

**TC  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL HİPERTANSİYONDA SİTAGLİPTİNİN KAN  
BASINCI, VASKÜLER CEVAPLAR VE ENDOTEL  
DİSFONKSİYONU İLE İLİŞKİLİ PARAMETRELERE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Merve YILMAZ BOZOĞLAN**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Engin ŞAHNA**

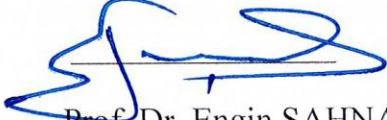
**ELAZIG  
2019**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

  
Prof. Dr. Engin ŞAHNA

### Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Engin ŞAHNA



Danışman

### Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Engin ŞAHNA



Prof. Dr. Hakan PARLAKPINAR



Doç. Dr. Seda TAŞDEMİR



## İTHAF

*Varlığima sebep her daim yanımda olan anneme, babama, yol gösterenim diğer yarım ablama; hayatımı kolaylaştıran ve ona anlam katan sevgili eşim ve biricik kızlarıma sonsuz minnet ve şükranlarımla...*



## TEŞEKKÜR

Tıp fakültesi gibi zorlu bir eğitimin ardından, yıllarımı alan uzmanlık alanında karar kılabilmek ve nihayetinde akademik hayat dediğim noktada; uzmanlık eğitimim sürecinde tecrübe ve deneyimlerini paylaşan, akademik alandaki başarıları ile örnek olan, yine akademik bir nosyon yanında hayata dair vizyon kazandıran, en önemlisi dağıldım dediğim anda hem beni hem tezimi toparlayarak soluk almamı sağlayan, varlığı ile güç veren, her daim kibar, güleryüzlü ve anlayışlı kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Engin Şahna'ya,

İstatistik çözümlerinde becerileri ve sabrı ile yanımızda olan Biyofizik AD'dan Dr. Öğr. Üyesi İhsan Serhatlıoğlu ve Veteriner Fakültesinden Doç. Dr. Cemal Orhan'a, biyokimyasal analizlerimizi değerlendiren Tıbbi Biyoloji AD'dan Doç. Dr. Ebru Önalın'a,

Tez sürecini benim için yardımlarıyla tahammül edilebilir kılan Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi yönetici ve personellerine,

Bölümümüz lisansüstü öğrencilerinden arkadaşlarım Kübra, Dilşat ve Çağrı'ya destek ve paylaşımları için,

TF.17.32 numaralı bu projeyi maddi olarak destekleyen, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Merve YILMAZ BOZOĞLAN

## ÖZET

Hipertansiyon (HT), Diabetes Mellitus (DM) ve komplikasyonlarının yüksek kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkileri, bu hastalıkları tüm dünyada önde gelen halk sağlığı problemi haline getirmiştir. Patogenezlerindeki endotel disfonksiyonu, nitrik oksit biyoaktivitesinde bozulma ve inflamasyonun kardiyovasküler problemleri başlattığı düşünülmektedir. Sitagliptin Tip 2 DM tedavisinde kullanılan, endotelial nitrik oksit sentetazı (NOS) artırarak vazodilatasyon sağlayan, dipeptidil peptidaz-4 inhibitörleri grubu bir oral antidiyabetiktir. Bu çalışmada sitagliptinin kan basıncı (KB), vücut ağırlıkları, invitro damar fonksiyonlarını gösteren kasılma gevşeme yanıtlarının yanısıra, NOS inhibitörü asimetrik dimetil arjinin (ADMA), inflamasyon sürecinde etkin interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), proinflamatuvar bir adipokin olan Resistin, sempatik sistemde anahtar enzim tirozin hidroksilaz (TH) ile tüm hücrel prosesler ve bu sebeple birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan NO salınımı, ROS üretimi ve inflamasyona etkili mikroRNA (miRNA) düzeylerine etkisinin, nondiyabetik hipertansif sıçanlarda değerlendirilmesi amaçlandı.

Çalışmada 10-12 haftalık 28 adet Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı (kontrol, sitagliptin, hipertansiyon, HT+Sita). Hipertansiyon oluşturmak için 4 hafta intraperitoneal L-N<sup>G</sup>-Nitroarginine Methyl Ester (L-NAME) (40 mg/kg) uygulandı. Sitagliptin (80 mg/kg) 2. haftadan itibaren 14 gün boyunca gavaj yoluyla verildi. KB (*tail-cuff* metoduyla) ve vücut ağırlıkları başlangıçta, 14 ve 28. günlerde ölçüldü. Dekapitasyon sonrası sıçan torasik aortaları organ banyosuna asılarak fenilefrin kasılma ve asetilkolin/sodyum nitroprusiyat gevşeme yanıtları izlendi. Serum ADMA, ICAM-1, Resistin, TH düzeyleri ELISA ve miRNA seviyeleri ise RT-PCR ile ölçüldü.

Kan basınçları L-NAME uygulanan gruplarda kontrole göre anlamlı yükseldi. Sitagliptin hipertansif grupta 28. gün KB'nı anlamlı azalttı. Kontrol ve hipertansiyon gruplarında anlamlı artış olurken, sitagliptin, uygulandığı gruplarda kilo artışını baskıladı. In-vitro deneylerde adrenerjik reseptör duyarlılığı hipertansif grupta anlamlı arttı. Sitagliptin uygulaması bu artışı azalttı. Maksimum kasılmanın yarısına ulaştırılan fenilefrin konsantrasyonu (Phe EC<sub>50</sub>) hipertansiflerde anlamlı düşüken, HT+Sita grubunda anlamlı arttı. Sitagliptin ile kümülatif endotel bağımlı gevşeme

yanıtlarında anlamlı iyileşmeler görüldü. Hipertansiyon grubunda anlamlı artan ADMA ve ICAM-1 seviyeleri sitagliptin uygulamasıyla anlamlı azaldı. Tirozin hidroksilaz düzeyleri anlamlılığa ulaşmamakla birlikte hipertansiyon grubunda arttı ve sitagliptinle azaldı. Resistin seviyeleri gruplar arasında anlamlı değildi. miRNA-21, miRNA-155 ve miRNA-181b hipertansiyonda anlamlı artarken sitagliptin tedavisi ile anlamlı azaldı.

Bulgularımıza göre NOS inhibisyonuyla gelişen hipertansiyona katılımcı ADMA, ICAM-1, TH ve miRNA-21, miRNA-155 ve miRNA-181b birer biyobelirteç ve tedavi planlamada önemli hedefler olabilir. Sitagliptin aortadaki vazoaktif özellikleri ve endotel disfonksiyonu, oksidatif stres, inflamasyon ve sempatik aktiviteyi yansıtan biyobelirteçler üzerine etkileriyle kan basıncını düşürebilir.

**Anahtar Kelimeler:** hipertansiyon, sitagliptin, ADMA, ICAM-1, tirozin hidroksilaz miRNA

## ABSTRACT

### **EFFECTS OF SITAGLIPTIN ON BLOOD PRESSURE, VASCULAR RESPONSES AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION RELATED PARAMETERS, IN EXPERIMENTAL HYPERTENSION**

Hypertension (HT), Diabetes Mellitus (DM) and their complications are major public health problems worldwide due to their association with high cardiovascular morbidity and mortality. Both in these pathologies, endothelial dysfunction, disruption of nitric oxide bioactivity and inflammation are thought to begin cardiovascular problems. Sitagliptin, a member of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, is used for the treatment of DM Type-2, ensures vasodilatation via nitric oxide synthetase (NOS). In this study, besides the effects of sitagliptin on blood pressure (BP), body weights and invitro contraction/relaxation responses, levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) known as a NOS inhibitor, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) that participates inflammation, a proinflammatory adipokine Resistin, tyrosine hydroxylase (TH) the key enzyme of sympathetic system and micro RNAs involved in the all cellular processes and consequently play a role in the pathogenesis of many diseases and act on nitric oxide release, reactive oxygen species formation and inflammation were aimed to evaluate on nondiabetic hypertensive rats

Twenty-eight Spraque Dawley rats of 10-12 weeks-old were randomly divided into four groups (control, sitagliptin, hypertension, HT+sita). To develop hypertension, L-NAME (40 mg/kg) was administered intraperitoneally for 4 weeks. Sitagliptin (80 mg/kg) was given by oral gavage for last 14 days. BP by using tail-cuff method and body weights were measured on onset, 14<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> day of experiment. After decapitation phenylephrine contractions and acetylcholine/sodium nitroprusside relaxation responses were observed by hanging the thoracic aortas of rats in the organ bath. Levels of serum ADMA, ICAM-1, Resistin, TH analysed by ELISA and microRNAs with RT-PCR.

Significant increase in BP with L-NAME was seen in hypertensive group according to control. Sitagliptin reduced blood pressure significantly on 28<sup>th</sup> day in hypertensive rats. While control and hypertensive groups gained weight significantly from 14 to 28th days, weight gains were suppressed in sitagliptin administrated

groups. In-vitro contraction responses of hypertensive group increased significantly. While the concentration of phenylephrine (Phe), which reached half of the maximal contraction (Phe EC<sub>50</sub>) was significantly lower in hypertensive group, increased significantly in HT+Sitagliptin group. Significant improvements in cumulative relaxation responses were observed with sitagliptin. Significant increases were seen in ADMA and ICAM-1 levels of hypertensive group. Sitagliptin administration decreased these levels significantly. Although it was not significant, the level of TH increased in hypertensive group and decreased with sitagliptin. Resistin levels were not different between the groups. miRNA-21, miRNA-155 and miRNA-181b levels increased in hypertension group and decreased with sitagliptin treatment.

According to our findings; ADMA, ICAM-1, TH and miRNA-21, miRNA-155 ve miRNA-181b which are involved in NOS inhibited hypertension, may be biomarkers and important targets for treatment planning. In this study it has been shown that sitagliptin can decrease BP with its vasoactivity in aorta and effects on parameters reflecting endothelial dysfunction, oxidative stress, inflammation and sympathetic activity.

**Key words:** hypertension, sitagliptin, ADMA, ICAM-1, tyrosine hydroxylase, miRNA



## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	i
<b>ONAY SAYFASI</b>	ii
<b>İTHAF</b>	iii
<b>TEŞEKKÜR</b>	iv
<b>ÖZET</b>	v
<b>ABSTRACT</b>	vii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	ix
<b>TABLO LİSTESİ</b>	xiii
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	xiv
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	xv
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Hipertansiyon	2
1.1.1. Tanım ve Evreleme	2
1.1.2. Hipertansiyon etiyopatogenezi	3
1.1.2.1. Artmış Sempatik Sinir Sistem Aktivitesi	4
1.1.2.2. Endotel Disfonksiyonu	4
1.1.2.2.1. Nitrik Oksit	5
1.1.3. Deneysel Hipertansiyon Modelleri	7
1.1.3.1. Genetik İndüklü Hipertansiyon	7
1.1.3.2. Çevresel İndüklü Hipertansiyon	7
1.1.3.3. Farmakolojik İndüklü Hipertansiyon	7
1.1.3.3.1. DOCA-Tuz indüklü hipertansiyon	7
1.1.3.3.2. NOS İnhibisyonu ile Oluşturulmuş Hipertansiyon	8
1.1.3.4. Renal İndüklü Hipertansiyon	8
1.2. Diyabetes Mellitus	8
1.2.1. Epidemiyolojisi	9
1.2.2. Hipertansiyon ve Diyabet İlişkisi	9
1.2.2.1. Diyabette kan basıncı kontrolünün önemi	10
1.2.2.2. Diyabette hipertansiyon tedavisi	10
1.2.3. Tip 2 DM tedavisinde kullanılan ilaçlar	11
1.2.3.1. İnsülin salgılatıcılar (sekretogog)	11

1.2.3.2. İnsülin duyarlılaştırıcılar (sensitizer)	11
1.2.3.3. Alfa glukozidaz inhibitörleri	11
1.2.3.4. Sodyum glukoz ko-transporter-2 inhibitörleri (SGLT-2İ)	12
1.2.3.5. İnsülinomimetik ilaçlar	12
1.2.3.5.1. Amilin analogları	12
1.2.3.5.2. İncretin bazlı ilaçlar	12
1.2.3.5.2.1. İncretinmimetikler	13
1.2.3.5.2.2. Dipeptidil Peptidaz-4 İnhibitörleri = Gliptinler	13
1.2.3.5.2.2.1. Sitagliptin	15
1.3. Diyabet ve Hipertansiyonda Ortak Patolojiler ve Sitagliptinin Olası Etkinliği	17
1.3.1. Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Ürünleri	18
1.3.1.1. Asimetrik Dimetiltarjinin	18
1.3.2. İnflamasyon	19
1.3.2.1. ICAM-1	19
1.3.3. Adipokinler	20
1.3.3.1. Resistin	20
1.3.4. Mikro RNA	21
1.3.4.1. miRNA-155	22
1.3.4.2. miRNA-21	22
1.3.4.3. miRNA-181b	23
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>25</b>
2.1. Denekler	25
2.2. Kullanılan Kimyasallar	25
2.3. Deney protokolü	25
2.3.1. HT oluşturulması	25
2.3.2. İlaç uygulamaları	25
2.3.3. Gruplar	25
2.3.4. Kan basıncı ölçümleri	26
2.3.5. Cerrahi uygulamalar	27
2.3.6. İn vitro deneyler	27
2.3.6.1. Fenilefrin kasılma cevapları	29

2.3.6.2. Asetilkolin Gevşeme Cevapları	29
2.4. Moleküler Parametreler	29
2.4.1. ELISA Analizleri	29
2.4.1.1. ELISA İçin Serum Örneklerinin Hazırlanması	30
2.4.1.2. Tirozin hidroksilaz ELISA Testi Protokolü	30
2.4.1.3. ADMA, ICAM ve RESISTIN ELISA Testi Protokolü	30
2.4.1.3.1. Solüsyonların Hazırlanması	30
2.4.1.3.2. Prosedür	31
2.4.2. Kantitatif Real time Polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile miRNA analizleri	32
2.4.2.1. Tri Reagent ile RNA İzolasyonu	32
2.4.2.2. Spektrofotometrik RNA Ölçümü:	33
2.4.2.3. Komplementer DNA Sentezi	33
2.4.2.4. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu	34
2.5. İstatistiksel Analiz	35
<b>3. BULGULAR</b>	<b>37</b>
3.1. Kan Basınçları	37
3.2. Vücut Ağırlıkları	37
3.3. İzole Torasik Aortada Kasılma-Gevşeme Cevapları	38
3.3.1. Fenilefrin kasılma cevapları	38
3.3.2. Fenilefrin maksimum kasılma, Etkin konsantrasyon 50 ve $E_{max}/KCl$ (%) değerleri	39
3.3.3. Asetilkolin Gevşeme Cevapları	40
3.3.4. Sodyum nitroprusiyat gevşeme yanıtları	41
3.4. ELISA sonuçları	42
3.4.1. Serum ADMA düzeyleri	42
3.4.2. Serum ICAM-1 düzeyleri	43
3.4.3. Serum Resistin düzeyleri	43
3.4.4. Serum Tirozin Hidroksilaz düzeyleri	44
3.5. PCR sonuçları	45
3.5.1. Aort dokusunda miRNA ekspresyonları	45

3.5.2. Lökositlerde mikroRNA ekspresyonları	45
<b>4. TARTIŞMA</b>	47
<b>5. KAYNAKLAR</b>	61
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	75



## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> JNC-8 ve ESC kılavuzlarına göre yetişkinlerde hipertansiyon evrelemesi	2
<b>Tablo 2.</b> cDNA karışım miktarı	34
<b>Tablo 3.</b> cDNA sentezi için uygulanan PZR programı	34
<b>Tablo 4.</b> RT-PZR'de Kullanılan microRNA primerleri	35
<b>Tablo 5.</b> RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	35
<b>Tablo 6.</b> NOS inhibitörü L-NAME ve Sitagliptin uygulamaları sonucunda sistolik kan basınçları.	37
<b>Tablo 7.</b> 0,14 ve 28. günlerde vücut ağırlıkları	38
<b>Tablo 8.</b> Fenilefrin kasılma cevapları	39
<b>Tablo 9.</b> Fenilefrin $E_{max}$ , $EC_{50}$ ve $E_{max}/KCl$ (%) değerleri.	39
<b>Tablo 10.</b> Asetilkolin gevşeme cevapları	40
<b>Tablo 11.</b> Asetilkolin gevşeme cevapları	40
<b>Tablo 12.</b> Asetilkolin $E_{max}$ ve $EC_{50}$ değerleri.	41

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	L-arjininden nitrik oksit sentezi	5
<b>Şekil 2.</b>	Sitagliptinin hipertansiyondaki endotel disfonksiyonuna karşı koruyucu etkisinin mekanizması	17
<b>Şekil 3:</b>	mikroRNA'ların endotel disfonksiyonu ve hipertansiyon sürecindeki rolü	23
<b>Şekil 4.</b>	Deney grupları ve ilaç uygulamaları	26
<b>Şekil 5.</b>	Kuyruktan kan basıncı ölçümü	27
<b>Şekil 6.</b>	İzole organ banyosu	28
<b>Şekil 7.</b>	İzole organ banyosunda torasik aorta	28
<b>Şekil 8.</b>	0., 14. ve 28. günlerde kan basınçları	37
<b>Şekil 9.</b>	Fenilefrin kümülatif doz-cevap eğrisi	38
<b>Şekil 10.</b>	Asetilkolin gevşeme cevapları	41
<b>Şekil 11.</b>	SNP gevşeme cevapları	42
<b>Şekil 12.</b>	Serum ADMA düzeyleri	42
<b>Şekil 13.</b>	Serum ICAM-1 düzeyleri	43
<b>Şekil 14.</b>	Serum resistin düzeyleri	44
<b>Şekil 15.</b>	Serum tirozin hidroksilaz düzeyleri	44
<b>Şekil 16.</b>	Torasik aortada miRNA seviyeleri	45
<b>Şekil 17.</b>	Tam kandan izole lökositlerde miRNA seviyeleri	46

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ACEİ</b>	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri
<b>ACh</b>	: Asetilkolin
<b>ADMA</b>	: Asimetrik dimetilarjinin
<b>ARB</b>	: Anjiyotensin reseptör blokörü
<b>BH<sub>4</sub></b>	: Tetrahidrobiopterin
<b>cAMP</b>	: Siklik adenzin monofosfat
<b>DDAH</b>	: Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
<b>DKB</b>	: Diyastolik kan basıncı
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DOCA</b>	: Deoksikortikosteron asetat
<b>DPP4</b>	: Dipeptidil peptidaz-4
<b>DPP-4 İ</b>	: Dipeptidil peptidaz-4 inhibitörleri
<b>eNOS</b>	: Endotelial nitrik oksit sentetaz
<b>ESC</b>	: Avrupa Kardiyoloji Komitesi
<b>ET-1</b>	: Endotelin-1
<b>FAD</b>	: Flavin adenin dinükleotit.
<b>GIP</b>	: Glukoz-bağımlı insulintropik polipeptit = Gastrik inhibitör polipeptit
<b>GLP-1</b>	: Glucagon-like peptide
<b>hsCRP</b>	: Yüksek duyarlıklı c reaktif protein
<b>HT</b>	: Hipertansiyon
<b>ICAM-1</b>	: İnterselüler adezyon molekülü-1
<b>İR</b>	: İnsülin direnci
<b>ip</b>	: İntraperitoneal
<b>JNC-8</b>	: Joint National Committee
<b>L-NAME</b>	: L-N <sup>G</sup> -Nitroarginine methyl ester
<b>miR, miRNA</b>	: Mikro ribonükleik asit
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentetaz
<b>OAD</b>	: Oral antidiyabetik
<b>Phe</b>	: Fenilefrin
<b>RAAS</b>	: Renin anjiyotensin aldosteron sistemi
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen ürünleri
<b>SF</b>	: Serum fizyolojik
<b>sGC</b>	: Çözünebilir guanilat siklaz

**SHR** : Spontan hipertansif rat (sıçan)  
**SKB** : Sistolik kan basıncı  
**SNP** : Sodyum nitroprusiyat  
**TH** : Tirozin hidroksilaz  
**VCAM** : Vasküler hücre adezyon molekülü-1  
**WKY** : Wistar-Kyoto





## 1. GİRİŞ

Kültürel tecritteki çok az sayıdaki insan topluluğu dışında hipertansiyon (HT), tüm popülasyonlarda yaşlanmayla beraber sıklığı artan kronik bir hastalıktır (1). Dünya nüfusunun giderek yaşlanması ile hipertansiyon ve ilişkili kardiyovasküler olay sıklığının artacak olması, hem ekonomik hem de sosyal olarak hastalığın nasıl ciddi bir tehdit haline geldiğinin göstergesidir. Dünyada yetişkin nüfusunun %25'inin hipertansiyonla mücadele ettiği tahmin edilmektedir. Bu sayının 2025 yılına kadar küresel olarak %29'a çıkması beklenmektedir (2). Ülkemizde ise 2015 – 2020 Türkiye Diyabet programı verilerine göre 12,5 milyondan fazla kişi hipertansiyon tanısı almıştır.

