T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

FESLEĞENİN FARMAKOLOJİK ETKİLERİ: KALİTATİF VE KANTİTATİF ÇALIŞMALAR

Ecz. Beyza Nur ARSLAN

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Naciye YAKTUBAY DÖNDAŞ

ADANA- 2022

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

FESLEĞENİN FARMAKOLOJİK ETKİLERİ: KALİTATİF VE KANTİTATİF ÇALIŞMALAR

Ecz. Beyza Nur ARSLAN

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Naciye YAKTUBAY DÖNDAŞ

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TYL-2022-14595 No'lu proje ile desteklenmiştir.

ADANA- 2022

KABUL VE ONAY

ETİK BEYANI

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübeleriyle yoluma ışık olan, her aşamada yol gösteren saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Naciye YAKTUBAY DÖNDAŞ'a hoşgörüsü, sabrı ve emekleri için saygı ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK'e ve Anabilim Dalımızın değerli hocalarına teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Destek ve yardımlarını çok fazla hissettiğim ekip arkadaşlarım Guljahon KHUDOIBERDIEVA, Senanur TAŞ, Hadice HAZNEVİ, Zeynep KATIÇELİK, Sultan KARAASLAN ve Abdulselam SAĞLAM'a samimiyetleri ve sabırları için teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca her kararımda bana destek olan, sevgi ve anlayışlarını her zaman hissettiğim çok değerli anneme, babama ve kardeşlerime saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, TYL-2022-14595 nolu proje olarak Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından desteklenmiştir. BAP birimine teşekkürlerimi sunarım.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Eğitim Programı ve Yüksek Lisans eğitim-öğretimim boyunca verdiği destekler için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL ONAY ii
ETİK BEYANI iii
TEŞEKKÜR iv
İÇİNDEKİLER v
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ x
ÖZET xiii
ABSTRACT xiv
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİ 3
2.1. Fesleğenin Tarihçesi 3
2.2. Fesleğenin Taksonomisi 5
2.3. Fesleğenin Yetiştiği Yerler 6
2.4. Fesleğenin Geleneksel Olarak Kullanımı 6
2.5. Fesleğenin Kimyasal Bileşimi ve Biyoaktivitesi ile İlgili Yapılan Bilimsel Çalışmalar 7
2.5.1. Antioksidan Aktivite 9
2.5.2. Antienflamatuvar Aktivite 10
2.5.3. Antidiyabetik/Hipoglisemik Aktivite 11
2.5.4. Antifungal Aktivite 11
2.5.5. Antitrombotik Aktivite 12
2.5.6. Nöroprotektif Aktivite 12
2.5.7. Antiapoptotik/Antikanser Aktivite 13
2.5.8. Sedatif Aktivite 13
2.5.9. Renoprotektif Aktivite 13
2.5.10. Antimikrobiyal Aktivite 14
2.5.11. Hepatoprotektif Aktivite 14
2.5.12. Antiosteoporotik Aktivite 14
2.5.13. Antihiperaljezik Aktivite 15

2.5.14. Antihipertansif Aktivite 15
2.6. Mesanenin Anatomisi ve Fizyolojisi 16
3. GEREÇ VE YÖNTEM 19
3.1. İn Vitro Çalışmalar 21
3.1.1. Elektriksel Alan Stimülasyonu (EAS) ile Düz Kas Kontraksiyonlarının Değerlendirilmesi 21
3.1.2. ELISA Deneyleri 22
3.1.2.1. ELISA Deneylerinde Kullanılacak Mesane Dokularının İnkübasyonu 22
3.1.2.2. ELISA Deneylerinin Prosedürü 22
4. BULGULAR 24
4.1. Atropin İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 26
4.1.1. Atropin İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 26
4.1.2. Atropin İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 27
4.1.3. Atropin İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 28
4.2. L-NOARG İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 31
4.2.1. L-NOARG İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 31
4.2.2. L-NOARG İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 32
4.2.3. L-NOARG İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 33
4.3. TEA İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 35
4.3.1. TEA İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 35

4.3.2. TEA İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 36
4.3.3. TEA İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 37
4.4. Verapamil İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 39
4.4.1. Verapamil İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 39
4.4.2. Verapamil İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 40
4.4.3. Verapamil İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi 41
4.5. ELISA Deneylerinin Bulguları 42
4.5.1. Fare PTGS2/COX-2 Elisa Deneyi Bulguları 42
4.5.2. Fare SOD1 Elisa Deneyi Bulguları 42
5. TARTIŞMA 44
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 52
KAYNAKLAR 54
EKLER 67
ÖZGEÇMİŞ 68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No: **Sayfa No:**

Şekil 1. Mor fesleğen ve yeşil fesleğen görseli 5

Şekil 2. İzole fare mesane şeridinin %60 etanol inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....24

Şekil 3. İzole fare mesane şeridinin %60 etanol inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....24

Şekil 4. İzole fare mesane şeridinin MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....24

Şekil 5. İzole fare mesane şeridinin MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....25

Şekil 6. İzole fare mesane şeridinin 50 µM atropin inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....25

Şekil 7. İzole fare mesane şeridinin 50 µM atropin inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....25

Şekil 8. İzole fare mesane şeridinin atropin+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....25

Şekil 9. İzole fare mesane şeridinin atropin+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....26

Şekil 10. İzole fare mesanesinde atropin inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)....27

Şekil 11. İzole fare mesanesinde atropin inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturuan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)....28

Şekil 12. İzole fare mesanesinde atropin inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)....29

Şekil 13. İzole fare mesane şeridinin 50 µM L-NOARG inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....29

Şekil 14. İzole fare mesane şeridinin 50 µM L-NOARG inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....30

Şekil 15. İzole fare mesane şeridinin L-NOARG+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....30

Şekil 16. İzole fare mesane şeridinin L-NOARG+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)....30

Şekil 17. İzole fare mesanesinde L-NOARG inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)....31

Şekil 18. İzole fare mesanesinde L-NOARG inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)....32

Şekil 19. İzole fare mesanesinde L-NOARG inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11) 33
Şekil 20. İzole fare mesane şeridinin 50 µM TEA inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 34
Şekil 21. İzole fare mesane şeridinin 50 µM TEA inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 34
Şekil 22. İzole fare mesane şeridinin TEA+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 34
Şekil 23. İzole fare mesane şeridinin TEA+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 35
Şekil 24. İzole fare mesanesinde TEA inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11) 36
Şekil 25. İzole fare mesanesinde TEA inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11) 37
Şekil 26. İzole fare mesanesinde TEA inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11) 38
Şekil 27. İzole fare mesane şeridinin 50 µM verapamil inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 38
Şekil 28. İzole fare mesane şeridinin 50 µM verapamil inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 38
Şekil 29. İzole fare mesane şeridinin verapamil+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 39
Şekil 30. İzole fare mesane şeridinin verapamil+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11) 39
Şekil 31. İzole fare mesanesinde verapamil inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11) 40
Şekil 32. İzole fare mesanesinde verapamil inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11) 41
Şekil 33. İzole fare mesanesinde verapamil inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11) 41
Şekil 35. İzole fare mesane dokularında MFE'nin SOD1 enzim seviyesi üzerindeki etkisi (n=3) 43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α : Alfa
µg : Mikrogram
µl : Mikrolitre
µm : Mikrometre
µM : Mikromolar
µmol : Mikromol
ºC : Santigrat derece
% : Yüzde
AA : Antioksidan Aktivite
ABTS : 2,2′-Azino-Bis(3-Etilbenztiyazolin-6-Sülfonik Asit)
ACE : Anjiotensin dönüştürücü enzim
ALP : Alkalen fosfataz
ALT : Alanin aminotransferaz
ATP : Adenozin trifosfat
BUN : Kan üre azotu
Ca : Kalsiyum
$CaCl_2$: Kalsiyum klorür
cm : Santimetre
CO_2 : Karbondioksit
COX : Siklooksijenaz
CUMS : Chronic Unpredictable Mild Stress
dk : Dakika
DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
E : Ekstre
EAS : Elektriksel Alan Stimülasyonu
ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EO-ABTS : Esansiyel yağ-2,2′-Azino-Bis(3-Etilbenztiyazolin-6-Sülfonik Asit)
EO-FRAP : Esansiyel yağ-demir iyonu indirgeyici antioksidan güç
ET-1 : Endotelin-1
FRAP : Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç

ft : Fit

g : Gram

GPx : Glutatyon peroksidaz

GR : Glutatyon redüktaz

H_2O : Su

Hz : Hertz

IC50 : Median Inhibition Concentration

IFN-γ : İnterferon gama

Ig E : İmmünglobulin E

IL-1β : İnterlökin 1 beta

IL-4 : İnterlökin 4

IP3 : İnozitol trifosfat

i.p. : İntraperitoneal

K : Kimyasal

KCl : Potasyum klorür

kg : Kilogram

KH_2PO_4 : Potasyum dihidrojen fosfat

L-NOARG : Nω- Nitro- L- arginine

LPS : Lipopolisakkarit

m : Metre

M : Molar

MCF7 : Meme kanseri hücre hattı

MFE : Mor fesleğen ekstresi

mg : Miligram

$MgSO_4$: Magnezyum sülfat

ml : Mililitre

mm^2 : Milimetre kare

mM : Milimolar

M.Ö. : Milattan önce

ms : Milisaniye

M.S. : Milattan sonra

NaCl : Sodyum klorür

$NaHCO_3$ **:** Sodyum bikarbonat

NK **:** Negatif Kontrol

NO **:** Nitrik oksit

NOS **:** Nitrik oksit sentaz

O_2 **:** Oksijen

ORAC **:** Oksijen radikali emme kapasitesi

pH **:** Power of Hydrogen

PLA2 **:** Fosfolipaz A2

rpm **:** Revolutions per minute

SABİDAM **:** Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi

SF **:** Serum fizyolojik

SOD **:** Süperoksit dismutaz

TEA **:** Tetraetilamonyum

Th_1 **:** T helper 1 lenfosit

Th_2 **:** T helper 2 lenfosit

TNF-α **:** Tümör nekroz faktörü alfa

TP **:** Total protein

Trolox **:** (±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit

TRPV1 **:** Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid Tip 1

US FDA **:** The United States Food and Drug Administration

V **:** Volt

ÖZET

Fesleğenin Farmakolojik Etkileri: Kalitatif ve Kantitatif Çalışmalar

Bu çalışmada, izole fare (*Swiss albino*, erkek, 25-30 g) mesane striplerinde mor fesleğen (Ocimum basilicum var. purpurascens) ekstresi (MFE; 40 µl/ml)'nin farmakolojik etkileri araştırıldı. *In vitro* kalitatif çalışmalarda, MFE'nin elektriksel alan stimülasyonu (EAS; 5,10,20Hz; 1ms, 40V) ile indüklenen izole fare mesane striplerindeki kontraktil cevaplarda MFE'nin etkileri ve bu etkilerde rol oynayan moleküler mekanizmalar (kolinerjik sistem, nitrerjik sistem, potasyum kanalları ve L-tipi kalsiyum kanallarının rolleri) araştırıldı. *In vitro* kantitatif çalışmalarda ise izole fare mesanesinde MFE'nin antienflamatuvar ve antioksidan etkileri araştırıldı.

Ketamin/Ksilazin anestezisi altında servikal dislokasyon ile ötenazi edilen farelerin abdomenleri açılarak mesaneleri izole edildikten sonra, *in vitro* kalitatif deneylerde, mesaneler longitudinal insizyonla iki eşit parçaya bölünerek strip (şerit) haline getirildi ve 37^{o}C'de %5CO_2+%95O_2 ile gazlandırılan *Krebs-Henseleit* solüsyonu içeren 10 ml'lik organ banyosuna 0.5 g tonüs uygulanarak asıldı. Cevaplar izometrik transduser ile bilgisayar donanımlı farmakolojik veri analiz sistemi (BIOPAC, MP35 Data Acquisition System)'ne kaydedildi. *İn vitro* kantitatif deneylerde ise, izole fare mesane dokuları MFE(40 µl/ml) ile inkübe (40dk) edildikten sonra homojenize edildi ve santrifügasyondan sonra elde edilen süpernatantlarda fesleğenin siklooksijenaz (COX) ve süperoksitdismutaz(SOD) üzerindeki etkileri ELISA(Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssay) yöntemi ile analiz edildi.

***İn vitro* kalitatif deneylerde, EAS ile indüklenen izole fare mesane strip kasılmalarının tamamı MFE tarafından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe edildi. Bunun zıttında, kolinerjik muskarinik reseptörlerin nonselektif antagonisti olan atropin, ilgili dokulardaki EAS'ye bağlı kasılmalarda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden oldu. MFE+Atropin kombinasyonunda ise MFE'nin atropin etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi. Benzer şekilde, NO sentaz inhibitörü olan L-NOARG, EAS kasılmalarını potansiyelize etti. MFE+L-NOARG kombinasyonunda ise MFE'nin L-NOARG etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi. Buna ilave olarak potasyum kanallarının nonselektif blokörü olan tetraetilamonyum (TEA) EAS kasılmalarını kontrole göre, anlamlı bir şekilde arttırdı. TEA+MFE kombinasyonunda ise, MFE'nin TEA etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi. Diğer taraftan L-tipi kalsiyum kanal blokörü olan verapamil, EAS ile indüklenen izole fare mesane striplerindeki kasılma cevaplarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden oldu. Verapamil+MFE kombinasyonunda ise MFE'nin verapamilin inhibitör etkisini potansiyelize ettiği gözlemlendi. *İn vitro* kantitatif çalışmalarda, MFE(40 µl/ml)'nin siklooksijenaz (COX) enzim seviyesini kontrol grubuna göre azalttığı, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi.MFE'nin antioksidan etkisinin araştırıldığı deneylerde ise, MFE'nin süperoksitdismutaz (SOD) enzim seviyelerinde bariz bir artışa neden olmakla birlikte bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi.**

Sonuç olarak; *in vitro* kalitatif deneysel bulgular, MFE'nin EAS ile indüklenen kontraktil cevaplar üzerinde inhibitör etki oluşturduğu ve bu inhibitör etkide, kolinerjik yolak, nitrerjik yolak, potasyum kanal aktivasyonu ve kalsiyum kanal inhibisyonunun rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca deneysel sonuçlar MFE'nin uygulanan konsantrasyonda antienflamatuvar ve antioksidan etkisinin olmadığını telkin etmektedir.

<u>Anahtar Kelimeler:</u> Farmakolojik etki, kalitatif analiz, kantitatif analiz, mesane, mor fesleğen ekstresi.

ABSTRACT

Pharmacologıcal Effects Of Basıl: Qualıtatıve And Quantıtatıve Studıes

In this study, the pharmacological effects of purple basilicum (Ocimum basilicum var. purpurascens) extract (MFE; 40 µl/ml) in isolated mouse (*Swiss albino*, male, 25-30 g) bladder strips were investigated. In *in vitro* qualitative studies, the effects of MFE on contractile responses in isolated mouse bladder strips induced by electrical field stimulation (EAS; 5,10,20Hz; 1ms, 40V) of MFE and the molecular mechanisms involved in these effects (cholinergic system, nitrergic system, potassium channels and the roles of L-type calcium channels) were investigated. In *in vitro* quantitative studies, the anti-inflammatory and antioxidant effects of MFE in isolated mouse bladder were investigated.

After opening the abdomen and isolating the bladders of mice euthanized by cervical dislocation under Ketamine/Xylazine anesthesia, in *in vitro* qualitative experiments, the bladders were divided into two equal parts through a longitudinal incision and stripped, and *Krebs-Henseleit* solution gassed with 5%CO2+95%O2 at 37^{o}C 0.5 g of tonus was applied to a 10 ml organ bath containing. The answers were recorded in a computer-equipped pharmacological data analysis system (BIOPAC, MP35 Data Acquisition System) with an isometric transducer. In *in vitro* quantitative experiments, isolated mouse bladder tissues were homogenized after incubation (40 min) with MFE (40 µl/ml) and the effects of basil on cyclooxygenase (COX) and superoxide dismutase (SOD) in the supernatants obtained after centrifugation ELISA(Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssay) analyzed by the method.

In *in vitro* qualitative experiments, all of the isolated mouse bladder strip contractions induced by EAS were statistically significantly inhibited by MFE. In contrast, atropine, a nonselective antagonist of cholinergic muscarinic receptors, caused a statistically significant increase in EAS-induced contractions in the relevant tissues compared to control. In the combination of MFE + Atropine, it was observed that MFE inhibited the effect of atropine in a statistically significant way. Similarly, L-NOARG, an inhibitor of NO synthase, potentiated EAS contractions. In the combination of MFE+L-NOARG, it was observed that MFE inhibited the effect of L-NOARG in a statistically significant way. In addition, tetraethylammonium (TEA), a nonselective blocker of potassium channels, significantly increased EAS contractions compared to control. In the combination of TEA+MFE, it was observed that MFE inhibited the effect of TEA in a statistically significant way. On the other hand, verapamil, an L-type calcium channel blocker, caused a statistically significant decrease in contractile responses in EAS-induced isolated mouse bladder strips compared to the control. In the combination of verapamil + MFE, it was observed that MFE potentiated the inhibitory effect of verapamil. In *in vitro* quantitative studies, it was observed that MFE(40 µl/ml) decreased the cyclooxygenase (COX) enzyme level compared to the control group, but this decrease was not statistically significant. In experiments investigating the antioxidant effect of MFE, it was observed that although MFE caused an obvious increase in superoxide dismutase (SOD) enzyme levels, this increase was not statistically significant.

As a result; *in vitro* qualitative experimental findings show that MFE has an inhibitory effect on contractile responses induced by EAS, and that cholinergic pathway, nitrergic pathway, potassium channel activation and calcium channel inhibition play a role in this inhibitory effect. In addition, experimental results suggest that MFE has no anti-inflammatory and antioxidant effects at the applied concentration.

Keywords: Pharmacological action, qualitative analysis, quantitative analysis, bladder, purple basil extract.

1. GİRİŞ

Bitkilerin şifa verici olarak kullanılması, insanlık tarihinden önceye dayanmaktadır ve modern tıptaki tedavi şekillerinin çoğunun kökenini oluşturmaktadır. Pek çok konvansiyonel ilaç bitkisel kaynaklıdır: 100 yıl önce, birkaç etkili ilacın çoğu bitkisel kaynaklıydı. Bu duruma örnek olarak aspirin (söğüt kabuğundan), digoksin (yüksük otundan), kinin (*Cinchona* kabuğundan) ve morfin (afyon haşhaşından) verilebilir. Modern Batı bitkiciliği, şifalı bitkilerin bireysel vücut sistemleri üzerindeki etkilerini vurgulamaktadır. Örneğin; bitkiler hemostatik, ekspektoran, antienflamatuvar, antispazmodik veya immünostimülan etkileri için kullanılabilir[1].

Ocimum (fesleğen) cinsi de göstermiş olduğu aktivitelerden dolayı yüzlerce yıldır alternatif tedavi yöntemleri arasında büyük bir öneme sahiptir. Literatürlere göre şimdiye kadar birçok *Ocimum* türü rapor edilmiştir. Bununla birlikte, fitofarmasötik bileşenleri, aromaları ve tatları için yalnızca birkaç tür değer kazanmıştır. Bunlar; *Ocimum basilicum* Linnaeus (L.), *O. gratissimum* L., *O. tenuiflorum* L., *O. canum* Sims, *O. americanum* L. ve *O. kilimandscharicum* Gurke'dir. Bu *Ocimum* türleri çok fazla fitokimyasal çeşitliliğe sahiptir. *Ocimum* türlerinin uçucu yağı, kokulu uçucu organik bileşenlerin kompleks bir karışımıdır. İlaç, kozmetik, mutfak, lezzet, koku, parfümeri ve nutrasötiklerde geniş kullanım alanlarına sahiptir[2,3].

Ocimum türlerinin farklı dokuları taze, kurutulmuş, dondurulmuş ya da distile edilmiş uçucu yağ olarak kullanılmaktadır[4].

Yıllardır *Ocimum* türleri geleneksel olarak Hint Ayurvedası'nda ve geleneksel Afrika, Çin ve Avrupa tıbbında çeşitli rahatsızlıkları tedavi edici olarak kullanılmıştır. *Ocimum* cinsinin bazı türleri çoklu farmakolojik aktivitelere sahiptir. Bu aktivitelere; *in vitro* antimikrobiyal, antiviral, antimalaryal aktiviteler ve *in vivo* analjezik, antienflamatuvar, antidiyabetik, antidiyareik, antikanser, radyasyondan koruyucu, hipolipidemik gibi örnekler verilebilir[5,2,6,7,8,9]. Uçucu yağı ise aromaterapide değerlidir[10].

Mor fesleğen (*Ocimum basilicum L. var. purpurascens*), *Ocimum* cinsinin yani geleneksel tatlı fesleğenin çeşitlerinden biridir[11]. Mor fesleğen süs bitkisi olarak da bilinmektedir ve aynı zamanda esas olarak antosiyaninler, kafeik asit, şikorik asit ve rosmarinik asiti içeren fenilpropanoid metabolitlerin, ikincil metabolitlerin iyi bir

kaynağıdır[12,13,14,15,16]. Bu ikincil metabolitler oksidatif hasara ve çeşitli çevresel stres etkenlerine karşı anahtar rol oynamaktadır[17]. Rosmarinik asit, *Ocimum* türlerinde bulunan en önemli kafeik asit esterlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Antioksidan, astrenjan, antibakteriyel, antiviral ve antienflamatuvar aktivite gibi[18,19] çeşitli farmakolojik ve terapötik özelliklere[20,21,22,23] sahiptir. Sağlık için olduğu kadar kozmetik ve gıda endüstrileri için de yararlıdır[24,25,26].

Sahip olduğu aktivitelerden dolayı çalışmamızda mor fesleğen ekstresi (MFE) kullandık. MFE'nin *in vitro* kalitatif olarak izole fare mesanesindeki düz kas kasılma yanıtlarını ve bu yanıtların altında yatan muhtemel moleküler mekanizmaları araştırmayı; aynı zamanda *in vitro* kantitatif şekilde de izole fare mesanesinde bulunan SOD1 ve COX-2 enzim seviyelerini tespit etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Fesleğenin Tarihçesi

Antik Yunanistan'da, tıbbi bitkiler terapötik bitkilerin toplanması ve temini ile ilgili kişiler olan rizotomistler tarafından yaygın şekilde kullanılmıştır[27]. Çinliler, Hintliler, Mısırlılar, Romalılar ve Araplar da herbalizme inanarak; kültürlerinin felsefi prensiplerinden, geleneklerinden ve uygulamalarından uzaklaşmışlardır. Sonuç olarak terapötikler, ampirik ve içgüdüsel olmaktan daha çok teokratik ve büyülü olma yönünde ilerlemiştir. Teokratik bakış açısı, deney ve gözleme dayalı Hipokrat Okulu'nun ortaya çıkmasına kadar Yunanlılar da dahil tüm eski uygarlıkların bir parçasını oluşturmuştur[29].

Mezopotamya'da (M.Ö. 2600) çivi yazısıyla yazılmış kil kalıntılarında bitki kaynaklı terapötik yağlardan bahsedilirken[28], Hipokrat (M.Ö. 5. yüzyıl sonları) 300-400 tıbbi bitkiden bahsetmiştir (2), İncil'de de yaklaşık 30 tıbbi bitkiden bahsedilmiştir[29]. Dioscourides'in De Materia Medica (M.S. 1. yüzyıl) adlı eserinde daha sonraki tıbbi preparatların çoğu için bilgi sağlayan bitkisel ilaçlar tarif edilmiştir[28].

Büyük İmparatorluklar tıbbi bitkilerin üretimini ve ticaretini yüzyıllarca kontrol altında tutarken, Orta Çağ'da manastırlarda ve kiliselerde yetiştirilmeleri terapötik özellikleriyle ilgili bilginin gelişmesini kolaylaştırmıştır. Osmanlı İmparatorluğu döneminde de pek çok Ortodoks manastırı, keşişlerinin manastırda yetiştirdiği tıbbi bitkilerden hazırlanan ilaçların kullanıldığı hastaneler kurmuştur. Kıbrıs Adası'nda (1571-1878) bu döneme ait bir manastır yazısında 70 farklı botanik familyasından, 494 bitkisel reçete ve 231 bitki tanımlanmıştır[30].

Bununla beraber, günümüzde tıbbi bitkiler yeniden incelenmekte, bunların ekstreleri en ince ayrıntılarına kadar çalışılmakta; modern gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanılan mevcut sentetik kimyasal maddeleri tamamlamak ya da değiştirmek amacıyla onların özellikleri gözden geçirilmektedir[31].

