



Zencefil kökü suyuyla dirençli damarların genişlemesinin indüklenmesi, muhtemelen endotel hücrelerinde ekstrasellüler sinyal-regüle edici kinaz 1/2 ve endotelial nitrik oksit sentaz aktivasyonu yoluyla

Elizabeth Bird, Dinesh M. Shah

Özet

Amaç: Zencefil kökü suyunun farelerden gelen dirençli damarların büzüşebilme ilişkisi ve insan endotel hücrelerinde ekstrasellüler sinyal-regüle edici kinaz 1/2 (ERK1/2) ve endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivasyonu üzerindeki etkilerini incelemek.

Yöntemler: Yarı-kuru zencefil köklerinden su çıkarıldı. Sağlıklı erişkin C57BL/6 farelerden mezenterik arter halkaları çıkarıldı. Primer insan göbek kordonu damar endotel hücreleri (HUVEC'ler) normal doğum yapan bebeklerin göbek kordonlarından izole edildi. Zencefil kökü suyunun varlığında veya yokluğunda 0.1% (v/v) oranında potasyumla (100 mM KCl) uyarıma yanıt olarak diseke edilen damar halkalarının büzüşebilirliği tel tele miyografisiyle ölçüldü. Zencefil kökü suyu varlığında kültür ortamında ERK1/2 ve eNOS'nin fosforilasyon düzeyleri 0, 0.025%, 0.05%, 0.1%, ve 0.2% (v/v) oranlarında HUVEC'lerde western blot analiziyle değerlendirildi.

Sonuçlar: KCl uyarımına yanıt olarak mezenterik arter halkalarında ani bir kontraktıl aktivite artışı gözlemlendi. Zencefil kökü suyu KCl kaynaklı damar büzülmesini etkili bir şekilde azaltmıştır. Ayrıca, zencefil kökü suyu ERK1/2 ve eNOS'in fosforilasyonunu doz-bağımlı olarak anlamlı biçimde artırmıştır.

Sonuçlar: Zencefil kökü suyu dirençli damarları gevşetme kapasitesine sahiptir. Endoteldeki hücrelerde fosforilasyon yoluyla ERK1/2 ve eNOS'un aktivasyonu, zencefil kökü suyunun vazodilatör aktivitesinin altında yatan bir mekanizma olabilir.

Anahtar kelimeler: Zencefil, Dirençli damarlar, Vazodilatasyon, ERK1/2, eNOS, Fosforilasyon, Mikroyografi, Endotelial hücre

Wisconsin-Madison
Üniversitesi, Kadın Doğum
Bölümü, Madison, WI, ABD

İLETİŞİM YAZARI: Dinesh M.
Shah

Profesör ve Direktör,
Anne-Doğum Tıbbi Tıbbi
Bölümü, Göğüs ve Kadın
Doğum Bölümü, Wisconsin
Tıp Fakültesi, 1010 Mound
St, Madison, WI 53715
E-posta: dmshah@wisc.edu

Tel.: +1-608-417-6099

Funding: Bu araştırma
kamu, ticari veya kar
amacı gütmeyen
sektörlerden herhangi bir
özel hibe almadi.

Alındı 16 Eylül 2013; Kabul
edildi 25 Kasım 2013

Giriş

Bitkisel tıp, dünya genelinde birincil sağlık hizmetlerinde giderek daha yaygın olarak kullanılmaktadır

[1-4]. Zencefil(Zingiber officinale),bir-Çin ve Hindistan'a özgü, ancak artık hemen hemen tüm tropikal ve subtropikal kıtalarda yaygın olarak yetiştirilen, en önemli tıbbi bitkilerden biridir.