Hipertansiyonun, engellenebilir ve tedavisi mümkün bir hastalık olmasıyla beraber; tedavisindeki gecikme ile konjestif kalp yetmezliği, koroner kalp hastalığı, hemorajik ve trombotik inme, kronik böbrek hastalığı, periferik arter hastalığı, aort diseksiyonu ve erken yaşta ölüm gibi birçok duruma sebep olduğu da bilinmektedir (3). Dünya Sağlık Örgütü'nün güncel bir bildirisinde; bulaşıcı olmayan hastalıkların dünya genelindeki ölümlerin %70'ini oluşturduğu, bunun da yılda 40 milyon ölüm demek olduğu, rapor edilmiştir. Bu ölümlerin 9.4 milyonuna hipertansiyon ve komplikasyonları sebep olmaktadır. Öte yandan hipertansiyon kalp hastalığına bağlı ölümlerin %45'inden sorumlu iken bu oran hipertansiyonun sebep olduğu inmeye bağlı ölümlerde ise %51'e kadar çıkmaktadır (4, 5).

Obezite, kronik böbrek hastalıkları, uyku apnesi, insülin direnci (İR) ve diabetes mellitus (DM) gibi birçok komorbidite hipertansiyonla birliktelik gösterir. Tersinden bakıldığında da durum aynıdır: diyabetli hastaların büyük çoğunluğunda eşlik eden yüksek kan basıncı söz konusudur ve bu hastalarda hipertansiyonun varlığı inme, myokard infarktüsü gibi kardiyovasküler ve renal olay riskini tehlikeli anlamda artırmaktadır (6, 7). HT, DM ve komplikasyonlarının yüksek kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkileri, bu hastalıkları tüm dünyada major halk sağlığı problemi haline getirmiştir. Sistolik kan basıncında (SKB) yalnızca 2 mmHg'lık bir azalmanın bile iskemik kalp hastalıklarına bağlı mortaliteyi %7 ve inme riskini %10 azalttığı düşünüldüğünde; farmakolojik veya nonfarmakolojik yöntemlerle, özellikle sistolik kan basıncında hedefe ulaşıldığında HT ve DM'nin sebep olduğu morbidite

ve mortalitenin azaltılabılmesinin klinik anlamdaki öneminin büyüklüğü görülmektedir (8).

## 1.1. Hipertansiyon

### 1.1.1. Tanım ve Evreleme

Arteriyel kan basıncı (tansiyon), kalbin kanı sistemik dolaşıma pompalaması sırasında kanın damar çeperlerine yaptığı basınç olarak bilinir. Bu basınç aşağıdaki şekilde formüle edilebilir:

$$\text{Kan basıncı} = \text{Kalp Debisi} \times \text{Periferik Damar Direnci}$$

Kalp debisi (kardiyak output), atım hacmi ile kalp hızının çarpımıyla belirlenirken; periferik damar direnci ise küçük arter ve arteriollerin çapları, damar duvarının yapısı ve damar düz kaslarının tonusu gibi faktörlerce değişir. SKB, kalp atım hacmi ve aortanın gerilebilirliği tarafından, arterdeki minimum kan basıncı olan diyastolik kan basıncı (DKB) ise periferik damar direnci tarafından belirlenir.

Daha çok damar direncinin artmasına bağlı olmakla birlikte, denklemdeki değişkenlerin birinde veya her ikisinde artma ile hekim tarafından yapılan arteriyel kan basıncı ölçümünün 140/90 mmHg veya daha yüksek seyretmesi haline hipertansiyon denir. Hipertansiyonda evreleme Avrupa Kardiyoloji Komitesi (ESC) 2013 Hipertansiyon Kılavuzu ve 8. *Joint National Commitee* (JNC-8) yetişkinlerde hipertansiyon yönetim kılavuzlarına göre şu şekildedir (Tablo 1) (9, 10):

**Tablo 1.** JNC-8 ve ESC kılavuzlarına göre yetişkinlerde hipertansiyon evrelemesi

Kategori	Sistolik ( mmHg)		Diyastolik ( mmHg)
Optimum	<120	ve	<80
Normal	120-129	ve/veya	80-84
Yüksek-Normal	130-139	ve/veya	85-89
Evre 1 HT	140-159	ve/veya	90-99
Evre 2 HT	160-179	ve/veya	100-109
Evre 3 HT	>180	ve/veya	≥ 110
İzole sistolik HT	>140	ve	<90

Tüm hipertansiyon olgularının %80-90 gibi büyük bir kısmını mekanizması kesin bilinmeyen, herhangi bir ikincil hastalığa bağlı olmayan esansiyel (primer) hipertansiyon oluşturur. Geri kalan %10-20'lik bölümü ise parankimal böbrek hastalığı, renal arter stenozu, aşırı aldosteron salınımı, feokromasitoma, hipertroidi, Cushing, akromegali ve uyku apnesi gibi bir nedene bağlı sekonder hipertansiyon olguları meydana getirir (11).

### 1.1.2. Hipertansiyon etiopatogenezi

Hipertansiyon multifaktöriyel bir hastalıktır. Genetik yatkınlık, artmış sempatik aktivite (barorefleks ve kemorefleks mekanizmaların yer aldığı karmaşık bir mekanizma), sodyum tutulumunu arttıran hormonların fazla üretimi ve vazokonstrüksiyon, uzun süreli yüksek miktarda tuz alımı, alkol ve sigara kullanımı, obezite, meslek ve kalabalık yerlerde yaşam gibi çevresel faktörler, düşük miktarda potasyum ve kalsiyum alımı, renin salınım fazlalığına bağlı artan anjiotensin II ve aldosteron fazlalığı, prostasiklin, nitrik oksit ve natriüretik peptidler gibi vazodilatatörlerin azalmış üretimi, vasküler tonusu arttıran kallikrein-kinin sisteminin aktive olması, damarlarda direnç artışı, DM, IR gibi patolojiler ve aralarındaki karmaşık ilişkiler yumağı esansiyel hipertansiyonun meydana gelmesinden sorumludur. Bu faktörlerin bazılarını yakından bakmak gerekirse:

**Vasküler reaktivite:** Psikolojik strese cevap olarak sempatik salınımın artması ve yineleyen stres, vazokonstrüksiyona ve periferik damar direncinde artışa neden olarak bu yolla hipertansiyon oluşmasına sebep olur.

**Vasküler yeniden yapılanma:** Özellikle küçük arteriollerdeki fonksiyonel değişiklik olmakla beraber damarlardaki yapısal ve mekanik varyasyonlar hipertansiyon hastalarında artmış durumdadır. HT patofizyolojisinde önemli olan sempatik uyarının da kronik olması, norepinefrin reseptörlerine etkiyerek, çeşitli büyüme faktörlerinin de katkısıyla damar yeniden yapılanmasına katkıda bulunur.

**Renal mikrovasküler hastalık:** Sempatik sinir sistemi ve renin anjiotensin aldosteron sisteminin (RAAS) hiperaktivasyonu ve bireyin genetik durumunun da katkısıyla, renal mikrovasküler sistemde sodyum emilimi artar. Buna bağlı HT gelişebilir.

**Ürik asit:** Ürik asit, plazma renin düzeyi ile korelasyon gösterir ve böbrek afferent arteriollerinde vazokonstrüksiyon oluşturarak hipertansiyon sürecine katkıda bulunur.

**Arteriyel sertlik:** Endotel disfonksiyonu, östrojen azalması, tuz alımının fazla olması, sigara, homosistein yüksekliği, diyabet ve yaşlanma arteriyel sertliğe neden olur. Yaşlanmayla beraber vasküler elastikiyette azalma da SKB'yi artırır.

**Renin Anjiotensin Aldosteron Sistemi:** Anjiotensin II, damarda vazokonstrüksiyon, böbrekte sodyum emilimini veya beyinde sempatik uyarımı

arttırma gibi mekanizmalarla kan basıncını yükseltir. Anjiotensin II beyin, adrenaller, damarlar ve kalpte üretilir. Bu üretim organlarında damar rezistansı oluşturularak hedef organ hasarına sebep olur. Öte yandan aldosteron da otokrin ve parakrin yollarla kalp damar sistemini etkileyerek fazlalığı durumunda hipertansiyona sebep olur.

k Endotel hücrelerinden sentezlenen ET-1 dolaşımında anlamlı bir yüksekliğe ulaşmadan bile parakrin etkisi ile endotel altındaki düz kas hücrelerindeki reseptörlerini uyararak vazokonstrüksiyona yol açar ve bu yolla kan basıncını yükseltir (12).

#### **1.1.2.1. Artmış Sempatik Sinir Sistem Aktivitesi**

Sempatik uyarımın artması kalbin, periferel damarların, böbreklerin uyarılmasını sağlayarak kardiyak outputun, damar direncinin ve sıvı tutulumunun artmasına sebep olarak hipertansiyon oluşturur. Başka bir açıdan bakıldığında katekolaminlerin sentez ve kana sekresyonundaki aşırılığın aracılık ettiği uygunsuz sempatik sinir sistemi aktivasyonu, esansiyel HT'nun majör patofizyolojik özelliklerindedir. Katekolamin biyosentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan L-Tirozin hidroksilaz (TH) bu süreçte aktif rol oynamaktadır. TH, tirozinin dihidroksifenilalanine dönüşümünden sorumludur. Daha önce Spontan Hipertansif Sıçanlarda (SHR) yapılan bir çalışmada artmış katekolaminerjik nörotransmisyonun, yükselmiş tirozin hidroksilaz aktivitesi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (13). 2016 yılında yürütülmüş bir çalışmada deneklere 10 gün deksametazon verilmesi ile oluşturulan hipertansiyonda eş zamanlı TH mRNA seviyelerinin de yükseldiği gözlemlenmiştir (14).

#### **1.1.2.2. Endotel Disfonksiyonu**

Endotel; damar tonusu, kan basıncı, kan akımı ve pıhtılaşma sistemi üzerinde etkili olan, vasküler lümeni döşeyen tek sıralı hücrelerden oluşmuş vücuttaki en büyük endokrin organdır. Bu yapı kan elemanları ile damar duvarı arasında sürekli bir bariyer oluşturur. Palade ve Gowan'ın endotelin dinamik bir organ olduğunu ilk olarak tanımladığı 1950lerden bu yana endotel ve fonksiyonları konusunda bilgimiz dramatik olarak değişmektedir.

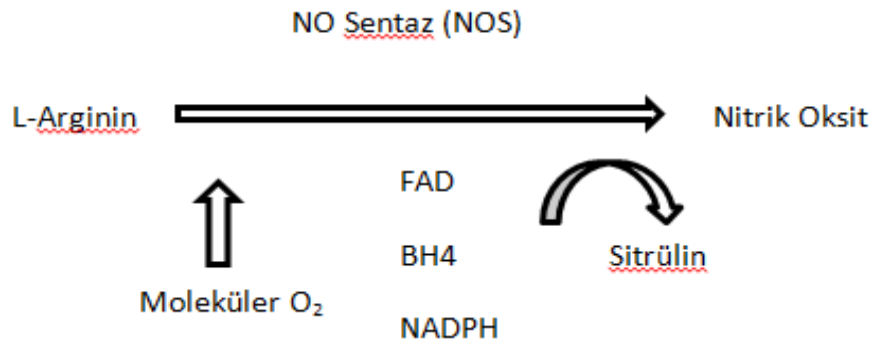
Endotel hücreleri vasküler homeostazı sağlamak için kritik öneme sahip vazodilatatör [nitrik oksit (NO), prostasiklin ve endotel kaynaklı hiperpolarizasyon

faktörü] ve vazokonstrüktör [ET-1, Anjiotensin 2, tromboksan A2 ve Reaktif oksijen ürünleri (ROS)] maddeler salgılar (15). Sağlıklı bir endotel direkt vasküler rezistansı düşürecek potent vazodilatatörleri sürekli olarak stimuluslara cevap olarak salgılar. Bu maddelerden en önemlisi olan NO'in bozulan yapım ve fonksiyonu endotel disfonksiyonuna sebep olur. Endotel disfonksiyonu ve hipertansiyon birbirini tetikleyen olaylardır. Bununla birlikte hipertansiyonun erken dönem karakteristik patofizyolojilerinden olan endotel disfonksiyonu ve beraberinde NO biyoyararlanımının bozulması ile vazodilatasyonda azalma ve vazokonstrüktörlere artmış cevap süreci yaşanır (16).

#### 1.1.2.2.1. Nitrik Oksit

Endotel hücrelerinden salgılanan NO; bilinen en güçlü endojen vazodilatatör aynı zamanda çeşitli fizyolojik görevleri olan, difüzyonla biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilen bir sinyal molekülüdür. Vazodilatasyondaki primer rolünün yanında NO, miyokardın kasılması ve mikrovasküler permeabilite üzerine etkisi ile kardiyovasküler sistemde, öğrenme, hafıza, ağrı, epilepsi ve nörodejenerasyon üzerine etkileri ile sinir sisteminde ve bronkodilatasyon etkisi ile de solunum sisteminde rol alır (17).

Nitrik oksit, nitrik oksit sentetaz (NOS) enzim ailesi tarafından sentezlenir. Reaksiyon sırasında substrat olan L-arjinin moleküler oksijenle oksitlenir. Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat, flavin adenin dinükleotit ve tetrahidrobiyopterin ise kofaktör olarak kullanılır (18) (Şekil 1). Organizmadaki yarı ömrü saniyelerle ifade edilen NO, başlıca katalizörlerinin süperoksit radikallerinin olduğu reaksiyonlarla da nitrit ve nitrata dönüştürülerek inaktif hale gelir.



**Şekil 1.** L-arjininden nitrik oksit sentezi. FAD: flavin adenin dinükleotit, BH<sub>4</sub>: tetrahidrobiyopterin, NADPH: nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

Nitrik oksit sentetaz enzim ailesi nöronal, indüklenebilir ve endotelial NOS'tan oluşur. Nöronal NOS öncelikle beyin, spinal kord, periferik nöronlar gibi sinir sistemi bölümlerinde bulunur. Ayrıca solunum fonksiyonlarında, gastrointestinal sistem motilitesinde, tüm dokuların kan basınçlarının ve akış hızının düzenlenmesinde de görev alır. Bu enzimin çalışabilirliği kalsiyum kalmodulin kompleksine bağlıdır. Böylece aktivitesi intraselüler kalsiyum düzeyindeki değişikliklerle ayarlanabilir.

İndüklenebilir izoform olan iNOS makrofajlarda, dalak pulpası, kalın barsak ve karaciğerdeki kimi hücrelerde bulunur; interlekin-1, interferon- $\gamma$ , endotoksin ve tümör nekrozis faktör- $\alpha$  gibi sitokinlerce hücrelerde ve ayrıca bakteriyel lipopolisakkaritler tarafından da uyarılabilir. Aktif hale geçmesi için kalsiyum ve kalmoduline bağlı olmadığından, endotelial NOS (eNOS) ve nöronal NOS'tan farklı olarak aktivitesi uzun sürer ve fazla NO üretimi sağlar (19).

Nitrik oksit sentetaz enzim ailesinin vasküler dokuda baskın izoformu olan eNOS ilk olarak endotel hücrelerinde tespit edilmiştir. Sonrasında arteriyel ve venöz endotelin bulunduğu böbrek tübül epitelinde, plasenta sinsitiotrofoblastlarında ve beyin gibi bazı dokularda da eNOS bulunduğu saptanmıştır.

Nitrik oksit sentezi damarda başlıca akım stresi (*shear stress*) denilen kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu endotel yüzeyinde oluşturduğu mekanik sürtünme etkisi ile olur. Endotel hücreleri bu mekanik etki ile şekil değişikliğine zorlanırken aynı zamanda intraselüler sinyaller de gönderir. Bu uyarı ile Protein Kinaz B aktive olur ve eNOS'u fosforile eder. Böylece endotelden NO üretimi gerçekleşir. Bu şekilde NO üretimi için kalsiyuma gerek yoktur. Ancak membrana bağlı bulunan eNOS, hücre içi kalsiyumun artmasını sağlayan asetilkolin, bradikinin ve noradrenalin gibi bazı mediatörlerle de indüklenebilir (20).

Çok düşük konsantrasyonlarda dahi NO etkisini,  $\alpha$  ve  $\beta$  subunitleri bulunan çözünebilir guanilat siklaz (sGC) enzimi aktivasyonu ile meydana getirir. Aktif sGC, hücre içi ikincil haberci olan siklik guanozin monofosfat (cGMP) artışını uyarır. Böylece cGMP bağımlı protein kinaz G'nin katıldığı bir reaksiyon sonucu hücre içi kalsiyum miktarında azalmaya neden olur ve düz kas hücrelerinde gevşeme meydana gelir. Düz kas hücresinde relaksasyon ve vasküler rezistansın azalması doku perfüzyonunun artması ile sonuçlanır (21).

### **1.1.3. Deneysel Hipertansiyon Modelleri**

Hayvan modellerinde hipertansiyon oluşturulmasının kabaca dört şekilde yapıldığı söylenebilir. Bunlar genetik, çevresel, farmakolojik ve renal indüklü modellerdir.

#### **1.1.3.1. Genetik İndüklü Hipertansiyon**

Bu modelin en sık kullanılan iki örneği SHR ve *Dahl sensitif* (Dahl tuza duyarlı) sıçanlardır. SHR yakın akraba çiftleştirilmesi yapılan Wistar cinsi ratlardır, doğumdan sonra 4-6. haftada kan basıncı yükselmesi sağlanır. Dahl tuza duyarlı sıçanların cinsi ise Sprague-Dawley'dir. Bu sıçanlar hayatlarının erken döneminde tuz diyetine verdikleri kan basıncı cevabına göre hipertansif ve hipertansif olmayan şekilde ayrılırlar. Bu sıçanlar kendi içinde çiftleştirilerek üretilen yeni sıçanlardan tuz diyetine en yüksek kan basıncı cevabı verenler ile Dahl sensitif hipertansiyon modeli elde edilmiş olur. Genetik indüklü hipertansiyon oluşturulmuş sıçanların böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği ve kardiyak hipertrofi gibi patolojileri vardır. Bu model deneysel hipertansiyon modelleri içinde en sık tercih edilenidir (22).

#### **1.1.3.2. Çevresel İndüklü Hipertansiyon**

Soğuk, stres ve diyet ile indüklenmiş hipertansiyon modelleri bu grupta incelenir. Diyet indüklü olanı yüksek yağ, şeker veya tuza sahip diyetlerle yapılabilir.

#### **1.1.3.3. Farmakolojik İndüklü Hipertansiyon**

##### **1.1.3.3.1. DOCA-Tuz indüklü hipertansiyon**

Kan basıncını yükseltmek için deneklere günde 300-1000 mg/kg deoksikortikosteron asetat (DOCA) verilerek oluşturulan DOCA-Tuz indüklü hipertansiyon, farmakolojik indüklemenin tipik örneğidir. Bu modelde hipertansiyon oluştururken içme suyu olarak yalnızca salin solüsyonu verilir ve çoğunlukla patolojiyi oluşturmak için böbrek cerrahisinden de faydalanılır. Hipertansiyon, başlangıçta tuza bağımlı iken sonrasında reninin düşük, volümün yüksek olduğu bir durum söz konusu olur. Bu süreçte arjinin vazopressin ve sempatik sinir sisteminin de rolü olduğu düşünülmektedir (23).

### **1.1.3.3.2. NOS İnhibisyonu ile Oluşturulmuş Hipertansiyon**

1987'de vazodilatasyona aracılık etmedeki rolünün keşfinden sonra NO'nun çeşitli fizyolojik süreçlerde ve bazı patolojik olaylardaki rolü çalışma konusu olmuştur. 1992'de kronik NOS inhibisyonunun yeni bir hipertansiyon modeli olarak kullanılabileceği bulunmuştur. Sıçanlara değişik dozlarda verilen NOS inhibitörleri ile hipertansiyonun şiddetinin ve sebep olduğu organ hasarının da değiştiği saptanmıştır. L-N<sup>G</sup>-Nitroarginine Methyl Ester (L-NAME) sıçanlarda deneysel hipertansiyon oluşturmak için kullanılan ilk maddedir. İlk zamanlarda suda çözünmesi ve içme suyu ile verilebilmesi avantaj oluşturmuştur. Daha sonra enjeksiyonla intraperitoneal olarak da uygulanabildiği bulunmuştur. İlerleyen zamanda L-NAME'in farklı dozları ile farklı sürelerde uygulamalarının değerlendirildiği çalışmalarda bu maddenin kan basıncını anlamlı yükselttiği ve bunun doz ve süre bağımlı olduğu kanaatine varılmıştır (24).

### **1.1.3.4. Renal İndüklü Hipertansiyon**

Renin salgılamak ve sıvı-elektrolit dengesini sağlamak gibi hayati fonksiyonları bulunan böbreğin, hipertansiyon patogenezindeki önemi bilinmektedir. İlk olarak Goldblatt ve arkadaşları tarafından köpek renal arterini kısmen kasma yoluyla kan basıncında yükselme olduğu görülmüştür. Goldblatt'ın oluşturduğu bu modelde iki farklı uygulama vardır: ilkinde bir böbrek çalışır durumda iken diğeri klemplenir, ikinci uygulamada ise bir böbreğe nefrektomi yapılır ve kalan tek böbrek klemplenir. Heriki şekilde de başlangıçta plazma renin aktivitesinin eşlik ettiği sodyum retansiyonu olur. Goldblatt'ın renal hipertansiyon modelinde heriki uygulamada da klempler çıkarıldığı zaman kan basıncının normale dönmesinden, bu modelin geri dönüşlü ve tekrarlanabilir olduğu anlaşılmaktadır.