"Uçucu yağ" terimi ilk defa, her ilacın etkili bileşenini "*quinta essentia*" olarak isimlendiren Paracelsus (16. yüzyıl) tarafından kullanılmıştır[32]. Toplamda yaklaşık 500 bileşik olan uçucu yağlar, terpenler (monoterpenler ve seskiterpenler), terpenoidler (izoprenoidler), aldehitler ve fenoller gibi alifatik ve aromatik bileşikler içerirler[33,34,35]. 300 tanesi yaygın bir şekilde ticareti yapılan yaklaşık olarak 3000 adet iyi bilinen uçucu

yağ olduğu tahmin edilmektedir[33]. Uçucu yağlar bitkilerden distilasyon, fermentasyon, ezme, ekstraksiyon, hidroliz ve havalandırma yöntemleriyle elde edilmektedir fakat en sık kullanılan metot buhar distilasyonudur[36,37].

Cilt tarafından kolay bir şekilde absorbe edildiği için alerjik ve romatizmal hastalıklarda semptomların giderilmesinde kullanılması; yaşlanma karşıtı, canlandırıcı ve antienflamatuvar etkiler göstermesi uçucu yağların kullanımının temelini oluşturmaktadır[38,39].

Fesleğen, *Lamiaceae* (*Labiatae*) familyasından mutfak bitkisi *Ocimum basilicum*'un bilinen ismidir. *Lamiaceae (Labiatae)* familyası, çoklu uygulamalar için ekstrakte edilmiş uçucu yağların bulunduğu 5000'den fazla tıbbi ve aromatik bitkiyi içeren en önemli familyalardan biridir[28]. 70 tür ve alt türden meydana gelen *Ocimum* L. cinsi Akdeniz'de *O. americanum, O. canum, O. gratissimum, O. tenuiflorum, O. trichodon, O. citriodorum, O. minimum, O. micranthum, O. grandiflorum* ve *O. urticifolium* türleri ile temsil edilmesinin yanı sıra[40,41,42] Asya, Afrika, Orta ve Güney Amerika'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde de bulunmaktadır[43,44,45]. İsmi "kral" anlamına gelen Yunanca sözcükten türetilmiştir ve geleneğe göre Kutsal Haç'ın gömüldüğü yerde fesleğen büyümüştür ve Aziz Helen'i keşfine yönlendiren fesleğenin varlığı ve kokusu olmuştur[46].

Fesleğen yaprakları o-simen, sitral, α-pinen, kamfen, β-pinen, geraniol ve geranialin yanı sıra, ana bileşenleri linalol ve östragol (metil kavikol) olan %0,2-1 oranında uçucu yağ içermektedir[47,48].

Popüler tıpta uzun süredir antienflamatuvar ve analjezik olarak kullanılan fesleğen; sefalji, diyare, konstipasyon, hazımsızlık ve öksürük gibi semptomların tedavisi için kullanılmaktadır[49].

Antioksidan etkiye sahip olması nedeniyle[41], yemek pişirirken baharat olarak[48], yüksek asiditeye sahip domates bazlı ürünlerde katkı maddesi olarak, özellikle pastacılık ürünleri, konserve et ürünleri ve sosislerde aside rezistans bakterilerin kontaminasyonunu inhibe edici olarak[50] kullanılmaktadır. Buna ilaveten, antiseptik etkilere sahip olduğu için çeşitli dental preparatların ve oral solüsyonların içeriğinde yer almaktadır[51]. Ayrıca linalol'den ve böcek uzaklaştırıcı etkilerinden dolayı, özellikle çocuklar için uygun olan böcek kovucuların üretiminde kullanılmaktadır[52].



Şekil 1. Mor fesleğen ve yeşil fesleğen görseli

2.2. Fesleğenin Taksonomisi

Regnum/Alem: *Plantae*
Divisio/Bölüm: *Angiospermae*/Kapalı tohumlular
Classis/Sınıf: *Dicotyledones*/İki çenekliler
Ordo/Takım: *Lamiales*
Familia/Familya: *Labiatae* (*Lamiaceae*)
Genus/Cins: *Ocimum*
Species/Tür: *Ocimum basilicum var. purpurascens*
İkili Adlandırma*: Ocimum basilicum* L.

Lamiaceae; nane, adaçayı ve fesleğeni içeren geniş bir bitki familyasıdır. Yapraklar, gövdeler ve çiçeklerin yüzeyinde bulunan salgı bezlerinde sentezlenip depolanan sekonder metabolitlerin çeşitliliği ile tanınmaktadır[53].

Ocimum cinsi, genel olarak fesleğen diye isimlendirilmektedir; *Lamiaceae (Labiatae)* familyasına ait olan aromatik bitkilerdir. Afrika'da en fazla türe sahip olan bu cinsin üyeleri, tropikal ve sıcak ılıman bölgelere özgü tek yıllık otlar ve çalıları içermektedir[54,55].

Ocimum basilicum L. (Lamiaceae) bitkisi, *Ocimum* cinsinin içerdiği yaklaşık 160 farklı türden biridir[55]. Fesleğen olarak bilinen bu bitki, aromatik bir bitki olarak yaygın şekilde yetiştirilmektedir. Aynı zamanda dünyanın her yerinde, evlerin

bahçelerinde de yetiştirilmektedir. *Ocimum basilicum* genotiplerinin çeşitliliği; benzersiz tatlar, yaprak boyutları ve şekilleri ile kendini gösterdiği gibi yaprak ve gövde renkleri, çiçeklenmeleri, yapıları, büyüme alışkanlıkları ve tohum morfolojileri[56]), bu bitkinin çeşitli alanlarda kullanılmasına imkân tanımaktadır.

Ocimum sanctum L. (*O. tenuiflorum*) Hindistan'da "Holy basil (Kutsal fesleğen)", *Thulasi, Vishnupriya* ve *Tulsi* olarak bilinir[57] . Ayrıca Kutsal fesleğen; Hint fesleğeni (holy basil) ya da Hintçe ismi ile tulsi olarak da adlandırılır[58,59]. Bu bitki geleneksel tıpta "Otların Kraliçesi", "Eşsiz/Kıyaslanamaz" ve "Doğanın Ana İlacı" olarak popülerdir[60]. Efsanevi kutsal fesleğen *(Tulsi)*, yalnızca kutsallığı ile tanınmakla kalmaz[61,62], aynı zamanda Charaka Samhita'nın Ayurvedik metninde ve Unani tıp sisteminde tartışıldığı gibi Doğu'nun geleneksel bitkisel tıbbının vazgeçilmez bir parçasını oluşturmaktadır.

2.3. Fesleğenin Yetiştiği Yerler

Ocimum sanctum L. (*O. tenuiflorum*) Hindistan'a, Kuzey ve Doğu Afrika'nın bazı bölgelerine, Hainan Adası'na ve Tayvan'a özgüdür. Ayrıca Himalayalar'dan Hindistan'a doğru 5900 ft (1800 m) yüksekliğe kadar yabani olarak yetişmektedir[63,64,65].

O. gratissimum, Afrika fesleğeni, Hindistan'dan Batı Afrika'ya kadar Paleotropiklerde yaygındır ve tropikal Amerika'da doğal bir şekilde yetiştirilmektedir[66].

O. sanctum (Holy basil/Kutsal fesleğen), tıbbi özelliklerinden dolayı Hint geleneksel tıbbında ve Ayurveda'da büyük öneme sahiptir. Tropikal, subtropikal ve sıcak ılıman bölgelerde bolca yetişen, yaklaşık 3-100 cm yüksekliğinde, tatlı kokulu, tüylü bir bitkidir[67].

2.4. Fesleğenin Geleneksel Olarak Kullanımı

Fesleğen baş ağrısı, öksürük ve soğuk algınlığının tedavisi için geleneksel tıpta kullanılmıştır. Fesleğen çayı; dizanteri, bulantı, şişkinliğin tedavisi için ve ayrıca antikonvülzan, hipolipidemik ve antienflamatuvar olarak endikedir. *O. basilicum*'un çorbalar, peynirler, sirke, yağlar, gıda koruyucusu, aromaterapi ve parfüm endüstrileri gibi yerlerde aroma verici olarak kullanımları rapor edilmiştir[69,70,71,72].

Fesleğen uçucu yağı; çeşniler, unlu mamüller, dondurmalar ve diğer gıda malzemelerini hazırlamak için diğer baharatlarla birlikte kullanılabilmektedir. Fesleğen

uçucu yağının bileşenleri US FDA ve Avrupa Komisyonu tarafından güvenli olarak kabul edilmiştir[73].

Yaygın tatlı fesleğen (sweet basil, *Ocimum basilicum*) yiyeceklere tat verici olarak, parfümlerin üretimi için uçucu yağ, oleoresin kaynağı olarak ve mutfaklarda yaygın kullanılan bir baharattır[74].

Ocimum basilicum L., tatlı fesleğen, ekonomik olarak Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve İsrail'de en önemli mutfak bitkileri arasındadır[68].

Pek çok tür, gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak, uçucu yağ eldesi, gıda takviyesi ve tıpta uygulama için dünyanın her tarafında yetiştirilmekte ve işleme tabi tutulmaktadır[74].

Fesleğen, esas olarak uçucu yağ üretimi için Doğu Asya, Avrupa, Amerika ve Avustralya'da yetiştirilmektedir. Fesleğen, kalitenin düşmesine neden olacağı için hasat sonrası uzun süreler bekletilmemelidir. Fesleğen; uçucu yağ ekstraksiyonu için yetiştirildiğinde, tam çiçeklenme zamanında hasat edilir. Hasat zamanı, tatmin edici verimin ve uygun kalitenin elde edilmesinde temel faktördür[69,70]. Fesleğen, tüm *Ocimum* türleri arasında en önemlisidir ve fesleğenin uçucu yağları gıdalarda kullanılmaktadır[73].

O. gratissimum değişken bir polimorfik kompleks oluşturduğu Afrika'da, geleneksel tıpta öksürük, ateş, kulak enfeksiyonu ve karın ağrısı gibi çeşitli hastalıklara karşı kullanılan yaygın bir mutfak bitkisidir[75].

2.5. Fesleğenin Kimyasal Bileşimi ve Biyoaktivitesi ile İlgili Yapılan Bilimsel Çalışmalar

Lamiaceae familyası, çiçekli bitkilerin en geniş altıncı familyasıdır ve doğal ürünlerin ekonomisinde önemli rol oynar. Gıda, ilaç, aroma ve parfümeri endüstrilerinde kullanılmaktadır. Bu aile, özellikle terpenoidler olmak üzere oldukça yüksek seviyede sekonder metabolit çeşitliliği göstermektedir[76].

Fesleğen uçucu yağının kimyasal bileşimi türlere, coğrafi dağılıma, büyüme aşamasına, hasat mevsimine, yetiştirme koşullarına ve diğer faktörlere göre değişmektedir. Genelde fesleğen uçucu yağları major bileşenlerinin fonksiyonuna göre sınıflandırılmıştır: Linalol, metil kavikol (östragol), metil sinnamat ve öjenol[69,70,73,77].

O. sanctum'un yaprağı seskiterpenoid yapısındaki betakaryofilen ve fenilpropanoid yapısındaki öjenol nedeniyle diğer fesleğenlere göre daha güçlü ve keskin bir tada sahiptir[78]. *O. sanctum*'un antiinfertilite, antikanser, antidiyabetik, antifungal, antimikrobiyal, kardiyoprotektif, analjezik, antispazmodik ve adaptojenik etkilere sahip olduğu öne sürülmüştür[62]. *Tulsi*'nin kimyasal bileşimi, varyeteler arasında değişen oranlarda ve hatta aynı tarladaki bitkilerde dahi biyolojik olarak aktif pek çok fitokimyasal içeren oldukça karmaşık bir yapıdadır. Tohumdaki uçucu yağ, yağ asitleri ve sitosterole sahipken; yapraklardaki uçucu yağ[79] öjenol (1-hidroksi-2-metoksi-4-allilbenzen), öjenal, urosolik asit[80], karvakrol, limatrol, karyofilen, metil karvikol içermektedir. Buna ilaveten, tohum müsilajı az miktarda şeker içerir ve yeşil yapraklarda antosiyanlar mevcuttur[62]. Yaprak uçucu yağları (terpenler ve fenilpropenler) yapraklarda bulunan, *Lamiaceae* üyelerinin karakteristik özelliği olan peltat trikomlar olarak bilinen salgı tüylerinde sentezlenir ve salgılanır[53,81].

Ayrıca *O. gratissimum* geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip uçucu yağından dolayı üretim anlamında ekonomide önemli potansiyele sahiptir[82].

O. sanctum modern tıbbın yanı sıra fitoterapide de önemli rol oynamaktadır. Birçok çalışma bu bitkinin ilaç hammaddeleri, uçucu yağ ya da saf bileşikler şeklinde tıbbi beklentisine odaklanmıştır. *O. sanctum* antidiyabetik, antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuvar, antinosiseptif, antiinfertilite, antikanser, antihelmintik ve kardiyoprotektif özellikler gösterir[83].

Birkaç *Ocimum* türü metil öjenolün ana bileşen olduğu ve antikanser özelliklere sahip olduğu rapor edilen uçucu yağ üretmektedir[84,85]. Buna ek olarak, *Ocimum* terpenoidler fitotoksik aktivitesinden dolayı biyodegredabl herbisit olarak kullanılmaktadır[86].

Tatlı fesleğen (*Ocimum basilicum*)'in salgı bezleri tek tek ve kombinasyon halinde olan monoterpenler ve seskiterpenlerin yanısıra özellikle fenilpropenler açısından zengin olup[87,85,88] insan duyu sistemleri tarafından algılanan farklı lezzet ve aroma vermektedir.

2.5.1. Antioksidan Aktivite

Ocimum türlerinin bazı varyeteleri, kimyasal bileşenlerine göre karşılaştırılmıştır. Linalol %51,1'den %59'a kadar değişen miktarlarda bütün varyetelerin major bileşeni çıkmıştır. Metil kavikol; İtalyan geniş yaprak, mor fırfırlı ve yeşil-mor fırfırlı (%46,4-%59,5)'nın uçucu yağlarındaki baskın bileşeni olmuştur. Holy basil (Kutsal fesleğen) ve cinnamon basil sırasıyla yüksek orandaki metil öjenol (%74,7) ve metil sinnamat (%45,9) içeriği ile karakterize edilmiştir. ABTS ve FRAP denemeleri, uçucu yağların antioksidan aktivitelerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır ve bu aktiviteler linalol-öjenol kemotipleri ile ilişkilendirilmiştir. *Osmin purple* uçucu yağı en yüksek radikal tutucu aktivite göstermiştir (996.7 ± 137.1 μmol Trolox·mL−1 EO-ABTS; 1262.9 ± 8.0 μmol AA·mL−1 EO-FRAP), bu durumun en yüksek öjenol seviyesiyle (%14,7) ilişkili olduğu görülmüştür. ABTS ve FRAP denemeleri yapıldığı zaman, eklenmiş metoksi grubunun etkisi olan metil öjenolün antioksidan aktivitesi metil kavikolden daha yüksek çıkmıştır. Öjenol yüksek antibakteriyel ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu için önemli uçucu yağ bileşenidir[89].

Farklı yazarlar fesleğen uçucu yağının antioksidan aktivitelerini değerlendirmek için DPPH denemesini kullanmıştır. Sundararajan ve arkadaşları, *Culex quinquefasciatus*'a karşı antibakteriyel, antioksidan ve larvisidal aktiviteler sergileyen fesleğen uçucu yağını Polisorbat 80 matrikste enkapsüle etmişlerdir[90]. DPPH tutucu aktivite denemesinde, uçucu yağların iyi antioksidan aktivite gösterdiğine işaret eden IC50 değerleri sırasıyla nanoemülsiyon ve gallik asit yapılarında 10.47 $\mu g \cdot mL^{-1}$ ve 7.90 $\mu g \cdot mL^{-1}$ iken bu değer Polisorbat 80 matriks yapısında 13.21 $\mu g \cdot mL^{-1}$ olarak görülmüştür. Baj ve arkadaşları mercanköşk (%16 linalil asetat, %14.7 linalol), fesleğen (%75.1 metil kavikol) ve biberiye (%16.6 α-pinen, %15.2 ökaliptol ve %15.1 kafur) uçucu yağlarının olduğu bir deney tasarlamışlar ve antioksidan aktiviteyi değerlendirmişlerdir[91]. Araştırmacılar saf fesleğen uçucu yağı (%48,6)'nda orta seviye antioksidan aktivite gözlemlemişlerdir. Bu uçucu yağların karışımını değerlendirdikleri zaman, antioksidan aktivitenin en yüksek değerine yağ karışımında fesleğenin bulunmadığı ve karışımın 2/3'ünün mercanköşk, 1/3'ünün biberiye yağları olduğunda ulaşmışlardır. Stanojevic ve arkadaşları %31,6 linalol ve %23,8 metil kavikol ile

karakterize edilmiş kimyasal bileşimle fesleğen uçucu yağının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini ifade etmişlerdir[92].

Fesleğen, lemongrass ve limonun ekstraksiyonu süresince oksijen girişi yapılmış ve elde edilen uçucu yağların antioksidan aktivitesini değerlendirmek için ORAC metodu kullanılmıştır. Sonuçlar hidrodistilasyon boyunca oksijen eklenmesinin oksijenlenmiş terpenlerdeki artışla ilgili olarak antioksidan aktivitede artışı desteklediğini göstermiştir[93].

2.5.2. Antienflamatuvar Aktivite

Eftekhar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *Ocimum basilicum* yapraklarından elde edilen hidro-etanolik ekstre kullanılmıştır ve bu ekstrenin ovalbumin ile indüklenmiş astımlı sıçan modelindeki immünomodülatör ve antienflamatuvar etkileri araştırılmıştır. Sitokinler, interlökin-4 (IL-4), interferon-gama (IFN-γ), immünoglobulin E (Ig E), fosfolipaz A2 (PLA2) ve total protein (TP)'i içeren enflamatuvar parametrelerin seviyeleri ELISA metodu ile bronkoalveoler lavaj sıvısında ölçülmüştür. Th_1/Th_2 indeksi olarak IFN-γ/IL4 oranı hesaplanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında astımlı sıçan modelinde IL-4, Ig E, PLA2 ve TP seviyelerinde önemli artışlar, IFN-γ/IL4 oranında önemli azalışlar ve tüm patolojik değişimlerde artışlar görülmüştür[94]. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan dekzametazonun astımlı farelerin respiratuvar kanalındaki antienflamatuvar etkisi ve araşidonik asit metabolizmasının bloke edilmesiyle farklı mediyatörlerle indüklenmiş sıçanlardaki pençe ödemine karşı *Ocimum basilicum*'un antienflamatuvar aktivitesi, lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolaklarının her ikisiyle gösterilmiştir, bu çalışmanın sonuçlarıyla desteklenmiştir.

Glikozidik yapıları içeren değişik bitki bileşenleri, flavonoidler ve saponinler antienflamatuvar aktivite göstermektedir[95]. *Ocimum basilicum* yapraklarında antienflamatuvar aktiviteden sorumlu olabilecek kersetin, izokersetin, kemferol, rutin gibi flavonoidler ve eskulin, syringin gibi glikozidler bulunmuştur[96]. *Ocimum basilicum* 4-allilfenol, anetol, anisaldehit, benzil alkol, kuminaldehit, etil sinnamat, metil benzoat, metil sinnamat, metil öjenol, metil salisilat, fenetil alkol, fenil asetaldehit, safrol, benzaldehit ve östragolü içeren aromatik bileşikleri taşıyan en önemli aromatik bitkilerden biridir[96]. *Ocimum basilicum* yapraklarından ekstrakte edilen uçucu

bileşenlerin antienflamatuvar etkileri ve temel bileşenleri olan östragol, ökaliptol, linalol, borneol asetat, alfa-bergamoten, germakren ve bir triterpenoid olan alfa-amirin önceden rapor edilmiştir[97,98,99].

2.5.3. Antidiyabetik/Hipoglisemik Aktivite

Widjaja ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada diyabetik sıçanlarda fesleğen yapraklarının glukoz düşürücü etkisine bakılmıştır. Tip II diyabeti indüklemek için streptozosin kullanılmıştır. Fesleğen yapraklarının ekstraksiyonu, %96'lık etanol kullanılarak maserasyon yoluyla gerçekleştirilmiştir. Fesleğen yaprak ekstresi, diyabetik kontrol grubu ile metformin veya fesleğen yaprak ekstresiyle tedavi edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı kan glukoz seviyesini düşürücü etki göstermiştir fakat; tedavi grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık göstermemiştir. İleri glikasyon son ürünleri, diyabetik kontrol grubu ile metformin veya fesleğen yaprak ekstresiyle tedavi edilen gruplar arasında anlamlı bir fark göstermiştir. Sonuç olarak, fesleğen yapraklarının etanol ekstresi diyabetik sıçanlarda ileri glikasyon son ürünleri ve kan glukoz seviyesini düşürmede iyi sonuçlar göstermiştir[100].

Ezeani ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada hepatik glukoz mobilizasyonunun ve karbonhidratları metabolize eden enzimlerin inhibisyonu aracılığıyla *Ocimum basilicum* ekstresinin antidiyabetik etkiler gösterdiği saptanmıştır. Yetişkin Swiss albino sıçanlarda taze hazırlanmış alloksan monohidrat çözeltisiyle diyabet indüklenmiştir. *Ocimum basilicum* diklorometan:metanol (1:1) karışımıyla ekstrakte edilmiştir. Ekstre uygulanan diyabetik sıçanlarda açlık kan glukoz seviyelerinde azalma görülmüştür. Bu hipoglisemik etki, metformin ile tedavi edilen gruptan daha yüksektir[101].

2.5.4. Antifungal Aktivite

Ahmad ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Ocimum basilicum*'un metanolik ekstresinin antifungal aktivitesine bakılmıştır. *Ocimum basilicum*'un ham metanolik fraksiyonu, 8 mantar suşuna karşı taranmıştır. Uygulanan ekstrenin en düşük konsantrasyonunda (1 mg/ml) bile hafif ile orta seviyede (%10-%65) büyüme inhibisyonu gözlemlenmiştir. *Candida albicans*'ta sadece %10 büyüme inhibisyonu gözlemlendiğinden bu konsantrasyonda daha dirençli bulunmuştur. 1 mg/ml

konsantrasyonda *Curvilaria lunata* türleri için orta düzeyde inhibisyon (%27) fark edilmiştir. *Penicilium* ise bu konsantrasyonda yüksek oranda (%65) inhibe edilmiştir. 3 mg/ml konsantrasyonda, *Candida albicans* (%17) ve *Curvilaria lunata* (%43) dışındaki tüm suşlar için tam misel büyümesi inhibisyonu kaydedilmiştir. 6 mg/ml konsantrasyonda ise tüm mantar suşları için tam inhibisyon gözlemlenmiştir[102].

Elsherbiny ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Bipolaris* türlerinin morfogenez ve büyümesine karşı *Ocimum basilicum* organik ekstresinin fungitoksik etkisine bakılmıştır. Fesleğen yapraklarının etil asetat ve metanol ile ekstreleri hazırlanmıştır. Antifungal etkiyi değerlendirmek için *Bipolaris* ve *Cochliobolus* izolatları kullanılmıştır. Fesleğen'in etil asetat ekstresi 16 mg/ml konsantrasyonda *B. ellisii, B. hawaiensis, B. spicifera* ve *C. cynodontis*'e karşı tam misel büyüme inhibisyonu göstermiştir ve *C. australiensis*'e karşı da güçlü antifungal etki göstermiştir (%93,5'lik inhibisyon). Benzer şekilde, fesleğen'in metanol ekstresi aynı konsantrasyonda B. *hawaiensis, B. spicifera ve C. cynodontis*'te %100; B. ellisii'de %96,3; *C. australiensis*'de %92,6'lık büyüme inhibisyonu göstermiştir. 8 mg/ml'lik konsantrasyonda ise fesleğen'in etil asetat ekstresi tüm mantar türlerine metanol ekstresinden daha fazla antifungal aktivite göstermiştir[103].

2.5.5. Antitrombotik Aktivite

Bojic ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada polifenoller ve flavonoidler bakımından zengin bitki türlerinin antitrombotik aktivitesine bakılmıştır. *Calamintha nepeta* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Mentha x piperita* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. ve *Rosmarinus officinalis* L. bitkilerinin ekstrelerinin antiplatelet aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bu ekstrelerin bileşenleri esas olarak kafeik asit, umbelliferon gibi fenolik bileşiklerdir[104].