Zencefilin yeraltı kökü, yaygın olarak zencefil kökü veya rizom olarak bilinir, binlerce yıldır bitkisel tıpta kullanılmıştır [5]. Zencefil kökününanti-inflamatuar, antiemetik ve gastro- koruyucu özelliklere sahip olduğu belgelenmiştir [6]. Ayrıca zencefil kökü aynı zamanda vazodilatör aktiviteye sahiptir; ham zencefil kökü özleri gösterilmiştir



Hayvan çalışmalarında arteriyel kan basıncını doza bağlı olarak azaltmak için [7, 8]. Bununla birlikte, zencefil kökünün doğrudan bir vazodilatör etkisini kanıtlamak için daha kesin kanıtlara ihtiyaç vardır. Ayrıca, zencefil kökünün kan basıncını düşürücü etkisinin altında yatan hücrel ve moleküler mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır.

Damar endotel dokusu, damar lümenini kaplayan sürekli bir hücre tabakası olarak, damar düz kas gevşemesinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar [9, 10]. Nitrik oksit (NO) [11], keşfi sırasında 'endotelium kaynaklı gevşetici faktör' (EDRF) olarak bilinen [12], endoteliuma bağlı vazodilatasyonun en iyi bilinen araçlarından biridir [13, 14]. Küçük bir diatomik gaz olan NO, memelilerde şu üç NO sentaz tarafından substratlardan (L-arjinin ve moleküler oksijen) sentezlenir: nNOS (nöronal veya tip I NOS); iNOS (indüklenebilir veya tip II NOS); ve eNOS (endotelial veya tip III NOS) [15]. eNOS, endotelde NO üretiminden sorumlu ana enzimdir. Başlangıçta eNOS'un yapısal bir enzim olduğu düşünülse de, artık eNOS ekspresyonunun transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzeylerde de düzenlenebildiği genel olarak kabul edilmektedir [16, 17]. Son çalışmalar, eNOS'un post-transkripsiyonel modifikasyonunun çeşitli mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) bağımlı sinyal yollarını içerdiğini göstermiştir [18, 19]. Ancak, bildiğimiz kadarıyla, zencefil kökünün endotelial hücrelerde eNOS aktivitesi üzerindeki etkisiyle ilgili herhangi bir bilgi mevcut değildir.

Zencefil kökünün endotelial hücrelerde ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz 1/2 (ERK1/2) ve eNOS aktivasyonu yoluyla arter damarlarını gevşetebileceğini varsaydık. Bu hipotezi test etmek için mevcut çalışma, farelerden alınan mezenterik arterlerin miyografik analizleri ve insan endotelial hücreleri kullanılarak yapılan in vitro laboratuvar testleri ile gerçekleştirildi.

Gereç ve yöntemler

Etik beyanlar

Bu çalışma, insan plasentaları ve laboratuvar hayvanlarının kullanımını içermektedir. Farelerin kullanımı için bir protokol, Wisconsin-Madison Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi tarafından tam bir incelemeden sonra onaylandı. Kimliği belirlenemeyen klinik olarak atılmış örnekler olarak sınıflandırılan insan plasentalarının kullanımı için başka bir protokol ise

Wisconsin-Madison Üniversitesi ve Meriter Hastanesi Kurumsal Etik Kurulu tarafından hızlı bir incelemeden sonra onaylanmıştır.

Zencefil kökü suyu hazırlanması

Yarı kurutulmuş zencefil kökleri yerel bir marketten temin edildi. Kabuğu soyulduktan sonra zencefil kökleri küçük dilimlere doğrandı ve taze suyu sıkılarak toplandı. Farklı zencefil kökü partilerinden hazırlanan su, spektrofotometre ile 400 nm dalga boyunda optik yoğunluğa göre 'yarı standardize' edildi.