## **1.2. Diyabetes Mellitus**

Diabetes Mellitus, insülin eksikliği veya etkisindeki defektler sebebiyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, özünde uygunsuz hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. DM predominant formu yaklaşık % 90'luk oranla Tip 2 iken, Tip 1 DM, Gestasyonel DM ve diğer birçok sebebe bağlı diyabet ise % 10'luk



kısmı oluşturmaktadır. Tip 2 DM ilerleyici beta hücre disfonksiyonu ve insülin direnci ile karakterizedir.

### **1.2.1. Epidemiyolojisi**

Türkiye Diyabet Programı 2015-2020 verilerine göre ülkemizde 7 milyondan fazla diyabetli bulunmaktadır ve diyabetli kişi başına yapılan harcamalar yıllık yaklaşık 900 dolardır (25). Diyabet 65 yaş üstü popülasyonda 5 kişiden birinde görülmektedir. Tüm toplumlarda yaşam tarzındaki hızlı değişim ile gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde diyabet prevalansı artmaktadır, hatta 2040 yılına kadar tüm dünyada 642 milyon yetişkinin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir (26). Birleşmiş Milletler 20 Aralık 2006 tarihindeki genel kurulunda diyabet konusunda özel bir oturum yapmış ve bulaşıcı hastalıklar olan sıtma, tüberküloz ve AIDS'ten sonra bulaşıcı olmayan bir salgın hastalıkla ilgili tarihi bir karar almıştır. Bu kararlar Birleşmiş Milletler, gittikçe büyüyen diyabet salgınının durdurulması için tüm dünyada acil harekete geçilmesi çağrısını yapmıştır.

Diyabet, kalp hastalıkları ve inme riskini ciddi oranda arttırmakta, yine diyabetlilerin yarısı eşlik eden bu komorbiditeler nedeni ile hayatını kaybetmektedir. Ayrıca DM'li hastaların yaşam süresi de diyabet olmayanlara göre 5-10 yıl azalmaktadır.

Artan prevalans, yol açtığı yüksek maliyet ve akut ya da kronik dönemde oluşturduğu komplikasyonları nedeniyle DM iyi tedavi edilmelidir. Tedavide amaç; gün içerisinde glisemik kontrolün sağlanması, akut komplikasyon gelişim riskinin azaltılması, mikrovasküler ve makrovasküler kronik komplikasyonların önlenmesi, eşlik eden diğer sorunların düzeltilmesi ve böylelikle yaşam kalitesinin yükseltilmesidir.

### **1.2.2. Hipertansiyon ve Diyabet İlişkisi**

Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevalans çalışmasının da desteklediği üzere diyabet varlığı, kişinin hipertansiyona sahip olma riskini 2 kat arttırmaktadır; Tip 1 diyabetlilerde prevalans %10-30 iken Tip 2 DM hastalarında bu oran %40-50'ye çıkmaktadır. Tip 2 diyabette HT, metabolik sendromun komponentleri ile birliktedir ama ko-insidental, endokrin hastalıklara veya ilaçlara bağlı da ortaya çıkmış olabilir (27).

Diyabet ve hipertansiyon, ateroskleroz ile diğer kardiyovasküler patolojiler için aditif risk faktörleridir. 2014'te açıklanan JNC-8 kılavuzunda her 10-20 mmHg'lik artışta kardiyovasküler riskin ikiye katlandığı bildirilmiştir (10).

### **1.2.2.1. Diyabette kan basıncı kontrolünün önemi**

Hipertansiyon, DM ve komplikasyonlarının yüksek kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkileri, bu hastalıkları tüm dünyada major halk sağlığı problemi haline getirmiştir.

Hipertansiyonun etkin tedavisi ile diyabetin hem mikrovasküler (diyabetik nefropati, retinopati ve nöropati) hem de makrovasküler (koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık) komplikasyonları önlenebilir. Yirmi yedi çalışmanın sonuçlarının değerlendirildiği bir meta-analizde sıkı kan basıncı kontrolü (6 mmHg düşüş) ile inme riskinde %36, major kardiyovasküler olay riskinde %25 ve toplam mortalite riskinde %27 azalma olacağı saptanmıştır (28). Yine 61 adet prospektif tarama sonucu elde edilen meta-analiz verilerine göre SKB'de yalnızca 2 mmHg'lik bir azalmanın iskemik kalp hastalığına bağlı mortaliteyi %7, inmeye bağlı mortaliteyi ise %10 azalttığı görülmüştür (8).

Diyabetli HT olgularında *American Society of Hypertension* ve JNC-8 hipertansiyon kılavuzlarına göre kan basıncının <140/90 mmHg olması hedeflenmelidir (9).

### **1.2.2.2. Diyabette hipertansiyon tedavisi**

Kilo kaybının sağlanmasına yönelik beslenme tedavisi, tuz, sigara ve alkol tüketiminin kısıtlanması ve egzersize rağmen kan basıncının istenilen seviyeye gelmediği olgularda farmakolojik tedaviye geçilir. Tedavinin medikal ayağı tüm kılavuzlarda ortak olan yaşam tarzı değişikliği ile birlikte *Angiotensine converting enzyme inhibitor (ACE-I)*, *Angiotensine Receptor Blocker (ARB)*, düşük dozda tiazid diüretikler,  $\beta$  Blokörler ve Kalsiyum kanal blokörü tedavisidir.

Kişinin albüminüriden kronik böbrek yetmezliğine kadar bir böbrek patolojisi olması durumunda tedaviye renin anjiotensin sistemini bloke eden, ARB veya ACEİ ile başlanır. Geçirilmiş bir miyokard enfarktüsü öyküsü veya anjinası olan hastalarda  $\beta$  Blokör, kalp yetmezliği olanlarda ise bir diüretikle birlikte ACEİ kullanılır.

Diyabetli hastada kan basıncı hedeflerini sağlamak hipertansiyon süresi uzadıkça zorlaşır ve tedavide kullanılması gereken farmakolojik ajan sayısı artar (14).

### **1.2.3. Tip 2 DM tedavisinde kullanılan ilaçlar**

Oral antidiyabetik ilaçlar, Tip 2 diyabet tedavisinde diyet ve fiziksel aktivite önerileri ile beraber olarak kullanılır. Bu ilaçların tümünün gebelikte kontrendike olduğu kabul edilmektedir. Ülkemizde beş grup anti-hiperglisemik ilaç bulunmaktadır:

#### **1.2.3.1. İnsülin salgılatıcılar (sekretogog)**

Pankreas  $\beta$  hücrelerinden insülin salınımını arttıran sülfonilüreler ve meglitinidler bu gruptandır. Sülfonilüreler uzun zamandır kullanılan, maliyeti düşük preparatlardır. Meglitinidler ise etki süreleri daha kısa olduğu için postprandiyal glukozu düşürmede daha çok tercih edilen ilaçlardır. Sekretogogların en sık görülen yan etkisi hipoglisemidir (29).

#### **1.2.3.2. İnsülin duyarlılaştırıcılar (sensitizer)**

Biguanidler ve tiazolidinedionlar karaciğerde glukoneogenezi inhibe ederek insülin duyarlılığını arttıran ilaçlardır. Tiazolidinedionlar daha çok yağ dokusunda olmakla birlikte karaciğer ve kas dokularında insülin direncini azaltan ilaçlardır. Biguanid grubunun kullanılan tek üyesi metformin, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (*Food and Drug Administration*) tarafından dünya genelinde DM tedavisinde ilk tercih olarak bildirilmektedir. Metformin, kas glukoz alımını ve yağ asidi oksidasyonunu artırırken barsaktan glukoz Emilimini azaltır. İştahı kısmen baskılaması, ucuz ve ulaşılabilir olması, hipoglisemi riskinin de düşük olması sebebiyle sıklıkla tercih edilmektedir (30).

#### **1.2.3.3. Alfa glukozidaz inhibitörleri**

Alfa glukozidaz inhibitörleri, barsakta alfa-glukozidaz enzimini inhibe edip polisakkaritlerin monosakkaritlere dönüşümünü azaltarak karbonhidrat Emilimini yavaşlatırlar (27).

#### **1.2.3.4. Sodyum glukoz ko-transporter-2 inhibitörleri (SGLT-2İ)**

Oral antidiyabetikler içinde en yenisi olan grup glukoretikler, gliflozinler de denilen SGLT-2İ'dir. Renal proksimal tübülde etki göstererek, böbrekten glukoz reabsorpsiyonunu azaltır ve idrarla glukoz atılımını artırır (30).

#### **1.2.3.5. İnsülinomimetik ilaçlar**

İnsülinomimetik ilaçlar amilin analogları ve inkretin bazlı ilaçlar olarak 2'ye ayrılırlar. Endojen insülin sekresyonunu artırarak etkili gösterirler.

##### **1.2.3.5.1. Amilin analogları**

Pankreas  $\beta$  hücrelerinin hormonu olan amilinin sentetik analogları olarak tedavide kullanılmaktadır. Bu ilaçlar glukagon sekresyonunu azaltıp, mide boşalmasını yavaşlatarak etki gösterirler. Amilin analogları oral antidiyabetikler (OAD) grubunda olmasına rağmen subkutan yolla enjekte edilerek kullanılırlar (27).

##### **1.2.3.5.2. İnkretin bazlı ilaçlar**

İnkretin, fizyolojik koşullarda pankreatik hormonların salgılanmasının uyarımına katkıda bulunan barsak hormonu olarak tanımlanabilir. Belçikalı fizyolog Jean La Barre 1932'de bilim dünyasını, plazma glukoz konsantrasyonunu ekzokrin pankreas üzerine etkimeden düşüren, insülin sekresyonunu stimüle eden buluşu olan *inkretinler* ile tanıştırmıştır (31).

Neredeyse yüz yıllık bir geçmişi olmasına rağmen, inkretinlere dair girişimlerin ve üzerine yapılan çalışmaların yarım yüzyıl kadar gecikme sebebi; 2. Dünya Savaşı sırasında Amerikalı İvy ve arkadaşlarının Belçikalı La Barre'nin buluşunun imkansız olduğunu savunması ve kendi yaptıkları deneylerinde buldukları yanlış sonuçları dikte etmeleridir. *Radioimmunoassay*'in keşfiyle beraber 1964'te Avrupa ve Amerika'da yürütülen eş zamanlı çalışmalarda oral glukozun, intravenöz glukozdan önemli ölçüde fazla insülin salınımına sebep olduğunun gösterilmesiyle inkretinler hakettikleri ilgiyi yeniden görmeye başlamıştır (32). Önce glukoz-bağımlı insulintropik polipeptit veya gastrik inhibitör polipeptit (GIP) ardından da *radioimmunoassay* ile glukagon gibi immunreaktivite gösteren, aminoasit dizisinin %50 oranında benzerlik göstermesi nedeniyle glukagona benzeyen peptit olarak

adlandırılan ancak bilinen glukagondan farklı fonksiyonu olan Glucagon-like peptide (GLP-1) keşfedilmiştir (32).

Gün boyunca gıda ile alınan karbonhidrata cevap olarak barsaklardaki K ve L hücrelerinden sırasıyla GIP ve GLP-1 salgılanır. Glukoz homeostazının endojen düzenlenmesinden sorumlu mekanizmalardan biri olarak, siklik adenozin monofosfat (cAMP) sinyal yolağı ile pankreas beta hücrelerinden insülin salınmasını uyarır. Aynı zamanda GLP-1, pankreas alfa hücrelerinden glukagon salınımını da baskılar. Böylece karaciğerden glukoz üretimi azalır ve GLP-1'in kan glukozunu düşürücü etkisi daha da kuvvetlenmiş olur. Ayrıca gastrik boşalmayı yavaşlatarak gıda alımını azaltması ve iştahı baskılaması ile kilo kaybı sağlar (7). Tip 2 DM'nin kaçınılmaz sonuçlarından biri pankreas  $\beta$  hücrelerinde zamanla meydana gelen apoptozistir. GLP-1'in de belki en dikkat çeken özelliği -diğer antidiyabetik ajanlarda olmayan- pankreas  $\beta$  hücreleri üzerine koruyucu etki göstermesidir (33). Karbonhidrat metabolizmasına etkilerinin yanında GLP-1, oksidatif stresi ve inflamatuvar cevabı azaltır, beyinde de büyüme hormonu gibi etki gösterir. Kardiyak koruyuculuk ve vazodilatasyon üzerine etki ile de kan basıncında düşüş sağlaması ile in-vivo ve in-vitro çalışmalarda yer almıştır (34-36).

*Glucagon like peptide-1* tüm bu etkilerini, G-protein kenetli bir reseptör olan ve pankreas, beyin, böbrek, akciğer ve kalp gibi birçok dokuda sentezlenen GLP-1 reseptör vasıtası ile gösterir (37). GIP ve GLP-1'in etkileri glukoz bağımlı olduğundan, plazmada glukoz konsantrasyonu düşük iken insülin salınımını uyarır ve glukagon salınımını da baskılamazlar. GLP-1, bir hipoglisemi durumunda bile normal glukagon cevabına zarar vermez (38).

#### **1.2.3.5.2.1. İncretinmimetikler**

Glucagon-like peptide-1 reseptörünün agonistleri olan incretinmimetikler (eksenatid, eksanatid LAR, liraglutid, liksisenatid) pankreas  $\beta$  hücrelerinin glukoz duyarlılığını artırır, alfa hücrelerinden glukagon salınımını baskılar, gastrik boşalmayı geciktirir, doyma hissini artırır ve kardiyak fonksiyonları iyileştirir (39).

#### **1.2.3.5.2.2. Dipeptidil Peptidaz-4 İnhibitörleri = Gliptinler**

Dipeptidil peptidaz-4'ler (DPP-4) böbrek, ince barsak, damar endoteli, lenfositlerde ve plazmada da çözünür halde bulunan serin proteaz yapılı enzimlerdir.

Yedi yüz altmış altı aminoasitten oluşmuş bu peptidazlar endojen inkretinler olan GIP ve GLP-1'i bir iki dakika içinde yıkarlar. Bu yıkımı inhibe eden ilaç grubu DPP-4 inhibitörleridir (DPP-4İ) (sitagliptin, vildagliptin, saksagliptin, linagliptin ve alogliptin).

Vildagliptin dışındaki DPP4 inhibitörleri yiyeceklerden bağımsız günde bir kez oral yoldan kullanılırlar. Vildagliptinin beraberinde kullanılan başka diyabet ilacı olma durumuna göre dozu değişmektedir. DPP-4İ ilaçlar glukozu bağımlı şekilde insülin sekresyonunu stimüle eder (bu sayede hipoglisemi oluşturma riski azalır), glukagon salınımını baskılar, HbA1c'de hafif bir düşüş sağlar (40). Gastrik boşalmayı yavaşlatır, tokluk sağlar ve gıda alımını da azaltırlar (41). DPP-4İ için asıl dikkat çekici nokta ise, glukoz metabolizmasından bağımsız pleiotropik etkileri olmasıdır:

Serum lipid parametreleri üzerine ılımlı etkileri olduğu, trigliserid seviyelerini iyileştirdiği, kardiyak koruyucu olduğuna dair sonuçlar vardır (42, 43). Ayrıca literatürdeki çalışmalar DPP-4İ'nin kan basıncı üzerine de etkili olduğunu göstermektedir. Jackson ve ark. (44) araştırmasına göre DPP-4 inhibisyonu kan basıncını yükseltebilir iken, birçok deneysel ve klinik çalışmada ise bu enzim inhibisyonunun kan basıncını azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan son çalışmalar DPP-4 inhibisyonunun pankreas beta hücre kütesini restore ettiği ve in-vivo ortamda doku inflamasyonunu da azalttığı yönündedir (45).

Ülkemizde genellikle metformin, sülfonilüre ve tiazolidindion tedavilerinden yeterli glisemik yanıt alınamayan hastalarda 2. veya 3. kombinasyon ajanı olarak eklense de Tip 2 DM tedavisinde 1. basamak monoterapi olarak da kullanılmaktadır (27). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği ve literatürdeki araştırma sonuçlarına göre vücut ağırlığı üzerine nötr veya olumlu etkilerinin olup, hipoglisemi oluşturma risklerinin ise düşük olması en büyük avantajlarıdır. (7, 27, 41, 46). Öte yandan diğer sistemler üzerinde olumlu etkileri çoğunlukta olan bu ilaç grubunun klinik çalışmalarda önemli bir yan etkisi bildirilmese de pazara sunulduktan sonra akut pankreatit vakaları bildirilmiştir. Bu uyarı prospektüsüne koyulmuştur.

### 1.2.3.5.2.2.1. Sitagliptin

Ülkemizde 2008 yılında kullanıma sunulan sitagliptin, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından 2006 yılında onaylanmıştır. DPP-4'ün geri dönüşümlü (kompetitif) inhibitörü olan sitagliptin, DPP-4İ ailesinin ilk üyesidir. Oral yolla uygulandıktan 1-4 saat sonra plazma doruk konsantrasyonuna ulaşır. Oral biyoyararlanımı diğer gliptinlerden daha fazladır. Metabolizması CYP2C8 enzim sorumluluğunda minör bir yolak olan sitagliptinin %80'i idrarla değişmeden atılır. Özellikle postprandiyal insülin salınımını düzenler. DPP-4'ün dipeptit yapılı substratını taklit ettiği için yüksek selektiviteye sahiptir ve yine bu sebeple diğer ilaç veya yakın ilişkili enzimler olan DPP-8 ve DPP-9 gibi enzimlerle ciddi bir reaksiyona girmez (7, 14, 41, 47).

Sitagliptin, GLP-1'in inaktivasyon ve yıkımını inhibe eder ve Tip 2 DM tedavisinde monoterapi veya metformin/sülfonilüre gibi OAD'lerle veya insülin ile kombine olarak kullanılır (48). Glukoz bağımlı etki gösterdiği için tek başına kullanıldığında hipoglisemi riski oldukça düşüktür, ancak kombine tedavide hipoglisemi görülebilir. Saxagliptin ve alogliptin ile kalp yetmezliğine bağlı hospitalizasyonda görülen artış, sitagliptin ile bildirilmemiştir (47).

Daha önce yapılan prelinik deneysel hayvan modeli, hücre kültürü çalışmaları ve klinik çalışmalardan sitagliptinin antidiyabetik etkisinin ötesinde lipid profilinde düşme, vücut kitle indeksinde azalma, kan basıncında düşme, endotel koruyuculuğu gibi etkileriyle beraber diğer OAD'lerden farklı olarak pankreas  $\beta$  hücrelerinde apoptozisi durdurduğu bilinmektedir. Sitagliptin endotel üzerine koruyucu ve kan basıncını düşürücü etkilerini GLP-1 aracılığıyla gösterir (49-51). Akhiles ve Ravi'nin (7) çalışmalarında sitagliptinin düşük tansiyon ile ilişkili bir şekilde erişkin hipertansif sıçanlarda endotel işlevini geliştirdiği ve inflamasyonunu azalttığına değinilmiştir. SHR sıçanda diyabet oluşturulmadan yapılan bir çalışmada sitagliptin tedavisinin, yine özellikle endotel fonksiyonlarını iyileştirmeye bağlı antihipertansif etki sağladığı gösterilmiştir (52).

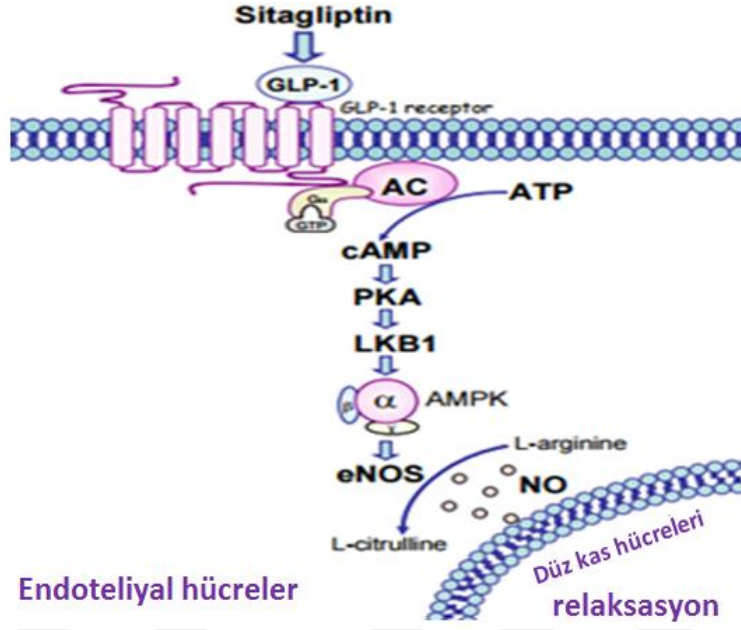
Tip 2 diyabet hastaları klinik olarak çoğunlukla eşlik eden bir kardiyak veya vasküler hastalığa da sahiptirler ve diyabetin bu komplikasyonları diyabetik hastalarda morbidite ve mortalitenin esas sebebidir. Bu bilgiler ışığında diyabet

tedavisinde kullanılacak medikal ajanın kardiyovasküler sistem üzerine olumsuz etkisi de olmamalıdır.