2.5.6. Nöroprotektif Aktivite

Ayuob ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Ocimum basilicum*'un uçucu yağı inhalasyonunun Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS)'e maruz kalmış farelerin koku alma soğancığındaki apoptoz ve nörogenezi hafiflettiği tespit edilmiştir. Farelere fluoksetin ve *Ocimum basilicum* uygulaması nörogenezi önemli ölçüde iyileştirmiştir ve bu durum ki67 gen ekspresyonunun yukarı regüle edilmesiyle

kanıtlanmıştır. Ayrıca bu çalışmada, CUMS'a maruz bırakılan farelerin temel koku alma soğancığındaki kaspaz-3 pozitif hücre sayısındaki artışın yanı sıra kaspaz-3 gen ekspresyonunun yukarı regüle edilmesiyle kanıtlanmış artan nöronal apoptoz tespit edilmiştir. Bu çalışmada, *Ocimum basilicum* aşağı regüle edilmiş kaspaz-3 gen ekspresyonu yoluyla kaspaz-3 pozitif hücre popülasyonunu azaltmıştır[105].

2.5.7. Antiapoptotik/Antikanser Aktivite

Alkhateeb ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Ocimum basilicum*'un mor çiçeklerinin düşük sıcaklıkta hazırlanan sulu ekstresinin MCF7 kanser hücrelerinin büyüme ve proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkileri *Ocimum basilicum*'un taşıdığı flavonoidler ve fenolik bileşiklerin sağladığı düşünülmektedir[106].

2.5.8. Sedatif Aktivite

Netto ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Ocimum basilicum* ve *Cymbopogum flexuosus* uçucu yağlarının genç *Nile tilapia* cins balıklara anestezi ve sedasyon üzerine etkinliği incelenmiştir. Etanol ve kontrol gruplarında sedasyon ve anestezi etkisi görülmemiştir. Her iki bitkinin ekstresinin uçucu yağlarının test edilen tüm konsantrasyonlarda sedatif etkili olduğu görülmüştür. *Nile tilapia* gençlerinin sedasyon bitiminden hemen sonra kendine geldiği görülmüştür[107].

2.5.9. Renoprotektif Aktivite

Almalki'nin yapmış olduğu çalışmada albino sıçanlarda diyabetle indüklenen nefropatiye karşı *Ocimum basilicum*'un renoprotektif etkisine bakılmıştır. Streptozosin ile diyabet modeli oluşturulmuştur. Metformin ile tedavi edilen gruplarda diyabetik grupla karşılaştırıldığında serum kreatinin seviyesinde önemli azalma görülürken, kan üre azotu (BUN) seviyesinde önemli bir azalma görülmemiştir. Fakat *Ocimum basilicum* ekstresi uygulanan gruplarda diyabetik grupla kıyaslandığında hem serum kreatinin hem de BUN seviyesinin her ikisinde de önemli bir azalma görülmüştür. Ayrıca çalışılan grupların renal korteks yapısının histolojik değerlendirmesinde metformin ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda proksimal kıvrımlı tübüllerde olması beklenen tüm patolojik değişimlerin, dejenere hücrelerin daha az sıklıkla oluştuğu görülmüştür. *Ocimum basilicum* ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda ise proksimal

kıvrımlı tübüllerde birkaç dejenere hücre dışında geri kalan yapının sağlam olduğu görülmüştür. Ayrıca glomerüllerin ortalama yüzey alanı, tedavi edilmeyen diyabetik gruba kıyasla bu grupta önemli ölçüde artmıştır[108].

2.5.10. Antimikrobiyal Aktivite

Ebani ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada üriner kanal enfeksiyonlarından sorumlu olan bakteri ve mantarlara karşı 5 uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. Bu çalışmadaki 5 uçucu yağdan biri de fesleğenin uçucu yağıdır. Agar disk difüzyon metodu ile *E. coli* ve *Enterococcus* izolatları 21 antibiyotiğe karşı test edilmiştir. Ayrıca uçucu yağların minimum inhibitör konsantrasyon değerleri hesaplanarak antibakteriyel aktivitesine bakılmıştır. *Ocimum basilicum* uçucu yağının iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür[109].

2.5.11. Hepatoprotektif Aktivite

Othman ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada diyabetik albino sıçanlarda *Ocimum basilicum* ekstresinin flavonoidlerinin hepatorenal koruyucu etkisine bakılmıştır. Fesleğenin n-hekzan ve metanol kullanılarak ekstresi hazırlanmıştır. Streptozosin ile diyabet modeli oluşturulmuştur. Tedavi gruplarında metformin ve fesleğen ekstresi kullanılmıştır. Diyabetik sıçanlarda alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), üre ve kreatinin serum seviyeleri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek çıkmıştır. Tedavi gruplarında bu parametrelerde önemli azalmalar görülmüştür. Fesleğen ekstresi ile tedavi edilen gruplarda karaciğer dokusundaki antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri fark edilir şekilde düzelmiştir. Ayrıca histopatolojik incelemede diyabetik sıçanlarda karaciğer dokusunda nekrotik bölgeler mevcutken; fesleğen ekstresi uygulanan gruplarda merkezi damarda hafif tıkanıklığın yanı sıra kupffer hücrelerinde hafif aktivasyon görülmüştür[110].

2.5.12. Antiosteoporotik Aktivite

Hozayen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada glukokortikoidlerle indüklenmiş osteoporozlu sıçanlarda *Petroselinum crispum*, *Ocimum basilicum* ve *Cichorium intybus*'un antiosteoporotik etkisi araştırılmıştır. Kortikosteroid olarak

dekzametazon kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bitkilerin sulu ekstresi hazırlanmıştır. Osteoporotik sıçanların fesleğen, maydanoz ve hindiba ekstreleriyle tedavisi sonucu, kontrol grubuna kıyasla kalsiyum seviyesinde önemli artış ve kemikteki osteoblastik aktiviteyi arttırdığı görülmüştür. Fesleğen ve hindiba uygulaması kemikteki fosfor konsantrasyonunda önemli artış sağlarken, maydanoz osteoporotik grupla karşılaştırıldığında önemli olmayan bir değişikliğe neden olmuştur[111].

2.5.13. Antihiperaljezik Aktivite

Nascimento ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada fibromiyaljili hayvan modellerinde *Ocimum basilicum*'un antihiperaljezik etkisine bakılmıştır. Bir çalışmada erkek Swiss fareler kullanılmıştır. *Ocimum basilicum* yapraklarındaki uçucu yağlardan siklodekstrinle kompleks oluşturulmuştur. Farelerde, mekanik hiperaljezi yöntemi artan basınçla oluşturulmuş ve arka pençe fleksiyonuna bakılmıştır. Ayrıca sıçanlarla yapılan çalışmada ön ayak kavrama gücü performansına bakılmıştır. Kavrama gücü ölçüm cihazıyla, uygulanan kuvvetlerin pik gerilimleri (gram olarak) ölçülmüştür. Bu çalışmalar ışığında, *Ocimum basilicum* uçucu yağının önemli antihiperaljezik profile sahip olduğu tespit edilmiştir[112].

2.5.14. Antihipertansif Aktivite

Alegria-Herrera ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada kronik hipertansiyon modelinde serebral vasküler hasara karşı *Ocimum basilicum*, *Ocimum selloi* ve Rosmarinik Asit'in etkilerine bakılmıştır. *Ocimum basilicum* ve *Ocimum selloi*'nin %60'lık etanol ile ekstreleri hazırlanmıştır. Erkek farelerde anjiotensin II ile hipertansiyon modeli oluşturulmuştur. Kan basıncı değerleri ölçüldüğünde telmisartan, bitki ekstreleri ve rosmarinik asiti içeren tüm tedavi gruplarında sağlıklı hayvanlara kıyasla sistolik ve diyastolik kan basıncı değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir[113].

Irondi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Ocimum basilicum* ve *Ocimum gratissimum* yaprak ekstrelerinin obezite ve hipertansiyonda rol oynayan enzimler üzerine olan inhibitör etkisine bakılmıştır. Her iki bitkinin de metanol ile polifenolik ekstresi hazırlanmıştır. Spektrofotometrik metotla anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyonu deneyi yapılmıştır. Referans ACE inhibitörü kaptoprile göre

her iki bitkinin ekstresinin yaptığı inhibisyon değeri daha yüksek çıkmıştır. *Ocimum basilicum*'un inhibisyon değeri *Ocimum gratissimum*'un değerinden daha yüksek çıkmıştır[114].

2.6. Mesanenin Anatomisi ve Fizyolojisi

Normal mesanenin fonksiyonu, idrar depolama ve idrar atılımı arasındaki dengeleyici bir eylemdir. Bu iki fazda harcanan zamandan dolayı mesanedeki damar sistemi, diğer iç organlarda yaygın şekilde görülmeyen kuvvetlere maruz kalır. Safra kesesi, akciğer ya da mideyle kıyaslandığında, mesane uzun süre boyunca sürekli şekilde büyük hacimlerde zararlı sıvı depolama yeteneğine sahiptir[115].

Detrüsör düz kası mesane dolduğu zaman nispeten sessiz kalır, depo edilen idrar hacmi arttıkça mesane duvarının şişmesine izin verir[116]. Bu şişkinlik oldukça derin olabilir. Farelerde, intravezikal basınçta minimum artışla birlikte mesane yüzey alanı boşken yaklaşık 60 mm^2'den miksiyondan hemen önce 220 mm^2'nin üstüne yükselir[117,118,119]. Beklenildiği gibi, mesane duvar kalınlığı boşken yaklaşık 400 μm iken[120] dolduğu zaman 100 μm'nin altına düşer. Bu değişiklik o kadar derindir ki, fare mesanesi miksiyondan hemen önce yarı şeffaf görünecek kadar incedir. Bu yüzden, bu değişiklikler sırasında yeterli kan akışını devam ettirmek fizyolojik olarak zordur[121].

Mesane genişlemeye adapte olma yeteneğindedir, çünkü genişleme sırasında perfüzyonu sürdüren özel bir arteriyol, venül ve kollateral kapiller ağı ile büyük ölçüde vaskülarizedir[122,123,124,125]. Mesane dolumu esnasında mesane damarlarında meydana gelen uzunlamasına ve eksenel esnemeyi dengelemek için, arteriyoller mesane gerildiği zaman serbestçe uzamalarına izin veren özel bir elastik kılıf içinde sarılmıştır[124,126, 127].

Şaşırtıcı bir şekilde, hasta olmayan mesane düz kası normalde uç organ hasarı ile ilişkili uzun süren iskemi durumları karşısında hala miksiyon kontraksiyonları oluşturabilmektedir[128,129]. Bunun 2 nedeni vardır: 1) Mesane düz kası, glikoliz yoluyla kontraktil fonksiyonunu sürdürmek için yeterli ATP üretebilir. 2) Hipoksi çapraz köprü döngüsünün hızını azaltır, böylece hipoksi sırasında kuvvet koruma ve kontraktil fonksiyonun korunmasını arttırır[130,129]. Hem mesane damar sistemi hem de mesane düz kasının kendisinin, gerçekten dolu olması gereken ideal olmayan koşullarda (kan akışıyla ilgili) uygun miksiyonun gerçekleşmesini sağlamak için mesane fonksiyonu süresince mevcut benzersiz anatomik değişikliklere adapte olduğu görülmektedir[121].

Birçok kapsamlı incelemede tartışıldığı gibi[131,132,133] mikrovasküler fizyolojinin temel ilkesi, küçük arterlerin ve arteriyollerin "miyojenik tonus" oluşturmasıdır. Bu durum, intraluminal basınç arttığı zaman düz kas hücrelerinin kapiller yatak boyunca sürekli kan akışını devam ettirmek ve basınçtaki büyük kaymaların vasküler hasara neden olmasını önlemek için kasıldığı anlamına gelmektedir. Miyojenik tonus, kan basıncındaki nispeten büyük değişiklikler karşısında bile serebral kan akışının sabit kaldığı yer olan beyinde belirgindir[134]. Artan intraluminal basınç varlığında, mesane arteriyolleri daralmaz[135].

Miyojenik tonusun ayırıcı özelliği; voltaj kapılı kalsiyum (Ca^{+2})kanallarının açılması, Ca^{+2} akışı ve en sonunda düz kas kontraksiyonunu sağlayan basınçla indüklenen düz kas hücresi depolarizasyonudur[136].

Damar çapı düzenlemesi en azından kısmen, perivasküler sinir innervasyonuna atfedilebilir gözükmektedir. İzole mesane arteriyolleri, adrenerjik agonist fenilefrin ile önemli ölçüde kasılır ve submukozal arteriyollerin elektriksel alan stimülasyonu ile indüklenip kasılması α1 adrenerjik reseptör antagonisti prazosin tarafından bloke edilmektedir[137]. Bununla beraber nitrerjik, kolinerjik ve duyusal sinirleri de içeren diğer sinirler de bu damarları innerve eder; bu durum mesane kan akışının nöral kontrolünün heterojen ve kompleks olduğunu göstermektedir[138].

Mesane vasküler tonusunun düzenlenmesinde duyu sinirlerinin rolleri araştırılırken, genellikle mesane C-fiber afferentlerinin ayırt edici indikatörü olarak kabul edilen Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid Tip 1 (TRPV1) kanalının, mesane arteriyoler düz kas hücrelerinde ara sıra eksprese edildiği keşfedilmiştir[139].

Mesane kan akışı, dolum sırasında önemli ölçüde azalırken; miksiyon sırasında ise önemli ölçüde artmaktadır[140]. Nitrik oksit sentaz (NOS)'ın ve böylece nitrik oksit (NO)'in üretiminin inhibisyonu kan akışındaki artışı körelttiği için, bu sadece damarların mekanik stresinin azalmasından kaynaklanmamaktadır. NO üretiminin inhibisyonu izole mesane arteriyollerinde tonusu artırmadığı için, miksiyon sırasında kan akışının NO duyarlılığının artması büyük olasılıkla endotelyal NO'dan bağımsız mekanizmalar vasıtasıyla olmaktadır. Örneğin; detrüsör düz kası NO'ya duyarsız gibi görünür, fakat mesane duvarı boyunca nitrerjik sinirler bulunmaktadır[141,142,143].

Mesane kan akışının, sinir sisteminin uyarısı dışında özellikle mesane ürotelyumu, vasküler endotelyum ve mesane duvarı içerisindeki vazoaktif maddelerin

salınması yoluyla lokal olarak düzenlenmesi de mümkündür. NO, asetilkolin, endotelin-1 (ET-1) ve ATP mesane dolduğu zaman ürotelyumdan salınır[144,145,146,147]. Ayrıca ürotelyumdan NO, ET-1 ve ATP salınımındaki değişiklikler mesane disfonksiyonu ile ilişkilidir[146,148]. Bütün bu maddelerin damar tonusu üzerinde derin etkileri vardır ve dolum süresince kan akışını önemli ölçüde değiştirebilmektedir[121].

Ayrıca, arteriyoler benzerlerinden farklı olarak, mesane venülleri damar boyunca yayılan fazik kasılmalar (dakikada yaklaşık 5 tane) göstermektedir. Bu kasılmalar tetrodotoksine karşı duyarsızdır ama nikardipin ve siklopiazonik asit tarafından bloke edilmektedir, bu da aktivitelerinin voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları yoluyla kalsiyum akışına ve intraselüler kalsiyum depolarının inozitol trifosfat (IP3) reseptörleri yoluyla salınımına bağlı olduğunu ve sinir aracılı mekanizmalar yoluyla olmadığını öne sürmektedir[149]. İzole mesane deneylerinde elektriksel alan stimülasyonu (EAS) ile oluşturulan kasılma cevaplarında kolinerjik, pürinerjik vb. yolakların, gevşeme cevaplarında ise nitrerjik, K kanal aktivasyonu gibi yolakların rol oynadığı düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Hayvanlar ve Deney Grupları

Tüm deneylerde 10-12 haftalık, 25-30 gram (g) ağırlığında, erkek Swiss albino cinsi fareler kullanılmıştır. Fareler oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda, suya ve yeme erişimleri serbest olacak şekilde (*ad libitum*) tutulmuştur. Fareler Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (SABİDAM)'nde yetiştirilmektedir.

Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu esaslarına uygun olarak yürütüldü ve Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (20.01.2022).

Fareler, Ketamin (200 mg/kg) ve Ksilazin (10 mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi edildikten sonra servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi.

MP35 sistemiyle yapılan çalışmalar için erkek Swiss albino fareler (10-12 haftalık, 25-30 g) kullanıldı. Fareler 6 gruba ayrıldı, her bir gruptaki fare sayısı 5-11 arasındadır (n=5-11). Organ banyolarına 10 ml Krebs-Henseleit solüsyonu eklendi. Ardından izole edilen mesane dokuları organ banyolarına asıldı. Her deney grubunda, organ banyosuna 400 µl MFE (40 µl MFE/1 ml Krebs-Henseleit solüsyonu) ilave edilip 40 dakika boyunca inkübe edildi. Deney grupları şu şekildedir:

1. Grup: Ekstre Kontrol Grubu (Mesanenin bir yarısına hiçbir şey verilmeyip diğer yarısına 400 mikrolitre (µl) mor fesleğen ekstresi (MFE) uygulanıp 40 dakika (dk) inkübe edildi.)

2. Grup: Negatif Kontrol (NK) Grubu (Mesanenin bir yarısına 400 µl %60'lık etanol, diğer yarısına da 400 µl MFE uygulanıp 40 dk inkübe edildi.)

3. Grup: Tetraetilamonyum (TEA) Grubu (Mesanenin bir yarısına yalnızca 400 µl MFE, diğer yarısına 400 µl MFE + 50 µM TEA uygulanıp 40 dk inkübe edildi.)

4. Grup: Verapamil Grubu (Mesanenin bir yarısına yalnızca 400 µl MFE, diğer yarısına 400 µl MFE + 50 µM verapamil uygulanıp 40 dk inkübe edildi.)

5. Grup: Nω- Nitro- L- arginine (L-NOARG) Grubu (Mesanenin bir yarısına yalnızca 400 µl MFE, diğer yarısına 400 µl MFE + 50 µM L-NOARG uygulanıp 40 dk inkübe edildi.)

6. Grup: Atropin Grubu (Mesanenin bir yarısına yalnızca 400 µl MFE, diğer yarısına 400 µl MFE + 50 µM atropin uygulanıp 40 dk inkübe edildi.)

Reaktifler ve Kimyasallar

Ketasol %10 Richter pharma ag, Xylazinbio %2 Bioveta, Tetraethylammonium chloride, (±)-Verapamil hydrochloride, Atropine sulfate salt, Nω-Nitro-L-arginine (L-NOARG), RIPA buffer, Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), Sodium orthovanadate Sigma- Aldrich, Protease inhibitor cocktail Thermo Scientific firmalarından satın alındı. Deneylerimizde kullandığımız kurutulmuş mor fesleğen bitkisi tıbbi ve aromatik bitkilerin satıldığı, bu konuda eğitim almış uzman kişilerin çalıştığı güvenilir bir aktardan temin edildi.

Araç ve Gereçler

4 kanallı organ banyosu sistemi (May), ısıtıcı sirkülatör (WBC3044-PR), MP35 sistemi (Biopac Systems, Inc.), homojenizatör (Bandelin electronic), santrifüj cihazı (Nüve NF200), Fare PTGS2/COX-2 Elisa Kiti (FineTest), Fare SOD1 Elisa Kiti (FineTest).

MP35 ve ELISA Deneylerinde Kullanılan Mor Fesleğen Ekstresinin Hazırlanışı

Mor fesleğen (latince adı *Ocimum basilicum*) ekstresini (MFE) hazırlamak için, kurutulmuş mor fesleğen yaprakları cam havan içerisinde iyice ezilerek ince toz haline getirildi. Bu toz karışımından 5 g tartılıp cam mezür içerisine alındı. Üzerine 100 ml %60'lık etanol ilave edilerek iyice karıştırıldı. Cam mezürün ağzı parafilmle hava almayacak şekilde sıkıca kapatıldı. Günde bir defa karıştırılmak suretiyle toplamda 3 gün serin, kuru ve güneş görmeyen bir yerde maserasyona bırakıldı. 72 saatin sonunda çözelti cam balon içerisine alınıp ağzı cam kapakla hafif hava alacak şekilde kapatılıp içerisinde kaynamış su bulunan büyük beher içerisine balonun boyun kısmı düzeneğe sabitlenecek şekilde yerleştirildi. Kısık ateşte 20 dk kaynatıldı. Kaynatma işleminden

sonra 1,5 ml'lik eppendorflara 1 ml ekstre olacak şekilde koyuldu. Eppendorfların ağzı parafilmle sıkıca kapatılıp -20ºC' ye kaldırıldı.

3.1. İn Vitro Çalışmalar

MP35 sistemi kullanılarak mesanenin düz kas fonksiyonları değerlendirildi. ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi kullanılarak da süperoksit dismutaz (SOD) ve siklooksijenaz (COX) kitleri aracılığıyla fare dokularındaki enzim seviyeleri tespit edildi.

3.1.1. Elektriksel Alan Stimülasyonu (EAS) ile Düz Kas Kontraksiyonlarının Değerlendirilmesi

Fareler anestezi sonrası servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildikten sonra mesane dikkatli bir şekilde izole edildi. Ardından eşit iki parçaya ayrıldı. 37ºC'de %5 CO_2 ve %95 O_2 ile gazlandırılan Krebs- Henseleit solüsyonu (NaCl, 118 mM; KCl, 4.7 mM; $MgSO_4$, 1.2 mM; $NaHCO_3$, 25 mM; KH_2PO_4, 1.2 mM; $CaCl_2$ 2.5 mM; ve $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$, 12.7 mM; -log[H^+]= 7.4) içeren 10 ml'lik organ banyosuna 0.5 g tonüs uygulanarak asıldı. EAS uygulaması için mesane dokuları iki platin elektrot arasına yerleştirilerek stimülatöre (Grass S88 Stimulator) bağlandı. Stimülatör parametreleri; Gecikme: 1 milisaniye (ms), Durasyon: 1 ms, Voltaj: 40 Volt (V), Rate: 5, 10, 20 Hertz (Hz) olacak şekilde ayarlandı. Stimülatörün fonksiyonu "Repeat" olacak şekilde ayarlandı.

Deneye başlamadan önce dokuların tonüsü 0,5 g olarak ayarlandı. Mesane dokuları 1 saat boyunca her 15 dakikada bir yıkanarak dengeye gelmeleri sağlandı. 1 saatlik sürenin sonunda EAS ile 40 V, 5 Hz'lik stimulus dokulara 1 dakika boyunca uygulandı. 10 dk aranın ardından 10 Hz'lik stimulus verildi. 10 dk sonra da 20 Hz'lik stimulus uygulandı. 3 farklı Hz stimulus uygulamasından sonra dokular Krebs-Henseleit solüsyonuyla 1 kez yıkandı. Ardından 40 dakikalık inkübasyon için gerekli ekstre ve/veya kimyasal uygulandı. 40 dakikanın ardından EAS uygulaması daha önce açıklandığı şekilde uygulandı.

Kaydedilen değerler izometrik force transducer (Force Displacement Transducer, May, FDT 0.5) aracılığıyla gram cinsinden ölçüldü. Ölçülen değerlerin yüzde cinsinden hesaplaması yapıldı. Bunun için 40 dk inkübasyon öncesi değerler

%100 kabul edilip inkübasyon sonrası değerler hesaplandı. Bu yüzde cinsinden bulunan değerler NK, MFE, Kimyasal Kontrol (TEA, verapamil, atropin, L-NOARG), Kimyasal + Ekstre (K + E) grupları olarak GraphPad Prism Version 5 bilgisayar programına girilip anlamlılık yönünden değerlendirildi.

3.1.2. ELISA Deneyleri

3.1.2.1. ELISA Deneylerinde Kullanılacak Mesane Dokularının İnkübasyonu

Erkek Swiss albino farelerden izole edilen mesane dokuları longitidunal şekilde iki eşit parçaya ayrıldı. Bu parçaların her biri içerisinde 5 ml Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan cam viallerin içerisine yerleştirildi. Vialler, ısıtıcı sirkülatörün üzerine solüsyon 37ºC'lik sıvının içerisinde kalacak şekilde yerleştirildi. Bu sayede viallerin içindeki izole mesane dokularının 37ºC'ye gelmesi sağlandı. Dokular %95 O_2+%5 CO_2 karışımı ile gazlandırıldı. Mesane dokularına 200 µl MFE uygulanıp 40 dk boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresi bittikten sonra dokular ependörflere alınıp kullanılıncaya kadar -20ºC'de muhafaza edildi.