Tel miyografi

Jackson Laboratuvarı'ndan (Bar Harbor, ME, ABD) sağlıklı yetişkin C57BL/6 fareleri CO₂ ötanazisi ile feda edildi. Mezenterik arterlerin (150–200 µm çapında) halkaları bir stereomikroskop altında diseke edildi ve 25-µm tungsten tel kullanılarak 4 hazneli bir tel miyografin (Model 610M; Danish Myo Technology-USA, Inc., Ann Arbor, MI, ABD) çenelerine monte edildi. Fiziolojik tuzlu solüsyonda ([PSS] 118.99 mM NaCl, 4.69 mM KCl, 1.17 mM MgSO₄ ve 1.18 mM KH₂PO₄), 30°C'ye önceden ısıtılmış ve %95 O₂ ile %5 CO₂ karışımı ile havalandırılmış olarak dengeye getirildikten sonra, pasif gerilim DMT normalizasyon modülü kullanılarak aktif kuvvetin tespiti için ayarlandı. Halkaların 100 mM KCl'ye yanıt olarak damar reaktivitesi kaydedildi. Yıkama ve 30 dakikalık toparlanmadan sonra, damar halkalarının gerilimindeki değişiklikler 1 saat boyunca kaydedildi ve bu sürede KCl uyarısından 5 dakika sonra %0.1 zencefil kökü suyu eklendi.

Birincil umbilikal ven endotelial hücre kültürlerinin hazırlanması

Normal, tam süreli plasentalar, Madison, Wisconsin'deki Meriter Hastanesi Doğum Merkezi'nden vajinal veya sezaryen doğumdan sonraki 30 dakika içinde alındı. Göbek kordonları toplandı ve antibiyotik içeren soğuk HBSS içinde buz üzerinde laboratuvara taşındı. İnsan umbilikal ven endotelial hücreleri (HUVEC'ler), iyi bilinen bir yöntemle [20] kollajenaz infüzyonu ile izole edildi. Bakım için izole edilen HUVEC'ler, %10 fetal sıgır serumu (FBS) ile desteklenmiş RPMI-1640 (Clontech Laboratories Inc., Mountain View, CA, ABD) ortamında kültürlendi.



Inc.), 0.375 mg/mL endotel hücre büyüme takviyesi (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), 0.1 mg/mL heparin (Sigma, St. Louis, MO, USA), 100 U/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisin, ve %5 CO2 nemli atmosferde 37°C'de kültür edildi.

Western blot analizi

HUVEC'ler, 10 cm boyutunda tabaklarda 2.5×10^6 hücre/disk olarak RPMI-1640 içinde %10 FBS ve endotel hücre büyüme takviyesi ile ekilmiştir. Yaklaşık %90 yoğunlukta olduğunda, hücreler FBS içermeyen RPMI'de 1% sığır serum albümeni (BSA) ile 16 saat aç bırakılmıştır. Ardından hücreler, 0, 0.025%, 0.05%, 0.1% ve 0.2% zencefil kökü suyu içeren serum-sız RPMI'de 15 dakika boyunca yetiştirilmiştir. Ayrıca 0.1% zencefil suyu içinde 20 µm PD98059'nin bulunduğu bir grup da dahil edilmiştir (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA). Tüm hücre lizatı hazırlanıp fosforile eNOS ve fosforile ERK1/2 düzeyleri tespit edilmiştir ve ardından toplam eNOS ve toplam ERK1/2 düzeyleri Western blot analizleriyle belirlenmiştir. Fosforile protein bantlarının toplam protein bantlarına oranları hesaplanmış ve analiz edilmiştir. İnsan için total ERK1/2 (yani p44/p42 MAPK) ve fosfor- ERK1/2 (yani fosfor-p44/p42 MAPK Thr202/Tyr204) için antibiyotikler Cell Signaling Technology'den satın alınmıştır. İnsan total eNOS ve fosfor-eNOS (Ser1179) için antibiyotikler Transduction Laboratories'dan (Lexington, KY, USA) temin edilmiştir.

