlevlerindeki rolü bilinmesine rağmen, diğer hastalıkların tedavilerindeki rolünü araştırmak için daha çok deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir. Ayrıca kisspeptinin 10 nun etkilerinin doz, veriliş zamanı ve süresi, verilme şeklinde gerekli düzenlemelerin yapılarak araştırılması gerektiğine inanmaktayız.

Literatür ile birlikte tüm bulgular değerlendirildiğinde L-NAME ile oluşturulan deneysel hipertansiyon modelinde kisspeptinin artan kan basıncını azalttığı görüldü. Ancak kisspeptinin kan basıncı üzerindeki etki mekanizmasını göstermek için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz. Şöyleki; bu konuda deneysel hipertansiyon modelinde böbrek fonksiyonlarının bozulması için L-NAME'nin doz ve süresinin arttırılması gerektiğini düşünmekteyiz. Böbrek fonksiyonlarının bozulduğu bir tabloyu içeren deneysel hipertansiyon modelinde tedavi amacıyla verilecek kisspeptinin dozu, veriliş şekli, verilme zamanı ve süresinde gerekli düzenlemelerin yapılmasının gerektiğine inanmaktayız. Ayrıca yapılacak bu düzenlemelerle birlikte böbrek fonksiyonları için böbrek kan akımı, nitrik oksit metabolizması üzerindeki etkileri ve oksidatif hasar derecesini gösteren parametreleri moleküler düzeyde araştıran daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yaptığımız çalışmamızda L-NAME ile oluşturulan hipertansiyon modelinde, serumda kisspeptin, aldosteron, üre, sodyum, potasyum, kreatinin, NO, AST, ALT, CK aktiviteleri; böbrek dokusunda NO, glutatyon, MDA düzeyleri; idrarda kisspeptin, aldosteron, NO, MAU, kreatinin, sodyum ve kreatin klirensi, fraksiyonel sodyum atılımı incelendi. Ayrıca böbrek dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak iNOS, eNOS ve kisspeptin reseptör aktiviteleri incelendi. İncelemeler sonucunda elde ettiğimiz veriler aşağıda verilmiştir.

Kontrol ve kisspeptin grupları karşılaştırıldığında; incelenen parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Kontrol ve hipertansiyon grupları karşılaştırıldığında; hipertansiyon grubunda serum NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, böbrek dokusu MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma saptandı. Sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı ve ortalama arteriyel basıncı değerleri 1. gün, 1. hafta, 2. hafta ve 3. hafta istatistiksel olarak anlamlı bir artma, kalp hızı değerleri ise 1. gün ve 1. hafta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi. Kan basıncı düzeylerinde meydana gelen bu artış deneysel hipertansiyon modelinin oluştuğunu göstermektedir. Histopatolojik bulgularda hipertansiyon grubu böbrek kesitlerinde tübüler hasar, peritübüler fibrozis, glomerüler skleroz ve kast bulguları izlendi. eNOS immünreaktivitesinde glomerül kapillerlerinde ve proksimal tübüllerde, iNOS immünreaktivitesinde distal kıvrımlı tübüllerde yoğun boyanma izlenmiştir. Kisspeptin reseptör immünreaktivitesi glomerül kapillerlerinde ve proksimal tübüllerde yaygın ve kuvvetli boyanma gözlenmiştir.

Hipertansiyon ve hipertansiyon+kisspeptin grupları karşılaştırıldığında; hipertansiyon+kisspeptin grubunda serum potasyum düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, böbrek dokusu MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma, sistolik kan basıncı 2. hafta ve 3. hafta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, diyastolik kan basıncı ve ortalama arteriyel basıncı değerlerinde 3. hafta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi. Histopatolojik bulgularda ise tübüler hasar ve kast oluşumunda anlamlı bir azalma gözlemlendi. eNOS immünreaktivitesinde glomerül kapillerlerinde ve proksimal tübüllerde hafif dereceli boyanma azalması görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde kisspeptinin kan basıncı üzerinde potansiyel bir düşürücü etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Ancak bu düşürücü etkinin altında yatan mekanizmayı açıklayabilmek için farklı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Bu konuda kisspeptinin dozu, verilme şekli, verilme zamanı ve süresinde yapılan düzenlemeler ile böbrek fonksiyonlarını, nitrik oksit metabolizması üzerindeki etkileri ile oksidatif hasar miktarını gösteren parametreleri moleküler düzeyde araştıran daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## ÖZET

İlaç tedavisinde sağlanan son yıllardaki önemli gelişmelere rağmen, hipertansiyon toplumda sık görülmesi ve ciddi komplikasyonlara yol açması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. L-NAME ile deneysel hipertansiyon modeli oluşturduğumuz çalışmamızda kisspeptinin kan basıncı, böbrek fonksiyonları üzerindeki etkileri, etki mekanizması ile böbrekteki histopatolojik değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

Deneysel hipertansiyon modelinde kisspeptinin etkilerini araştıran çalışmamızda, 40 adet erkek Spraque-Dawley sıçan; kontrol, kisspeptin, hipertansiyon ve hipertansiyon+kisspeptin gruplarına ayrıldı. Hipertansiyon gruplarına tek doz intravenöz 15 mg/kg L-NAME enjeksiyonundan sonra içme suyu ile 150 mg/L oranında L-NAME ad libitum 3 hafta verildi. Çalışmanın ikinci haftasında kisspeptin ve hipertansiyon+kisspeptin gruplarına kisspeptin (50 nmol/gün) iki hafta boyunca verildi. Her hafta kuyruktan kan basıncı ölçümü yapıldı. Çalışmanın 21. günü sıçanlardan 24 saatlik idrarları toplandı. Daha sonra anestezi altında kanları ve her iki böbreği alınarak ötenazi uygulandı.

