

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

(YÜKSEK LİSANS)

**NORMAL VE DENEYSEL HİPERTANSİF SIÇANLARDAN
İZOLE EDİLEN RETİNANIN KAROTİD, MEZENTERİK
VE RETİNAL ARTERLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

FULYA GEZERLER

**DANIŞMAN
PROF. DR. B. SÖNMEZ UYDEŞ DOĞAN**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak *Yüksek Lisans* tezi olarak kabul edilmiştir.

08/08/2009

Tamer Demiralp

Prof. Dr. Tamer DEMİRALP
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Program Adı : Farmakoloji
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans Doktora
 Anabilim Dalı : Farmakoloji
 Tez Sahibi : Fulya GEZERLER
 Tez Başlığı : Normal ve deneysel hipertansif sıçanlardan izole edilen retinanın karotid, mezenterik ve retinal arterler üzerindeki etkisinin incelenmesi
 Sınav Yeri : Eczacılık Fakültesi
 Sınav Tarihi : 31 / 08 / 2009

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Gül AYANOĞLU DÜLGER (Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd) *Gül Ayanoğlu Dülger*
2. Prof. Dr. Buket ALPERTUNGA (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Toksikoloji Abd) *Buket Alpertunga*
3. Prof. Dr. Cihan DEMİRGİ (İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Abd) *Cihan Demirgi*
4. Prof. Dr. Öner SÜZER (İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Farmakoloji Abd) *Öner Süzer*
5. Prof. Dr. B. Sönmez UYDEŞ-DOĞAN (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd-Danışman) *B. Sönmez Uydeş-Doğan*

BEYAN

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

Fulya Gezerler



İTHAF

Sevgili Aileme ithafen...

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca tavsiye ve yönlendirmeleriyle yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın *Prof. Dr. B. Sönmez UYDEŞ-DOĞAN* 'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilimsel ve manevi desteğini hep yanımda hissettiğim Anabilim Dalı Başkanımız Sayın *Prof. Dr. Gül BAKTIR* 'a,

Eczacılık ve yüksek lisans eğitimim boyunca deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum Sayın *Prof. Dr. Osman ÖZDEMİR* 'e,

Tezime sağlamış olduğu özverili katkılarından dolayı Sayın *Prof. Dr. Cihan DEMİRCİ* 'ye ve Sayın *Uzm. Biyolog Bülent ERGİN* 'e,

Tez çalışmalarımda destek ve yardımlarını gördüğüm Sayın *Yard. Doç. Dr. F. İlkay ALP*'e ve Sayın *Yard. Doç. Dr. Selçuk TAKIR* 'a, manevi destek ve yönlendirmeleriyle yanımda olan Sayın *Yard. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ* 'a ve Sayın *Yard. Doç. Dr. Alper OKYAR* 'a,

Çalışmalarım boyunca gerek destek gerekse dostluklarıyla her zaman yanımda olan *Dr. Ecz. Deniz KALELİ-DURMAN* ve *Uzm. Ecz. Zeliha PALA* 'ya,

Tezimin tüm aşamalarında verdiği sonsuz destek ve güzel dostluğundan ötürü *Uzm. Ecz. Merve AGUŞ* 'a, ve çalışma arkadaşlarım *Uzm. Ecz. Nihan ÇARÇAK*, *Uzm. Ecz. Ebru KOÇ*, *Ecz. Melike HASAR*, *Ecz. Maksat NURİYEV*, *Ecz. Muharrem AĞIRGÖL*, *Ecz. Deniz EKER*, *Ecz. Narin ÖZTÜRK* ve *Ecz. Deniz YAVUZ* 'a, yardımlarını esirgemeyen *Sevgi Özaşçı* ve *Erdal Doğan* 'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni "Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu" ile destekleyen *TÜBİTAK* 'a,

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

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3136

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Retinanın Anatomik ve Fonksiyonel Yapısı	4
2.1.1. Retinanın Kanlanması	5
2.1.2. Retinal Arterlerin Tonüsünün Düzenlenmesi	6
2.2. Retina Kaynaklı Gevşetici Faktör (RRF).....	9
2.3. Hipertansiyon.....	13
2.3.1. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi	16
2.3.2. Hipertansiyonun Etiyolojisi	16
2.3.2.1. Esansiyel Hipertansiyon.....	16
2.3.2.2. Sekonder Hipertansiyon	17
2.3.3. Hipertansiyonun Patofizyolojisi.....	17
2.3.4. Hipertansiyonun Klinik Değerlendirmesi	22
2.3.5. Hipertansiyonun Tedavisi	22
2.3.6. Hipertansiyonun Komplikasyonları	23
2.3.6.1. Kardiyak Komplikasyonlar	23
2.3.6.2. Serebrovasküler Komplikasyonlar	25
2.3.6.3. Renal Komplikasyonlar.....	26
2.3.6.4. Vasküler Komplikasyonlar.....	26
2.3.6.5. Gözle İlişkili Komplikasyonlar	26

2.3.7. Hipertansiyon ve Endotel Disfonksiyonu	31
2.4. Deneysel Hipertansiyon Modelleri	39
2.4.1. Spontan ve Genetik Hipertansiyon Modelleri.....	40
2.4.2. Diyet veya Farmakolojik Ajanlar İle Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri	41
2.4.3. Cerrahi Girişim İle Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri	43
2.4.4. Diğer Hipertansiyon Modelleri	43
2.5. Deneysel Hayvanlarında Kan Basıncının Ölçümü ve Takibi.....	44
2.5.1. Direkt Ölçüm Yöntemleri	44
2.5.2. İndirekt Ölçüm Yöntemleri (“Kuyruk-manşon [Tail-cuff]” Yöntemi).....	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Deneysel Hayvanlarının Genel Özellikleri.....	47
3.2. Araç ve Gereçler	47
3.3. Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları	49
3.4. Yöntem.....	50
3.4.1. Sıçanlarda Hipertansiyon Oluşturulması ve Takibi	51
3.4.2. Dokuların Fonksiyonel Çalışmalar İçin Hazırlanması.....	51
3.4.2.1. Sıçan Karotid ve Mezenterik Arteri ile Sığır Retinal Arterinin İzolasyonu.51	
3.4.2.2. Sıçan Retina Dokusunun İzolasyonu	52
3.4.2.3. Arterlerin Standardizasyonu.....	53
3.4.3. Fonksiyonel Çalışmalar.....	53
3.4.3.1. İzole Arterlerde Endotel ve Düz Kas Aracılı Gevşeme Yanıtlarının Belirlenmesi	53
3.4.3.2. İzole Arterlerde Kastırıcı Ajana Karşı Reaktivitenin Belirlenmesi	54
3.4.3.3. İzole Arterlerde Sıçan Retinasının Etkisinin İncelenmesi	54
3.4.3.4. İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde Rho-kinaz Yolağı Aracılı Gevşeme Yanıtlarının İncelenmesi	56
3.4.4. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeler	56
3.4.5. İstatistiksel Analiz.....	57
4. BULGULAR.....	59
4.1. Fonksiyonel Bulgular.....	59
4.1.1. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların Ağırlık ve Sistolik Kan Basıncı Düzeyleri .59	
4.1.2. İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerin Endotel ve Düz Kas Aracılı Gevşeme Yanıtları	62

4.1.2.1. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde Asetilkolin'in Gevşetici Etkisi	62
4.1.2.2. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde Sodyum Nitroprusiyat'ın Gevşetici Etkisi	65
4.1.3. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterinde Prostaglandin F _{2α} 'nın Kastırıcı Etkisi	68
4.1.4. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde KCl'nin Kastırıcı Etkisi	71
4.1.5. Retinanın Etkisi.....	74
4.1.5.1. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların Retinasının Sıçan Karotid ve Mezenterik Arterleri ile Sığır Retinal Arteri Üzerindeki Gevşetici Etkisi.....	74
4.1.5.2. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların Retinasının KCl ile Prekontrakte Edilen Sıçan Karotid ve Mezenterik Arterleri Üzerindeki Gevşetici Etkisi.....	84
4.1.6. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterinde Rhokinaz İnhibitörü Y-27632'nin Gevşetici Etkisi.....	89
4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları.....	92
4.2.1. Dokuların Işık Mikroskopunda İncelenmesi.....	92
4.2.2. Dokularda İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları.....	97
5. TARTIŞMA	104
KAYNAKLAR	114
ETİK KURUL KARARI	126
ÖZGEÇMİŞ	127

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: WHO/ISH'a göre arteriyel kan basıncının sınıflandırılması.....	15
Tablo 2-2: Hipertansif Retinopatinin Sınıflandırılması (Keith-Wagener-Barker' e göre)	28
Tablo 4-1: Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde asetilkolinin E_{maks} ve pD_2 değerleri	64
Tablo 4-2: Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde sodyum nitroprusiyatın E_{maks} ve pD_2 değerleri	67
Tablo 4-3: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ 'nın E_{maks} ve pD_2 değerleri.....	70
Tablo 4-4: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde KCl'nin E_{maks} ve pD_2 değerleri	73
Tablo 4-5: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile elde edilen prekontraksiyon düzeyleri ve retina dokusuna bağlı olarak oluşan maksimum gevşeme yanıtları	77
Tablo 4-6: $PGF_{2\alpha}$ ($3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilen sıçır retinal arterinde kontrol ve hipertansif sıçanların retina dokusunun maksimum gevşetici etkisi	81
Tablo 4-7: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde KCl (120 mM) ile elde edilen prekontraksiyon düzeyleri ve retina dokusuna bağlı olarak oluşan maksimum gevşeme yanıtları.....	87
Tablo 4-8: Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde Y-27632'nin E_{maks} ve pD_2 değerleri.....	91

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Retinayı oluşturan katmanların şematik gösterimi.....	5
Şekil 2-2: Hipertansif Retinopatide Meydana Gelen Yapısal Farklılıklar.....	29
Şekil 2-3: Endotel disfonksiyonun NO yolağına bağlı oluşum mekanizmaları.....	38
Şekil 3-1: İzole arter üzerine retina dokusu yerleştirilmesinin şematik gösterimi	55
Şekil 4-1: Kontrol ve hipertansif grup sıçanların ağırlıkları.....	59
Şekil 4-2: Kontrol ve hipertansif grup sıçanların sistolik kan basıncı düzeyleri	60
Şekil 4-3: Kuyruk-manşon yöntemi ile kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlara ait sistolik kan basıncı ölçümünü gösteren trase örnekleri	61
Şekil 4-4: $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde asetilkolinin konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.....	63
Şekil 4-5: $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterleri üzerinde sodyum nitroprusiyatın konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi	66
Şekil 4-6: Kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-9}M$ – $10^{-4}M$) ile elde edilen konsantrasyon yanıt eğrileri	69
Şekil 4-7: Kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde KCl (10 mM -100 mM) ile elde edilen konsantrasyon yanıt eğrileri	72
Şekil 4-8: Kontrol ve hipertansif sıçanların $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş karotid ve mezenterik arterlerinde sırasıyla, kontrol (K) ve hipertansif (H) retina dokusunun gevşetici etkisi (orijinal trase).	75
Şekil 4-9: Kontrol ve hipertansif sıçanların $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş karotid ve mezenterik arterleri üzerine sırasıyla, kontrol ve hipertansif retinaların yerleştirilmesi sonucu elde edilen gevşeme yanıtları	76
Şekil 4-10: $PGF_{2\alpha}$ ($3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş izole sığır retinal arterinde kontrol (K) ve hipertansif retina (H) dokusunun gevşetici etkisi (orijinal trase).....	79
Şekil 4-11: $PGF_{2\alpha}$ ($3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş sığır retinal arteri üzerine kontrol ve hipertansif sıçan retinaların yerleştirilmesi sonucu elde edilen gevşeme yanıtları	80

Şekil 4-12: $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-5}M - $3 \times 10^{-5}\text{M}$) ile prekontrakte edilen sığır retinal, sığan karotid ve sığan mezenterik arterleri üzerinde kontrol ve hipertansif sığanların retinasının maksimum (E_{maks}) gevşetici etkisi	83
Şekil 4-13: KCl (120mM) ile prekontrakte edilmiş sığan izole karotid ve mezenterik arterlerinde kontrol (K) ve hipertansif (H) sığanların retina dokularının gevşetici etkisi (orijinal trase).....	85
Şekil 4-14: Kontrol ve hipertansif sığanların KCl (120 mM) ile prekontrakte edilmiş izole karotid ve mezenterik arterleri üzerine sırasıyla kontrol ve hipertansif sığan retinalarının yerleştirilmesi sonucu elde edilen gevşeme yanıtları.....	86
Şekil 4-15: Kontrol ve hipertansif sığanların $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-5}M - $3 \times 10^{-5}\text{M}$) ile prekontrakte edilmiş izole karotid ve mezenterik arterleri üzerinde Y-27632'nin konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi	90
Şekil 4-16 : Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen retina dokusunun ışık mikroskobunda görünümü	94
Şekil 4-17: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen karotid arterlerin ışık mikroskobunda görünümü	95
Şekil 4-18: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen mezenterik arterlerin ışık mikroskobunda görünümü	96
Şekil 4-19: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen retina dokularında eNOS dağılımı	98
Şekil 4-20: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen karotid arterlerde eNOS dağılımı	99
Şekil 4-21: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen mezenterik arterlerde eNOS dağılımı	100
Şekil 4-22: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen retina dokularında iNOS dağılımı	101
Şekil 4-23: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen karotid arterlerde iNOS dağılımı	102
Şekil 4-24: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sığanlardan izole edilen mezenterik arterlerde iNOS dağılımı	103

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

RRF: Retina kaynaklı gevşetici faktör

L-NAME: N^G-nitro-L-arjinin-metil ester

KCl: Potasyum klorür

sGMP: Siklik guanozin monofosfat

ATP: Adenozin trifosfat

K⁺_{ATP}: Adenozin trifosfat duyarlı potasyum kanalları

K⁺_{Ca⁺²}: Kalsiyum bağımlı potasyum kanalları

SERCA: Sarkoplazmik / endoplazmik retikulum Ca⁺²-ATPaz pompası

NOS: Nitrik oksit sentaz

eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

PGF_{2α}: Prostaglandin F_{2α}

NO: Nitrik oksit

PGI₂: Prostrasiklin

sAMP: Siklik adenozin monofosfat

GABA: Gamaminobütirik asit

CGRP: Kalsitonin geni ile ilişkili peptit

L-NNA: N^G-nitro-L-arjinin

CaCl₂: Kalsiyum klorür

ANP: Atriyal natriüretik peptit

BNP: Beyin natriüretik peptit

CNP: C-tipi natriüretik peptit

NMDA: N-metil-D-aspartik asit

RAAS: Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi

ACTH: Adrenokortikotropik hormon

ADE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim

SVH: Sol ventrikül hipertrofisi

GİA: Geçici iskemik atak

- EDHF: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
- O_2^- : Süperoksit anyonu
- ADMA: Asimetrik dimetil arjinin
- PAT: Periferik arteriyel tonometri
- NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
- BH_4 : Tetrahidrobiopterin
- TNF_α : Tümör nekroz faktör α
- HSP₉₀: Isı şok proteini 90
- ROT: Reaktif oksijen türleri
- $\cdot OH$: Hidroksil radikali
- H_2O_2 : Hidrojen peroksit
- $ONOO^-$: Peroksinitrit
- COX-1: Siklooksijenaz-1
- COX-2: Siklooksijenaz-2
- PGD₂: Prostaglandin D₂
- PGE₂: Prostaglandin E₂
- TXA₂: Tromboksan A₂
- TP: Tromboksan-prostanoid
- SOD: Süperoksit dismutaz
- L-NMMA: N^G-monometil-L-arjinin
- CaM: Kalsiyum kalmodulin
- sGC: Çözünür guanilat siklaz
- GCA/ANP: Guanilil siklaz A / atrial natriüretik peptit
- TGR (mREN2) 27: Transgenik sıçan fare Ren-2 geni 27
- NaCl: Sodyum klorür
- DOCA: Deoksikortikosteron asetat
- 2K1C: Çift böbrek-tek darlık
- 1K1C: Tek böbrek-tek darlık
- 2K2C: Çift böbrek-çift darlık
- NA: Noradrenalin

Ach: Asetilkolin

SNP: Sodyum nitroprusiyat

IRT: İç retiküler tabaka

DRT: Dış retiküler tabaka

MHZ: Miyozin hafif zinciri

nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz

ÖZET

Gezerler, F. (2009). Normal ve Deneysel Hipertansif Sıçanlardan İzole Edilen Retinanın Karotid, Mezenterik ve Retinal Arterler Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Retina kaynaklı gevşetici faktör (RRF), retinal arterlerin tonüsünün ve retinal kan akımının düzenlenmesinde fizyolojik rolü olduğu düşünülen yapısı, etki mekanizması ve patofizyolojik önemi henüz aydınlatılmamış vazoaaktif bir maddedir. Çalışmamızda retinal sirkülasyonu etkileyebilecek kardiyovasküler bir hastalık olan hipertansiyonda, RRF'in karotid, mezenterik ve retinal arterler üzerindeki etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Deneysel hipertansiyon, NO sentaz inhibitörü L-NAME'in (60 mg/kg) Wistar-albino sıçanların (200-250g) içme sularına 6 hafta boyunca her gün eklenmesiyle oluşturulmuştur. Kontrol ve hipertansif hayvanların ağırlıkları ve sistolik kan basınçları takip edilmiş ve 6. haftanın sonunda karotid ve mezenterik arterleri ile retina dokuları izole edilmiştir. Myograf sisteminde paralel olarak çalışılan karotid ve mezenterik arterlerde, endotel ve düz kas fonksiyonları ile retinanın ve Rho-kinaz inhibitörü Y-27632'nin etkisi belirlenmiştir. Kontrol ve hipertansif sıçan retinasının gevşetici etkisi izole sıçır retinal arterleri üzerinde de araştırılmıştır. Ayrıca, kontrol ve hipertansif grubun arterleri ile retinasında histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. Hipertansif karotid ve mezenterik arterlerde endotel aracılı gevşeme yanıtlarının kontrole göre anlamlı düzeyde azaldığı, buna karşın düz kas aracılı gevşeme yanıtlarının değişmediği gözlenmiştir. Hipertansif sıçanların karotid arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ve KCl'e karşı maksimum reaktivitenin kontrole göre azaldığı, mezenterik arterde ise değişmediği belirlenmiştir. Hipertansif sıçan retinası ile hipertansif karotid ve mezenterik arterlerinde elde edilen gevşeme yanıtları, kontrol retinanın kontrol arterlerdeki gevşeme yanıtları ile benzer bulunmuştur. Benzer şekilde, izole sıçır retinal arterinde kontrol ve hipertansif sıçan retinasının gevşetici etkisinde farklılık görülmemiştir. Fonksiyonel bulgular, histopatolojik ve immünohistokimyasal sonuçlar ile desteklenmiştir. Sonuç olarak, endotel fonksiyonun bozulduğu hipertansif koşulda retinanın gevşetici etkisinin değişmediğini gösteren bu bulgular, retinal tonüsün düzenlenmesinde RRF'in kompensatuvar bir rolünün olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Retina kaynaklı gevşetici faktör (RRF), L-NAME ile indüklenen hipertansiyon, sıçan karotid arteri, sıçan mezenterik arteri, sıçır retinal arteri.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3136.

ABSTRACT

Gezerler, F. (2009). Investigation of the Effect of Retina on Carotid, Mesenteric and Retinal Arteries Isolated From Normotensive and Hypertensive Rats. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacology Master Thesis. İstanbul.

Retinal relaxing factor (RRF) is a novel substance which is suggested to have a physiological role in the regulation of retinal arterial tone whereas, its nature, mechanism of action and effectiveness in physiopathological conditions are still unknown. Herein, we aimed to investigate whether hypertension affects RRF by determining its reactivity on carotid, mesenteric and retinal arteries. Hypertension was induced by giving NO synthase inhibitor, L-NAME (60mg/kg/day in drinking water) to Wistar-albino rats (200-250g) for 6 weeks. Weights and systolic blood pressures of the animals were periodically recorded. After 6 weeks, endothelial and smooth muscle functions as well as effects of retina and Rho-kinase inhibitor Y-27632 were determined on isolated carotid and mesenteric arteries which were studied parallelly in a wire myograph system. Moreover, effect of rat retina was investigated on isolated bovine retinal artery. In addition, histopathological and immunohistochemical studies were performed in the arteries and retinal tissue. Endothelium-dependent relaxations were significantly reduced in hypertensive arteries whereas, endothelium-independent relaxations were found similar. Also maximum reactivities to $\text{PGF}_{2\alpha}$ and KCl were reduced in hypertensive carotid arteries whereas, no change was determined in hypertensive mesenteric arteries. Relaxant effects of hypertensive retinas on hypertensive arteries were not significantly different from corresponding controls. Effects of control and hypertensive retinas on bovine retinal arteries were also found similar. Functional findings were supported with histopathological and immunohistochemical results. Consequently, RRF effectiveness is unchanged in hypertension where endothelial function is impaired and suggested that RRF may have a compensatory role in the regulation of retinal arterial tone.

Key Words: Retina derived relaxing factor (RRF), L-NAME-induced hypertension, rat carotid artery, rat mesenteric artery, bovine retinal artery.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 3136.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Retinal kan akımının düzenlenmesinde retinal dokular ile endotel kaynaklı lokal etkili çeşitli vazoaaktif maddeler (nitrik oksit, prostasiklin, endotelin-1 vb.) etkili olmaktadır. 1998 yılında izole sığır retinal arteri ve retinasında yapılan bir çalışmada retinadan yeni bir gevşetici faktörün salıverildiği ve bu faktörün retinal arterlerin tonüsünün düzenlenmesinde rolünün olabileceği ortaya konmuştur. Prostaglandin F₂ ile kastırılmış izole sığır retinal arterlerinin üzerine bir parça retina dokusunun yerleştirilmesinin retinal arterlerde gevşemeye neden olduğu gösterilmiş ve bu etkinin retinadan serbestlenen gevşetici bir faktör (retina kaynaklı gevşetici faktör; RRF) aracılığıyla gerçekleştiği öne sürülmüştür. Çeşitli türlerden izole edilen (köpek, domuz, koyun, sığır, fare) retina dokularının da sığır retinal arterinde gevşeme yanıtına neden olması bu faktörün türe özgü olmadığını göstermiştir. Ayrıca, RRF'in bu gevşetici etkisinin retinal arterle sınırlı kalmadığı, renal, karotid ve mezenterik arter gibi farklı damarlarda ve hatta damar dışı düz kas olan sığır bronş düz kasında da olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, yapılan biyoassay çalışmalarında RRF'in polipeptit veya protein yapısında olmayan, hidrofilik özellikte, pH değişimlerine ve ısıya dayanıklı stabil bir faktör olduğu ortaya konmuş ve hipoksik ortamda gevşetici etkisinin potansiyalize olduğu bildirilmiştir. Etki mekanizmasına yönelik olarak, nitrik oksit sentaz, guanilat siklaz ve siklooksijenaz enzimlerinin spesifik inhibitörleri varlığında veya deendotelize edilen retinal arterlerde yapılan çalışmalarda ise RRF'in gevşetici etkisinde endotel kaynaklı gevşetici maddelerin rolü araştırılmıştır. Bu çalışmalara göre, RRF'in nitrik oksit (NO) veya siklooksijenaz yolağı ürünlerinden farklı olduğu ve gevşetici etkisinde siklik guanozin monofosfat (sGMP) yolağının katkısı olmadığı ortaya konulmuştur. Retinal gevşetici etkide sadece plazmalemmal kalsiyum-ATP_{az} pompasının kısmen rol oynadığı ileri sürülmekle birlikte RRF'in etki mekanizması halen tam olarak aydınlatılamamıştır.

Laboratuvarımızda da RRF'in etki mekanizmasının araştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen ilk bulgular yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile

benzerlik göstermiş ve RRF'in varlığını desteklemiştir. Ayrıca, özgün olarak, retina kaynaklı gevşetici etkinin bifazik bir karakter gösterdiği ortaya konmuştur. Retinanın gevşetici etkisinde önceki çalışmalara paralel olarak endotelden bağımsız bir mekanizmanın rol oynadığı ve NO, prostasiklin gibi endojen vazodilatör maddelerin bu gevşetici etkiye aracılık etmediği gösterilmiştir. Ayrıca, adenozin trifosfat (ATP) duyarlı potasyum (K^+_{ATP}) ve kalsiyum bağımlı potasyum (K^+Ca^{+2}) kanallarının açılmasının, sarkoplazmik / endoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) pompasının aktivasyonunun ya da L-tipi voltaj-bağımlı Ca^{+2} kanallarının kapanmasının retina kaynaklı gevşetici etkide rol oynamadığı belirlenmiştir.

RRF'in bazal koşullarda sürekli salıverilen bir faktör olduğu ve retinal kan akımının lokal olarak düzenlenmesinde fizyolojik bir öneme sahip olabileceği düşünülmektedir. Buna göre retina ile ilişkili olup retinal sirkülasyonu etkileyebilecek bazı kardiyovasküler (diyabet, hipertansiyon) hastalıklarda ya da göz ile ilişkili bazı rahatsızlıklarda (retinitis pigmentosa, inen optik atrofi, glokom vb.) RRF'in fonksiyonel rolünün belirlenmesinin önemli olduğu ileri sürülmektedir. Bu doğrultuda, laboratuvarımızda yürütülen çok yeni bir çalışmada sıçanlarda streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturularak RRF'in diyabetteki etkisi de incelenmiştir.

Bu çalışmada ise endotel disfonksiyonuna bağlı vasküler hasara ve retinanın yapısında olumsuz etkilere yol açabilen diğer bir önemli kardiyovasküler hastalık olan hipertansiyonda RRF'in etkinliğinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, Wistar albino (200-250 g) sıçanların içme sularına 6 hafta süreyle nonselektif NOS (Nitrik oksit sentaz) inhibitörü L-NAME (60 mg/kg)'in katılması suretiyle hayvanlarda deneysel hipertansiyon oluşturulmuştur. Hipertansif sıçanlardan izole edilen retinanın sıçan karotid ve mezenterik arteri üzerindeki gevşetici etkisi, kontrol (normal) hayvanların retinası ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Paralel olarak, hipertansif ve kontrol hayvanlardan izole edilen retinaların sıçır retinal arteri üzerindeki gevşetici etkisi de karşılaştırılmıştır. Retina kaynaklı gevşetici etkinin yanı sıra hipertansif ve kontrol hayvanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerin endotel ve düz kas aracılı gevşeme kapasiteleri, kastırıcı ajanlara ve Rho-kinaz inhibitörü Y-27632'ye karşı

reaktiviteleri de incelenmiştir. Fonksiyonel çalışmaları desteklemek amacıyla, hipertansiyon oluşumuna bağlı olarak arterler ve retina dokusunda oluşabilecek yapısal değişikliklerin tespiti için histopatolojik incelemeler yapılmış ve dokuların immunohistokimyasal olarak endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) dağılımları değerlendirilmiştir.

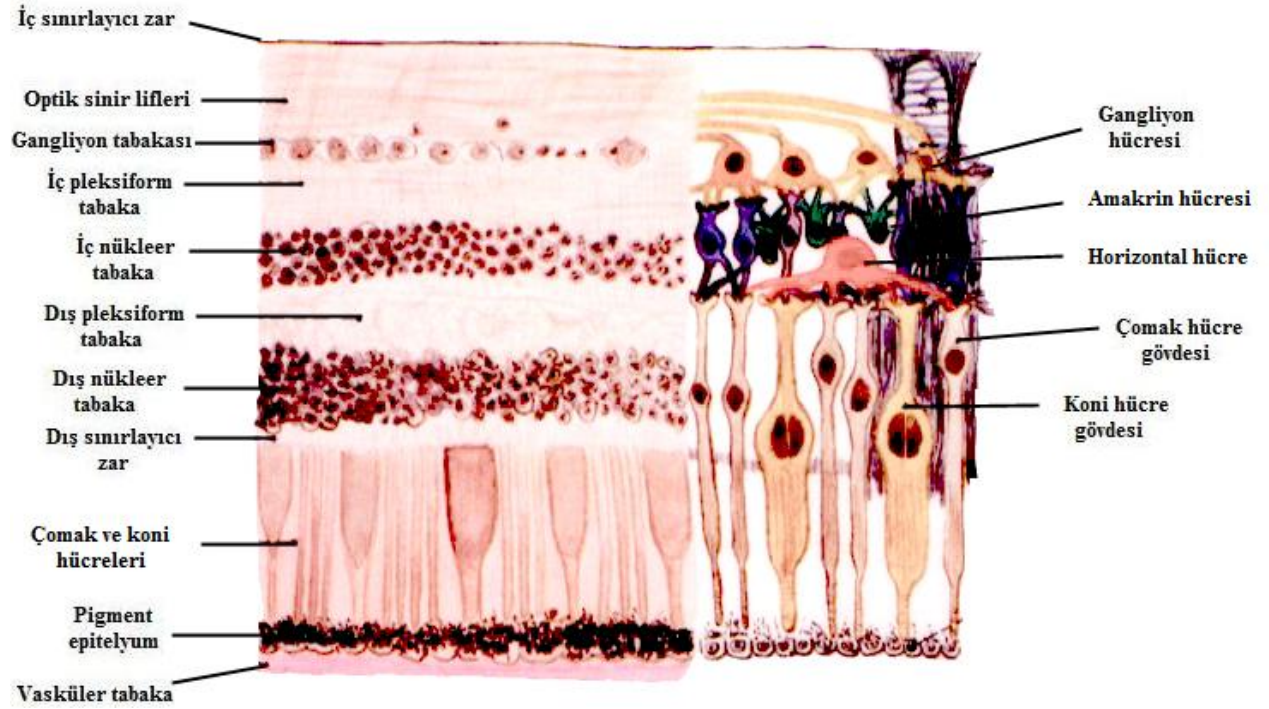
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Retinanın Anatomik ve Fonksiyonel Yapısı

Görme organı (göz), sağ-sol göz çukurlarına (orbita) yerleşmiş bir organdır. Göz küresi (bulbus oculi) orbita içinde yer alan, yaklaşık 2.5 cm çapında, 10 gr ağırlığında, yuvarlak bir biyokameradır. Göz küresine dıştan bakıldığında ortada siyah renkli göz bebeği, etrafında renkli kısım (iris) ve onları çevreleyen beyaz renkli sklera tabakası görülmektedir. İç boşluğu üç odacığa ayrılmış olan göz küresinin duvar yapısı dıştan içe doğru, fibröz tabaka (tunica fibrosa), vasküler tabaka (tunica vasculosa) ve sinirsel tabakadan (tunica interna bulbi) oluşmaktadır. Fibröz tabaka sklera ve korneadan oluşurken, vasküler tabaka koroid, korpus siliare ve iristen, sinirsel tabaka ise retina tabakasından oluşmaktadır (Yıldırım, 2006 pp.225-229).

Retina, göz küresinin en iç tabakasından bulunan ve çeşitli hücre katmanlarından, çok sayıda fotoreseptörden (çomak ve koni hücreleri) ve nöronlardan oluşan yaklaşık 0,5 mm kalınlığında bir tabakadır (Yıldırım, 2006 pp.225-229, Putz ve Pabst, 1997). Retinanın merkezinde görmede keskinliği sağlayan bölge olan fovea bulunmaktadır. Foveanın biraz uzağında beyaz ve sirküler görünümlü, merkezinde optik sinirler ve ana retinal kan damarları bulunan ve kör nokta olarak tanımlanan bir bölge vardır. Burası optik sinirin (nervus opticus) gözü terk ettiği bölgedir ve ışığa duyarsızdır. Optik sinir, gangliyon hücrelerinin aksonlarını içerir ve beyine kadar ulaşır. Göze dışarıdan gelen ışınlar retina dokusundaki çomak ve koni hücreleri ile algılanıp bu hücreler tarafından elektriksel sinyallere dönüştürülür. Bu sinyaller optik sinir aracılığı ile beynin oksipital lobundaki görme merkezine iletilir ve burada görüntüye dönüştürülür (Guyton ve Hall, 1996 pp.637-660).

Retina dokusundan dikey olarak bir kesit alındığında dıştan içe doğru şu katmanlardan oluştuğu görülür: Pigment epitelyum, çomak (rod) ve koni (kon) hücreleri, dış sınırlayıcı zar, dış nükleer tabaka, dış retiküler (pleksiform) tabaka, iç nükleer tabaka, iç retiküler (pleksiform) tabaka, gangliyon tabakası, optik sinir lifleri tabakası ve iç sınırlayıcı zardır (Guyton ve Hall, 1996 pp.637-660):



Şekil 2-1: Retinayı oluşturan katmanların şematik gösterimi

("http://education.vetmed.vt.edu/curriculum/VM8054/EYE/RETINA.HTM" web sayfasından alınarak uyarlanmıştır)

2.1.1. Retinanın Kanlanması

Yapısında çok sayıda reseptör ve sinir hücresi bulunduran retina tabakasının mikrosirkülasyonu (kanlanması) retinal homeostazın oluşumu ve korunması açısından önem taşımaktadır. Retinanın kanlanması sonucunda reseptör ve hücrelerin oksijen ve

besin ihtiyacı karşılanarak görsel fonksiyonun devamı sağlanmaktadır (Delaey ve Van de Voorde 2000).

Retinanın kanlanması sağlayan retinal damarlar, optik sinirin gözü terk ettiği bölgeden başlayarak tüm retina boyunca dağılım göstermektedir. Retinanın, oksijen ve besin ihtiyacı retinal ve koroidal sirkülasyon aracılığıyla karşılanmaktadır. Ancak, retinal damarlar foveaya ulaşamadığından bu bölgenin beslenmesi ve oksijenlenmesi koroidal damarlar aracılığı ile olmaktadır. Retinal ve koroidal sirkülasyon hem anatomik hem de fonksiyonel olarak farklılık göstermektedir. Toplam oküler sirkülasyonun % 85'i koroidal sirkülasyon ile gerçekleşir. Koroidal sirkülasyon esas olarak pigment epitelyum ve fotoreseptörler gibi retinanın dış kısımlarının beslenmesinden sorumlu iken, retinal sirkülasyon ise retinanın gangliyon tabakası, iç nükleer tabaka vb. iç kısımlarının kanlanmasını sağlamaktadır. Otonom sinir sistemi tarafından innerve edilen koroidal sirkülasyon düşük oksijen içeren, yüksek akış hızına sahiptir. Retinal sirkülasyon ise otonom sinir sistemi tarafından innerve olmamakta ve yüksek düzeyde oksijen içeren düşük akış hızı ile düzenlenmektedir (Delaey ve Van de Voorde 2000, Yu ve ark. 2003).

2.1.2. Retinal Arterlerin Tonüsünün Düzenlenmesi

Retinal arterlerin tonüsü, retinanın yapısını oluşturan hücrelerden ve retinal arterlerin endotel tabakasından hem bazal koşullar altında hem de çeşitli kimyasal ve mekanik uyarılara yanıt olarak salıverilen vazokonstriktör veya vazodilatör etkili çeşitli vasoaktif maddeler tarafından düzenlenmektedir (Delaey ve Van de Voorde 2000, Yu ve ark. 2003).

Damar endotelinden serbestlenen bir otokoid olan endotelin-1 kendi reseptörlerine bağlanarak damarlarda güçlü kasılmalara neden olmakta ve retinal arter tonüsünün düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, intravenöz endotelin-1 uygulanmasının sağlıklı gönüllülerin retinal arterlerinde daralmaya neden

olduğu ve bu etkinin spesifik ET_A reseptör blokleri BQ-123 ile geriye döndüğü gösterilmiştir (Polak ve ark. 2003). Yine insanlarda yapılan bir başka çalışmada, endotelin-1 enjeksiyonunun ardından gözün koroid tabakası ve optik diskinde pulsatil kan akışında bir azalma meydana geldiği ortaya konmuştur (Schmetterer ve ark. 1997). Tavşanlarda yapılan in vitro bir çalışmada ise gözün vitröz hümörüne enjekte edilen endotelin-1'in retinal arterleri kastırdığı bildirilmiştir (Ichikawa ve ark. 2004).

Retinal arter tonüsünün düzenlenmesinde arakidonik asit metabolizması ürünleri olan prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ve trombaksan A_2 'nin de rolü bulunmaktadır. Sığır retinal arteri ile yapılan bir çalışmada, $PGF_{2\alpha}$ ve trombaksan A_2 analogu $Tx_{2\alpha}$ retinal arterlerde doza bağımlı kasılmalara neden olmuştur (Nielsen ve Nyborg 1990). Domuz retinal arterleri ile yapılan bir başka çalışmada ise, $PGF_{2\alpha}$ ve trombaksan A_2 analogu U46619 kullanılarak bazal tonüsteki retinal arterlerde doza bağımlı kasılma yanıtları elde edilmiştir (Yu ve ark. 2001).

Retinal arterlerin otonomik innervasyonu olmamasına rağmen dolaşımdaki katekolaminlerin ve serotoninin retinal arterlerde kasılma yanıtı oluşturabileceği ve retinal arterlerin tonüsünün düzenlenmesinde bu maddelerin de rolünün olabileceği düşünülmektedir. Destekleyici olarak, izole sığır retinal arteri ile yapılan çalışmalarda noradrenalin (Nielsen ve Nyborg 1989), fenilefrin (Nielsen ve Nyborg 1989) ve serotoninin (Delaey ve Van de Voorde 1998) kasılma yanıtları oluşturduğu bildirilmiştir.

Anjiyotensin II güçlü vazokonstriktör bir maddedir. Yapılan radyoligand bağlanma çalışmalarına göre, insan ve sığır retinal arterlerinde anjiyotensin II için bağlanma bölgelerinin olduğu bildirilmiştir (Ferrari-Dileo ve ark. 1991). Anestezi altındaki kedilerin vitröz hümörüne anjiyotensin II enjeksiyonu retinal arterlerde belirgin bir daralma oluşturmuştur (Rockwood ve ark. 1987). Bir başka çalışmada, anjiyotensin II izole sığır retinal arterlerinde zayıf bir kasılma yanıtına neden olurken; siliyer arterlerde ise daha güçlü kasılmalar oluşturduğu gözlenmiştir (Nyborg ve Nielsen

1995, Meyer ve ark. 1995, Nyborg ve Nielsen 1990). Bu bulgular, anjiyotensin II'nin retinal arter tonüsü regülasyonundaki rolünü desteklemektedir.

En önemli endotel aracılı gevşetici faktörlerden biri olan NO, düz kasta guanilat siklazı aktive ederek siklik guanozin monofosfat (sGMP) düzeylerini yükseltmekte ve böylece hücre içi kalsiyum düzeylerini düşürerek arterlerde gevşemeye neden olmaktadır. NO'nun retinal arterlerin endotel tabakasından ve retinanın glial hücrelerinden salgılanarak retinal ve koroidal damarlarda gevşemeye neden olduğu bildirilmektedir (Delaey ve Van de Voorde 2000, Toda ve Nakanishi-Toda 2007). İzole sığır retinal arterlerinde yapılan çalışmalarda $PGF_{2\alpha}$ ile kastırılmış damarların üzerine asetilkolin, histamin gibi vazodilatör etkili maddelerin ilavesinin retinal arterde NO aracılı gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir (Benedito ve ark. 1991a, Benedito ve ark. 1991b). Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir klinik çalışmada ise, NOS inhibitörü N^G -monometil-L-arjinin (L-NMMA) 'nin ortalama kan basıncını ve kalp atım sayısını arttırdığı ve retinal arterlerde daralmaya neden olduğu gösterilmiştir (Dorner ve ark. 2003). Bu bulgular vazodilatör etkili NO'nun retinal arterlerin tonüsünün regülasyonundaki rolünü ortaya koymaktadır.