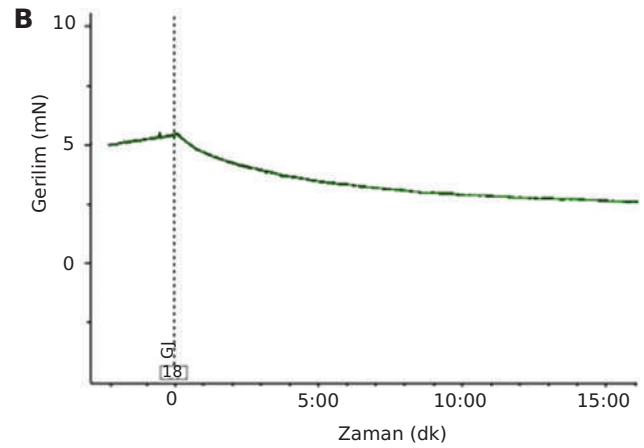
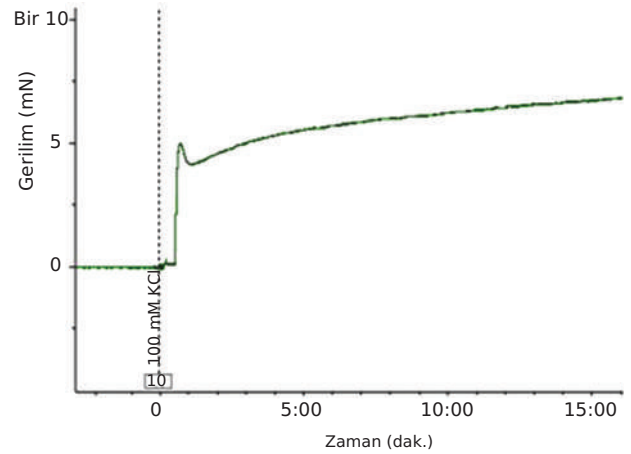
Sonuçlar

Zencefil kökü suyu ile ortaya çıkan mezenterik arterlerde gevşeme

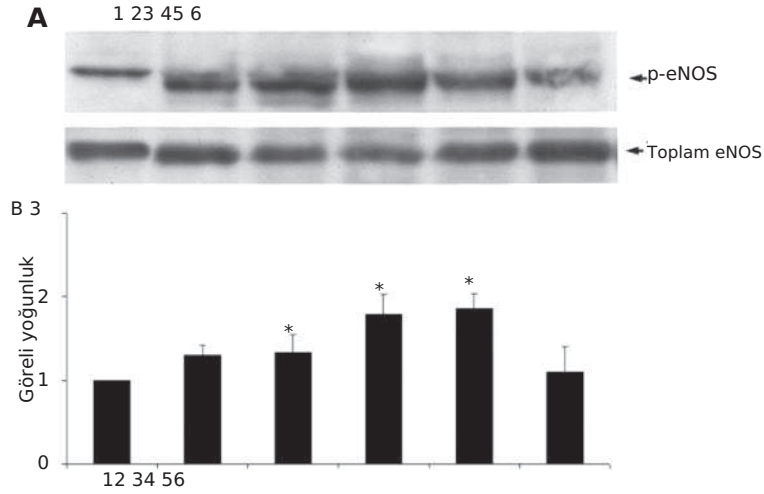
Şekil 1, temsilî bir deneyde izole bir fare mezenterik arter halkasında kontraktıl kuvvetlerin myografik kayıtlarını gösterir. 100 mM KCl ile halkaya uyarı verildiğinde kaydedilen gerilim güçlü ve keskin bir şekilde artar ve bu artış, tüm 60 dakikalık test süresi boyunca sürdürülür (Fig. 1A'da kayıttın sadece ilk 15 dakikası gösterilir). KCl uyarılmasından 5 dk sonra myograf odasına 0.1% zencefil suyu eklenirse, halkanın gerilmesi zamanla bağıntılı olarak anında ve sürekli olarak azalır (Şekil 1B).

Zencefil kökü suyunun eNOS fosforilasyonu üzerine etkisi HUVEC'lerde

Şekil 2, zencefil kökü suyunun eNOS fosforilasyonunu endotel hücrelerinde, western blot analizi temelinde gösterir. Zencefil kökü suyu ile tedaviden on beş dakika sonra primer HUVEC'lerde toplam eNOS proteinine karşı fosforile eNOS oranı doz bağımlı olarak artmıştır ($P < 0.05$). PD98059, ERK sinyal yolunun yüksek seçici bir inhibitörü, zencefil kökü suyu ile 0.1% dozunda eNOS fosforilasyonundaki artışı etkili bir şekilde bastırmıştır ($P < 0.05$).