Kontrol ve hipertansiyon grupları karşılaştırıldığında hipertansiyon grubunda serum NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma; böbrek dokusu MDA düzeyinde, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı ve ortalama arteriyel basıncı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma gösterdi. Histopatolojik bulgularda hipertansiyon grubu böbrek kesitlerinde tübüler hasar, peritübüler fibrozis, glomerüler skleroz ve kast bulguları izlendi. eNOS immünreaktivitesinde glomerül kapillerlerinde ve proksimal tübüllerde, iNOS immünreaktivitesinde distal kıvrımlı tübüllerde yoğun boyanma izlenmiştir. Kisspeptin reseptör immünreaktivitesi glomerül kapillerlerinde ve proksimal tübüllerde yaygın ve kuvvetli boyanma gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Hipertansiyon ve hipertansiyon+kisspeptin grupları

karşılaştırıldığında serum potasyum düzeyinde, böbrekdokusu MDA düzeyinde, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı ve ortalama arteriyel kan basıncı değerlerinde anlamlı bir azalma gösterdi. GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma saptandı. Histopatolojik bulgularda ise tübüler hasar ve kast oluşumunda anlamlı bir azalma gözlemlendi. eNOS immünreaktivitesinde glomerül kapillerlerinde ve proksimal tübüllerde hafif dereceli boyanma azalması görülmüştür ( $p < 0,05$ ).

Kisspeptinin kan basıncını azaltıcı etkisinin saptandığı daha başka deneysel ve ön klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

**Anahtar kelimeler:** Hipertansiyon, Kisspeptin, Böbrek, Nitrik oksit, Oksidatif stres

## **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF KISSPEPTIN ON BLOOD PRESSURE IN EXPERIMENTAL HYPERTENSIVE MODEL IN RATS**

### **SUMMARY**

Despite the significant advances in drug treatment in recent years, hypertension is an important public health problem because of its serious complications and its prevalence in the community. In our study, we aimed to investigate the effects of kisspeptin on blood pressure, renal function, mechanism of action and renal histopathological changes in L-NAME-induced experimental hypertension model.

In our study investigating the effects of kisspeptin in an experimental hypertension model, 40 male Sprague-Dawley rats; control, kisspeptin, hypertension and hypertension + kisspeptin groups. Hypertension groups were given a single dose of 15 mg / kg L-NAME intravenous injection. Afterwards, L-NAME ad libitum was given at 150 mg / L for 3 weeks. In the second week of the study, kisspeptin and hypertension + kisspeptin groups were given kisspeptin (50 nmol / day) for two weeks. Blood pressure was measured from the tail every week. On the 21st day of the experiment, 24 hour urine samples were collected and blood was taken under anesthesia and both kidneys were euthanized.

A statistically significant reduction in serum NO levels compared to control and hypertension groups; MDA level, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean arterial pressure were significantly increased. Histopathological results revealed tubular damage, peritubular fibrosis, glomerular sclerosis and caste findings in renal sections of hypertension group. eNOS immunoreactivity showed intense staining in glomerular capillaries



and proximal tubules with distal coiled tubules in iNOS immunoreactivity. Kisspeptin receptor immunoreactivity revealed widespread and strong staining in glomerular capillaries and proximal tubules ( $p < 0.05$ ). When hypertension and hypertension + kisspeptin groups were compared, there was a statistically significant decrease in serum potassium level, renal tissue MDA level, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean arterial blood pressure. There was a statistically significant increase in GSH levels. Histopathological findings showed a significant decrease in tubular damage and cast formation. There was a slight decrease in glomerular capillaries and proximal tubules in eNOS immunoreactivity ( $p < 0.05$ ).

We believe that there is a need for further experimental and preliminary clinical studies in which the blood pressure reducing effect of kisspeptin is determined.