Prostasiklin (PGI_2), arakidonik asidin siklooksijenaz yolağı ürünü olup, damar düz kasında adenilat siklaz enzimini aktive etmekte ve siklik adenzin monofosfat (sAMP) düzeylerini yükselterek gevşemeye neden olmaktadır. İzole sığır retinal arteri ile yapılan bir çalışmada, kümülatif PGI_2 uygulanmasının $PGF_{2\alpha}$ ile kastırılmış retinal arterleri konsantrasyon-bağımlı olarak gevşettiği bildirilmiştir (Nielsen ve Nyborg 1990). Ayrıca, sığır retinal endotel hücre kültürlerinde PGI_2 salınımı gösterilirken (Robertson ve ark. 1990); sığır retinal perisitlerin trombaksan A_2 'ye yanıt olarak kasıldığı, PGI_2 'e yanıt olarak ise gevşediği belirtilmiştir (Dodge ve ark. 1991).

Vazokonstriktör ve vazodilatör etkili bu vazoaktif maddelerden başka, gamaaminobütirik asit (GABA) (Delaey ve Van de Voorde 1998), glutamat (Delaey ve Van de Voorde 1998), glisin (Delaey ve Van de Voorde 1998, Gadea ve ark. 2002), adenzin (Delaey ve Van de Voorde 1998), adrenomedullin (Boussery ve ark. 2004) ve

kalsitonin geni ile ilişkili peptit (CGRP) (Boussery ve ark. 2005) gibi maddelerin de retinal arterlerin tonüsünün düzenlenmesinde etkili olabilecekleri bildirilmektedir. Bununla birlikte, retinal damarların içinden geçen kanın pH'sının, parsiyel O₂ ve CO₂ basıncının da retinal damar regülasyonu açısından önemli olabileceği rapor edilmektedir (Delaey ve Van de Voorde 2000, Yu ve ark. 2003).

1998 yılında izole sığır retinal arterleri ve retinasında yapılan bir çalışmada ise yapısı, etki mekanizması ve fonksiyonel önemi henüz aydınlatılmamış olan yeni bir gevşetici faktörün retinadan serbestlendiği ve retinal arterlerin tonüsünün düzenlenmesinde rolünün olabileceği ileri sürülmüştür (Delaey ve Van de Voorde 1998).

2.2. Retina Kaynaklı Gevşetici Faktör (RRF)

Retinal arterlerin tonüsünün düzenlenmesinde lokal ve sistemik etkili çeşitli vazoaaktif maddelerin görev yaptığı bilinmektedir. 1998 yılında sığır retinal arterinde yapılan bir çalışma ile retinadan salıverilen yeni bir gevşetici faktörün varlığı ortaya konulmuştur (Delaey ve Van de Voorde 1998). Bu çalışmada, retinal dokudan tamamen temizlenmemiş retinal damarlarda prostaglandin F_{2α} ile elde edilen kasılma yanıtlarının, retina dokusundan tamamen temizlenmiş damarlarla karşılaştırıldığında daha düşük düzeyde olduğu gösterilmiştir. Trombaksan A₂ analogu U46619, serotonin ve endotelin-1 gibi diğer kastıcı ajanlarla da retinal ve retinasız damarlarda benzer özellikte kasılma yanıtları elde edilmiştir. Aynı çalışmada, prostaglandin F_{2α} ile kastırılmış izole sığır retinal arterlerinin üzerine bir parça sığır retina dokusunun yerleştirilmesi ile retinal arterlerde gevşeme yanıtının olduğu gösterilmiş ve bu gevşetici etkinin retinadan serbestlenen gevşetici bir faktör (retina kaynaklı gevşetici faktör; RRF) aracılığıyla gerçekleştiği öne sürülmüştür. Retina dokusunun kaldırılmasıyla retinal arterdeki bu gevşemenin hızla ve tamamen geri döndüğü belirlenmiştir. Retina dokusunun yerine bir parça koroid dokusunun yerleştirilmesinin ise retinal arterde benzer düzeyde bir gevşemeye neden olmadığı görülmüş ve böylece retinaya bağlı gevşeme yanıtının mekanik bir etki sonucu oluşmadığı ortaya konmuştur

(Delaey ve Van de Voorde 1998). Laboratuvarımızda yürütülen çalışmalarda da, $PGF_{2\alpha}$ ile kastırılmış sığır retinal arterinde retinaya bağlı olarak gevşeme yanıtı gözlenmiş ve bu gevşetici etkinin çoğunlukla bifazik karakter gösterdiği ortaya konulmuştur. Ayrıca, KCl (Potasyum klorür; 120 mM) ile ön kasılma oluşturulan arterlerde retinal gevşemenin monofazik hale dönüştüğü ve maksimum düzeyinin önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Takır ve ark. 2006a, Takır ve ark. 2006b).

Retina kaynaklı gevşetici faktörün sığır retinasından başka; köpek, domuz, koyun (Delaey ve Van de Voorde 1998), sıçan (Boussery ve ark. 2002b, Ağuş ve ark. 2007) ve fare (Boussery ve ark. 2002a) retinalarından da serbestlendiği gösterilmiş ve böylece bu gevşetici faktörün türe özgü olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, retina kaynaklı gevşetici faktörün etkisinin retinal arterle sınırlı kalmadığı, sıçan mezenterik, renal (Delaey ve Van de Voorde 1998) ve karotid arteri (Boussery ve ark. 2002b, Ağuş ve ark. 2007), fare aortası (Boussery ve ark. 2002a) ve ayrıca damar dışı bir düz kas olan sıçan bronş düz kasını (Delaey ve Van de Voorde 1998) gevşettiği gösterilmiştir. Bunun yanısıra, gerek retinal arter (Takır ve ark. 2006a, Takır ve ark. 2006b) gerekse diğer dedektör arterlerde (Delaey ve Van de Voorde 1998, Boussery ve ark. 2002a, Boussery ve ark. 2002b) yapılan çalışmalar retinanın gevşetici etkisinin tekrar edilebilir nitelikte olduğunu göstermiştir. Yapılan biyoassay çalışmalarına göre; RRF, polipeptit ve protein yapısında olmayan, hidrofilik özellikte, ısıya dayanıklı stabil bir faktör olarak belirlenmiştir (Delaey ve Van de Voorde 1998). pH ve pO_2 basıncındaki değişikliklerin damar düz kas tonüsünü etkileyerek oküler sirkülasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Delaey ve Van de Voorde 2000). Ortam pH'sının değişmesinin RRF'in gevşetici etkisini değiştirmediği (Delaey ve Van de Voorde 1998), buna karşılık akut hipoksinin RRF yanıtını potansiyalize ettiği gösterilmiştir (Delaey ve ark. 2000, Boussery ve ark. 2002a, Boussery ve ark. 2002b).

RRF yanıtının genel özelliklerini ortaya koyan bu çalışmaların ardından, etki mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. İlk olarak, RRF ve endotel kaynaklı gevşetici faktörler arasındaki ilişki araştırılmıştır. Endotel tabakası mekanik olarak uzaklaştırılmış sığır retinal arteri ve sıçan karotid arterinde yürütülen

çalışmalarda endotel varlığında elde edilen gevşeme yanıtına benzer sonuçların alınması, retinaya bağlı bu gevşeme yanıtının endotelden bağımsız bir mekanizma ile oluştuğunu göstermiştir (Delaey ve Van de Voorde 1998, Boussery ve ark. 2002b). Ayrıca, NOS inhibitörü N^G-Nitro-L-Arjinin'in (L-NNA) varlığında yapılan çalışmalar, RRF'e bağlı gevşeme yanıtında herhangi bir değişikliğin olmadığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, NO'nun gevşetici etkisine aracılık eden hücre içi ikinci ulak guanilat siklazın metilen mavisini (Delaey ve Van de Voorde 1998) veya ODQ (Boussery ve ark. 2002a, Boussery ve ark. 2002b) ile inhibe edilmesi sonrasında retina kaynaklı gevşemede bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, çözünür guanilat siklaz geni silinmiş (sGC_{α1}-knock-out) farelerin PGF_{2α} ile prekontrakte edilmiş aortası üzerine bir parça retina dokusunun yerleştirilmesiyle gevşeme yanıtının görölmesi RRF'in etkisinin sGMP aracılı olmadığını desteklemiştir (Maenhaut ve ark. 2007). Bu bulgular doğrultusunda RRF'in NO'dan farklı bir madde olduğu düşünölmektedir.

RRF'in prostasiklin veya prostaglandin E₁ gibi siklooksijenaz yolağının vazodilatör etkili bir ürünü olabileceği düşünölmüş ve bu amaçla siklooksijenaz inhibitörleri varlığında çalışmalar yapılmıştır. İndometazin, diklofenak sodyum vb. siklooksijenaz yolağı inhibitörlerinin uygulanmasının RRF'e bağlı gevşeme yanıtında herhangi bir değişikliğe neden olmaması RRF'in etki ve yapısının prostanoid kaynaklı olmadığını göstermektedir (Delaey ve Van de Voorde 1998, Boussery ve ark. 2002a, Boussery ve ark. 2002b). Buna karşın, domuz retinal arterleri ile yapılan bir başka çalışmada ise etrafında bir parça retina dokusu bulunan retinal arterlerin U46619 ile elde edilen kasılma yanıtlarının retina dokusundan tamamen temizlenmiş arterlerde elde edilen yanıtla kıyasla daha düşük düzeyde olduğu ve bu azalmanın siklooksijenaz inhibitörü ibuprofen varlığında engellendiği bildirilmektedir (Holmgaard ve ark. 2008a). RRF'in etkisinde siklooksijenaz yolağının vazodilatör prostaglandinlerinin rolünü düşündüren bu bulguya karşın, sıçan karotid arterinde sıçan retinasının ve sAMP analogu forskolinin etkisinin incelendiği bir çalışmada RRF'in etkisinde sAMP yolağının rolünün olmadığı ortaya konulmuştur (Maenhaut ve ark. 2007). Söz konusu bu çalışmada, RRF ile gevşemiş olan karotid arterlerin sAMP düzeylerinin kontrole göre değişmediği bununla birlikte, sAMP analogu forskolin ile gevşemiş arterlerde ise sAMP düzeylerinin yükseldiği belirlenmiştir.

RRF'in etkisinde NO ve siklooksijenaz yolağının rolünün olmadığını ortaya koyan bu çalışmaların ardından RRF'in gevşetici etkisinde intrasellüler kalsiyum düzeyini düzenleyen hücrel mekanizmaların rolü incelenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, RRF'in etkisinde L-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının, Na^+ - Ca^{+2} iyon değıştiricisinin, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) pompasının rolünün olmadığı ancak plazma membranındaki Ca^{+2} -ATPaz pompasının aktivasyonunun RRF'in gevşetici etkisine kısmen aracılık ettiği öne sürülmüştür (Boussery ve ark. 2002b; Takır ve ark. 2006a). Laboratuvarımızda sığır retinal arteri ile yapılan bir çalışmada ise, kalsiyumsuz ortamda CaCl_2 (kalsiyum klorür) ile elde edilen doza bağımlı kasılmaların retina dokusu varlığında engellendiğı gösterilmiş ve retinanın gevşetici etkisinde düz kasta bulunan kontraktıl proteinlerin kalsiyuma karşı duyarlılığının azalmasının da rol oynayabileceğı ileri sürülmüştür (Takır ve ark. 2006a).

RRF'in etki mekanizmasında K^+ kanallarının rolü de incelenmiş ve gevşetici etkisinde ATP duyarlı K^+ kanalı ve kalsiyum bağımlı K^+ kanallarının rolünün olmadığı belirlenmiştir (Boussery ve ark. 2005, Takır ve ark. 2006b).

Retinanın yapısını oluşturan hücrelerden çok çeşitli vazoaktif maddelerin serbestlendiğı bilinmektedir. RRF'in etkisinde retina kaynaklı bu maddelerin de rolü araştırılmıştır. Bu doğrultuda, retinaya bağılı gevşeme yanıtında glisin, dopamin, melatonin (Delaey ve Van de Voorde 1998), adrenomedullin (Boussery ve ark. 2004), CGRP, atriyal natriüretik peptid (ANP), beyin natriüretik peptid (BNP) ve C-tipi natriüretik peptid (CNP) (Boussery ve ark. 2005) gibi lokal etkili endojen maddelerin rolünün olmadığı ortaya konmuştur. Aynı araştırmacıların izole sığır retinal arterinde yaptıkları bir çalışmada (Delaey ve Van de Voorde 1998) RRF yanıtının GABA ve glutamat ile ilişkili olmadığı bildirilmiş olmasına rağmen izole domuz retinal arteri ile yürütölen yeni bir çalışmada bu nörotransmitterlerden glutamatın agonisti olan N-metil-D-aspartik asidin (NMDA) ilginç olarak sadece perivasküler retina dokusu varlığında retinal arterde gevşeme oluşturduğu rapor edilmiştir (Holmgaard ve ark. 2008b).

RRF'in retina kaynaklı diğeri bir gevşetici faktör olan adenozin ile ilişkisi de incelenmiş ve adenozin reseptör antagonisti varlığında yapılan çalışmalar RRF'in adenozinden farklı olduğunu ortaya koymuştur (Delaey ve Van de Voorde 1998). Ancak ileri çalışmalarda, izole sığır retinal arteri ve domuz retinal arterinde adenozinin doza bağımlı gevşetici etkisinin retina dokusu varlığında potansiyalize olduğunun gözlenmesi, adenozinin RRF'in gevşetici etkisine kısmen de olsa aracılık ettiğini düşündürmektedir (Holmgaard ve ark. 2007, Maenhaut ve ark. 2009). Destekleyici olarak bir başka çalışmada, adenozinin perivasküler retinal dokuda glutamat reseptörlerinin aktivasyonu sonrasında salıverilen ATP'nin hidrolizi ile sentezlendiği öne sürülmektedir (Holmgaard ve ark. 2008b).

Bugüne kadar elde edilen veriler doğrultusunda RRF'in bazal koşullarda sürekli salıverilen bir faktör olduğu ve retinal kan akımının lokal olarak düzenlenmesinde fizyolojik bir öneme sahip olabileceği öne sürülmektedir. Ancak, RRF'in etkisinin retinal sirkülasyonu ve retinayı etkileyen çeşitli patofizyolojik koşullarda nasıl değiştiği bilinmemektedir. Bu amaçla laboratuvarımızda yürütülen bir çalışmada, sıçanlarda streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturularak retinanın retinal ve periferel damarlar üzerindeki etkinliği incelenmiş ve RRF yanıtının diyabetik koşullarda değişmediği gözlenmiştir. Bu doğrultuda, RRF'in retinal arter tonüsünün düzenlenmesinde kompensatuvar bir rolünün olabileceği ileri sürülmüştür (Aguş ve ark. 2008).

2.3. Hipertansiyon

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının sürekli yüksek olması ile karakterize olan kronik nitelikte bir kalp-damar sistemi hastalığıdır. Hipertansiyon, zaman içinde başlıca kalp ve damarlarda geri dönüşümlü olmayan (irreversible) değişiklikler oluşturarak ciddi komplikasyonlara yol açması ve toplumda en sık görülen hastalıkların başında gelmesi nedeniyle önemli bir klinik sorunu teşkil etmektedir.

Genel olarak; sistolik basıncın 140 mmHg ve üzeri ile diyastolik basıncın 90 mmHg ve üzeri olması hipertansiyonu ifade etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü / Uluslar arası Hipertansiyon Cemiyeti (WHO-ISH)'nin hipertansiyon tanısı için 2003 yılında yayınladığı 18 yaş ve üzeri erişkinlerde kan basıncına ait ayrıntılı tanım ve sınıflandırma Tablo 2-1'de görülmektedir (Whitworth 2003).

Tablo 2-1: WHO/ISH'a göre arteriyel kan basıncının sınıflandırılması

	Sistolik (mmHg)	Diastolik (mmHg)
Optimal	< 120	<80
Normal	<130	<85
Yüksek-Normal	130-139	85-89
1.derece hipertansiyon (hafif)	140-159	90-99
Alt grup: Sınırdaki hipertansiyon	140-149	90-94
2.derece hipertansiyon (orta)	160-179	100-109
3.derece hipertansiyon (ağır)	≥ 180	≥ 110

(2003 WHO/ISH hipertansiyon durum raporundan uyarlanmıştır)

2.3.1. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi

Hipertansiyon ırk, coğrafya, yaş ve cinsiyete göre değişen bir sıklıkta görülmektedir. Dünya üzerinde yaklaşık 1 milyar bireyin hipertansiyon tehdidi altında bulunduğu ve her yıl ortalama 7.1 milyon kişide ölüme sebep olduğu tahmin edilmektedir (World Health Report 2002). Hipertansiyon gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde erişkin nüfusun yaklaşık % 20'sinde görülmektedir (Brown ve Haydock 2000). Hastalık 40 yaşın altında seyrek görülürken, 40 yaşın üstünde görülme sıklığı yaş ile orantılı bir şekilde artmakta, 65 yaşın üzerinde ise % 50'yi geçmektedir. Genel olarak hipertansiyonun görülme sıklığı erkeklerde kadınlara kıyasla 55 yaşına kadar yüksek seyrederken, bu yaşın üzerinde kadınlarda da artmaktadır (Hajjar ve Kotchen 2003). Kadınların menopoz sonrası düşen hormon düzeyleri (östrojen, progesteron) hipertansiyon görülme sıklığını arttırmaktadır. Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği'nce 2003 yılında yapılan "Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması"na göre ülkemizde hipertansiyonun görülme sıklığı, % 31.8 olarak kaydedilmiştir. Bu oran kadınlarda (% 36.1) erkeklerden (% 27.5) daha yüksek bulunmuştur (Altun ve ark. 2005).

2.3.2. Hipertansiyonun Etiyolojisi

Hipertansiyon birincil (esansiyel, primer, veya idiyopatik) ve ikincil (sekonder) olmak üzere ikiye ayrılır. Temel nedeni belli olmayan esansiyel hipertansiyon, olguların yaklaşık %90-95'ini oluşturur. %5-10'luk kısımda yer alan sekonder hipertansiyonun nedeni ise, arteriyel kan basıncını yükselttiği bilinen ilaçların kullanımı, bazı böbrek ve endokrin kaynaklı hastalıklar ile çevresel faktörlere dayanmaktadır.

2.3.2.1. Esansiyel Hipertansiyon

Esansiyel hipertansiyonun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, gelişiminde genetik yatkınlık, kalp debisi ve periferik damar direncindeki artış, sodyum alımının

artması, potasyum alımının azalması, obezite, insüline artan direnç gibi çeşitli faktörlerin rol oynadığı öngörülmektedir. Esansiyel hipertansiyonun radikal bir tedavisi yoktur ancak, klinikte en önemli parametresi olan kan basıncındaki artışın düşürülmesine yönelik bir tedavi yaklaşımı uygulanmaktadır.

2.3.2.2. Sekonder Hipertansiyon

Sekonder hipertansiyon genel olarak çeşitli ilaç ve kimyasal maddelerin kullanımı ve hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sekonder hipertansiyonun gelişiminde kortikosteroidler, adrenokortikotropik hormon (ACTH), östrojen, oral kontraseptifler, antidepresanlar, eritropoetin gibi ilaçların ve sodyum klorür, alkol, ağır metaller, lityum tuzları gibi kimyasal maddelerin kullanımının; kronik böbrek hastalığı, renovasküler hastalıklar, primer hiperaldosteronizm, Cushing sendromu, feokromositoma, tiroid ve paratiroid ile ilişkili hastalıkların rol oynadığı bildirilmektedir (DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217).

2.3.3. Hipertansiyonun Patofizyolojisi

Hipertansiyon kalp debisi ve periferik damar direnci arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak ortaya çıkan kardiyovasküler bir hastalıktır. Kalp debisi ve periferik damar direncinin kontrolünde renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS), sempatik sinir sistemi ve elektrolit dengesi gibi birçok faktör rol oynamaktadır. Bütün bu faktörler temelde arteriyel kan basıncı üzerine etki göstererek hipertansiyonun gelişimine katkı sağlamaktadır.

i. Kalp debisi (Kardiyak output): Kalp debisi, kalbin bir dakikada aortaya pompaladığı kan miktarı olarak tanımlanmaktadır. Teorik olarak, venöz dönüş, sempatik aktivasyon, kan hacminin artışı gibi faktörler kalp debisinde artışa neden olmaktadır (Guyton ve Hall, 1996, pp.239-252) Artan kan basıncı nedeniyle dokuların oksijen ihtiyacının

yeterince karşılanamaması durumu kompensatuvar bir mekanizma olarak kalp debisinde de artışa neden olmaktadır. Kalp debisindeki artış esansiyel hipertansiyonun başlamasında rol oynasa da, tek başına hipertansiyonun en önemli parametresi olan kan basıncındaki yükselmeden sorumlu değildir (Chisholm-Burns ve ark., 2008, pp.9-33). Kan basıncındaki artış, kalp debisinin yanı sıra su-elektrolit dengesi, RAAS vb. faktörlerin etkilenmesi sonucu periferik damar direncindeki değişikliklere bağlı olarak gelişmektedir.

ii. Periferik Direnç: Periferik direnç, damarların içinden geçen kan akımının damar çeperine yaptığı basınç olarak tanımlanmaktadır. Periferik direncin artışında damarlarda meydana gelen fonksiyonel değişiklikler ya da damar hipertrofisi gibi yapısal farklılıklar rol oynamaktadır. Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi ve sempatik sinir sisteminin aşırı aktivasyonu, hücresel genetik değişiklikler, endotel aracılı vazoaaktif maddeler damarlarda vazokonstriksiyona neden olarak kan basıncını yükseltmektedir. Bununla birlikte, insülin vb büyüme faktörleri ve sitokinler gibi çeşitli endojen maddeler damar düz kas hücrelerinde hipertrofiye yol açarak periferik direnç artışına katkıda bulunmaktadır (Guyton ve Hall, 1996, pp.239-252; DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217).

iii. Genetik yatkınlık: Yapılan çalışmalara göre genetik yatkınlık hipertansiyon oluşumunda %30-60 oranında etkili olmaktadır (Harrap 1994; Brown ve Haydock 2000). Araştırmalar esansiyel hipertansiyondan sorumlu olduğu kabul edilen kan basıncındaki bozulmanın monogenik (tek bir gene bağlı) ve poligenik (birden fazla gene bağlı) tipleri olduğunu ortaya koymaktadır (Warnock 2001, Staessen ve ark. 2003). Yapılan çeşitli çalışmalarda esansiyel hipertansiyonun gelişiminden sorumlu olduğu düşünülen anjiyotensinojen, β - ve α -adrenerjik reseptörler, G proteinlerinin β -3 alt üniteleri gibi proteinleri kodlayan genlerin polimorfizm gösterdiği ve bu genlerin hipertansiyonun oluşumunda rol oynadığı bildirilmektedir (O'Byrne ve Caulfield 1998, Bray ve ark. 2000).

iv. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS): Renin, böbreğin jukstaglomerüler hücrelerinden salgılanan ve burada depolanan proteolitik bir enzimdir. Renin karaciğerden salgılanan anjiyotensinojeni, anjiyotensin I'e dönüştürürken, anjiyotensin I de anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) aracılığı ile anjiyotensin II'ye dönüştürülmektedir. Anjiyotensin II arteriyolları ve prekapiller sfinkterleri büzerek periferik damar direncini ve dolayısıyla kan basıncını arttırmaktadır. Bununla birlikte, anjiyotensin II böbrek üstü bezlerini etkileyerek aldosteron salgılanmasına neden olmakta ve böylece böbrek tubullarından su ve tuzun geri emilimini sağlayarak ekstraselüler sıvı hacmini arttırmaktadır. Artan sıvı hacmi arter basıncında artışa yol açarken renin salgılanmasında inhibisyona ve buna bağlı olarak plazma anjiyotensin II düzeylerinde azalmaya neden olmakta ve bir kompensatuvar mekanizma olarak kan basıncını düşürücü görev yapmaktadır. Renin salgılanmasının düzenlenmesinde renal perfüzyon basıncı, katekolaminler, anjiyotensin II, elektrolitler, vazopresin, arakidonik asit, PGE₂, PGI₂ gibi çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Ayrıca böbreğin jukstaglomerüler hücreleri baroreseptör görevi görerek plazma renin düzeyini kontrol altında tutmaktadır. Örneğin, azalmış renal arter basıncı veya böbrek kan akışı ya da serum potasyum miktarındaki azalma bu hücreler tarafından algılanmakta ve renin salgılanmasına sebep olmaktadır. Yüksek plazma renin aktivitesi hipertansiyonun gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Guyton ve Hall, 1996, pp.221- 237; DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217).

v. Aşırı Sempatik Aktivasyon: Çeşitli fiziksel veya mental uyarılar (stres gibi) ile indüklenen sempatik sinir sistemi aktivitesindeki artış, kan basıncının aniden ve belirgin derecede yükselmesine neden olmaktadır. Aralıklarla yaşanan stresler sonucu böbrek üstü medullasından salgılanan katekolaminler; hem kan basıncında yükselmeyi başlatan presör mekanizmayı, hem de kan basıncı yüksekliğini damar hipertrofisi yoluyla sürdüren trofik mekanizmayı tetiklemektedir. Günlük yaşamda yüksek strese maruz kalan ve aile geçmişinde hipertansiyon bulunan hipertansif hastalarda yapılan araştırmalar stresin hipertansiyonda etkin rol oynadığı görüşünü ortaya koymaktadır (Light ve ark. 1999, Simon 2004).

vi. Elektrolitlerin Rolü: Yapılan epidemiyolojik ve klinik çalışmalar aşırı sodyum alımının hipertansiyona olan katkısını açıklamıştır. Yüksek tuz diyetiyle beslenen popülasyonlarda hipertansiyon ve inmenin görülme sıklığı da artan kan basıncına paralel olarak yükselmektedir. Sodyum böbrek tubuluslarından suyun geri emilimini arttırmak suretiyle ekstraselüler sıvı hacmini yükseltmektedir. Ekstraselüler sıvı hacminde meydana gelen artış ile kan hacmi ve kalbe dönen venöz kan miktarında artış olmakta, buna bağlı olarak kalp debisi ve periferik direnç artışı ile kan basıncı yükselmektedir. Normal kişilerde ise kan basıncı yükseldiğinde böbreklerden sodyum ve su atılması artar, sıvı hacmi azalır ve basınç normale döner (basınç natriüresi). Ancak, sodyumun yüksek kan basıncının oluşmasındaki rolü ile ilgili bilgiler yeterli olmamakla birlikte natriüretik mekanizma ile ilgili bir bozukluğun yüksek kan basıncına yol açabileceği şeklinde görüşler bulunmaktadır (Guyton ve Hall, 1996, pp.221- 237; DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217).

Kalsiyum homeostazındaki değişiklikler de hipertansiyonun gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Diyetle alınan kalsiyum miktarındaki azalma hücre içi ve dışında kalsiyum dengesini bozarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışına neden olur. Bu dengesizlik periferik damar direncini arttırarak damar düz kas fonksiyonunda değişiklikler meydana getirir. Hipertansif hastalarda yapılan bazı çalışmalar diyetle alınan kalsiyumun kan basıncında bir azalma oluşturduğunu ortaya koymaktadır. (DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217)

Serum potasyum düzeyindeki değişiklikler hipertansiyon oluşumunda sodyum kadar belirgin bir etki oluşturmaya da, diyetle potasyum alımının kalp damar hastalıkları riskini azalttığına dair çalışmalar bulunmaktadır. (DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217)

vii. İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi: İnsülin direnci ve hiperinsülinemiye bağlı olarak gelişen hipertansiyon bazı kaynaklarda “metabolik sendrom” olarak da isimlendirilmektedir. İnsülin sempatik sinir sistemini aktive ederken, damar düz kasında da sodyum pompasını aktive ederek periferik damar direnci artışı ile hipertansiyonun gelişiminde rol oynamaktadır. Ayrıca, böbreklerden sodyumun geri

emilimini ve plazma hacmini arttırarak da kan basıncını yükseltmektedir. Bunun yanısıra, bir büyüme faktörü olan insülin damar düz kas hücrelerinde hipertrofiye de yol açabilmektedir. (DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217)

viii. Obezite: Obezite, sempatik sinir sistemi ve RAAS aktivasyonu aracılığı ile esansiyel hipertansiyonun gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Buna paralel olarak, kilo kaybı ise kan basıncında belirgin bir azalma sağlamaktadır (Dickinson ve ark. 2006). Yine aile geçmişinde obezite bulunan fazla kilolu bireylerde hipertansiyonun görülme riski artmaktadır (Licata ve ark. 1995). Obezite aynı zamanda sol ventrikül hipertrofisi ve koroner arter hastalığı gibi kardiyovasküler hastalıklar için de bir risk faktörü oluşturmaktadır (Eckel ve Krauss 1998).

ix. Vasküler Endotelial Mekanizmalar: Damar endoteli ve damar düz kası, kan damarlarının tonüsü ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu fonksiyonunu endotel hücreleri tarafından sentezlenen çeşitli vazodilatör maddeler aracılığıyla gerçekleştirmektedir. Dolayısıyla damar endoteli kaynaklı prostasiklin, asetilkolin, bradikinin vb. vazodilatör etkili maddelerin lokal sentezindeki bir azalma veya anjiyotensin II, endotelin-1 gibi vazokonstriktör etkili maddelerin artan sentezi esansiyel hipertansiyon ve ateroskleroz başta olmak üzere çeşitli vasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (DiPiro ve ark., 2005, pp.185-217).

Damar endotelinden salıverilen ve damar düz kas tonüsünün lokal regülasyonunda rol oynayan diğer bir endojen vazodilatör NO 'dur. NO, arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır. NO sentezinde ve biyoyararlanımında meydana gelen bir azalma ve buna bağlı olarak damarların yetersiz gevşemesi ile kendini gösteren endotel disfonksiyonunun hipertansiyon ve diyabet gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde katkısı olduğu bildirilmektedir (Yetik-Anacak ve Catravas 2006).

2.3.4. Hipertansiyonun Klinik Değerlendirmesi

Hastanın klinik değerlendirmesi tıbbi gemişı, fiziksel muayene, elektrokardiyogram, idrar analizi, kan glukoz tayini, hematokrit, serum potasyum, kreatinin ve kalsiyum düzeyi gibi rutin laboratuvar testler ve diğer tanısal prosedürler esas alınarak yapılmaktadır. Bu klinik değerlendirme kan basıncı düzeyinin doğru belirlenmesi, sekonder nedenlerin olup olmadığının araştırılması, hipertansiyon aracılı hedef-organ hasarlarının değerlendirilmesi ve kardiyovasküler risk faktörlerinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bununla birlikte; yaş (erkeklerde ≥ 55 ; kadınlarda ≥ 65), cinsiyet, diyabet, hiperlipidemi, obezite, fiziksel hareketsizlik, aile geçmişinde erken kalp-damar hastalık öyküsü bulunması, sigara ve alkolün hipertansiyonun oluşumu ve gelişimi açısından büyük önem taşıyan risk faktörleri arasında yer aldığı bilinmektedir (Chobanian ve ark. 2003).

2.3.5. Hipertansiyonun Tedavisi

Hipertansiyon tedavisinin genel hedefi hipertansiyona bağlı ve hedef organ hasarı ile güçlenen hastalık ve ölüm oranının azaltılmasıdır. Bu amaçta yan hedef ise tedavi gören hipertansif hastada kan basıncının hedeflenen değere düşürülmesini sağlamaktır. Sistolik kan basıncında her 20 mmHg veya diyastolik kan basıncında her 10 mmHg'lık yükselme, hem iskemik kalp hastalığı hem de inmeye bağlı ölüm oranını iki katına çıkarmaktadır (Chisholm-Burns ve ark., 2008, pp.9-33).

Hipertansiyon non-farmakolojik ve farmakolojik tedavi yöntemleriyle kontrol altına alınmaktadır. Non-farmakolojik tedavi, obez ve fazla kilolu bireylerin ideal kiloya düşürülmesi, düşük sodyum diyeti uygulaması, diyet modifikasyonu (meyve-sebze ağırlıklı; doymuş yağlardan fakir diyet), fiziksel aktivitenin artırılması ve düzenli egzersiz, alkol ve sigaranın bırakılması gibi yaşam biçimi değişikliklerini kapsamaktadır.

Farmakolojik tedavi ise tüm non-farmakolojik yaklaşımların uygulanmasına rağmen halen yüksek olan ve kontrol altına alınamayan kan basıncının ilaç tedavisi ile düşürülmesini amaçlamaktadır. Günümüzde tedavide kullanılan başlıca antihipertansif ilaçlar arasında diüretikler (hidroklortiyazid, spironolakton vb.); ADE inhibitörleri (kaptopril, enalapril vb.); anjiyotensin II reseptör blokerleri (kandesartan, losartan vb.); adrenerjik β -reseptör blokerleri (propranolol, atenolol vb.); adrenerjik α - reseptör blokerleri (prazosin, terazosin vb.); kalsiyum kanal blokerleri (verapamil, amlodipin vb.); santral etkili antihipertansif ilaçlar (metildopa, klonidin vb.); adrenerjik nöron blokerleri (rezerpin) ve direkt etkili vazodilatörler (minoksidil, hidralazin vb.) yer almaktadır (Kayaalp 2005 pp. 357-387).

2.3.6. Hipertansiyonun Komplikasyonları

Hipertansiyon seyri sırasında semptom oluşturmada ilerlemekte ve özellikle beyin, kalp, damar, böbrekler ve göz gibi hedef organlarda olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Uzun süre devam eden hipertansiyonda görülen hedef organ hasarının büyük bir bölümünden mikrosirkülasyondaki yapısal değişiklikler sorumlu tutulmaktadır. Çünkü, mikrosirkülasyon yani arteriyol, venül ve kapillerler gibi küçük damarlardaki kan dolaşımı, damar direncini ve sonuçta arteriyel basıncı kontrol eden esas vasküler kısımdır. Bu sebeple, oluşabilecek mikrovasküler değişikliklerin hipertansiyon aracılı organ hasarlarında rol oynadığı düşünülmektedir (Struijker-Boudier ve ark. 1992, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

2.3.6.1. Kardiyak Komplikasyonlar

i. Sol Ventrikül Hipertrofisi ve Kalp Yetmezliği: Hipertansif hastalarda en çok karşılaşılan organ hasarı sol ventrikül hipertrofisidir (SVH). Yükselmiş sistemik damar direncine cevap olarak gelişen hipertrofinin belli bir noktaya kadar kompensatör mekanizma ile koruyucu olduğu düşünülmektedir. Bu noktanın ötesinde ise, SVH kontraktilite artışı, artmış rölatif duvar kalınlığı, sistolik ve diyastolik fonksiyon

bozukluğu gibi ciddi kalp damar hasarına sebep olan güçlü bir etmen halini almaktadır (Chobanian ve ark. 2003). İlk olarak Framingham Çalışması'nda ağır hipertansiyonlu hastaların yüksek kan basıncı ile ilişkili olarak sol ventrikül kitlelerinde artış eğilimi olduğu gösterilmiştir (Levy 1988). Ekokardiyografi ile saptanabilecek kadar sol ventrikül hipertrofisi oluştuğunda yaş, kan basıncı, hiperlipidemi, sigara gibi faktörlerden bağımsız olarak ölüm oranı yönünden önemli bir risk faktörü oluşturduğu araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (Devereux ve ark. 1996, Nadar ve ark. 2006).

ii. Anjina ve Miyokard İnfarktüsü: Anjina pectoris, miyokarda geçici olarak yetersiz oksijen gitmesine bağılı (miyokard iskemisi), nöbetler halinde kendini gösteren göğüs ağrısı olarak tanımlanmaktadır. Miyokard iskemisi açısından arteriyel hipertansiyon önemli bir risk faktörünü teşkil etmektedir (Safar 2001, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006). Gelişiminde, ateroskleroza bağılı olarak koroner arterlerin daralması veya tıkanması ve daha ileri aşamalarda aterosklerotik plakların kopmasıyla miyokard infarktüsüne yol açması rol oynamaktadır. Bununla birlikte, koroner arterlerde görülen yapısal farklılıklar veya kalbin mikrovaskülaritesindeki değışikliklerle gizlice ilerleyen iskemiye bağılı olarak da gelişme göstermektedir (Heusch ve ark. 2004, Kaul ve Ito 2004). Hipertansiyona bağılı olarak küçük arterler ve arteriyoller de kalınlaşma olması ve yine hipertansif kalp hastalıklarında kapiller dansite ve kapillerler arası uzaklık gibi parametrelerin değışiklik göstermesi hipertansiyon ile iskemi arasındaki ilişkiye açıklık getirmektedir (Struijker-Boudier ve ark. 1992).

iii. Koroner arter hastalığı: Hipertansiyon koroner arter hastalıkları açısından ilk sırada yer alan bir risk faktörüdür. Hipertansif hastalarda koroner arterler sağlam bulunsa dahi, sol ventrikül koroner rezervinin belirgin olarak azaldığı saptanmıştır. Bu azalma koroner anjiyogram ile gösterilemeyen küçük koroner arterlerin muhtemelen organik veya fonksiyonel daralması ile; yani mikroanjiopati ile ilgilidir. Koroner ateroskleroz görülme sıklığı da hipertansiflerde normotansiflere oranla çok daha yüksektir. Azalmış olan koroner arter rezervi, hipertansif hastalarda anjinal ağrıların ortaya çıkışını hızlandırmaktadır (Özcan ve Ünsal 1988).

2.3.6.2. Serebrovasküler Komplikasyonlar

i. İnme ve Geçici İskemik Atak: İnme, serebral infarktüs (iskemik inme) ve intrakraniyal hemoraji (beyin-içi kanama) olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Serebral infarktlarda neden, kalpten gelen pıhtının beyin damarlarını tıkaması veya beyin damarlarında aterotromboz gelişimidir. İntrakraniyal hemoraji inme olgularının % 15-20'sini kapsamaktadır. Beyin içindeki belirli küçük kan damarlarında meydana gelen tıkanıklık ise laküner inme olarak bilinmektedir ve genellikle kronik hipertansiyon kaynaklıdır (Pinto ve ark. 2004).

Geçici iskemik atak (GİA) ise ; kan akımı yetersizliğine bağlı olarak gelişen, akut, fokal serebral fonksiyon bozukluğuna ait kısa süreli semptomlarla karakterize olan klinik bir sendromdur. İskemik inmeye yol açan tüm etiyolojik faktörler GİA nedeni de olabilir. Altta yatan neden çoğunlukla arter duvarından kopan aterosklerotik plakların damarlarda tıkanıklık oluşturmasıdır (Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

ii. Demans: Demans, kişinin kognitif fonksiyonlarında ilerleyici bozukluğa neden olan hafıza, zihin, dikkat ve sosyal adaptasyon kaybı gibi semptomları tanımlamak için kullanılan ortak bir ifadedir. Demansın nedenleri arasında, Alzheimer, Huntington, Parkinson gibi başlıca nörodejeneratif bozukluklar, enfeksiyon, kanser ve fiziksel hasarlar bulunmaktadır. Nedenler ayrıca, vasküler (multi-infarkt, Binswanger sendromu) veya enflamatuvar (multipl skleroz, vaskülit) kökenli olabilmektedir. Hipertansiyon serebrovasküler hastalıkların başlıca risk faktörlerinden biri olmakla birlikte, birçok epidemiyolojik çalışma yaşamın ileri dönemlerinde kan basıncı düzeyi ile kognitif bozukluk veya demans arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır (Posner ve ark. 2002, Hanon ve ark. 2003).

2.3.6.3. Renal Komplikasyonlar

Hipertansif renal hasar; sistemik kan basıncı yüksekliğinin (sistolik, ortalama diyastolik, nabız basıncı ve kan basıncı değışkenliği) etkisiyle başlayan veya hızlanan böbrek harabiyeti olarak tanımlanmaktadır (Hsu 2002). Esansiyel hipertansiyonda oluşan böbrek hasarı, renal arterlerde sertleşme, glomerüllerde fibrinoid yapılaşma ve proteinüri şeklinde olmaktadır. Sistemik hipertansiyonun böbrek damar yatağındaki etkisi mikrosirkülasyon derecesine bağlı iken; bununla birlikte pre-glomerüler otoregülatör mekanizma böbrekte kan akımı ve basıncını sağlamada yetersiz kaldığında renal hasar oluşumu hızlanmaktadır (Bidani ve Griffin 2004).