Şekil 1. İzole fare mezenterik arter halkalarında, 100 mM KCl ile kasılan izometrik kontraktıl kuvvetin myograf kayıtları; kayıt yokken (A) veya zencefil kökü suyu mevcutken (0.1%, B). Kayıttan önce pasif gerilme sifra kalibre edilmiştir.



Şekil 2. HUVEC'lerde serin 1177'de eNOS'un fosforilasyonundaki değişiklikler. (A) Fosforile ve toplam eNOS protein bantlarını gösteren temsilci western blot. (B) 15 dakika boyunca %0.025 (2), %0.05 (3), %0.1 (4) veya %0.2 (5) zencefil suyu ya da %0.1 zencefil suyu + 20 µM PD 98059 (6) ile muamele edilen HUVEC'lerde ayarlanmış eNOS/S1177 seviyesindeki kat değişimini gösteren çubuk grafik; kontrol ile karşılaştırılmıştır (keyfi olarak 1 olarak tanımlanmıştır) (n=3, *P<0.05).

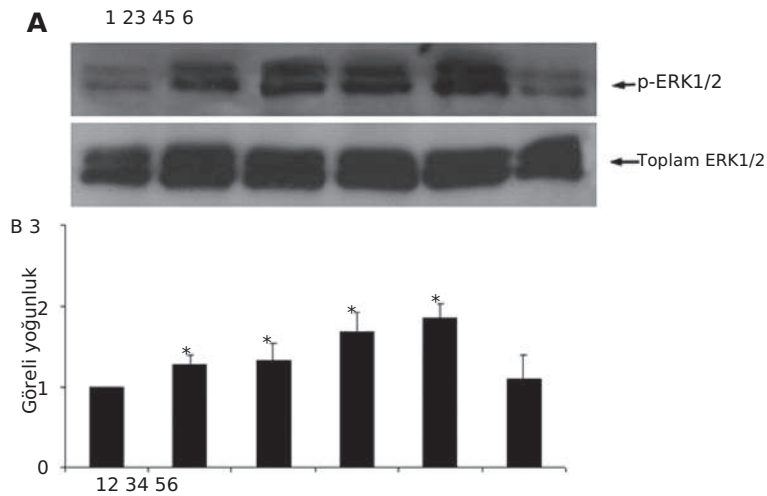
Zencefil kökü suyunun HUVEC'lerde ERK1/2 fosforilasyonu üzerindeki etkisi

Zencefil kökü suyunun endotelial hücrelerde ERK1/2'nin fosforilasyonu üzerindeki etkisi western blot analizi ile değerlendirildi. Şekil 3'te gösterildiği gibi, zencefil kökü suyu ayrıca primer hücrelerde fosforile ERK1/2'nin toplam ERK1/2 proteinine oranını da artırdı.

HUVEC'lerde doza bağlı bir şekilde. Bu artış PD98059 ile anlamlı derecede azaldı (P<0.05).

Tartışma

Hipertansiyon, dünya genelinde pratisyen hekimlikte en sık teşhis edilen tıbbi bozukluktur [21]. Hipertansiyon,



Şekil 3. HUVEC'lerde ERK1/2 fosforilasyonundaki değişiklikler. (A) Fosforile ve toplam ERK1/2 protein bantlarını gösteren temsilci western blot. (B) 15 dakika boyunca %0.025 (2), %0.05 (3), %0.1 (4) veya %0.2 (5) zencefil suyu ya da %0.1 zencefil suyu + 20 µM PD 98059 (6) ile muamele edilen HUVEC'lerde ayarlanmış ERK1/2 fosforilasyon seviyesindeki kat değişimini gösteren çubuk grafik; kontrol ile karşılaştırılmıştır (keyfi olarak 1 olarak tanımlanmıştır) (n=3, *P<0.05).