Tip 2 diyabetli hastalarda sitagliptinin monoterapi olarak kullanımı ile kardiyovasküler olay riskinde, mikro/makrovasküler komplikasyonlarda veya morbidite/mortalite riskinde artma gözlenmemiştir (47). Sitagliptinin deneysel ve klinik çalışmalarda (eşlik eden diyabet olsun veya olmasın) iskemik kalp hastalıkları, ateroskleroz, DM, HT, hepatit, retinal inflamasyon gibi birçok durumda vasküler disfonksiyonu azalttığı gösterilmiştir (7, 46, 47, 53, 54). Koroner arter hastalığı olan diyabetli hastalarda sitagliptin tedavisinin iskemik sol ventrikül disfonksiyonunu iyileştirdiği de bir çalışmada yer almıştır (55).

Diyabetle en sık birliktelik gösteren komorbidite olan HT'de sorumlu mekanizmalardan biri olan endotel disfonksiyonu ile NO biyoyararlanımında dolayısıyla vazodilatasyonda azalma söz konusudur. Bu sebeple tedavide tercih edilecek ilaçların NO metabolizması üzerine olumlu etkilerinin olması beklenmektedir. Sitagliptin vasküler endotelde iyileştirici etkisini, yıkımını baskılayarak plazmada konsantrasyonunu yükselttiği GLP-1 üzerinden gösterir. GLP-1, NO aktivasyonu ile endotel bağımlı gevşemeyi artırarak endotel disfonksiyonunu iyileştirir (52). Daha açık bir ifade ile sitagliptin kan basıncını düşürmedeki etkisini şu mekanizma ile gösterir: GLP-1 reseptörüne bağlanır ve GLP-1R/cAMP/PKA(protein kinaz A)/LKB1 (*Liver Kinase B1*) kaskadı aktivasyonu ile eNOS fosforilasyonu ve böylece NO üretimini artırır. Artmış NO de düz kaslarda gevşeme ile damarda genişleme sağlar (Şekil 2) (43, 52).





**Şekil 2.** Sitagliptinin hipertansiyondaki endotel disfonksiyonuna karşı koruyucu etkisinin mekanizması

### 1.3. Diyabet ve Hipertansiyonda Ortak Patolojiler ve Sitagliptinin Olası Etkinliği

Endotel çeşitli uyarılara cevap olarak NO, prostasiklin, ET-1 ve ROS gibi vazoaktif molekülleri sentezleyen ve salınımını yapan dinamik bir yüzeydir. HT, DM, hiperkolesterolemi ve sigara kullanımı gibi faktörler endotelin fiziksel ve kimyasal uyarılara uygun cevap verebilme yeteneğini bozar. Bu süreçte oksidatif stresin majör rol oynadığı düşünülmektedir (56).

İnflamasyon, endotel disfonksiyonu ve oksidatif stresin kardiyovasküler sistem üzerine etkili temel stresörler olduğu bilinmektedir. Widlansky ve Harrison'un (57, 58) çalışmalarında da olduğu gibi daha önceki araştırmalarda, artmış oksidatif stres ve inflamasyonun endotel disfonksiyonunun esas karakteristiklerinden olup, hipertansiyon patogenezinde yer aldığı vurgulanmıştır.

Diyabette endotelin hasarlanması aterosklerotik sürecin ve hipertansiyonun başlamasında çok önemli bir olaydır (59). Azalmış NO biyoyararlanımı ve artmış sitotoksik peroksinitrit seviyeleri ile birlikte endotel disfonksiyonu, diyabet hastalarında ve diyabet hayvan modellerinde, eşlik eden hipertansiyon ile birlikte gözlenmiştir (60).

### 1.3.1. Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Ürünleri

Reaktif oksijen ürünleri, yüksek biyoaktiviteye sahip, kısa ömürlü moleküler oksijen ve aerobik hücrelerde meydana gelen indirgenmiş ürünleridir. Bunlardan süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve lipid radikalleri eşlenmemiş elektrona sahip oldukları için serbest radikaller olarak adlandırılırken, hidrojen peroksit, peroksinitrit ve hipokloröz asit serbest radikaller sınıfında değildir; ancak oksidatif aktiviteleri vardır. Oksidatif stres, hücresel metabolizma sonucu oluşan hidroksil, süperoksit radikalleri ile hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen ürünlerinin artışı ile onları detoksifiye eden antioksidanların yetersizliği sonucunda oksidatif dengenin bozulması şeklinde tanımlanabilir (61).

Damarların normal fizyolojik fonksiyonları için gereken miktardaki ROS, *redox* reaksiyonları ile vasküler duvarda ince bir dengede tutulur. Oksidan enzimlerin aktivitesinin artması veya antioksidanların aktivitesinin bozulması bu dengenin hasarına ve oksidatif strese neden olur. Hipertansiyonda vasküler endotel kaynaklı ROS, oksijen duyarlılığını, hücre büyümesi ve proliferasyonunu, apoptozisi, damarların inflamatuvar cevapları ve tonusunu düzenler. Ancak özellikle süperoksitlerin aşırı yapımı, NO biyoyararlanımını azaltır. NO inaktivitesine sebep olan oksidatif stres, hipertansiyonda olduğu gibi ateroskleroz, diyabetin komplikasyonları ve reperfüzyon hasarı gibi kardiyovasküler hadiseler için önemli bir risk faktörüdür (62).

#### 1.3.1.1. Asimetrik Dimetilarginin

Asimetrik dimetilarginin (ADMA) plazma, dokular ve idrarda bulunan, metillenmiş arjinin rezidüleri içeren polipeptitlerin katabolizması sonucu oluşan bir aminoasittir. ADMA'nın sentezi sırasında kalp, düz kas ve endotel hücrelerinde eksprese edilen protein arjinin metiltransferaz enzim ailesi gereklidir (63). ADMA'nın katabolizması ise, ADMA için spesifik bir enzim olan dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) tarafından sitrülün ve dimetilaminlere ayrılması ile sonlanır. Sağlıklı bir kişide plazma düzeyleri 0.2-1.2 mmol/L olan ADMA düzeyleri, başta hipertansiyon ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler patolojiler olmak üzere hiperglisemi, IR, Tip 2 DM, hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi, endotel disfonksiyonu, pulmoner hipertansiyon, koroner arter hastalığı, konjestif kalp

yetmezliği, periferik arter hastalıkları, preeklampsi, kronik böbrek yetmezliği, erektil disfonksiyon, şizofreni, inme, yaşlanma, alzheimer ve bu hastalıkların çoğunun patogeneğinde rol alan oksidatif stres gibi durumlarda artar. Oksidatif stres durumunda DDAH enziminin inhibisyonunun vasküler dokuda olması ile yükselen ADMA düzeyleri ise endotelial disfonksiyon gelişimini uyarabilir (64, 65).

Asimetrik dimetilarginin, monometilarginin gibi NOS inhibitörü olan metilargininler grubu üyesidir. Metilargininler, hücre içine transport için birbirleriyle ve argininle yarışır. ADMA düzeyinin artması, hücre içine L-arginin transportunu engelleyebilir. Bu da beraberinde argininden sentezlenen NO sentezinin de azalmasını getirir. Nitrik oksit sentetaz enziminin üç izoformunun da endojen ve kompetitif inhibitörü olan ADMA, NO oluşumunu engellediği gibi süperoksit anyonlarının da oluşumuna yol açar (66). ADMA, NO düzeyini özellikle endotelde azaltarak vazodilatasyonu bozmakta ve kan basıncının yükselmesine yol açmaktadır. Bu süreçte NOS inhibisyonu böbreklerde de sodyum atılımının azalması ile vücutta tutulumuna sebep olur ve hipertansiyon patogenezine katılır (67). Literatürde deneysel ve klinik çoğu çalışmada ADMA serum seviyesindeki minimal değişikliklerin bile endotel NO üretimi, tonusu ve periferik vasküler direnç üzerinde anlamlı olabilecek değişikliklere yol açtığına dair bulgular vardır (64). Sonuç olarak ADMA, NO sentezini, dolaylı olarak da vazodilatasyonu azaltarak HT patofizyolojisinde yer alırken, aynı zamanda tedavi açısından da farmakolojik bir hedef haline gelmektedir.

### **1.3.2. İnflamasyon**

Hipertansiyon ve diyabet, NO biyoyararlanımında azalma ve buna bağlı olarak endotelin inflamasyona karşı koruyuculuğunun ortadan kalkması ile hafif düzeyde inflamasyonun eşlik ettiği patolojilerdir (57). Endotel disfonksiyonu ile beraber endotelden kaynaklanan E-selektin, interseleüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) gibi inflamatuvar adezyon moleküllerinin dolaşımdaki seviyeleri de artar.

#### **1.3.2.1. ICAM-1**

İnterseleüler adezyon molekülü-1, lökositlerin plak büyümesi ve instabilitesini artırarak vasküler endotel duvarına adezyonuna ve transmigrasyonuna aracılık eden

immünglobulin süper ailesinin elemanı olan bir glikoproteindir. Akut inflamasyon süreci ve immün cevapta sentezi artar. Hipertansiyonda hafif ancak uzun süreli bir inflamasyon olduğu bilinmektedir. Bu süreçte lökositlerin endotele adezyonu bozulur. İnflamasyonun uzaması da hipertansiyonda hedef organ hasarlarına yol açan faktörlerden biri olur.

Sitagliptinin GLP-1 bağımlı veya nükleer faktör kappa B yolağı ile GLP-1 bağımsız inflamasyon ve inflamatuvar belirteçler üzerine etkileri çeşitli araştırmalarda yer almıştır (7, 68). Hipertansiyona bağlı uç organ hasarının SHR sıçanlarda değerlendirildiği bir çalışmada karaciğer ve böbreklerde, ICAM-1 yapımının arttığı görülmüştür (69). DPP-4 inhibisyonunun vasküler dokudaki akut cevabının değerlendirildiği klinik bir çalışmada ise, sitagliptin yine ICAM-1 düzeyini azaltmıştır (70). Tremblay ve ark.'nın (71) yürüttüğü klinik bir çalışmada da sitagliptin tedavisi plaseboya göre ICAM-1 plazma seviyelerini yaklaşık % 5,5 azaltmıştır. İnsan vasküler endotel hücreleri ile yapılan hücre kültürü çalışmasında ise diğer inflamatuvar parametrelerle birlikte ICAM-1'in de sitagliptin uygulaması ile azaldığı görülmüştür (72).

### **1.3.3. Adipokinler**

Yaşam tarzı ve yeme alışkanlıklarındaki değişimle birlikte tüm dünyada obezite ve obeziteye bağlı hastalıkların görülme sıklığındaki artış önceleri yalnızca enerji depolama göreviyle bilinen adipositlere olan ilgiyi artırmıştır. Yağ dokusu, enerji homeostazında ve metabolizmasında önemli bir rol oynayan ayrıca nöroendokrin ve immün fonksiyonlarla ilgili biyolojik aktiviteleri olan endokrin bir organdır. Leptin, resistin, adiponektin, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (*TNF- $\alpha$* ), interlökin-6 (IL-6), plazminojen aktivatör inhibitör-1 gibi daha birçok biyolojik aktif protein yağ dokusunda sentezlenir ve salınır. Bu adipokinler (adipositokin) insülin duyarlılığı, endotel fonksiyonu, inflamasyon gibi homeostatik süreçlerde rol alırlar. Öte yandan fazlalıkları veya eksikleri durumunda da kardiyovasküler hastalık, diyabet ve kanser gibi obezite ile ilişkili bazı hastalıkların gelişiminde etken olabilirler (73).

#### **1.3.3.1. Resistin**

Resistin, 2000'lerin başında esasen yağ dokusunda sentezlenen bir hormon olarak bilinmekteydi. Ancak yakın zamandaki çalışmalarda kemirgenlerden farklı

olarak insandaki rezistinin büyük oranda makrofajlardan sentezlendiği ve hem adipoz doku hem de serumda obezite ve insülin direnci gibi durumlarda artan bir proinflamatuvar sitokin olduğu görülmüştür (74). Resistinin hipertansiyon patofizyolojisinde de etkili olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur. Resistinin bunu ET-1 yoluyla ROS düzeylerini artırıp, beraberinde eNOS'u azaltarak yaptığı düşünülmektedir (75). Esansiyel hipertansiyonlu yaşlılarda yapılan başka bir çalışmada yükselen serum resistin seviyelerinin sistatin-c ve albüminüri gibi, renal disfonksiyonda potansiyel bir belirteç olabileceği gibi bulgular elde edilmiştir (76). Yine klinik bir çalışmada, hipertansif hastalardaki resistin yüksekliği, endotelde NO azalması ile endotel disfonksiyonuna ve TNF-alfa, IL-6 gibi artan parametreleri ile inflamasyona bağlanmıştır (77).

Sitagliptinin resistin seviyeleri üzerine etkisi daha çok diyabetik hastaların yer aldığı az sayıdaki klinik çalışmada araştırılmıştır. Derosa ve ark. (78) klinik çalışmasında metformin tedavisi ile resistin seviyelerinde sağlanan azalma, tedaviye sitagliptin eklendiğinde daha belirginleşmiştir. Sitagliptinin, GIP bağımlı resistin sinyalizasyonunu azaltarak, ventriküler aritmiyi azalttığı sonucuna ulaşılan araştırma ise deneysel çalışmanın tek örneğidir (79).

#### **1.3.4. Mikro RNA**

Hipertansiyon ile endotel disfonksiyonu arasındaki bağlantıya dair bilgiler her geçen gün artmaktadır. Fakat bu bağlantıyı netleştirecek hala netlik kazanmamış bazı etken ve yollar olabileceği düşünülmektedir.

Hipertansiyonun multifaktöriyel patofizyolojisinin üstünde, gen düzeyinde etki gösteren, kodlama yapmayan 18-22 nükleotid uzunluğunda RNA dizileri bulunmaktadır. MikroRNA'lar (miRNA, miR) olarak adlandırılan bu tek iplikli RNA molekülleri, gen kodlamamalarına rağmen diğer hedef genlerin ekspresyonunu etkileyebilirler. Protein kodlayan genlerin %60'ının 3'UTR bölgesinde miRNA'nın hedef alanları vardır. Böylece tek bir miRNA birden fazla mRNA'nın oluşumunu etkileyebilirler. İnsanda 2558 adet matür miRNA tanımlanmıştır. Bu matür miRNA transkriptleri posttranskripsiyonel gen susturulmasında görev alırlar (80). Tüm vücutta genlerin karmaşık kontrolüne katılan miRNA'ların disregülasyonu, kanser, nörodejenerasyon ve hipertansiyon gibi vasküler hastalıklar dahil olmak üzere bir

dizi patoloji ile ilişkilidir (81). Mikro RNA'lar hipertansiyonda vazodilatatör aktivite ile birlikte endotel proliferasyonunu ve inflamatuvar süreci de etkiliyor olmaları patolojik belirteç olarak kullanılabilmesini düşündürmüştür (Şekil 3) (82). miR 155, miR 21 ve miR 181b mekano-miRNA olarak bilinen akış duyarlı RNA molekülleridir. Bunlar endotel hücre döngüsü, inflamasyon, apoptozis ve NO sinyal yollarında anahtar rol oynamaktadır (83).

Gen düzeyinde hipertansiyon patogenezinde yer alan miR155, miR21 ve miR181b'nin NO salınımı, ROS üretimi ve inflamasyona etkileri ile hem diagnostik olarak hem de tedavide hedef olabileceği düşünülmektedir.

#### **1.3.4.1. miRNA-155**

MikroRNA-155, eNOS ekspresyonunun başlıca modülatörlerinden olup, HT'de vasküler hasarın çoğundan sorumludur. Bununla birlikte mir155, proinflamatuvar olduğu düşünülen bir RNA molekülüdür (84). Esansiyel HT'de sağlıklı gönüllülere göre mir-155 değerlerinin arttığı, bunun kan basıncı ölçümleri ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu sayede HT ve buna bağlı hedef organ hasarında invazif olmayan bir belirteç olabileceği düşünülmüştür (85). Ayrıca mir-155 anjiotensin II'nin indüklediği vasküler düz kas hücre proliferasyonunu ve anjiotensin I reseptör ekspresyonunu inhibe ederek RAAS etkilerine de aracılık eder (86). Hipertansiyonda ve endotel hasarında artan miR-155 seviyeleri eNOS'un ve beraberinde NO salınımının azalması, buna bağlı endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasından sorumludur. Ayrıca artan miR-155 seviyeleri lökosit adezyonu ile hipertansiyon sürecinde yaşanan inflamasyona da katkıda bulunur (87 )

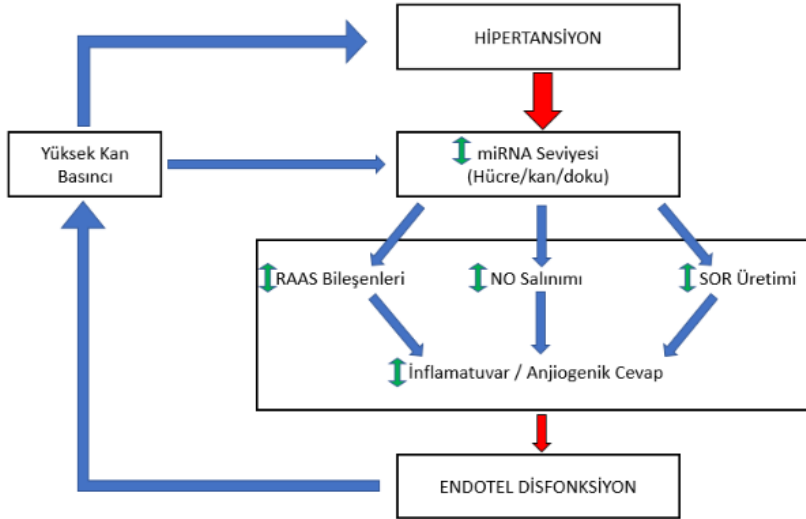
#### **1.3.4.2. miRNA-21**

miR-21, kardiyovasküler sistemde kapsamlı olarak araştırılan bir mikroRNA'dır. Vasküler düz kas hücre hiperplazisi ve restenozda da etkilidir (88). Hipertansif hastaların periferik kan mononükleer hücrelerinde mir-21'in yükselmesi sol ventrikül hipertrofisi ile ilişkilendirilmiştir (89). Hipertansiyonda artan miR-21 seviyeleri nükleer faktör kappa b yolağı aktivasyonu ile ROS üretimini artırır ve endotel disfonksiyonu ile de kan basıncında yükselmeye sebep olur (90). Türkiye'de yürütülmüş klinik bir çalışmada hipertansif hastalarda artmış miR-21 ve eNOS ile NO'de azalma ile ilişkili endotel disfonksiyonu arasında anlamlı bir bağlantı

gösterilmiştir (91). Aynı yazarların bulunduğu mir-21 ile ilgili başka bir çalışmada, hipertansiyonlu, beyaz önlük hipertansiyonlu ve normotansif hastaların plazmadaki miR düzeyleri karşılaştırılmış. Hipertansiyon tanılı hastaların plazma mir-21 düzeylerinin normotansiflere göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (92).

### 1.3.4.3. miRNA-181b

Patolojik kardiyovasküler olayların ortak özelliği, vasküler düz kas hücrelerinin hiperplazisidir. miRNAların bu düz kas hücre çoğalmasındaki rol ve mekanizması henüz tam aydınlanamamış bir konudur. Ancak miR-181b'nin, fosfoinozimid 3-kinaz ve mitojenle aktive protein kinaz yolları ile vasküler düz kas hücre çoğalması ve migrasyonuna öncülük edebileceği düşünülmektedir (93). Ayrıca miR 181b, daha önce de belirtildiği üzere endotel hücreleri döngüsü, inflamasyon, NO sinyal yollarında da etkin olan mekano-miRNA'lardandır. NF-kB yolağını inhibe ederek antiinflamatuvar etki de göstermektedir (94). Ayrıca hipertansiyonda endotel disfonksiyonu ile beraber akım stresinin artması sonucu miR-181b seviyeleri yükselmekte ve artan miR-181b damarı koruyucu etki sağlamaktadır. (95). Öte yandan miR-181a seviyelerinin azalması böbrekten salınan renin miktarını arttırmakta ve kan basıncını yükseltmektedir (96)



**Şekil 3:** mikroRNA'ların endotel disfonksiyonu ve hipertansiyon sürecindeki rolü

### **Çalışmanın amacı;**

Sitagliptinin hipertansiyonda oksidatif stresle artan eNOS inhibitörü ADMA, inflamasyonda rol alan adezyon molekülü ICAM-1, adipositlerden salgılanan proinflamatuvar bir adipokin olan resistin ve sempatik aktiviteyi yansıtan katekolamin sentezinde anahtar role sahip tirozin hidroksilaz enzimi ile miR155, miR181b ve miR21 düzeylerine etkileri bizim bilgilerimize göre henüz bilinmemektedir.