3.1.2.2. ELISA Deneylerinin Prosedürü

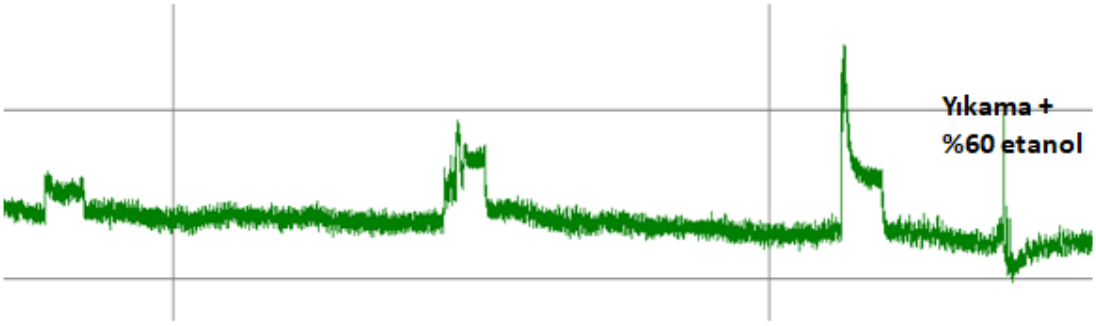
ELISA deneylerinde SOD ve COX kitlerinde kullanılan fare sayısı üçtür (n=3). İnkübasyonu yapılan mesane dokuları hassas terazi yardımıyla tartılarak ağırlıkları bulundu. Mesane dokularının canlılığının korunması için bütün işlemler buz varlığında gerçekleştirildi. Bulunan ağırlıklar 3 ile çarpılarak üzerlerine eklenmesi gereken Ripa içerik miktarı hesaplandı. Ripa içeriğin hazırlanması için; Ripa buffer tampon çözeltisi, sodyum ortovanadat, PMSF ve proteaz inhibitör kokteyl çözeltileri gereken miktarlarda alınıp homojen şekilde karıştırıldı. Her bir doku için gereken Ripa içerik miktarı, ependörflerdeki dokuların üzerine aktarıldı. Dokular makas yardımıyla biraz parçalara ayrılıp ardından homojenizatör ile iyice parçalandı. Ripa içerikli dokunun homojenizasyon işlemi de yine buz varlığında gerçekleştirildi. Homojenizasyon işlemi tamamlandıktan sonra ependörfler santrifüj cihazına yerleştirildi. 2200 rpm'de 20 dk boyunca santrifüj edildi. Santrifügasyon işleminden sonra ependörflerdeki süpernatantlar dikkatli bir şekilde alındı. ELISA kit çalışmalarında kullanılıncaya kadar

-20ºC'de saklandı. SOD ve COX ELISA çalışmaları kit protokollerine uygun olarak yapıldı. Kuyucuklara eklenmesi gereken örnek miktarları, elde edilen süpernatantlardan sağlandı.

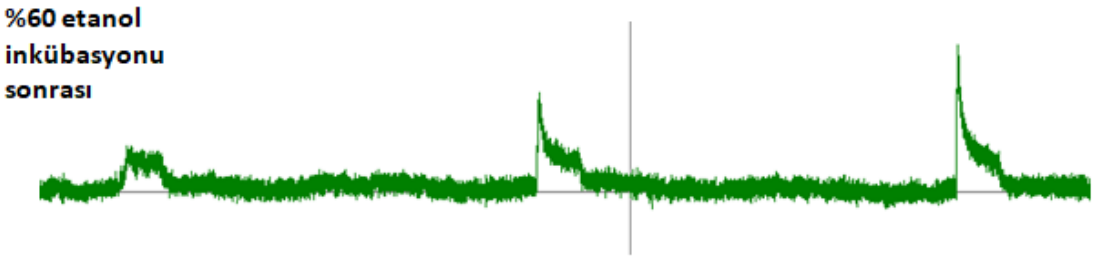
İstatistiksel Analiz

Deneysel verilerin analizi için GraphPad Prism (5.1) istatistiksel programları [Analysis of Variance (ANOVA; Post hoc: Bonferroni) veya Student's t test] kullanıldı. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

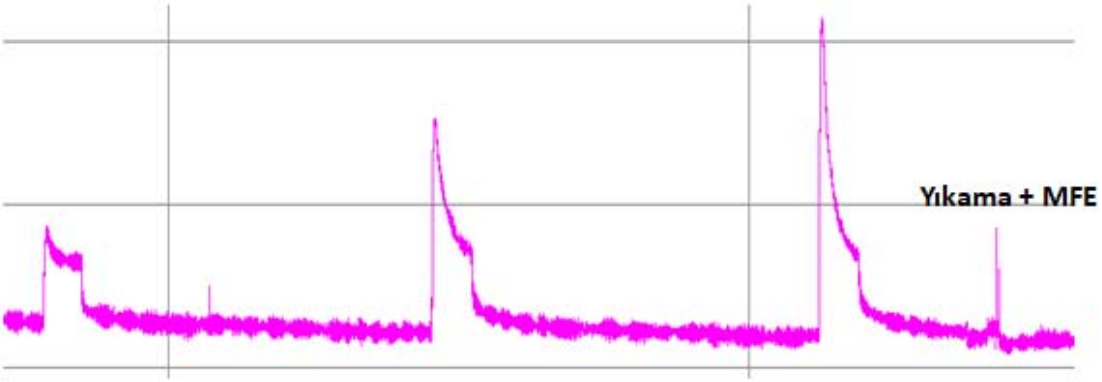
4. BULGULAR



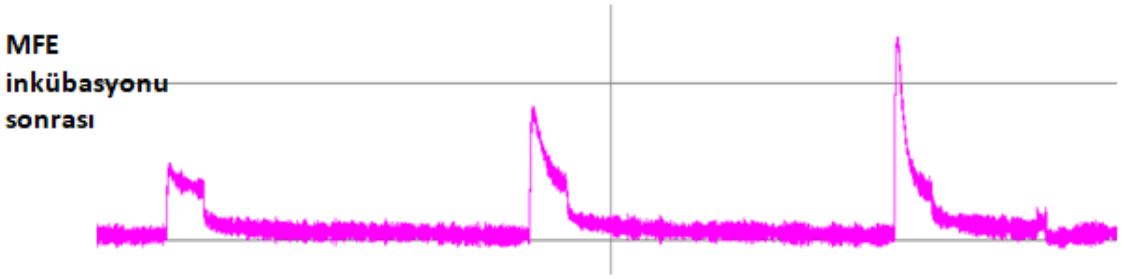
Şekil 2. İzole fare mesane şeridinin %60 etanol inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 3. İzole fare mesane şeridinin %60 etanol inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



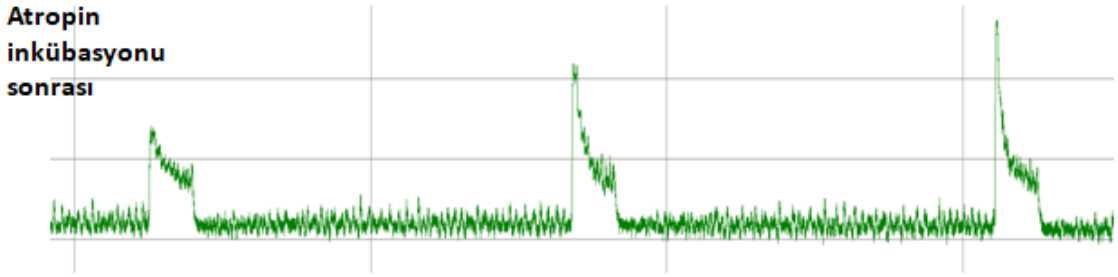
Şekil 4. İzole fare mesane şeridinin MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



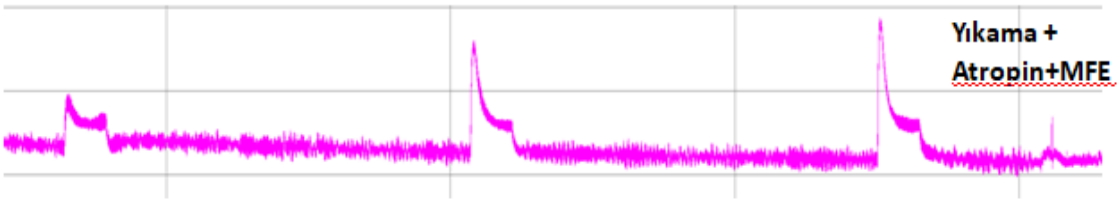
Şekil 5. İzole fare mesane şeridinin MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 6. İzole fare mesane şeridinin 50 µM atropin inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 7. İzole fare mesane şeridinin 50 µM atropin inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 8. İzole fare mesane şeridinin atropin+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 9. İzole fare mesane şeridinin atropin+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)

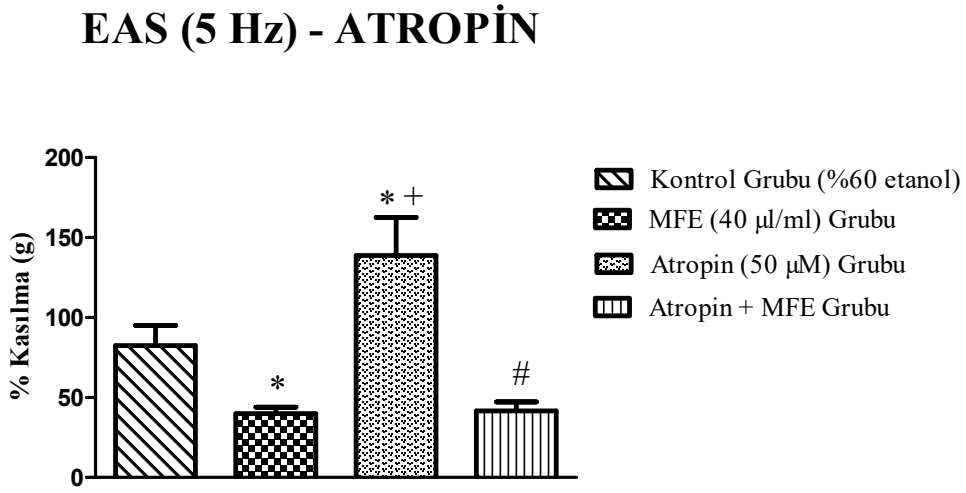
4.1. Atropin İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

4.1.1. Atropin İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla MFE verilen grupta 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görülürken; 5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen grupta ise anlamlı bir artış görüldü (Şekil 10).

MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen grupta 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 10).

5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen gruba kıyasla; atropin + MFE verilen grupta 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 10).



Şekil 10. İzole fare mesanesinde atropin inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

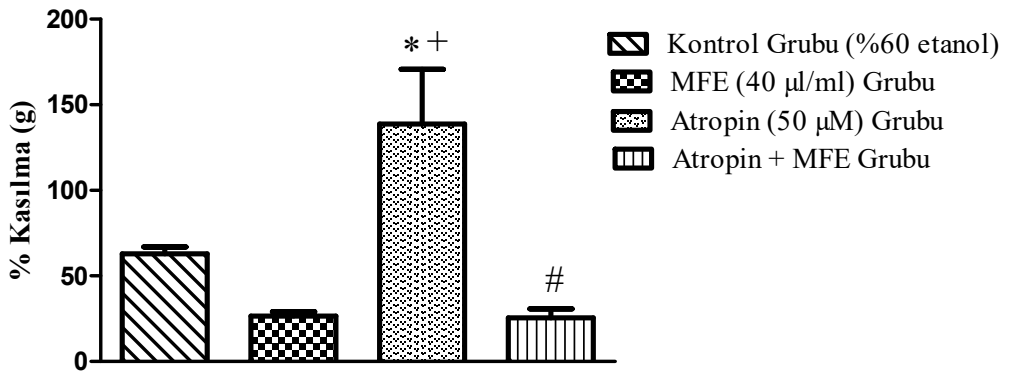
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,05$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # Atropin (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$

4.1.2. Atropin İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 11).

MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 11).

5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen gruba kıyasla; atropin + MFE verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 11).



Şekil 11. İzole fare mesanesinde atropin inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturuan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

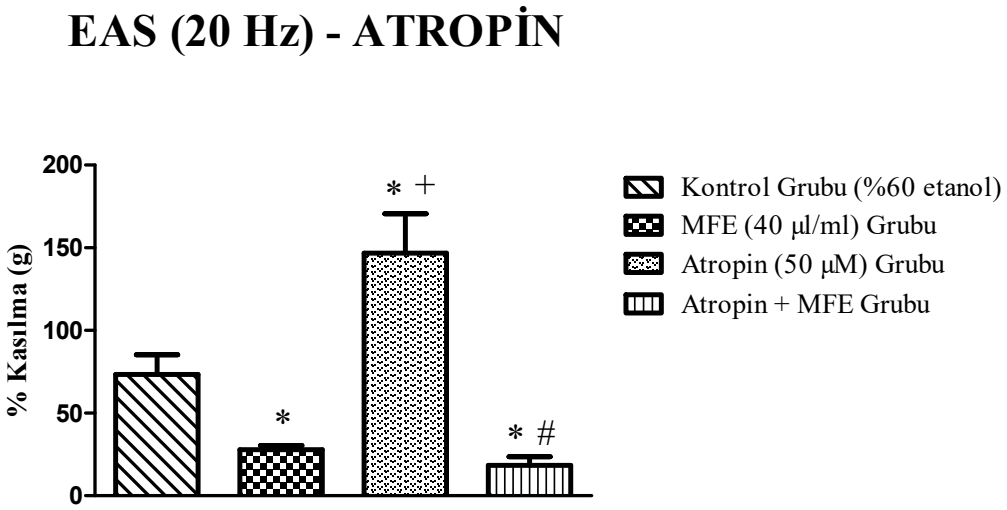
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # Atropin (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$

4.1.3. Atropin İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE ve atropin + MFE verilen gruplarda 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görülürken, 5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen grupta ise anlamlı bir artış görüldü (Şekil 12).

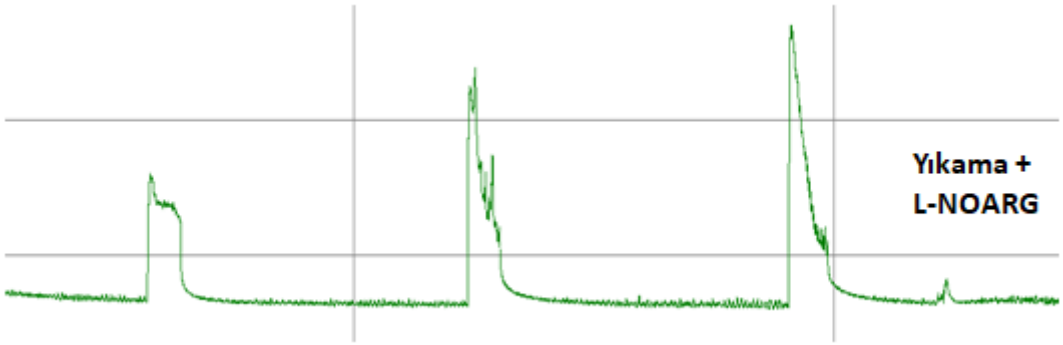
MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) atropin verilen grupta 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 12).

5×10^{-5} M (50 µM) Atropin verilen gruba kıyasla; atropin + MFE verilen grupta 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 12).

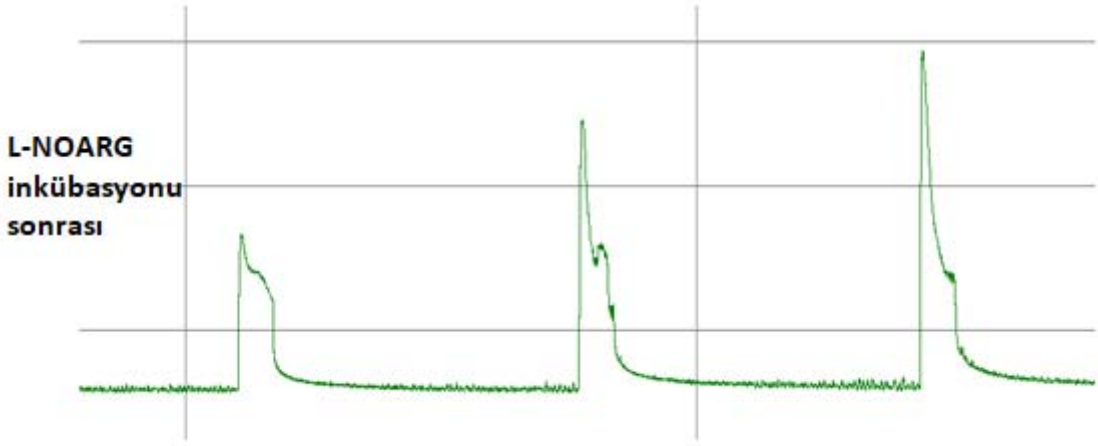


Şekil 12. İzole fare mesanesinde atropin inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

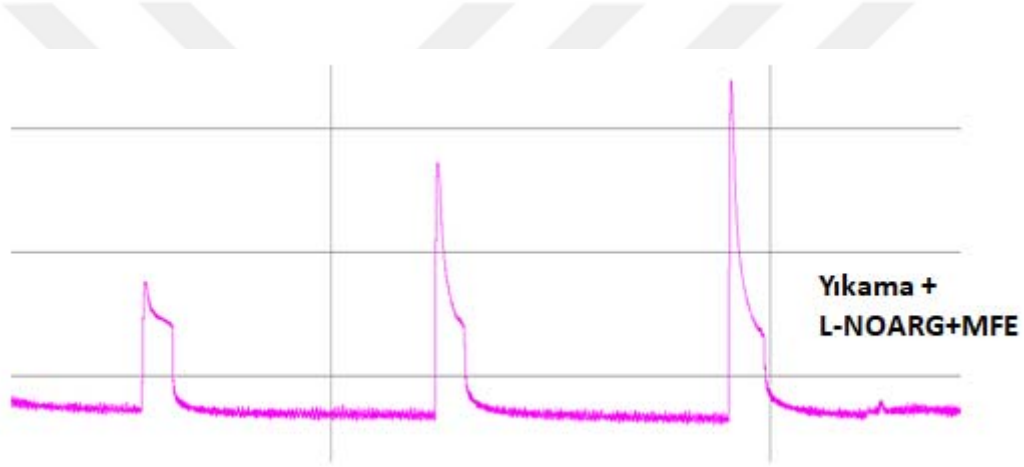
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,05$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # Atropin (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$



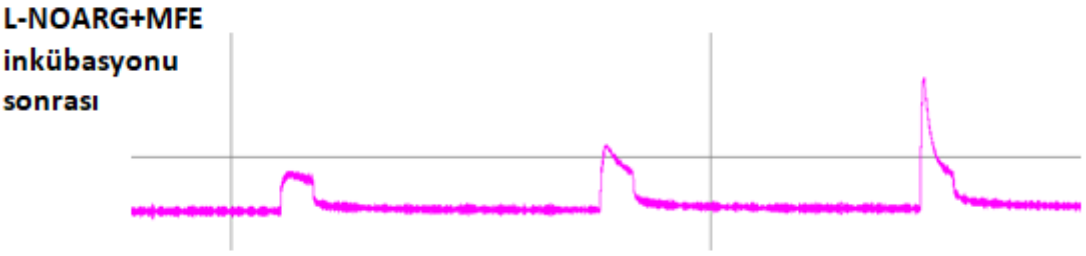
Şekil 13. İzole fare mesane şeridinin 50 µM L-NOARG inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 14. İzole fare mesane şeridinin 50 µM L-NOARG inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 15. İzole fare mesane şeridinin L-NOARG+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 16. İzole fare mesane şeridinin L-NOARG+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)

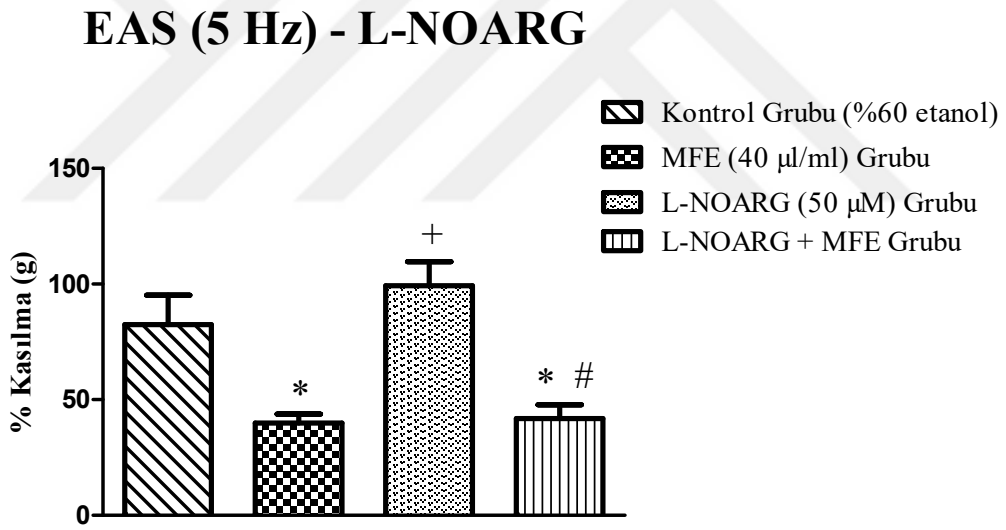
4.2. L-NOARG İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

4.2.1. L-NOARG İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE ve L-NOARG + MFE verilen gruplarda 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 17).

MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) L-NOARG verilen grupta 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 17).

5×10^{-5} M (50 µM) L-NOARG verilen gruba kıyasla; L-NOARG + MFE verilen grupta 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 17).



Şekil 17. İzole fare mesanesinde L-NOARG inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

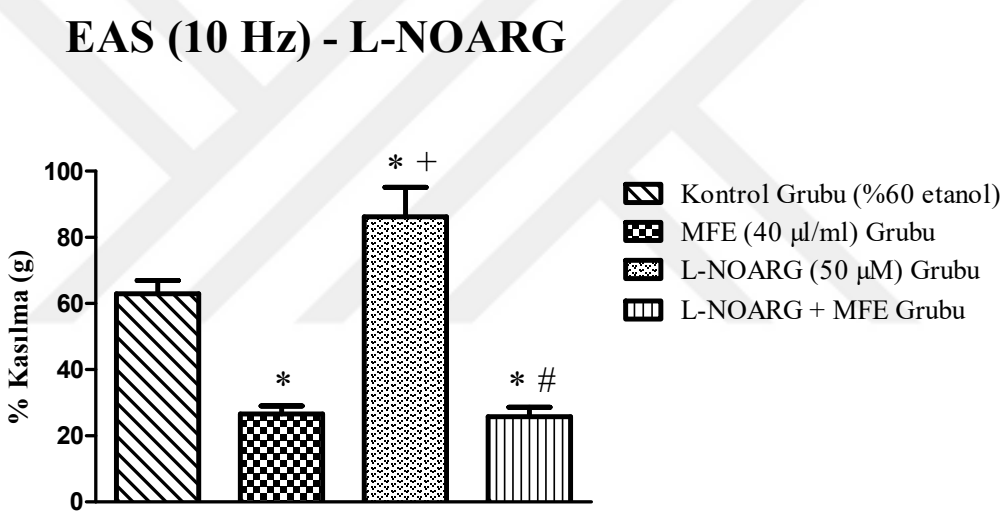
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı P <0,05; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı P < 0,001; # L-NOARG (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı P < 0,01

4.2.2. L-NOARG İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE ve L-NOARG + MFE verilen gruplarda 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görülürken, 5×10^{-5} M (50 µM) L-NOARG verilen grupta ise anlamlı bir artış görüldü (Şekil 18).

MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) L-NOARG verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 18).

5×10^{-5} M (50 µM) L-NOARG verilen gruba kıyasla; L-NOARG + MFE verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 18).



Şekil 18. İzole fare mesanesinde L-NOARG inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

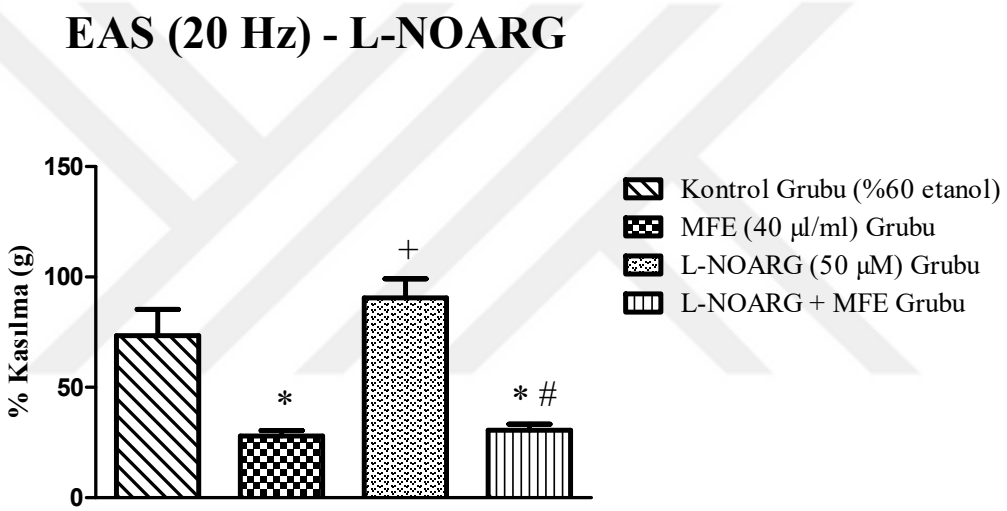
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,01$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # L-NOARG (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$

4.2.3. L-NOARG İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE ve L-NOARG + MFE verilen gruplarda 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 19).