2.3.6.4. Vasküler Komplikasyonlar

Hipertansiyon komplikasyonlarını büyük arterler ve özellikle aortada sıklıkla göstermektedir. Damar içi basınç artışı arter duvarında hem fonksiyonel hem de yapısal değışikliklere yol açmaktadır. Hücreler arası bağlantıların bozulması sonucu artan hücre geçirgenliği, endotel yüzeyin hasarına ve düz kas hücrelerinin büyümesine neden olmaktadır. Arter duvarındaki katmanlarda meydana gelen bu olumsuz yapısal değışiklikler hipertansif vakalarda görülen periferik direncin artışına neden olmaktadır (Zoghi ve ark. 2002). Aterosklerozun hızlanması da yüksek kan basıncının patolojik sonuçlarından biridir. Aterosklerotik aort anevrizmaları, aort diseksiyonu, periferik arter hastalığı hipertansiyon etkisiyle gelişimi hızlanan diğer damar lezyonlarına örnek olarak verilebilir.

2.3.6.5. Gözle İlişkili Komplikasyonlar

i. Hipertansif Retinopati: Kontrol edilmeyen kronik hipertansiyon yani kan basıncının devamlı yüksek olması durumunda retinal arteriyollerde ve retinanın mikrosirkülasyonunda oluşan değışikliklere bağlı olarak hipertansif retinopati gelişmektedir. Hipertansif retinopatinin belirtileri sıklıkla 40 yaş ve üzerinde ve

non-diyabetik kabul edilen popülasyonun % 2-14'ünde tanımlanmaktadır (Şekil 2.2). Bu belirtiler, diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak, inme, konjestif kalp yetmezliği ve ölüm oranının tahmininde belirleyici rol oynamaktadır (Wong ve Mitchell 2007).

Hipertansif retinopatinin patofizyolojisinde görülen retinal mikrovasküler değişiklikler 4 faz olarak incelenmektedir. İlk faz "*vazokonstriksiyon fazı*" olup sistemik yüksek kan basıncına ilk yanıt olarak retinal arteriyollerde görülen jeneralize ve fokal arteriyoller daralmayı ifade etmektedir. İkinci faz olan "*sklerotik faz*" ise damar duvarının, intimal hiyelinizasyon, medial hipertrofi ve endotelyal hiperplazi nedeni ile kalınlaşmasıdır. En önemli klinik bulgu, arteriyovenöz çaprazlaşma yerlerinde oluşan değişikliklerdir. '*Eksudatif faz*' denilen üçüncü evrede kan-retina bariyerinde meydana gelen bozukluklar ve retinal damarlardaki permeabilite artışı, mikroanevrizma, mum alevi şeklinde retinal kanamalar (hemoraji), pamuk atığı şeklinde lekeler, retinal ödem ve sert (lipid) eksuda gelişimine yol açmaktadır. Sert eksudaların maküla bölgesinde (Henle tabakası) toplanma eğilimlerinden ötürü maküla yıldızı formasyonu da ortaya çıkan oluşumlar arasındadır. Son faz olan "*komplikasyon fazı*" ise arteriyollerdeki trombozlar, ana retinal arter ve dalları ile venlerde oluşan oklüzyonlar, makroanevrizma, kistoid maküler ödem ve proliferatif vitreoretinopati gibi damarlarda uzun süreli hipertansif ve arteriyosklerotik değişiklikler sonucu oluşan retinal ve vitröz komplikasyonları kapsamaktadır (Wong ve ark. 2001).

Hipertansif retinopatinin evreleri (Keith-Wagener-Barker'e göre hipertansif retinopatinin sınıflandırılması) Tablo 2-2'de yer almaktadır (Porta ve ark. 2005):

Tablo 2-2: Hipertansif Retinopatinin Sınıflandırılması (Keith-Wagener-Barker' e göre)

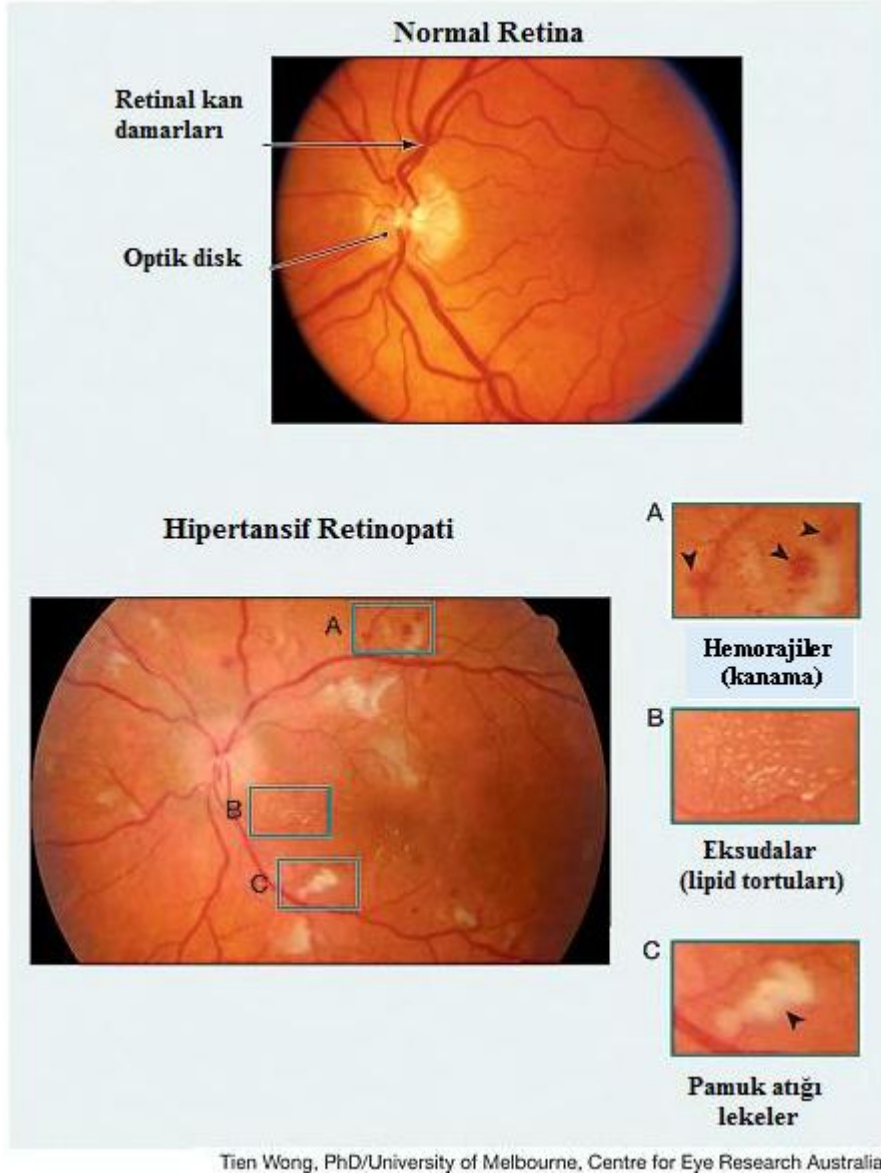
Evre I - Minimal jeneralize retinal arteriyoller daralma veya skleroz (Bu grup genellikle çok hafif hipertansiyonludur)

Evre II – Belirgin jeneralize ve fokal arteriyoller daralmalar ve arteriyovenöz çaprazlaşma bulguları. Arteriyel ışık refleksinin artması ile arteriyosklerotik değişiklikler (Bu gruptaki hastalar genellikle asemptomatiktir, sistemik bulguları minimaldir ya da hiç yoktur)

Evre III – Retinal hemorajiler, eksudalar ve pamuk atığı şeklinde lekeler (Bu gruptaki hastaların çoğunda belirgin olarak kardiyak, serebral ya da renal bozukluklar da mevcuttur)

Evre IV- Şiddetli Evre III + papilla ödemi (optik disk ödemi) ve arteriyollerde gümüş tel görünümü (Bu gruptaki hastalarda kardiyak, serebral ve renal hastalık daha da şiddetlenmiş, yaşam süresi kısalmıştır)

(Porta ve ark. *J. Hypertens.* 2005'ten uyarlanmıştır)



Şekil 2-2: Hipertansif Retinopatide Meydana Gelen Yapısal Farklılıklar

(Torpy ve ark. *JAMA*. 2005'ten uyarlanmıştır)

ii. Hipertansif Koroidopati: Malign hipertansiyonlu kişilerde kan basıncının akut yükselmeleri sonucu gelişmektedir. Hipertansif koroidopatinin tanımlanan en yaygın özellikleri, koroidal vasküler skleroz, Elschnig spotları denilen retinal pigment epitelinde gözlenen fokal dejeneratif alanlar ve retinal pigment epitelinde gözlenen yaygın plaklı atrofik dejenerasyonlardır. Kronik hipertansiyonlu hastalarda da, bazen Siegrist çizgileri adı verilen koroidal arterlerin üzerinde görülen hiperpigmente çizgi

konfigurasyonları hipertansif koroidopatinin hasarlarından biridir (Chatterjee ve ark. 2002).

iii. Hipertansif Optik Nöropati: Hipertansiyona bağlı olarak gelişen optik nöropati papilla ödemi ile kendini belli etmekte ve bu papilla ödeminin oluşumunda daha çok iskeminin rol oynadığı düşünülmektedir. Uzun süreli kronik hipertansiyon sonucu retinal sinir lifi kaybı gözlenmektedir (Chatterjee ve ark. 2002).

iv. Yaşa Bağlı Maküler Dejenerasyon: Görme kaybı ile sonuçlanan yaşa bağlı maküler dejenerasyonun gelişiminde genellikle koroidal damarların nörovaskülarizasyonu veya retinanın coğrafi atrofi sorumlu tutulmaktadır. Bazı çalışmalar, hipertansiyonun bu hastalığın oluşumunda koroidal dolaşımda meydana getirdiği etkilerle potansiyel bir risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır (Wong ve Mitchell 2007). Yine bir çalışmada hipertansif retinopatinin belirleyici hasarlarından biri olan fokal arteriyoller daralma yaşa bağlı maküler dejenerasyonun gösterdiği belirti insidansı ile ilişkilendirilmiştir (Wang ve ark. 2004).

v. Glokom: Optik sinir hasarı ve görme alanı kaybı olarak nitelendirilen glokomun esas nedeni yüksek göz içi basıncı olmakla birlikte, sistemik hipertansiyonun da glokomun gelişim ve progresyonunda rol aldığı düşünülmektedir. Hipertansiyonun neden olduğu direkt mikrovasküler hasarın ön optik sinire giden kan akımını bozması, hipertansiyonun glokomda zarar görmüş olan arka siliyer dolaşımın otoregülasyonu ile ilişkilendirilmesi ve hipertansiyonla bağlantılı diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin (diyabet, kardiyovasküler hastalık gibi) de optik sinir başının vasküler perfüzyonunu etkilemesi, hipertansiyonla glokom arasındaki ilişkiye açıklık getiren yaklaşımlara örnek olarak verilmektedir (Wong ve Mitchell 2007).

2.3.7. Hipertansiyon ve Endotel Disfonksiyonu

Endotel; damar lümeni ile damar düz kas hücreleri arasında yer alan ve tek katlı hücrelerden oluşan bir tabakadır. Damar endoteli, damar düz kas tonüsü, vasküler permeabilitenin düzenlenmesi, trombosit agregasyon ve koagülasyonunun dengelenmesi, lökositlerin adhezyonunun ve ekstrasvazasyonunun düzenlenmesi, düz kas hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunun ayarlanması, vasküler enflamatuvar ve immünolojik aktivitenin kontrolü gibi çeşitli görevlere sahiptir. Normal damar tonüsü ve hemostazın düzenlenmesi, endotel hücreleri tarafından sentezlenip serbestlenen çeşitli gevşetici [adenozin, PGI₂, NO, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF)] ve kastırıcı [tromboksan A₂ (TXA₂), izoprostanlar, süperoksit anyonu (O₂⁻), endotelin-1, anjiyotensin II] mediyatörler arasındaki dengeye bağlıdır (Feletou ve Vanhoutte 2006). Hipertansiyon varlığında endotelden salıverilen gevşetici ve kastırıcı faktörler arasındaki bu dengenin bozulduğu ve endotel disfonksiyonunun geliştiği belirlenmiştir. Buna göre, endotel disfonksiyonunun, hipertansiyona bağlı olarak gelişen çeşitli komplikasyonların temelinde yer aldığı öngörülmektedir.

İnsanlarda ve deney hayvanlarında yapılan birçok çalışma hipertansiyonun endotel disfonksiyonu gelişimi ile doğrudan ilişkili olduğunu (Park ve ark. 2001, Ercan ve ark. 2003, Virdis ve ark. 2009) ve özellikle periferik, koroner ve böbrek kan akımını etkileyerek vasküler kökenli çeşitli hastalıkların oluşumunda rol oynadığını desteklemiştir (Landmesser ve Drexler 2007). Endotel disfonksiyonu, hipertansif deney hayvanlarından izole edilen arterlerde endotel aracılı gevşeme yanıtlarının azalması ya da ortadan kalkması ile değerlendirilmektedir. İnsanlarda endotel disfonksiyonun teşhisinde en çok kullanılan yöntem ise ön kol ve koroner damarlara uygulanan asetilkolin gibi endotel bağımlı vazodilatör bir madde infüzyonu ile damarlardaki kan akışı ve akış aracılı gevşemenin saptanmasıdır. Bu gevşemenin azalması endotel disfonksiyonunun geliştiğini göstermektedir. Bunların yanısıra, asimetric dimetil arjinin (ADMA), nitrotirozin, endotelyal progenitor hücreler ve endotelyal mikropartiküllerin kan düzeylerinin belirlenmesi, arteriyel sertlik ve karotid arterde intima/media kalınlığının ölçümü ve periferik arteriyel tonometri (PAT) değerlendirilmesi de endotel

disfonksiyonu hakkında bilgi vermektedir (Ganz ve Vita 2003, Feletou ve Vanhoutte 2006, Munzel ve ark. 2008).

Hipertansiyona bağlı olarak gelişen endotel disfonksiyonunda başlıca iki oluşum mekanizması ileri sürülmektedir (Landmesser ve Drexler 2007):

I. NO yolağına bağlı mekanizmalar

a) NO üretiminin azalması

b) NO biyoyararlanımının azalması (oksidatif stres)

II. Endotel-aracılı kastırıcı faktörlerin etkisi

I. NO yolağına bağlı mekanizmalar

Endotelden salınan en güçlü ve önemli vazodilatör mediyatörlerden biri olan NO, çeşitli agonistik etkili maddelere (asetilkolin, bradikinin, serotonin, ATP vb.) ve fiziksel uyarılara (kayma gerilimi-shear stres) yanıt olarak endotelial NO sentaz (eNOS) aracılığı ile L-arjininden sentezlenmektedir. Bu biyosentezde eNOS aktivitesi için nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), kalsiyum, kalmodulin, tetrahidrobiopterin (BH₄) gibi birtakım kofaktörler de rol oynamaktadır. Sentezlenen NO, damar düz kas hücrelerine geçerek guanilat siklaz enzimine bağlanmakta, bu enzimi aktive ederek hücre içinde sGMP oluşumunu arttırmaktadır. Yükselen sGMP düzeyleri ise başlıca hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak düz kasta gevşemeye neden olmaktadır (Vallance ve Chan 2001, Munzel ve ark. 2008). NO aynı zamanda antiaterojenik, antiproliferatif ve antitrombotik özellikte bir faktördür. Bundan dolayı, NO biyoyararlanımının azaldığı hipertansiyon ve diyabet gibi patolojik durumlar, ateroskleroz oluşumu açısından bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Yetik-Anacak ve Catravas 2006).

Endotel disfonksiyonunun temelinde esas olarak koruyucu NO yolağının yetersizliği ve oksidatif stres rol oynamaktadır. NO yolağının yetersizliği ile endotel

disfonksiyonu arasındaki ilişkiyi açıklayan temel olarak iki mekanizma bulunmaktadır (Şekil 2-3).

a) NO üretiminin azalması

NO üretiminin azalmasında rol oynayan mekanizmalardan birisi insan plazmasında bulunan ve NOS enziminin endojen inhibitörü olan ADMA'nın aşırı üretimidir. ADMA, eNOS enzimine kompetitif olarak bağlanmakta ve böylece L-arjininden NO oluşumunu inhibe etmektedir. Hipertansiyon, hiperkolesterolemi, ateroskleroz gibi endotel disfonksiyonun olduğu çeşitli kardiyovasküler hastalıkların ADMA düzeyleri ile doğrudan ilişkili olduğu ve bu hastalıklarda dolaşımdaki ADMA konsantrasyonunun artmış olduğu belirlenmiştir (Cooke 2000, Vallance ve Chan 2001).

NO sentezinde eNOS aktivitesi için gerekli bir kofaktör olan BH₄'ün eksikliğinin de endotel disfonksiyonun gelişiminde rol oynadığı ve bu kofaktörün düzeyinin hipertansiyon, diyabet, hiperkolesterolemi gibi hastalıklarda ve sigara içen bireylerde azaldığı ileri sürülmektedir (Vallance ve Chan 2001). BH₄, L-arjinin/O₂⁻ ve sitrülin/NO reaksiyon döngüsünde elektron alışverişinde rol oynayarak NO ve serbest oksijen radikalleri arasındaki dengenin korunmasından sorumlu tutulmaktadır. Buna göre, BH₄ miktarındaki azalmanın eNOS kenetsizlenmesine (eNOS uncoupling) yol açarak NO üretiminde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Vallance ve Chan 2001, Schulz ve ark. 2008).

Öte yandan, NO'nun prekürsör aminoasidi olan L-arjininin eksikliğinin; hipoksi ve tümör nekroz faktör α (TNF α) gibi faktörlere bağlı olarak eNOS ekspresyonunun azalmasının; kaveolin, ısı şok proteini 90 (HSP₉₀) ve kalmodulinle olan etkileşimlere bağlı olarak eNOS aktivasyonunun engellenmesinin ya da eNOS'un fosforilasyonunda meydana gelen değişikliklerin de NO üretiminin azalmasından sorumlu olduğu bildirilmektedir (Thuillez ve Richard 2005).

b) NO biyoyararlanımının azalması (oksidatif stres)

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) artışı olarak tanımlanmakta ve NO'nun yarı ömrü ve biyolojik aktivitesinin azalmasında önemli rol oynamaktadır. Süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\cdot OH$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi ROT'lar enflamasyon ve hasar gibi stresli koşullar altında yüksek miktarlarda üretilmekte ve NO'nun inaktivasyonu, lipid peroksidasyonu, vasküler hücrelerin proliferasyonu ve apoptozu, artan mutajenite ve vasküler tonüs, redoks duyarlı genlerin (adhezyon ve kemotaksiz molekülleri, proinflamatuvar sitokinler, matriks metalloproteinazlar) aktivasyonu gibi vasküler sistemde önemli patolojik olaylara aracılık etmektedir. Vasküler sistemde ROT oluşumuna aracılık eden başlıca enzimatik kaynaklar, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, siklooksijenazlar, kenetsizleşen eNOS ve mitokondriyal solunum zincirinin enzimleridir. ROT'dan oluşan O_2^- , süperoksit dismutaz enzimi aracılığı ile H_2O_2 'ye dönüştürülürken, öte yandan NO ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan $ONOO^-$ 'yu oluşturmaktadır. ROT'lardan H_2O_2 de katalaz veya glutatyon peroksidaz enzimi tarafından su ve oksijene parçalanırken, bakır, demir gibi geçiş metalleri veya süperoksit anyonlarının ortamda bulunması ile diğer bir reaktif madde olan hidroksil radikallerine dönüşmektedir (Feletou ve Vanhoutte 2006).

ROT'lar esasen endotel kaynaklı üç temel gevşetici yolak üzerinde de (NO, PGI_2 ve EDHF) inhibitör etki göstermektedirler. O_2^- 'nun, NO'yu inaktive ederek biyoyararlanımını azaltmasının yanısıra NO ile etkileşimi sonucu oluşan $ONOO^-$ de guanilat siklaz enzimini inhibe ederek NO'nun meydana getirdiği gevşetici etkiyi ortadan kaldırmaktadır. Öte yandan, O_2^- ve $ONOO^-$, eNOS'un kofaktörü olan BH_4 'ü sırasıyla BH_3 ve BH_2 'ye oksitleyerek disfonksiyonel eNOS oluşumuna ve eNOS kenetsizlenmesine (eNOS uncoupling) neden olmakta ve böylece NO oluşumunu inhibe etmektedir. ROT'lardan $ONOO^-$, tirozin nitratlanması ile prostasiklin sentezini de

inaktive etmektedir. Ayrıca, EDHF olarak tanımlanan diğer gevşetici yolağın aktivasyonunun da O_2^- 'nin uzun süreli etkisine bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir (Feletou ve Vanhoutte 2006, Schulz ve ark. 2008).

II. Endotel-aracılı kastırıcı faktörlerin etkisi

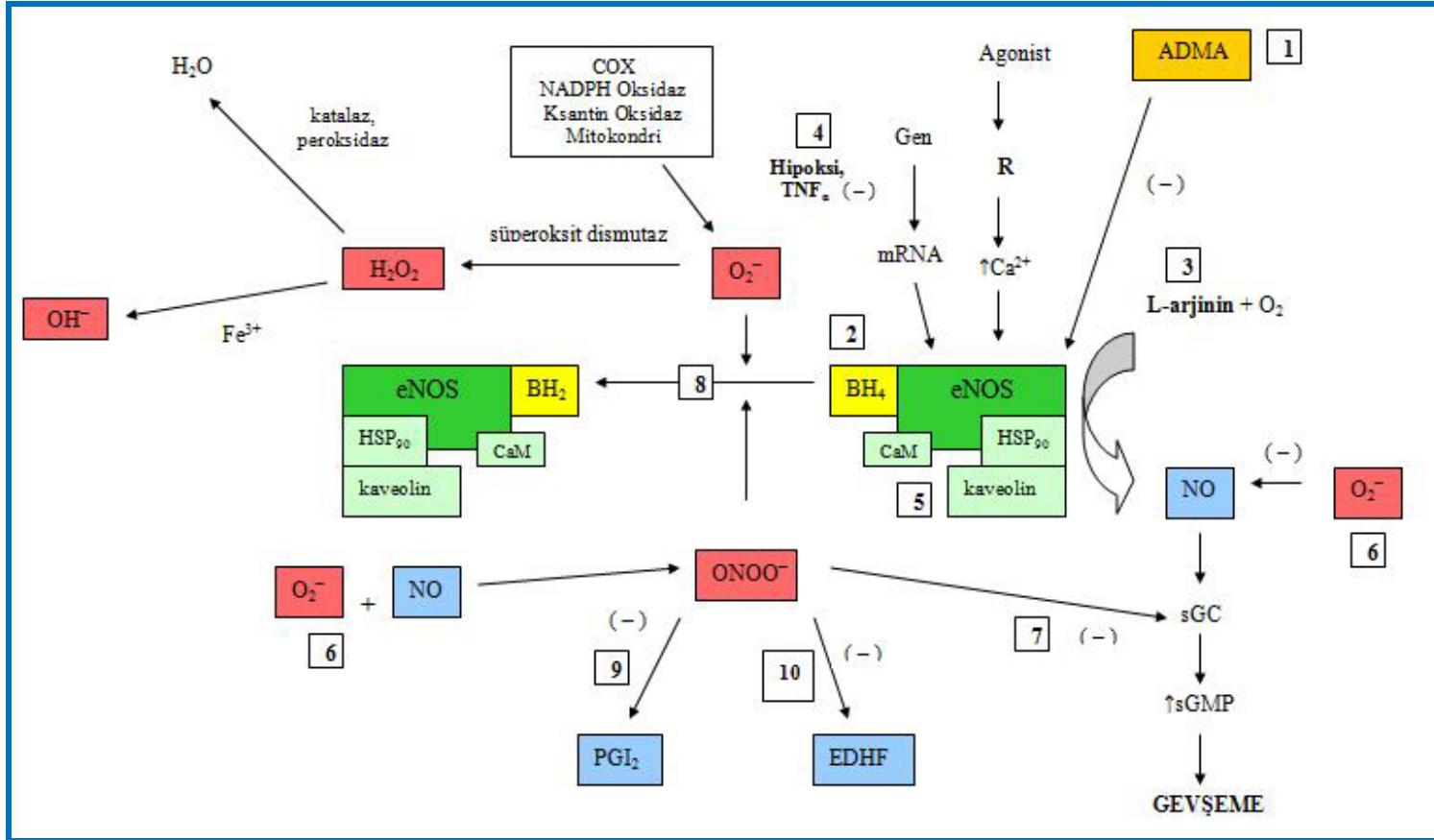
Endotel disfonksiyona aracılık eden bir diğer mekanizma ise endotel-aracılı kastırıcı faktörlerin üretiminde meydana gelen artıştır. Endotel disfonksiyonuna bağlı olarak, endotel kaynaklı gevşetici faktörlerin sentezinde meydana gelen azalma damar tonüsünü regüle eden dengenin kastırıcı faktörler lehine kaymasına neden olmakta ve böylece endotel kaynaklı kastırıcı faktörlerin sentezi artmakta ve kasılma yanıtları oluşmaktadır. Endotel kaynaklı kastırıcı faktörlerin salınımı genellikle asetilkolin, ADP gibi endotel hücre membranına etki eden vazoaktif mediyatörler ile indüklenmektedir. Spontan hipertansif sıçanlar ile yapılan bir çalışmada, aortada asetilkolin uygulamasına bağlı olarak kasılma yanıtı elde edildiği ve bu yanıtın normotansif sıçanlara kıyasla daha belirgin olduğu gözlenmiştir (Lüscher ve Vanhoutte 1986). Asetilkoline bağlı kasılma yanıtlarının siklooksijenaz inhibitörleri ile geriye dönmesi, kasılmanın mekanizmasının siklooksijenaz yolağı üzerinden gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Kasılma yanıtlarının önlenmesinde siklooksijenaz-1 (COX-1) enziminin selektif inhibitörlerinin siklooksijenaz-2 (COX-2) enziminin inhibitörlerinden daha etkili olması ise, bu yanıtların oluşmasında COX-1 enziminin önemini özellikle vurgulamaktadır (Vanhoutte ve ark. 2005). Endotel-aracılı kastırıcı faktörlerin içerisinde $PGF_{2\alpha}$, prostaglandin D_2 (PGD_2), prostaglandin E_2 (PGE_2), TXA_2 gibi endoperoksitler ile PGI_2 yer almaktadır. Siklooksijenaz yolağı üzerinden oluşan bu faktörlerin endotel disfonksiyonu varlığında damar düz kas hücrelerindeki tromboksan-prostanoid (TP) reseptörlerini aktive ederek kasılmaya neden olduğu bildirilmektedir. TP reseptör antagonistlerinin uygulanmasının kasılma yanıtlarını önlemesi ise bu görüşü desteklemektedir. İlginç olarak, prostasiklin sentaz geninin ekspresyonunun spontan hipertansif sıçanların endotel hücrelerinde normal sıçanların endotel hücrelerine oranla daha yüksek miktarlarda eksprese edildiği gözlenmiştir. Buna göre, PGI_2 'nin endotel bağımlı kasılmalarda sorumlu en önemli

mediyatörlerden birisi olduğu düşünülmektedir. Esasen endotel kaynaklı gevşetici bir faktör olan PGI₂'nin, gevşetici etkisine aracılık eden IP reseptörleri yerine TP reseptörlerine bağlanarak kasılma yanıtı oluşturmada endotel hücrelerinde prostasiklin sentaz geninin aşırı ekspresyonunun rol oynadığı düşünülmektedir. Yaşlanma ve hipertansiyon gibi endotel disfonksiyonunun geliştiği durumlarda tetiklenen PGI₂ sentaz geninin aşırı ekspresyonunun mekanizması ise halen bilinmemektedir (Vanhoutte ve Tang 2008, Vanhoutte ve ark. 2009).

Öte yandan, endotel bağımlı kasılmalar ekstrasellüler Ca⁺² konsantrasyonunun düşürülmesi ile azalmakta buna karşın kalsiyum iyonoforu A23187 uygulaması veya endotelial sitozolik Ca⁺² konsantrasyonunun arttırılması ile güçlenmektedir. Buna göre, endotel bağımlı kasılmaların oluşumunda intrasellüler Ca⁺² konsantrasyonu artışının birincil öneme sahip olduğu belirlenmiştir. Bu artışın ise fosfolipaz A₂'yi aktive ederek siklooksijenaz yolağının vazokonstriktör prostanooidlerinin oluşumunu arttırdığı bildirilmektedir (Tang ve ark. 2007).

Reaktif oksijen radikallerinin de endotel aracılı kasılma yanıtının oluşmasında rol oynadığı belirlenmiştir. Köpek baziler arteri ile yapılan çalışmalarda, süperoksit radikal süpürücüsü olan süperoksit dismutaz (SOD) ile endotel-aracılı kasılmaların önlenmesi, O₂⁻'nin endotel kaynaklı kasılma yanıtlarındaki rolünü desteklemektedir (Katusic ve Vanhoutte 1989). Ayrıca, asetilkolinin spontan hipertansif sıçanların endotelinde normotensiflere kıyasla çok daha fazla miktarda O₂⁻ oluşumuna neden olması ve bu oluşumun indometazin ile önlenmesi serbest oksijen radikallerinin başlıca siklooksijenaz yolağı üzerinden oluştuğunu göstermiştir. Bununla birlikte, serbest radikaller oluştuğunda endotel kaynaklı kasıyıcı faktörlerin etkinliğini güçlendirmektedir. Bu nedenle, ROT'ların vasküler düz kas hücrelerinde vazokonstriktör prostanooidlerin oluşumunu tetiklediği öngörülmektedir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda, endotelde sentezlenen reaktif oksijen türlerinin pasif difüzyon veya miyoendotelial aralık bağlantıları aracılığı ile düz kas hücrelerine ulaştığı ve burada siklooksijenazı aktive ederek endotel-aracılı kasılma yanıtlarına aracılık ettiği düşünülmektedir (Vanhoutte ve Tang 2008, Vanhoutte ve ark. 2009).

Hipertansiyona bağlı olarak görülen endotel disfonksiyonu, makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar ile arteriyel sertlik gibi patofizyolojik sonuçlara neden olmaktadır. Makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar kalp, damar, beyin, böbrek ve gözü etkileyen çeşitli hastalıkları içermektedir. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar endotel kaynaklı NO üretiminin inhibe olmasının endotel disfonksiyonunun yanısıra arteriyel sertliğe de neden olduğunu ortaya koymaktadır. Arteriyel sertliğin gelişiminde, azalmış NO biyoyararlanımının etkisiyle damar duvarında meydana gelen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler rol oynamaktadır (Landmesser ve Drexler 2007). Deneysel alışmaları destekleyici olarak, NOS inhibitörü L-NMMA infüzyonu ile sağlıklı gönüllülerin brakial arterlerinde de endotel kaynaklı NO'nun inhibisyonu sonrasında arteriyel esnekliğin bozulmuş olduğu gözlenmiştir (Kinlay ve ark. 2001).



Şekil 2-3: Endotel disfonksiyonun NO yolağına bağlı oluşum mekanizmaları

(1)ADMA'nın aşırı üretimi, (2)Kofaktör (BH₄) eksikliği, (3)L-arjinin eksikliği, (4)eNOS ekspresyonunun azalması, (5)eNOS ve CaM, kaveolin-HSP₉₀ etkileşimindeki değişiklikler, (6) (7)Reaktif oksijen türlerinin (ROT) NO biyoyararlanımı inhibe etmesi, (8)eNOS kenetsizlenmesi (eNOS uncoupling), (9)ROS'un prostasiklini (PGI₂) inaktive etmesi, (10)ROS'un EDHF'yi inaktive etmesi. (ADMA: Asimetrik dimetil arjinin; BH₄: Tetrahidrobiopterin; CaM: Ca - kalmodulin; EDHF: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör; sGMP: siklik guanozin monofosfat; HSP₉₀: ısı şok proteini 90; sGC: çözünür guanilat siklaz; R: reseptör; TNF_α: tümör nekroz faktör α.

2.4. Deneysel Hipertansiyon Modelleri

Esansiyel hipertansiyonun etiopatofenezinin anlaşılması ve buna göre önlem ve tedavisinin araştırılması amacıyla deneysel hayvan modelleri geliştirilmiştir. Hipertansif deney hayvanı modellerinden antihipertansif ilaçların farmakolojik incelemesinde de yararlanılmaktadır.

Hipertansif hayvan modelleri insanlarda oluşan hipertansiyon ile ortak birçok özellik içermektedir. Bu modellerin çoğu insan hipertansiyonu için sorumlu olduğu tahmin edilen faktörlerin (aşırı tuz tüketimi, RAAS hiperaktivitesi ve genetik faktörler vb.) taklit edilmesiyle geliştirilmiştir.

İdeal bir deneysel hipertansiyon modeli aşağıdaki kriterleri sağlayabilmelidir (Doggrell ve Brown 1998, Badyal ve ark. 2003) :

Küçük hayvanlarda uygulanabilir olmalıdır.

Gerçekleştirilmesi basit ve daima tekrarlanabilir olmalıdır.

Tahmin edilebilir ve kontrol edilebilir semptomlar göstermelidir.

Ekonomik, teknik hususlar ve hayvan refahı açısından tatmin edici olmalıdır.

Bir ajanın potansiyel antihipertansif özellikleri öngörülebilir olmalıdır.

İnsan hipertansiyonu ile bazı biçimleriyle kıyaslanabilir olmalıdır.

Uygun hemodinamik ve biyokimyasal parametrelerin ölçümüne izin vermelidir.

Geçmişte deneysel hipertansiyon için birçok çalışma köpekler üzerinde gerçekleştirilirken; şu an en fazla tercih edilen hayvan türü sıçandır. Kullanılan diğer türler ise; tavşan, maymun, domuz, kobay ve faredir.

2.4.1. Spontan ve Genetik Hipertansiyon Modelleri

i. Spontan Hipertansif Sıçanlar: Kan basınçları yüksek Wistar sıçanların inbred soy oluşturmak üzere eşleştirilmeleriyle elde edilen ve herhangi bir farmakolojik veya cerrahi müdahale gerektirmeyen bir deneysel hipertansiyon modelidir (Okamoto ve Aoki 1963). Bu sıçanlarda kan basınçları ortalama olarak 12 haftada belirgin en yüksek düzeyine ulaşmaktadır. Ortalama arteriyel kan basıncı 100-130 mmHg olan normal sıçanlarla kıyaslandığında, spontan hipertansif sıçanlarda kan basınçları ortalama 190-200 mmHg olarak gözlenmektedir (Ribeiro ve ark. 1992, Badyal ve ark. 2003). Spontan hipertansif sıçanlarda son organ hasarı; kardiyak hipertrofi (Conrad ve ark. 1991), kardiyak yetmezlik (Pfeffer ve ark. 1979), proteinüri ve azalmış kreatinin klirensi ile seyreden böbrek fonksiyon bozukluğu (Feld ve ark. 1977, Komatsu ve ark. 1995) şeklinde izlenmektedir. Bozulmuş endotel bağımlı gevşemeler dışında ağır vasküler problemler gözlenmemiştir (Lüscher ve ark. 1990). Ayrıca, bu sıçanlarda orta dereceli insülin rezistansı, obezite ve hiperlipidemi gelişme olasılığı da yüksektir (Iritani ve ark. 1977, Rao 1993). Günümüzde spontan hipertansif sıçanlar deneysel hipertansiyon modeli olarak klinik araştırmaların içerisinde de yer almaktadır. Çünkü, gerek patofizyoloji açısından, gerekse açığa çıkan komplikasyonlardaki benzerlikler ile insan esansiyel hipertansiyonunu çok iyi taklit ettiği düşünülmektedir.

ii. Spontan Hipertansif İnme-Eğilimli Sıçanlar: Spontan hipertansif sıçanların kan basınçları ve serebrovasküler hastalık geçirme insidansı daha yüksek olan bir alt türüdür. Sistolik kan basıncı en az 250 mmHg olmakla birlikte, bu sıçanlarda son organ hasarı inme (strok) şeklinde izlenmektedir. İnmeye bağlı olarak gelişen komplikasyonlar serebral kanama, lezyonlar ve trombozlardır (Doggrell ve Brown 1998).

iii. Dahl tuz-duyarlı sıçanlar: İlk olarak Sprague-Dawley sıçanlarda yapılan bir çalışma ile tuz tüketimi ve kan basıncı arasında bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Meneely ve ark. 1958). Daha sonra Dahl ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada, yüksek tuz tüketimi ile tuza duyarlılık veya direnç gösteren sıçanlara bağlı olarak gelişen kan basıncı artışında genetik faktörlerin rolü olduğu gösterilmiştir. Bu sıçanlarda yüksek oranlı tuz diyetiyle beslendiklerinde ağır ve öldürücü bir hipertansiyon gelişmektedir. Normal tuz diyetiyle beslenseler dahi kan basınçlarında belirli bir dereceye kadar yükselme olmaktadır. Bu model; genetik hipertansiyonun ekstra tuz duyarlılık özelliği gösteren bir modelidir (Dahl ve ark. 1962) Tuza olan duyarlılığın etiolojisinde guanilil siklaz A / atrial natriüretik peptit (GCA/ANP) genlerinin veya epitelyal sodyum kanalı gibi yapılarda oluşan genetik bozuklukların sorumlu olduğu düşünülmektedir (Sanders 1996).

iv. Transgenik sıçan (TGR) modeli: Özellikle sıçan ve farelerde oluşturulan transgenik soylar hipertansiyondan sorumlu kabul edilen bazı aday genlerin ekspresyonu ile üretilmektedir. Fare Ren-2 geni yani TGR (mREN2) 27, reninin aşırı ekspresyonu ile birlikte, kardiyak hipertrofi ve endotel disfonksiyonu gibi komplikasyonlarla seyreden ağır hipertansiyon oluşturulmasında önemli rol oynamaktadır (Lerman ve ark. 2005). Yine sıçan anjiyotensinojen ve insan renin ve insan anjiyotensinojen geninin sıçanlardaki aşırı ekspresyonu da kan basıncında anlamlı bir artışa neden olmaktadır (Yagil ve Yagil 2001). TGR modeli özellikle RAAS'ın insan hipertansiyonundaki rolünün anlaşılması açısından önem arz etmektedir.