**Keywords:** Hypertension, Kisspeptin, Kidneys, Nitric oxide, Oxidative stress

## KAYNAKLAR

1. Guyton AC Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. In: Yeğen BÇ, editor. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2013. 201-28 p
2. Preston RR, Wilson TE, İšođlu-Alkaç Ü, Ermutlu MN, Yılmaz B. Fizyoloji: Lippincott görsel anlatımlı çalışma kitapları: İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri; 2014. 232-44 p
3. [http://www.turkhipertansiyon.org/prevelans\\_calismasi\\_2.php](http://www.turkhipertansiyon.org/prevelans_calismasi_2.php). Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği, 2012. Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması PatenT2. [erişim tarihi 10 Nisan 2019].
4. Lan C-z, Ding L, Su Y-l, Guo K, Wang L, Kan H-w, et al. Grape seed proanthocyanidins prevent DOCA-salt hypertension-induced renal injury and its mechanisms in rats. Food & function. 2015;6(7):2179-86.
5. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=16162>. Türkiye İstatistik Kurumu, 2014 Haber Bülteni: Ölüm Nedeni İstatistikleri [erişim tarihi 10 Nisan 2019].
6. Mollahaliloğlu S, Başara BB, Eryılmaz Z. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2010. Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Sağlık Bakanlığı, Ankara, 2011. s.114.
7. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. New England Journal of Medicine. 1993;329(27):2002-12.
8. Ribeiro MO, Antunes E, De Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. Hypertension. 1992;20(3):298-303.
9. Bunbupha S, Pakdeechote P, Kukongviriyapan U, Prachaney P, Kukongviriyapan V. Asiatic acid reduces blood pressure by enhancing nitric oxide bioavailability with modulation of eNOS and p47phox expression in L-NAME-induced hypertensive rats. Phytotherapy research. 2014;28(10):1506-12.

10. Ding H, Li X, Li J, Li Z, Niu Y, Ren W, et al. Role of NADPH oxidase pathway in renal protection induced by procyanidin B2: In L-NAME induced rat hypertension model. *Journal of Functional Foods*. 2018;47:405-15.
11. Lee J-H, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1996;88(23):1731-7.
12. Shoji I, Hirose T, Mori N, Hiraishi K, Kato I, Shibasaki A, et al. Expression of kisspeptins and kisspeptin receptor in the kidney of chronic renal failure rats. *Peptides*. 2010;31(10):1920-5.
13. Nijher GM, Chaudhri OB, Ramachandran R, Murphy KG, Zac-Varghese SE, Fowler A, et al. The effects of kisspeptin-54 on blood pressure in humans and plasma kisspeptin concentrations in hypertensive diseases of pregnancy. *Br J Clin Pharmacol*. 2010;70(5):674-81.
14. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cifkova R, Dominiczak AF, et al. Hypertension. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(18014):14.
15. LeBouef T, Whited L. *Physiology, Autonomic Nervous System* [erişim tarihi 12 şubat 2019]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538516/>
16. Rhoades RA, Bell DR. *Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri*. İstanbul Tıp Kitabevi. 1 ed 2017. 317-25 p.
17. Pacurari M, Kafoury R, Tchounwou PB, Ndebele K. The renin-angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling. *International journal of inflammation*. 2014;2014.
18. Ames MK, Atkins CE, Pitt B. The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *J Vet Intern Med*. 2019;33(2):363-82.
19. Yamazaki O, Ishizawa K, Hirohama D, Fujita T, Shibata S. Electrolyte transport in the renal collecting duct and its regulation by the renin-angiotensin-aldosterone system. *Clin Sci*. 2019;133(1):75-82.
20. Bakris GL, Sorrentino M. *Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2017.
21. Miller AJ, Arnold AC. The renin-angiotensin system in cardiovascular autonomic control: recent developments and clinical implications. *Clin Auton Res*. 2019;29(2):231-43.
22. Zhou Z-H, Bubien JK. Nongenomic regulation of ENaC by aldosterone. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2001;281(4):C1118-C30.
23. McCurley A, Jaffe IZ. Mineralocorticoid receptors in vascular function and disease. *Molecular and cellular endocrinology*. 2012;350(2):256-65.
24. Muntner P, Carey RM, Gidding S, Jones DW, Taler SJ, Wright Jr JT, et al. Potential US population impact of the 2017 ACC/AHA high blood pressure guideline. *Circulation*. 2018;137(2):109-18.

25. Soydan İ. Hipertansiyon ile ilgili TEKHARF çalışması verileri ve yorumu. Türk Erişkinlerde Kalp Sağlığı (TEKHARF) İstanbul: Argos iletişim. 2003.
26. Arif M, Sadayappan S, Becker RC, Martin LJ, Urbina EM. Epigenetic modification: a regulatory mechanism in essential hypertension. *Hypertens Res.* 2019;13(10):019-0248.
27. Volpe M, Gallo G, Tocci G. New approach to blood pressure control: Triple combination pill. *Trends Cardiovasc Med.* 2019;14(19):30031-3.
28. Sakuma I, Saito J, Matsuzawa Y, Omura M, Matsui S, Nishikawa T. A Unique Case of Renovascular Hypertension due to Fibromuscular Dysplasia in an Extra-renal Artery. *Internal Medicine.* 2018:0023-17.
29. Tuna AT. Hipertansiyon Modelleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Cardiovascular Surgery Special Topics.* 2013;5(3):45-8.
30. Dornas WC, Silva ME. Animal models for the study of arterial hypertension. *Journal of biosciences.* 2011;36(4):731-7.
31. Okakomoto Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rat. *Japanese Circulation Journal.* 1963;27:282-93.
32. Dahl LK, Heine M, Tassinari L. Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. *Nature.* 1962;194(4827):480.
33. Mullins J, Peters J, Ganten D. Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene. *Nature.* 1990;344(6266):541.
34. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *Journal of Experimental Medicine.* 1934;59(3):347-79.
35. Garwitz ET, Jones AW. Aldosterone infusion into the rat and dose-dependent changes in blood pressure and arterial ionic transport. *Hypertension.* 1982;4(3):374-81.
36. Dibona GF, Jones SY. Dynamic analysis of renal nerve activity responses to baroreceptor denervation in hypertensive rats. *Hypertension.* 2001;37(4):1153-63.
37. Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *The Journal of clinical investigation.* 1992;90(1):278-81.
38. Biancardi VC, Bergamaschi CT, Lopes OU, Campos RR. Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 2007;40(3):401-8.
39. Bartunek J, Weinberg EO, Tajima M, Rohrbach S, Katz SE, Douglas PS, et al. Chronic: Novel Molecular Adaptation to Systolic Load in Absence of Hypertrophy: Novel Molecular Adaptation to Systolic Load in Absence of Hypertrophy: Novel Molecular Adaptation to Systolic Load in Absence of Hypertrophy-nitro-l-arginine Methyl Ester-induced Hypertension: Novel Molecular Adaptation to Systolic Load in Absence of Hypertrophy. *Circulation: Journal of the American Heart Association.* 2000;101(4):423.