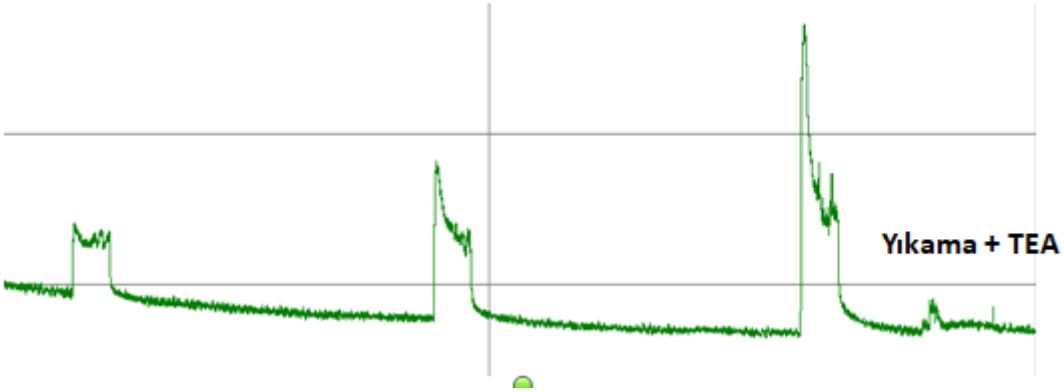
MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) L-NOARG verilen grupta 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 19).

5×10^{-5} M (50 µM) L-NOARG verilen gruba kıyasla; L-NOARG + MFE verilen grupta 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 19).

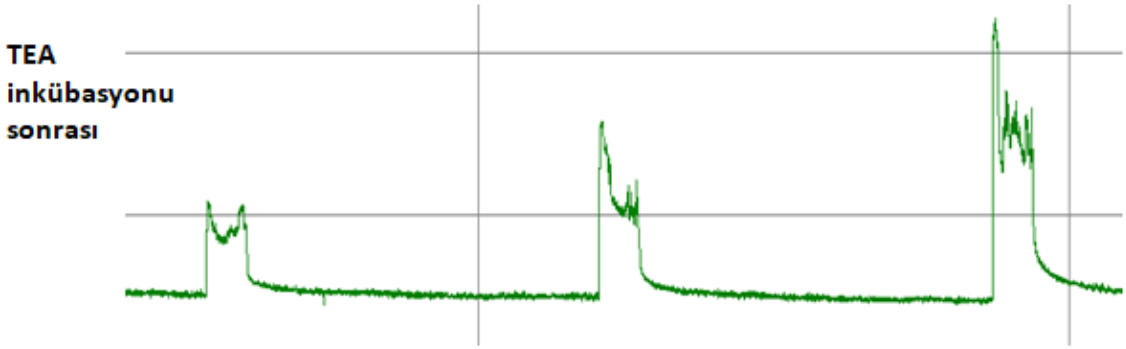


Şekil 19. İzole fare mesanesinde L-NOARG inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

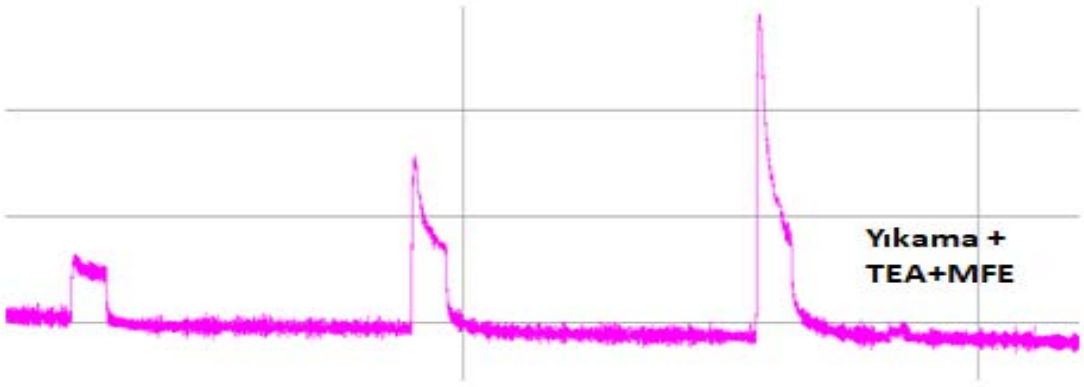
***** Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,01$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # L-NOARG (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,01$



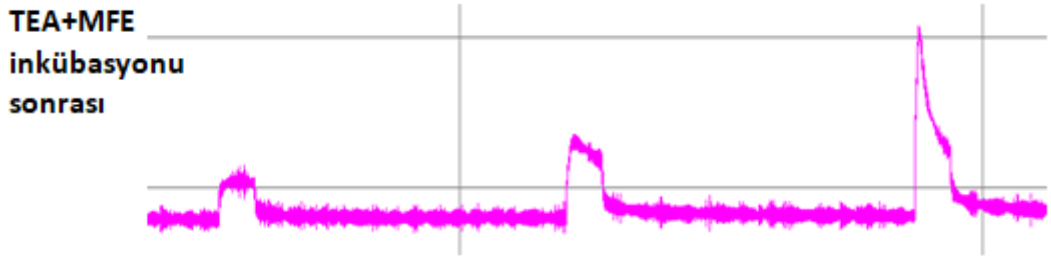
Şekil 20. İzole fare mesane şeridinin 50 µM TEA inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 21. İzole fare mesane şeridinin 50 µM TEA inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 22. İzole fare mesane şeridinin TEA+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 23. İzole fare mesane şeridinin TEA+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)

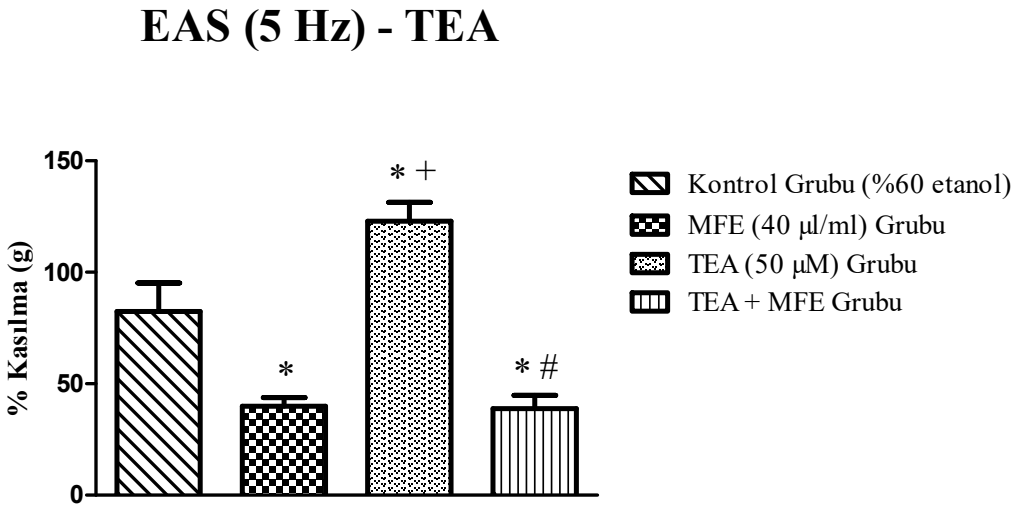
4.3. TEA İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

4.3.1. TEA İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE ve TEA + MFE verilen gruplarda 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görülürken, 5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen grupta ise anlamlı bir artış görüldü (Şekil 24).

MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen grupta 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 24).

5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen gruba kıyasla; TEA + MFE verilen grupta 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 24).



Şekil 24. İzole fare mesanesinde TEA inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

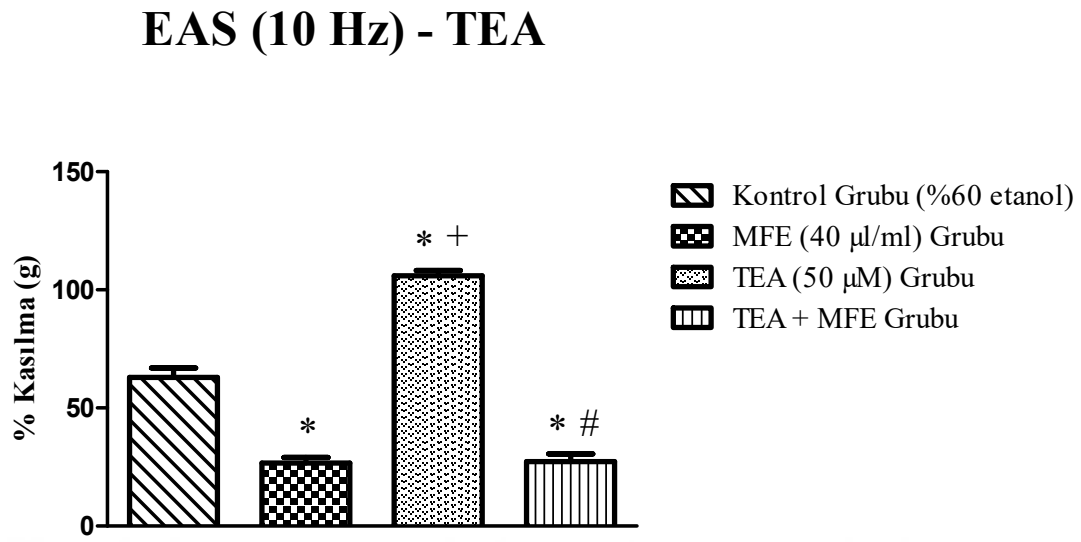
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,05$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # TEA (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$

4.3.2. TEA İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE ve TEA + MFE verilen gruplarda 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görülürken, 5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen grupta ise anlamlı bir artış görüldü (Şekil 25).

MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 25).

5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen gruba kıyasla; TEA + MFE verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 25).



Şekil 25. İzole fare mesanesinde TEA inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

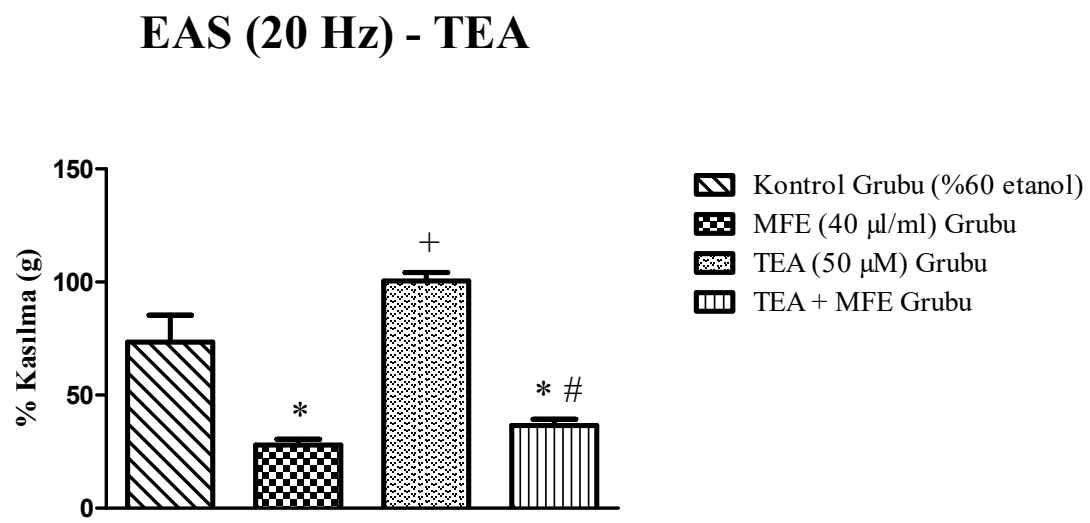
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # TEA (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$

4.3.3. TEA İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE ve TEA + MFE verilen gruplarda 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 26).

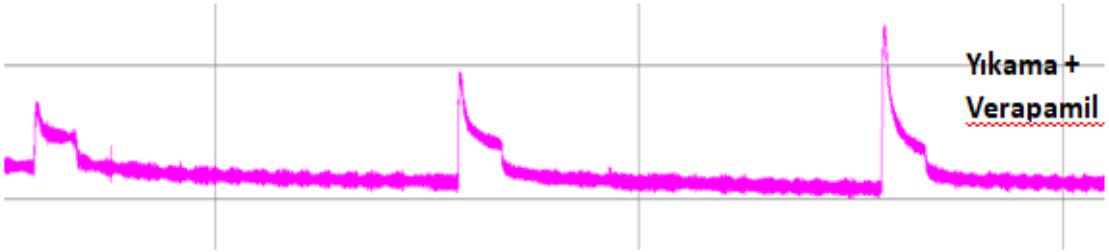
MFE grubuna kıyasla; 5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen grupta 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir artış görüldü (Şekil 26).

5×10^{-5} M (50 µM) TEA verilen gruba kıyasla; TEA + MFE verilen grupta 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 26).

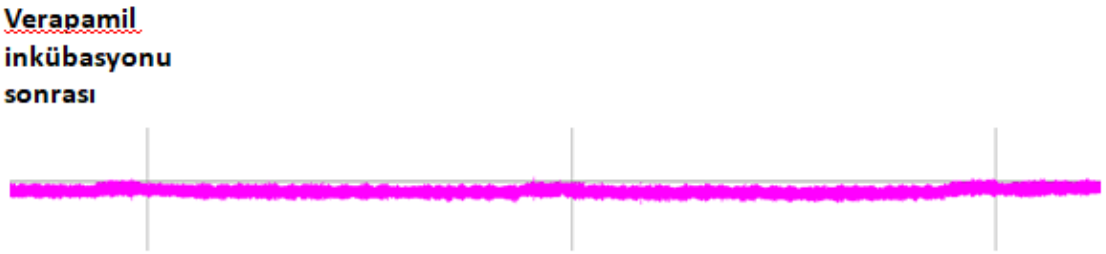


Şekil 26. İzole fare mesanesinde TEA inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

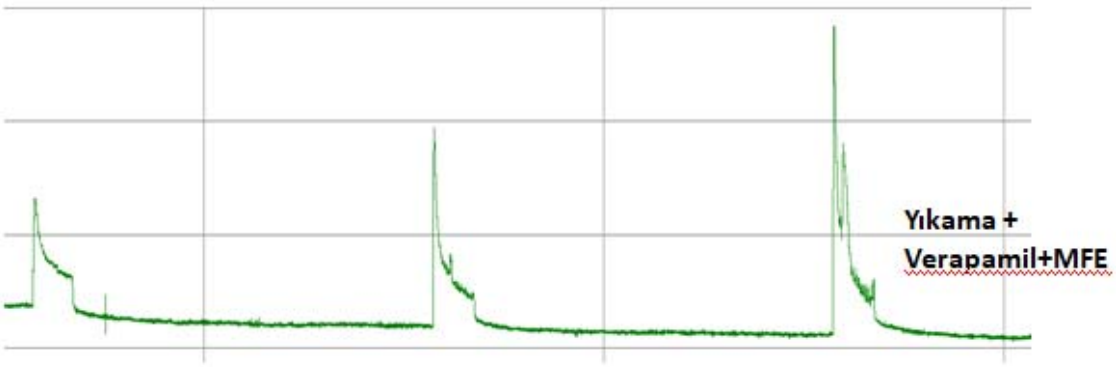
* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,05$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; # TEA (50 µM) verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$



Şekil 27. İzole fare mesane şeridinin 50 µM verapamil inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 28. İzole fare mesane şeridinin 50 µM verapamil inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)



Şekil 29. İzole fare mesane şeridinin verapamil+MFE inkübasyonu öncesi 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)

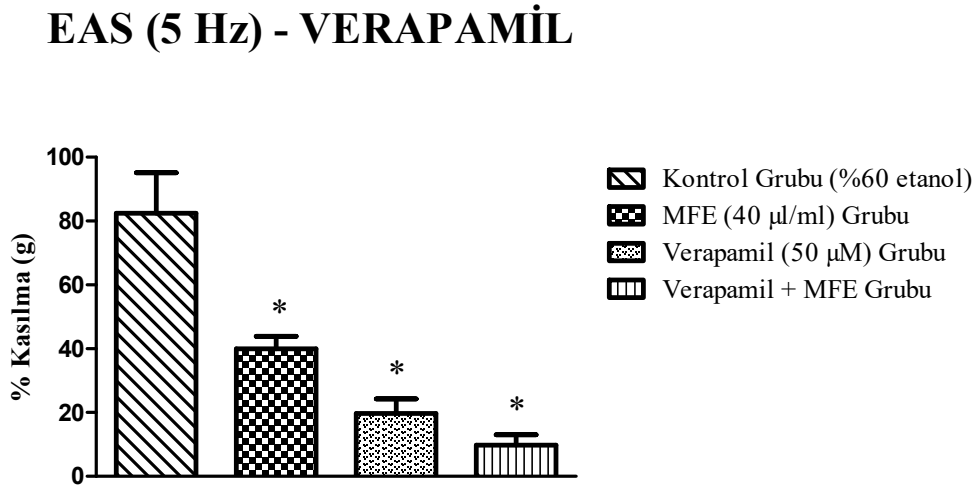


Şekil 30. İzole fare mesane şeridinin verapamil+MFE inkübasyonu sonrası 5-10-20 Hz frekanslarındaki EAS'nuna verdiği kontraktil yanıtlar (n=5-11)

4.4. Verapamil İnkübasyonunun EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

4.4.1. Verapamil İnkübasyonunun 5 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE, 5×10^{-5} M (50 µM) verapamil ve verapamil + MFE verilen gruplarda 5 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 31).



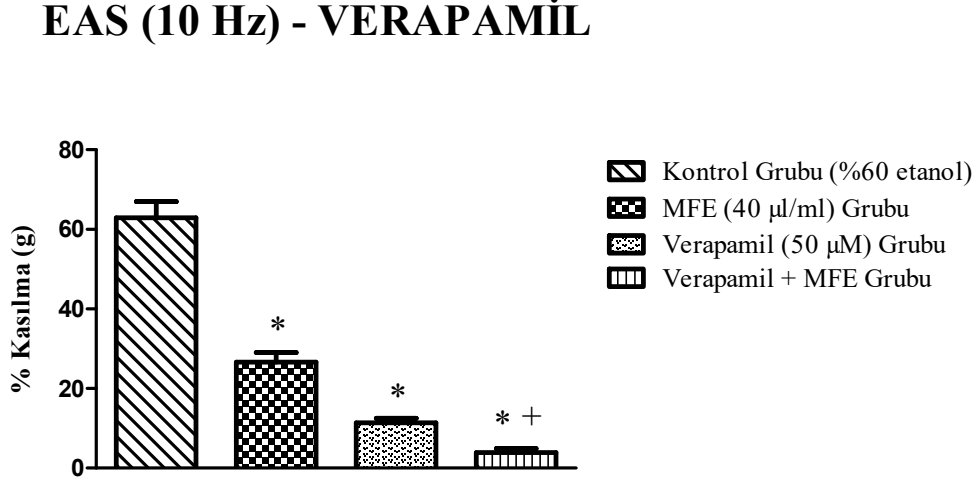
Şekil 31. İzole fare mesanesinde verapamil inkübasyonunun 5 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,01$

4.4.2. Verapamil İnkübasyonunun 10 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE, 5×10^{-5} M (50 µM) verapamil ve verapamil + MFE verilen gruplarda 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 32).

MFE grubuna kıyasla; verapamil + MFE verilen grupta 10 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 32).

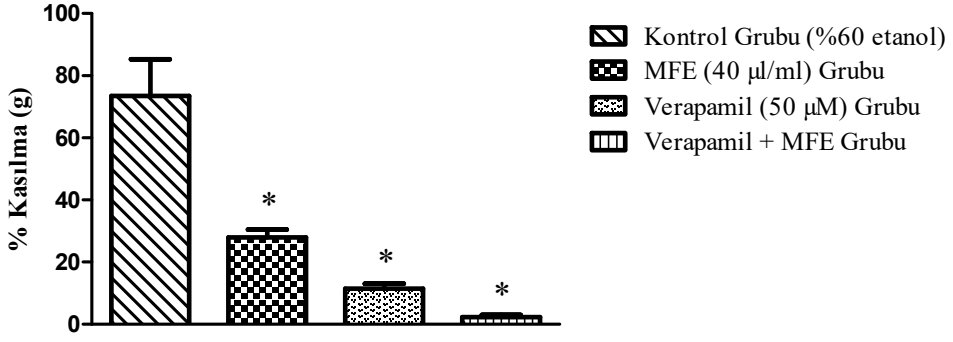


Şekil 32. İzole fare mesanesinde verapamil inkübasyonunun 10 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$; + MFE verilen gruba kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,001$

4.4.3. Verapamil İnkübasyonunun 20 Hz EAS ile Oluşturulan Düz Kas Kontraksiyonlarına Etkisi

Kontrol grubuna kıyasla; MFE, 5×10^{-5} M (50 µM) verapamil ve verapamil + MFE verilen gruplarda 20 Hz EAS ile oluşturulan yanıtta istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma görüldü (Şekil 33).



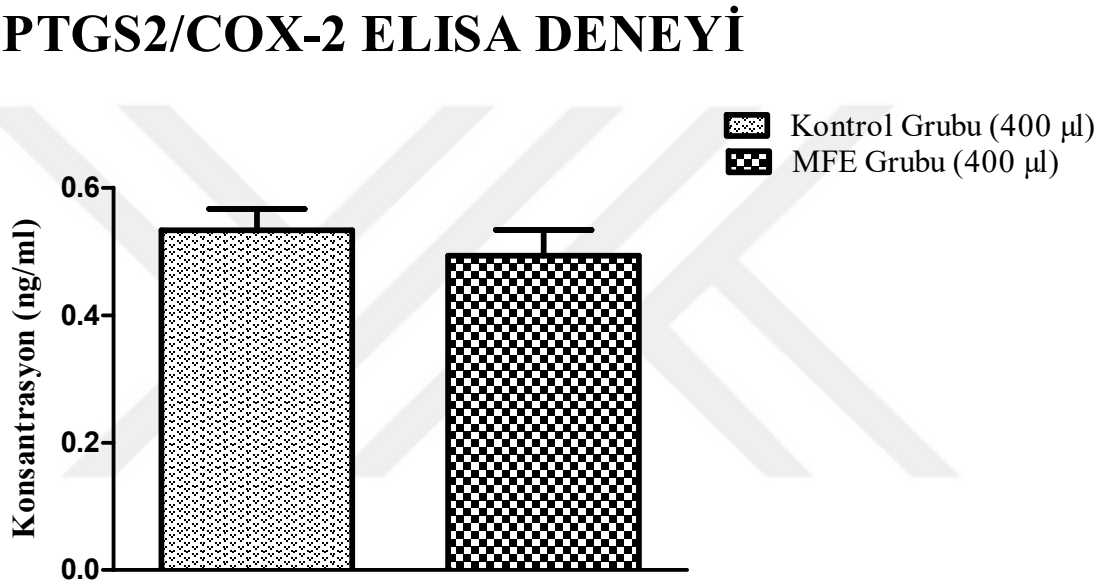
Şekil 33. İzole fare mesanesinde verapamil inkübasyonunun 20 Hz EAS ile oluşturulan düz kas kontraksiyonlarına etkisi (n=5-11)

* Kontrol grubuna kıyasla diğer grupların anlamlılığı $P < 0,01$

4.5. ELISA Deneylerinin Bulguları

4.5.1. Fare PTGS2/COX-2 Elisa Deneyi Bulguları

Kontrol grubuna kıyasla; MFE grubunun COX-2 enzim seviyesi daha düşük çıktı. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi [P = 0,4885; t = 0,7620; df = 4; Mean ± SEM = 0,5333 ± 0,03333 (Kontrol grubu); Mean ± SEM = 0,4933 ± 0,04055 (MFE grubu)], (Şekil 34).