2.4.2. Diyet veya Farmakolojik Ajanlar İle Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri

i. Aşırı tuz yüklemesi: Sıçanlarda aşırı ve kronik tuz tüketiminin insan hipertansiyonunu morfolojik olarak taklit eden bir hipertansiyon modeli oluşturduğu ortaya konulmuştur (Dahl ve ark.1968). Yüksek konsantrasyondaki sodyum klorür (NaCl) diyetinin kronik olarak içme sularına katılmasıyla tavşan ve sıçanlarda hipertansiyon oluşturulmaktadır (Weinstock ve Borosh 1993, Vasdev ve ark. 2007).

ii. DOCA-Tuz Modeli: Bir mineralokortikoid olan deoksikortikosteron asetatın (DOCA) sıçanlarda hipertansiyona neden olduğu ortaya konulmuştur. Sıçanlara uygulanan periyodik subkütan DOCA enjeksiyonunu takiben içme sularına %1-2 oranında NaCl yüklemesi ile bu model oluşturulmaktadır. Bir diğer metoda göre, DOCA-tuz uygulamasından önce unilateral nefrektomi de yapılmaktadır. Tuz yüklemesi olmadan sadece DOCA uygulaması veya sadece nefrektomi yapılmasının kan basıncında hiçbir önemli değişiklik oluşturmaması bu modelin tuz bağımlı olduğunu göstermektedir (Doggrell ve Brown 1998, Badyal ve ark. 2003). Bu hipertansiyon modeli sıçanlardan başka köpek ve kobyada da kullanılmıştır (Brands ve Hall 1998, Tiritilli 2001).

iii. NO sentezinin inhibisyonu: NOS enziminin L-NNA, N^G-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) gibi L-arjinin analogları ile inhibe edilmesi sonrasında arteriyel kan basıncının artmasıyla karakterize edilen yeni bir hipertansiyon modeli geliştirilmiştir (Ribeiro ve ark. 1992). Kronik NOS inhibisyonu esansiyel hipertansiyon araştırmalarında kullanılmakla birlikte mekanizması henüz yeterince anlaşılmamıştır. Vazodilatör NO sentezinin engellenmesine bağlı total periferik direnç artışının yanısıra, artmış renal sodyum tutulumunun, sempatik sistem aktivasyonunun ve çeşitli vasoaktif maddelerin, kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişimine katkısı olduğu ileri sürülmektedir (Zatz ve Baylis 1998). Son yıllarda bu model hipertansiyonun artmış sodyum duyarlılığı ve sempatoadrenajik sistem aktivitesi artışıyla ilişkisi de ön plana çıkarılmıştır (Yuasa ve ark. 2000). NOS inhibitörlerinin uygulanması deney hayvanlarının içme sularına her gün katılmak suretiyle, oral gavaj yöntemiyle veya ilacın subkütan infüzyonu şeklinde gerçekleştirilmektedir (Priviero ve ark. 2007, Jover ve ark. 1993, Takei ve ark. 2007). NOS inhibitörleri veriliş yolu farklı olsa da deney hayvanına daima sabit dozlarda uygulanmaktadır. Bu yöntem sıçandan başka köpek ve domuzda da kullanılmaktadır (Salazar ve ark. 1993, Ito ve ark. 1995). Uygulama kolaylığı ve uygulanan hayvanlarda daha az ölüm oranına neden olması açısından diğer hipertansiyon modellerine kıyasla daha fazla tercih edilmektedir (Doggrell ve Brown 1998).

2.4.3. Cerrahi Girişim İle Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri

i. Çift böbrek-tek darlık modeli (Goldblatt metodu, 2K1C): İlk kez Goldblatt ve arkadaşları köpeklerde yaptıkları deneylerle renovasküler hipertansiyonun patofizyolojisine ışık tutmuşlardır. Bu metot, böbreklerden birine giden renal artere klemp takılmak suretiyle arterde daralma yaratarak gerçekleştirilmektedir. Renal arterlerin daralması RAAS ve sempatik sinir sistemini aktive etmekte ve böylece renovasküler hipertansiyon gelişmektedir. Yükselen kan basıncı ve renin aktivitesi daha sonra klempin çıkarılmasıyla normale dönmektedir. Bu model insanlardaki unilaterale renal arter stenozunu taklit etmektedir (Doggrell ve Brown 1998, Badyal ve ark. 2003).

ii. Tek böbrek-tek darlık modeli (1K1C): Bu modelde böbreklerden birine giden renal arterde daralma gerçekleştirilirken diğer böbrek çıkarılmaktadır. Plazma renin aktivitesi genellikle normaldir. Buna karşın belirgin bir sodyum ve su retansiyonu vardır. Dolayısıyla bu model insanlardaki renovasküler hipertansiyon + kronik renal parenkimal hastalık ile uyumluluk göstermektedir (Doggrell ve Brown 1998, Badyal ve ark. 2003).

iii. Çift böbrek-çift darlık modeli (2K2C): Aortanın veya her iki renal arterin daraltılması ile gerçekleştirilir. İnsanlardaki bilateral renal arter stenozunu taklit etmektedir (Doggrell ve Brown 1998, Badyal ve ark. 2003).

2.4.4. Diğer Hipertansiyon Modelleri

i. Obezite-ilişkili hipertansiyon: Wistar Kyoto sıçanlar ile obez Zucker sıçanların çiftleştirilmesiyle 16 haftalık yaştan sonra devamlı bir hiperinsülinemi ve hipertansiyon gösteren ve hipertansiyonla obezite arasındaki ilişkiye açıklık getirecek bir model olarak ortaya konulmuştur (Yamakawa ve ark. 1995).

ii. Psikojenik hipertansiyon: Hayvanların tekrarlanan stresli duruma maruz bırakılması sonucu devamlı bir hipertansiyon durumu oluşturulabilmektedir. Özellikle sınırda (borderline) hipertansif sıçanlar bu modelin oluşturulmasında önemli rol oynamaktadır (Hatton ve ark. 1993). Duygusal ve elektriksel uyaranlar ve psikososyal ve immobilizasyon stresi gibi durumlarla da aynı sonuç elde edilebilmektedir (Henry ve ark. 1993). Stres, insanlarda hipertansiyonun gelişiminde önemli rol oynadığı için bu model daha çok hipertansiyonun patofizyolojisinin araştırılmasında kullanılmaktadır.

2.5. Deney Hayvanlarında Kan Basıncının Ölçümü ve Takibi

Hayvanlarda gelişen hipertansiyonun belirlenmesi ve periyodik takibinin sağlanması için deneyin süresine ve şartlarına bağlı olarak kan basıncının çeşitli yöntemlerle ölçümü gerçekleştirilmektedir. Kan basıncı ölçümü sırasında anestezi kullanımı, sadece hayvanın immobilizasyonunda güçlük yaşandığı durumlarda tavsiye edilmektedir. Anestezi, kan basıncı tayinini ve doğru ölçüm alabilmeyi kolaylaştırmakta fakat başka değişkenlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Örneğin; yapılan bazı çalışmalar anestezi ajanlarının kan basıncı değerini ve kardiyovasküler refleksleri değiştirdiğini ortaya koymuştur (Kolatkar ve ark. 1973).

Deney hayvanlarında kan basıncı direkt (invazif) veya indirekt (noninvazif) yöntemlerle ölçülmektedir. Seçilecek yöntemin uygunluğu büyük ölçüde çalışmanın konusuna bağlıdır. Araştırmacı açısından önemli olan nokta, deney tasarımına göre en kesin ve en güvenilir veriyi sağlayabilecek yöntemin seçilmesidir.

2.5.1. Direkt Ölçüm Yöntemleri

- i. Radyoteleometri
- ii. “Fluid-filled” kateter-transdüser sistemi
- iii. Transdüser uçlu kateter kullanımı

i. Radyoteleometri: Büyük (maymun, köpek) ve küçük (sıçan, fare) deney hayvanlarına uygulanabilen bir yöntemdir. Anestezi gerektirmemesi ve hareketin kısıtlanmaması en önemli avantajlarından biridir. Radyotelemetrik transmitterler aracılığıyla kan basıncını sürekli olarak kaydetmek mümkündür. Ancak çok küçük hayvanlarda (vücut ağırlığı <25 g) büyük transmitterler (>2 g) stres oluşturabilir. Özellikle küçük deney hayvanları üzerinde cerrahi işlem yapabilecek düzeyde eğitim ve yetenek gerektirebilir ve diğer yöntemlere kıyasla pahalı bir sistemdir (Kurtz ve ark. 2005).

ii. “Fluid-filled” kateter-transdüser sistemi: En eski ve en yaygın olarak kullanılan arteriyel kan basıncı ölçüm yöntemidir. Bu yöntemde heparinlenmiş sıvı ile doldurulmuş bir kateter, arter içine yerleştirilirken, kateterin öteki ucu ise kalibre edilmiş bir basınç transdüserine bağlıdır. Kan basıncı ölçümü için çoğunlukla karotid veya femoral arter kullanılmaktadır. Anestezi altındaki deney hayvanlarında akut ölçümler ya da bilinci açık hayvanlarda kan basıncının uzun süreli takibi için kullanılabilir. Kan basıncının sürekli takip edilmediği kronik çalışmalarda kateterin dışarıda kalan bölümü uygun şekilde korunarak transdüserden ayrı tutulabilir ve gerektiğinde bağlanarak ölçümler alınabilir. Uzun süreli ve sürekli kayıt alınması gerektiği durumlarda ise deney hayvanının kafes içinde serbest olarak dolaşımını sağlayacak uygun ekipmanlar (Swivel-tether sistemi) kullanılmaktadır. Swivel-tether sistemi ile damar içine kimyasal madde ya da ilaç infüzyonu yapmak da mümkündür (Kurtz ve ark. 2005).

iii. Transdüser uçlu kateter kullanımı: Farklı ölçülerde bulunmaları nedeniyle fare ve daha büyük memelilerde rahatlıkla kullanılabilirler. Fluid-filled kateter-transdüser sistemi ile karşılaştırıldığında daha iyi frekans yanıtı sağlarlar (Kurtz ve ark. 2005).

2.5.2. İndirekt Ölçüm Yöntemleri (“Kuyruk-manşon [Tail-cuff]” Yöntemi)

Kuyruk-manşon (tail-cuff) yöntemi özellikle rodentlerde (genellikle sıçan) kan basıncının ölçümü ve takibinde halen en çok kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde deney hayvanının sistolik kan basıncı değeri ölçülmektedir. Sistolik kan basıncı; kuyruğa yerleştirilmiş olan manşonun şişirilmesi ve boşaltılması sırasında kan akımında değişikliğin olduğu andaki manşon basıncı ölçülerek belirlenmektedir. Ölçüm kuyruktaki kaudal arterin pulsatil kan akışının izlenmesi esasına dayanır. Cerrahi uygulama gerektirmez ve kısa ya da uzun süreli çalışmalarda anestezi yapılmaksızın deney hayvanlarında sistolik kan basıncının tekrarlanarak ölçülmesine olanak sağlar. Fakat günlük ortalama sistolik kan basıncını ölçmek mümkün değildir ve tekrarlanan ölçümlerde önemli farklılıklar görülebilir (Kurtz ve ark. 2005). Ölçüm öncesinde deney hayvanının bir ısı pedi üzerinde veya ısı çemberi içinde ısıtılması gereklidir. Aksi takdirde pulsatil kan akımı ölçülemeyebilir (Thompson 1990 pp. 94-97).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Hayvanların Genel Özellikleri

Çalışmamızda ortalama 200-250 g ağırlığında Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deneysel Hayvanlar Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Hayvanlar deney süresince ad libitum olarak standart pellet sıçan yemi ile beslenmişlerdir. İçme suyu olarak kontrol gruplarında çeşme suyu kullanılmıştır. Deneysel hipertansiyon oluşturulacak sıçanlara ise içme suyu olarak non-selektif NOS inhibitörü L-NAME içeren çeşme suyu verilmiştir. Hayvanlar 20 ± 2 °C'de ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunun sağlandığı bir ortamda muhafaza edilmişlerdir.

Çalışmamızda kullanılan retinal arterler ise yetişkin erkek veya dişi sığırların gözlerinden izole edilmiştir. Gözler, İstanbul Büyükşehir Belediyesi'ne ait Mezbaha'da yapılan veteriner kontrolünden geçmiş günlük sığır kesimlerinden elde edilmiştir.

Deneysel İ.Ü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24.09.2008 tarihli, 105 no'lu Etik Kurul kararına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araç ve Gereçler

Dört kanallı myograf sistemi (DMT & ADInstruments; Model 610M)

Kuyruktan Kan Basıncı Ölçüm Sistemi (NIBP) (Tail-cuff)
(ADInstruments; Model ML125/R)

% 95 O₂ + CO₂ içeren gaz karışımı tüpü

Otomatik mikropipet ve Eppendorf tüp

Cerrahi makas ve pens

40 µm çapında paslanmaz çelik tel

Vorteks (Velp Scientifica)

Petri kutusu

Diseksiyon mikroskobu (Zeiss 2000)

Soğuk ışık kaynağı (Schott)

Termostatlı su banyosu (Thermomixs)

Lateks membran (Tail-cuff için) (ADInstruments)

Hayvan sabitleyicisi (Restrainer) (ADInstruments)

Santrifüj (3000 devir/dk) (Ettich)

Elektronik Terazı (Sartorius)

Elektronik Hassas Terazı (Sartorius)

Derin dondurucu (-20 °C) (Electrolux)

Işık mikroskobu (Leica)

Image Pro-Plus fotoğraflama sistemi

Mikrotom (Leica RM 2125 RT)

Bilgisayar ve yazıcı

“ADInstruments Powerlab Chart5 for Windows” yazılım programı

“ADInstruments Powerlab DMT Normalization v1 for Windows”
yazılım programı

“ADInstruments Powerlab NIBP LabChart6” yazılım programı

GraphPad Prism 5 yazılım programı

3.3. Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları

N ω -Nitro-L-arginin metil ester hidroklorür (L-NAME; Sigma): Non-selektif NOS enzim inhibitörü. NO sentezini inhibe ederek deneysel hipertansiyon oluşturmak için kullanılmıştır.

Sıçanların içme sularına her gün 60 mg/kg dozunda (0.5 - 0.6 mg/mL) eklenmiştir. Her gün taze olarak hazırlanarak uygulanmıştır.

Prostaglandin F_{2 α} (Pfizer; Dinolytic): Vazokonstriktör ajan.

10⁻⁴M olan stok çözeltisi ve bu stoktan hazırlanan dilüsyonlar kullanılmıştır.

Noradrenalin (Sigma): Vazokonstriktör ajan. Preparatların standardizasyonu için ,

10⁻⁴M konsantrasyonda ve 120 mM KCl ile birlikte kullanılmıştır.

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

KCl (Merck): Kastırıcı ajan.

Stok çözeltisi 10⁻²M olarak distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Asetilkolin HCl (Sigma): Endotel bağımlı gevşetici ajan.

Stok çözeltisi 10⁻⁴M olarak 0,001N HCl içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

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

Stok çözeltisi 10⁻⁴M olarak distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltisi ve dilüsyonlar ışıktan korunmuştur.

(R)-(+)-trans-N-(4-pyridinyl)-4-(1-aminoethyl)cyclohexanecarboxamide dihydrochloride (Y-27632; Tocris): Selektif Rho-kinaz enzim inhibitörü.

Stok çözeltisi 10⁻⁴M olarak distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Formaldehit (Merck): Histolojik inceleme için doku tespit edici.

%37'lik formaldehid distile su ile %10'luk çözeltisine seyreltilmiştir.

Hemotoksilen-Eozin: Dokuların ışık mikroskopunda incelenmesi amacıyla boyama maddesi olarak kullanılmıştır.

Rabbit anti eNOS antikor (eNOS Rabbit Pab Neomarker, RB-1711-P): Antikor sulandırıcısında (Lab Vision, TA-125-UD) 1:100 oranında sulandırılarak dokuların immünohistokimyasal olarak eNOS dağılımlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

Rabbit anti iNOS antikor (iNOS Rabbit Pab Neomarker, RB-1605-P): Antikor sulandırıcısında (Lab Vision, TA-125-UD) 1:100 oranında sulandırılarak dokuların immünohistokimyasal olarak iNOS dağılımlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

Ketamin (Richter Pharma AG, Ketazol): Anestezik ajan.

%10'luk enjeksiyonluk solüsyonu kullanılmıştır. Sıçanlara 50 mg/kg dozda ksilazin ile kombine edilerek i.p. olarak uygulanmıştır.

Ksilazin (Bayer, Rompun): Anestezik ajan.

%2'lik enjeksiyonluk solüsyonu kullanılmıştır. Sıçanlara 10 mg/kg dozda ketamin ile kombine edilerek i.p. olarak uygulanmıştır.

Deneylerde kullanılan ilaç solüsyonları derin dondurucuda muhafaza edilen stoklardan Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi ile dilüe edilerek her gün taze olarak hazırlanmıştır. Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisinin içeriği şu şekildedir: (NaCl: 135 mM, KCl: 5 mM, NaHCO₃: 20 mM, Glukoz: 10 mM, CaCl₂: 2.5 mM, MgSO₄.7H₂O: 1.3 mM, KH₂PO₄: 1.2 mM, EDTA: 0.026 mM).

3.4. Yöntem

Çalışmalar izole sıçan karotid ve mezenterik arteri ile sığır retinal arterinde yürütülmüş ve bu damarlarda hipertansif ve kontrol (normal) sıçanlardan izole edilen retina dokusunun etkisi incelenmiştir.

3.4.1. Sıçanlarda Hipertansiyon Oluşturulması ve Takibi

Çalışmamızda kontrol ve hipertansif olmak üzere iki gruba ayrılmış Wistar Albino erkek sıçanlar (200-250 g) kullanılmıştır. Hipertansif gruptaki sıçanların içme sularına her gün taze olarak hazırlanmak suretiyle, 60 mg/kg dozunda (0.5 - 0.6 mg/mL) non-selektif NOS enzim inhibitörü L-NAME eklenmiş ve bu işleme 6 hafta boyunca devam edilmiştir (Ribeiro ve ark. 1992). Hayvanların günlük su tüketimi, daha önce yürütülen ön çalışmaya göre, her gün takip edilerek bir sıçan için 25-30 ml / gün olarak tespit edilmiş ve verilmesi gereken dozda L-NAME'in suya eklenecek olan miktarı bu tüketime göre belirlenmiştir. Kontrol grubundaki sıçanlara ise içme suyu olarak sadece çeşme suyu verilmiştir.

Kontrol ve hipertansif gruplardaki hayvanların vücut ağırlıkları ve sistolik kan basınçları haftada bir yapılan ölçümler ile 6 hafta boyunca takip edilmiştir. Sistolik kan basıncının ölçümünde kuyruk-manşon yöntemi (tail-cuff) kullanılmıştır.

Deney süresi ve takibi boyunca hayvanların yaşam koşullarına dikkat edilmiş ve bu süre içinde hayvanlarda meydana gelen komplikasyonlar ve değişiklikler izlenmiştir.

3.4.2. Dokuların Fonksiyonel Çalışmalar İçin Hazırlanması

3.4.2.1. Sıçan Karotid ve Mezenterik Arteri ile Sığır Retinal Arterinin İzolasyonu

6. haftanın sonunda deneye alınan hipertansif ve kontrol grubu sıçanların Ketamin (50 mg/kg) + Ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında, boyun bölgeleri açılarak karotid arterleri ve karın bölgeleri açılarak mezenterik arterleri izole edilmiştir. İzole edilen arterler Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içeren petri kutularına alınmıştır.

Retinal arterler ise veteriner kontrolünde yeni kesilmiş erkek veya dişi sığırlardan alınan gözlerden izole edilmiştir. Mezbahadan alınan sığır gözleri soğuk ve kısmen buzlu Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içeren bir taşıma kabı ile hızla laboratuvara taşınmıştır. Gözler, ekstraoküler kasları ve bağ dokularından temizlendikten sonra korneal bölgenin gerisinden kesilerek ikiye ayrılmıştır. Anterior kısım atıldıktan sonra, geri kalan içi vitröz hümör dolu kısım bir petri kutusuna alınmıştır. Retinaya zarar vermeden dikkatle vitröz hümör akıtılarak retinadan uzaklaştırılmıştır. Petri kutusu içerisinde ve diseksiyon mikroskobu altında merkezi retinal arter izole edilmiştir.

İzole edilen karotid, mezenterik ve retinal arterler diseksiyon mikroskobu altında çevre dokulardan temizlenmiş ve her bir damar dokusundan myograf sisteminin doku tutucuları arasına girecek uzunlukta preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatların her biri 40 µm çapında iki paslanmaz çelik telden geçirilmek suretiyle myografin doku tutucuları arasına yerleştirilmiştir. Bu tellerden biri güç duyarlı (force displacement) transdüser, diğeri ise mikrometreye fikse edilmiştir. Uygulanan deney protokolüne göre karotid, mezenterik ve retinal arterlerde yapılan çalışmalar paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.2.2. Sıçan Retina Dokusunun İzolasyonu

6. haftanın sonunda hipertansif ve kontrol grubu sıçanların anestezi altında göz küreleri izole edilerek Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içeren petri kutusuna alınmıştır. Retinal doku mikroskop altında bir pens yardımı ile dokuya hasar vermeden dikkatle ayrılmıştır. İzole edilen retina dokusu deney süresince oksijenlenmiş Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.4.2.3. Arterlerin Standardizasyonu

Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içeren myograf sistemine yerleştirilen damarlar %95 O₂ + %5 CO₂ gaz karışımı ile havalandırılmış ve 37 °C’de bir saat süreyle dengelenmeye bırakılmıştır. Dengelenme süresi boyunca Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi her 10 dakikada bir değiştirilmiştir. Dengelenme süresinin ardından mezenterik ve retinal arterler için normalizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Normalizasyon işlemi esnasında mezenterik ve retinal arterlere uygulanan gerim kademeli olarak arttırılmış ve pasif damar duvar gerimi-iç çevre ilişkisi çalışılmıştır. Böylece normal fizyolojik koşullarda, tamamen gevşemiş damarın içinden geçen kanın duvara yaptığı basıncın (transmural basınç; 13,3 kPa [100 mm-Hg], %90’ına karşılık gelen iç çevre belirlenerek mezenterik ve retinal arterlerin gerimi mikrometre yardımı ile bu düzeye getirilmiştir (Mulvany ve Halpern 1977). Karotid arterlere ise 0,5 g (4,905 mN)’lık ön gerim uygulanmıştır (Boussery ve ark. 2002b). Uygun ön gerime getirilen bu arterler 30 dakika süreyle tekrar dengelenmeye bırakılmıştır ve ardından 20’şer dakika ara ile iki defa potasyum klorür (KCl; 120 mM) ve noradrenalin (NA; 10⁻⁴ M) kombinasyonu (NAK) ile kastırılarak standardize edilmiştir.

3.4.3. Fonksiyonel Çalışmalar

3.4.3.1. İzole Arterlerde Endotel ve Düz Kas Aracılı Gevşeme Yanıtlarının Belirlenmesi

İzole sıçan karotid, mezenterik ve retinal arterlerinde endotel fonksiyonunun belirlenmesi amacı ile prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α} 10⁻⁵M – 3x10⁻⁵M) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak asetilkolin (Ach; 10⁻¹⁰M – 10⁻⁴M) uygulanmıştır.

İzole sıçan karotid, mezenterik ve retinal arterlerinde düz kas gevşeme kapasitelerinin belirlenmesi amacı ile prostaglandin F_{2α} (10⁻⁵M – 3x10⁻⁵M) ile

prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak sodyum nitroprusiyat (SNP; 10^{-10}M – 10^{-4}M) uygulanmıştır.

Hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerde elde edilen endotel ve düz kas gevşeme yanıtları kontrol (normal) sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde elde edilen yanıtlar ile karşılaştırılmıştır.

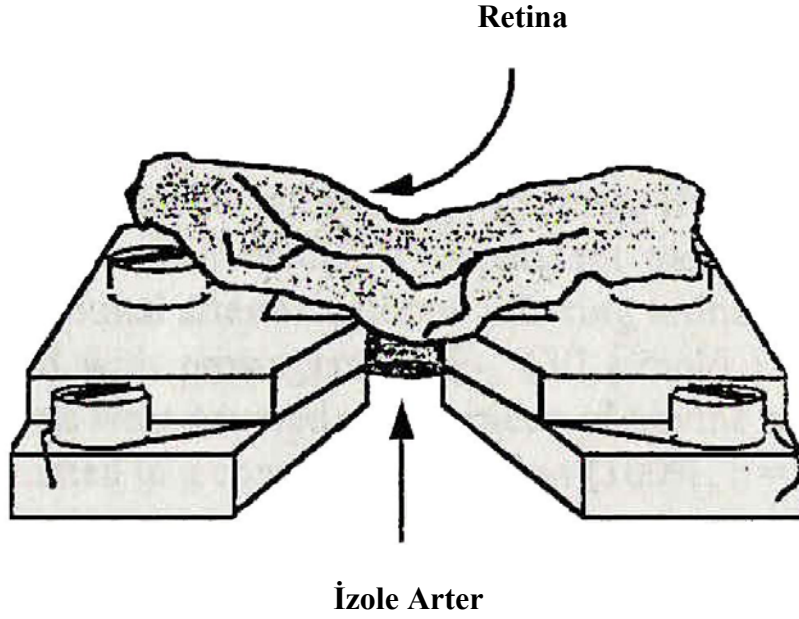
3.4.3.2. İzole Arterlerde Kastırıcı Ajana Karşı Reaktivitenin Belirlenmesi

Hipertansif ve kontrol sıçanlardan izole edilen arterlerde vazokonstriktör ajanlara karşı reaktivitenin belirlenmesi amacı ile, izole sıçan karotid ve mezenterik arterlerine prostaglandin $F_{2\alpha}$ (10^{-9}M – 10^{-4}M) ve KCl (10 mM -100 mM) kümülatif olarak uygulanmış ve konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir.

Hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerde prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve KCl ile elde edilen kasılma yanıtları kontrol sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde elde edilen kasılma yanıtları ile karşılaştırılmıştır.

3.4.3.3. İzole Arterlerde Sıçan Retinasının Etkisinin İncelenmesi

Retinaya bağlı yanıtlar, prostaglandin $F_{2\alpha}$ (10^{-5}M – $3 \times 10^{-5}\text{M}$) ve KCl (120 mM) ile prekontrakte edilen sıçır retinal, sıçan karotid ve mezenterik arterleri üzerine sıçan retina dokusunun yerleştirilmesi suretiyle incelenmiştir (Şekil 3-1).



Şekil 3-1: İzole arter üzerine retina dokusu yerleştirilmesinin şematik gösterimi

(Delaey ve Van de Voorde. *Circ Res.* 1998'ten uyarlanmıştır)

Hipertansif sıçanlardan izole edilen retinal dokunun etkisi, prostaglandin $F_{2\alpha}$ veya KCl ile prekontrakte edilmiş hipertansif sıçan karotid ve mezenterik arterlerinde paralel olarak çalışılmıştır. Hipertansif sıçan retinasının hipertansif karotid ve mezenterik arterlerinde gösterdiği yanıtlar, normal (kontrol) sıçanların retina dokusunun kontrol karotid ve mezenterik arterler üzerinde gösterdiği yanıtlar ile karşılaştırılmıştır.

Bununla birlikte, hipertansif retina dokusunun etkisi kontrol karotid ve mezenterik arterlerde , normal (kontrol) retina dokusu ile paralel olarak incelenmiş, böylece aynı kontrol dokuda hipertansif ve normal retinanın etkisi karşılaştırılmıştır.

Benzer şekilde, normal (kontrol) retina dokusunun etkisi hipertansif karotid ve mezenterik arterlerde, hipertansif retina dokusu ile paralel olarak incelenmiştir. Böylece aynı hipertansif dokuda hipertansif ve normal retinanın etkisi karşılaştırılmıştır.

Ayrıca, hipertansif ve normal sıçanlardan izole edilen retina dokusunun etkisi prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile prekontrakte edilen sığır retinal arterinde de araştırılmıştır.

3.4.3.4. İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde Rho-kinaz Yolağı Aracılı Gevşeme Yanıtlarının İncelenmesi

Retina kaynaklı gevşetici etkinin mekanizmasının Rho-kinaz yolağı ile olası ilişkisini incelemek amacıyla Rho-kinaz inhibitörü Y-27632'nin hipertansif ve normal sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerindeki etkisinin, retina kaynaklı gevşetici etki ile karşılaştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($10^{-5}M - 3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak Y-27632 ($10^{-10}M - 10^{-4}M$) uygulanmıştır.

Hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerde Rho-kinaz inhibitörü Y-27632 ile elde edilen gevşeme yanıtları normal (kontrol) sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde elde edilen yanıtlar ile karşılaştırılmıştır.

3.4.4. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeler

Fonksiyonel çalışmalara paralel olarak, hipertansif ve kontrol sıçanlardan izole edilen damarlar ve retina dokusunda histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. İzole edilen dokulardan alınan örnekler uygun takip ve boyama işlemlerinden sonra ışık mikroskopunda histopatolojik olarak değerlendirilmiş ve immünohistokimyasal yöntem ile eNOS ve iNOS dağılımları incelenmiştir.

Işık mikroskobu ve immünohistokimyasal incelemeler için retina dokusu ile karotid ve mezenterik arterler %10'luk nötral formalinde tespit edildikten 24 saat sonra, %70'lik alkole alınmıştır. Daha sonra yükselen alkol serilerinden geçirilerek ksilolde saydamlaştırılan dokular $58^{\circ}C$ 'lik parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan mikrotom

aracılığı ile 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Bu kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenmiş ve Image Pro-Plus sistemi aracılığı ile fotoğraflanmıştır.

İmmünohistokimyasal incelemeler için ise bu kesitler bir gece 56 °C'de tutulduktan sonra, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek suya kadar getirilmiştir. Sitrat tamponu (pH 6.0) içerisinde mikrodalgada 700 Watt'da 10 dakika tutulduktan sonra, 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğuma işlemini takiben distile suya alınan kesitlerin etrafı, pap pen ile işaretlenmiştir. Endojen peroksidaz aktivitesi için, %3 H₂O₂ (Lab vision, TA-060-HP) ile 10 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Kesitler, distile sudan geçirildikten sonra her basamakta üç defa olacak şekilde fosfat tamponunda (PBS) 15 dakika yıkanmıştır. Yıkamadan sonra kesitlere, oda sıcaklığında 5 dakika Pre-blocking solüsyonu (Golden Bridge, D01-110) uygulanmıştır. Daha sonra kesitler, rabbit anti eNOS (1:100) (eNOS Rabbit Pab Neomarker, RB-1711-P) ve iNOS (1:100) (iNOS Rabbit Pab Neomarker, RB-1605-P) antikorları ile bir gece buzdolabında +4 °C'de inkübe edilmiştir (Antikorlar, antikor sulandırıcısında (Lab vision, TA-125-UD) 1:100 oranında sulandırılmıştır). Kesitler, PBS'de yıkandıktan sonra biotinlenmiş goat anti-rabbit (Golden Bridge, D01-110) ile oda sıcaklığında 30 dakika bırakılmıştır. PBS ile yıkanan kesitlere, 30 dakika streptavidin peroxidase label reagent (Golden Bridge, D01-110) uygulanmış ve ardından kesitler PBS ile yıkanmıştır. Beş dakika AEC (Golden Bridge, C0-12) inkübasyonu ile renkli reaksiyon ürünü sağlanmıştır. Kontrol olarak kabul edilen kesitlere PBS uygulanmıştır. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra, Mayer hematoksilen ile zıt boyama yapılmış ve gliserol jelatin ile kapatılmıştır (McNaughton ve ark. 2002). Hazırlanan preparatlar Leica ışık mikroskobu ile incelenerek, Image Pro-Plus sistemi aracılığı ile fotoğraflanmıştır.

3.4.5. İstatistiksel Analiz

Veriler “ortalama ± standart hata” şeklinde gösterilmiştir. Deney gruplarında belirtilen “n”, hayvan sayısını ya da farklı hayvanlardan izole edilerek çalışılan arter veya retina sayısını göstermektedir. Kasılma yanıtları “mN/mm”, prekontrakte

arterlerde retina dokusuna bağlı olarak görülen gevşeme yanıtları ise prekontraksiyona göre “%” cinsinden verilmiştir. E_{maks} ; arterlerde kastırıcı ajanlarla elde edilen maksimum kasılma yanıtlarını ve ayrıca retina dokusu, asetilkolin, sodyum nitroprusiyat ve Y-27632 ile oluşan maksimum gevşeme yanıtlarını göstermektedir. pD_2 ; maksimum yanıtın (kasılma veya gevşeme) %50’sini oluşturan konsantrasyonun, yani EC_{50} ’nin (-) logaritmasını ifade etmektedir.

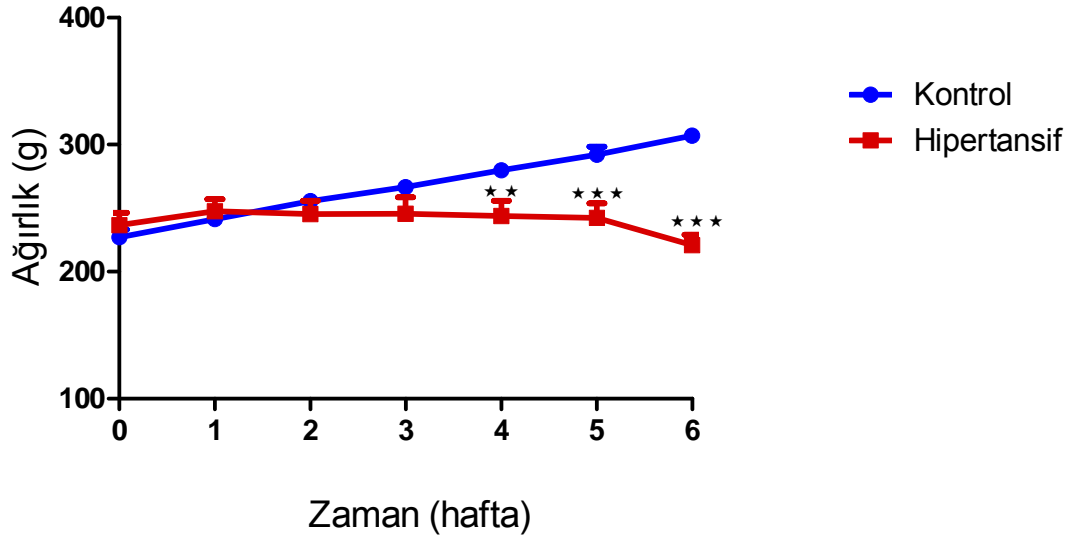
Deney sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Student’s t-testi (gruplar arası farkın anlamlılık testi) ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve sonrasında Tukey Kramer’in çoklu karşılaştırmalar testi kullanılmıştır. “p” değeri 0,05’ten küçük olan karşılaştırmalar anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Fonksiyonel Bulgular

4.1.1. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların Ağırlık ve Sistolik Kan Basıncı Düzeyleri

Kontrol ve hipertansif grup sıçanların ağırlıkları, normal içme suyu veya L-NAME (60 mg/kg) katılan içme suyu uygulamasından sonraki 6 hafta süresince izlendiğinde elde edilen veriler, hipertansif hayvanların ağırlıklarında 4.haftadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğunu göstermiştir (Şekil 4-1).

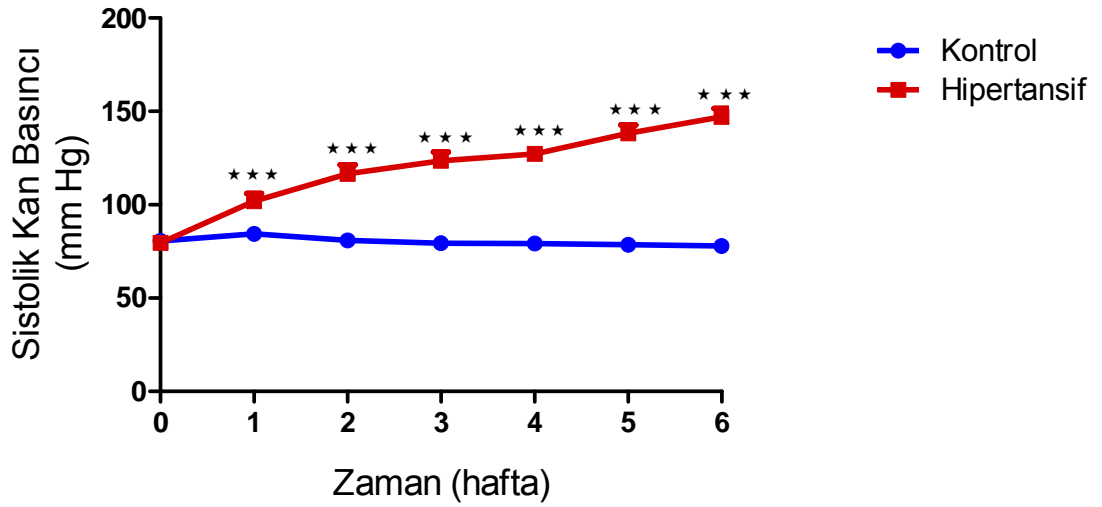


Şekil 4-1: Kontrol ve hipertansif grup sıçanların ağırlıkları

** p< 0,001, *** p< 0,0001 kontrol ile karşılaştırıldığında, n= 12-18.

Kontrol ve hipertansif grup sıçanların sistolik kan basınçları, normal içme suyu ve L-NAME (60 mg/kg) içeren içme suyu uygulamasından sonraki 6 hafta süresince her hafta kuyruk-manşon (tail-cuff) yöntemi ile ölçülüp değerlendirildiğinde; hipertansif hayvanlardaki sistolik kan basıncı düzeylerinin 1. haftadan itibaren kontrol gurubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir (Şekil 4-2). 6. haftanın sonunda kontrol ve hipertansif sıçanlarda elde edilen maksimum sistolik kan basıncı değerleri sırasıyla 77.91 ± 1.62 mmHg (n=18) ve 147.01 ± 4.59 mmHg (n=12) 'dır ($p < 0,0001$).

Bazı hipertansif hayvanlarda artan kan basıncının yanısıra ekstremitelerde zayıflık, göz ve burunda kanama, kilo kaybı, solunum zorluğu gibi felç benzeri semptomlar gözlenmiştir.



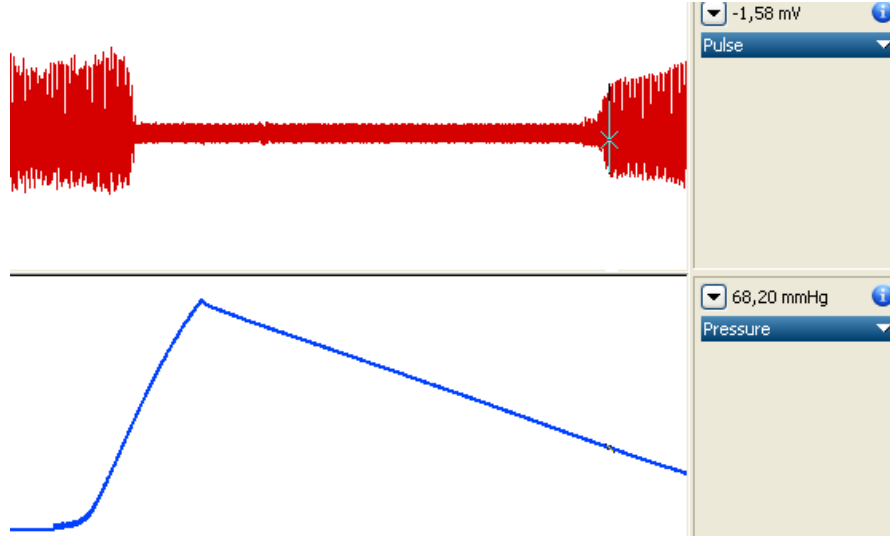
Şekil 4-2: Kontrol ve hipertansif grup sıçanların sistolik kan basıncı düzeyleri

*** $p < 0,0001$, kontrol ile karşılaştırıldığında, n= 12-18.

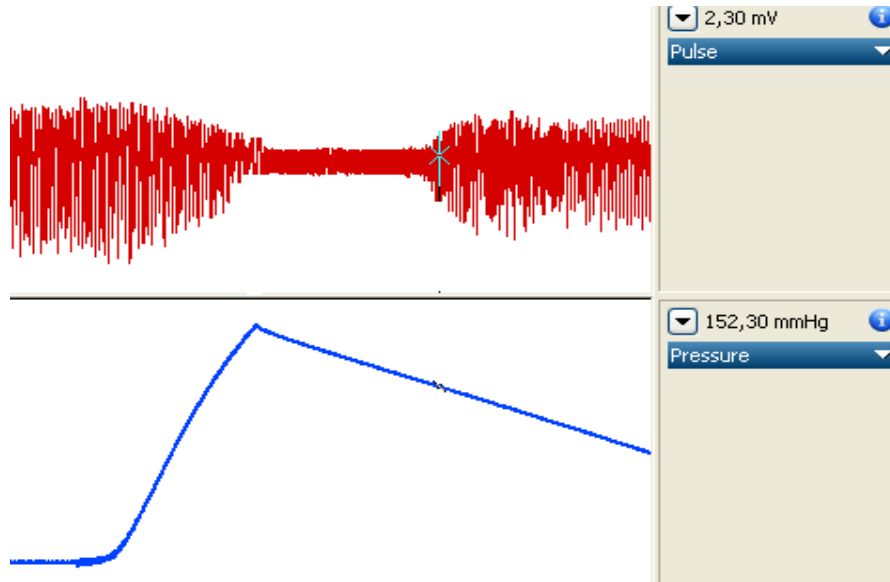
Kontrol ve hipertansif sıçanların 6. haftanın sonunda sistolik kan basınçlarına ait kuyruk-manşon (tail-cuff) yöntemi ile ölçülen trase örnekleri aşağıda gösterilmiştir. Kan basıncındaki yükselmeye paralel olarak manşonun şişirilmesi ve boşaltılması

arasındaki sıkıştırma (basınç) süresinin hipertansif hayvanda kontrole göre azaldığı görülmektedir (Şekil 4-3).