40. Loperena R, Harrison DG. Oxidative stress and hypertensive diseases. *Medical Clinics*. 2017;101(1):169-93.
41. Liochev SI. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013;60:1-4.
42. Shin MH, Moon YJ, Seo J-E, Lee Y, Kim KH, Chung JH. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase, xanthine oxidase, and mitochondrial electron transport system mediate heat shock-induced MMP-1 and MMP-9 expression. *Free Radical Biology and Medicine*. 2008;44(4):635-45.
43. Dabrowska N, Wiczkowski A. Analytics of oxidative stress markers in the early diagnosis of oxygen DNA damage. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2017;26(1):155-66.
44. Yavuz ÖY, Aydoğdu N, Taştekin E, Süt N. The Effects of Baicalin on Myoglobinuric Acute Renal Failure in Rats. *Balkan medical journal*. 2018;35(1):68.
45. Robaczewska J, Kedziora-Kornatowska K, Kozakiewicz M, Zary-Sikorska E, Pawluk H, Pawlitzak W, et al. Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension. *J Physiol Pharmacol*. 2016;67(3):331-7.
46. Harrison DG, Chen W, Dikalov S, Li L. Regulation of endothelial cell tetrahydrobiopterin: pathophysiological and therapeutic implications. *Advances in pharmacology: Elsevier*; 2010. p. 107-32.
47. Kossmann S, Hu H, Steven S, Schönfelder T, Fraccarollo D, Mikhed Y, et al. Inflammatory monocytes determine endothelial nitric-oxide synthase uncoupling and nitro-oxidative stress induced by angiotensin II. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(40):27540-50.
48. Pepene CE, Ilie IR, Marian I, Duncea I. Circulating osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand in polycystic ovary syndrome: relationships to insulin resistance and endothelial dysfunction. *European journal of endocrinology*. 2011;164(1):61-8.
49. Landmesser U, Dikalov S, Price SR, McCann L, Fukai T, Holland SM, et al. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *The Journal of clinical investigation*. 2003;111(8):1201-9.
50. Tena-Sempere M. GPR54 and kisspeptin in reproduction. *Human reproduction update*. 2006;12(5):631-9.
51. Gottsch M, Clifton D, Steiner R. Kisspeptin-GPR54 signaling in the neuroendocrine reproductive axis. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006;254:91-6.
52. Kang MJ, Oh YJ, Shim YS, Baek JW, Yang S, Hwang IT. The usefulness of circulating levels of leptin, kisspeptin, and neurokinin B in obese girls with precocious puberty. *Gynecological Endocrinology*. 2018:1-4.
53. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001;411(6837):613.