özellikle gelişmekte olan ülkelerde [23] birinci basamak sağlık hizmetlerinde önemli bir yönetim zorluğu [22]. Hipertansiyonu yönetmek için yeni alternatif stratejiler geliştirmeye yönelik ilk çaba olarak, zencefil kökü türevlerinin potansiyel vazodilatör aktivitesini, izometrik koşullarda in vitro olarak aktif ve pasif kasılma aktivitelerini ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir teknik olan tel miyografi ile değerlendirdik [24]. Proksimal direnç damarlarının periferik dirence ve dolayısıyla hipertansiyonun gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunduğu ve 100 ila 400 µm çapındaki mezenterik arterlerin tipik proksimal direnç damarları olduğu göz önüne alındığında, tel miyografik analizler için fare mezenterik arterlerini kullandık. Sonuçlar, taze hazırlanmış zencefil kökü suyunun KCL ile önceden kasılmış fare mezenterik arterlerini etkili bir şekilde gevşettiğini açıkça gösterdi (Şekil 1).

Endotel bağımlı vazodilatasyonun esas olarak NOS tarafından katalize edilen bir enzimatik reaksiyonla sentezlenen NO'ya atfedildiği iyi bilinmektedir [25]. NOS enzim aktivitesinin, translayon sonrası fosforilasyon veya defosforilasyon yoluyla değiştirilebileceğine dair artan kanıtlar vardır [26]. Zencefil köklerinin vazodilatör aktivitesinin altında yatan moleküler mekanizmaları aydınlatmak için, taze hazırlanmış zencefil kökü suyunun, damar araştırmalarında in vitro olarak endotel modeli olarak yaygın şekilde kullanılan HUVEC'lerde eNOS fosforilasyonu üzerindeki etkisini de değerlendirdik. Taze hazırlanmış zencefil kökü suyunun, ser1177'de eNOS fosforilasyonunu doz bağımlı olarak etkili bir şekilde artırdığını gösterdik (Şekil 2). Bildiğimiz kadarıyla, bu gözlem, zencefil kökünün endotelial hücrelerde eNOS aktivasyonu üzerindeki etkisine dair ilk deneysel kanıtı sağlamaktadır.

Çeşitli MAPK'ların NOS fosforilasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Zencefilin neden olduğu eNOS aktivasyonunda MAPK sinyal yolunun olası katılımını incelemek için, farklı dozlarda zencefil kökü suyu ile muamele edilen primer HUVEC'lerde ERK1/2 fosforilasyonundaki değişiklikleri belirledik. eNOS fosforilasyonuna benzer bir şekilde, ERK1/2 fosforilasyonu da zencefil kökü suyuna doz bağımlı olarak anlamlı şekilde arttı (Şekil 3). Bu gözlem, But ve Sultan [27] tarafından gözden geçirilen eNOS aktivasyonunda MAPK'ların rolüne ilişkin önceki bulgularla uyumludur.

Zencefil kökünün neden olduğu eNOS fosforilasyonundaki artışta ERK1/2 aktivasyonunun rolünü araştırdık

endotelial hücrelerde ERK1/2 sinyal yoluna özgü inhibitör PD98059 kullanılarak. PD98059, zencefil kökü suyunun neden olduğu eNOS ve ERK1/2 fosforilasyonundaki artışları önemli ölçüde azalttı. PD98059'un eNOS fosforilasyonu üzerinde doğrudan bir etkisi olmadığı göz önüne alındığında, gözlemlerimiz zencefil kökünün eNOS fosforilasyonu üzerindeki etkisinin ERK'ye bağımlı bir sinyal yoluyla gerçekleşmesi gerektiğini güçlü bir şekilde göstermektedir.