A. Kontrol



B. Hipertansif



Şekil 4-3: Kuyruk-manşon yöntemi ile kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlara ait sistolik kan basıncı ölçümünü gösteren trase örnekleri

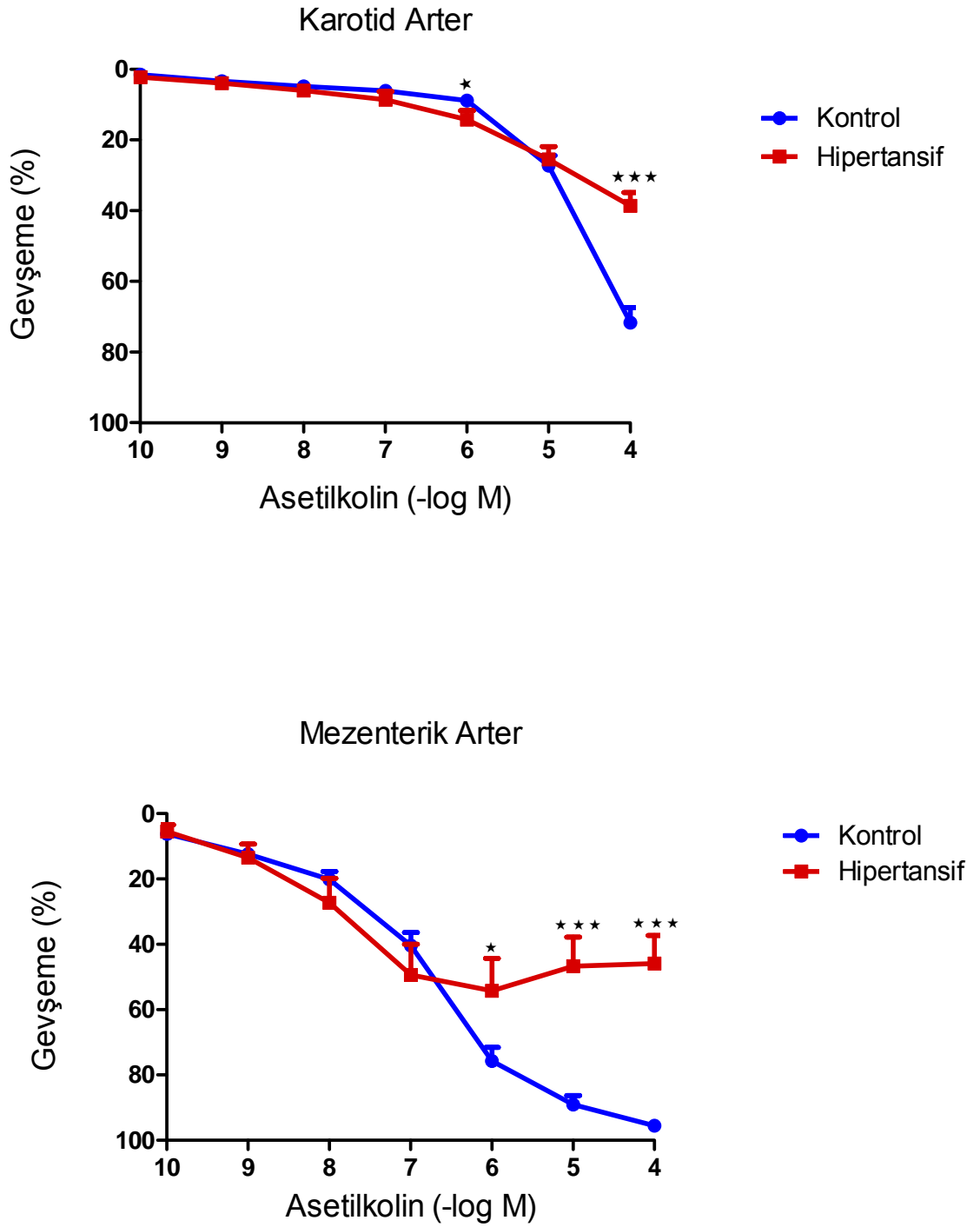
4.1.2. İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerin Endotel ve Düz Kas Aracılı Gevşeme Yanıtları

4.1.2.1. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde Asetilkolin'in Gevşetici Etkisi

Kontrol ve hipertansif sıçanların prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilen izole karotid ve mezenterik arterleri üzerine kümülatif olarak asetilkolin ($10^{-10}M$ - $10^{-4}M$) uygulanması konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4-4).

Hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerde asetilkolin ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. Ayrıca, hipertansif sıçanların mezenterik arterlerinde asetilkolinin yüksek konsantrasyonlarının ($10^{-5}M$ ve $10^{-4}M$) genellikle kasılmaya neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 4-4).

Asetilkolinin pD_2 değerleri kıyaslandığında ise, her iki arterde de hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Kontrol ve hipertansif arterlerde prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri karşılaştırıldığında karotid arterde hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken mezenterik arterde, hipertansif ve kontrol grup arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-1).



Şekil 4-4: $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde asetilkolinin konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi

* $p < 0,05$, *** $p < 0,0001$ kontrol ile karşılaştırıldığında, $n=9-18$.

Tablo 4-1: Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde asetilkolinin E_{maks} ve pD₂ değerleri

	Asetilkolin			n
	Prekontraksiyon (mN/mm)	E _{maks} (%)	pD ₂	
Karotid Arter				
Kontrol	3,11±0,14	71,69±4,23	4,58±0,08	18
Hipertansif	2,43±0,24*	38,65±3,73***	5,17±0,17**	12
Mezenterik Arter				
Kontrol	1,94±0,27	95,66±1,44	6,72±0,07	13
Hipertansif	2,42±0,51	45,96±8,62***	8,04±0,35***	9

pD₂: Maksimum gevşeme yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (- log EC₅₀).

E_{maks}: Maksimum gevşeme yanıtı.

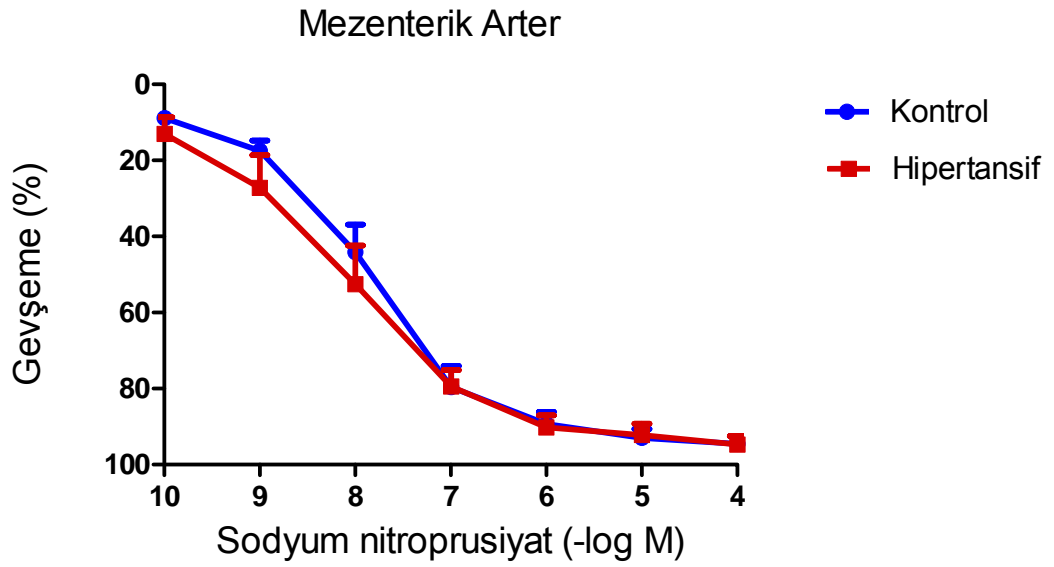
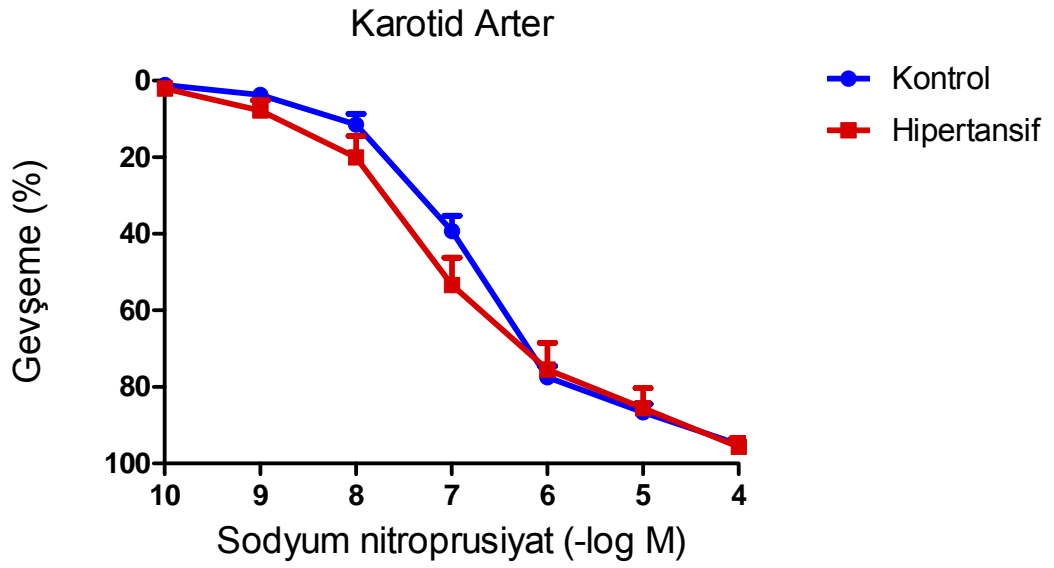
n : İzole arter sayısı.

* **p<0,05**, ** **p<0,001**, *** **p<0,0001**: Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.2.2. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde Sodyum Nitroprusiyat'ın Gevşetici Etkisi

Kontrol ve hipertansif sıçanların prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilen izole karotid ve mezenterik arterleri üzerine kümülatif olarak sodyum nitroprusiyat ($10^{-10}M$ - $10^{-4}M$) uygulanması konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur. Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde sodyum nitroprusiyat'ın maksimum gevşetici etkisi istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-5).

Sodyum nitroprusiyatın pD_2 değerleri kıyaslandığında ise, karotid arterdeki pD_2 değerlerinin hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir. Buna karşın, mezenterik arterde her iki grubun pD_2 değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Kontrol ve hipertansif arterlerde prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri karşılaştırıldığında karotid arterde hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken mezenterik arterde, hipertansif ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4-2).



Şekil 4-5: PGF_{2α} (10⁻⁵M - 3x10⁻⁵M) ile prekontrakte edilmiş kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterleri üzerinde sodyum nitroprusiyatın konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi

p>0,05, kontrol ile karşılaştırıldığında, n=7-15

Tablo 4-2: Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde sodyum nitroprusiyatın E_{maks} ve pD_2 değerleri

	Sodyum Nitroprusiyat			
	Prekontraksiyon (mN/mm)	E_{maks} (%)	pD_2	n
Karotid Arter				
Kontrol	3,21±0,18	95,03±1,48	6,83±0,05	15
Hipertansif	2,05±0,29**	95,72±2,22	7,14±0,12***	8
Mezenterik Arter				
Kontrol	1,45±0,15	94,58±2,06	7,83±0,09	8
Hipertansif	2,51±0,54	94,79±2,22	7,96±0,15	7

pD_2 : Maksimum gevşeme yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (log EC_{50}).

E_{maks} : Maksimum gevşeme yanıtı.

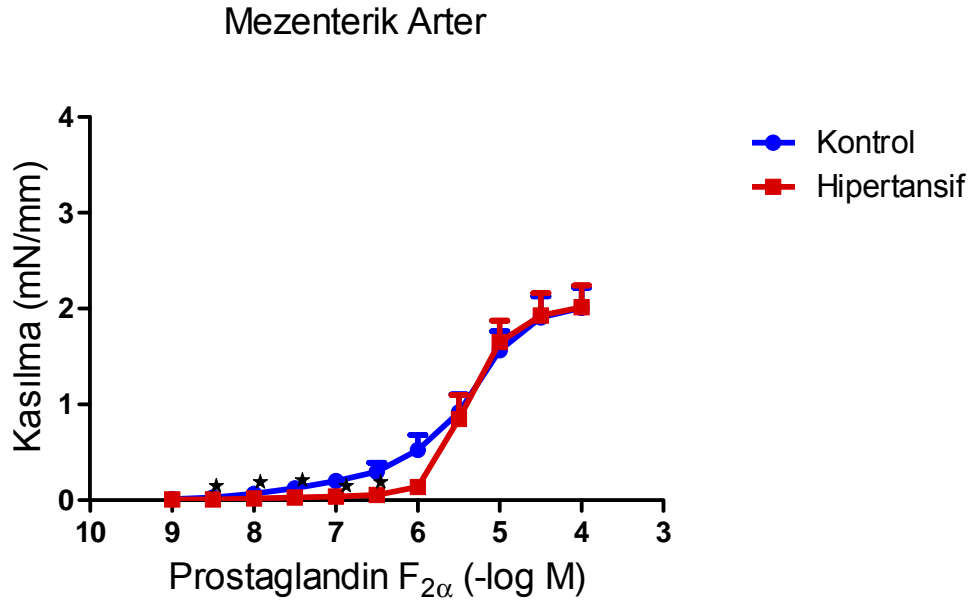
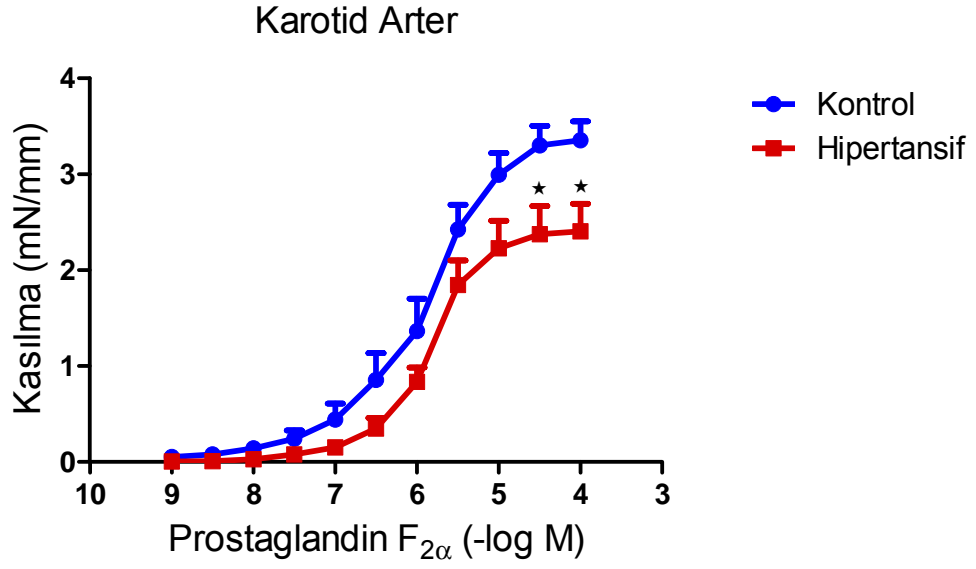
n: İzole arter sayısı.

** $p<0,001$, *** $p<0,0001$: Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.1.3. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterinde Prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'nın Kastırıcı Etkisi

Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterleri üzerine prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'nın ($10^{-9}M-10^{-4}M$) kümülatif olarak uygulanması konsantrasyon bağımlı kasılmalara neden olmuştur. Mezenterik arterde prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'nın düşük konsantrasyonlarının oluşturduğu kasılma yanıtlarının hipertansif grupta kontrole göre azaldığı gözlenirken, maksimum kastırıcı etki kontrol ve hipertansif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Buna karşın, karotid arterdeki maksimum kastırıcı etkinin hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görülmektedir (Şekil 4-6, Tablo 4-3).

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'nın karotid ve mezenterik arterlerdeki pD_2 değerleri ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Ayrıca kontrol ve hipertansif mezenterik arterlerin kasılma yanıtları ve pD_2 değerlerinin kontrol karotid arterlere göre istatistiksel olarak daha düşük düzeyde oldukları belirlenmiştir (Tablo 4-3).



Şekil 4-6: Kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde PGF_{2α} (10⁻⁹M – 10⁻⁴M) ile elde edilen konsantrasyon yanıt eğrileri

*p<0,05, kontrol ile karşılaştırıldığında, n=8-15.

Tablo 4-3: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde PGF_{2α}'nın E_{maks} ve pD₂ değerleri.

	Prostaglandin F _{2α}		
	E _{maks} (mN/mm)	pD ₂	n
Karotid Arter			
Kontrol	3,35 0,19	5,85 0,09	15
Hipertansif	2,40 0,29 [*]	5,80 0,11	8
Mezenterik Arter			
Kontrol	2,01 0,21 [#]	5,41 0,11 [#]	14
Hipertansif	2,01 0,22	5,32 0,11	9

pD₂: Maksimum kasılma yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (- log EC₅₀).

E_{maks} : Maksimum kasılma yanıtı.

n : İzole arter sayısı.

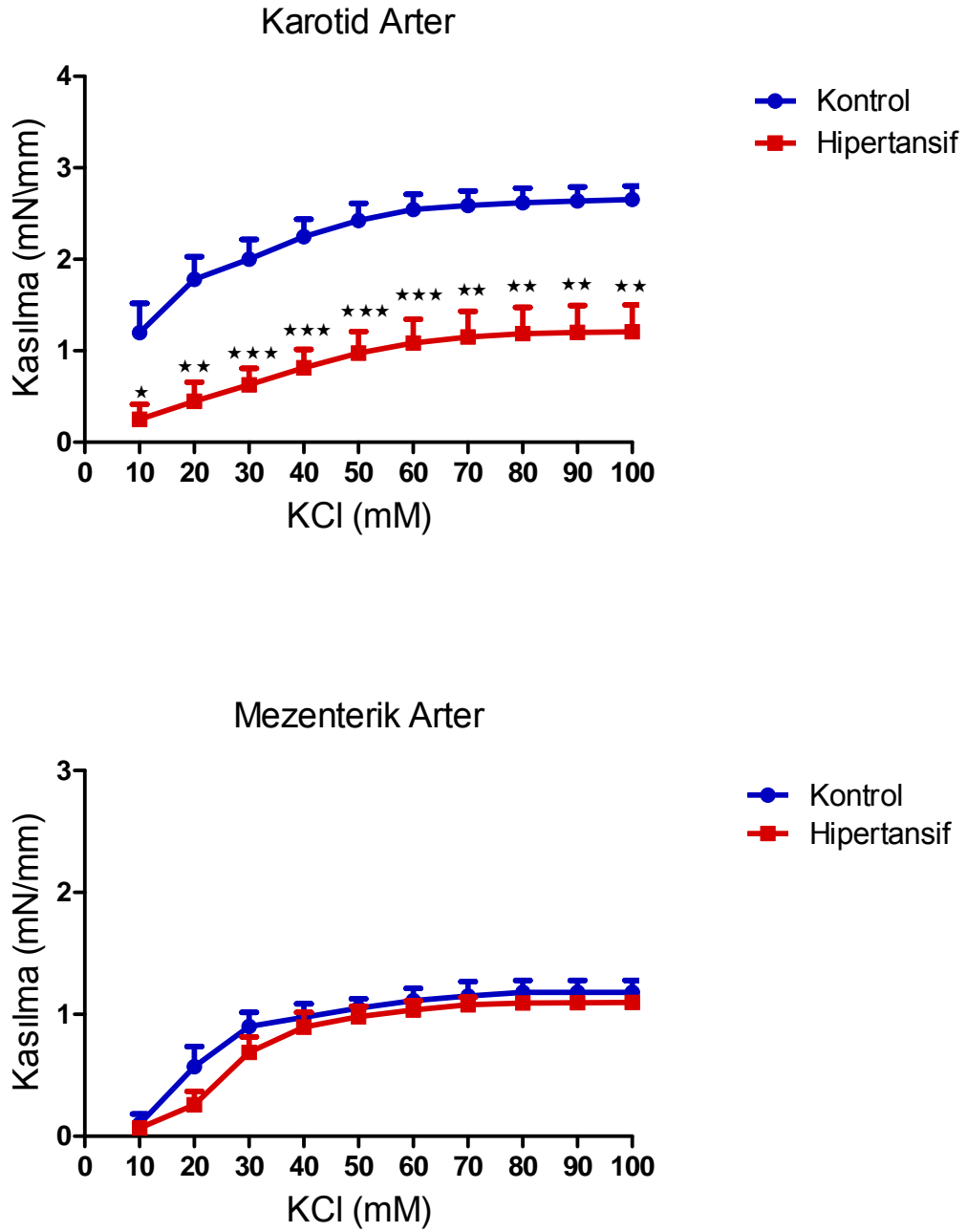
*** p<0,05**: Kontrolü ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

p<0,05: Kontrol karotid arter ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.4. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterlerinde KCl'nin Kastırıcı Etkisi

Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterleri üzerine KCl'nin (10mM -100mM) kümülatif olarak uygulanması konsantrasyon bağımlı kasılmalara neden olmuştur. Mezenterik arterde KCl'nin kastırıcı etkisi kontrol ve hipertansif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir. Buna karşın, KCl'nin karotid arterdeki kastırıcı etkisi hipertansif grupta anlamlı bir azalma göstermektedir (Şekil 4-7, Tablo 4-4).

Öte yandan, KCl'nin karotid ve mezenterik arterlerdeki pD_2 değerlerinde, hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir. Ayrıca, kontrol ve hipertansif mezenterik arterlerin kasılma yanıtları ve pD_2 değerleri açısından kontrol ve hipertansif karotid arterlere göre istatistiksel olarak daha düşük düzeyde oldukları belirlenmiştir (Tablo 4-4).



Şekil 4-7: Kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde KCl (10 mM -100 mM) ile elde edilen konsantrasyon yanıt eğrileri

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$ kontrol ile karşılaştırıldığında, $n = 5-6$.

Tablo 4-4: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde KCl'nin E_{maks} ve pD_2 değerleri

	KCl		
	E_{maks} (mN/mm)	pD_2	n
Karotid Arter			
Kontrol	2,65 0,15	30,01±0,36	6
Hipertansif	1,20 0,29 ^{**}	39,93 0,62 ^{***}	6
Mezenterik Arter			
Kontrol	1,18 0,09 [#]	20,04±0,21 [#]	5
Hipertansif	1,10 0,05	29,83±0,18 ^{***, Δ}	5

pD_2 : Maksimum kasılma yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (- log EC_{50}), mM olarak verilmiştir.

E_{maks} : Maksimum kasılma yanıtı.

n : İzole arter sayısı.

**** $p<0,001$, *** $p<0,0001$:** Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

$p<0,0001$: Kontrol karotid arter ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

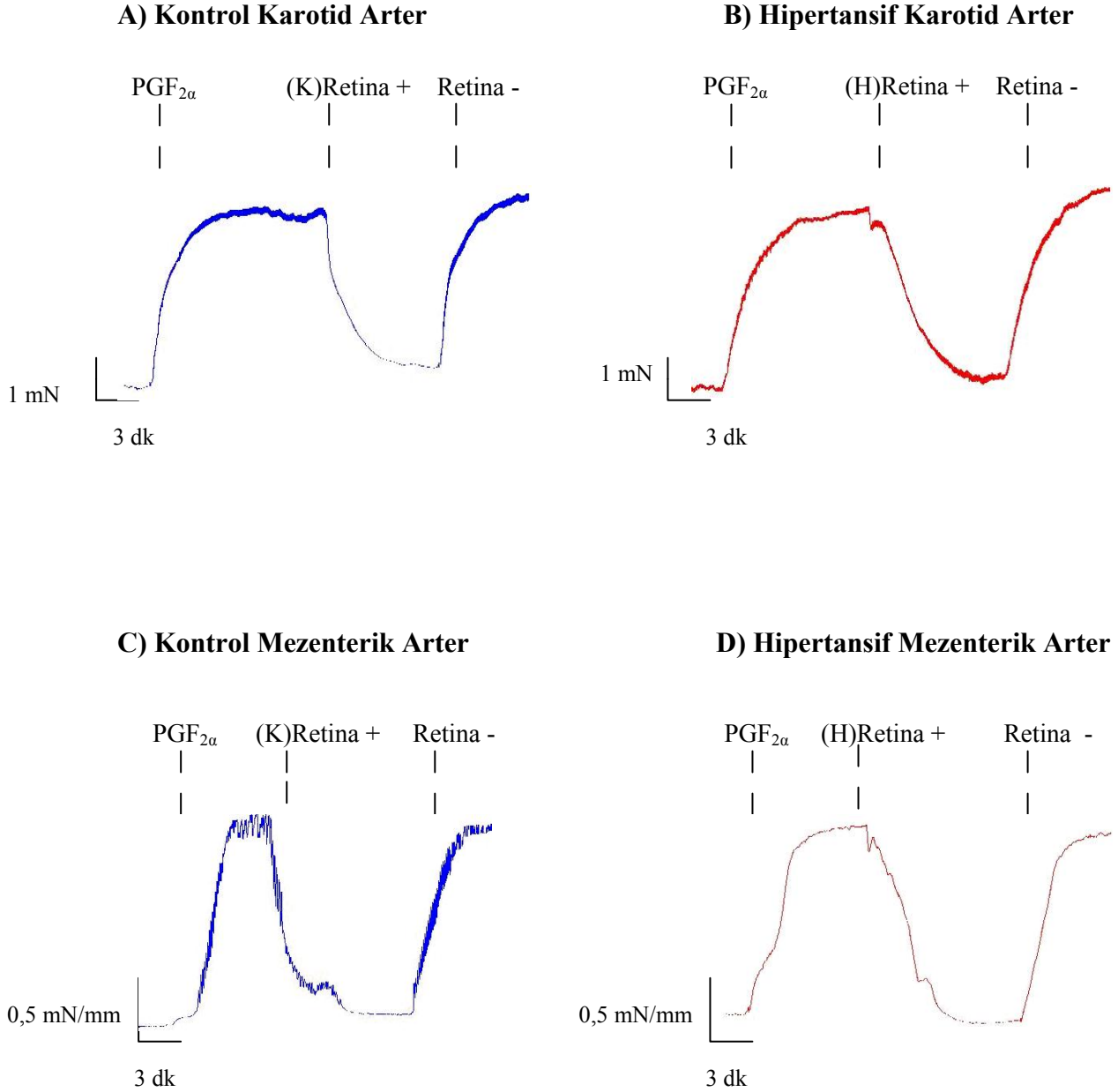
Δ $p<0,0001$: Hipertansif karotid arter ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.1.5. Retinanın Etkisi

4.1.5.1. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların Retinasının Sıçan Karotid ve Mezenterik Arterleri ile Sığır Retinal Arteri Üzerindeki Gevşetici Etkisi

Kontrol ve hipertansif sıçanların prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilen izole karotid ve mezenterik arterleri üzerine sırasıyla, kontrol ve hipertansif retina dokularının yerleştirilmesi akut başlayan ve özellikle mezenterik arterde daha belirgin olmak üzere, bifazik karakter gösteren tam bir gevşeme yanıtına neden olmuştur. Hem kontrol hem de hipertansif grupta retinaya bağlı gevşeme yanıtları, retina dokusu izole arterlerin üzerinden kaldırıldığında tamamen geriye dönmektedir ve tekrarlanabilir bir nitelik taşımaktadır. Ayrıca, karotid ve mezenterik arterlerinde retinanın gevşetici etkisi benzer düzeydedir (Şekil 4-8).

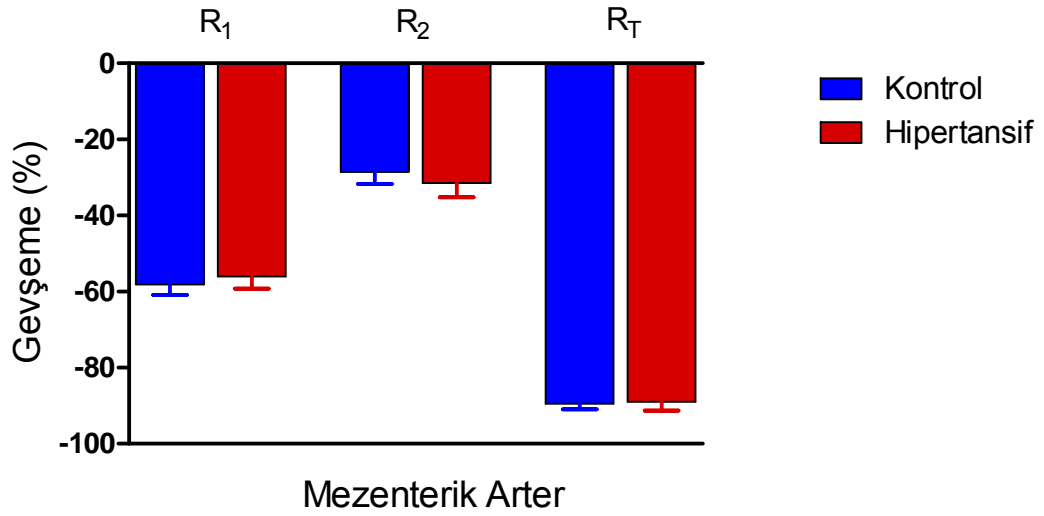
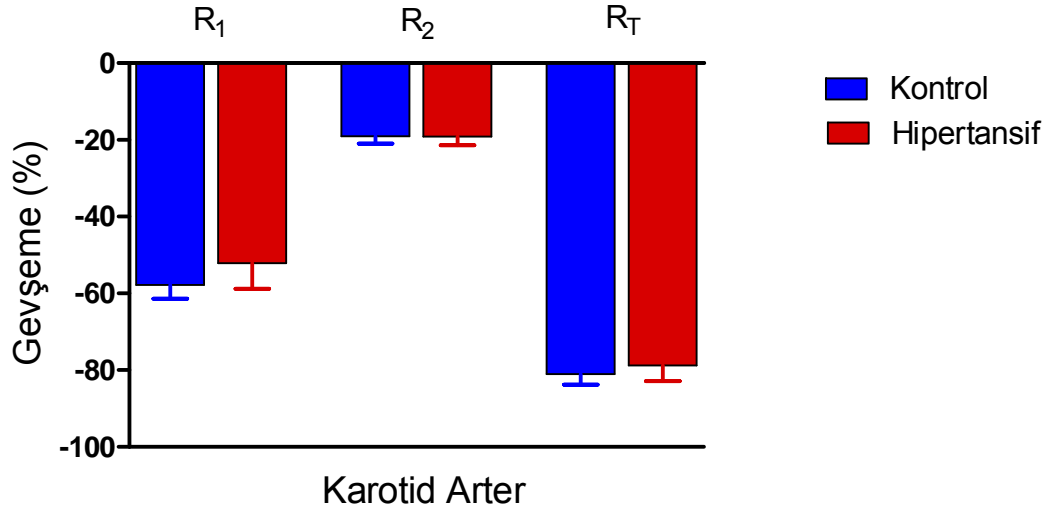
Hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde elde edilen retina kaynaklı gevşeme yanıtları ilk faz, ikinci faz ve maksimum düzeyleri açısından kontrol grubu arterlerdeki retinal gevşeme yanıtlarından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (Şekil 4-9). Hipertansif ve kontrol sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (Tablo 4-5).



Şekil 4-8: Kontrol ve hipertansif sıçanların PGF_{2α} ($10^{-5}M - 3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş karotid ve mezenterik arterlerinde sırasıyla, kontrol (K) ve hipertansif (H) retina dokusunun gevşetici etkisi (orijinal trase).

(+) Retinanın yerleştirilmesini

(-) Retinanın kaldırılmasını göstermektedir.



Şekil 4-9: Kontrol ve hipertansif sıçanların $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş karotid ve mezenterik arterleri üzerine sırasıyla, kontrol ve hipertansif retinaların yerleştirilmesi sonucu elde edilen gevşeme yanıtları

R₁: Retinaya bağlı olarak görülen ilk faz gevşeme yanıtının % cinsinden değeri

R₂: Retinaya bağlı olarak görülen ikinci faz gevşeme yanıtının % cinsinden değeri.

E_{maks.}: Retinaya bağlı olarak görülen toplam (maksimum) gevşeme yanıtının (E_{maks}), % cinsinden değeri.

$p > 0,05$, $n = 6-18$.

Tablo 4-5: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-5}M - $3 \times 10^{-5}\text{M}$) ile elde edilen prekontraksiyon düzeyleri ve retina dokusuna bağlı olarak oluşan maksimum gevşeme yanıtları

	Prekontraksiyon	Retinal Gevşeme	n
	(mN/mm)	$E_{\text{maks.}}$ (%)	
Karotid Arter			
Kontrol	2,90±0,12	81,08±2,72	18
Hipertansif	2,26±0,31*	78,79±4,10	11
Mezenterik Arter			
Kontrol	1,85±0,23	89,42±1,55	18
Hipertansif	2,28±0,30	88,98±2,31	11

$E_{\text{maks.}}$: Retinaya bağlı olarak görülen toplam (maksimum) gevşeme yanıtının (E_{maks}) % cinsinden değeri.

n: İzole arter sayısı

* **p<0,05:** Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Öte yandan, hipertansif sıçanlardan izole edilen retinal dokunun etkisi, kontrol hayvanların karotid ve mezenterik arterlerinde de incelenmiş ve kontrol retinal doku ile benzer düzeyde gevşeme yanıtına neden olduğu belirlenmiştir.

Kontrol karotid arter: hipertansif retina: %79,21±3,84, n=11;
kontrol retina: %81,08±2,72, n=18, p>0,05.

Kontrol mezenterik arter: hipertansif retina: %89,98±3,02, n=9,
kontrol retina: %89,42±1,55, n=18, p>0,05.

Paralel olarak, kontrol sıçanlardan izole edilen retinal doku hipertansif hayvanların karotid ve mezenterik arterlerinde de incelenmiş ve hipertansif retina ile benzer düzeyde gevşeme yanıtına neden olduğu belirlenmiştir.

Hipertansif karotid arter: kontrol retina: %76,64±5,83, n=8
hipertansif retina: %78,79±4,10, n=11, p>0,05.

Hipertansif mezenterik arter: kontrol retina: %93,57±3,01, n=8
hipertansif retina: %88,98±2,31, n=11, p>0,05.

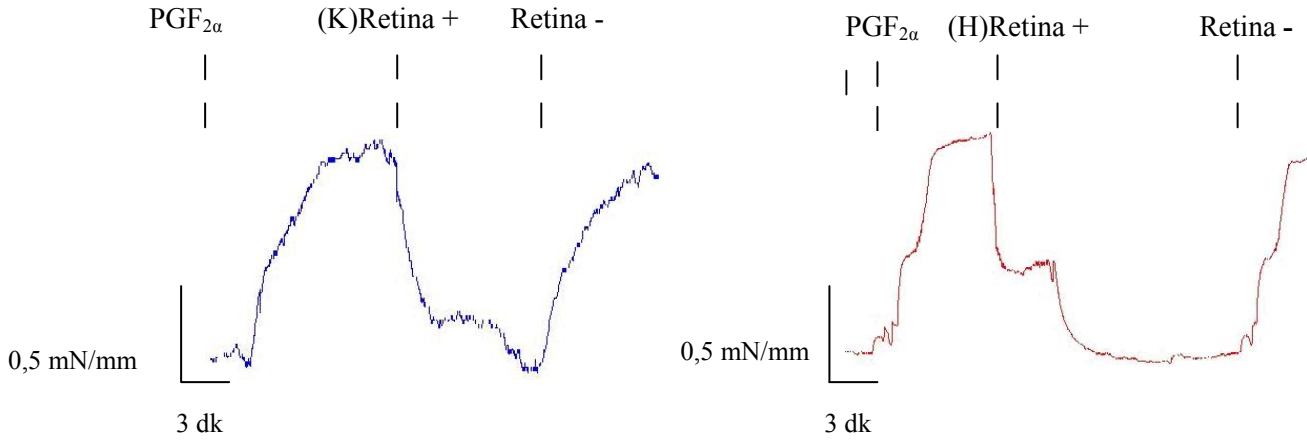
Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($3 \times 10^{-5} M$) ile prekontrakte edilmiş izole sığır retinal arteri üzerine hipertansif ve kontrol sıçanlardan izole edilmiş retina dokularının yerleştirilmesi akut başlayan ve bifazik özellik gösteren tam bir gevşeme yanıtına neden olmuştur (Şekil 4-10). Sığır retinal arteri üzerinde hipertansif sıçan retinası ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtları kontrol retina ile elde edilen yanıtlardan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir (Şekil 4-11, Tablo 4-6). Kontrol ve hipertansif sıçan retinalarının etkisinin incelendiği sığır retinal arterlerinde $PGF_{2\alpha}$ ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri benzerdir (Tablo 4-6). Öte yandan, izole sığır retinal arterlerinde asetilkolin ve sodyum nitroprusiyat sırasıyla $\%33.12 \pm 6.66$ ve $\% 45.31 \pm 4.49$ düzeyinde maksimum gevşetici etki oluşturmuştur ($n=8$).

A) Sığır Retinal Arteri -

Kontrol Sıçan Retinası

B) Sığır Retinal Arteri -

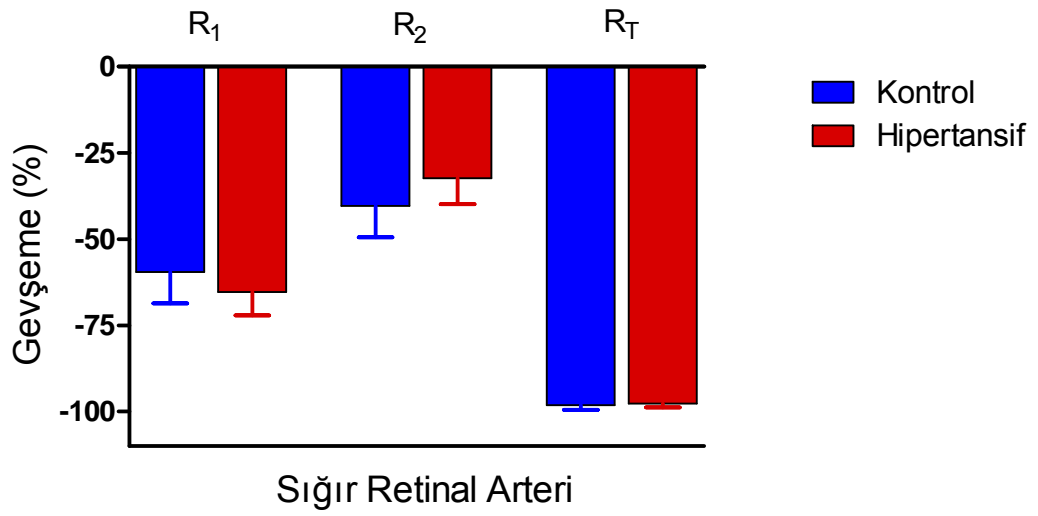
Hipertansif Sıçan Retinası



Şekil 4-10: $PGF_{2\alpha}$ ($3 \times 10^{-5} M$) ile prekontrakte edilmiş izole sığır retinal arterinde kontrol (K) ve hipertansif retina (H) dokusunun gevşetici etkisi (orijinal trase)

(+) Retinanın yerleştirilmesini

(-) Retinanın kaldırılmasını göstermektedir.