54. Mikkelsen JD, Bentsen AH, Ansel L, Simonneaux V, Juul A. Comparison of the effects of peripherally administered kisspeptins. *Regulatory peptides*. 2009;152(1-3):95-100.
55. Mills EG, Dhillo WS, Comninou AN. Kisspeptin and the control of emotions, mood and reproductive behaviour. *Journal of Endocrinology*. 2018;JOE-18-0269.
56. Trevisan CM, Montagna E, de Oliveira R, Christofolini DM, Barbosa CP, Crandall KA, et al. Kisspeptin/GPR54 System: What Do We Know About Its Role in Human Reproduction? *Cell Physiol Biochem*. 2018;49(4):1259-76.
57. Gottsch M, Cunningham M, Smith J, Popa S, Acohido B, Crowley W, et al. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology*. 2004;145(9):4073-7.
58. Cui P, Yang C, Zhang K, Gao X, Luo L, Tian Y, et al. Effect of estrogen on the expression of GnRH and kisspeptin in the hypothalamus of rats during puberty. *Theriogenology*. 2015;84(9):1556-64.
59. Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Genazzani AR. Why kisspeptin is such important for reproduction? *Gynecological Endocrinology*. 2011;27(1):8-13.
60. Fu L-Y, van den Pol AN. Kisspeptin directly excites anorexigenic proopiomelanocortin neurons but inhibits orexigenic neuropeptide Y cells by an indirect synaptic mechanism. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(30):10205-19.
61. Sawyer I, Smillie S-J, Bodkin JV, Fernandes E, O'Byrne KT, Brain SD. The vasoactive potential of kisspeptin-10 in the peripheral vasculature. *PLoS One*. 2011;6(2):e14671.
62. Kauffman AS, Smith JT. *Kisspeptin signaling in reproductive biology*: Springer; 2013.
63. Andreozzi F, Mannino GC, Mancuso E, Spiga R, Perticone F, Sesti G. Plasma kisspeptin levels are associated with insulin secretion in nondiabetic individuals. *PLoS One*. 2017;12(6):e0179834.
64. Ziyaraa MA, Hamdan FB, Mousa LR. Correlation of Kisspeptin-10 level and fetal well-being in preeclamptic patients. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2016;55(6):840-6.
65. Katugampola H, King PJ, Chatterjee S, Meso M, Duncan AJ, Achermann JC, et al. Kisspeptin is a novel regulator of human fetal adrenocortical development and function: a finding with important implications for the human fetoplacental unit. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2017;102(9):3349-59.
66. Nakamura Y, Aoki S, Xing Y, Sasano H, Rainey WE. Metastin stimulates aldosterone synthesis in human adrenal cells. *Reproductive Sciences*. 2007;14(8):836-45.
67. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*. 1979;95(2):351-8.
68. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao D, Reddy P. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clinica Chimica Acta*. 2000;293(1-2):53-62.

69. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1959;82(1):70-7.
70. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clinical chemistry*. 1990;36(8):1440-3.
71. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951;193(1):265-75.
72. Wei SY, Wang YX, Zhang QF, Zhao SL, Diao TT, Li JS, et al. Multiple Mechanisms are Involved in Salt-Sensitive Hypertension-Induced Renal Injury and Interstitial Fibrosis. *Sci Rep*. 2017;7(45952).
73. Rajj L, Azar S, Keane W. Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats. *Kidney Int*. 1984;26(2):137-43.
74. Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Ucar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urological research*. 2006;34(1):41-6.
75. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Canadian Journal of Surgery*. 2013;56(1):6.
76. Sasser JM, Molnar M, Baylis C. Relaxin ameliorates hypertension and increases nitric oxide metabolite excretion in angiotensin II but not N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester hypertensive rats. *Hypertension*. 2011;58(2):197-204.
77. Moningka NC, Tsarova T, Sasser JM, Baylis C. Protective actions of nebivolol on chronic nitric oxide synthase inhibition-induced hypertension and chronic kidney disease in the rat: a comparison with angiotensin II receptor blockade. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(3):913-20.
78. Tulmaç Ö. Gebelikte Hipertansif Bozukluklar; Tanım, Sınıflandırma ve Patofizyoloji. *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2012(14):17-23.
79. Adali E, Kurdoglu Z, Kurdoglu M, Kamaci M, Kolusari A, Yildizhan R. Metastin levels in pregnancies complicated by pre-eclampsia and their relation with disease severity. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25(12):2671-5.
80. Robaczewska J, Kedziora-Kornatowska K, Kozakiewicz M, Zary-Sikorska E, Pawluk H, Pawliszak W, et al. Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension. *J Physiol Pharmacol*. 2016;67(3):331-7.
81. Seth MK, Hussain ME, Pasha S, Fahim M. Effects of a novel ACE inhibitor, 3-(3-thienyl)-l-alanyl-ornithyl-proline, on endothelial vasodilation and hepatotoxicity in l-NAME-induced hypertensive rats. *Drug design, development and therapy*. 2016;10:1533-42.
82. Aslan M, Erkanli Senturk G, Akkaya H, Sahin S, Yilmaz B. The effect of oxytocin and Kisspeptin-10 in ovary and uterus of ischemia-reperfusion injured rats. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2017;56(4):456-62.