Özetle, bu ön çalışmanın sonuçları, zencefil kökünün endotelial hücrelerde ERK1/2 sinyaline bağlı eNOS aktivasyonu yoluyla dirençli kan damarlarını genişletebileceğini göstermiştir. Bulgularımız, hipertansif bozukluklar için zencefil kökü bazlı yeni bir tedavi geliştirme olasılığını ortaya koymaktadır. Böyle bir yeni tedavi, gebeliğe özgü hipertansif bozukluk olan preeklampsi hastaları için özellikle önemli olacaktır. Preeklampsi, yüksek tansiyon, proteinüri ve şiddetli formunda ödem, eklamptik nöbetler ve gebeliğin üçüncü trimesterinde koma ile karakterizedir [28] ve insan gebeliklerinin %3-5'ini etkiler. Zorunlu erken doğumun başlıca nedenlerinden biri ve anne ile perinatal morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenidir [29] ve bu nedenle dünya çapında yaygın ve önemli bir obstetrik sorun teşkil etmektedir. Son birkaç on yılda çok sayıda sentetik anti-hipertansif ilaç geliştirilmiş olmasına rağmen, çok azı fetüse herhangi bir potansiyel risk olmadan preeklampsi kadınların yararına güvenle kullanılabilir. Nüfusa dayalı retrospektif bir kohort çalışmasında gösterildiği gibi, kronik hipertansiyonu olan 1.964 hamile kadının yalnızca küçük bir kısmı (%0,65) en az bir geleneksel anti-hipertansif ilaca maruz kalmış ve bu hastalarda intrauterin büyüme kısıtlılığı (%7,2'ye karşı %2,1; düzeltilmiş olasılık oranı [OR], 4,37; %95 güven aralığı [CI], 3,00-6,36; P<0,001), gebelik yaşına göre küçük bebek (%3'e karşı %1,7; düzeltilmiş OR, 2,23; %95 CI, 1,27-3,92; P=0,005) ve erken doğum (<37 hafta, %22,9'a karşı %8,0; düzeltilmiş OR, 3,69; %95 CI, 2,90-4,69; P<0,001) oranları anlamlı olarak daha yüksekti [30].

Çıkar çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.