Şekil 4-11: PGF_{2α} (3x10⁻⁵M) ile prekontrakte edilmiş sığır retinal arteri üzerine kontrol ve hipertansif sıçan retinaların yerleştirilmesi sonucu elde edilen gevşeme yanıtları

R1: Retinaya bağlı olarak görülen ilk faz gevşeme yanıtının % cinsinden değeri

R2: Retinaya bağlı olarak görülen ikinci faz gevşeme yanıtının % cinsinden değeri.

Emaks.: Retinaya bağlı olarak görülen toplam (maksimum) gevşeme yanıtının (E_{maks}), % cinsinden değeri.

p>0,05, n=8-9.

Tablo 4-6: PGF_{2α} (3x10⁻⁵M) ile prekontrakte edilen sıgır retinal arterinde kontrol ve hipertansif sıçanların retina dokusunun maksimum gevşetici etkisi

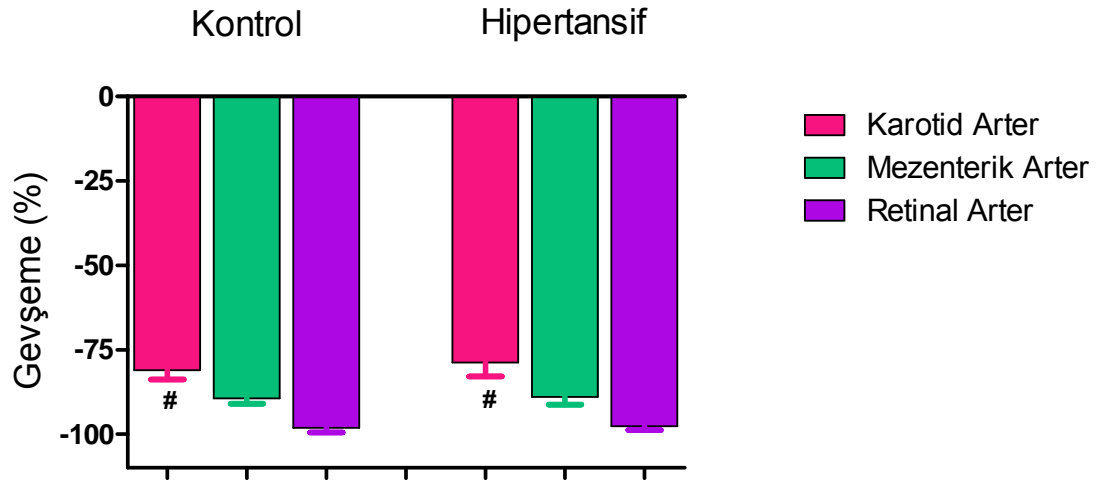
<u>Retinal Arter</u>	Prekontraksiyon	Retinal Gevşeme	n
	(mN/mm)	E _{maks} (%)	
Kontrol	1,22±0,17	98,16±1,30	8
Hipertansif	1,15±0,14	97,65±1,12	9

E_{maks}.: Retinaya bağlı olarak görülen toplam (maksimum) gevşeme yanıtının (E_{maks}) % cinsinden değeri.

n: İzole arter sayısı

p>0,05: İstatistiksel anlamlılık düzeyi.

Kontrol ve hipertansif sıçanların retinasının sığır retinal arterindeki gevşetici etkisi sıçan mezenterik arterinde elde edilen gevşetici etki ile benzer düzeydedir. Sıçan retinası ile karotid arterde elde edilen gevşeme yanıtları ise retinal arterdeki gevşeme yanıtlarına yakın düzeyde olmakla birlikte anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (Şekil 4-12).



Şekil 4-12: $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilen sıçır retinal, sıçan karotid ve sıçan mezenterik arterleri üzerinde kontrol ve hipertansif sıçanların retinasının maksimum (E_{maks}) gevşetici etkisi

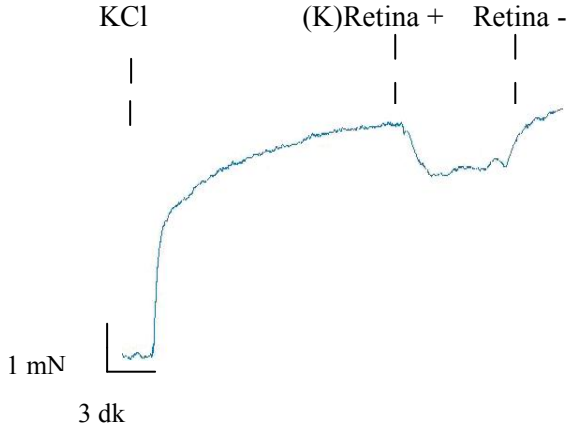
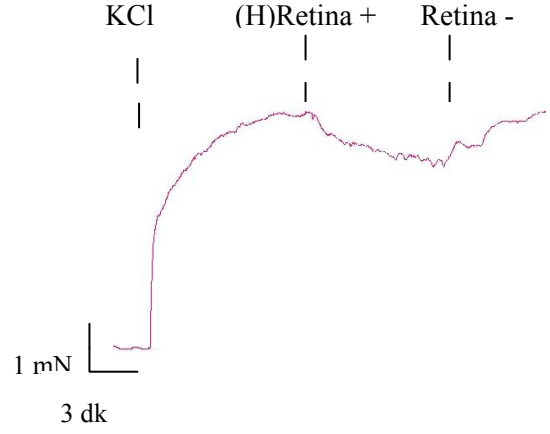
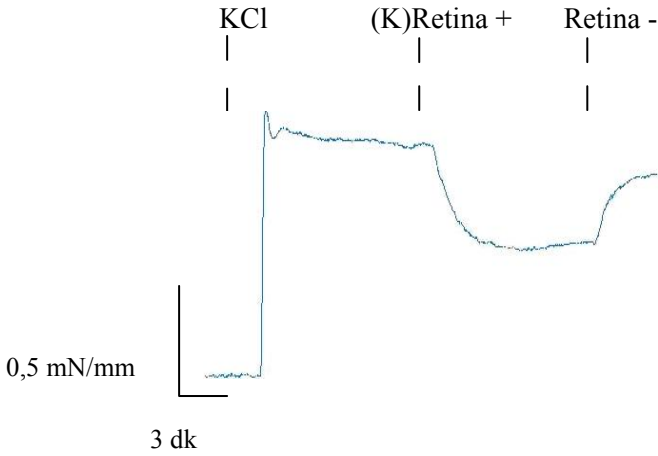
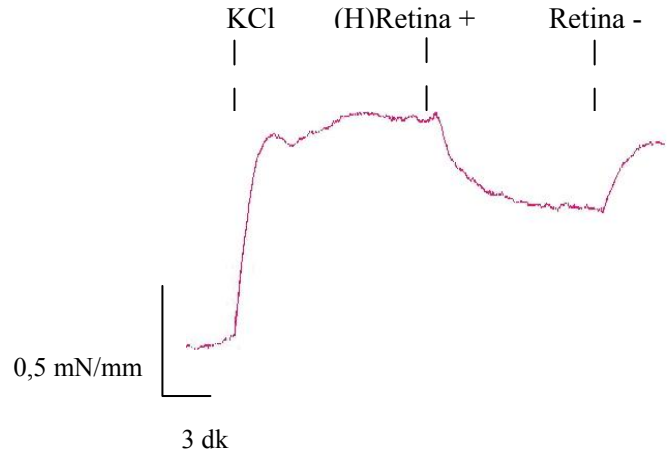
E_{maks} .: Retinaya bağlı olarak görülen toplam (maksimum) gevşeme yanıtının (E_{maks}), % cinsinden değeri.

$p < 0,0001$: Retinal arterdeki gevşeme yüzdesi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

n=8-18.

4.1.5.2. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların Retinasının KCl ile Prekontrakte Edilen Sıçan Karotid ve Mezenterik Arterleri Üzerindeki Gevşetici Etkisi

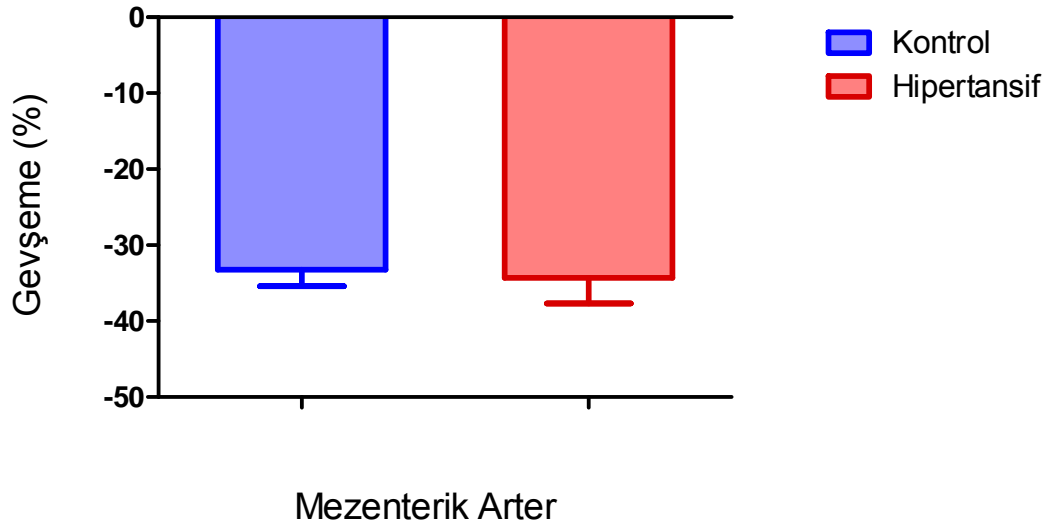
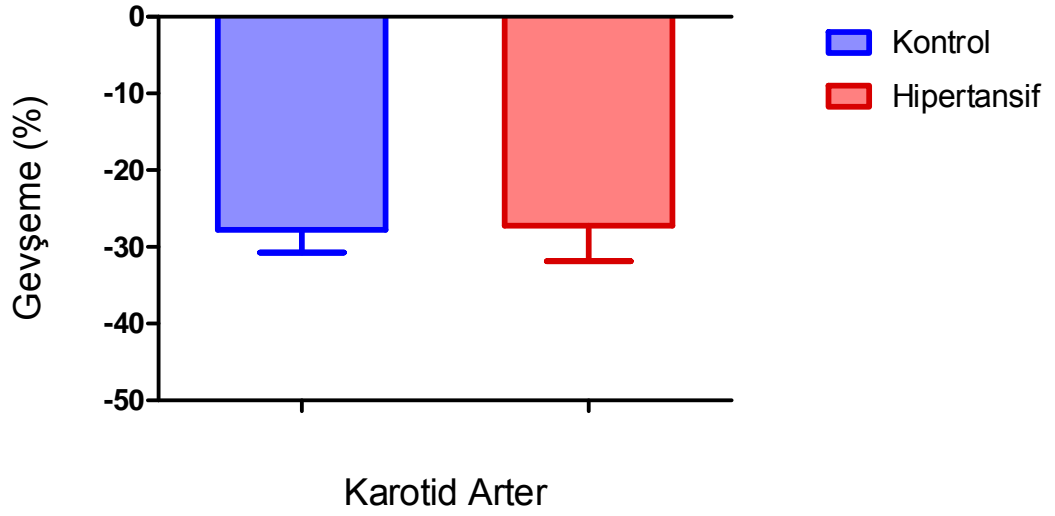
Kontrol ve hipertansif sıçanların KCl (120 mM) ile prekontrakte edilen izole karotid ve mezenterik arterleri üzerine sırasıyla kontrol ve hipertansif retina dokularının yerleştirilmesi, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile prekontrakte edilen arterlerdeki gevşeme yanıtına göre, daha düşük düzeyde ve monofazik karakterde bir gevşeme yanıtı oluşturmuştur (Şekil 4-13). Kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde sırasıyla, kontrol ve hipertansif retina dokuları ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtları benzer düzeydedir, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4-14). Öte yandan, izole karotid arterde KCl ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterirken mezenterik arterde hipertansif ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-7).

A) Kontrol Karotid Arter**B) Hipertansif Karotid Arter****C) Kontrol Mezenterik Arter****D) Hipertansif Mezenterik Arter**

Şekil 4-13: KCl (120mM) ile prekontrakte edilmiş sıçan izole karotid ve mezenterik arterlerinde kontrol (K) ve hipertansif (H) sıçanların retina dokularının gevşetici etkisi (orijinal trase).

(+) Retinanın yerleştirilmesini

(-) Retinanın kaldırılmasını göstermektedir.



Şekil 4-14: Kontrol ve hipertansif sıçanların KCl (120 mM) ile prekontrakte edilmiş izole karotid ve mezenterik arterleri üzerine sırasıyla kontrol ve hipertansif sıçan retinalarının yerleştirilmesi sonucu elde edilen gevşeme yanıtları

$p > 0,05$, $n = 7-15$.

Tablo 4-7: Kontrol ve hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterlerinde KCl (120 mM) ile elde edilen prekontraksiyon düzeyleri ve retina dokusuna bağlı olarak oluşan maksimum gevşeme yanıtları

	KCl		
	Prekontraksiyon	Retinal Gevşeme	n
	(mN/mm)	E _{maks.} (%)	
Karotid Arter			
Kontrol	2,21±0,17	27,77±2,97	13
Hipertansif	1,55±0,25 *	27,22±4,62	7
Mezenterik Arter			
Kontrol	1,04±0,10	33,21±2,20	15
Hipertansif	1,26±0,20	34,33±3,34	10

E_{maks.}: Retinaya bağlı olarak görülen toplam (maksimum) gevşeme yanıtının (E_{maks.}) % cinsinden değeri.

n: İzole arter sayısı

***p<0,05:** Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Öte yandan, hipertansif sıçanlardan izole edilen retinal doku, KCl ile prekontrakte edilen kontrol karotid ve mezenterik arterde, kontrol retinal doku ile benzer düzeyde gevşeme yanıtına neden olmuştur.

Kontrol karotid arter: hipertansif retina: %25,56±5,15, n=5;
kontrol retina: %27,77±2,97, n=13, p>0,05.

Kontrol mezenterik arter: hipertansif retina: %29,11±4,53, n=5,
kontrol retina: %33,21±2,20, n=15, p>0,05.

Paralel olarak, kontrol sıçanlardan izole edilen retinal doku, KCl ile prekontrakte edilen hipertansif karotid ve mezenterik arterde, hipertansif retina ile benzer düzeyde gevşeme oluşturmuştur.

Hipertansif karotid arter: kontrol retina: %28,06±4,99, n=5
hipertansif retina: %27,22±4,62, n=7, p>0,05.

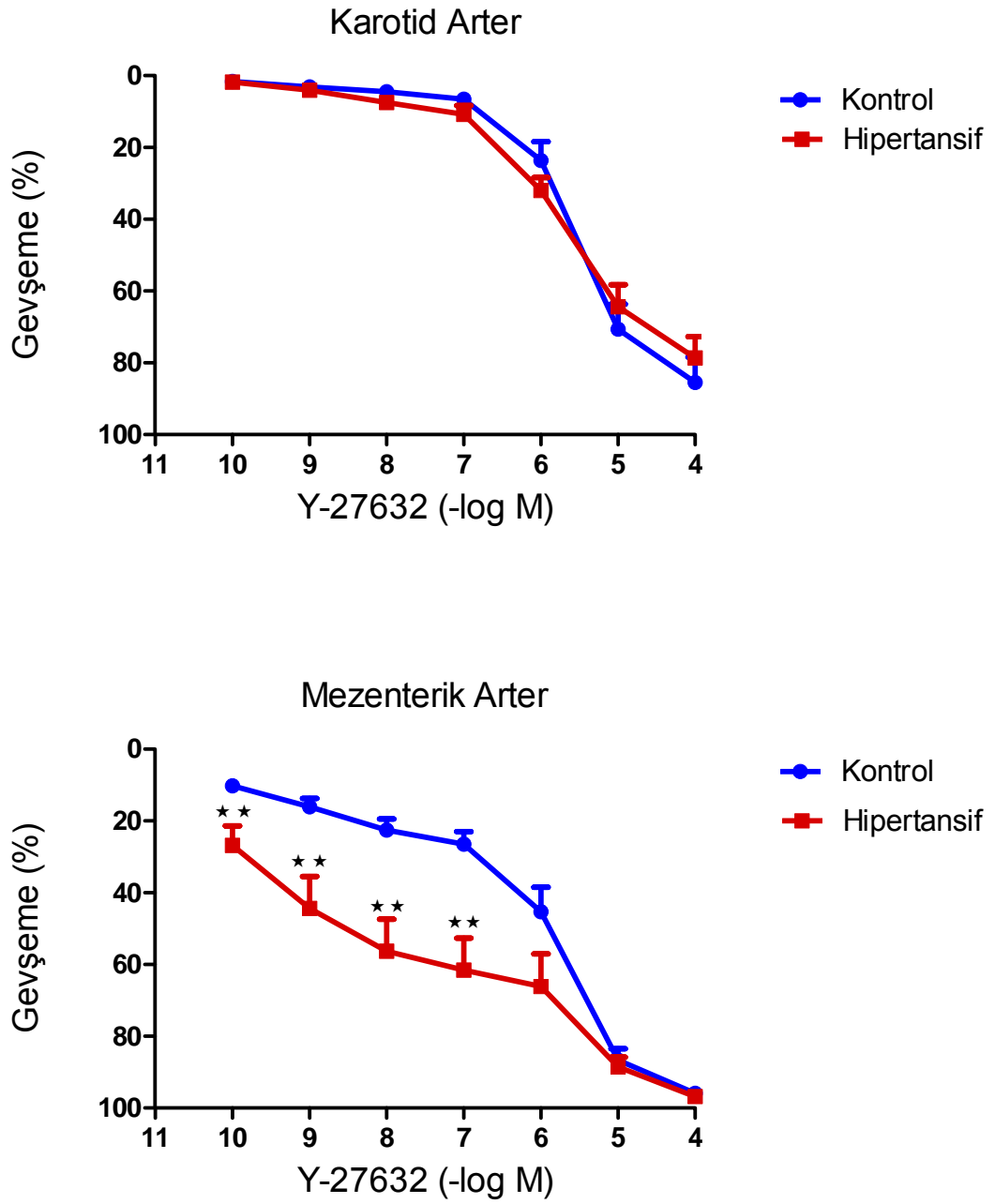
Hipertansif mezenterik arter: kontrol retina: %41,43±7,00, n=7
hipertansif retina: %34,33±3,34, n=10, p>0,05.

4.1.6. Kontrol ve Hipertansif Sıçanların İzole Karotid ve Mezenterik Arterinde Rho-kinaz İnhibitörü Y-27632'nin Gevşetici Etkisi

Kontrol ve hipertansif sıçanların prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş izole karotid ve mezenterik arterleri üzerine kümülatif olarak Rho-kinaz inhibitörü Y-27632'nin ($10^{-10}M$ - $10^{-4}M$) uygulanması konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur (Şekil 4-15).

Hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerde Y-27632 ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtları kontrol grubun arterlerinde elde edilen yanıtlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4-15). Buna karşın, mezenterik arterde Y-27632'nin düşük konsantrasyonları ile elde edilen gevşeme yanıtlarının hipertansif grupta kontrole göre daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Y-27632'nin pD_2 değerleri kıyaslandığında, karotid ve mezenterik arterde hipertansif ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile oluşturulan prekontraksiyon düzeylerinin hipertansif grubun karotid arterinde kontrole göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu gözlenirken, mezenterik arterde ise hipertansif ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-8).



Şekil 4-15: Kontrol ve hipertansif sıçanların $PGF_{2\alpha}$ ($10^{-5}M$ - $3 \times 10^{-5}M$) ile prekontrakte edilmiş izole karotid ve mezenterik arterleri üzerinde Y-27632'nin konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi

** $p < 0.001$, kontrol ile karşılaştırıldığında, $n=8-10$.

Tablo 4-8: Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde Y-27632'nin E_{maks} ve pD₂ değerleri

	Y-27632			
	Prekontraksiyon (mN/mm)	E _{maks} (%)	pD ₂	n
Karotid Arter				
Kontrol	3.32±0,19	85,54±7,05	5,53±0,11	9
Hipertansif	2,13±0,21 ^{***}	78,73±5,91	5,74±0,10	8
Mezenterik Arter				
Kontrol	2,05±0,24	95,99±1,58	5,76±0,09	10
Hipertansif	1,54±0,29	96,91±1,16	5,99±0,31	8

pD₂: Maksimum gevşeme yanıtının %50'sini oluşturan konsantrasyonun (-) logaritma değeri (log EC₅₀).

E_{maks} : Maksimum gevşeme yanıtı.

n : İzole arter sayısı.

*****p<0,0001**: Kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları

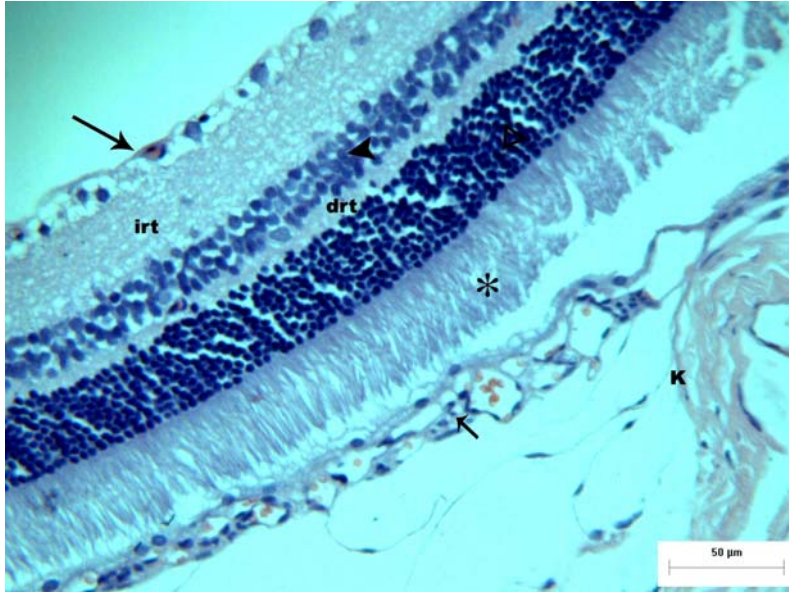
4.2.1. Dokuların Işık Mikroskopunda İncelenmesi

Kontrol ve hipertansif hayvanlardan izole edilen retina dokularının ışık mikroskopunda incelenmesiyle elde edilen bulgular sonucunda, kontrol retinanın normal kalınlıkta olduğu, koroid ve pigment epitelyum ile dış nükleer tabaka, çomak (rod) ve koni (kon) hücre uzantılarının görünümünün normal, bunların altında yer alan hücre gövdelerinin yoğun heterokromatin çekirdekleriyle normal düzen ve büyüklükte olduğu tespit edilmiştir. Bu hücre gövdelerinin altında yer alan dış retiküler tabaka ile iç nükleer tabaka amakrin, horizontal ve bipolar hücrelerinin histolojik olarak normal görünümde oldukları belirlenmiştir. İç retiküler tabaka ve büyük multipolar nöron hücrelerinin yer aldığı iç nükleer tabakanın yapı ve görünüm açısından normal olarak belirlenmiştir. Hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlardan izole edilen retinalarda ise histolojik olarak dış nükleer tabaka hücreleri arasındaki bağlantıların yer yer azaldığı, dış retiküler tabaka normal düzende iken iç nükleer tabakada yer alan hücrelerin nükleus şekillerinde ve tabaka düzeninde farklılaşmalar olduğu tespit edilmiştir. İç retiküler tabaka normal düzende iken gangliyon hücrelerin nükleuslarının küçüldüğü ve hücre uzantılarını yitirdiği belirlenmiştir (Şekil 4-16).

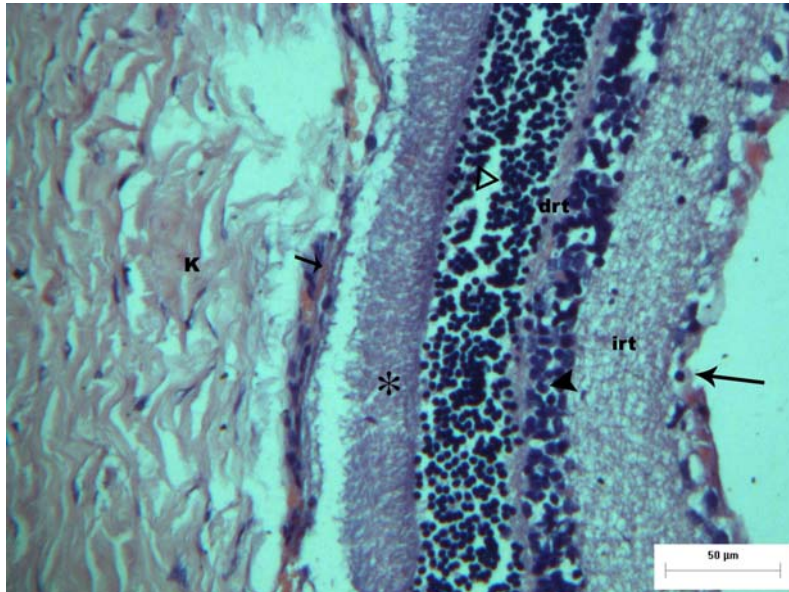
Kontrol ve hipertansif gruplardan izole edilen karotid arterlerin ışık mikroskopunda incelenmesiyle elde edilen bulgulara göre, kontrol karotid arterlerin arter tabakalarının normal yapı ve düzen içerisinde olduğu görülmüştür. Buna karşılık, hipertansif karotid arterlerin tunika intima tabakalarındaki endotelde yer yer lökositlerin bulunduğu, lümeneye yaptığı çıkıntılarının azaldığı belirlenmiştir. Bunun yanında, damar duvarı kalınlığının arttığı, tunika media'yı oluşturan düz kas hücrelerinin normal şekillerini yitirdiği ve atrofiye olduğu, nükleus boyutlarının küçüldüğü gözlenmiştir. Ayrıca, tunika adventisya bağ dokusu tabakasının bütünlüğünü yitirdiği tespit edilmiştir (Şekil 4-17).

Kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde kontrol grubun arter tabakalarının normal yapı ve düzen içerisinde olduğu; hipertansif arterlerin ise tunika intima tabakasında çok sayıda lökosit bulunduğu, tunika media düz kas hücrelerinin kısmen atrofiye olduğu ve dolayısıyla nükleuslarının küçüldüğü belirlenmiştir (Şekil 4-18).

A) Kontrol

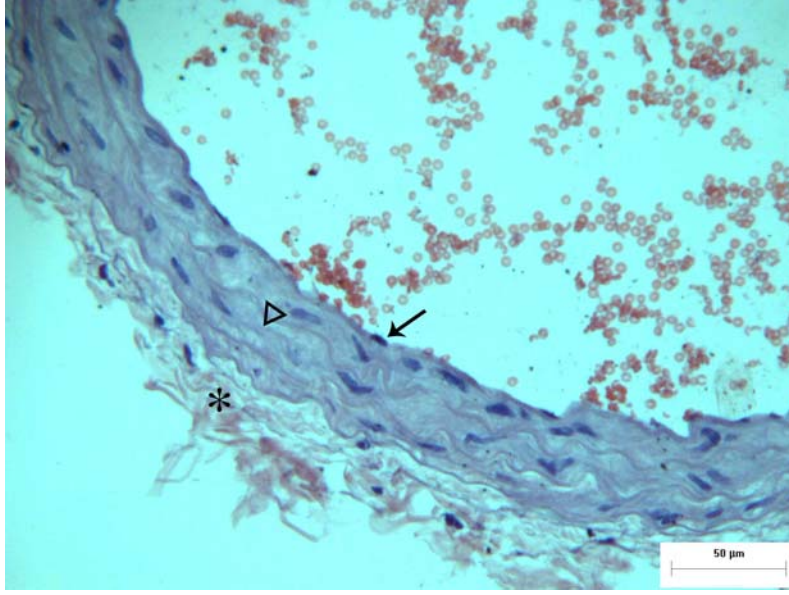
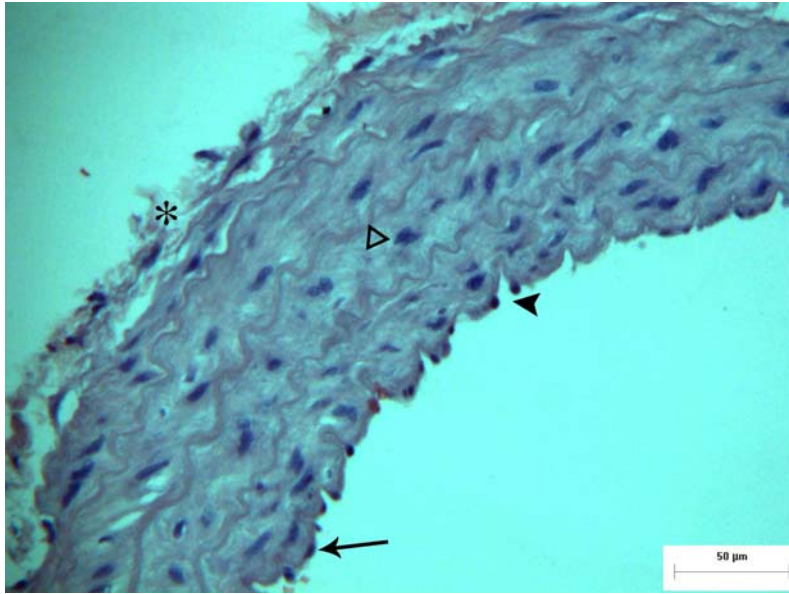


B) Hipertansif



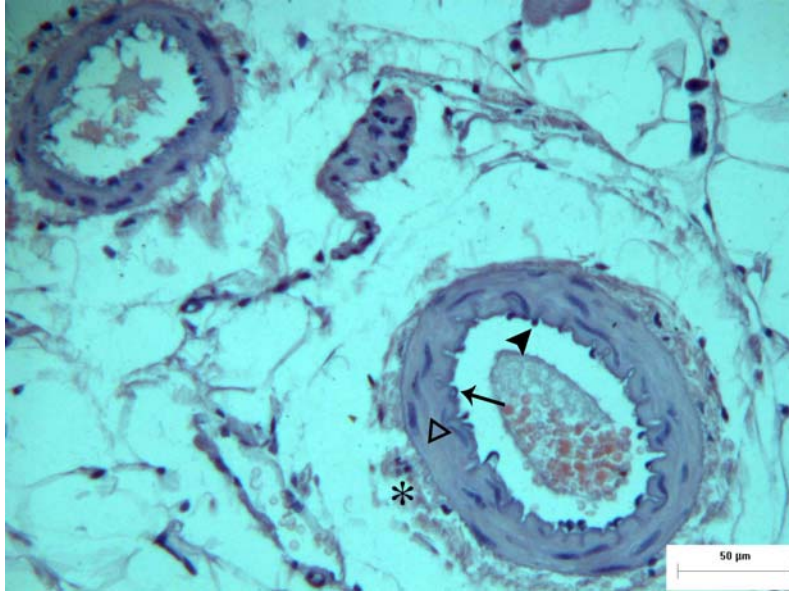
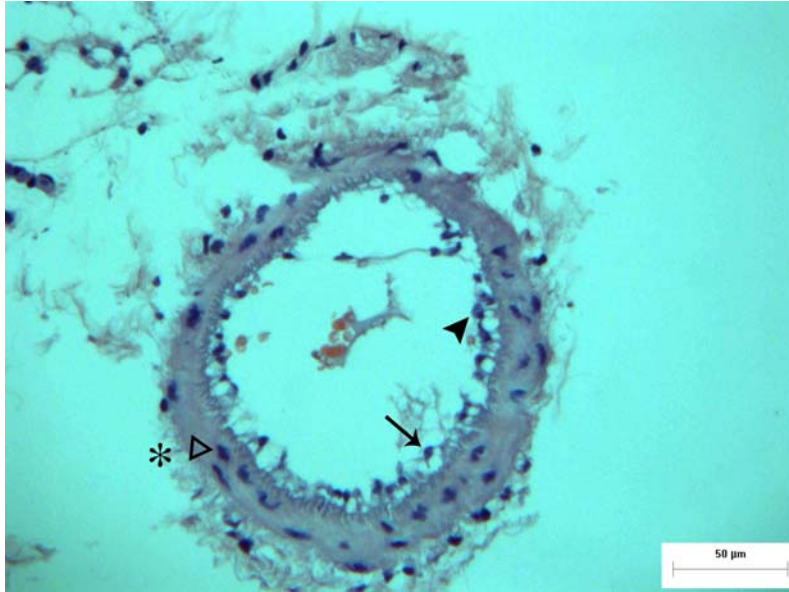
Şekil 4-16 : Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen retina dokusunun ışık mikroskopunda görünümü

gangliyonik hücre tabakası (→), iç retiküler tabaka (irt), iç nükleer tabaka (▴), dış retiküler tabaka (drt), dış nükleer tabaka (Δ), pigment epitelyum (→), rod ve konlar (*) ile koroid tabakası (K) n=6. Bar=50µm.

A) Kontrol**B) Hipertansif**

Şekil 4-17: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçarlardan izole edilen karotid arterlerin ışık mikroskopunda görünümü

tunika intima (→), tunika media (Δ) ve tunika adventisya (*), lökosit (▶) n=6. Bar=50μm.

A) Kontrol**B) Hipertansif**

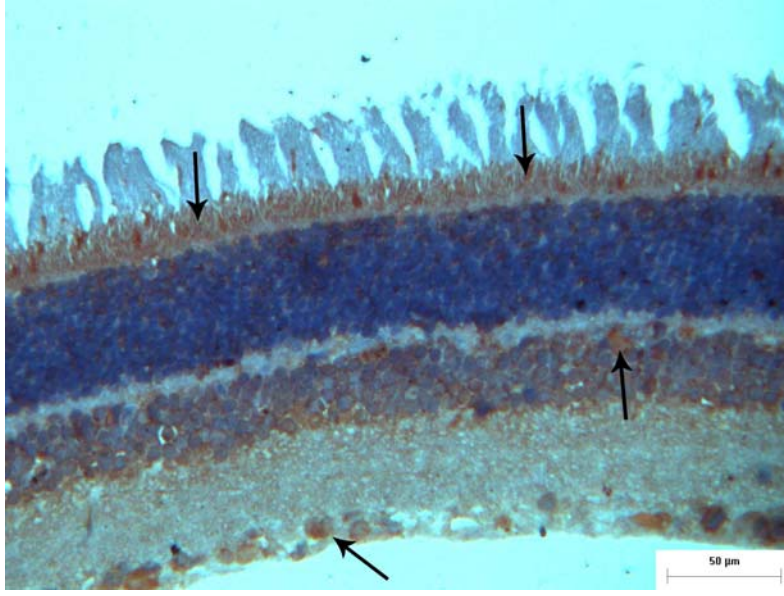
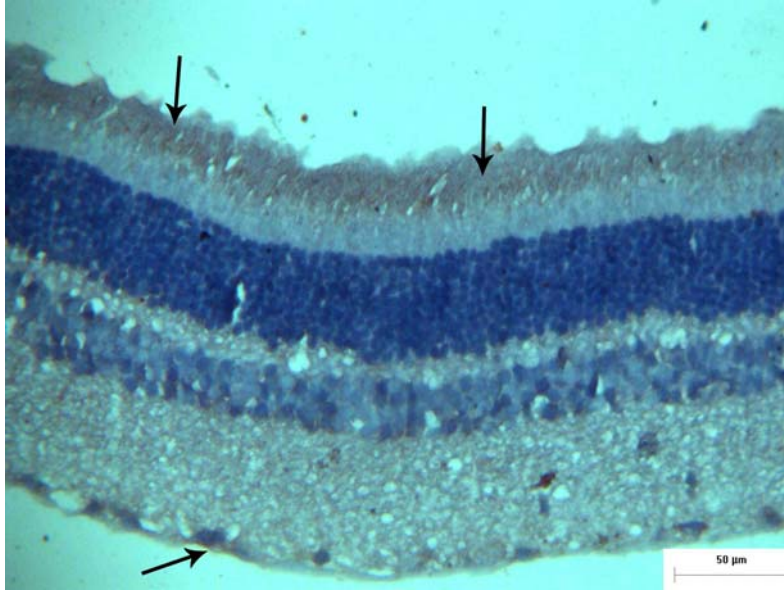
Şekil 4-18: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerin ışık mikroskopunda görünümü

tunika intima (→), tunika media (Δ) ve tunika adventisya (*), lökosit (▶) n=6. Bar=50µm.

4.2.2. Dokularda İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları

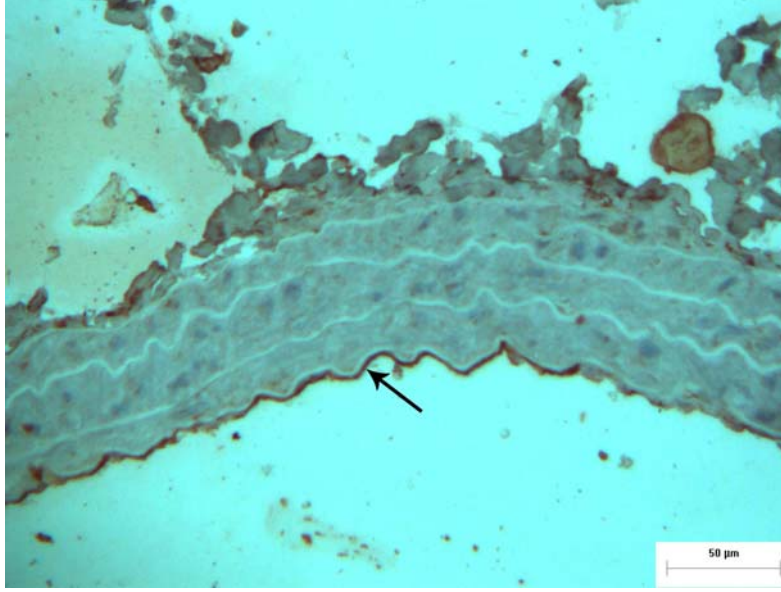
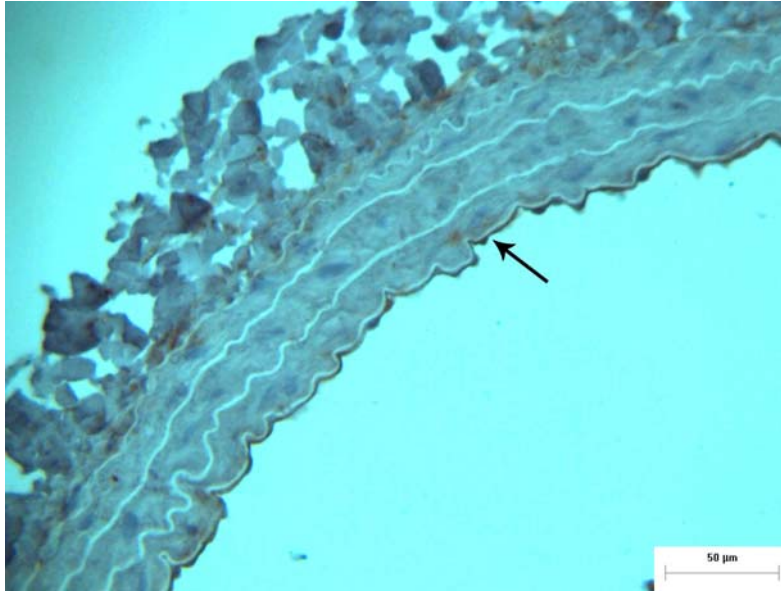
Retina dokusunda yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucunda, kontrol grubunda eNOS dağılımını ifade eden eNOS reaksiyonunun koni hücre uzantılarında yoğun olduğu, buna karşın iç nükleer tabaka hücreleri ve gangliyonik hücrelerde orta düzeyde olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, iNOS reaksiyonunun da koni hücre uzantılarında daha fazla olmak üzere iç nükleer ve gangliyonik hücrelerde yer aldığı belirlenmiştir. Hipertansif grupta ise, eNOS ve iNOS reaksiyonunun koni hücre uzantılarında bulunmadığı, ilginç olarak, çomak hücrelerinin hücre uzantılarında yoğunlaştığı görülmüştür. Ayrıca hem eNOS hem de iNOS dağılımının iç nükleer tabaka hücreleri ile gangliyonik hücrelerde kontrol grubuna göre çok daha hafif düzeyde yer aldıkları saptanmıştır (Şekil 4-19 ve Şekil 4-22).