Bu çalışmada sitagliptinin, NOS inhibisyonu ile oluşturulmuş hipertansif sıçan modelinde kan basınçları, vücut ağırlıkları ile ADMA, ICAM-1, resistin ve tirozin hidroksilaz üzerine etkilerinin; ek olarak sitagliptinin tüm grupların izole torasik aortalarında, damar fonksiyonlarını gösteren fenilefrin (Phe) kasılma ve asetilkolin (ACh)/sodyum nitroprusiyat (SNP) gevşeme cevaplarının incelenmesi ayrıca birçok hastalık gibi hipertansiyonun da patogenezinde ve tedavisinde hedef olabilecek NO salınımı, ROS üretimi ve inflamasyonda etkin mikroRNA (155,21 ve 181b) düzeylerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.



## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Denekler

Çalışmanın yapılabilmesi için Fırat Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan gerekli onay ve izinler alındı (Toplantı tarihi: 21.06.2017, Toplantı sayısı: 2017/12, Karar No: 133).

Araştırmada 10-12 haftalık erkek Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Denek sayısı 4 grupta n=7 idi. Sıçanların 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık sikluslarla, bakım, havalandırma ve 22-24 °C sabit ısıllı odalarda kafeslerde barındırılması ve araştırma sonunda ötenazi işlemleri Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nce sağlandı.

### 2.2. Kullanılan Kimyasallar

L-NAME (CAYMAN CHEMICAL COMPANY, Batch: 0491958-12), Sitagliptin (TORONTO RESEARCH CHEMICALS INC., trc Canada, lot number: 15-SCC-61-1), Fenilefrin ve Asetilkolin (ACROS ORGANICS, New Jersey, USA) ve sodyum nitroprusiyat (Alfa Aesar, Germany.lot: 10201564) çalışma için temin edildi.

### 2.3. Deney protokolü

#### 2.3.1. HT oluşturulması

Deneklere 4 hafta boyunca intraperitoneal (ip) enjeksiyonla 40 mg/kg/gün dozunda NOS inhibitörü L-NAME uygulanarak hipertansiyon oluşturuldu.

#### 2.3.2. İlaç uygulamaları

Sitagliptin, 80 mg/kg/gün dozu ile 2 hafta boyunca hayvanlara oral gavaj yolu ile verildi.

#### 2.3.3. Gruplar

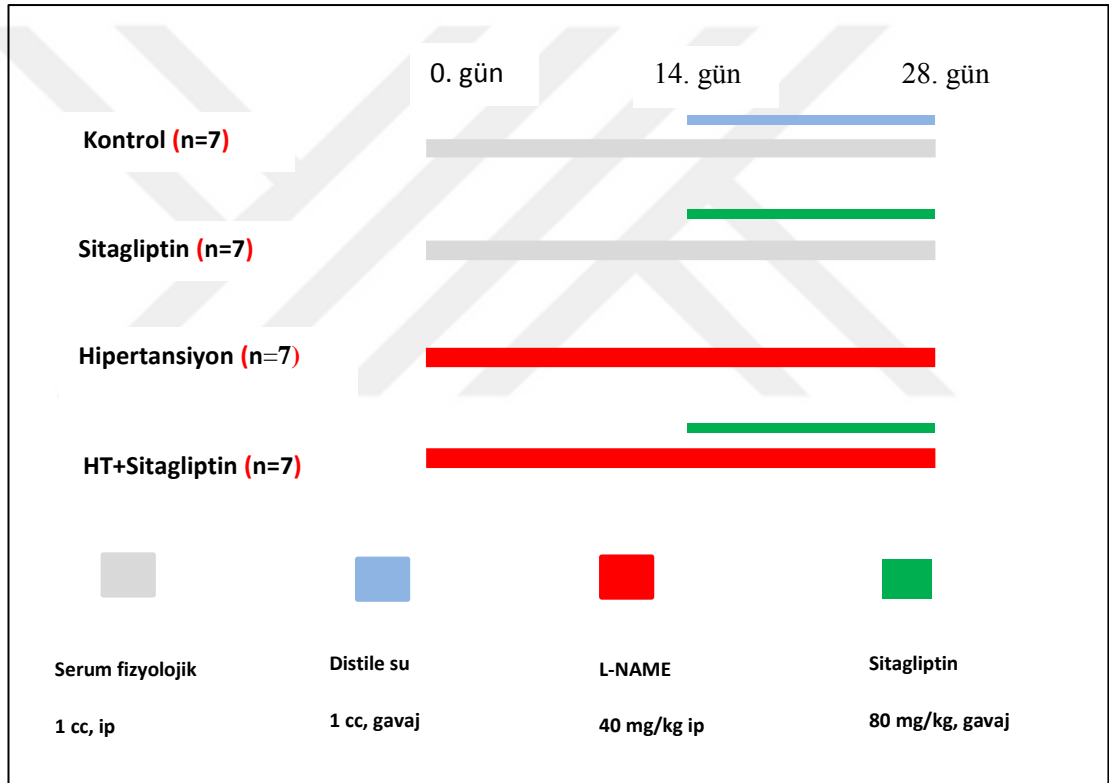
Toplam 28 sıçan her bir grupta 7 adet olacak şekilde rastgele gruplandırıldı.

**1. Kontrol grubu (n=7):** Kontrol grubuna serum fizyolojik (SF), 1 cc/gün ip, 4 hafta boyunca verildi.

**2. Sitagliptin (Sita) grubu (n=7):** Dört hafta boyunca ip 1cc SF uygulanan bu gruba, 2 haftadan sonra, 14 gün süre ile sitagliptin 80 mg/kg/gün oral gavaj yolu ile uygulandı. Toz halindeki sitagliptin, her gün taze solüsyon hazırlanarak kullanıldı.

**3. Hipertansiyon (HT) grubu (n=7):** Bu gruptaki her hayvana 4 hafta boyunca 1cc izotonik (%0.9) NaCl solüsyonunda çözdürülmüş L-NAME 40 mg/kg/gün dozu ile ip olarak enjekte edildi. İlaç solüsyonları her gün taze olarak hazırlandı ve yine hergün aynı saatte verildi.

**4. HT+Sita grubu (n=7):** İki hafta L-NAME uygulaması ile hipertansiyon oluşturulmaya başlanmış bu gruba 3. haftadan itibaren 2 hafta boyunca L-NAME ile beraber sitagliptin verildi (Şekil 4).



**Şekil 4.** Deney grupları ve ilaç uygulamaları

### 2.3.4. Kan basıncı ölçümleri

Bilinçleri açık sıçanların kuyruklarına bir sensör ve manşondan oluşan sistem (*tail cuff*) takılarak sistolik kan basınçları ölçüldü (MAY BPHR 9610-PC TAIL-CUFF *Indirect Blood Pressure Recorder*, Ankara, Türkiye). Her grubun deneklerinin 0., 14. ve 28. günlerde olmak üzere üç kez kan basıncı ölçümü yapıldı. Her bir sıçan için yapılan 5 ölçüm ve bunların ortalamaları bir bilgisayara kaydedildi (Şekil 5).



**Şekil 5.** Kuyruktan kan basıncı ölçümü

### **2.3.5. Cerrahi uygulamalar**

Denekler, deney sonunda dekapite edilerek kan örnekleri alındı. Santrifüj yardımıyla ayrılan serumlar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de biyokimyasal analizler yapılana kadar saklandı. Dekapitasyon sonrası hayvanın toraks ve abdomeni orta hattan hızla açılarak aorta trasesi görüldü. Diyafragma üzerinden başlayarak arkus aortaya kadar torasik aorta çıkarıldı ve önceden hazırlanmış olan soğuk Krebs solüsyonuna alındı. Burda çevre bağ ve destek dokulardan dikkatle temizlendikten sonra arkusa yakın uçtan 4 mm uzunluğunda halkalar kesildi.

### **2.3.6. İn vitro deneyler**

Hazırlanan 4 mm boyundaki torasik aorta halkaları, lümeninden birbirine paralel iki paslanmaz çengel geçirilerek içerisinde  $37^{\circ}\text{C}$ 'ta ısıtılmış ve %95  $\text{O}_2$  + %5  $\text{CO}_2$  karışımı ile gazlandırılan Krebs-Ringer bikarbonat solüsyonu bulunan 20 ml'lik izole organ banyosuna asıldı. Alt çengel izole organ banyosuna tutturulacak şekilde, üst çengel de izometrik kasılma cevaplarını kaydetmek için *force-displacement transducerlerine* (FT 0.03) bağlandı. Kayıtlar BiOPAC marka (Model MP36) poligraf ile yapıldı (Şekil 6).



**Şekil 6.** İzole organ banyosu

İzole organ banyosuna asılan torasik aorta halkaları 2 gramlık istirahat gerimi altında 1 saat boyunca dengelendi. İzole organ banyosundaki Krebs-Ringer bikarbonat solusyonu metabolik son ürünlerin birikimini önlemek için her 15 dakikada bir taze solüsyonla yenilendi. İn vitro torasik aorta çalışmaları endotel varlığında yapıldı (Şekil 7).



**Şekil 7.** İzole organ banyosunda torasik aorta

### **2.3.6.1. Fenilefrin kasılma cevapları**

Aortik halkalarda artan konsantrasyonlarda fenilefrin ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$  mol/L) uygulamasına kasılma yanıtları değerlendirildi. Verilen dozlarda kasılma platoları net bir şekilde görüldükten sonra diğer doza geçildi.  $E_{max}$  değerleri için 80 mmol/L KCl ile elde edilen kasılma cevabı referans alınarak % kasılma cevabı olarak ifade edildi. Maksimum kasılmanın yarısına ulaştıran Phe dozu ( $EC_{50}$ ) ise her bir doz cevap eğrisinden hesaplandı ve molar konsantrasyonun eksi logaritması alınarak yorumlandı.

### **2.3.6.2. Asetilkolin Gevşeme Cevapları**

Fenilefrin ile  $10^{-9}$  molardan başlayarak artan dozlar ile elde edilen kasılma eğrisinde maksimum etkiyi oluşturan dozdan bir önceki submaximal doz olarak belirlendi. Belirlenen submaximal fenilefrin dozu ile kastırılan damarın yine artan konsantrasyonlarda ( $10^{-9}$  -  $10^{-4}$  mol/L) asetilkolin uygulamasına verdiği doz bağımlı gevşeme cevapları kaydedildi.  $E_{max}$  ve  $EC_{50}$  değerleri Phe cevaplarında belirtildiği üzere hesaplandı.

## **2.4. Moleküler Parametreler**

Deneklerin kan örnekleri  $+4^{\circ}C$ 'de santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum ADMA, ICAM-1, Resistin ve TH ölçümleri yapılabildi kadar torasik aorta dokuları  $-80^{\circ}C$  (Nuair, Meksika) dondurucuda muhafaza edildi.

### **2.4.1. ELISA Analizleri**

Serum ADMA, ICAM-1, Resistin ve TH analizleri ELISA yöntemi ile yapıldı. Sıçanlardan elde edilen serum örneklerinin aynı ticari firmadan sağlanan ICAM-1 ELISA Rat Kiti (FineTest, Code: ER0028, Batch No: R0028D010, Exp. Date: 20180703), ADMA ELISA Rat Kiti (FineTest, Batch No: U256D010, Exp. Date: 20180703) ve Resistin ELISA Rat Kitleri (FineTest, Batch No: R1309D010, Exp. Date: 20180703) ile firmaca belirlenmiş protokol uyarınca ölçümleri yapıldı. Tirozin hidroksilaz ise Sunredbio firmasında temin edilen (Ref. DZE SRB-T-84339, lot: 201812) ELISA Rat kiti ile protokolüne uygun çalışıldı.

#### **2.4.1.1. ELISA İçin Serum rneklerinin Hazırlanması**

1. Yöntemin uygulanabilmesi için dekapite sıçanların tam kanları aprotininli tüplere alındı.

2. 3500 RPM’de, 5 dk santrifüjleme işlemi uygulandıktan sonra supernatant kısımların alınarak ELISA testinde kullanılmak üzere -80°C’de saklandı.

#### **2.4.1.2. Tirozin hidroksilaz ELISA Testi Protokolü**

96’lık ELISA pleyt kuyucuklarına örneklerin yerleştirilmesi işleminde:

-1A: Bu kuyucuğa örnek bırakılmadan sadece kromojen A, kromojen B ve stop slsyon eklendi.

-2-6A Kuyucuklara: Kit içinde bulunan Standart slsyonlar hazırlandı. 50 µl standart ve 50 µl streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi.

-7A ve sonrası kuyucuklara: 40 µl örnek, 10 µl antikor ve 50 µl streptavidin-HRP yerleştirildi. Plate koruma membranı yapıştırıldı. Hafifçe sallanarak karıştırdıktan sonra plate, 37 °C’de 60 dk inkübasyona bırakıldı.

1. İnkübasyondan sonra plate koruma membranı çıkarıldı ve içindeki sıvı boşaltıldı. Daha sonra plate distile su ile dilue edilmiş (1X) yıkama slsyonu ile yıkandı. Otuz sn bekledikten sonra sıvı boşaltıldı ve bu işlem 5 kez tekrarlandı.
2. Her kuyucuğa önce 50 µl slsyon A daha sonra 50 µl slsyon B eklenip hafifçe karıştırılıp 37 °C de 10 dk inkübasyona bırakıldı.
3. Her kuyucuğa 50 µl stop slsyonu eklendi. (mavi rengin sarı renge dönüştüğü gözlendi.)
4. Referans olarak 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okuma yapıldı.
5. Konsantrasyon hesaplama işlemi KJ Junior programı ile yapıldı.

#### **2.4.1.3. ADMA, ICAM ve RESISTIN ELISA Testi Protokolü**

##### **2.4.1.3.1. Slsyonların Hazırlanması**

Yıkama tamponu: Kite bulunan konsantre yıkama slsyonundan 30 ml alındı ve üzerine 750 ml deiyonize distile su koyuldu.

Standart Solüsyonu: Her kitin protokolüne bağı kalınarak 6 farklı konsantrasyonda standart hazırlandı.

Biotin-Etiketli Antikor Çalışma Solüsyonu: Her bir numune için 1 µl Biotin-etiketli antikor üzerine 99 µl antikor seyreltme tamponu eklendi (Örn: Numune sayısı \*1 µl Biotin-etiketli antikor ve numune sayısı\*99 µl antikor seyreltme tamponu).

HRP-Streptavidin Konjuge (SABC) Çalışma Solüsyonu: Her bir numune için 1 µl SABC üzerine 99 µl SABC seyreltme tamponu eklendi (Örn: Numune sayısı \*1 µl SABC ve numune sayısı \*99 µl SABC seyreltme tamponu).

#### **2.4.1.3.2. Prosedür**

1. Standartlardan ve numunelerden her bir kuyucuğa 50 µl koyuldu. Örneklerin kuyucuklardaki yerleri kaydedildi.
2. Kuyucuklardaki standart ve numunelerin üzerine 50 µl Biotin-Etiketli Antikor Çalışma Solüsyonu eklendi. Plate koruma membranı ile kapatılıp 37°C'de 45 dk inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyondan sonra plate koruma membranı çıkarıldı. Sıvı boşaltılarak her kuyucuk 100 µl yıkama tamponu ile yıkandı. Kuyucuklarda yıkama tamponu 1 dk bekletilip döküldü ve yeniden eklendi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı.
4. Yıkama işleminin ardından her bir kuyucuğa 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklendi. Plate koruma membranı ile kapatılıp 37°C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyondan sonra plate koruma membranı çıkarıldı. Sıvı boşaltılarak her kuyucuk 100 µl yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Tampon kuyucuklarda her defasında 1-2 dk bekletildi. Beşinci yıkama yapılip kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı.
6. Yıkamayı takiben her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat eklendi. Plate koruma membranı ile kapatılıp 37°C'de 15-20 dk karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı (Kuyucuklarda renk maviye dönüştü).
7. İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi (Mavi renk hemen sarı renge dönüştü).
8. Referans olarak 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okuma yapıldı.

9. Konsantrasyon hesaplama işlemi KJ Junior programı ile yapıldı.

## **2.4.2. Kantitatif Real time Polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile miRNA analizleri**

### **2.4.2.1. Tri Reagent ile RNA İzolasyonu**

Kan ve art dokularından RNA izolasyonu Trizol yöntemi ile gerçekleştirildi. Aşağıda yöntem basamaklar halinde özetlenmiştir.

1. 30-40 mg doku veya 300 mikrolitre kan alındı. Dokular ependorf tüplere konularak üzerlerine 500µl Tri Reagent (Cat no: 15596026, Invitrogen, Carlsbad, CA) eklendi.
2. Alınan kanlar ön aşama olarak 300µl kan için 900µl Red blood cell lizis solüsyonu kullanılarak beyaz kan hücrelerinin çökertilmesi sağlandı. 12.000 xg'de 2 dk santrifüj sonrası süpernatant atılarak beyaz kan hücrelerinin üzerine 500µl Tri Reagent (Bioshop) eklendi. Diğer aşamalar kan ve doku örneklerinde benzer şekilde gerçekleştirildi.
3. Homojenizasyon boncuklarından doku miktarı kadar eklendi.
4. Homojenizatörün(Next Advance, Troy, USA) 8. hızında 5 dk homojenize yapıldı.
5. 5 dk oda sıcaklığında bekletildi.
6. Tüpler içindeki homojenizatör boncukları ile birlikte 12.000 xg'de 2 dk santrifüj edildi.
7. Süpernatant kısımlar yeni tüplere aktarıldı üzerine 100 µl kloroform eklenip yaklaşık 15 sn vortekslendi.
8. Tüpler oda sıcaklığında 2-3 dk bekletildi.
9. 12.000 xg'de 2-4C'de 15 dk santrifüj edildi.
10. Santrifüj işleminden sonra 3 faza ayrılan sıvının en üst fazı başka tüpe alındı.
11. 250 µl izopropil alkol eklendi.
12. 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.
13. 12.000 xg'de 2-4C'de 10 dk santrifüj edildi.
14. Süpernatant kısımlar döküldü.
15. Pellet üzerine 500 µl % 75'lik etanol eklendi.



16. Vortekslendi ve 7500 xg'de 2-4C'de 5 dk santrifüj edildi.
17. Süpernatant atıldı ve etanol işlemleri tekrarlandı.
18. Süpernatant atıldı ve tüpler bir müddet oda sıcaklığında bekletilerek etanolün uçması sağlandı.
19. Kuruyan tüplerin üzerine su eklendi ve pipetaj yapıldı.
20. İzole edilen RNA'lar -80C'de saklandı.

#### **2.4.2.2. Spektrofotometrik RNA Ölçümü:**

RNA ölçümü için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen/Molecular Probes) kullanıldı.

Kit protokolüne göre Qubit Buffer™, dan  $199 \times n$   $\mu$ l ve Qubit Reagent™, den  $1 \times n$   $\mu$ l alınarak Qubit çalışma solüsyonu hazırlandı ( $n$  = örnek sayısı). RNA örneklerinden 1  $\mu$ l ve solüsyondan 199  $\mu$ l alınarak eppendorf tüplere koyuldu. 2 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra tüpler cihaza yerleştirilerek RNA miktarı  $\mu$ g/ml olarak ölçüldü.

Komplementer DNA (cDNA) sentezinde eşit RNA miktarlarında çalışılabilmesi için okunan en düşük RNA değeri standart olarak alındı. Kontrol, HT, ST ve HT-ST grubu olmak üzere toplamda aort ve kan örnekleri için 8 RNA havuzu oluşturuldu.

#### **2.4.2.3. Komplementer DNA Sentezi**

cDNA sentezi için havuz yapılan RNA örneklerinden 5  $\mu$ l kullanıldı. cDNA sentezi toplam 15 $\mu$ l hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 5 $\mu$ l RNA örneği, 3  $\mu$ l primer ve hazırlanan cDNA master mix'ten 7  $\mu$ l kullanıldı. Örnekler termal döngü cihazına (SimpliAmp™ Thermal Cycler, Applied Biosystem, Foster City, CA) yerleştirildi. 16°C'de 30dk, 42°C'de 30 dk, 85°C'de 5 dk ve 4°C'de cihazda bekletildi. Oluşan cDNA örnekleri -20°C'de saklandı (Tablo 2).

**Tablo 2.** cDNA karışım miktarı (TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit, Cat No:4368814, Applied Biosystem, Foster City, CA).

Bileşik	Hacim (µl)
10X RT Tamponu	1.5
dNTP karışımı (100mM)	0.15
MultiScribe™ Revers Transkriptaz	1.00
RNase İnhibitor (20U/ µl)	0.19
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	4.16
Reaksiyon toplamı	7.00

**Tablo 3.** cDNA sentezi için uygulanan PZR programı

PZR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	16°C	42°C	85°C	4°C
Zaman	30 dk	30 dk	5 dk	∞

#### 2.4.2.4. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu:

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) ile amplifiye edildi (Tablo 4). Örneklerde miR-21, miR-155, miR-181b ekspresyon seviyeleri incelendi. RT-PZR analizleri sonucunda gen ekspresyonundaki farklılıkların hesaplanmasında  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodu kullanıldı.

Real Time-PZR üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PZR plate kuyucuklarına cDNA örneklerinden 2µl koyuldu. Her bir örnek için 5µl TaqMan Master Mix (Cat No: 4369016, Applied Biosystems, Foster City, CA), 2.5 µl nükleaz içermeyen su ve 0.5 µl primer hibridizasyon probu örnek sayısına göre bileşen miktarları hesaplanarak ependorflara bırakıldı ve vortekslendi (Tablo 5). Plate'deki cDNA örneklerinin üzerine hazırlanan karışımdan 8µl pipet ile bırakılarak plate'in üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla Mini plate spin cihazında 1 dakika santrifügasyon işlemine tabi tutuldu.