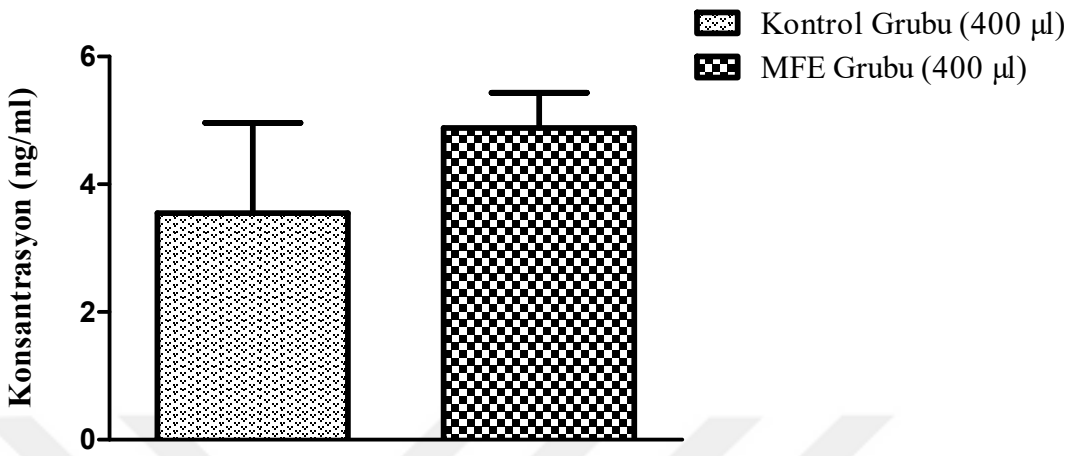


Şekil 34. İzole fare mesane dokularında MFE'nin COX-2 enzim seviyesi üzerindeki etkisi (n=3)

4.5.2. Fare SOD1 Elisa Deneyi Bulguları

Kontrol grubuna kıyasla; MFE grubunun SOD1 enzim seviyesi daha yüksek çıktı. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi [P = 0,4293; t = 0,8784; df = 4; Mean ± SEM = 3,547 ± 1,418 (Kontrol grubu); Mean ± SEM = 4,883 ± 0,5514 (MFE grubu)], (Şekil 35).

SOD1 ELISA DENEYİ



Şekil 35. İzole fare mesane dokularında MFE'nin SOD1 enzim seviyesi üzerindeki etkisi (n=3)

5. TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada, elektriksel alan stimülasyonu (EAS; (5,10,20Hz; 1ms, 40V) ile indüklenen izole fare mesane düz kas kasılma cevaplarında mor fesleğen (MFE; 40 µl/ml)'in muhtemel farmakolojik etkileri ve bu etkilerin altında yatan moleküler mekanizmalar araştırıldı. MFE, EAS ile indüklenen izole fare mesane kontraktil cevaplarında inhibisyon oluşturdu. MFE'nin bu etkilerinde rol oynayan moleküler mekanizmalardan kolinerjik yolak, nitrerjik yolak, K^+ kanalları ve L-tipi Ca^{2+} kanallarının rolleri *in vitro* kalitatif çalışmalarla araştırıldı. Buna ilave olarak, *in vitro* kantitatif çalışmalarda ilgili dokularda MFE'nin antienflamatuvar ve antioksidan etkileri araştırıldı. Bunun için MFE'nin, sırasıyla, siklooksijenaz(COX) ve süperoksit dismutaz(SOD) üzerindeki etkileri analiz edildi.

Atropin EAS ile indüklenen izole fare mesane düz kas kontraktil cevaplarını EAS'nin bütün frekans(5, 10, 20 Hz) aralıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdı. MFE, EAS'nin bütün frekans aralıklarında, kontrol grubundaki kontraktil cevapları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttı. Atropin+MFE kombinasyonunda MFE'nin, atropinin kontraksiyonları potansiyelize edici etkilerini tersine çevirdiği ve atropin grubuna göre kontraktil cevaplarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma oluşturduğu gözlemlendi. Bu deneysel sonuçlar MFE'nin izole fare mesane düz kas kontraksiyonlarındaki inhibitör etkisinde kolinerjik muskarinik reseptörlerin rol oynadığını telkin etmektedir.

Çalışmamızda, ilgili dokularda atropin ile oluşturulan kontraktil cevaplardaki potansiyelizasyonun EAS frekansı arttıkça daha da arttığı gözlemlendi (5 Hz için $P<0,05$; 10 Hz için $P<0,001$; 20 Hz için $P<0,001$). Ayrıca MFE'nin atropin cevaplarını çok belirgin bir şekilde tersine çevirdiği gözlemlendi (Her üç frekansta anlamlılık derecesi $P<0,001$). Bu deneysel sonuçlar, EAS ile indüklenen kasılma cevaplarında, daha yüksek EAS frekanslarında kolinerjik yolağın rolünün daha fazla olduğunu telkin etmektedir. Tong ve arkadaşları (1997) tarafından yapılan bir çalışmanın bulguları bizim bu hipotezimizi desteklemektedir[150]. İlgili çalışmada yazarlar, izole sıçan mesanesinde EAS'ye bağlı kontraktil yanıtlarda kolinerjik yolağın rol oynadığını ve kolinerjik yolak rolünün yüksek frekanslarda arttığını bildirmişlerdir[150].

Iguchi ve arkadaşları (2021), 4 haftalık erkek C57BL/6J farelerin izole mesane şeritlerinde detrusor düz kaslarının kasılma mekanizmasını araştırmışlardır. Fareleri kontrol grubu ve konstipasyon grubu olmak üzere 2 gruba ayırmışlardır. Tyrode solüsyonu içerisindeki mesane şeritlerine EAS (70V, 2-32 Hz) uygulayarak kasılma yanıtlarını değerlendirmişlerdir. Mesane şeritlerini Atropin (1 μM) ile 20 dk inkübe edip EAS'ye verilen kasılma yanıtlarına bakmışlardır. Kontrol grubuna kıyasla konstipasyon modelinde EAS'ye verilen yanıtlar azalmıştır. Yazarlar, EAS ile indüklenen kasılma yanıtlarında muskarinik yolağın rol oynadığını telkin etmişlerdir[151].

EAS ile oluşturulan kontraktil cevaplarda adrenerjik, kolinerjik, pürinerjik yolaklar rol oynar. 5 çeşit muskarinik reseptör bulunmaktadır. Bunlar M1, M2, M3, M4 ve M5'tir. Mesanede en fazla M2 altgrup reseptörler, daha sonra da M3 altgrup reseptörler bulunmaktadır. Her ne kadar M2 reseptörler daha fazla bulunsa da mesane kasılma fonksiyonunda M3 reseptörler daha önem taşımaktadır. Muskarinik reseptörlerin yoğunluğu mesanenin kubbe kısmında en fazla, mesanenin boyun kısmında ise en azdır. Böylece, muskarinik uyarı ile mesane kubbesinin güçlü bir şekilde kasıldığı bildirilmiştir[152,153,154]. M2 ve M4 reseptörler Gi (inhibitör G proteini) proteini yoluyla adenilat siklazı inhibe etmektedirler[155]. Ancak spinal kord hasarı gibi patolojik durumlarda M2 reseptörleri detrusor kas kontraksiyonunun modülasyonuna destek olur, normal sağlıklı mesanede inhibitör yolak işler[156]. M1, M3 ve M5 reseptörleri ise Gq/11 proteinleri ile etkileşmekte ve fosfolipaz C'yi aktive ederek inositol fosfat döngüsünü indüklemekte ve hücre içi kalsiyum dengesini sağlamaktadır[152]. M3 reseptörlerinin uyarılmasıyla hücre içi kalsiyum seviyesi artar ve detrusor kasında kasılmaya neden olur. M2 reseptörlerinin uyarılmasıyla da detrusor kasılması oluşur. Ancak, bu kasılma dolaylı bir mekanizmayla, yani β-adrenoreseptörlerinin uyarılması sonucu siklik AMP (cAMP) aracılı oluşan gevşemenin inhibisyonu yolu ile olmaktadır[157].

Diğer taraftan bu konuda yapılmış olan bazı çalışma sonuçları bizim çalışmaları desteklememektedir. Bunun nedeni; diğer çalışmalarda farklı denek türü kullanılması, bizim çalışmamızdan farklı olarak denekte patolojik durum oluşturulması, deneylerde kullanılan EAS parametrelerindeki farklılıklar gibi faktörler farklı sonuçlara neden olmuş olabilir. Örneğin; M2 reseptörleri normal bir mesanede inhibitör yanıtlara aracılık ederken patolojik durumlarda eksitatör yolaklara indirekt olarak aracılık edebildiği[156]

veya EAS'de kullanılan frekansa bağlı olarak kolinerjik komponentin cevaptaki rolünün farklı olabildiği[150] bilinmektedir. Zarifpour ve arkadaşları (2017); dişi C57 siyah farelerde mesane düz kas kontraksiyonlarını değerlendirmek için EAS kullanmışlardır. İzole mesane şeritlerine 0,1 milisaniye genişliğinde 22 Volt'luk 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hertz'lik artan frekanslarda 30 saniye boyunca elektriksel alan stimülasyonu uygulanmıştır. EAS, Atropin inkübasyonu yapılarak ve Atropin inkübasyonu yapılmadan uygulanmıştır. Her iki grupta benzer cevaplar alınmıştır.[158]. Chakrabarty ve arkadaşları (2019), 12 haftalık genç (normal ve omurilik hasarlı) ve yaşlı farelerin izole mesane şeritlerine (1-2 mm genişliğinde, 4-5 mm uzunluğunda sağlam mukozalı düz kas tabakasına sahip) EAS (EAS; 0.1 ms, 1-40 Hz, her 90 sn'de bir 3 sn'lik elektriksel alan dizisi) uygulayıp α,β-metilen ATP (ABMA, 10 μM) ve Atropin (1 μM) kombinasyonuyla yapılan inkübasyonda mesane şeritlerinin vereceği kasılma yanıtlarını incelemişlerdir. Bu inkübasyonun, mesane detrusor düz kaslarındaki kasılmaları ortadan kaldırdığını gözlemlemişlerdir[159]. Powers ve arkadaşları (2019), 6 haftalık C57BL/6J farelerin izole mesane dokularında detrusor düz kaslarının kasılma yanıtlarını incelemişlerdir. Farelere 20 hafta boyunca standart diyet ya da yüksek yağlı diyet uygulayarak 2 grup oluşturmuşlardır. EAS (EAS; 30 V, 0.3 ms, 0.5-32 Hz) 2 dk'lık aralıklarla 10 sn boyunca uygulanmıştır. EAS aracılı kasılma yanıtını Atropin (10^{-5} M) inkübasyonu yaparak değerlendirmişlerdir. Kontrol grubu mesane dokularının, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin mesane dokularına kıyasla daha fazla kolinerjik inhibisyon yaptığını gözlemlemişlerdir[160]. Bu çalışmalar mesanedeki kolinerjik yolağın mesane fonksiyonlarındaki rolünün çalışmalarda kullanılan denek türüne, denekteki patolojik duruma, çalışmalarda kullanılan EAS parametrelerine göre değişebildiğini telkin etmektedir.

Çalışmamızda, ilgili dokularda atropinin EAS kontraktil cevaplarını potansiyelize etmesinin nedeni, atropinin inhibitör olan M2, M4 reseptörlerini bloke etmesinden kaynaklanmış olabilir. Burada M2 reseptörleri mesanede bulunan en yüksek yoğunluktaki reseptörler olduğu ve gevşeme cevaplarına aracılık ettiği için atropin ile bu reseptörlerin bloklanması ile atropine bağlı kontraktil yanıtlarda potansiyelizasyon beklenir. Çalışmamızda MFE'nin atropin cevaplarını tersine döndürmesinde mesanede mevcut bulunan ve inhibitör cevaplara aracılık eden muskarinik reseptörleri (M2, M4) aktive ederek kontraksiyonlar üzerindeki inhibitör etkiyi meydana getirmiş olabilir.

Veya MFE'nin muskarinik reseptörler ile etkileşerek kontraksiyonları inhibe etmesinde indirekt bir mekanizma da söz konusu olabilir. Yani muskarinik reseptör aracılı düz kas gevşemesi oluşturan başka bir mekanizmayı MFE aktive etmiş olabilir. Ancak bunun aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda EAS ile indüklenen izole fare mesane düz kas kontraksiyonlarını MFE istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe etti. NO sentaz inhibitörü olan L-NOARG (50 μM) ise, EAS kasılmalarını potansiyelize etti. Ayrıca MFE+L-NOARG kombinasyonunda ise MFE'nin L-NOARG etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi. Bu deneysel bulgular MFE'nin EAS kontraksiyonlarını inhibe edici etkisinde nitrerjik yolağın rol oynadığını telkin etmektedir. Blanco-Rivero ve arkadaşları (2021), 2 mm uzunluğundaki izole sıçan süperior mezenterik arter halkalarını miyografa yerleştirip EAS (EAS; 1 dk'lık aralıklarla 30 sn boyunca 1-16 Hz, 0.3 ms, 20 V) uygulayarak kasılma yanıtlarını analiz etmişlerdir. Kasılma yanıtlarını NO sentaz inhibitörü olan L-NAME (100 μM) ile 30 dk inkübasyon yaparak değerlendirmişlerdir. Sonuçta, L-NAME inkübasyonunun kasılma yanıtlarını arttırdığını gözlemlemişlerdir[161]. Cros-Brunso ve arkadaşları (2021), erkek Wistar sıçanlarda hipertiroidizm modeli oluşturmuşlardır. Hayvanlar 2 gruba ayrılmıştır: Kontrol grubu ve hipertiroidizm grubu. Sıçanların izole süperior mezenterik arterlerine EAS (EAS; 0.3 ms, 1-16 Hz, 1 dk'lık aralıklarla 30 sn boyunca 200 miliAmperlik elektriksel alan) uygulayarak kasılma yanıtlarını incelemişlerdir. Dokuları, L-NAME (100 μM) ile 30 dk inkübe edip EAS'ye verilen kasılma yanıtlarını değerlendirmişlerdir. Sonuçta, L-NAME inkübasyonunun her iki deney grubunda da EAS'ye verilen kasılma yanıtlarını önemli ölçüde arttırdığını gözlemlemişlerdir[162]. Britto-Junior ve arkadaşları (2020), 47 farklı plasenta/hastadan alınan insan göbek kordonu örnekleri üzerinde bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu örneklerden umblikal arter ve umblikal venleri diseke etmişlerdir. Çıkartılan bu dokulara EAS (EAS; 8-16 Hz, 0.3 ms, 0.1 ms'lik aralıklarla 30 sn boyunca 60 V) uygulayarak kasılma yanıtlarını değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, L-NAME inkübasyonunun insan umblikal arter ve venlerinin her ikisinde de EAS'ye verilen kasılma yanıtlarını önemli ölçüde arttırdığını gözlemlemişlerdir[163]. Zhou ve arkadaşları (2018), erkek Sprague-Dawley sıçanlarda diyare baskın irritabl barsak sendromu modeli oluşturmuşlardır. Sıçanlar, model grup ve kontrol grubu olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. İzole sıçan kolon dokularına EAS (EAS;

2-30 Hz, 0.5 ms, 10 sn'lik aralıklarla 40 V) uygulayarak kasılma yanıtlarını değerlendirmişlerdir. EAS uygulamasından önce dokuları L-NAME (10 μM) ile inkübe etmişlerdir. Sonuçta, L-NAME inkübasyonuna verilen kasılma yanıtları kontrol grubunda model gruba kıyasla önemli bir fark göstermemiştir[164].

Yapılmış olan birçok çalışmada, nitrerjik sistem inhibisyonunun EAS kasılma cevaplarını arttırdığı bulgusu, bizim L-NOARG varlığında EAS kasılmalarının potansiyalize olduğu şeklindeki deneysel verilerimizi desteklemektedir. Burada MFE'nin L-NOARG etkisini tersine çevirmesi MFE'nin EAS ile indüklenen izole fare mesane kontraktil cevaplarını inhibe edici etkisinde nitrerjik sistem aktivasyonunun rolünü telkin etmektedir.

Çalışmamızda, MFE'nin EAS ile indüklenen izole fare mesane düz kas kontraksiyonlarını inhibe edici etkisinde potasyum kanallarının rolünü araştırmak için potasyum kanallarının nonselektif blokörü olan tetraetilamonyum (TEA) [165-168], 50 μM konsantrasyonda kullanıldı. TEA, EAS kasılmalarını kontrole göre, anlamlı bir şekilde arttırdı. TEA+MFE kombinasyonunda ise MFE, TEA etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe etti. Bu sonuçlar MFE'nin ilgili dokulardaki EAS ile indüklenen kontraktil cevaplar üzerindeki inhibitör etkisinde potasyum kanal aktivasyonunun rol oynadığını telkin etmektedir. Tsai ve arkadaşları (2017) tarafından yapılmış olan bir çalışmada[169], insanda safra kesesi taşı (akut kolesistit hariç) ya da hepatom nedeniyle kolesistektomi yapılan hastalardan safra kesesi örneklerini almışlar ve her hastayı bilgilendirerek rızalarını almışlardır. 39 hastadan (Erkek-kadın oranı 22:17; yaş aralığı 28-80; medyan yaş 58; ortalama yaş 56.8 ± 1.9) insan safra kesesi örnekleri alınmıştır. Resveratrolün safra kesesi üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla insan safra kesesi şeritleri (3 mm genişlik, 10 mm uzunluk) kullanılmıştır. Potasyum kanallarının resveratrol kaynaklı insan safra kesesi gevşemesindeki rolünü araştırmak için 1 mM TEA, 100 μM resveratrol eklenmesinden 30 dk önce organ banyosuna ilave edilmiştir. 1 mM TEA inkübasyonunun insan safra kesesinde 100 μM resveratrol tarafından indüklenen gevşemeyi engelleyemediğini gözlemlemişlerdir[169]. Bizim çalışmamızda TEA'nın EAS kontraksiyonlarını potansiyelize etmesi ve MFE'nin TEA etkisini tersine çevirmesi kullandığımız izole fare mesane dokusundaki potasyum kanallarının yukarıda belirtilen çalışmadaki insan safra kesesi dokusuna kıyasla inhibitör yolaktaki rolünün daha fazla olduğunu telkin etmektedir. Bizim çalışma sonuçlarımızın yukarda belirtilen

çalışmanın sonuçlarından farklı çıkmasının nedeni denek türü, kullanılan doku çeşidi ve/veya deneysel koşulların farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda MFE'nin EAS ile indüklenen izole fare mesane düz kas kontraksiyonlarını inhibe edici etkisinde L-tipi kalsiyum kanallarının rolünü araştırmak için L-tipi kalsiyum kanal blokörü verapamil (50 µM) kullanıldı. Verapamil, EAS ile indüklenen izole fare mesane striplerindeki kasılma cevaplarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmaya neden oldu. Verapamil+MFE kombinasyonunda ise MFE'nin, verapamilin inhibitör etkisini potansiyelize ettiği gözlemlendi. Bu deneysel sonuç MFE'nin ilgili dokulardaki EAS ile indüklenen kontraktil cevaplardaki inhibitör etkisinde kalsiyum kanal inhibisyonunun rolünü telkin etmektedir. Han ve arkadaşlarının (2018) yapmış olduğu bir çalışmada[170], streptozosin (STZ) (tek doz; 65 mg/kg) enjeksiyonu ile Sprague-Dawley sıçanlarda (erkek) diyabet modeli oluşturulduktan sonra mesane izole edilerek iki eşit parçaya (2 mm×7 mm) bölünmüştür. Mesane şeritlerine EAS (EAS; 2-10 Hz, 1 ms, 10 sn boyunca 40 V) uygulayarak kasılma yanıtlarını incelemişlerdir. Verapamil (1 µM) inkübasyonu EAS uygulamasına verilen kasılma yanıtlarını, hem normal hem de diyabetik sıçan mesane düz kaslarında azaltmıştır. Kasılmalardaki azalmanın büyüklüğü, normal sıçan kaslarında diyabetik sıçan kaslarından daha fazla olmuştur[170]. İlgili çalışma sonuçları bizim hipotezimizi destekler niteliktedir.

Yaptığımız yukardaki çalışmalara ilave olarak, izole fare mesane dokularında MFE'nin antienflamatuvar ve antioksidan etkilerini araştırmak için *in vitro* kantitatif yöntem olan ELISA testini kullandık.

MFE'nin antienflamatuvar etkilerini araştırmak için yaptığımız deneysel çalışmalarda, MFE'nin kullanılan konsantrasyonda (40 µl/ml) siklooksijenaz (COX) enzim seviyesini kontrol grubuna göre azalttığını, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gözlemledik. Bilindiği üzere, COX enzimleri anjiojenezis, enflamasyon ve karsinojenezisin önemli düzenleyicileridirler[171]. Siklooksijenazın; COX-1, COX-2 ve COX-3 şeklinde üç izoformu bulunmaktadır[172]. COX-1, çoğu dokuda yapısal olarak eksprese edilir[172,173]. COX-3, COX-1'in bir varyantıdır[174,175]. COX-2; kolorektal, böbrek, üreme organları ve mide gibi normal dokularda[176,177] bulunur ve indüklenebilir izoformdur[178]. Karsinojeneziste - Adenokarsinoma, skuamoz hücreli karsinoma, kolanjiokarsinoma, endometriyal karsinoma ve hepatosellüler

karsinoma[180,181]'da-, COX-2 seviyesinde artış olduğu rapor edilmiştir[178,179]. Güez ve arkadaşları (2017), *O. basilicum* etanol ekstresinin insan lökosit hücre kültüründeki antioksidan ve antienflamatuvar aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, *O. basilicum* etanol ekstresinin pozitif kontrol İbuprofen kadar COX-2 aktivitesini azaltamadığını ancak negatif kontrol grubuna kıyasla enzim aktivitesini doza bağımlı olarak azaltabildiğini gözlemlemişlerdir[182]. Ajayi ve arkadaşları (2017) ise, karagenle sıçanların pençesinde enflamasyon oluşturup *O. gratissimum* metanol ekstresinin antienflamatuvar aktivitesine bakmışlardır. Sonuç olarak, ekstrenin sıçan pençe ödemini baskılayarak inhibitör etki gösterdiğini saptamışlardır[183]. Hemalatha ve arkadaşları (2011) farelerde miyelosupresyon modeli oluşturarak *O. sanctum* metanol ekstresinin immunomodülatör aktivitesini araştırmışlar ve *ilgili ekstrenin* IL-2, IFN-γ, TNF-α seviyelerinde önemli bir artış yaparken IL-1β'yı azalttığını gözlemlemişlerdir[184]. Yukarıda belirtilen bilimsel çalışmalar fesleğenin antienflamatuvar etkinliğini göstermektedir. Bizim çalışma sonuçlarında MFE'nin enflamasyonu azaltıcı etkisi görülmekle beraber bu etki istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bunun nedeni kullandığımız MFE dozunun (40 µl/ml) düşük olmasından ve/veya inkübasyon süresinin kısa olmasından (40 dk) kaynaklanmış olabilir.

İzole fare mesane dokularında MFE'nin antioksidan etkilerini araştırmak için yaptığımız deneysel çalışmalarda ise, MFE'nin süperoksitdismutaz (SOD) enzim seviyelerinde bariz bir artışa neden olmakla birlikte bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gözlemledik. SOD enzimleri vücutta antioksidan etkiye sahip metalloenzimler olup vücutta reaktif oksijen türleri aracılı hasarlara karşı savunmada ön cepheyi oluştururlar[185]. SOD enzimi, süperoksit anyon radikalinin hidrojen peroksite (H_2O_2) indirgenmesini katalize eder[186]. SOD enziminin 3 farklı izoformu bulunmaktadır. Bunlar; Cu-Zn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2) ve Cu-SOD (SOD3)'tür[187]. SOD1; sitoplazmada, nükleer bölmelerde ve lizozomlarda bulunmaktadır. SOD1 gen mutasyonlarının Down sendromu ve Amniyotrofik Lateral Skleroz (ALS)'un patofizyolojisindeki rolleri telkin edilmiştir[188]. SOD2, aerobik hücrelerin mitokondrisinde bulunmakta olup SOD2 gen mutasyonları ailesel motor nöron hastalıkları, idiyopatik kardiyomiyopati ve erken yaşlanma ile ilişkilendirilmektedir[188,189]. SOD3; plazmada, lenfte ve sinoviyal sıvıda bulunmaktadır. Vasküler düz kas hücrelerinin büyük oranda SOD3 sentezlediği gösterilmiştir[190].