Karotid ve mezenterik arterde yapılan immünohistokimyasal incelemeler sonucunda ise, kontrol grubuna ait karotid ve mezenterik arterlerde eNOS reaksiyonunun tunika intima tabakasındaki endotel hücrelerinde belirgin olduğu, buna karşın iNOS reaksiyonunun ise çok düşük düzeyde olduğu gözlenmiştir. Hipertansif grupta ise gerek eNOS gerekse iNOS reaksiyonunun tunika intima tabakasındaki endotel hücrelerinde kontrole göre çok daha az olduğu belirlenmiştir (Şekil 4-20, Şekil 4-21, Şekil 4-23 ve Şekil 4-24).

A) Kontrol**B) Hipertansif**

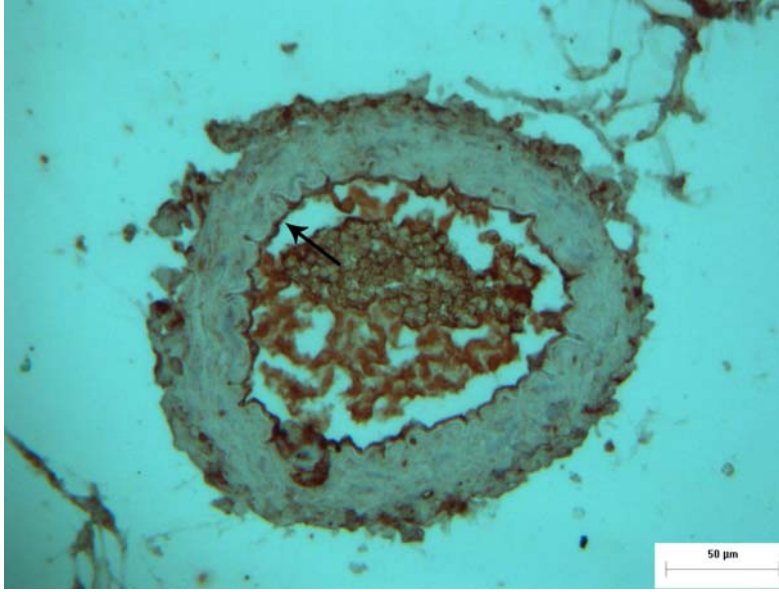
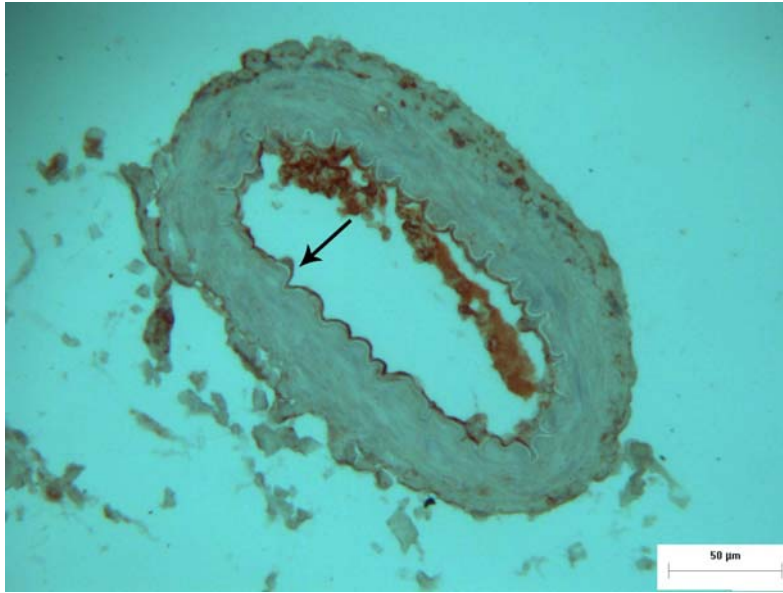
Şekil 4-19: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen retina dokularında eNOS dağılımı

eNOS reaksiyonu (→) n=6. Bar=50µm.

A) Kontrol**B) Hipertansif**

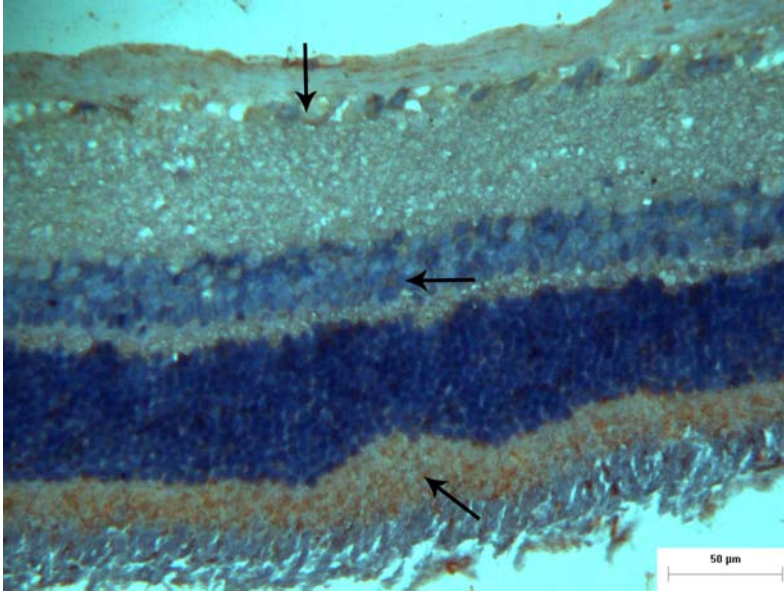
Şekil 4-20: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen karotid arterlerde eNOS dağılımı

eNOS reaksiyonu (→) n=6. Bar=50µm.

A) Kontrol**B) Hipertansif**

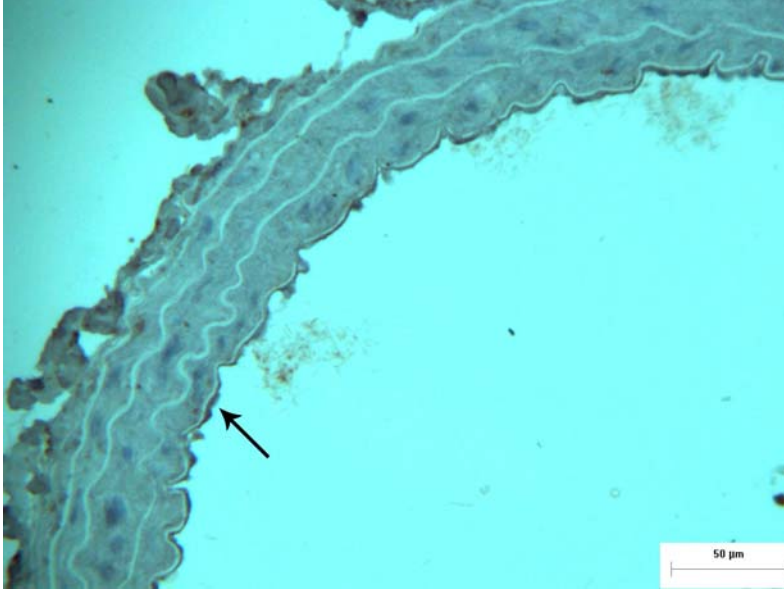
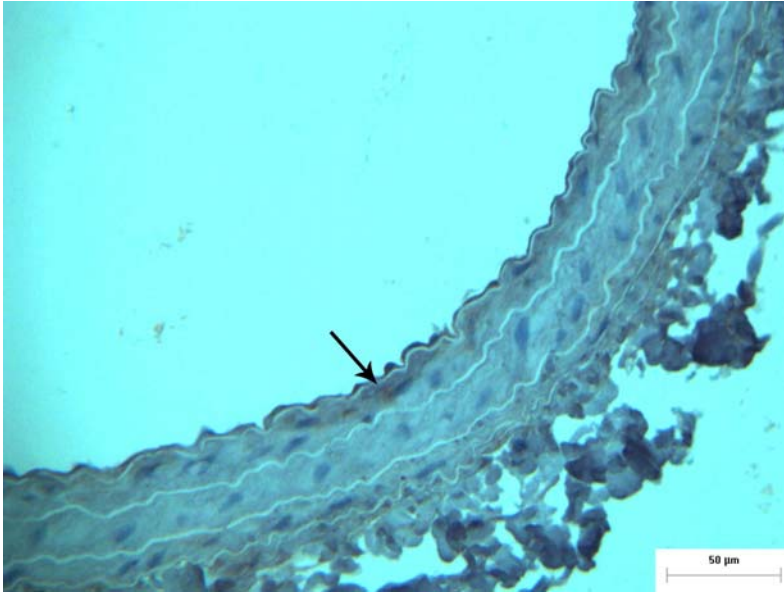
Şekil 4-21: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde eNOS dağılımı

eNOS reaksiyonu (→) n=6. Bar=50µm.

A) Kontrol**B) Hipertansif**

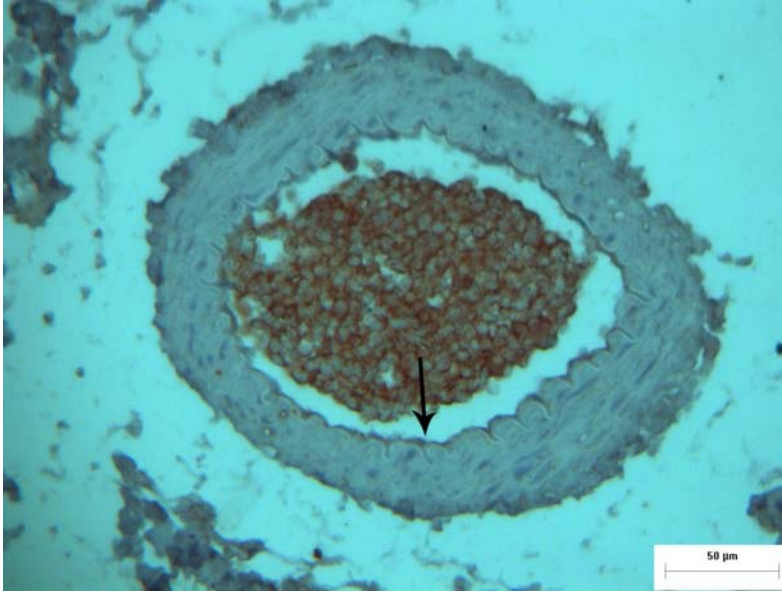
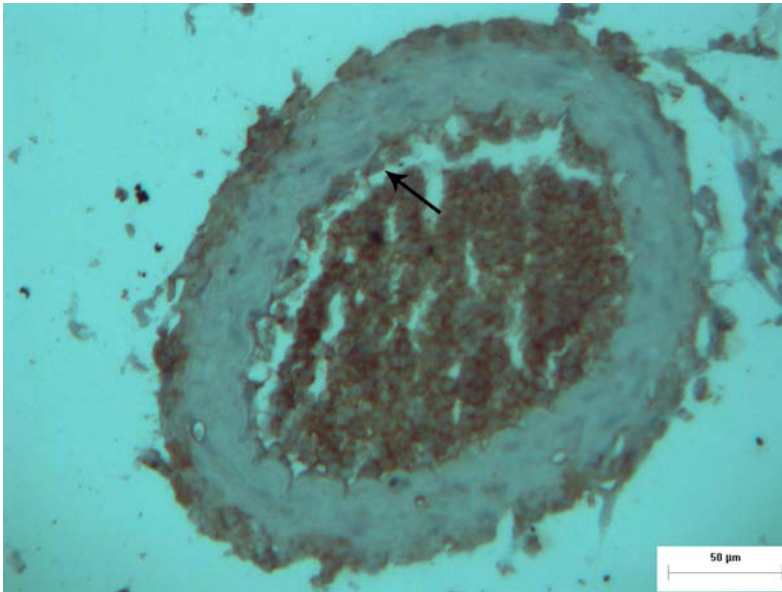
Şekil 4-22: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen retina dokularında iNOS dağılımı

iNOS reaksiyonu (→) n=6. Bar=50µm

A) Kontrol**B) Hipertansif**

Şekil 4-23: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen karotid arterlerde iNOS dağılımı

iNOS reaksiyonu (→) n=6. Bar=50µm.

A) Kontrol**B) Hipertansif**

Şekil 4-24: Kontrol (A) ve hipertansif (B) sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde iNOS dağılımı

iNOS reaksiyonu (→) n=6. Bar=50µm.

5. TARTIŞMA

Retina kaynaklı gevşetici faktör (RRF), retinadan salıverilen, retinal arterlerin tonüsünün ve retinal kan akımının düzenlenmesinde fizyolojik rolü olduğu düşünülen yapısı, etki mekanizması ve patofizyolojik önemi henüz aydınlatılmamış vazoaaktif bir maddedir. Çalışmamızda retinal sirkülasyonu etkileyebilecek kardiyovasküler bir hastalık olan hipertansiyonda, RRF'in etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, NOS inhibitörü L-NAME ile deneysel hipertansiyon oluşturulan sıçanlardan izole edilen retinanın gevşetici etkisi, kontrol retina ile karşılaştırmalı olarak, sıçan karotid ve mezenterik arterleri ile sığır retinal arterinde incelenmiştir. Ayrıca, RRF etkisinin incelendiği izole karotid ve mezenterik arterlerinde endotel ve düz kas fonksiyonları, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve KCl'ye karşı reaktiviteleri ile Rho-kinaz inhibitörü Y-27632'nin gevşeme yanıtları da belirlenmiştir. Fonksiyonel çalışmalara paralel olarak, kontrol ve hipertansif hayvanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterler ile retina dokularında ışık mikroskopu ile histopatolojik incelemeler yapılmış ve immünohistokimyasal yöntem ile eNOS ve iNOS dağılımları belirlenmiştir.

Deneysel hipertansiyon, Wistar albino sıçanlarda 6 hafta süreyle NOS inhibitörü L-NAME (60 mg/kg)'in uygulanması ile oluşturulmuştur. Kontrol ve hipertansif gruptaki hayvanlar 6 hafta boyunca ağırlıkları ve sistolik kan basınçları açısından takip edilmiştir. Bu sürenin sonunda L-NAME uygulanan sıçanların sistolik kan basınçlarının, kontrol (normal) grubu sıçanlara kıyasla belirgin şekilde artış gösterdiği, vücut ağırlıklarında ise anlamlı bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bazı hipertansif sıçanlarda ekstremitelerde zayıflık, göz ve burunda kanama, solunum zorluğu gibi felç benzeri komplikasyonlar gözlenmiştir. Hipertansif sıçanlarda ölçülen kan basıncı düzeyi ve gözlenen diğer değişiklikler deneysel hipertansiyon oluşturmak için L-NAME'nin kullanıldığı diğer çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir (Ribeiro ve ark. 1992, Zhao ve ark. 1999, Tucker ve ark. 2000, Priviero ve ark. 2007).

NOS inhibitörlerinin içme suyuna katılarak en az 2-8 haftalık süre boyunca sıçanlara uygulandığı ve böylece NO sentezinin kronik olarak inhibe edildiği çalışmalarda, arteriyel kan basıncında belirgin bir yükselmenin meydana geldiği ve vasküler sistemde fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin olduğu kaydedilmiştir (Riberio ve ark. 1992, Bernatova ve ark. 1999, Zhao ve ark. 1999, Pechanova ve ark. 2004, Thakali ve ark. 2006, Priviero ve ark. 2007, Simko ve ark. 2007). Ayrıca, sistemik arteriyel kan basıncının sürekli yüksek olmasının, yani kronik hipertansiyonun, hem insanların (Hubbard ve ark. 1999, Delles ve ark. 2004) hem de deneysel hipertansif hayvanların (Hacıoğlu ve ark. 2002, Hirose ve ark. 2004, Miyahara ve ark. 2006) retinalarında yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğu bildirilmektedir. Buna göre, çalışmamızda yürütülen 6 haftalık L-NAME uygulamasının vasküler ve retinal sistem üzerinde hipertansiyona bağlı değişiklikleri oluşturması açısından uygun olduğu öngörülmüştür.

6 haftanın sonunda hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerde, asetilkolin ile elde edilen gevşeme yanıtlarının kontrol grubunun arterlerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, kontrol ve hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde sodyum nitroprusiyat ile elde edilen düz kas gevşeme yanıtlarının kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği görülmüştür. Elde edilen bu veriler, sıçanlarda 6 hafta süreyle oluşturulan deneysel hipertansiyonda endotel disfonksiyonunun meydana geldiğini, buna karşılık endotelden bağımsız düz kas gevşeme yanıtlarının değişmediğini ortaya koymakta ve bu sonuçlar benzer bulguları içeren deneysel çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Kimura ve ark. 1999, Zhao ve ark. 1999, Sekiguchi ve ark. 2001, Liu ve ark. 2002). Aynı zamanda, kontrol sıçanların mezenterik arterlerinde asetilkolinin yüksek konsantrasyonlarında ($10^{-5}M$ ve $10^{-4}M$) elde edilen gevşeme yanıtlarının hipertansif sıçanların arterlerinde kasılmaya dönmesi, endotel disfonksiyonunu desteklemekte ve bu bulgu gerek spontan hipertansif gerekse L-NAME ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda yürütülen diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Watt ve Thurston 1989, Vanhoutte ve Boulanger 1995, Sekiguchi ve ark. 2001, Paulis ve ark. 2008).

Çalışmamızda kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerinde spazmojen ajanlara karşı reaktivite de araştırılmış ve bu amaçla reseptör aracılı bir agonist olan prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile reseptör aracısız olarak etki eden KCl'nin oluşturduğu konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları değerlendirilmiştir. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve KCl'nin maksimum kastırıcı etkisi, mezenterik arterde kontrol ve hipertansif gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Karotid arterde ise, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve KCl'ye bağlı maksimum kasılma düzeylerinin hipertansif grupta kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve KCl'e karşı maksimum reaktivitenin hipertansif mezenterik arterde kontrole göre değişmediğini, karotid arterde ise azaldığını göstermektedir. Arterlerin spazmojen ajanlara karşı duyarlılığı ise pD_2 değerleri ile değerlendirilmiştir. Hipertansif grubun karotid ve mezenterik arterlerinde prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'nın pD_2 değerlerinin kontrole göre farklılık göstermediği ancak KCl'nin pD_2 değerlerinin hipertansif arterlerde kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir. Bu bulgular, hipertansif sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'ya karşı duyarlılığın değişmediğini, buna karşın KCl'ye karşı duyarlılığın azaldığını göstermektedir. Çalışmamızda hipertansif sıçanların karotid arterinde kastırıcı ajanlara karşı duyarlılıkta veya maksimum yanıtta elde edilen bu değişiklikler, L-NAME hipertansif (Lopez ve ark 2004, Thakali ve ark. 2006) ya da spontan hipertansif sıçanlarda (Arribas ve ark. 1996, Briones ve ark. 2002) vasküler reaktivitenin azaldığını gösteren diğer çalışmaların bulguları ile uyumluluk göstermektedir. Ayrıca, mezenterik arterde gözlemlediğimiz gibi hipertansif hayvanların izole arterlerinde kastırıcı ajanlara karşı vasküler reaktivitenin değişmediğini destekleyen (Dohi ve ark. 1996, Heijenbrok ve ark. 2000) ya da arttığını bildiren (Salomone ve ark. 1997, Heijenbrok ve ark. 2000) çalışmalar da bulunmaktadır. Bu farklılığın sebebinin seçilen hipertansiyon modeli, uygulanan deney protokolü ve incelenen damar yatağı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızın ana hedefi, hipertansiyonun retina kaynaklı gevşetici etkiyi ne yönde etkileyeceğinin araştırılmasıdır. Bu doğrultuda, endotel ve düz kas gevşeme kapasiteleri ile vazokonstriktör ajanlara karşı reaktiviteleri belirlenen hipertansif ve kontrol sıçanların izole arterlerinde retinanın etkisi karşılaştırılmıştır.

Retinanın etkisi prostaglandin $F_{2\alpha}$ veya KCl ile kastırılan karotid ve mezenterik arterler üzerine bir parça sıçan retina dokusunun yerleştirilmesi ile değerlendirilmiştir. Paralel olarak, izole sığır retinal arterinde de hipertansif ve kontrol sıçan retinasının etkisi incelenmiştir. Retinanın yerleştirilmesi, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile kastırılan arterlerde tama yakın bir gevşeme yanıtına neden olmuştur. Gevşetici etki, retina dokusu kaldırıldığında tamamen ve hızla geriye dönmekte, tekrarlanabilir bir özellik göstermektedir. Bu bulgular, retinal ve periferik arterlerde retinanın etkisinin incelendiği diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumluluk göstermekte ve RRF'in varlığını desteklemektedir (Delaey Van de Voorde 1998, Boussery ve ark. 2002a, Boussery ve ark. 2002b, Takır ve ark. 2005, Ağuş ve ark. 2007). Ayrıca, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile kastırılan arterlerde elde edilen retina kaynaklı gevşeme yanıtının, mezenterik ve retinal arterde daha belirgin olmakla birlikte, genellikle bifazik karakter gösterdiği gözlenmiştir. Retina kaynaklı gevşeme yanıtlarının karotid ve mezenterik arterlerde benzer düzeyde olduğu belirlenmiştir. KCl ile kastırılan arterlerde ise retinaya bağlı olarak daha düşük düzeyde ve monofazik karakterde bir gevşeme yanıtı elde edilmiştir. Bu bulgular, Anabilim Dalı'mızda yürütülen önceki çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir (Takır ve ark. 2005, Ağuş ve ark. 2007).

L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlardan izole edilen retinanın, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile kastırılan hipertansif karotid ve mezenterik arterleri üzerindeki etkisi incelendiğinde; elde edilen retinal gevşeme yanıtlarının, ilk faz, ikinci faz ve maksimum açısından, kontrol (normal) sıçan retinasının kontrol arterlerindeki gevşeme yanıtlarından farklılık göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca, hipertansif sıçan retinasının kontrol arterler üzerindeki gevşetici etkisinin ve paralel olarak, kontrol sıçan retinasının hipertansif arterler üzerindeki gevşetici etkisinin de benzer olduğu belirlenmiştir. Bunun yanısıra, prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile kastırılan sığır retinal arterlerinde paralel olarak incelenen hipertansif ve kontrol sıçan retinasının gevşetici etkisinin de benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Öte yandan, KCl ile kastırılan karotid ve mezenterik arterlerinde de hipertansif ve kontrol sıçanların retinası ile uyumlu sonuçlar elde edilmiş ve retinal gevşetici etkinin hipertansif ve kontrol grupları arasında farklılık göstermediği belirlenmiştir.

Elde edilen bu bulgular, retina kaynaklı gevşetici etkinin gerek retinal gerekse periferik (karotid ve mezenterik) arterlerde, hipertansiyon varlığında değişiklik göstermediğini ortaya koymaktadır. Hipertansif hayvanların izole arterlerinde azalan endotel fonksiyonuna rağmen retinanın korunan gevşetici etkisi RRF'in arter tonüsünün düzenlenmesinde dengeleyici (kompensatuvar) bir rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Hipertansiyona bağlı olarak endotel disfonksiyonun geliştiği ve vasküler reaktivitenin bozulduğu bir durumda retinanın gevşetici etkinliğinde herhangi bir değişikliğin belirlenmemesi, RRF'in salıverildiği retinal hücrelerin yapısının veya RRF'in vasküler düz kası gevşetici etki mekanizmasının hipertansiyon ile indüklenen patofizyolojik olaylardan etkilenmemesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Vasküler düz kasın kasılmasında miyozin hafif zincirinin (MHZ) fosforilasyonu önemli bir basamağı oluşturmaktadır. MHZ'nin fosforilasyonu ise MHZ kinaz ve MHZ fosfatazın (miyozin fosfataz) aktiviteleri tarafından düzenlenmektedir. Buna göre, miyozin fosfatazın inhibisyonu, MHZ fosforilasyonunda ve dolayısı ile vasküler düz kasın kasılmasında artışa neden olmaktadır. Bu durum kalsiyum duyarlılaştırılması olarak tanımlanmakta ve Rho-Rho kinaz yolağı aktivitesinin miyozin fosfatazın inhibisyonu aracılığı ile Ca^{+2} duyarlılaştırılmasında rol oynadığı belirtilmektedir (Webb 2003). Yapılan çalışmalar doğrultusunda, vasküler düz kasta artan Rho-kinaz aktivitesinin hipertansiyonun patofizyolojisinde ve hipertansif retinopatide rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (Uehata ve ark. 1997, Okamura ve ark. 2007). Destekleyici olarak, spontan hipertansif ve L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanların kalp dokusu ve damar yatağında Rho-Rho kinaz yolağı aktivitesinin arttığı bildirilmektedir (Seasholtz ve ark. 2001, Kataoka ve ark. 2002). Ayrıca, Rho-kinaz yolağının spesifik inhibitörü Y-27632'nin deneysel hipertansif sıçanların kan basınçlarında anlamlı bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Uehata ve ark. 1997). Laboratuvarımızda daha önce yürütülen bir çalışmada da, Rho-kinaz inhibitörü olan

Y-27632'nin sıgır retinal arterindeki etkisi incelenmiş ve retina kaynaklı gevşetici etkiye benzer düzeyde bir gevşeme yanıtı elde edilmiştir. Asetilkolin ve sodyum nitroprusiyat gibi NO aracılığı ile gevşeme oluşturan ajanlara düşük reaktivite gösteren sıgır retinal arterinin Rho-kinaz inhibitörü Y-27632 ile maksimum düzeyde gevşemesi, RRF'in etki mekanizmasında Rho-kinaz yolağı inhibisyonunun rol oynayabileceğini düşündürmüştür (Yayınlanmamış bulgular). Bu doğrultuda, hipertansif karotid ve mezenterik arterlerde Rho-kinaz inhibitörü Y-27632'nin gevşetici etkisi de araştırılmıştır. Retinal gevşetici etkiye paralel olarak, Y-27632 ile elde edilen gevşeme yanıtlarının kontrol arterlerde elde edilen yanıtlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. Uzun süreli anjiyotensin-II infüzyonu ile hipertansiyon oluşturulan farelerin karotid arterlerinde Y-27632 ile yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Ryan ve ark. 2004). Bununla birlikte çalışmamızda, hipertansif sıçanların mezenterik arterlerinde Y-27632'nin düşük dozlarına karşı duyarlılığın arttığı ve bu dozlarda gevşeme yanıtlarının güçlendiği görülmektedir. Bu bulgu, spontan hipertansif ve DOCA tuz uygulamasına bağlı hipertansif hayvanların mezenterik arterinde Y-27632'ye bağlı gevşeme yanıtının artış gösterdiğini ortaya koyan çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Weber ve Webb 2001, Asano ve Nomura 2003). Benzer şekilde, diğer Rho-kinaz inhibitörü fasudilin spontan hipertansif sıçanların retinal arteriyollerdeki gevşetici etkisinin kontrole kıyasla arttığı bildirilmektedir (Okamura ve ark. 2007). Çalışmamızda Rho-kinaz inhibitörü Y-27632 ile hipertansif sıçanların arterlerinde elde edilen maksimum gevşetici etkinin, retinanın gevşetici etkisine benzer şekilde, kontrol arterlerdeki etkiden farklı bulunmaması, RRF'in etki mekanizmasında bu yolağın rolünün olabileceğini destekleyici niteliktedir. Bununla birlikte, Rho-Rho kinaz yolağının RRF'in gevşetici etkisindeki rolünü ortaya koyacak ileri çalışmaların yapılmasına gerek duyulmaktadır.

Hipertansiyonun patofizyolojisinde rol oynayan endotel disfonksiyonunun gelişimi çalışmamızda hipertansif sıçanların izole karotid ve mezenterik arterinde yürütülen fonksiyonel çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu çalışmaları destekleyici olarak, izole karotid ve mezenterik arterleri ile retina dokusunda ışık mikroskobu ile histopatolojik incelemeler yapılmış ve hipertansiyona bağlı olarak gelişen yapısal değişiklikler belirlenmiştir. Ayrıca, immünohistokimyasal yöntem ile kontrol ve

hipertansif arterler ile retina dokusunun eNOS ve iNOS dağılımları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Işık mikroskobu ile yapılan incelemelerde, hipertansif karotid ve mezenterik arterlerin tunika intima tabakalarındaki endotelde kontrol grubuna göre lökosit adhezyonu ve akümülyasyonunun arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, tunika media tabakasını oluşturan düz kas hücrelerinin yapılarının bozulduğu ve atrofiye oldukları, nükleus boyutlarının küçüldüğü belirlenmiştir. Bununla birlikte, hipertansif grubun karotid arterlerinde, mezenterik arterden farklı olarak, damar duvarı kalınlığında bir artış olduğu gözlenmiştir. Bu histopatolojik veriler, hipertansiyona bağlı olarak karotid ve mezenterik arterin endotel ve düz kas yapısında değişikliklerin oluştuğunu ortaya koymakta ve endotel kaynaklı gevşeme yanıtları ile kastırıcı ajanlara karşı reaktivitenin ya da duyarlılığın değiştiğini gösteren fonksiyonel bulgularımız ile uyumluluk göstermektedir. Ayrıca bulgularımız, L-NAME ile oluşturulan hipertansiyonda endotel tabakasının normal düzeninin bozulduğunu, lökosit infiltrasyonunun oluştuğunu ve düz kas yapısının değiştiğini gösteren diğer çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Kubes ve ark. 1993, Rossi ve Colombini-Netto 2001, Kristek ve Gerova 2004).

Retinanın histopatolojik olarak incelenmesi sonucunda, hipertansif grupta dış nükleer tabaka hücreleri arasındaki bağlantıların azaldığı, iç nükleer tabakada yer alan hücrelerin nükleus şekilllerinde ve tabaka düzeninde farklılaşmalar olduğu, gangliyonik hücrelerin nükleuslarının küçüldüğü ve hücre uzantılarını yitirdiği gözlenmiştir. Elde edilen bu bulgular, deneysel hipertansiyonun retinada morfolojik değişikliklere neden olduğunu gösteren diğer çalışmaların verileri ile uyumluluk göstermektedir (Wallow ve ark. 1993, Li ve ark. 1995, Sabbatini ve ark. 2001). Retina dokusunda gözlenen bu yapısal değişiklikler sıçanlarda L-NAME ile oluşturulan hipertansiyon modelinde hipertansif retinopatinin gelişimini destekleyici niteliktedir. Buna göre, fonksiyonel bulgularda hipertansif sıçan retinasının karotid ve mezenterik arterleri ile izole sığır retinal arterindeki gevşetici etkisinin kontrol retina ile benzer olması, RRF'in salıverildiği hücrelerin hipertansiyonda belirgin düzeyde hasar görmemesi ile ilişkili

olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, RRF'in retinada hangi hücrelerden salıverildiği henüz bilinmemektedir.

Hipertansiyonda görülen patofizyolojik değişikliklerin mekanizması ile ilgili olarak immünohistokimyasal yöntem ile kontrol ve hipertansif sıçanların arterleri ile retina dokusunda eNOS ve iNOS dağılımları değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait karotid ve mezenterik arterlerde tunika intima tabakasındaki endotel hücrelerinde belirgin eNOS dağılımı gözlenirken, hipertansif grubun arterlerinde eNOS dağılımının kontrolden farklı olarak, çok düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. L-NAME uygulaması ile deneysel hipertansiyonun oluşturulduğu diğer çalışmalarda da eNOS dağılımı veya ekspresyonunun hipertansif arterlerde azaldığı bildirilmektedir (Zhao ve ark. 1999, Husain 2002, De Gennaro Colonna 2005, Hsu ve ark. 2007). Buna karşın, spontan hipertansif sıçanların arterlerinde yapılan incelemelerde eNOS ekspresyonunun kontrol sıçanlara göre değişmediği rapor edilmektedir (Briones ve ark. 2000, Briones ve ark. 2002). Buna göre, çalışmamızda hipertansif sıçanların arterlerinde eNOS dağılımında görülen azalmanın NOS inhibitörü L-NAME'in etkisine bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Bu doğrultuda, asetilkoline bağlı endotel aracılı gevşeme yanıtlarının azalmış olması da hipertansif arterlerde NO sentezinin inhibe olduğunu desteklemektedir.

Arterler iNOS dağılımı yönünden de incelenmiş ve kontrol sıçanların karotid ve mezenterik arterlerinde iNOS reaksiyonunun çok düşük düzeylerde olduğu gözlenmiştir. Paralel olarak, hipertansif sıçanların arterlerinde de çok az düzeyde iNOS dağılımı olduğu belirlenmiş ve bu dağılımın kontrolden daha düşük olduğu gözlenmiştir. L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan diğer çalışmalarda da vasküler iNOS ekspresyonunun L-NAME 'in nonselektif etkisine bağlı olarak azaldığı bildirilmektedir (Husain 2002, Hsu ve ark. 2008). Bununla birlikte bir çalışmada ise, L-NAME uygulamasının damar duvarında proenflamatuar mekanizmaları indüklediği ve iNOS ekspresyonunda artışa neden olduğu rapor edilmektedir (Luvara ve ark. 1998). Öte yandan, spontan hipertansif sıçanlar ile yürütülen çalışmalarda da iNOS

ekspresyonunun artan enflamatuvar yanıtı bağılı olarak kontrole göre arttığı bildirilmektedir (Chou ve ark. 1998, Briones ve ark. 2000, Briones ve ark. 2002).

Kontrol ve hipertansif retina dokularının eNOS ve iNOS dağılımlarının incelenmesi sonucunda, kontrol retinada, özellikle koni hücre uzantılarında belirgin olmak üzere, genel doku düzeyinde yüksek olan eNOS dağılımının L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanların retinalarında azaldığı belirlenmiştir. Sıçan ve fare retinalarında daha önce yapılan incelemelerde retinada bulunan NOS'un çoğunlukla amakrin hücreleri, gangliyon hücre tabakası, iç nükleer tabaka, iç ve dış retiküler tabakadaki sinir uçlarında yoğunlaştığı bildirilmiştir (Goldstein ve ark. 1996). Bu veriler çalışmamızda kontrol sıçan retinasındaki eNOS dağılımı ile paralellik göstermektedir. Öte yandan, eNOS gibi kontrol retinanın koni hücre uzantılarında belirlenen ancak genel doku değerlendirmesinde düşük düzeyde olduğu görülen iNOS dağılımının da hipertansif retinada azaldığı belirlenmiştir. L-NAME, nonselektif etkisi sebebiyle eNOS, iNOS ve nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) olmak üzere tüm NOS enzim izoformlarını inhibe etmektedir (Goldstein ve ark. 1996). Dolayısıyla çalışmamızda hipertansif sıçanların retinasında eNOS ve iNOS dağılımlarının azalmış olmasının L-NAME'in nonselektif etkisi ile uyumlu olduğu düşünülmektedir. İlginç olarak, hipertansif grubun retinalarının çomak hücre uzantılarında eNOS ve iNOS dağılımları izlenmiştir. Kontrol retinaların çomak hücrelerinde gözlenmeyen bu dağılımın önemi henüz bilinmemektedir. Ayrıca, hipertansif hayvanların retinalarında eNOS ve iNOS dağılımını rapor eden bir çalışma bulunmamaktadır.

Sonuç olarak bu çalışmada, L-NAME ile deneysel hipertansiyon oluşturulan sıçanlardan izole edilen retinaların karotid, mezenterik ve retinal arterleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve retinanın, dolayısı ile RRF'in, gevşetici etkinliğinin hipertansiyonda değişmediği ortaya konmuştur. Hipertansif sıçanlardan izole edilen karotid ve mezenterik arterlerde fonksiyonel çalışmalarla belirlenen endotel disfonksiyonu, yapısal değişiklikleri gösteren histopatolojik bulgular ile desteklenmiştir. Hipertansif arterlerde kontrole göre azalan eNOS ve iNOS dağılımları, sıçanlarda hipertansiyon oluşturmak için uygulanan NO sentaz inhibitörü L-NAME'in nonselektif

etkisi ile uyumludur. Ayrıca, hipertansif sıçanların retina dokusunda belirlenen yapısal değişiklikler, L-NAME ile indüklenen 6 haftalık deneysel hipertansiyonda retinal hasar oluşumunu desteklemektedir. Bulgularımız, hipertansif retinadan salıverilen RRF'in gevşetici etkisinin hem endotel disfonksiyonun geliştiği belirlenen sıçan karotid ve mezenterik arterlerinde hem de sığır retinal arterinde değişmediğini göstermektedir. RRF'in retinada hangi hücrelerden salıverildiği ve damar düz kasını hangi mekanizmalar aracılığı ile gevşettiği henüz bilinmemektedir. Ancak, hipertansiyonda RRF'in gevşetici etkinliğinin değişmemesi, bu faktörün salıverildiği retinal hücrelerde hipertansiyona bağlı olarak yapısal hasar gelişmemesi ve/veya hücresel etki mekanizmalarının hipertansiyondan etkilenmemiş olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, hipertansif sıçanların arterlerinde Rho-kinaz inhibitörü Y-27632'nin maksimum gevşetici etkisinin, retinanın gevşetici etkisine benzer şekilde, kontrol arterlerdeki yanıtlardan farklı olmaması, RRF'in etki mekanizmasında Rho-Rho kinaz yolağının rolünün olduğu düşüncesini destekleyici niteliktedir. Bununla birlikte, RRF'in gevşetici etkisinin Rho-Rho kinaz yolağı ile ilişkisini belirleyecek ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu çalışmanın bulgularına göre, retinal sirkülasyonu olumsuz yönde etkileyen bir patolojik durum olan hipertansiyonda, retinanın gevşetici etkisinin korunmuş olması, retinal arterlerin tonüsü ve retinal kan akımının düzenlenmesinde RRF'in kompensatuvar bir rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Sonuçlarımızın RRF'in tanımlanması, etki mekanizmasının aydınlatılması ve patofizyolojik öneminin belirlenmesine yönelik olarak yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aguş, M., Takır, S., Uydeş-Doğan, B.S., Karaca, C., Altuğ, T., Özdemir, O. (2008). "Retina derived relaxation is preserved in carotid and mesenteric arteries of diabetic rats." *Fundam Clin Pharmacol*, August 2008, **22**(2): p 28.
- Aguş, M., Takır, S., Uydeş-Doğan, B.S., Özdemir, O. (2007). "Retinal tissue produces comparable relaxations on retinal, carotid and mesenteric arteries." *Hypertension*, **50**(4): 812.
- Altun, B., Arıcı M., Nergizoğlu, G., Dericci, U., Karatan, O., Turgan, C., Sindel, S., Erbay, B., Hasanoğlu, E., Çağlar, S. (2005). "Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Turkey (the Patent study) in 2003." *J Hypertens*, **23**(10): 1817-23.
- Arribas, S. M., Gordon, J. F., Daly, C.J., Dominiczak, A.F., McGrath, J.C. (1996). "Confocal microscopic characterization of a lesion in a cerebral vessel of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat." *Stroke*, **27**(6): 1118-22.
- Asano, M., Nomura, Y. (2003). "Comparison of inhibitory effects of Y-27632, a Rho kinase inhibitor, in strips of small and large mesenteric arteries from spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats." *Hypertens Res*, **26**(1): 97-106.
- Badyal, D.K., Lata, H., Dadhich, A.P. (2003). "Animal models of hypertension and effect of drugs." *Indian J Pharmacol*, **35**: 349-362.
- Benedito, S., Prieto, D., Nielsen, P.J., Nyborg, N.C. (1991a). "Role of the endothelium in acetylcholine-induced relaxation and spontaneous tone of bovine isolated retinal small arteries." *Exp Eye Res*, **52**(5): 575-9.
- Benedito, S., Prieto, D., Nielsen, P.J., Nyborg, N.C. (1991b). "Histamine induces endothelium-dependent relaxation of bovine retinal arteries." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **32**(1): 32-8.
- Bernatova, I., Pechanova, O., Kristek, F. (1999). "Mechanism of structural remodelling of the rat aorta during long-term NG-nitro-L-arginine methyl ester treatment." *Jpn J Pharmacol*, **81**(1): 99-106.
- Bidani, A. K., Griffin, K. A. (2004). "Pathophysiology of hypertensive renal damage: implications for therapy." *Hypertension*, **44**(5): 595-601.
- Boussery, K., Delaey, C., Van de Voorde, J. (2002b). "Rat retinal tissue releases a vasorelaxing factor." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **43**(10): 3279-86.
- Boussery, K., Delaey, C., Van de Voorde, J. (2004). "Influence of adrenomedullin on tone of isolated bovine retinal arteries." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **45**(2): 552-9.
- Boussery, K., Delaey, C., Van de Voorde, J. (2005). "The vasorelaxing effect of CGRP and natriuretic peptides in isolated bovine retinal arteries." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **46**(4): 1420-7.
- Boussery, K., Franki, A.S., Delaey, C., Van de Voorde, J. (2002a). "A vasorelaxing factor is released from mouse retinal tissue." *Ophthalmic Res*, **34**(3): 172-7.