**Tablo 4.** RT-PZR’de Kullanılan microRNA primerleri (Sentegen, Ankara, Türkiye)

<b>miR</b>	<b>REVERS TRANSKRİPSİYON PRİMERİ</b>
miR-21	5’-GTTTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACAAGCAG-3’
miR-155	5’GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACGTTAAT-3’
miR-181b	5’GACCGTGACCCACCGAC-3’

<b>miR</b>	<b>FORWARD PRİMERLER</b>
miR-21	5’-GCGGCGGCAACAGCAGTCGATGG -3’
miR-155	5’-GCGGCGGCTCCTACCTGTTAGC-3’
miR-181b	5’-GCGGCGGCTCACTGGTCAATGAA-3’

**Tablo 5.** RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler (Cat No: 4369016, Applied Biosystems, Foster City, CA).

<b>Bileşikler</b>	<b>Hacim(µl)X Örnek Sayısı</b>
cDNA	2.0
Primer	0.5
TaqMan Mix	5.0
Nükleaz içermeyen H2O	2.5
Toplam	10.0

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PZR (Applied Biosystems, Foster City, CA) sistemi ile ölçüldü. Çalışmada snoRNA-202 ve snoRNA-234 kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Isı koşulları 50°C’de 2 dakika, 95°C’de 10 dakika X 40 siklus, 95°C’de 15 saniye ve 60°C’de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı.

## 2.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın elde edilen verileri ortalama±standart hata (SH) olarak ifade edildi. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılık düzeylerini belirlemek için Fırat Üniversitesi Lisanslı (193.255.124.131) SPSS 21.0 paket programı kullanıldı. İn-vitro torasik aorta kasılma gevşeme cevaplarının gruplar arası karşılaştırılması, vücut ağırlıkları ve kan basınçları için “Tek yönlü varyans analizi” ve Post hoc Tukey; ELISA sonuçları için yine One-way ANOVA ve post hoc Scheffe testleri kullanıldı. RT-PCR sonuçları ise Scheffe testi ile değerlendirildi. Her grubun vücut ağırlıkları kendi içinde farklı zamanlarda karşılaştırılmasında da

eşleştirilmiş t testi (paired sample t-test) kullanıldı. Elde edilen sonuçların yorumlanmasında  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



### 3. BULGULAR

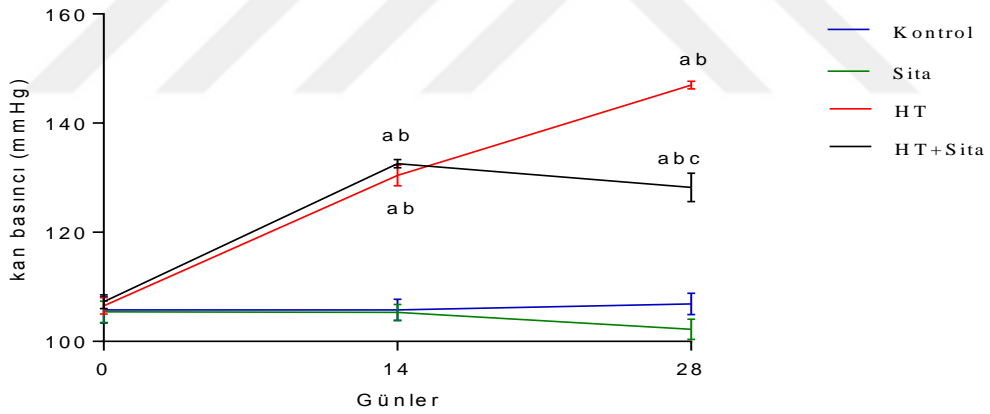
#### 3.1. Kan Basınçları

Sistolik kan basıncı, L-NAME uygulanan gruplarda 14 ve 28. günlerde anlamlı yükseldi. Sitagliptinin 14. günden itibaren iki hafta süre ile uygulanması sonucunda, 28. günde HT+Sita grubunun SKB'si hipertansif gruba göre anlamlı azaldı ( $p<0.05$ ) (Tablo 6, Şekil 8 ).

**Tablo 6.** NOS inhibitörü L-NAME ve Sitagliptin uygulamaları sonucunda sistolik kan basınçları.

Gruplar	0. gün	14. gün	28. gün
Kontrol	105.78±2.42	105.80±1.96	106.87±1.94
Sita	105.42±1.96	105.33±1.44	102.24±1.88
HT	106.53±1.48	130.41±1.94 <sup>ab</sup>	146.99±0.74 <sup>ab</sup>
HT+Sita	107.28±1.25	132.58±0.76 <sup>ab</sup>	128.22±2.62 <sup>abc</sup>

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrole göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p<0.05$



**Şekil 8.** 0., 14. ve 28. günlerde kan basınçları ( mmHg).

a.Kontrole göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p<0.05$ .

#### 3.2. Vücut Ağırlıkları

Sıçanların başlangıç ağırlıkları homojen olacak şekilde gruplandırıldı. Başlangıç ağırlıklarında ve benzer şekilde 14 ve 28. günlerde gruplar arası anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ). Bununla birlikte 14 ile 28. günlerde vücut ağırlığı kontrol grubunda 255.30±8.41 gr'dan 273.21±12,5 grama, hipertansiyon grubunda

260.76±3.19 gramdan 275.45±3.6 grama yükselirken (p<0.05), sitagliptin verilen gruplarda bu artış anlamlılığa ulaşmadı (p>0.05) (Tablo 7).

**Tablo 7.** 0,14 ve 28. günlerde vücut ağırlıkları (gr).

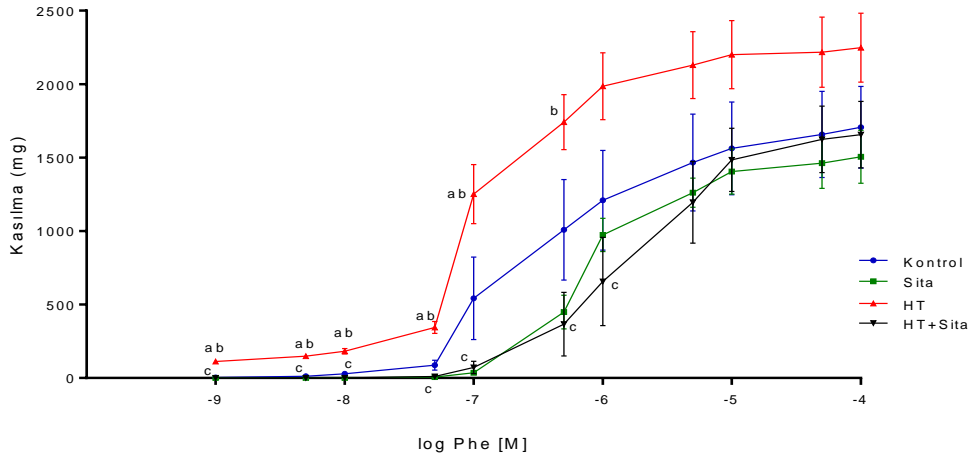
Gruplar	0. gün (gr)	14. gün (gr)	28. gün (gr)
<b>Kontrol</b>	245.61±3.15	255.30±8.41	273.21±12.5 <sup>#</sup>
<b>Sita</b>	247.34±2.28	265.44±5.81	271.3±5.76
<b>HT</b>	244.24±2.66	260.76±3.19	275.45±3.6 <sup>#</sup>
<b>HT+Sita</b>	250.00±1.89	271.29±5.7	280.47±10.72

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. #. Grup içinde 14.güne göre anlamlı kilo artışı (p<0.05)

### 3.3. İzole Torasik Aortada Kasılma-Gevşeme Cevapları

#### 3.3.1. Fenilefrin kasılma cevapları

Kronik L-NAME uygulaması doz cevap eğrisini sola kaydırды. Hipertansif sıçanların fenilefrinin ilk 5 dozunda ( $10^{-9}$ -  $10^{-7}$ ) kasılmaları diğer tüm gruplara göre anlamlı arttı. HT+Sita grubunun fenilefrinin  $10^{-9}$ 'dan  $10^{-6}$ 'ya kadar olan dozlarda kasılması hipertansiyon grubuna göre anlamlı azaldı Sitagliptin verilen gruplarda ilk 3 dozda herhangi bir kasılma yanıtı oluşmadı (p<0.05) (Şekil 9, Tablo 8).



**Şekil 9.** Fenilefrin kümülatif doz-cevap eğrisi.

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a.Kontrolle göre; b.Sitagliptine göre; c.Hipertansiyona göre anlamlı farklılık p<0.05

**Tablo 8.** Fenilefrin kasılma cevapları (mg).

Dozlar (M/L)	Kontrol	Sita	HT	HT+Sita
10 <sup>-9</sup>	3.76±2.5	0±0	112.81±7.54 <sup>ab</sup>	0±0 <sup>c</sup>
3.10 <sup>-9</sup>	12.25±4.11	0±0	148.2±15.49 <sup>ab</sup>	0±0 <sup>c</sup>
10 <sup>-8</sup>	29.21±4.67	0±0	182.20±17.62 <sup>ab</sup>	0±0 <sup>c</sup>
3.10 <sup>-8</sup>	87.0±33.44	5.95±5.95	344.0±40.48 <sup>ab</sup>	10.03±6.29 <sup>c</sup>
10 <sup>-7</sup>	542.35±280.33	35.7±14.05	1251.79±201.59 <sup>ab</sup>	71.77±42.47 <sup>c</sup>
3.10 <sup>-7</sup>	1008.04±342.76	449.38±115.01	1741.13±187.64 <sup>b</sup>	366.45±216.84 <sup>c</sup>
10 <sup>-6</sup>	1209.43±339.09	973.82±112.82	1985.40±228.27	900.55±300.82 <sup>c</sup>
3.10 <sup>-6</sup>	1477.09±339.32	1274.39±90.69	2162.83±231.99	1197.51±279.24
10 <sup>-5</sup>	1587.71±314.37	1452.39±172.05	2201.94±231.25	1516.84±224.18
3.10 <sup>-5</sup>	1671.84±284.07	1462.77±172.32	2212.60±241.87	1640.51±216.54
10 <sup>-4</sup>	1713.30±278.63	1548.76±195.15	2218.04±231.81	1676.86±126.69

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrole göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık p<0.05

### 3.3.2. Fenilefrin maksimum kasılma (E<sub>max</sub>), Etkin konsantrasyon 50 (EC<sub>50</sub>) ve E<sub>max</sub>/KCl (%) değerleri

Hipertansif grupta 97,55% olan Phe E<sub>max</sub> değerleri sitagliptin uygulaması ile 80.22 oldu. Özellikle HT+Sita grubu ile hipertansiflerin E<sub>max</sub> değerleri belirgin farklı olsa da maksimum kasılma cevapları arasındaki bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı (p>0.05). İlacın potensini gösteren EC<sub>50</sub> değerleri gruplar arasında anlamlı farklı bulundu (p<0.05). Hipertansif grup kontrol ile kıyaslandığında -log EC<sub>50</sub> değeri anlamlı arttı. Bu da L-NAME uygulanan grubun daha düşük fenilefrin dozu ile maksimum kasılmanın yarısına ulaşması anlamına gelmektedir. HT+Sita grubunun sitagliptin tedavisi ile hipertansiyon grubuyla kıyaslandığında -log EC<sub>50</sub> değeri anlamlı azaldı. Sitagliptin kasılma cevaplarını azalttı (p<0.05). E<sub>max</sub> Phe/KCl (%)’nin gruplar arası farkı anlamlılığa ulaşmadı (p>0.05) (Tablo ).

**Tablo 9.** Fenilefrin E<sub>max</sub>, EC<sub>50</sub> ve E<sub>max</sub>/KCl (%) değerleri.

Gruplar	E <sub>max</sub> (mg)	EC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> /KCl (%)
Kontrol	1713.30±278.63	6.47±0.05 <sup>bc</sup>	89.30±6.15
Sita	1548.76±195.15	6.33±0.03 <sup>c</sup>	78.64±9.21
HT	2218.04±231.81	6.91±0.07	97.55±4.23
HT+Sita	1676.86±220.88	5.91±0.06 <sup>abc</sup>	80.27±9.35

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrole göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık p<0.05

### 3.3.3. Asetilkolin Gevşeme Cevapları

Fenilefrin uygulamaları ile önceden belirlenmiş submaksimal doz ile sağlanan prekontraksiyon sonrasında  $10^{-9}$ 'dan  $10^{-4}$ 'e kadar artan dozlarda ACh uygulamasıyla gevşeme cevapları elde edildi.  $3 \cdot 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \cdot 10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  dozlarında sitagliptin uygulaması ile HT+Sita grubunun, hipertansiyon grubuna göre ACh gevşeme cevapları anlamlı arttı ( $p < 0.05$ ) (Tablo 10).

Yüzdeler karşılaştırıldığında ise; hipertansif grupta gevşeme yanıtları diğer tüm gruplara göre azaldı. Ancak istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmadı.  $3 \cdot 10^{-7}$  dozunda ise HT+Sita grubunun ACh ile gevşemesi, HT grubuna kıyasla anlamlı artış gösterdi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 11, Şekil 10).

**Tablo 10.** Asetilkolin gevşeme cevapları (mg)

Dozlar(M/L)	Kontrol	Sita	HT	HT+Sita
$10^{-9}$	151.35±36.49	278.11 ±51.35	107.00±75.5	486.11±237.45
$3 \cdot 10^{-9}$	310.14±61.39	423.58±64.86	198.02±142.31	591.85±258.65
$10^{-8}$	492.58±85.55	652.93±131.77	239.13±159.74	726.81±295.54
$3 \cdot 10^{-8}$	819.06±177.74	941.13±196.83	281.28±145.97	893.04±262.93
$10^{-7}$	1112.82±231.21	1165.13±293.7	408.86±136.61	1138.29±274.13
$3 \cdot 10^{-7}$	1341.68±306.43	1439.00±291.84	648.00±142.28	1816.38±241.83 <sup>#</sup>
$10^{-6}$	1510.09±326.31	1492.99±302.61	817.62±148.32	1960.53±245.95 <sup>#</sup>
$3 \cdot 10^{-6}$	1600.83±338.67	1526.59±338.68	1045.70±137.75	2129.62±211.90 <sup>#</sup>
$10^{-5}$	1645.98±311.43	1537.11±305.79	1093.36±139.87	2134.18±207.86 <sup>#</sup>
$3 \cdot 10^{-5}$	1744.75±340.96	1568.53±296.45	1184.89±163.05	2168.24±191.17
$10^{-4}$	1796.40±349.99	1567.06±292.29	1257.24±176.21	2176.04±179.26

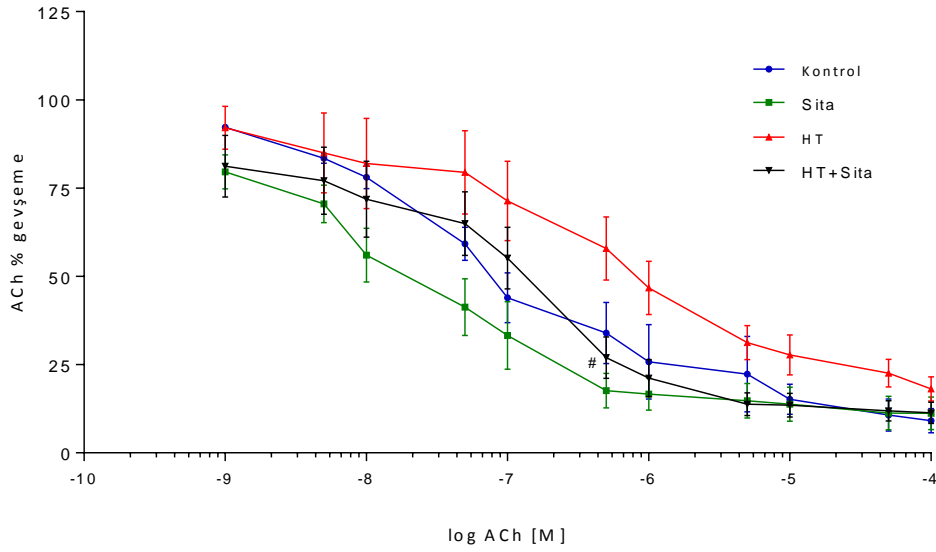
Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. #. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p < 0.05$

**Tablo 11.** Asetilkolin gevşeme cevapları (%).

Dozlar (M/L)	Kontrol	Sita	HT	HT+Sita
$10^{-9}$	7.78 ±0.70	20.37±4.86	7.91±6.05	18.78±8.74
$3 \cdot 10^{-9}$	16.58 ±1.42	29.47±5.32	15.01±11.32	22.90±9.50
$10^{-8}$	21.94±3.19	43.95±7.62	18.03±12.77	28.15±10.74
$3 \cdot 10^{-8}$	40.77±4.69	60.74±8.94	20.51±11.85	35.05±9.02
$10^{-7}$	56.03±7.09	73.37±13.21	28.65±11.27	44.84±8.74
$3 \cdot 10^{-7}$	66.01±8.65	90.84±8.98	42.14±8.94	72.99±5.91 <sup>#</sup>
$10^{-6}$	74.24±10.59	94.40±9.06	53.26±7.51	78.83±5.27
$3 \cdot 10^{-6}$	77.69±10.70	96.28±8.66	68.74±4.85	86.22±3.25
$10^{-5}$	84.78±4.27	97.20±8.34	72.22±5.70	86.50±3.35
$3 \cdot 10^{-5}$	89.42±4.64	99.74±7.35	77.44±3.96	88.11±2.89
$10^{-4}$	92.28±4.18	99.85±7.26	81.86±3.46	88.67±3.02

Veriler ort ±SH olarak ifade edilmiştir. #. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p < 0.05$





**Şekil 10.** Asetilkolin gevşeme cevapları (%).

Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir. #. Hipertansiyon grubuna göre anlamlı farklılık  $p < 0.05$ .

Asetilkolinin damarda oluşturduğu maksimum gevşeme cevabını tanımlayan  $E_{max}$  değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ) (Tablo 12). Maksimum gevşemenin yarısına ulaştıran  $-\log EC_{50}$  değeri hipertansiyon grubunda tüm gruplara kıyasla anlamlı azaldı ( $p < 0.05$ ). HT+Sita grubunda  $7.35 \pm 0.1$  bulunan  $-\log EC_{50}$  değeri hipertansif gruba göre anlamlı arttı ( $p < 0.05$ ) (Tablo 12). Sitagliptin ACh gevşeme cevaplarını artırdı

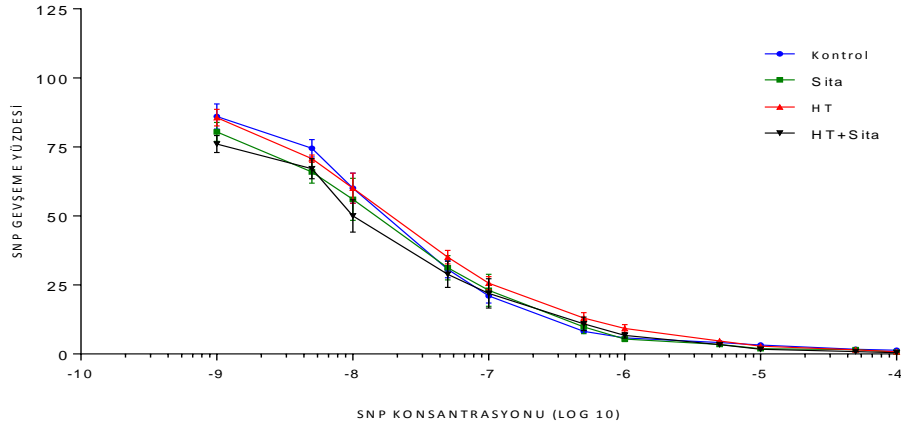
**Tablo 12.** Asetilkolin  $E_{max}$  ve  $EC_{50}$  değerleri.

Gruplar	$E_{max}$ (mg)	$EC_{50}$
<b>Kontrol</b>	$1796.40 \pm 349.99$	$7.22 \pm 0.04$
<b>Sita</b>	$1567.06 \pm 292.29$	$7.71 \pm 0.04$
<b>HT</b>	$1257.24 \pm 176.21$	$6.48 \pm 0.06^{ab}$
<b>HT + Sita</b>	$2176.04 \pm 179.26$	$7.35 \pm 0.10^c$

Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir. a. Kontrole göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p < 0.05$

### 3.3.4. Sodyum nitroprusiyat gevşeme yanıtları

Submaksimal fenilefrin ön kasılması ile torasik aortanın  $10^{-9}$  dan  $10^{-4}$ 'e kadar artan konsantrasyonlarda kümülatif sodyum nitroprusiyat (SNP) uygulamasına verdiği doz bağımlı gevşeme cevapları incelendi. SNP'nin sağladığı endotel bağımsız gevşeme cevaplarında gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p > 0.05$ ) (Şekil 11).