Aterosklerozis, koroner arter hastalıkları[191], hipertansiyon[192], diyabet[193] ve iskemi / reperfüzyon[194] patogenezi SOD3 seviyelerindeki bozukluklar ile ilişkilendirilmektedir. Farelerde SOD3 enzimi; hipokampus, striatum, suprakiazmatik çekirdek, glial hücreler, beyin-omurilik sıvısında bulunur. Bu nedenle SOD3 ekspresyonundaki problemler; öğrenme ve bellek, serebral iskemi, travmatik beyin hasarı gibi nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmektedir. Ayrıca SOD3 gen mutasyonları, romatoid artrit, akut akciğer hasarı ve enflamasyonun patogenezinde rol oynar[190]. Gülçin ve arkadaşları (2007) tarafından yapılmış olan bir çalışmada[195], fesleğenin antioksidan etkileri incelenmiştir. Çalışmada fesleğenin su ve etanol ekstrelerinin konsantrasyona bağlı antioksidan aktivitelerinin olduğu ortaya konmuştur[195]. Hemalatha ve arkadaşları (2011)'nın yapmış oldukları bir çalışmada ise, miyelosupresyon oluşturulan farelerde, *O. sanctum* metanol ekstresinin askorbik asite kıyasla daha ılımlı bir serbest radikal yakalayıcı aktivite gösterdiği rapor edilmiştir[184]. Li ve arkadaşları (2017), fesleğen uçucu yağının distillenmiş fraksiyonu (Df), kalıntı fraksiyonu (Kf), fesleğen ham uçucu yağı (Uy), metil öjenol (Mö) ve östragol (Ö) bileşenlerinin antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda serbest radikal yakalayıcı aktivite oranları kıyaslandığında en yüksek oranın Kf'de, en düşük oranın ise Ö'de olduğu saptanmıştır[196]. Yukarıda belirtilen bilimsel çalışmalar fesleğenin antioksidan etkinlikte olduğunu göstermektedir. Bizim çalışma sonuçlarında MFE'nin antioksidan etkisi görülmekle beraber bu etki istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Bunun nedeni kullandığımız MFE dozunun (40 µl/ml) düşük olmasından ve/veya inkübasyon süresinin kısa olmasından (40 dk) kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak; çalışmamızdaki deneysel bulgular, izole fare mesane striplerinde EAS ile indüklenen kontraktil cevaplar üzerinde MFE'nin inhibitör etki oluşturduğu ve bu inhibitör etkide, kolinerjik yolak, nitrerjik yolak, potasyum kanal aktivasyonu ve kalsiyum kanal inhibisyonunun rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca deneysel sonuçlar MFE'nin uygulanan konsantrasyonunda (40 µl/ml) antienflamatuvar ve antioksidan etki göstermediğini telkin etmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İn vitro kalitatif deneysel bulgularda, EAS ile 5,10 ve 20 Hz frekanslarında indüklenen izole fare mesane strip kasılmalarının tamamı MFE tarafından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe edildi. Kolinerjik muskarinik reseptörlerin nonselektif kompetetif antagonisti olan atropin ise EAS kasılmalarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden oldu. MFE+Atropin kombinasyonunda ise MFE'nin atropin etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi. Benzer şekilde, NO sentaz inhibitörü olan L-NOARG, EAS kasılmalarını potansiyelize etti. MFE+L-NOARG kombinasyonunda ise MFE'nin L-NOARG etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi. Buna ilave olarak potasyum kanallarının nonselektif blokörü olan tetraetilamonyum (TEA) EAS kasılmalarını kontrole göre, anlamlı bir şekilde arttırdı. TEA+MFE ise, MFE'nin TEA etkisini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlemlendi. Diğer taraftan L-tipi kalsiyum kanal blokörü olan verapamil, EAS ile indüklenen izole fare mesane striplerindeki kasılma cevaplarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmaya neden oldu. Verapamil+MFE kombinasyonu ise MFE'nin verapamilin inhibitör etkisini potansiyelize ettiği gözlemlendi.

İn vitro kantitatif ELISA deney bulgularında MFE'nin antienflamatuvar etkilerini araştırmak için yapılan deneysel çalışmalarda, MFE(40 µl/ml)'nin siklooksijenaz (COX) enzim seviyesini kontrol grubuna göre azalttığı, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi. MFE'nin antioksidan etkisinin araştırıldığı deneylerde ise, MFE'nin superoksitdismutaz (SOD) enzim seviyelerinde bariz bir artışa neden olmakla birlikte bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi.

Sonuç olarak; *in vitro* kalitatif deneysel bulgular, MFE'nin EAS ile indüklenen kontraktil cevaplar üzerinde inhibitör etki oluşturduğu ve bu inhibitör etkide, kolinerjik yolak, nitrerjik yolak, potasyum kanal aktivasyonu ve kalsiyum kanal inhibisyonunun rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca *in vitro* kantitatif deneysel bulgular, MFE'nin uygulanan konsantrasyonda (40 µl/ml) antienflamatuvar ve antioksidan etki göstermediğini telkin etmektedir.

Çalışmamızda MFE'nin izole fare mesane düz kaslarında EAS ile indüklenen kontraktil cevaplardaki inhibitör etkisinde kolinerjik yolağın rol oynadığını tespit ettik. Ancak kolinerjik yolakta rol oynayan muskarinik reseptör alttipini belirlemedik. İleriki çalışmalarda bunu aydınlatmaya yönelik deneysel çalışmalar yapmayı düşünmekteyiz.

Fesleğenin antienflamatuvar ve antioksidan etkisini deneysel çalışmalarımızda kullandığımız konsantrasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde gözlemleyemedik. MFE'nin daha yüksek konsantrasyonları ve/veya daha uzun inkübasyon süreleri kullanılması durumunda MFE' nin antienflamatuvar ve antioksidan etkilerine yönelik istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz. Bütçe ve zaman yetersizliğinden dolayı belirtilen ek deneyler yapılamamıştır. Daha ileri çalışmalarda MFE'nin daha yüksek konsantrasyonlarını ve farklı inkübasyon sürelerini çalışmayı düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. **Vickers A, Zollman C.** ABC of complementary medicine Herbal medicine. *BMJ*, **1999**; Volume 319, Page 1050.

2. **Pandey AK, Singh P, Tripathi NN.** Chemistry and bioactivities of essential oils of some Ocimum species: an overview. *Asian Pac J Trop Biomed*, **2014**; 4:682-694.

3. **Singh P, Kalunke RM, Giri AP.** Towards comprehension of complex chemical evolution and diversification of ter- pene and phenylpropanoid pathways in Ocimum species. *RSC Adv*, **2015**; 5:106886-106904.

4. **Gurav TP, Dholakia BB, Giri AP.** A glance at the chemodiversity of Ocimum species: Trends, implications, and strategies for the quality and yield improvement of essential oil. *Phytochem Rev.*, **2022**; 21:879-913.

5. **Ali HM, Nguta JM, Mapenay IO, Musila FM, Omambia VM, Matara DN.** Ethnopharmacological uses, biological activities, chemistry and toxicological aspects of Ocimum americanum var. americanum (Lamiaceae). *J Phytopharmacol.*, **2021**; 10:56-60.

6. **Purushothaman B, Prasannasrinivasan R, Suganthi P, Ranganathan B, Gimbun J, Shanmugam K.** A comprehensive review on Ocimum basilicum. *J Nat Remedies*, **2018**; 18:71-85.

7. **Santos ED, Leitao MM, Ito CN, Silva-Filho SE, Arena AC, de Souza Silva-Comar FM, Cuman RK, Oliveira RJ, Formagio AS, Kassuya CA.** Analgesic and anti-inflammatory articular effects of essential oil and camphor isolated from Ocimum kilimandscharicum Gurke leaves. *J Ethnopharmacol.*, **2021**; 269:113697.

8. **Singh D, Chaudhuri PK.** A review on phytochemical and pharmacological properties of Holy basil (Ocimum sanctum L.). *Ind Crops Prod.*, **2018**; 118:367-382.

9. **Singh P, Jayaramaiah RH, Agawane SB, Vannuruswamy G, Korwar AM, Anand A, Dhaygude VS, Shaikh ML, Joshi RS, Boppana R, Kulkarni MJ, Thulasiram HV, Giri AP.** Potential dual role of eugenol in inhibiting advanced glycation end products in diabetes: proteomic and mechanistic insights. *Sci Rep.*, **2016**; 6:1-13.

10. **Li QX, Chang CL.** Basil (Ocimum basilicum L.) oils. In: Preedy VR (ed) Essential oils in food preservation, flavor and safety. *Academic Press*, **2016**, Cambridge, MA.

11. **Lee SW, Seo JM, Lee MK, Chun JH, Antonisamy P, Arasu MV, Suzuki T, Al-Dhabi NA, Kim SJ.** Infuence of diferent LED lamps on the production of phenolic compounds in common and Tartary buckwheat sprouts. *Ind Crops Prod.*, **2014**; 54:320-326.

12. **Gang DR, Wang J, Dudareva N, Nam KH, Simon JE, Lewinsohn E, Pichersky E.** An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant Physiol.*, **2001**; 125:539-555.

13. **Kiferle C, Lucchesini M, Mensuali-Sodi A, Maggini R, Rafaelli A, Pardossi A.** Rosmarinic acid content in basil plants grown in vitro and in hydroponics. *Cent Eur J Biol.*, **2011**; 6:946-957.

14. **Allan AC, Hellens RP, Laing WA.** MYB transcription factors that colour our fruit. *Trends Plant Sci.*, **2008**; 13:99-102.

15. **Flanigan PM, Niemeyer ED.** Efect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition and antioxidant properties in purple basil (Ocimum basilicum L.). *Food Chem.*, **2014**; 164:518-526.

16. **Bertoli A, Lucchesini M, Mensuali-Sodi A, Leonardi M, Doveri S, Magnabosco A, Pistelli L.** Aroma characterisation and UV elicitation of purple basil from diferent plant tissue cultures. *Food Chem.*, **2013**; 141:776-787.

17. **La Camera S, Gouzerh G, Dhondt S, Hofmann L, Fritig B, Legrand M, Heitz T.** Metabolic reprogramming in plant innate immunity: the contributions of phenylpropanoid and oxylipin pathways. *Immunol Rev.*, **2004**; 198:267-284.

18. **Pereira DM, Valentao P, Pereira JA, Andrade PB.** Phenolics: from chemistry to biology. *MDPI*, **2009**; 2202-2211.

19. **Mastaneh M, Ahamd M, Taher N, Mehrdad H.** Antioxidant efect of Purple basil (Lamiaceae) Phenolics. *Orient J Chem.*, **2014**; 30:1965-1969.

20. **Lee J, Scagel CF.** Chicoric acid found in basil (Ocimum basilicum L.) leaves. *Food Chem.*, **2009**; 115:650-656.

21. **Zheng W, Wang SY.** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem.*, **2001**; 49:5165-5170.

22. **Javanmardi J, Khalighi A, Kashi A, Bais H, Vivanco J.** Chemical characterization of basil (Ocimum basilicum L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *J Agric Food Chem.*, **2002**; 50:5878-5883.

23. **Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H.** Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem.*, **2005**; 53:7749-7759.

24. **Le Claire E, Schwaiger S, Banaigs B, Stuppner H, Gafner F.** Distribution of a new rosmarinic acid derivative in Eryngium alpinum L. and other Apiaceae. *J Agric Food Chem.*, **2005**; 53:4367-4372.

25. **Park SU, Uddin R, Xu H, Kim YK, Lee SY.** Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. *Afr J Biotechnol.*, **2008**; 7(25):4959-4965.

26. **Petersen M, Abdullah Y, Benner J, Eberle D, Gehlen K, Hücherig S, Janiak V, Kim KH, Sander M, Weitzel C.** Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry*, **2009**; 70:1663-1679.

27. **Valiakos E, Marselos M, Sakellaridis N, Constantinidis T, Skaltsa H.** Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the "antidotes" in Nikolaos Myrepsos' Dynameron. *J. Ethnopharmacol.*, **2015**; 163:68-82.

28. **Gurib-Fakim A.** Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.*, **2006**; 27:1-93.

29. **Cowan MM.** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**; 12:564-582.

30. **Lardos A.** The botanical material medica of the Iatrosophikon-a collection of prescriptions from a monastery in Cyprus. *J. Ethnopharmacol.*, **2006**; 104:387-406.

31. **Sakkas H, Papadopoulou C.** Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils. *J. Microbiol. Biotechnol.* , **2017**; 27(3), 429-438.

32. **Edris A.** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother. Res.*, **2007**; 21: 308-323.

33. **Freires IA, Denny C, Benso B, de Alencar SM, Rosalen PL.** Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. *Molecules*, **2015**; 20: 7329-7358.

34. **Rota C, Carraminana JJ, Burillo J, Herrera A.** In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *J. Food Protect.*, **2004**; 67: 1252-1256.

35. **Suhr KI, Nielsen PV.** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *J. Appl. Microbiol.*, **2003**; 94: 665-674.

36. **Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S.** In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complement. Altern. Med.*, **2006**; 6: 39-50.

37. **Burt S.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol.*, **2004**; 94: 223-253.

38. **Cooke B, Ernst E.** Aromatherapy: a systematic review. *Br. J. Gen. Pract.*, **2000**; 50: 493-496.

39. **Seymour R.** Additional properties and uses of essential oils. *J. Clin. Periodontol.*, **2003**; 30:19-21.

40. **Schulz H, Schrader B, Quilitzsch R, Pfeffer S, Kruger H.** Rapid classification of basil chemotypes by various vibrational spectroscopy methods. *J. Agric. Food Chem.*, **2003**; 51: 2475-2481.

41. **Trevisan MTS, Silva MGV, Pfundstein B, Spiegelhalder B, Owen RW.** Characterization of the volatile pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus Ocimum. *J. Agric. Food Chem.*, **2006**; 54: 4378-4382.

42. **Vieira R, Grayer R, Paton A.** Chemical profiling of Ocimum americanum using external flavonoids. *Phytochemistry*, **2003**; 63: 555-567.

43. **Radulovic N, Blagojevic P, Miltojevic A.** α-Linalool - a marker compound of forged/synthetic sweet basil (Ocimum basilicum L.) essential oils. *J. Sci. Food Agric.*, **2013**; 93: 3292-3303.

44. **Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P.** Antimicrobial activity of basil (Ocimum basilicum) oil against Salmonella enteritidis in vitro and in food. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2010**; 74:1200-1204.

45. **Suppakul P, Miltz J, Sonneveld K, Bigger S.** Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. *J. Agric. Food Chem.*, **2003**; 51:3197-3207.

46. **Tilebeni HG.** Review to basil medicinal plant. *Int. J. Agron. Plant Prod.*, **2011**; 2:5-9.

47. **Lachowicz KJ, Jones GP, Briggs DR, Bienvenu FE, Wan J, Wilcock A, Coventry MJ.** The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (Ocimum basilicum L.) against acid-tolerant food microflora. *Lett. Appl. Microbiol.*, **1998**; 26: 209-214.

48. **Opalchenova G, Obreshkova D.** Comparative studies on the activity of basil – an essential oil from Ocimum basilicum L. – against multidrug resistant clinical isolates of the genera Staphylococcus, Enterococcus and Pseudomonas by using different test methods. *J. Microbiol. Methods*, **2003**; 54: 105-110.

49. **Kathirvel P, Ravi S.** Chemical composition of the essential oil from basil (Ocimum basilicum Linn.) and its in vitro cytotoxicity against HeLa and HEp-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Nat. Prod. Res.*, **2012**; 26:1112-1128.

50. **Chorianopoulos N, Kalpoutzakis E, Aligiannis N, Mitaku S, Nychas G-J, Haroutounian S.** Essential oils of Satureja, Origanum and Thymus species:chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **2004**; 52:8261-8267.

51. **Matiz G, Osorio M, Camacho F, Atencia M, Herazo J.** Effectiveness of antimicrobial formulations for acne based on orange (Citrus sinensis) and sweet basil (Ocimum basilicum L.) essential oils. *Biomedica*, **2012**; 32:125-133.

52. **Karamaouna F, Kimbaris A, Michaelakis A, Papachristos D, Polissiou M, Papatsakona P, Tsora E.** Insecticidal activity of plant essential oils against the Vine Mealybug, Planococcus ficus. *J. Insect Sci.*, **2013**; 13:142.

53. **Iijima Y, Davidovich-Rikanati R, Fridman E, Gang DR, Bar E, Lewinsohn E and Pichersky E.** The Biochemical and Molecular Basis for the Divergent Patterns in the Biosynthesis of Terpenes and Phenylpropenes in the Peltate Glands of Three Cultivars of Basil. *Plant Physiology*, **2004**; Vol. 136, pp. 3724-3736.

54. **Paton A.** A synopsis of Ocimum L. (Labiatae) in Africa. *Kew Bull.*, **1992**; 47:403-437.

55. **Paton A, Harley MR** and **Harley MM**. Ocimum: An overview of classification and relationships. Basil the Genus Ocimum. R. Hiltunen and Y. Holm, eds. *Harwood Academic Publishers*, Amsterdam, The Netherlands, **1999**, pp. 1-38.

56. **UPOV 2003**, Basil. In: Plants. International Union for the Protection of New Varieties of Plants, Geneva. https://www.yumpu.com/en/document/ read/21898520/basil-international-union-for-the-protection-of-new-varie ties-of-plants.

57. **Darrah HH.** The cultivated basils. Independence, MO: Buckeye Printing Company, **1980**.

58. **Gupta SK, Prakash J, Srivastava S.** Validation of traditional claim of Tulsi. Ocimum sanctum Linn. as a medicinal plant. *Indian J Exp Biol.*, **2002**; 40(7):765-73.

59. **Uma Devi P.** Radioprotective, anticarcinogenic and antioxidant properties of the Indian holy basil, Ocimum sanctum (Tulasi). *Indian J Exp Biol.*, **2001**; 39(3):185-90.

60. **Singh N, Hoette Y.** Tulsi: The Mother Medicine of Nature. Lucknow, India: International Institute of Herbal Medicine, **2002.**

61. **Warrier PK.** In: Indian Medicinal Plants. Edited by Longman O. New Delhi: CBS publication, **1995**:168.

62. **Pattanayak P, Behera P, Das D, Panda SK.** Ocimum sanctum Linn. A reservoir plant for therapeutic applications: An overview. *Pharmacogn Rev.*, **2010**; 4(7):95-105.

63. **World Health Organization**. Folium Ocimi Sancti. In: WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, vol. 2. Geneva, Switzerland: *World Health Organization*, **2002**; p. 206–16.

64. **Anonymous**. Wealth of India. In: Publication and Information Directorate. New Delhi, India: CSIR. **1991**; p. 79–89.

65. **Gupta AK, Tandon N, Sharma M.** Ocimum sanctum Linn. In: Gupta AK, Tandon N, Sharma M, editors. *Quality Standards of Indian Medicinal Plants*, Volume 5. New Delhi, India: Medicinal Plants Unit, Indian Council of Medical Research, **2008**; p. 275–84.

66. **Mollel HG, Ndunguru J, Sseruwagi P, Alicai T, Colvin J, Navas-Castillo J and Fiallo-Olive E.** African Basil (Ocimum gratissimum) Is a Reservoir of Divergent Begomoviruses in Uganda. *Plant Disease*, **2020**; 104:853-859.

67. **Kumar Y, Khan F, Rastogi S, Shasany AK.** Genome-wide detection of terpene synthase genes in holy basil (Ocimum sanctum L.). *PLOS ONE*, **2018**; p. 3.

68. **Putievsky E, Galambosi B**. Production systems of sweet basil. In: Hiltunen R, Holm Y, editors. Basil: the genus Ocimum. Amsterdam: *Harwood Academic Publishers,* **1999**, p. 39–61.

69. **Pushpangadan P, George V**. Basil. *In Handbook of Herbs and Spices: Second Edition*; Peter, K.V., Ed.; Elsevier: Boca Raton, FL, USA, **2012**; Volume 1, pp. 55–72.

70. **Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai V**. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. *Front. Microbiol* , **2017**; 7, 2161.

71. **Antora RA, Salleh RM**. Antihyperglycemic effect of Ocimum plants: A short review. *Asian Pac. J. Trop. Biomed* , **2017**; 7, 755–759.

72. **Purushothaman B, Prasannasrinivasan R, Suganthi P, Ranganathan B, Gimbun J, Shanmugam KA.** comprehensive review on Ocimum basilicum. *J. Nat. Remedies* , **2018**; 18, 71–85.

73. **Li QX, Chang CL**. Basil (Ocimum basilicum L.) oils. In Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety; Preedy, V.R., Ed.; Elsevier Inc.: London, UK**, 2016**; pp. 231–238.

74. **Simon JE, Quinn J** and **Murray RG**. Basil-A source of essential oils. Advances in New Crops Research. Janick J and Simon JE eds. *Timber Press*, **1990**, Portland, OR.

75. **Kokwaro JO.** Medicinal Plants of East Africa, 3rd ed. University of Nairobi Press, Nairobi, Kenya, **2009**.

76. **Lange BM.** The Evolution of Plant Secretory Structures and Emergence of Terpenoid Chemical Diversity. *Annu Rev Plant Biol.*, Annual Reviews, **2015**; 66: 139-159.

77. **Ahmed AF, Attia FAK, Liu Z, Li C, Wei J, Kang W**. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (Ocimum basilicum L.) plants. *Food Sci. Hum. Wellness* , **2019**; 8, 299-305.

78. **Bhasin M.** Ocimum-Taxonomy, medicinal potentialities and economic value of essential oil. *Journal of Biosphere*, **2012**; 1:48-50.

79. **Kelm MA, Nair MG, Strasburg GM, DeWitt DL.** Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from Ocimum sanctum Linn. *Phytomedicine*, **2000**; 7:7-13.

80. **Shishodia S, Majumdar S, Banerjee S, Aggarwal BB.** Urosolic acid inhibits nuclear factor-kappaB activation induced by carcinogenic agents through suppression of IkappaBalpha kinase and p65 phosphorylation: Correlation with down-regulation of cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 9 and cyclin D1. *Cancer Res.* , **2003**; 63:4375-83.

81. **Tissier A.** Trichome Specific Expression: Promoters and Their Applications. *Transgenic Plants - Advances and Limitations*, **2012**; 353-378.

82. **Lawrence BM**. Chemical components of Labiatae oils and their explotation. Pages 399-436 in: Advances in Labiatae Science. K. M. Harley and T. Reynolds, eds. Royal Botanic Gardens, Kew, U.K, **1992**.

83. **Kothari SK, Bhattacharya AK, Ramesh S.** Essential oil yield and quality of methyl eugenol rich Ocimum tenuiflorum L.f. (syn. O. sanctum L.) grown in south India as influenced by method of harvest. *J Chromatogr A*, **2004**; 1054: 67–72.

84. **Omidvarborna H, Kumar A, Chemical DK.** *J of E*, **2014** undefined. Characterization of particulate matter emitted from transit buses fueled with B20 in idle modes.

85. **Gang DR, Wang JH, Dudareva N, Nam KH, Simon JE, Lewinsohn E, Pichersky E.** An Investigation of the Storage and Biosynthesis of Phenylpropenes in Sweet Basil. *PLANT Physiol*, **2001**; 125: 539-555.

86. **Islam AKMM, Kato-Noguchi H.** Phytotoxic activity of Ocimum tenuiflorum extracts on germination and seedling growth of different plant species. *Sci World J*, **2014**; 2014: 1-8.

87. **Werker E, Putievsky E, Ravid U, Dudai N, Katzir I.** Glandular hairs and essential oil in developing leaves of Ocimum basilicum L. (Lamiaceae). *Ann Bot (Lond)*, **1993**; 71: 43-50.

88. **Iijima Y, Gang DR, Fridman E, Lewinsohn E, Pichersky E.** Characterization of geraniol synthase from the peltate glands of sweet basil. *Plant Physiol*, **2004**; 134: 370-379.

89. **Koroch AR, Simon JE, Juliani HR.** Essential oil composition of purple basils, their reverted green varieties (Ocimum basilicum) and their associated biological activity. *Ind. Crops Prod.* , **2017**; 107, 526–530.

90. **Sundararajan B, Moola AK, Vivek K, Kumari BDR.** Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of Ocimum basilicum L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (Culex quinquefasciatus). *Microb. Pathog.* , **2018**; 125, 475–485.

91. **Baj T, Baryluk A, Sieniawska E.** Application of mixture design for optimum antioxidant activity of mixtures of essential oils from Ocimum basilicum L., Origanum majorana L. and Rosmarinus officinalis L. *Ind. Crops Prod.* , **2018**; 115, 52–61.

92. **Stanojevic LP, Marjanovic-Balaban ZR, Kalaba VD, Stanojevic JS, Cvetkovic DJ, Cakic MD.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (Ocimum basilicum L.) essential oil. *J. Essent. Oil-Bearing Plants* , **2017**; 20, 1557–1569.

93. **Ferreira DDF, Nora FMD, Lucas BN, De Menezes CR, Cichoski AJ, Giacomelli SR, Wagner R, Barin JS.** Introdução de oxigênio durante a extração e aumento da atividade antioxidante de óleos essenciais de manjericão, limão e capim-limão. *Cienc. Rural* , **2017**; 47, e20170045.