Kaynaklar

- Ben-Arye E, Lev E, Keshet Y, Schiff E. Bitkisel ilaçların birinci basamak sağlık hizmetlerine entegrasyonu: İsrail'de Yahudi-Arap kültürlerarası bir bakış açısı. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011;2011:1-8.
- Gray DC, Rutledge CM. Birinci basamak sağlık hizmetlerinde bitkisel takviyeler: hastaların algıları, motivasyonları ve kullanım üzerindeki etkileri. *Holist Nurs Pract* 2013;27:6-12.
- Mosihuzzaman M. Sağlık hizmetlerinde bitkisel tıp - genel bir bakış. *Nat Prod Commun* 2012;7:807-12.
- Silva MI, Sousa FC, Gondim AP. Birinci basamak sağlık hizmetlerinde bitkisel tedavi Maracanaú, Ceara, Brezilya'da. *Ann Pharmacother* 2005;39:1336-41.
- Bode AM, Dong Z. Muhteşem ve güçlü zencefil. İçinde: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editörler. *Bitkisel tıp: biyomoleküler ve klinik yönleri*, 2. baskı. Boca Raton, FL: Taylor and Francis Group, LLC, 2011.
- Kubra IR, Jaganmohanrao L. Zencefil işleme ve gıda ve farmasötik uygulamalar için ürünlerle ilgili buluşlara genel bakış. *Recent Pat Food Nutr Agric* 2012;4:31-49.
- Ghayur MN, Gilani AH. Zencefil, voltaja bağlı kalsiyum kanallarını bloke ederek kan basıncını düşürür.
- Ghayur MN, Gilani AH, Afridi MB, Houghton PJ. Zencefilin sulu özütünün ve fenolik bileşenlerinin kardiyovasküler etkileri **birden fazla yol üzerinden gerçekleşmektedir.** *Vascul Pharmacol* 2005;43:234-41.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. Endotelial hücrelerin arteriyel düz kasın asetilkolin ile gevşemesinde zorunlu rolü.
- Triggle CR, Samuel SM, Ravishankar S, Marei I, Arunachalam G, Ding H. Endotel: damar düz kasını birçok şekilde etkileyen yapı. *Can J Physiol Pharmacol* 2012;90:713-38.
- Feletou M, Kohler R, Vanhoutte PM. Nitric oxide: orchestrator endothelium-dependent yanıtların orkestratörü. *Ann Med* 2012;44:694-716.
- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endotel kökenli gevşetici faktörü üretilen ve salınan arter ve toplardamardan salınan bağışlayıcı; nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9265-9.
- Cacanyiova S. Nitric oxide'un vazomotor rolü: fizyolojik ve morfolojik yönleri. *Curr Pharm Biotechnol* 2011;12:1294-304.
- Villar IC, Francis S, Webb A, Hobbs AJ, Ahluwalia A. Damar tonunun endotelyuma bağlı düzenlenmesinin yeni yönleri. *Kidney Int* 2006;70:840-53.
- Mungrue IN, Bredt DS, Stewart DJ, Husain M. Moleküllerden memelilere: NOS'un bununla ne ilgisi var? *Acta Physiol Scand* 2003;179:123-35.
- Searles CD. Endotelial nitrik oksit sentaz ekspresyonunun transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel düzenlenmesi. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006;291:C803-16.
- Kolluru GK, Siamwala JH, Chatterjee S. Sağlıkta ve hastalıkta eNOS fosforilasyonu. *Biochimie* 2010;92:1186-98.
- Liu S, Rockey DC. Sikletanın, sinüzoidal endotelial hücrelerde Akt ve MAP kinaz/Erk sinyal yoluyla eNOS fosforilasyonunu ve NO üretimini uyarır. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013;305:G163-71.
- Son HY, Jung HW, Kim WK, Park YK. JP05'in beyin endotelial hücrelerinde PI3K/Akt-bağımlı eNOS ve MEK/ERK yollarının aktivasyonu yoluyla damar koruyucu etkisi. *J Ethnopharmacol* 2010;130:607-13.
- Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, Minick CR. Göbek venlerinden elde edilen insan endotelial hücrelerinin kültürü. Morfolojik ve immünolojik kriterlerle tanımlama. *J Clin Invest* 1973;52:2745-56.
- Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Hipertansiyonun küresel yükü: dünya çapındaki verilerin analizi. *Lancet* 2005;365:217-23.
- Niiranen TJ, Leino K, Puukka P, Kantola I, Karanko H, Jula AM. Birinci basamak sağlık hizmetlerinde kapsamlı bir müdahalenin hipertansiyon üzerindeki etkisinin olmaması. *Am J Hypertens* 2013. doi:10.1093/ajh/hpt204.
- Steyn K, Levitt NS, Patel M, Fourie J, Gwebushe N, Lombard C, ve diğ. Hipertansiyon ve diyabet: toplum sağlığı merkezlerinde hastalara yetersiz bakım. *S Afr Med J* 2008;98:618-22.
- Bridges LE, Williams CL, Pointer MA, Awumey EM. Otomatik tel miyografi kullanılarak yapılan mezenterik arter kasılma ve gevşeme çalışmaları. *J Vis Exp* 2011(55);e3119. doi:10.3791/3119.
- Capetini LS, Cortes SF, Lemos VS. Fareketli katkı eNOS ve nNOS'in, fare aortasında endotelium kökenli vazodilatasyona göreceli katkısı. *Eur J Pharmacol* 2010;643:260-6.
- Kukreja RC, Xi L. eNOS fosforilasyonu: vazodilatasyon ve kardiyoproteksiyonunda merkezi bir moleküler anahtar mı? *J Mol Cell Cardiol* 2007;42:280-2.



27. Butt MS, Sultan MT. Zencefil ve sağlık iddialari: molekuler olarak as-pars. Crit Rev Food Sci Nutr 2011;51:383-93.
28. Brichant G, Dewandre PY, Foidart JM, Brichant JF. Kriz preeklampsi yonetimi. Acta Clin Belg 2010;65:163-9.
29. Walker JJ. Onlenemeyen preeklampsi. Lancet 2000;356:1260-5.
30. Orbach H, Matok I, Gorodischer R, Sheiner E, Daniel S, Wiznitzer A, et al. Gebelikte hipertansiyon ve antihipertansif ilaclar ile perinatal sonuclar. Am J Obstet Gynecol 2013;208:301 e301-6.