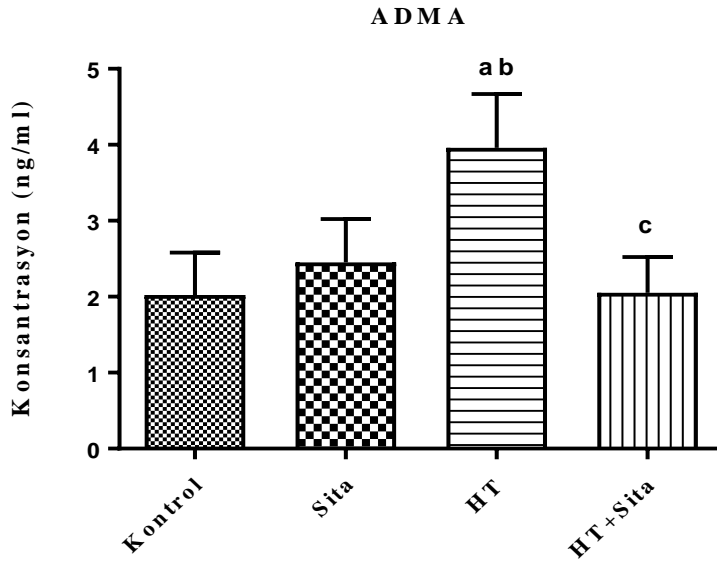


**Şekil 11.** SNP gevşeme cevapları (%). Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir ( $p>0.05$ )

### 3.4. ELISA sonuçları

#### 3.4.1. Serum ADMA düzeyleri

Kontrolde  $2.021 \pm 0.56$  ng/ml olan serum ADMA değeri, L-NAME uygulaması ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde  $3.960 \pm 0.71$  ng/ml'ye yükseldi. HT+Sita grubunda ADMA  $2.052 \pm 0.47$  ng/ml olarak ölçüldü. Sitagliptin uygulaması ile ADMA kontrol değerine yaklaşarak, HT+Sita grubunda hipertansiflere göre anlamlı azaldı ( $p<0.05$ ) (Şekil 12).

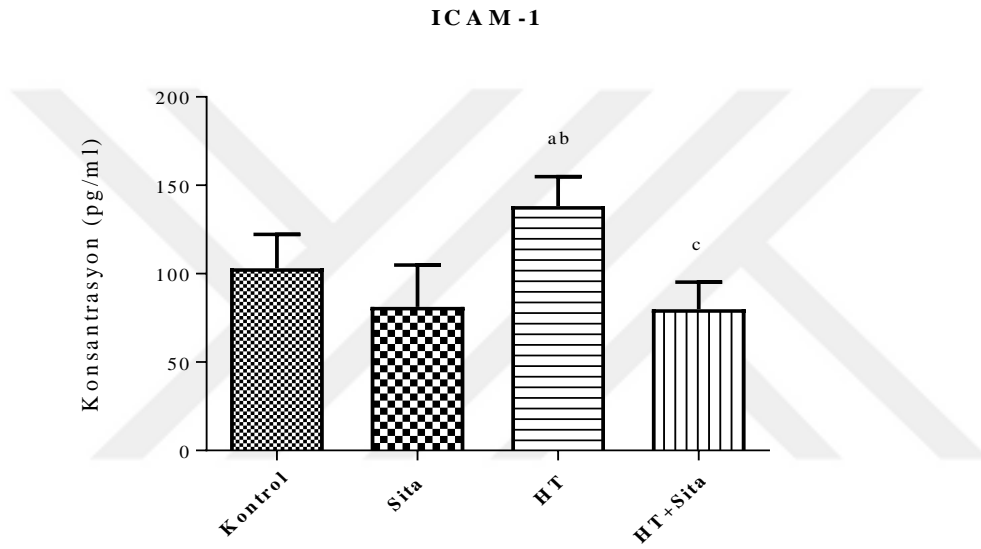


**Şekil 12.** Serum ADMA düzeyleri. Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir.

a. Kontrolle göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p<0.05$

### 3.4.2. Serum ICAM-1 düzeyleri

Serumdaki ICAM-1 seviyeleri, kontrolde  $103.07 \pm 19.19$  pg/ml, hipertansif sıçanlarda  $138.19 \pm 16.75$  ve HT+Sita grubunda  $79.97 \pm 15.22$  pg/ml bulundu. Bu sonuçlarla L-NAME uygulaması ile serum ICAM-1 seviyeleri tüm gruplara göre anlamlı arttı. On dört gün sitagliptin uygulamasıyla HT+Sita grubunda ICAM-1 düzeyleri hipertansiflere göre anlamlı azaldı ( $p < 0.05$ ) (Şekil 13). Tek başına Sitagliptin verilen grupta kontrol değerlerinin altında ICAM-1 değerleri ölçülse de anlamlı bir fark oluşturmadı.

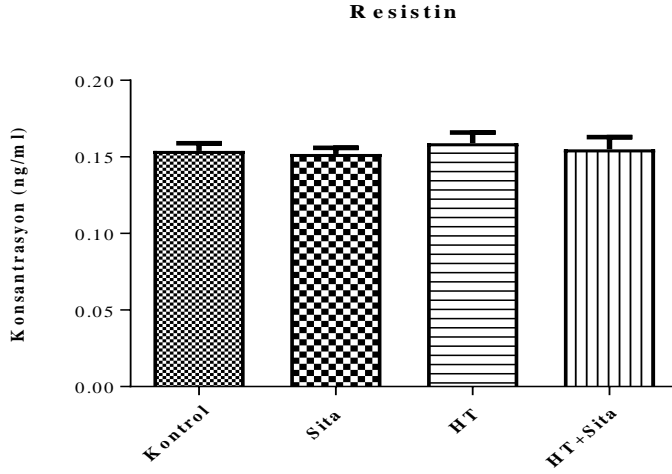


**Şekil 13.** Serum ICAM-1 düzeyleri. Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir.

a.Kontrole göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p < 0.05$

### 3.4.3. Serum Resistin düzeyleri

Kontrol grubunda  $0.154 \pm 0.005$  ng/ml hipertansiflerde ise  $0.159 \pm 0.007$  ng/ml bulunan resistin, HT+ Sita grubunda  $0.155 \pm 0.007$  ng/ml idi. Bu değerler istatistiksel analizde anlamlı bir fark oluşturmadı ( $p > 0.05$ ) (Şekil 14).

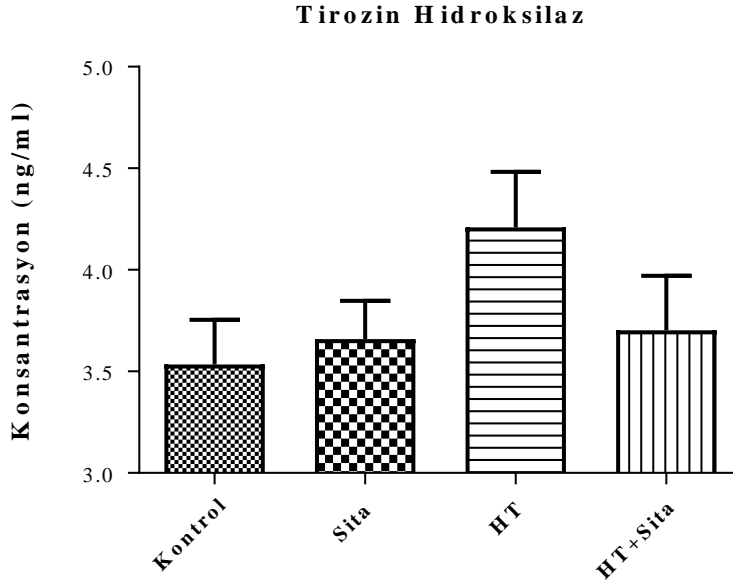


**Şekil 14.** Serum resistin düzeyleri (ng/ml).

Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir ( $p>0.05$ )

#### 3.4.4. Serum Tirozin Hidroksilaz düzeyleri

Kontrolde  $3,534 \pm 0,220$  ng/ml bulunan tirozin hidroksilaz seviyesi hipertansif grupta  $4,210 \pm 0,272$  ng/ml'ye yükseldi. Sitagliptin uygulaması ile HT+Sita grubunda TH değerleri  $3,702 \pm 0,269$  ng/ml'ye geriledi. Ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı ( $p>0.05$ ) (Şekil 15).



**Şekil 15.** Serum tirozin hidroksilaz düzeyleri (ng/ml).

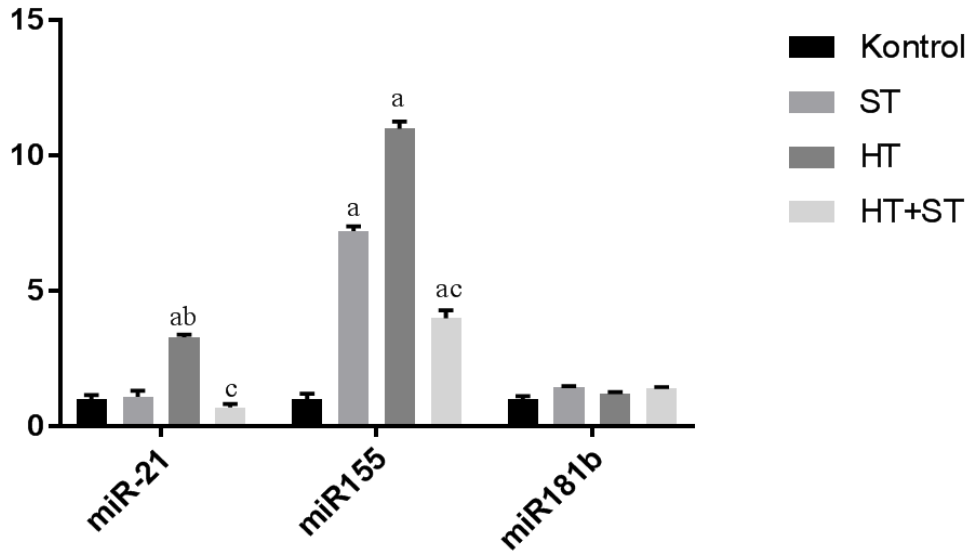
Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir ( $p>0.05$ )

### 3.5. PCR sonuçları

#### 3.5.1. Aort dokusunda miRNA ekspresyonları

Hipertansiyon grubunda  $3.28 \pm 0.1$  olan torasik aorta miRNA-21 ekspresyonu sitagliptin uygulanan HT+Sita grubunda anlamlı olarak  $0.69 \pm 0.13$ 'e geriledi. Hipertansiyon grubunda  $10.994 \pm 0.26$  olan miRNA-155 ekspresyonu ise HT+Sita grubunda anlamlı olarak  $3.976 \pm 0.3$ 'e geriledi ( $P < 0.05$ ) (Şekil 16).

#### Aort miRNA ekspresyonları

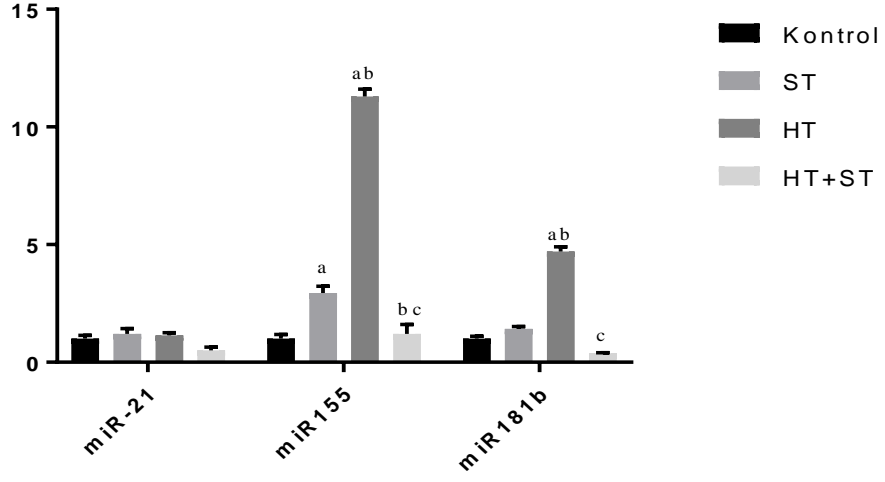


**Şekil 16.** Torasik aortada miRNA seviyeleri. Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir. a.Kontrolle göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p < 0.05$

#### 3.5.2. Lökositlerde mikroRNA ekspresyonları

Kandan izole edilen lökositlerde miRNA-155 ekspresyonu hipertansif grupta  $11.293 \pm 0.31$  iken, sitagliptin tedavisi uygulaması ile anlamlı şekilde  $1,203 \pm 0.4$ 'e geriledi. Hipertansif grupta  $4.7 \pm 0.2$  olan miR-181b ekspresyonu ise anlamlı şekilde gerileyerek  $0.38 \pm 0.03$  olarak bulundu ( $P < 0.05$ ) (Şekil 17).

### lökosit miRNA ekspresyonları



**Şekil 17.** Tam kandan izole lökositlerde miRNA seviyeleri.

Veriler ort  $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir. a.Kontrole göre; b. Sitagliptine göre; c. Hipertansiyona göre anlamlı farklılık  $p < 0.05$

#### 4. TARTIŞMA

Çalışmamızda L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanların kan basınçları, vücut ağırlıkları ve torasik aortalarının in-vitro kasılma gevşeme cevapları ile hipertansiyon patofizyolojisinde anahtar rol oynayan endotel disfonksiyonu, oksidatif stres, sempatik sinir sistemi aktivasyonu ve inflamasyona dair parametreler ve bu parametrelere sitagliptinin etkileri araştırıldı. Hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda kan basıncı, ADMA ve ICAM-1 seviyelerinde anlamlı artışlar olurken, belli konsantrasyonlarda fenilefrin kasılma cevapları arttı, asetilkolin gevşeme cevapları da azaldı. Sitagliptin uygulamaları ile kan basıncı, serum ADMA ve ICAM-1 seviyeleri anlamlı azalırken, kasılma gevşeme cevapları da kontrole yaklaştı. Tirozin hidroksilaz düzeyleri hipertansif grupta artarken sitagliptin uygulaması ile azaldı. NO salınımı, ROS üretimi ve inflamasyona etkileri ile miR155 miR21 ve miR181-b hipertansiyonda arttı ve sitagliptin tedavisi ile azaldı.

Farmakolojik indüklü hipertansiyon modeli oluşturulmak için kullanılan kimyasal ajanlardan biri L-NAME'dir. Daha önceki çalışmalar incelendiğinde L-NAME uygulamasının standart bir süresi ve dozunun olmadığı görülmektedir. Anjiotensin reseptör antagonizmasının endotel disfonksiyonunu iyileştirici etkisinin gözlemlendiği bir çalışmada sekiz hafta boyunca sıçanlara 60 mg/kg/gün L-NAME verilerek kan basıncında anlamlı bir yükselme sağlanmıştır (97). Güncel bir çalışmada ise bitkisel bir ekstraktın hipertansiyondaki etkinliğini değerlendirmek için 50 mg/kg/gün L-NAME ile hipertansiyon oluşturulmuştur. Sıçanların kan basınçları dört hafta sonunda kontrole göre anlamlı artış göstermiştir (98). Sinoatrial odakta inhibisyon ile bradikardi yapan ivabrandinin kalpteki etkisini değerlendiren bir çalışmada ise kan basıncı yüksekliği 4 hafta süre ile 40 mg/kg/gün L-NAME dozu ile sağlanmıştır (99). Bu doz ile benzer kan basıncı artışına ulaşılmıştır. Bizim çalışmamızda da 4 hafta boyunca 40 mg/kg/gün intraperitoneal L-NAME uygulaması ile hipertansiyon oluşturuldu. Sitagliptin tedavisi alan hipertansif grupta 28. günde SKB hipertansif gruba göre anlamlı azaldı.

Sitagliptinin kan basıncına etkisi hem klinik hem deneysel modellerde eşlik eden diyabet varlığında veya diyabet olmadan önceki çalışmalarda değerlendirilmiştir. Tip 2 DM'li 51 hastanın 3 aylık sitagliptin tedavisi ile sistolik kan basınçlarının gözlemlendiği bir çalışmada, yaklaşık 13 mmHg'lık anlamlı bir

azalma olmuştur (100). Yuasa ve ark. (101) çalışmalarında 454 diyabetli hastanın sitagliptin kullanımı ile kan basınçlarındaki değişimi retrospektif verilerle değerlendirmiştir. Sitagliptin tedavisinin özellikle 6. ayından sonra hem sistolik hem de diyastolik kan basınçlarını anlamlı azalttığını göstermişlerdir. Onsekizi kadın 12si erkek deneğin 20 günlük 100 mg sitagliptin tedavisinin kan basınçlarına etkisi prospektif başka bir çalışmada değerlendirilmiştir. Sitagliptinin hem SKB hem de DKB'de anlamlı azalma sağladığı görülmüştür (102).

Non diyabetik SHR ve wistar sıçanların kan basınçlarına 2 haftalık sitagliptin uygulamasının etkisinin gözlemlendiği bir araştırmada deneklerin abdominal aortasına birer kateter yerleştirilmiştir. Telemetrik yöntemle yapılan ölçümler sonucunda; başlangıç kan basınçlarına göre 10 mg/kg/gün sitagliptinin 14. gün SKB'yi anlamlı azalttığı görülmüştür. Aynı çalışmada Wistar-Kyoto (WKY) cinsi sıçanlarda ise sitagliptin tedavisi SKB'yi değiştirmemiştir (52). Genç ve erişkin SHR'lerin 8 gün günde ikişer defa olmak üzere 40 mg/kg sitagliptin ile muamele edildiği çalışmanın sonuçları sitagliptin uygulamasının kan basıncına etkisinin doz bağımlılığı yanında yaşa göre de değiştiğini göstermektedir. Bu çalışmada sitagliptin uygulanan genç SHR'lerde kullanmayanlara göre anlamlı düşük ortalama arter basıncı saptanmıştır (103).

Giannocco ve ark. (104) çalışmasında sıçanlara 10 gün boyunca günde iki kez 40 mg/kg dozu ile sitagliptin uygulanmış ve bu dozun DPP-4 aktivitesini %85 baskıladığı sonucuna ulaşılmıştır. Aynı çalışmada SHR sıçanların kuyruktan kan basıncı ölçümünde sitagliptin tedavisinin anlamlı düşüğe neden olduğu görülmüştür. WKY, Zucker Diyabetik ve hidralazin veya enalapril ön tedavisi alan SHR sıçanların kan basınçları başka bir deneysel çalışmada karşılaştırılmıştır. Kronik etkilerini değerlendirmek üzere 3 hafta boyunca 80 mg/kg/gün dozu ile sitagliptin uygulanmıştır. Sonuçta WKY ve Zucker Diyabetik sıçanların hem SKB hem de DKB'leri anlamlı olmasa da azalmıştır. Spontan hipertansif sıçanların kan basınçları ise antihipertansif ön tedavilerle, sitagliptin uygulamasına rağmen artmıştır (46). Bir başka deneysel çalışmada sitagliptinin, 6 hafta süreyle 75 mg/kg L-NAME uygulaması ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanların ortalama arter basınçları üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Yine 6 hafta sitagliptin 10 ve 30 mg/kg/gün olmak



üzere iki farklı dozda uygulanmış ve her iki dozda da ortalama arter basıncını düşürmüştür (101).

Klinik çalışmalarda doz ve uygulama süresinin yanında, deneysel modellerde çalışılan deney hayvan cinsinin ve genetiğinin de, sitagliptinin kan basıncı üzerine etkisini değiştirdiği görülmektedir. Çalışmamızda Sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Hipertansif sıçanlara iki hafta boyunca oral gavaj yoluyla uygulanan 80 mg/kg/gün sitagliptin, kan basıncında anlamlı düşüş sağladı. Yalnız sitagliptin uygulanan grubun kan basınçları ise kontrol grubuna göre anlamlı olmasa da azalma eğiliminde idi. Bu durum sitagliptinin dozundan kaynaklanıyor olabilir. Ancak araştırmamız, bu dozun DPP-4 aktivitesinde yeterli inhibisyon yapıp, kan basıncını da anlamlı düşürdüğü bilinerek tasarlanmıştır (46, 104).

Sitagliptin, vasküler endotel ve kan basıncı üzerine olan etkisini yıkımını baskılayarak plazmada konsantrasyonunu yükselttiği GLP-1 üzerinden gösterir. GLP-1, bir dizi enzimatik olay sonucunda eNOS fosforilasyonunu aktive eder ve NO salınımını artırır. Bu sayede kan basıncını azaltmadaki etkinliğine daha önce değinilen bir çalışmada eNOS aktivasyonu ile endotel bağımlı ACh gevşeme cevaplarının sitagliptin uygulaması ile arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada endotel bağımsız SNP gevşeme yanıtları ise tüm gruplar arasında benzer çıkmıştır (52).