94. **Eftekhar N, Moghimi A, Roshan NM, Saadat S, Boskabady MH.** Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of hydro-ethanolic extract of Ocimum basilicum leaves and its effect on lung pathological changes in an ovalbumin-induced rat model of asthma. *BMC Complementary and Alternative Medicine* , **2019**; 19:349.

95. .**Benedec D, Parvu AE, Oniga I, Toiu A, Ba T.** Effects of Ocimum basilicum L extract on experimental acute inflammation. 3, **2007**; 111:1065-9.

96. **Marwat SK, Khan MS, Ghulam S, Anwar N, Mustafa G, Usman K.** Phytochemical constituents and pharmacological activities of sweet BasilOcimum basilicum L.(Lamiaceae). *Asian J Chem.* , **2011**; 23:3773.

97. **Peana AT, D'aquila PS, Panin F, Serra G, Pippia P, Moretti MDL.** Antiinflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine* , **2002**; 9:721-6.

98. **Juergens UR, Dethlefsen U, Steinkamp G, Gillissen A, Repges R, Vetter H.** Anti-inflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir Med.* , **2003**; 97:250-6.

99. **Aragao GF, Pinheiro MCC, Bandeira PN, Lemos TLG, Viana GSdB.** Analgesic and anti-inflammatory activities of the isomeric mixture of alpha-and betaamyrin from Protium heptaphyllum (Aubl.) march. *J Herb Pharmacother* , **2008**; 7:31-47.

100. **Widjaja SS, Rusdiana**, **Savira M.** Glucose Lowering Effect of Basil Leaves in Diabetic Rats. *Journal of Medical Sciences*, **2019** May 15; 7(9):1415-1417.

101. **Ezeani C, Ezenyi I, Okoye T, Okoli C.** Ocimum basilicum extract exhibits antidiabetic effects via inhibition of hepatic glucose mobilization and carbohydrate metabolizing enzymes. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, **2017**; Vol 6, Issue 1.

102. **Ahmad K, Khalil AT, Yusra**, **Somayya R.** Antifungal, phytotoxic and hemagglutination activity of methanolic extracts of Ocimum basilicum. *J Tradit Chin Med* , **2016** December 15; 36(6): 794-798.

103. **Elsherbiny EA, Safwat NA and Elaasser MM.** Fungitoxicity of organic extracts of Ocimum basilicum on growth and morphogenesis of Bipolaris species (teleomorph Cochliobolus). *Journal of Applied Microbiology*, **2017**; 123, 841-852.

104. **Bojic M, Males Z, Antolic A, Babic I, Tomicic M.** Antithrombotic activity of flavonoids and polyphenols rich plant species. *Acta Pharm*. , 69 (**2019**); 483-495.

105. **Ayuob NN, Balgoon MJ, Ali S, Alnoury IS, ALmohaimeed HM, AbdElfattah AA.** Ocimum basilicum (Basil) Modulates Apoptosis and Neurogenesis in Olfactory Pulp of Mice Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. *Front. Psychiatry.* , **2020**; 11:569711.

106. **Alkhateeb MA, Al-Otaibi WR, AlGabbani Q, Alsakran AA, Alnafjan AA, Alotaibi AM, Al-Qahtani WS.** Low-temperature extracts of Purple blossoms of basil (Ocimum basilicum L.) intervened mitochondrial translocation contributes prompted apoptosis in human breast cancer cells. *Biol Res* , **2021**; 54:2.

107. **Netto JDL, Oliveira RSM, Copatti CE.** Efficiency of essential oils of Ocimum basilicum and Cymbopogum flexuosus in the sedation and anaesthesia of Nile tilapia juveniles. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* , **2017**; 89(4): 2971-2974.

108. **Almalki DA.** Renoprotective Effect of Ocimum Basilicum (Basil) Against Diabetes-induced Renal Affection in Albino Rats. *Mater Sociomed.* , **2019** Dec; 31(4): 236-240.

109. **Ebani VV, Nardoni S, Bertelloni F, Pistelli L, Mancianti F.** Antimicrobial Activity of Five Essential Oils against Bacteria and Fungi Responsible for Urinary Tract Infections. *Molecules* , **2018**; 23,1668.

110. **Othman MS, Khaled AM, Al-Bagawi AH, Fareid MA, Ghany RA, Habotta OA, Moneim AEA.** Hepatorenal protective efficacy of flavonoids from Ocimum basilicum extract in diabetic albino rats: A focus on hypoglycemic, antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy* , 144 (**2021**); 112287.

111. **Hozayen WG, El-Desouky MA, Soliman HA, Ahmed RR, Khaliefa AK.** Antiosteoporotic effect of Petroselinum crispum, Ocimum basilicum and Cichorium intybus L. in glucocorticoid-induced osteoporosis in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* , **2016**; 16:165.

112. Nascimento SS, Araújo AAS, Brito RG, Serafini MR, Menezes PP, DeSantana JM, Júnior WL, Alves PB, Blank AF, Oliveira RCM, Oliveira AP, Albuquerque-Júnior RLC, Almeida JRGS, Quintans-Júnior LJ. Cyclodextrin-Complexed Ocimum basilicum Leaves Essential Oil Increases Fos Protein Expression in the Central Nervous System and Produce an Antihyperalgesic Effect in Animal Models for Fibromyalgia. *Int. J. Mol. Sci.* , **2015**; 16, 547-563.

113. Alegría-Herrera E, Herrera-Ruiz M, Román-Ramos R, Zamilpa A, Santillán-Urquiza MA, Aguilar MI, Avilés-Flores M, Fuentes-Mata M and Jiménez-Ferrer E. Effect of Ocimum basilicum, Ocimum selloi, and Rosmarinic Acid on Cerebral Vascular Damage in a Chronic Hypertension Model. *Biol. Pharm. Bull.* , 42, 201-211, **2019**; Vol. 42, No. 2.

114. Irondi EA, Agboola SO, Oboh G, Boligon AA. Inhibitory effect of leaves extracts of Ocimum basilicum and Ocimum gratissimum on two key enzymes involved in obesity and hypertension in vitro. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, **2016**; Vol 5. Issue 4.

115. Robertson AS. Behaviour of the human bladder during natural filling: The Newcastle experience of ambulatory monitoring and conventional artificial filling cystometry. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, Supplementum, **1999**; 201, 19-24.

116. Andersson KE, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, **2004**; 84(3), 935-986.

117. Dorr W. Cystometry in mice-Influence of bladder filling rate and circadian variations in bladder compliance. *The Journal of Urology*, **1992**; 148(1), 183-187.

118. Fabiyi AC, Brading AF. The use of the isolated mouse whole bladder for investigating bladder overactivity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **2006**; 319(3), 1386-1394.

119. Jost SP. Postnatal growth of the mouse bladder. *Journal of Anatomy*, **1985**; 143, 39-43.

120. Qiao Z, Xia C, Shen S, Corwin FD, Liu M, Guan R, Grider JR, Qiao LY. Suppression of the PI3K pathway in vivo reduces cystitis-induced bladder hypertrophy and restores bladder capacity examined by magnetic resonance imaging. *PLoS One*, **2014**; 9(12), e114536 10.1371/journal.pone.0114536.

121. Tykocki NR, Monson FC. Excitability and contractility in arterioles and venules from the urinary bladder. *Curr Top Membr.*, **2020**; 85: 301-326.

122. Hossler FE, Kao RL. Microvasculature of the urinary bladder of the dog: A study using vascular corrosion casting. *Microscopy and Microanalysis*, **2007**; 13(3), 220-227.

123. Hossler F, Kao R, Monson F. Microvasculature of the mammalian urinary bladder-A preliminary comparative study using corrosion casting. *Microscopy and Microanalysis*, **2005**; 11(S02), 1204-1205.

124. Hossler FE, Monson FC. Evidence for a unique elastic sheath surrounding the vesicular arteries of the rabbit urinary bladder-Studies of the microvasculature with microscopy and vascular corrosion casting. *Anatomical Record*, **1998**; 252(3), 472-476.

125. Hossler FE, Monson FC. Structure and blood supply of intrinsic lymph nodes in the wall of the rabbit urinary bladder-Studies with light microscopy, electron microscopy, and vascular corrosion casting. *Anatomical Record*, **1998**; 252(3), 477-484.

126. Kowalewska PM, Burrows LL, Fox-Robichaud AE. Intravital microscopy of the murine urinary bladder microcirculation. *Microcirculation*, **2011**; 18(8), 613-622.

127. Miodonski AJ, Litwin JA. Microvascular architecture of the human urinary bladder wall: A corrosion casting study. *Anatomical Record*, **1999**; 254(3), 375-381.

128. Booth EA, Obeid NR, Lucchesi BR. Activation of estrogen receptor-alpha protects the in vivo rabbit heart from ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, **2005**; 289(5), H2039-H2047.

129. Wendt IR, Paul RJ. Energy cost of contraction in rat urinary bladder smooth muscle during anoxia. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, **2003**; 30(8), 565-569.

130. Nagai Y, Kaneda T, Miyamoto Y, Nuruki T, Kanda H, Urakawa N, Shimizu K. Effects of hypoxia and glucose-removal condition on muscle contraction of the smooth muscles of porcine urinary bladder. *The Journal of Veterinary Medical Science*, **2016**; 78(1), 55-59.

131. Earley S. TRPM4 channels in smooth muscle function. *Pflugers Archiv*, **2013**; 465(9), 1223-1231.

132. Faraci FM, Sobey CG. Role of potassium channels in regulation of cerebral vascular tone. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **1998**; 18(10), 1047-1063.

133. Knot HJ, Nelson MT. Regulation of membrane potential and diameter by voltage-dependent K+ channels in rabbit myogenic cerebral arteries. *The American Journal of Physiology*, **1995**; 269(1 Pt. 2), H348-H355.

134. Santos GA, Petersen N, Zamani AA, Du R, LaRose S, Monk A, Sorond FA, Tan CO. Pathophysiologic differences in cerebral autoregulation after subarachnoid hemorrhage. *Neurology*, **2016**; 86(21), 1950-1956.

135. Tykocki NR, Bonev AD, Longden TA, Heppner TJ, & Nelson MT. Inhibition of vascular smooth muscle inward-rectifier K(+) channels restores myogenic tone in mouse urinary bladder arterioles. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, **2017**; 312(5), F836-F847.

136. Knot HJ, Nelson MT. Regulation of arterial diameter and wall [Ca2+] in cerebral arteries of rat by membrane potential and intravascular pressure. *The Journal of Physiology*, **1998**; 508(Pt. 1), 199-209.

137. Hashitani H, Takano H, Fujita K, Mitsui R, Suzuki H. Functional properties of suburothelial microvessels in the rat bladder. *The Journal of Urology*, **2011**; 185(6), 2382-2391.

138. Mitsui R, Hashitani H. Immunohistochemical characteristics of suburothelial microvasculature in the mouse bladder. *Histochemistry and Cell Biology*, **2013**; 140(2), 189-200.

139. Phan TX, Ton HT, Chen Y, Basha ME, Ahern GP. Sex-dependent expression of TRPV1 in bladder arterioles. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, **2016**; 311(5), F1063-F1073.

140. Pontari MA, Ruggieri MR. Sex differences and role of nitric oxide in blood flow of canine urinary bladder. *American Journal of Physiology*, **1999**; 276(2 Pt. 2), R407-R413.

141. Ehren I, Iversen H, Jansson O, Adolfsson J, Wiklund NP. Localization of nitric oxide synthase activity in the human lower urinary tract and its correlation with neuroeffector responses. *Urology*, **1994**; 44(5), 683-687.

142. Gillespie JI. Phosphodiesterase-linked inhibition of nonmicturition activity in the isolated bladder. *BJU International*, **2004**; 93(9), 1325-1332.

143. Longhurst PA, Briscoe JA, Rosenberg DJ, Leggett RE. The role of cyclic nucleotides in guinea-pig bladder contractility. *British Journal of Pharmacology*, **1997**; 121(8), 1665-1672.

144. Ferguson DR, Kennedy I, Burton TJ. ATP is released from rabbit urinary bladder epithelial cells by hydrostatic pressure changes-A possible sensory mechanism? *Journal of Physiology*, **1997**; 505(Pt. 2), 503-511.

145. Hanna-Mitchell AT, Beckel JM, Barbadora S, Kanai AJ, de Groat WC, Birder LA. Non-neuronal acetylcholine and urinary bladder urothelium. *Life Sciences*, **2007**; 80(24–25), 2298-2302.

146. Khan MA, Thompson CS, Dashwood MR, Mumtaz FH, Morgan RJ, Mikhailidis DP. Endothelin-1 and nitric oxide in the pathogenesis of urinary tract disorders secondary to bladder outlet obstruction. *Current Vascular Pharmacology*, **2003**; 1(1), 27-31.

147. Mumtaz FH, Khan MA, Sullivan ME, Thompson CS, Mikhailidis DP, Morgan RJ, Dashwood MR. Potential role of endothelin and nitric oxide in physiology and pathophysiology of the lower urinary tract. *Endothelium*, **1999**; 7(1), 1-9.

148. Munoz A, Smith CP, Boone TB, Somogyi GT. Overactive and underactive bladder dysfunction is reflected by alterations in urothelial ATP and NO release. *Neurochemistry International*, **2011**; 58(3), 295-300.

149. Hashitani H, Takano H, Fujita K, Mitsui R, & Suzuki H. Functional properties of suburothelial microvessels in the rat bladder. *The Journal of Urology*, **2011**; 185(6), 2382-2391.

150. Tong YC, Hung YC, Shinozuka K, Kunitomo M, Cheng JT. Evidence of adenosine 5'-triphosphate release from nerve and P2x-purinoceptor mediated contraction during electrical stimulation of rat urinary bladder smooth muscle. *J. Urol.*, **1997**;158 (5):1973-1977.

151. Iguchi N, Jr AC, Xie AX, Pineda RH, Malykhina AP, Wilcox DT. Functional constipation induces bladder overactivity associated with upregulations of Htr2 and Trpv2 pathways. *Scientific Reports*, **2021**; 11:1149.

152. Canda AE, Cross CR, Chapple CR. Pharmacology of the Lower Urinary Tract and Management of Overactive Bladder. *J Turkish-German Gynecol Assoc.*, **2006**; 7: 146-57.

153. Andersson KE, Wein AJ. Pharmacology of the lower urinary tract: basis for current and future treatments of urinary incontinence. *Pharmacol Rev.*, **2004**; 56: 581-631.

154. Levin RM, Ruggieri MR, Wein AJ. Identification of receptor subtypes in the rabbit and human urinary bladder by selective adio-ligand binding. *J Urol.*, **1998**; 139: 844-8.

155. Caulfield MP, Birdsall NJM. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol Rev.*, **1998**; 50: 279-90.

156. Yamanishi T, Chapple CR, Chess-Williams R. Which muscarinic receptor is important in the bladder? *World J Urol.*, **2001**; 19: 299-306.

157. Eglen RM, Hegde SS, Watson N. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. *Pharmacol Rev.*, **1996**; 15: 531-65.

158. Zarifpour M, Andersson K-E, Kelkar SS, Mohs A, Mendelsohn C, Schneider K, Marini F, Christ GJ. Characterization of a Murine Model of Bioequivalent Bladder Wound Healing and Repair Following Subtotal Cystectomy. *BioResearch Open Access*, **2017**; Volume 6.1.

159. Chakrabarty B, Ito H, Ximenes M, Nishikawa N, Vahabi B, Kanai AJ, Pickering AE, Drake MJ, Fry CH. Influence of sildenafil on the purinergic components of nerve-mediated and urothelial ATP release from the bladder of normal and spinal cord injured mice. *Br J Pharmacol.*, **2019**; 176:2227-2237.

160. Powers SA, Ryan TE, Pak ES, Fraser MO, McClung JM, Hannan JL. Chronic high fat diet decreased detrusor mitochondrial respiration and increased nerve-mediated contractions. *Neurourol Urodyn.*, **2019**; August ; 38(6): 1524-1532.

161. Blanco-Rivero J, Couto GK, Paula SM, Fontes MT, Rossoni LV. Enhanced sympathetic neurotransduction in the superior mesenteric artery in a rat model of heart failure: role of noradrenaline and ATP. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2021**; 320: H563-H574.

162. Cros-Brunso L, Camacho-Rodriguez L, Martinez-Gonzalez A, Llevenes P, Salaices M, Garcia-Redondo AB, Blanco-Rivero J. A Blunted Sympathetic Function and an Enhanced Nitrergic Activity Contribute to Reduce Mesenteric Resistance in Hyperthyroidism. *Int. J. Mol. Sci.*, **2021**; 22, 570.

163. Britto-Júnior J, Pinheiro DHA, Justo AFO, Figueiredo Murari GM, Campos R, Mariano FV, De Souza VB, Schenka AA, Mónica FZ, Antunes E, De Nucci G. Endothelium-derived dopamine modulates EFS-induced contractions of human umbilical vessels. *Pharmacol Res Perspect.*, **2020**; e00612.

164. Zhou TR, Huang JJ, Huang ZT, Cao HY, Tan B. Inhibitory effects of patchouli alcohol on stress-induced diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*, **2018**; February 14; 24(6): 693-705.

165. Giangiacomo KM, Sugg EE, Garcia-Calvo M, Leonard RJ, McManus OB, Kaczorowski GJ, Garcia ML. Synthetic charybdotoxin-iberiotoxin chimeric peptides define toxin binding sites on calcium-activated and voltage-dependent potassium channels. *Biochemistry*, **1993**; 32:2363-70.

166. Wittekindt OH, Visan V, Tomita H, Imtiaz F, Gargus JJ, Lehmann-Horn F, Grissmer S, Morris-Rosendahl DJ. An apamin- and scyllatoxin-insensitive isoform of the human SK3 channel. *Mol Pharmacol.*, **2004**; 65:788-801.

167. Weatherall KL, Goodchild SJ, Jane DE, Marrion NV. Small conductance calcium-activated potassium channels: from structure to function. *Prog Neurobiol.*, **2010**; 91:242-55.

168. Zhang J, Halm ST, Halm DR. Role of the BK channel (KCa1.1) during activation of electrogenic K+ secretion in guinea pig distal colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, **2012**; 303:G1322-34.

169. Tsai CC, Lee MC, Tey SL, Liu CW, Huang SC. Mechanism of resveratrol-induced relaxation in the human gallbladder. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **2017**; 17:254.

170. Han JS, Min YS, Kim GH, Chae SH, Nam Y, Lee J, Lee SY, Sohn UD. The change of signaling pathway on the electrical stimulated contraction in streptozotocin-induced bladder dysfunction of rats. *Korean J Physiol Pharmacol*, **2018**; 22(5):577-584.

171. Claria J. Cyclooxygenase-2 biology. *Curr Pharm Des.*, **2003**; 9: 2177-90.

172. Pang LY, Hurst EA, Argyle DJ. Cyclooxygenase-2: A Role in Cancer Stem Cell Survival and Repopulation of Cancer Cells during Therapy. *Stem Cells Int.*, **2016**; 2016: 2048731.

173. Soh JW, Weinstein IB. Role of COX-independent targets of NSAIDs and related compounds in cancer prevention and treatment. *Prog Exp Tumor Res.*, **2003**; 37: 261-85.

174. Sarkar FH, Adsule S, Li Y, Padhye S. Back to the future: COX-2 inhibitors for chemoprevention and cancer therapy. *Mini Rev Med Chem.*, **2007**; 7: 599-608.

175.Kis B, Snipes JA, Isse T, Nagy K, Busija DW. Putative cyclooxygenase-3 expression in rat brain cells. *J Cereb Blood Flow Metab.*, **2003**; 23: 1287-92.

176.Su CW, Zhang Y, Zhu YT. Stromal COX-2 signaling are correlated with colorectal cancer: A review. *Crit Rev Oncol Hematol.*, **2016**; 107: 33-8.

177.Obermoser V, Baecker D, Schuster C, Braun V, Kircher B, Gust R. Chlorinated cobalt alkyne complexes derived from acetylsalicylic acid as new specific antitumor agents. *Dalton Trans.*, **2018**; 47: 4341-51.

178.Gurram B, Zhang S, Li M, Li H, Xie Y, Cui H, Du J, Fan J, Wang J, Peng X. Celecoxib Conjugated Fluorescent Probe for Identification and Discrimination of Cyclooxygenase-2 Enzyme in Cancer Cells. *Anal Chem.*, **2018**; 90: 5187-93.

179.Raj V, Bhadauria AS, Singh AK, Kumar U, Rai A, Keshari AK, Kumar P, Kumar D, Maity B, Nath S, Prakash A, Ansari KM, Jat JL, Saha S. Novel 1,3,4-thiadiazoles inhibit colorectal cancer via blockade of IL-6/COX-2 mediated JAK2/STAT3 signals as evidenced through data-based mathematical modeling. *Cytokine*, **2018**.

180.Mortezaee K. Human hepatocellular carcinoma: Protection by melatonin. *J Cell Physiol.*, **2018**; 233: 6486-508.

181.Dannenberg AJ, Lippman SM, Mann JR, Subbaramaiah K, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 and epidermal growth factor receptor: pharmacologic targets for chemoprevention. *J Clin Oncol.*, **2005**; 23: 254-66.

182.Güez CM, De Souza RO, Fischer P, De Moura Leao MF, Duarte JA, Boligon AA, Athayde ML, Zuravski L, De Oliveira LFS, Machado MM. Evaluation of basil extract (Ocimum basilicum L.) on oxidative, antigenotoxic and anti-inflammatory effects in human leukocytes cell cultures exposed to challenging agents. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2017**; 53(1):e15098.

183.Ajayi AM, Ologe MO, Ben-Azu B, Okhale SE, Adzu B, Ademowo OG. Ocimum gratissimum Linn. Leaf extract inhibits free radical generation and suppressed inflammation in carrageenan-induced inflammation models in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, **2017**; 28(6): 531-541.

184.Hemalatha R, Babu KN, Karthik M, Ramesh R, Kumar BD, Kumar PU. Immunomodulatory Activity and Th1/Th2 Cytokine Response of Ocimum sanctum in Myelosuppressed Swiss Albino Mice. *Trends Med. Res.*, **2011**; 6(1): 23-31.

185.Kangralkar VA, Patil SD, Bandivadekar RM. Oxidative stress and diabetes: A review. *Intl J Pharm Appl*., **2010**; 1:38-45.

186.Yasui K, Baba A. Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation. *Inflamm Res.*, **2006**; 55:359-63.

187.Sanyal J, Bandyopadhyay SK, Banerjee TK, Mukherjee SC, Chakraborty DP, Ray BC, Rao VR. Plasma levels of lipid peroxides in patients with Parkinson's disease. *European Review forMedical and Pharmacological Sciences*, **2009**;13(2): 129-132.

188.Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*, **2002**; 33(3): 337-349.

189.Takada Y, Hachiya M, Park SH, Osawa Y, Ozawa T, Akashi M. Role of Reactive Oxygen Species in Cells Overexpressing Manganese Superoxide Dismutase: Mechanism for Induction of Radioresistance. *Molecular Cancer Research*, **2002**;1: 137-146.

190. Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology & Medicine*, **2003**; 35(3): 236-256.

191. Landmesser U, Merten R, Spiekermann S, Buttner K., Drexler H, Hornig B. Vascular extracellular superoxide dismutase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation. *Circulation*, **2000**; 101:2264-2270.

192. Fukai T, Siegfried MR, Ushio-Fukai M, Griendling KK, Harrison DG. Modulation of extracellular superoxide dismutase expression by angiotensin II and hypertension. *Circ. Res.*, **1999**; 85: 23-28.

193. Kimura F, Hasegawa G, Obayashi H, Adachi T, Hara H, Ohta M, Fukui M, Kitagawa Y, Park H, Nakamura N, Nakano K, Yoshikawa T. Serum Extracellular Superoxide Dismutase in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, **2003**; 26:1246-1250.

194. Schneider MP, Sullivan JC, Wach PF , Boesen RI, Yamamoto T, Fukai T, Harrison DG, Pollock DM, Pollock JS. Protective role of extracellular superoxide dismutase in renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney International*, **2010**; 78: 374-381.

195. Gülçin İ, Elmasta M and Aboul-Enein HY. Determination of Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Basil (Ocimum basilicum L. Family Lamiaceae) Assayed by Different Methodologies. *Phytother. Res.*, **2007**; 21: 354-361.

196. Li H, Ge Y, Luo Z, Zhou Y, Zhang X, Zhang J, Fu Q. Evaluation of the chemical composition, antioxidant and antiinflammatory activities of distillate and residue fractions of sweet basil essential oil. *J Food Sci Technol.*, **2017**; 54(7):1882-1890.

EKLER

ÖZGEÇMİŞ