83. Suehiro T, Tsuruya K, Ikeda H, Toyonaga J, Yamada S, Noguchi H, et al. Systemic Aldosterone, But Not Angiotensin II, Plays a Pivotal Role in the Pathogenesis of Renal Injury in Chronic Nitric Oxide-Deficient Male Rats. *Endocrinology*. 2015;156(7):2657-66.
84. Wahab F, Atika B, Shahab M, Behr R. Kisspeptin signalling in the physiology and pathophysiology of the urogenital system. *Nat Rev Urol*. 2016;13(1):21-32.
85. Seth MK, Hussain ME, Pasha S, Fahim M. Effects of a novel ACE inhibitor, 3-(3-thienyl)-l-alanyl-ornithyl-proline, on endothelial vasodilation and hepatotoxicity in l-NAME-induced hypertensive rats. *Drug Des Devel Ther*. 2016;10:1533-42.
86. Eghbalzadeh K, Brixius K, Bloch W, Brinkmann C. Skeletal muscle nitric oxide (NO) synthases and NO-signaling in "diabesity"--what about the relevance of exercise training interventions? *Nitric Oxide*. 2014;37:28-40.
87. Korkmaz A, Yaren H, Topal T, Oter S. Molecular targets against mustard toxicity: Implication of cell surface receptors, peroxynitrite production, and PARP activation 2006. 662-70 p.
88. Kopincova J, Puzserova A, Bernatova I. L-NAME in the cardiovascular system - nitric oxide synthase activator? *Pharmacol Rep*. 2012;64(3):511-20.
89. Gur S, Kadowitz PJ, Gurkan L, Chandra S, Dewitt SY, Harbin A, et al. Chronic inhibition of nitric-oxide synthase induces hypertension and erectile dysfunction in the rat that is not reversed by sildenafil. *BJU Int*. 2010;106(1):78-83.
90. Paulis L, Pechanova O, Zicha J, Barta A, Gardlik R, Celec P, et al. Melatonin interactions with blood pressure and vascular function during L-NAME-induced hypertension. *J Pineal Res*. 2010;48(2):102-8.
91. Bedenbaugh MN, O'Connell RC, Lopez JA, McCosh RB, Goodman RL, Hileman SM. Kisspeptin, gonadotrophin-releasing hormone and oestrogen receptor alpha colocalise with neuronal nitric oxide synthase neurones in prepubertal female sheep. *J Neuroendocrinol*. 2018;30(1):12560.
92. Bedenbaugh MN, McCosh RB, Lopez JA, Connors JM, Goodman RL, Hileman SM. Neuroanatomical Relationship of Neuronal Nitric Oxide Synthase to Gonadotropin-Releasing Hormone and Kisspeptin Neurons in Adult Female Sheep and Primates. *Neuroendocrinology*. 2018;107(3):218-27.
93. Hanke CJ, Drewett JG, Myers CR, Campbell WB. Nitric oxide inhibits aldosterone synthesis by a guanylyl cyclase-independent effect. *Endocrinology*. 1998;139(10):4053-60.
94. Nithipatikom K, Holmes BB, McCoy MJ, Hillard CJ, Campbell WB. Chronic administration of nitric oxide reduces angiotensin II receptor type 1 expression and aldosterone synthesis in zona glomerulosa cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004;287(5):15.
95. Nithipatikom K, Holmes BB, Isbell MA, Hanke CJ, Gomez-Sanchez CE, Campbell WB. Measurement of steroid synthesis in zona glomerulosa cells by liquid chromatography-



electrospray ionization-mass spectrometry: inhibition by nitric oxide. *Anal Biochem.* 2005;337(2):203-10.

96. Ramachandran R, Patterson M, Murphy KG, Dhillon WS, Patel S, Kazarian A, et al. Preanalytical factors affecting RIA measurement of plasma kisspeptin: *Clin Chem.* 2008 Mar;54(3):615-7. doi: 10.1373/clinchem.2007.093005.
97. Chan YM, Butler JP, Pinnell NE, Pralong FP, Crowley WF, Jr., Ren C, et al. Kisspeptin resets the hypothalamic GnRH clock in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(6):2010-3046.
98. Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Bewick GA, Stamp GW, Curtis AE, et al. Chronic subcutaneous administration of kisspeptin-54 causes testicular degeneration in adult male rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;291(5):20.
99. Fernandois D, Na E, Cuevas F, Cruz G, Lara HE, Paredes AH. Kisspeptin is involved in ovarian follicular development during aging in rats. *J Endocrinol.* 2016;228(3):161-70.
100. Ayturk N, Firat T, Kukner A, Ozogul C, Tore F, Kandirali IE, et al. The effect of kisspeptin on spermatogenesis and apoptosis in rats. *Turk J Med Sci.* 2017;47(1):334-42.

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### ŞEKİLLER

Şekil 1. Kisspeptin İzofomlarının İsimleri.....	13
Şekil 2. Tail-cuff pletismografi yöntemi .....	17
Şekil 3. NO standart çalışması regresyon grafiği.....	23
Şekil 4. Mikroalbuminüri (MAU) standart çalışması regresyon grafiği .....	25
Şekil 5. Aldosteron standart çalışması regresyon grafiği .....	26
Şekil 6. Kisspeptin standart çalışması regresyon grafiği.....	27
Şekil 7. Gruplara ait sistolik kan basıncı değerlerinin dağılımı .....	35
Şekil 8. Gruplara ait diyastolik kan basıncı değerlerinin dağılımı .....	35
Şekil 9. Gruplara ait arteriyel kan basıncı değerlerinin dağılımı .....	36
Şekil 10. Gruplara ait kalp hızı değerlerinin dağılımı.....	36
Şekil 11. Gruplara ait serum kisspeptin değerlerinin dağılımı.....	37
Şekil 12. Gruplara ait serum aldosteron değerlerinin dağılımı .....	37
Şekil 13. Gruplara ait serum NO değerlerinin dağılımı .....	38
Şekil 14. Gruplara ait serum sodyum değerlerinin dağılımı .....	38
Şekil 15. Gruplara ait serum potasyum değerlerinin dağılımı.....	39
Şekil 16. Gruplara ait üre değerlerinin dağılımı.....	39
Şekil 17. Gruplara ait serum kreatinin değerlerinin dağılımı.....	40
Şekil 18. Gruplara ait ALT değerlerinin dağılımı .....	40
Şekil 19. Gruplara ait AST değerlerinin dağılımı .....	41
Şekil 20. Gruplara ait kreatin kinaz değerlerinin dağılımı .....	41