- Brands, M.W., Hall, J. E. (1998). "Renal perfusion pressure is an important determinant of sodium and calcium excretion in DOCA-salt hypertension." *Am J Hypertens*, **11**(10): 1199-207.
- Bray, M.S., Li, L., Turner, S.T., Kardia, S.L., Boerwinkle, E. (2000). "Association and linkage analysis of the alpha-adducin gene and blood pressure." *Am J Hypertens*, **13**(6 Pt 1): 699-703.
- Briones, A.M., Alonso, M.J., Hernanz, R., Miguel, M., Salaices, M. (2002). "Alterations of the nitric oxide pathway in cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats." *J Cardiovasc Pharmacol*, **39**(3): 378-88.
- Briones, A.M., Alonso, M.J., Marin, J., Balfagon, G., Salaices, M. (2000). "Influence of hypertension on nitric oxide synthase expression and vascular effects of lipopolysaccharide in rat mesenteric arteries." *Br J Pharmacol*, **131**(2): 185-94.
- Brown, M.J., Haydock, S. (2000). "Pathoetiology, epidemiology and diagnosis of hypertension." *Drugs*, **59** Suppl 2: 1-12.
- Caceci, T. (2001). "Anatomy and Physiology of the Eye." <http://education.vetmed.vt.edu/curriculum/VM8054/EYE/RETINA.HTM>
- Chatterjee, S., Chattopadhyay, S., Hope-Ross, M., Lip, P.L. (2002). "Hypertension and the eye: changing perspectives." *J Hum Hypertens*, **16**(10): 667-75.
- Chisholm-Burns, M.A., Wells, B.G., Schwinghammer, T.L., Malone, P.M, Kolesar, J.M., Rotschafer, J.C., DiPiro, J.T. (Ed.) (2008). *Pharmacotherapy: principles & practice*, United States of America, McGraw-Hill Company.
- Chobanian, A.V., Bakris, G.L., Black, H.R., Cushman, W.C., Green, L.A., Izzo, J.L., Jones, D.W., Materson, B.J., Oparil, S., Wright, J.T., Roccella, E.J. (2003). "Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure." *Hypertension*, **42**(6): 1206-52.
- Chou, T.C., Yen, M.H., Li, C.Y., Ding, Y.A. (1998). "Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats." *Hypertension*, **31**(2): 643-8.
- Cohuet, G., H. Struijker-Boudier, H. (2006). "Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: therapeutic potential." *Pharmacol Ther*, **111**(1): 81-98.
- Conrad, C.H., Brooks, W.W., Robinson, K.G., Bing, O.H. (1991). "Impaired myocardial function in spontaneously hypertensive rats with heart failure." *Am J Physiol*, **260**(1 Pt 2): H136-45.
- Cooke, J.P. (2000). "Does ADMA cause endothelial dysfunction?" *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **20**(9): 2032-7.
- Dahl, L.K., Heine, M., Tassinari, L. (1962). "Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion." *Nature*, **194**: 480-2.
- Dahl, L.K., Knudsen, K.D., Heine, M.A., Leitel, G.J. (1968). "Effects of chronic excess salt ingestion. Modification of experimental hypertension in the rat by variations in the diet." *Circ Res*, **22**(1): 11-8.
- De Gennaro Colonna, V., Rigamonti, A., Fioretti, S., Bonomo, S., Manfredi, B., Ferrario, P., Bianchi, M., Berti, F., Muller, E.E., Rossoni, G. (2005). "Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin AT1-receptor

- antagonism equally improve endothelial vasodilator function in L-NAME-induced hypertensive rats." *Eur J Pharmacol*, **516**(3): 253-9.
- Delaey, C., Boussery, K., Van De Voorde, J. (2000). "A retinal-derived relaxing factor mediates the hypoxic vasodilation of retinal arteries." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **41**(11): 3555-60.
- Delaey, C., Van de Voorde J. (1998). "Retinal arterial tone is controlled by a retinal-derived relaxing factor." *Circ Res*, **83**(7): 714-20.
- Delaey, C., Van De Voorde, J. (2000). "Regulatory mechanisms in the retinal and choroidal circulation." *Ophthalmic Res*, **32**(6): 249-56.
- Delles, C., Michelson, G., Harazny, J., Oehmer, S., Hilgers, K.F., Schmieder, R.E. (2004). "Impaired endothelial function of the retinal vasculature in hypertensive patients." *Stroke*, **35**(6): 1289-93.
- Devereux, R.B., Agabiti-Rosei, E., Dahlof, B., Gosse, P., Hahn, R.T., Okin, P.M., Roman, M.J. (1996). "Regression of left ventricular hypertrophy as a surrogate end-point for morbid events in hypertension treatment trials." *J Hypertens*, Suppl 14(2): S95-101; discussion S101-2.
- Dickinson, H.O., Mason, J.M., Nicolson, D.J., Campbell, F., Beyer, F.R., Cook, J.V., Williams, B., Ford, G.A. (2006). "Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials." *J Hypertens* **24**(2): 215-33.
- DiPiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. (Ed.) (2005). *Pharmacotherapy: A pathophysiological approach*. United States of America, McGraw-Hill Companies.
- Dodge, A.B., Hechtman, H.B., Shepro, D. (1991). "Microvascular endothelial-derived autacoids regulate pericyte contractility." *Cell Motil Cytoskeleton*, **18**(3): 180-8.
- Doggrell, S.A., Brown, L. (1998). "Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure." *Cardiovasc Res*, **39**(1): 89-105.
- Dohi, Y., Kojima, M., Sato, K. (1996). "Endothelial modulation of contractile responses in arteries from hypertensive rats." *Hypertension*, **28**(5): 732-7.
- Dorner, G.T., Garhofer, G., Kiss, B., Polska, E., Polak, K., Riva, C.E., Schmetterer, L. (2003). "Nitric oxide regulates retinal vascular tone in humans." *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **285**(2): H631-6.
- Eckel, R.H., Krauss, R.M. (1998). "American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee." *Circulation*, **97**(21): 2099-100.
- Ercan, E., Tengiz, I., Ercan, H.E., Nalbantgil, I. (2003). "Left ventricular hypertrophy and endothelial functions in patients with essential hypertension." *Coron Artery Dis*, **14**(8): 541-4.
- Feld, L.G., Van Liew, J.B., Galaske, R.G., Boylan, J.W. (1977). "Selectivity of renal injury and proteinuria in the spontaneously hypertensive rat." *Kidney Int*, **12**(5): 332-43.
- Feletou, M., Vanhoutte, P.M. (2006). "Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture)." *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **291**(3): H985-1002.

- Ferrari-Dileo, G., Davis, E.B., Anderson, D.R. (1991). "Angiotensin II binding receptors in retinal and optic nerve head blood vessels. An autoradiographic approach." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **32**(1): 21-6.
- Gadea, A., Lopez, E., Hernandez-Cruz, A., Lopez- Colome, A.M. (2002). "Role of Ca²⁺ and calmodulin-dependent enzymes in the regulation of glycine transport in Muller glia." *J Neurochem*, **80**(4): 634-45.
- Ganz, P., Vita, J.A. (2003). "Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule." *Circulation*, **108**(17): 2049-53.
- Goldstein, I.M., Ostwald, P., Roth, S. (1996). "Nitric oxide: a review of its role in retinal function and disease." *Vision Res*, **36**(18): 2979-94.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (1996). *Medical Physiology 9th edition*. Philadelphia, PA, W.B. Saunders Company.
- Hacıoğlu, G., Agar, A., Özkaya, G., Yargıçoğlu, P., Gümüşlü, S. (2002). "The effect of different hypertension models on visual evoked potentials." *Int J Neurosci*, **112**(11): 1321-35.
- Hajjar, I., Kotchen, T.A. (2003). "Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000." *JAMA*, **290**(2): 199-206.
- Hanon, O., Seux, M.L., Lenoir, H., Rigaud, A.S., Forette, F. (2003). "Hypertension and dementia." *Curr Cardiol Rep*, **5**(6): 435-40.
- Harrap, S.B. (1994). "Hypertension: genes versus environment." *Lancet*, **344**(8916): 169-71.
- Hatton, D.C., DeMerritt, J., Coste, S.C., McCarron, D.A. (1993). "Stress-induced hypertension in the borderline hypertensive rat: stimulus duration." *Physiol Behav*, **53**(4): 635-41.
- Heijnenbrok, F. J., Mathy, M.J., Pfaffendorf, M., van Zwieten, P.A. (2000). "The influence of chronic inhibition of nitric oxide synthesis on contractile and relaxant properties of rat carotid and mesenteric arteries." *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **362**(6): 504-11.
- Henry, J.P., Liu, Y.Y., Nadra, W.E., Qian, C.G., Mormede, P., Lemaire, V., Ely, D., Hendley, E.D. (1993). "Psychosocial stress can induce chronic hypertension in normotensive strains of rats." *Hypertension*, **21**(5): 714-23.
- Heusch, G., Schulz, R., Haude, M., Erbel, R. (2004). "Coronary microembolization." *J Mol Cell Cardiol*, **37**(1): 23-31.
- Hirose, F., Kiryu, J., Miyamoto, K., Nishijima, K., Miyahara, S., Katsuta, H., Tamura, H., Honda, Y. (2004). "In vivo evaluation of retinal injury after transient ischemia in hypertensive rats." *Hypertension*, **43**(5): 1098-102.
- Holmgaard, K., Aalkjaer, C., Lambert, J.D., Bek, T. (2007). "ATP-induced relaxation of porcine retinal arterioles depends on the perivascular retinal tissue and acts via an adenosine receptor." *Curr Eye Res*, **32**(4): 353-9.
- Holmgaard, K., Aalkjaer, C., Lambert, J.D., Bek, T. (2008b). "N-methyl-D-aspartic acid causes relaxation of porcine retinal arterioles through an adenosine receptor-dependent mechanism." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **49**(10): 4590-4.
- Holmgaard, K., Aalkjaer, C., Lambert, J.D., Hessellund, A., Bek, T. (2008a). "The relaxing effect of perivascular tissue on porcine retinal arterioles in vitro is

- mimicked by N-methyl-D-aspartate and is blocked by prostaglandin synthesis inhibition." *Acta Ophthalmol*, **86**(1): 26-33.
- Hsu, C.Y. (2002). "Does non-malignant hypertension cause renal insufficiency? Evidence-based perspective." *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **11**(3): 267-72.
- Hsu, Y.H., Hsu, B.G., Chen, H.I. (2007). "Malignant alterations following early blockade of nitric oxide synthase in hypertensive rats." *Chin J Physiol*, **50**(6): 283-93.
- Hubbard, L.D., Brothers, R.J., King, W.N., Clegg, L.X., Klein, R., Cooper, L.S., Sharrett, A.R., Davis, M.D., Cai, J. (1999). "Methods for evaluation of retinal microvascular abnormalities associated with hypertension/sclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities Study." *Ophthalmology* **106**(12): 2269-80.
- Husain, K. (2002). "Exercise conditioning attenuates the hypertensive effects of nitric oxide synthase inhibitor in rat." *Mol Cell Biochem*, **231**(1-2): 129-37.
- Ichikawa, M., Okada, Y., Asai, Y., Hara, H., Ishii, K., Araie, M. (2004). "Effects of topically instilled bunazosin, an alpha1-adrenoceptor antagonist, on constrictions induced by phenylephrine and ET-1 in rabbit retinal arteries." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **45**(11): 4041-8.
- Iritani, N., Fukuda, E., Nara, Y., Yamori, Y. (1977). "Lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats (SHR)." *Atherosclerosis*, **28**(3): 217-22.
- Ito, A., Egashira, K., Kadokami, T., Fukumoto, Y., Takayanagi, T., Nakaike, R., Kuga, T., Sueishi, K., Shimokawa, H., Takeshita, A. (1995). "Chronic inhibition of endothelium-derived nitric oxide synthesis causes coronary microvascular structural changes and hyperreactivity to serotonin in pigs." *Circulation*, **92**(9): 2636-44.
- Jover, B., Herizi, A., Ventre, F., Dupont, M., Mimran, A. (1993). "Sodium and angiotensin in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade." *Hypertension*, **21**(6 Pt 2): 944-8.
- Kataoka, C., Egashira, K., Inoue, S., Takemoto, M., Ni, W., Koyanagi, M., Kitamoto, S., Usui, M., Kaibuchi, K., Shimokawa, H., Takeshita, A. (2002). "Important role of Rho-kinase in the pathogenesis of cardiovascular inflammation and remodeling induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats." *Hypertension*, **39**(2): 245-50.
- Katusic, Z.S., Vanhoutte, P.M. (1989). "Superoxide anion is an endothelium-derived contracting factor." *Am J Physiol*, **257**(1 Pt 2): H33-7.
- Kaul, S., Ito, H. (2004). "Microvasculature in acute myocardial ischemia: part II: evolving concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment." *Circulation*, **109**(3): 310-5.
- Kayaaalp, O. (2005). *Tıbbi Farmakoloji*, 11. baskı. Ankara, Türkiye, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti.
- Kimura, K., Tsuda, K., Sasajima, H., Shiotani, M., Baba, A., Hano, T., Nishio, I. (1999). "Arterial relaxation mediated by endothelium-derived hyperpolarizing factor in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis." *Clin Exp Hypertens*, **21**(7): 1203-21.

- Kinlay, S., Creager, M.A., Fukumoto, M., Hikita, H., Fang, J.C., Selwyn, A.P., Ganz, P. (2001). "Endothelium-derived nitric oxide regulates arterial elasticity in human arteries in vivo." *Hypertension*, **38**(5): 1049-53.
- Kolatkar, S.B., Kulkarni, S.D., Joglekar, G.V. (1973). "Quantitative evaluation of blood pressure responses in dogs to various vasoactive agents under the influence of commonly used anaesthetics." *Indian J Pharmacol* **5**: 378-83.
- Komatsu, K., Frohlich, E.D., Ono, H., Ono, Y., Numabe, A., Willis, G.W. (1995). "Glomerular dynamics and morphology of aged spontaneously hypertensive rats. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition." *Hypertension*, **25**(2): 207-13.
- Kristek, F., Gerova, M. (2004). "Hypotrophy of conduit artery walls of the offspring of nitric oxide-defective rats." *Braz J Med Biol Res*, **37**(4): 601-6.
- Kubes, P., Kanwar, S., Niu, X.F., Gaboury, J.P. (1993). "Nitric oxide synthesis inhibition induces leukocyte adhesion via superoxide and mast cells." *FASEB J* **7**(13): 1293-9.
- Kurtz, T.W., Griffin, K.A., Bidani, A.K., Davisson, R.L., Hall, J.E. (2005). "Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 2: blood pressure measurement in experimental animals: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research." *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **25**(3): e22-33.
- Landmesser, U., Drexler, H. (2007). "Endothelial function and hypertension." *Curr Opin Cardiol*, **22**(4): 316-20.
- Lerman, L.O., Chade, A.R., Sica, V., Napoli, C. (2005). "Animal models of hypertension: an overview." *J Lab Clin Med*, **146**(3): 160-73.
- Levy, D. (1988). "Left ventricular hypertrophy. Epidemiological insights from the Framingham Heart Study." *Drugs*, **35 Suppl 5**: 1-5.
- Li, S., Lam, T.T., Fu, J., Tso, M.O. (1995). "Systemic hypertension exaggerates retinal photic injury." *Arch Ophthalmol*, **113**(4): 521-6.
- Licata, G., Scaglione, R., Corrao, S., Ganguzza, A., Mazzola, G., Arnone, S., Dichiarà, M.A., Licata, A., Merlino, G., Di Chiara, T. (1995). "Heredity and obesity-associated hypertension: impact of hormonal characteristics and left ventricular mass." *J Hypertens*, **13**(6): 611-8.
- Light, K.C., Girdler, S.S., Sherwood, A., Bragdon, E.E., Brownley, K.A., West, S.G., Hinderliter, A.L. (1999). "High stress responsivity predicts later blood pressure only in combination with positive family history and high life stress." *Hypertension*, **33**(6): 1458-64.
- Liu, H., Ledingham, J.M., Mullaney, I., Lavery, R. (2002). "Endothelial function in mesenteric resistance arteries from the genetically hypertensive rat." *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **29**(5-6): 405-11.
- Lopez, R.M., Ortiz, C.S., Ruiz, A., Velez, J.M., Castillo, C., Castillo, E.F. (2004). "Impairment of smooth muscle function of rat thoracic aorta in an endothelium-independent manner by long-term administration of N(G)-nitro-L-arginine methyl ester." *Fundam Clin Pharmacol*, **18**(6): 669-77.

- Luvira, G., Pueyo, M.E., Philippe, M., Mandet, C., Savoie, F., Henrion, D., Michel, J.B. (1998). "Chronic blockade of NO synthase activity induces a proinflammatory phenotype in the arterial wall: prevention by angiotensin II antagonism." *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **18**(9): 1408-16.
- Lüscher, T.F., Aarhus, L.L., Vanhoutte, P.M. (1990). "Indomethacin improves the impaired endothelium-dependent relaxations in small mesenteric arteries of the spontaneously hypertensive rat." *Am J Hypertens*, **3**(1): 55-8.
- Lüscher, T.F., Vanhoutte, P.M. (1986). "Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat." *Hypertension*, **8**(4): 344-8.
- Maenhaut, N., Boussery, K., Delaey, C., Van de Voorde, J. (2007). "Control of retinal arterial tone by a paracrine retinal relaxing factor." *Microcirculation*, **14**(1): 39-48.
- Maenhaut, N., Boussery, K., Delaey, C., Van de Voorde, J. (2009). "Adenosine enhances the relaxing influence of retinal tissue." *Exp Eye Res*, **88**(1): 71-8.
- McNaughton, L., Puttagunta, L., Martinez-Cuesta, M.A., Kneteman, N., Mayers, I., Moqbel, R., Hamid, Q., Radomski, M.W. (2002). "Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver." *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(26): 17161-6.
- Meneely, G. R., Ball, C.O. (1958). "Experimental epidemiology of chronic sodium chloride toxicity and the protective effect of potassium chloride." *Am J Med*, **25**(5): 713-25.
- Meyer, P., Flammer, J., Lüscher, T.F. (1995). "Local action of the renin angiotensin system in the porcine ophthalmic circulation: effects of ACE-inhibitors and angiotensin receptor antagonists." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **36**(3): 555-62.
- Miyahara, S., Kiryu, J., Miyamoto, K., Hirose, F., Tamura, H., Yoshimura, N. (2006). "Alteration of leukocyte-endothelial cell interaction during aging in retinal microcirculation of hypertensive rats." *Jpn J Ophthalmol*, **50**(6): 509-14.
- Mulvany, M.J., Halpern, W. (1977). "Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats." *Circ Res*, **41**(1): 19-26.
- Munzel, T., Sinning, C., Post, F., Warnholtz, A., Schulz, E. (2008). "Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction." *Ann Med*, **40**(3): 180-96.
- Nadar, S.K., Tayebjee, M.H., Messerli, F., Lip, G.Y. (2006). "Target organ damage in hypertension: pathophysiology and implications for drug therapy." *Curr Pharm Des*, **12**(13): 1581-92.
- Nielsen, P.J., Nyborg, N.C. (1989). "Adrenergic responses in isolated bovine retinal resistance arteries." *Int Ophthalmol*, **13**(1-2): 103-7.
- Nielsen, P.J., Nyborg, N.C. (1990). "Contractile and relaxing effects of arachidonic acid derivatives on isolated bovine retinal resistance arteries." *Exp Eye Res* **50**(3): 305-11.
- Nyborg, N.C., Nielsen, P.J. (1990). "Angiotensin-II contracts isolated human posterior ciliary arteries." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **31**(11): 2471-3.

- Nyborg, N.C., Nielsen, P.J. (1995). "Beta-adrenergic receptors regulating vascular smooth muscle tone are only localized to the intraocular segment of the long posterior ciliary artery in bovine eye." *Surv Ophthalmol*, **39** Suppl 1: S66-75.
- O'Byrne, S., Caulfield, M. (1998). "Genetics of hypertension. Therapeutic implications." *Drugs*, **56**(2): 203-14.
- Okamoto, K., Aoki, K. (1963). "Development of a strain of spontaneously hypertensive rats." *Jpn Circ J*, **27**: 282-93.
- Okamura, N., Saito, M., Mori, A., Sakamoto, K., Kametaka, S., Nakahara, T., Ishii, K. (2007). "Vasodilator effects of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, on retinal arterioles in stroke-prone spontaneously hypertensive rats." *J Ocul Pharmacol Ther*, **23**(3): 207-12.
- Özcan, N., Ünsal, A. (1988). "Hipertansiyon Komplikasyonları ve Tedavilerindeki Yenilikler." *Türkiye Klinikleri*, **8**(4).
- Park, J.B., Charbonneau, F., Schiffrin, E.L. (2001). "Correlation of endothelial function in large and small arteries in human essential hypertension." *J Hypertens*, **19**(3): 415-20.
- Paulis, L., Zicha, J., Kunes, J., Hojna, S., Behuliak, M., Celec, P., Kojsova, S., Pechanova, O., Simko, F. (2008). "Regression of L-NAME-induced hypertension: the role of nitric oxide and endothelium-derived constricting factor." *Hypertens Res*, **31**(4): 793-803.
- Pechanova, O., Dobesova, Z., Cejka, J., Kunes, J., Zicha, J. (2004). "Vasoactive systems in L-NAME hypertension: the role of inducible nitric oxide synthase." *J Hypertens*, **22**(1): 167-73.
- Pfeffer, J.M., Pfeffer, M.A., Fishbein, M.C., Frohlich, E.D. (1979). "Cardiac function and morphology with aging in the spontaneously hypertensive rat." *Am J Physiol*, **237**(4): H461-8.
- Pinto, A., Tuttolomondo, A., Di Raimondo, D., Fernandez, P., Licata, G. (2004). "Cerebrovascular risk factors and clinical classification of strokes." *Semin Vasc Med*, **4**(3): 287-303.
- Polak, K., Luksch, A., Frank, B., Jandratis, K., Polska, E., Schmetterer, L. (2003). "Regulation of human retinal blood flow by endothelin-1." *Exp Eye Res*, **76**(5): 633-40.
- Porta, M., Grosso, A., Veglio, F. (2005). "Hypertensive retinopathy: there's more than meets the eye." *J Hypertens*, **23**(4): 683-96.
- Posner, H.B., Tang, M.X., Luchsinger, R., Lantigua, R., Stern, Y., Mayeux, R. (2002). "The relationship of hypertension in the elderly to AD, vascular dementia, and cognitive function." *Neurology*, **58**(8): 1175-81.
- Priviero, F.B., Teixeira, C.E., Claudino, M.A., De Nucci, G., Zanesco, A., Antunes, E. (2007). "Vascular effects of long-term propranolol administration after chronic nitric oxide blockade." *Eur J Pharmacol*, **571**(2-3): 189-96.
- Putz R, Pabst, R. (1997). *12th English ed. Sobotta Atlas of Human Anatomy*, Münih, Almany, Williams & Wilkins.
- Rao, R.H. (1993). "Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats. Difference in interpretation based on insulin infusion rate or on plasma insulin in glucose clamp studies." *Diabetes*, **42**(9): 1364-71.

- Ribeiro, M.O., Antunes, E., De Nucci, G., Lovisolo, S.M., Zatz, R. (1992). "Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension." *Hypertension*, **20**(3): 298-303.
- Robertson, P.L., Ar, D., Goldstein, G.W. (1990). "Phosphoinositide metabolism and prostacyclin formation in retinal microvascular endothelium: stimulation by adenine nucleotides." *Exp Eye Res*, **50**(1): 37-44.
- Rockwood, E.J., Fantes, F., Davis, E.B., Anderson, D.R. (1987). "The response of retinal vasculature to angiotensin." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **28**(4): 676-82.
- Rossi, M.A., Colombini-Netto, M. (2001). "Chronic inhibition of NO synthesis per se promotes structural intimal remodeling of the rat aorta." *J Hypertens*, **19**(9): 1567-79.
- Ryan, M.J., Didion, S.P., Mathur, S., Faraci, F.M., Sigmund, C.D. (2004). "Angiotensin II-induced vascular dysfunction is mediated by the AT1A receptor in mice." *Hypertension*, **43**(5): 1074-9.
- Sabbatini, M., Strocchi, P., Vitaioli, L., Amenta, F. (2001). "Changes of retinal neurons and glial fibrillary acid protein immunoreactive astrocytes in spontaneously hypertensive rats." *J Hypertens*, **19**(10): 1861-9.
- Safar, M.E. (2001). "Systolic blood pressure, pulse pressure and arterial stiffness as cardiovascular risk factors." *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **10**(2): 257-61.
- Salazar, F.J., Alberola, A., Pinilla, J.M., Romero, J.C., Quesada, T. (1993). "Salt-induced increase in arterial pressure during nitric oxide synthesis inhibition." *Hypertension*, **22**(1): 49-55.
- Salomone, S., Morel, N., Godfraind, T. (1997). "Role of nitric oxide in the contractile response to 5-hydroxytryptamine of the basilar artery from Wistar Kyoto and stroke-prone rats." *Br J Pharmacol*, **121**(6): 1051-8.
- Sanders, P.W. (1996). "Salt-sensitive hypertension: lessons from animal models." *Am J Kidney Dis*, **28**(5): 775-82.
- Schmetterer, L., Findl, O., Strenn, K., Jilma, B., Graselli, U., Eichler, H.G., Woltz, M. (1997). "Effects of endothelin-1 (ET-1) on ocular hemodynamics." *Curr Eye Res*, **16**(7): 687-92.
- Schulz, E., Jansen, T., Wenzel, P., Daiber, A., Munzel, T. (2008). "Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension." *Antioxid Redox Signal*, **10**(6): 1115-26.
- Seasholtz, T.M., Zhang, T., Morissette, M.R., Howes, A.L., Yang, A.H., Brown, J.H. (2001). "Increased expression and activity of RhoA are associated with increased DNA synthesis and reduced p27(Kip1) expression in the vasculature of hypertensive rats." *Circ Res*, **89**(6): 488-95.
- Sekiguchi, F., Miyake, Y., Hirakawa, A., Nakahira, T., Yamaoka, M., Shimamura, K., Yamamoto, K., Sunano, S. (2001). "Hypertension and impairment of endothelium-dependent relaxation of arteries from spontaneously hypertensive and L-NAME-treated Wistar rats." *J Smooth Muscle Res*, **37**(2): 67-79.
- Simko, F., Matuskova, J., Luptak, I., Pincikova, T., Krajcovicova, K., Stvrtina, S., Pomsar, J., Pelouch, V., Paulis, L., Pechanova, O. (2007). "Spironolactone differently influences remodeling of the left ventricle and aorta in L-NAME-induced hypertension." *Physiol Res*, **56** Suppl 2: S25-32.

- Simon, G. (2004). "Pathogenesis of structural vascular changes in hypertension." *J Hypertens*, **22**(1): 3-10.
- Staessen, J.A., Wang, J., Bianchi, G., Birkenhager, W.H. (2003). "Essential hypertension." *Lancet*, **361**(9369): 1629-41.
- Struijker Boudier, H.A., le Noble, J.L., Messing, M.W., Huijberts, M.S., le Noble, F.A., van Essen, H. (1992). "The microcirculation and hypertension." *J Hypertens Suppl* **10**(7): S147-56.
- Takei, H., Nakai, Y., Hattori, N., Yamamoto, M., Takeda, S., Arishima, K. (2007). "The herbal medicines Saireito and Boiogito improve the hypertension of pre-eclamptic rats induced by Nomega-Nitro-L-arginine methyl ester." *Phytomedicine*, **14**(9): 591-600.
- Takır, S., Uydeş-Doğan, B.S., Özdemir, O. (2006a). "Effects of L-type calcium channel blockade and removal of extracellular Ca⁺⁺ on retina induced relaxation in bovine retinal arteries." *11th International Vascular Neuroeffector mechanisms and Cardiovascular Pharmacology and Medicine Symposia, Shanghai-Suzhou, China. Abstract Book*: p 16.
- Takır, S., Uydeş-Doğan, B.S., Özdemir, O. (2006b). "Retina derived relaxations are not mediated by K_{ATP} and K_{Ca⁺⁺} channels in isolated bovine retinal arteries." *Acta Pharmacol Sin*, July Suppl 1: p 172.
- Takır, S., Uydeş-Doğan, B.S., Özdemir, O. (2005). "Retinal tissue produces acute and biphasic relaxations in isolated bovine retinal arteries." *J Vasc Res*, **42**: 79.
- Tang, E.H., Leung, F.P., Huang, Y., Feletou, M., So, K.F., Man, R.Y., Vanhoutte, P.M. (2007). "Calcium and reactive oxygen species increase in endothelial cells in response to releasers of endothelium-derived contracting factor." *Br J Pharmacol*, **151**(1): 15-23.
- Thakali, K.M., Lau, Y., Fink, G.D., Galligan, J.J, Chen, A.F., Watts, S.W. (2006). "Mechanisms of hypertension induced by nitric oxide (NO) deficiency: focus on venous function." *J Cardiovasc Pharmacol*, **47**(6): 742-50.
- Thompson, E.B. (1990). *Drug bioscreening: Drug Evaluation Techniques in Pharmacology*, VCH Publishers, Inc., New York.
- Thuillez, C., Richard, V. (2005). "Targeting endothelial dysfunction in hypertensive subjects." *J Hum Hypertens*, **19** Suppl 1: S21-5.
- Tiritilli, A. (2001). "DOCA-salts induce heart failure in the guinea pig." *Eur J Heart Fail*, **3**(5): 545-51.
- Toda, N., Nakanishi-Toda, M. (2007). "Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy." *Prog Retin Eye Res*, **26**(3): 205-38.
- Torpy, J.M., Glass, T.J., Glass, R.M. (2005). "JAMA patient page. Retinopathy." *JAMA*, **293**(1): 128.
- Tucker, E.J., Ledingham, J.M., Zheng, Y., Laverty, R. (2000). "Effects of chronic inhibition of nitric oxide synthase in the genetically hypertensive rat." *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **27**(8): 647-9.
- Uehata, M., Ishizaki, T., Satoh, H., Ono, T., Kawahara, T., Morishita, T., Tamakawa, H., Yamagami, K., Inui, J., Maekawa, M., Narumiya, S. (1997). "Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension." *Nature*, **389**(6654): 990-4.

- Vallance, P., Chan, N. (2001). "Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance." *Heart*, **85**(3): 342-50.
- Vanhoutte, P.M., Boulanger, C.M. (1995). "Endothelium-dependent responses in hypertension." *Hypertens Res*, **18**(2): 87-98.
- Vanhoutte, P.M., Feletou, M., Taddei, S. (2005). "Endothelium-dependent contractions in hypertension." *Br J Pharmacol* **144**(4): 449-58.
- Vanhoutte, P.M., Shimokawa, H., Tang, E.H., Feletou, M. (2009). "Endothelial dysfunction and vascular disease." *Acta Physiol*, **196**(2): 193-222.
- Vanhoutte, P.M., Tang, E.H. (2008). "Endothelium-dependent contractions: when a good guy turns bad!" *J Physiol*, **586**(Pt 22): 5295-304.
- Vasdev, S., Gill, V.D., Parai, S., Gadag, V. (2007). "Effect of moderately high dietary salt and lipoic acid on blood pressure in Wistar-Kyoto rats." *Exp Clin Cardiol*, **12**(2): 77-81.
- Viridis, A., Colucci, R., Versari, D., Ghisu, N., Fornai, M., Antonioli, L., Duranti, E., Daghini, E., Giannarelli, C., Blandizzi, C., Taddei, S., Del Tacca, M. (2009). "Atorvastatin Prevents Endothelial Dysfunction in Mesenteric Arteries From Spontaneously Hypertensive Rats. Role of Cyclooxygenase 2-Derived Contracting Prostanoids." *Hypertension*, Jun;53(6):1008-16.
- Wallow, I.H., Bindley, C.D., Reboussin, D.M., Gange, S.J., Fisher, M.R. (1993). "Systemic hypertension produces pericyte changes in retinal capillaries." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **34**(2): 420-30.
- Wang, J.J., Mitchell, P., Rochtchina, E., Tan, A.G., Wong, T.Y., Klein, R. (2004). "Retinal vessel wall signs and the 5 year incidence of age related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study." *Br J Ophthalmol*, **88**(1): 104-9.
- Warnock, D.G. (2001). "Genetic forms of human hypertension." *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **10**(4): 493-9.
- Watt, P.A., Thurston, H. (1989). "Endothelium-dependent relaxation in resistance vessels from the spontaneously hypertensive rats." *J Hypertens*, **7**(8): 661-6.
- Webb, R.C. (2003). "Smooth muscle contraction and relaxation." *Advan Physiol Educ*, **27**(4): 201-206.
- Weber, D.S., Webb, R.C. (2001). "Enhanced relaxation to the rho-kinase inhibitor Y-27632 in mesenteric arteries from mineralocorticoid hypertensive rats." *Pharmacology*, **63**(3): 129-33.
- Weinstock, M., Borosh, M. (1993). "Low baroreflex sensitivity predisposes to salt-sensitive hypertension in the rabbit." *Am J Physiol*, **264**(2 Pt 2): H505-11.
- Whitworth, J.A. (2003). "2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension." *J Hypertens*, **21**(11): 1983-92.
- Wong, T.Y., Klein, R., Klein, B.E., Tielsch, J.M., Hubbard, L., Nieto, F.J. (2001). "Retinal microvascular abnormalities and their relationship with hypertension, cardiovascular disease, and mortality." *Surv Ophthalmol*, **46**(1): 59-80.
- Wong, T.Y., Mitchell, P. (2007). "The eye in hypertension." *Lancet*, **369**(9559): 425-35.

- World Health Report (2002). "Reducing risks, promoting healthy life." http://epsl.asu.edu/ceru/Documents/whr_overview_eng.pdf. Switzerland, World Health Organization.
- Yagil, Y., Yagil, C. (2001). "Genetic models of hypertension in experimental animals." *Exp Nephrol*, **9**(1): 1-9.
- Yamakawa, T., Tanaka, S., Tamura, K., Isoda, F., Ukawa, K., Yamakura, Y., Takanashi, Y., Kiuchi, Y., Umemura, S., Ishiiu, M., et al. (1995). "Wistar fatty rat is obese and spontaneously hypertensive." *Hypertension*, **25**(1): 146-50.
- Yetik-Anacak, G., Catravas, J.D. (2006). "Nitric oxide and the endothelium: history and impact on cardiovascular disease." *Vascul Pharmacol*, **45**(5): 268-76.
- Yıldırım, M. (2006). *İnsan Anatomisi 2*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti.
- Yu, D.Y., Su, E.N., Cringle, S.J., Schoch, C., Percicot, C.P., Lambrou, G.N. (2001). "Comparison of the vasoactive effects of the docosanoid unoprostone and selected prostanoids on isolated perfused retinal arterioles." *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **42**(7): 1499-504.
- Yu, D.Y., Su, E.N., Cringle, S.J., Yu, P.K. (2003). "Isolated preparations of ocular vasculature and their applications in ophthalmic research." *Prog Retin Eye Res*, **22**(2): 135-69.
- Yuasa, S., Li, X., Hitomi, H., Hashimoto, M., Fujioka, H., Uchida, K., Shoji, T., Takahashi, N., Miki, S., Miyatake, A., Mizushige, K., Matsuo, H. (2000). "Sodium sensitivity and sympathetic nervous system in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade in rats." *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **27**(1-2): 18-24.
- Zatz, R., Baylis, C. (1998). "Chronic nitric oxide inhibition model six years on." *Hypertension*, **32**(6): 958-64.
- Zhao, H., Shimokawa, H., Uragami-Harasawa, L., Igarashi, H., Takeshita, A. (1999). "Long-term vascular effects of Nomega-nitro-L-arginine methyl ester are not solely mediated by inhibition of endothelial nitric oxide synthesis in the rat mesenteric artery." *J Cardiovasc Pharmacol*, **33**(4): 554-66.
- Zoghi, M., Nalbantgil, I. (2002). "Hipertansiyon ve endotel fonksiyon bozukluğu." *Anadolu Kardiyoloji Derneği*, **2**: 142-7.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 138

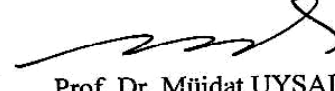
24.09.2008

Sn. Prof. Dr. Sönmez Uydeş Doğan
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Karar No: 105
Başvuru Tarihi: 18.09.2008

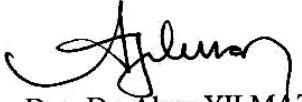
Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Ecz. Fulya Gezerler'e ait "Normal ve hipertansif sıçanlardan izole edilen retinanın karotid ve mezenterik arterler üzerindeki etkisinin incelenmesi" isimli proje Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.


Prof. Dr. Mehmet KAYA
İ. Ü. HADYEK Başkanı



Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye


Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye

Doç. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye


Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Safiye ALTUN
Üye


Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	FULYA	Soyadı	GEZERLER
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	09.06.1985
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	57811098740
Email	fulyagezerler@hotmail.com	Tel	0 555 309 24 17

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2007
Lise	Lüleburgaz Anadolu Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Farmakovijilans Uzmanı	Lilly İlaç Tic. Ltd. Şti.	2009-Devam
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok İyi	Çok iyi	82.5	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	90.668	90.088	89.077
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok İyi

Tebliğleri/ Sertifikaları**Poster Sunumları:**

Retina Derived Relaxations are Maintained in Carotid and Mesenteric Arteries of L-NAME-Induced Hypertensive Rats. **Gezerler F**, Takır S, Alp F.I., Ergin B, Demirci C, Özdemir O, Uydeş-Doğan BS. 10th International Symposium on Mechanisms of Vasodilatation (MOVD2009), 31 May- 3 June 2009, Matsushima,Miyagi, Japan. Abstract Book, p.217

Kongre Ve Sempozyum Katılımları:

10th International Symposium on Mechanisms of Vasodilatation (MOVD2009), 31 May – 3 June 2009, Matsushima, Miyagi, Japan.

The Federation of European Pharmacological Societies (EPHAR) Congress, 13 – 17 July 2008, Manchester, U.K.

Sertifikalar:

İ.Ü. Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı, 28 Nisan – 9 Mayıs 2008.