Şekil 21. Gruplara ait böbrek MDA değerlerinin dağılımı .....	42
Şekil 22. Gruplara ait böbrek GSH değerlerinin dağılımı.....	42
Şekil 23. Gruplara ait böbrek NO değerlerinin dağılımı .....	43
Şekil 24. Gruplara ait idrar kisspeptin değerlerinin dağılımı .....	43
Şekil 25. Gruplara ait idrar aldosteron değerlerinin dağılımı.....	44
Şekil 26. Gruplara ait idrar NO değerlerinin dağılımı .....	44
Şekil 27. Gruplara ait idrar mikroalbüminüri değerlerinin dağılımı .....	45
Şekil 28. Gruplara ait idrar kreatinin değerlerinin dağılımı .....	45
Şekil 29. Gruplara ait idrar sodyum değerlerinin dağılımı.....	46
Şekil 30. Gruplara ait kreatinin klirensi değerlerinin dağılımı.....	46
Şekil 31. Gruplara ait fraksiyonel sodyum atılımı değerlerinin dağılımı.....	47
Şekil 32. Gruplara ait idrar hacim değerlerinin dağılımı .....	47
Şekil 33. Gruplara ait tübüler hasar skoru değerlerinin dağılımı .....	49
Şekil 34. Gruplara ait peritübüler fibrozis değerlerinin dağılımı .....	49
Şekil 35. Gruplara ait glomerüler sklerozis değerlerinin dağılımı .....	50
Şekil 36. Gruplara ait kast değerlerinin dağılımı .....	50
Şekil 37. Hematoksilen-eozin ile boyanmış kontrol grubunun böbrek kesiti (HEx200) .....	51
Şekil 38. Hematoksilen-eozin ile boyanmış kisspeptin grubunun böbrek kesiti (HEx200).....	51
Şekil 39. Hematoksilen-eozin ile boyanmış hipertansiyon grubunun böbrek kesiti (HEx200)	52
Şekil 40. Hematoksilen-eozin ile boyanmış hipertansiyon+kisspeptin grubunun böbrek kesiti (HEx200) .....	52
Şekil 41. Gruplara ait eNOS değerlerinin dağılımı .....	53
Şekil 42. Kontrol grubu eNOS immünreaktivitesi (X200) .....	54
Şekil 43. Kisspeptin grubu eNOS immünreaktivitesi (X200).....	54
Şekil 44. Hipertansiyon grubu eNOS immünreaktivitesi (X200) .....	55
Şekil 45. Hipertansiyon+Kisspeptin grubu eNOS immünreaktivitesi (X200).....	55
Şekil 46. Gruplara ait iNOS değerlerinin dağılımı.....	56
Şekil 47. Kontrol grubu iNOS immünreaktivitesi (X200) .....	56
Şekil 48. Kisspeptin grubu iNOS immünreaktivitesi (X200) .....	57
Şekil 49. Hipertansiyon grubu iNOS immünreaktivitesi (X200).....	57
Şekil 50. Hipertansiyon+Kisspeptin grubu iNOS immünreaktivitesi (X200).....	58
Şekil 51. Gruplara ait kisspeptin reseptörü değerlerinin dağılımı.....	59
Şekil 52. Kontrol grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200) .....	59
Şekil 53. Kisspeptin grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200).....	60

Şekil 54. Hipertansiyon grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200).....	60
Şekil 55. Hipertansiyon+Kisspeptin grubu kisspeptin reseptör immünreaktivitesi (X200).....	61

## TABLolar

<b>Tablo 1.</b> Kan basıncı değerlerinin sınıflandırılması.....	7
<b>Tablo 2.</b> Grupların serum parametrelerine ait verileri .....	30
<b>Tablo 3.</b> Grupların böbrek dokusu parametrelerine ait verileri .....	31
<b>Tablo 4.</b> Grupların idrar parametrelerine ait verileri .....	32
<b>Tablo 5.</b> Grupların sistolik kan basıncı parametrelerine ait verileri .....	33
<b>Tablo 6.</b> Grupların diyastolik kan basıncı parametrelerine ait verileri .....	33
<b>Tablo 7.</b> Grupların ortalama arteriyel kan basıncı parametrelerine ait verileri.....	34
<b>Tablo 8.</b> Grupların kalp hızı parametrelerine ait verileri .....	34
<b>Tablo 9.</b> Grupların histopatolojik parametrelerine ait verileri .....	48
<b>Tablo 10.</b> Grupların immünohistokimyasal parametrelerine ait verileri .....	53

## ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Ankara'nın Çankaya ilçesinde doğdum. İlköğrenimime 1995 yılında Boztepe İlköğretim okulunda, lise öğrenimime 2003 yılında Seyranbağları Süper Lisesi'nde başladım. Lisans öğrenimimi ise Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2010 yılında tamamladım. 2011 yılı Şubat ayında Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi'nde araştırma görevlisi olarak işe başladım. 2011 yılı Eylül ayından itibaren Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

2013 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimimi tamamladım. 2013 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım.

### ESERLER

#### SCI-SSCI veya SCI Expanded Kapsamındaki Yayınları

1. Yalçinkaya Yavuz Ö, Aydogdu N., Tastekin E., Süt N., The Effects of Baicalin on Myoglobinuric Acute Renal Failure in Rats, Balkan Medical Journal, 9, 2017

#### Uluslararası Kitap veya Kitapta Bölüm (Kongre Bildiri Kitapları Hariç)

1.Yavuz S, Turgut M, Yalcinkaya-Yavuz Ö, Aydın T. Analgesic effects of melatonin. In: Srinivasan V, Gobbi G, Shillcutt SD, Suzen S (eds). Melatonin: Therapeutic value and neuroprotection. ISBN: 9781482220094, CRC Press (2014-in press). (Ağustos 2014)

### **Uluslararası Hakemli Dergi Makaleleri**

1. Karaca A., Vardar S., Yavuz O., Turan F. Using Video Recordings Of Animal Experiments For Teaching Physiology. *Trakia Journal of Sciences*.165-169 (Mayıs 2014)

### **Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:**

1. Yalcinkaya YÖ, Aydogdu N, Tastekin E, Sut N. The effects of baicalin on rhabdomyolysis induced acute renal injury in rats. IUPS 37. International Congress of Physiological Sciences; 2013 July 21-26; Birmingham, UK.2013, LB111.
2. Aydogdu N, Tastekin E, Cukur Z, Poyraz M.D, Yalcinkaya-Yavuz O, Kaya O. The effects of *Tarantula cubensis* extract on renal ischemia/reperfusion injury in the rats. Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiological Society; 2014 August 27-30; Budapest, Hungary, P4.33.
3. Aydogdu N, Atagun Bana C, Tastekin E, Demircan Poyraz M, Yalcinkaya Yavuz O. “The Effects of Erdosteine on Experimental Myoglobinuric Acute Kidney Injury in Rats” Federation of European Physiological Societies (FEPS) & Baltic Physiological Societies-FEPS-26-29 August 2015.

### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:**

1. Aydoğdu N, Poyraz MD, Taştekin E, Öz S, Yavuz YÖ, Çukur Z, Tarhan AI, Atagün Ç. Sıçanlarda Böbrek I/R hasarında Aspirinin Etkileri. *TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Trabzon 2012*, p:027.
2. Yalçinkaya YÖ, Aydoğdu N, Taştekin E, Süt N. Sıçanlarda gliserol ile oluşturulan kas hasarı sonucu gelişen akut böbrek yetmezliğinde baicalinin etkileri. *TFBD 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara 2013*, p:005.
3. Karaca A, Vardar SA, Yalçinkaya YÖ, Turan FN. Fizyoloji eğitiminde deney hayvanı kullanılmasına alternatif bir yöntem: video ile eğitim. *TFBD 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Ankara 2013*, s:39.
4. Türkmen MT, Karasalihoğlu AR, Taştekin E, Yalçinkaya- Yavuz Ö, Bulut E, Aydoğdu N, Yağız R, Taş A, Yıldız A. TDeneysel Sisplatin Ototoksitesinde Curcumin’in Olası Koruyucu Etkisi. *37. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz Ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi (Ekim 2015)*

5. Aydoğdu N, Taştekin E, Tayfur P, Yalçinkaya- Yavuz Ö, Kaya O, Kandemir N. Deneysel Hipertansiyon Oluşturulan Sıçanlarda İrisinin Etkilerinin Araştırılması. TFBD 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Denizli 2017
6. Aydın MA, Aydogdu N, Tastekin E, Kandemir N, Yalçinkaya Yavuz O, Kudaibergenova A. Investigation of the relation of nesfatin-1 and adropin with blood pressure in experimental hypertension model. 3Rd International Congress Of Turkish Neuroendocrinology Society Abstract Book PC-006. Malatya, 2018.
7. Yalçinkaya Yavuz Ö, Aydoğdu N, Tastekin E, Aydın MA, Kandemir N, Kudaibergenova A. Deneysel Hipertansiyon Modelinde Kisspeptinin Kan Basıncı Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. TFBD 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Antalya 2018.

## **EKLER**



# Ek 1



T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu  
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

Oturum Sayısı: 2015/09

Karar Tarihi: 06.11.2015

KARAR NO: 2015.09.03

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nu yaptığı, Arş. Gör. Özlem YALÇINKAYA YAVUZ'un doktora tezi olarak TÜBİTAK'a sunulması planlanan TÜHADYEK-2015/48 protokol nolu "**Deneyel Hipertansiyon Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Kisspeptinin Kan Basıncı Üzerindeki Etkisinin Araştırılması**" başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Doç. Dr. Enis ULUÇAM  
Başkan

Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Vet. Hekim Ziya ÇUKUR  
Vet. Hek. Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN  
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

-İznil-  
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Doç. Dr. Tevfik AKTOZ  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN  
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Yrd. Doç. Dr. Elvan BAKAR  
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Ecz. F. Uygur GÜLER  
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır

Osman GÜLTEKİN  
Sivil Üye  
Araştırma ile İlişki:  var  yok  
Toplantı Katılım:  evet  hayır