Klinik bir çalışmada, daha önce sülfonilüre, metformin veya pioglitazon ile tedavi hedeflerine ulaşamamış Tip 2 diyabetik hastaların 12 haftalık sitagliptin tedavisine verecekleri cevap EPC (endotelial öncü hücre) ve ultrasound tabanlı bir metod olan *Flow mediated dilatation* ile de arter çapı ölçülerek değerlendirilmiştir. Sitagliptin EPC'nin dolaşımdaki miktarını artırırken, akım stresine cevap olarak NO aracılı endotel bağımlı dilatasyon ile de arter çapını genişletmiştir (105). Femoral arteri bağlamak suretiyle arka bacak iskemisi yapıldıktan sonra kanın akışını değerlendirmek için lazer USG kullanılan farelerle yapılan deneysel bir çalışmada ise; 7 haftalık sitagliptin uygulaması ile kan akışının anlamlı oranda iyileştiği görülmüştür. Bu çalışmanın bir diğer bulgusu da dolaşımda sitagliptin ile artmış EPC ve eNOS seviyeleridir (106). Wang ve ark. (49) ise sitagliptinin Zucker diyabetik obez sıçanlar ile zayıf nondiyabetik Zucker sıçanların hem mezenterik arterleri hem de aortalarında gevşeme yanıtlarını anlamlı artırdığını göstermişlerdir.

Yalnızca fruktoz solüsyonu ile diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlarda rosuvastatin, glimeprid ve sitagliptinin endotel disfonksiyonu ve kan basıncı üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada; kombine uygulamanın daha efektif olması ile beraber 20 mg/kg sitagliptinin de tek başına kan basıncını anlamlı azaltırken, asetilkolin gevşeme cevaplarını artırdığı gösterilmiştir. Sodyum nitroprusiyat ile endotel bağımsız gevşeme cevapları ise diyabetik grupta azalırken, sitagliptin uygulamasıyla görülen artış anlamlılığa ulaşmamıştır (107).

Literatürdeki çalışmalar sitagliptin gibi diğer DPP-4 inhibitörlerinin de kan glukozunu düşürücü etkilerinin yanında özellikle kardiyovasküler sistemde etkinliğine yer vermektedir. Güncel bir makalede SHR ve WKY sıçanların mezenterik arterlerinin gemigliptin ön tedavisi ile endotel bağımlı vazorelaksasyonlarının nasıl etkilendiği değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ortam 2 saatlik inkübasyonla hiperglisemik hale getirilmiştir. Bu şekilde azalan endotel bağımlı asetilkolin gevşeme cevaplarını hem WKY hem de SHR sıçanlarda gemigliptin anlamlı şekilde tekrar artırmıştır (108).

Bizim araştırmamızda kullanılan DPP4İ olan sitagliptin ise, asetilkolin yanıtlarını bazı dozlarda anlamlı artırarak vazorelaksasyonda iyileşme sağladı. Maksimum gevşemenin yarısına ulaştıran ACh dozu (EC<sub>50</sub>) hipertansiyon grubunda diğer gruplardan anlamlı yüksekti. Sitagliptin uygulaması ise HT+Sita grubunun EC<sub>50</sub> değerini hipertansiyon grubuna göre anlamlı arttırarak daha düşük dozda daha büyük gevşeme cevabının alınmasını sağladı. Yalnız sitagliptin verilen grubun EC<sub>50</sub> değeri ise kontrolden büyük çıkarak, sitagliptinin 80 mg/kg dozunun buna sebep olabileceğini düşündürdü. Ayrıca HT+Sita grubunun asetilkolin cevaplarının ve Emax değerlerinin anlamlı olmasa da kontrolden büyük olması, sitagliptinin patoloji varlığında endoteli daha aktif koruduğu şeklinde yoruma açık bir durum oluşturdu.

Bununla birlikte asetilkolin gevşeme yanıtlarının birkaç dozda anlamlı olma sebebi; sitagliptinin vazodilatatör etkisini göstermek için artırdığı NO seviyelerinin, bir taraftan da hipertansiyon oluşturmak için kullanılan NOS inhibitörü L-NAME tarafından azaltılıyor olmasına bağlı olabilir.

Çalışmamızda asetilkolin ile endotel bağımlı gevşeme yanıtları değerlendirilirken, endotel bağımsız gevşeme cevapları için ise SNP kullanıldı.

Streptozotosin ile diyabet oluşturulan bir çalışmada Sprague Dawley cinsi sıçanların 10 ve 30 mg/kg Sitagliptin tedavisine aortik endotel yanıtları değerlendirilmiştir. Her iki dozda da diyabetli gruba göre anlamlı artmış ACh gevşeme yanıtları alınmıştır. Ancak sitagliptin kümülatif SNP gevşeme cevaplarını değiştirmemiştir (109). Aterojenik diyetle beslenen tavşanlara 6 hafta boyunca günde iki kez 6 mg/kg sitagliptin uygulanan bir araştırmada ise SNP gevşeme yanıtları gruplar arasında benzer çıkmıştır (110).

Literatür değerlendirildiğinde deneysel modelde oluşturulan patolojilerin veya kullanılan denek türünün farklılığının genel olarak SNP yanıtlarını değiştirmedeği söylenebilir. Bizim çalışmamızda da SNP gevşeme yanıtları gruplar arasında benzer bulundu. Sitagliptin uygulaması endotel bağımsız yanıtlar üzerine anlamlı bir etki oluşturmadı. SNP dozlarına benzer yanıtların olması; deneyde kullanılan vasküler dokunun etraf dokudan temizlenmesi sırasında veya invitro düzeneğe yerleştirilirken damar yatağının büyük zarar görmediği ve gevşeme özelliğinin bozulmadığını göstermektedir.

Daha önce yapılan araştırmalar ışığında, çalışmamızdaki torasik aorta kümülatif gevşeme yanıtlarının genel olarak endotel bağımlı olduğu ve sitagliptinin kan basıncını düşürücü etkisini NO bağımlı gevşeme mekanizmaları üzerinden gösterdiği düşünülebilir.

Sitagliptinin sempatik aktiviteyi azaltabileceği düşünülerek vazoaktif peptitlerin sentez yolundaki enzimler (tirozin hidroksilaz gibi) veya salınımını baskıladığı, endojen vazokonstrüktör ET-1 molekülü üzerine etkileri önceki çalışmalarda yer almıştır. Yüksek yağlı diyet ve sonrasında streptozotosin enjeksiyonu ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda sitagliptinin nükleer faktör kappa-B'yi baskılamak yolu ile ET-1 düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı bulunmuştur. Bu çalışmada ayrıca ACh gevşeme yanıtlarının tedavi almayanlara göre farklı dozlarda sitagliptin uygulanan her iki grupta da anlamlı arttığı gözlenmiştir. Vazokonstrüktör ET-1 seviyelerinin azalması endoteldeki gevşeme cevaplarını artırmış olabilir (109). Aterojenik diyetle beslenen tavşanlarda yürütülen çalışmada da sitagliptinin aortik halkalarda fenilefrin indüklü kontraksiyonu etkilemediği gözlemlenmiştir (110).

Çalışmamızda sıçan aortaları kümülatif fenilefrine maruz bırakılarak endotelin adrenerjik reseptör duyarlılığı değerlendirildi. Maksimum kasılma ( $E_{max}$ )

değerleri arasında belirgin bir fark olmasına rağmen bu farkın anlamlılığa ulaşmaması, sitagliptinin istatistiksel anlamda hipertansiyona bağlı maksimum gerimi önleyemediği şeklinde yorumlanabilir.

Hipertansif grupta kasılma yanıtları, Phe'nin ilk 5 dozunda tüm gruplara kıyasla anlamlı arttı. HT+Sita grubuna uygulanan sitagliptin tedavisiyle, kasılma yanıtları hipertansif gruba göre anlamlı azaldı. Sitagliptin uygulanan grupların ilk 3 doz Phe ile kasılma oluşturmayı dikkat çekici oldu. Başlangıçta kasılmaları geciktirmesi ve EC<sub>50</sub> değerlerini tedavi gruplarında anlamlı şekilde kontrole yakınlaştırması ile genel olarak sitagliptinin hipertansiyonda endoteli gerilmeye karşı koruduğu söylenebilir.

Fenilefrinin ilk dozlarında sitagliptin uygulanmış sıçan aortalarında kasılma cevabı alınmayışı, bu ajanın sadece NO biyoyararlanımını artırarak vazodilatasyona katkıda bulunması ile değil, sempatik aktiviteyi baskılaması gibi olası başka mekanizmalarla da endotel koruyucu ve kan basıncını düşürücü etkide bulunabileceğini düşündürdü.

Bu bulgudan yola çıkılarak çalışmamızda sitagliptinin serum tirozin hidroksilaz seviyeleri üzerine etkisi de değerlendirildi. Literatür taramalarımız sonucu, sitagliptinin TH seviyelerine etkisinin analiz edildiği 4 çalışma olduğu görülmüştür. Bu çalışmaların üçü Parkinson hastalığında sitagliptinin etkinliğinin olası koruyuculuğunun değerlendirildiği çalışmalardır. Sitagliptinin etkisi motor performansı artırma, L-Dopa tedavisine bağlı diskineziyi azaltma, hafıza kaybını iyileştirme ve santral sinir sisteminde TH+ hücrelerin artması şeklinde olmuştur (111, 112). Miyokard enfarktüsü sonrası gelişen ventriküler aritmide sitagliptinin etkisinin değerlendirildiği çalışmada ise TH ölçümüyle, sitagliptinin sempatik aktivasyonu baskıladığı sonucuna varılmıştır (96). Bu çalışmada enfarktüs sonrası yükselen TH, sitagliptin uygulaması ile azalmıştır.

Hipertansiyon modeli oluşturmak üzere tarafımızdan da kullanılan L-NAME, NO biyoyararlanımını azaltırken, patoloji ilerledikçe sürece sempatik sistem aktivasyonunun da eklenmesi, katekolamin düzeylerinde artışı da beraberinde getirir. Sempatik hiperaktivasyon döngüyü daha kısır hale getirerek endotel disfonksiyonunu artırabilir. Çalışmamızda hipertansiyon modelinde sitagliptinin TH seviyelerine etkisi ilk kez incelendi. Sonuçlarımız hipertansiyonda TH'nin kontrol grubuna göre

%19'dan fazla arttığını gösterdi. Sitagliptin tedavisinin etkinliği HT+Sita grubunda, hipertansiyon grubuna göre %12'lik azalma ile farkedilebilir düzeydeydi. Örneklem grubunun küçük olmasına bağlı istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da sitagliptinin TH'yi baskılayarak hipertansiyonda sempatik aktiviteyi azalttığı ve süreçteki kısır döngüyü kırmaya yardımcı olduğu söylenebilir.

Bilindiği üzere, NO üretimindeki azalma veya NO'yu inaktive eden süperoksid seviyelerinde artma hipertansiyon gelişiminde anahtar rol oynamaktadır. Bu durumun endotel disfonksiyonuna sebep olduğu da önceki araştırmalarda vurgulanmıştır (15, 46, 114). Hipertansiyonda endotel hasarını gösteren pro-oksidatif bir parametre olan ADMA'nın kan basıncını artırıp, endotel bağımlı vazodilatasyonu azalttığı hem klinik (115, 116) hem de deneysel modellerde gösterilmiştir (117, 118). İntravenöz düşük doz ADMA enjeksiyonu ile 12 gönüllü üzerinde yapılan araştırmada ADMA'nın kan basıncı ile birlikte sistemik vasküler rezistansı da anlamlı artırdığı gözlenmiştir (115). Yine esansiyel hipertansiyon tanısını yeni almış ek hastalığı bulunmayan 19 yetişkin erkeğin, normotansif 11 gönüllü ile kıyaslandığı çalışmada hipertansiyonlu erkeklerin serum ADMA seviyelerinin kontrol grubundan 2 kat fazla olduğu ve L-arjinin/ADMA oranının ise hipertansiyonda anlamlı azaldığı sonucuna ulaşılmıştır (116). ADMA'yı yıkan enzim DDAH'tan genetik olarak eksik bırakılan fareler (DDAH<sup>-/-</sup>) üzerinde yapılan çalışmada, akciğerler, karaciğer, böbrek ve beyinde azalma olmakla birlikte öncelikli üretim yeri olan endotelde DDAH'ın üretiminin azaldığı ve buna bağlı olarak ADMA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. ADMA artışıyla birlikte kuyruktan ölçülen kan basıncında da anlamlı artış görülmüştür. Aynı çalışmada eNOS seviyeleri ve DDAH<sup>-/-</sup> aortik halkalarda ACh gevşeme yanıtları azalmışken, nitroprusid gevşeme yanıtları değişmemiştir (118).

Araştırmalarımıza göre daha önce sitagliptinin serum ADMA seviyelerine etkisi hipertansiyon modelinde değerlendirilmemiştir. Yalnızca karaciğer dokusunda iskemi/reperfüzyona maruz bırakılmış sıçanların ADMA düzeylerine sitagliptinin etkisi bir çalışmada yer almıştır. Sitagliptin uygulanan iskemi grubunda artan DDAH enzimi ile iskemi yapılmadan sadece sitagliptin verilen grubun ADMA değerinin azalması, sitagliptinin korucu olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Bizim çalışmamızda 4 hafta boyunca L-NAME uygulanarak hipertansiyon modeli oluşturulmuş grupta serum ADMA seviyeleri literatürle de uyumlu olarak anlamlı yüksek bulundu. Sitagliptin tedavisi ile HT+Sita grubunda ADMA anlamlı azaldı. Bu sonuç sitagliptinin vasküler dokuyu oksidatif stresten koruduğu şeklinde yorumlanabilir. Oksidatif stresle artan ve endotel disfonksiyonunu gösteren ADMA'nın HT'de artmış olması, çalışmamızın diğer bulgularından olan kan basıncı ve ACh gevşeme sonuçları ile de uyumaktadır. Bu bulgular, hipertansiyonda endotelin hasarlandığı ve vazodilatasyon cevabının bozulduğu gerçeğini destekler niteliktedir.

Sitagliptinin kardiyovasküler olaylar üzerine etkileri önceki çalışmalarda sıklıkla yer almıştır. Ancak altta yatan farklı mekanizmalar ve moleküler yolların ne olduğunu keşfetmek için çalışmalar devam etmektedir. Daha önce de vurgulandığı üzere oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu ile birlikte inflamasyon da hipertansiyon da ana stresörlerdendir. Artmış inflamasyon kalp ve damar yapısına zarar verip kardiyovasküler fonksiyonları azaltabilir.

Kontrolsüz diyabeti ve koroner arter hastalığı olan hastaların yer aldığı klinik bir çalışmada sitagliptin tedavisinin yüksek duyarlıklı c reaktif protein (hsCRP) seviyelerini azalttığı ve endotel fonksiyonunu değerlendiren *Reaktif Hiperemi İndeksi* ile hsCRP düzeyinin anlamlı negatif bir ilişki içinde olduğu bildirilmiştir (119). 5 hafta yüksek tuzlu diyetle beslenmiş Dahl sensitif sıçanlara, tuzlu diyet devam ederken 8 hafta 10 mg/kg sitagliptin verilen başka bir araştırmada ise; miyokardiyal proinflamatuvar sitokinler olan TNF $\alpha$  ile IL-6 seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Ayrıca sitagliptin ROS üretiminden sorumlu eNOS monomer seviyesini azaltırken NO üreten dimerik formunu ise artırmıştır (120).

Hipertansiyonda böbreğin başlıca etkilenen organlardan olduğu bilinmektedir. Böbrekte inflamasyon ve bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonu olur. Önceki çalışmalarda DPP-4İ'lerin diyabetik böbreği oksidatif stres ve inflamasyondan koruduğu belirtilmiştir. Tek taraflı nefrektomi yapılmış ve tek doz doksorubisin ile hipertansiyon oluşturulmuş nondiyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 10 mg/kg dozu ile 6 haftalık sitagliptin uygulamasının böbrekteki inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (121).

Literatürdeki çalışmalar birçok patolojide inflamatuvar parametrelerin artışı ve sitagliptinin bu artışı baskıladığını göstermektedir. Biz de çalışmamızda sitagliptinin inflamasyona etkisini serum ICAM-1 seviyeleri üzerinden değerlendirdik. İnterselüler adezyon molekülü-1, vasküler endotelde plak büyümesi ve instabilitesini destekleyen, lökosit adezyon ve transmigrasyonuna aracılık eden, endotel disfonksiyonunda ve HT’de düzeyi artan inflamasyon belirteçidir (7, 122). ICAM-1’i de içeren endotelial belirteçlerin kan basıncı ile ilişkisi, yüksek rakıma bağlı gelişen hipertansiyonlu olgular ile normotansifler arasında klinik bir araştırmada karşılaştırılmış. HT’li vakaların SKB ile DKB’nin anlamlı yükselmiş ICAM-1 değerleri ile korele olduğu gözlemlenmiştir (123).

Tip 2 DM’li hastalarda günlük 100 mg sitagliptin tedavisinin 6 hafta sonunda inflamatuvar parametreler üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada; sitagliptin alan hastaların CRP, IL-6 ve IL-18 ile birlikte sICAM seviyelerinin de plaseboya göre anlamlı azaldığı görülmüştür. Bu çalışmada dikkat çeken başka bir nokta ise inflamasyon belirteçleri daha yüksek olan deneklerdeki sitagliptin etkinliğinin belirteçleri ılımlı olanlara göre daha belirgin olmasıdır (71). Bu sonuç da bizim sitagliptinin patoloji olması durumunda daha aktif olduğu hipotezimizi destekler.

Güncel bir başka çalışmada önceden metformin kullanıyor olan Tip 2 diyabetli 38 hastanın akut sitagliptin alımı sonrası serum ICAM-1 seviyeleri ölçülmüş, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sitagliptin ile ICAM-1 değerlerinin azaldığı bildirilmiştir (70).

Sitagliptin gibi diğer DPP-4 inhibitörleri de pleiotropik etkileriyle araştırmalarda yer almaktadır. Saxagliptinin 8 hafta süre ile uygulandığı çalışmada; tedavinin glomerüler ve aortik NO salınımını anlamlı artırması ile beraber; peroksinitrit, sICAM-1 ve ortalama arter basıncını da anlamlı azalttığı görülmüştür (124).

Çalışmamızda sICAM-1 seviyelerinin hipertansif grupta anlamlı artışının ardından sitagliptin uygulaması ile anlamlı azaldığı tespit edildi. Sitagliptin ile ICAM-1’de görülen belirgin azalma tedavide etkinliğin antiinflamatuvar yolak üzerinden sağlandığını göstermektedir.

Araştırmamızda sıçan serumlarından ölçümü yapılan bir diğer parametre, rodentlerde insülin sinyal yolağının birçok basamağına müdahale ederek insülin direnci ve obezite durumlarında olgun beyaz adipositlerden salınan resistindir (125). İnsanda ise resistin öncelikli olarak makrofajlardan salgılanır ve asıl görevi inflamatuvar süreçtedir (126). Bir hücre kültürü çalışmasında, insan rekombinant resistini içine inkübe edilen endotel hücrelerinin ET-1 salınımları, NO üretimleri ve VCAM seviyeleri değerlendirilmiştir. ET-1 salınımları ve VCAM seviyeleri artarken, NO üretimlerinin ise değişmediği görülmüştür. Bu çalışmada resistinin ET-1 ekspresyonunu artırarak endotel hücrelerini direkt aktive ettiği kanaatine varılmıştır (127). Deneysel bir çalışmada ise sıçanların resistin düzeyleri ile ET-1 seviyelerinin korelasyonunun kan basıncı artışına sebep olduğu bildirilmiştir (128). Yedi yüz on sekiz hipertansif ve 645 normotansif deneğin yer aldığı bir meta-analizde serum resistin konsantrasyonları ile hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır. Bu kapsamlı çalışmada göze çarpan Asya toplumlarında ve diyabetiklerde bu ilişkinin daha açık olmasıdır (129). İdiyopatik intrakraniyel hipertansiyonu olan hastaların adipokin seviyelerinin değerlendirildiği klinik bir çalışmada ise, resistin düzeylerinde kontrole göre anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (130).

Sitagliptin kardiyovasküler hadiselerin büyük kısmında olumlu etkilere sahiptir. Resistinin de kardiyovasküler olaylarda kötü bir biyobelirteç olduğu görülmektedir. Lee ve ark. (131) enfarktüs sonrası venriküler aritmilerde sitagliptinin etkinliğini sıçanlarda gözlemlemişler ve sitagliptinin aritmileri GIP bağımlı resistin sinyal yolağı ile azalttığı sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda literatürdeki klinik verilerden yola çıkılarak, hipertansiyonda resistin değerlerinin yükselmesi beklenmiştir. Ancak rodentlerde daha çok glukoz metabolizmasına bağlı, insülin direnci durumlarında seviyeleri yükselen resistin, çalışmamızdaki hipertansif modelde beklenildiği kadar yükselmemiştir. Yine sitagliptin uygulamaları resistin değerlerinde anlamlı bir değişime neden olmamıştır. Çalışmadaki L-NAME ve sitagliptin uygulama süreleri resistin plazma seviyelerini değiştirmek için yeterli olmamış olabilir.

Hipertansiyonun multifaktöriyel patofizyolojisinde gen düzeyinde etkili olan mikroRNA'ların endotel, oksidatif stres ve inflamasyon üzerine etkileri çalışmamızın



diğer bulgularını desteklemesi bakımından kıymetli bulunmuştur. Akışa duyarlı mekano-miR'ler olarak bilinen miR-21, 155 ve 181b'nin bu amaçla ölçümü yapılmıştır. Literatür taraması yapıldığında sitagliptinin bu miR'lerin seviyeleri üzerine etkilerinin deneysel hipertansiyonda daha önce değerlendirilmediği görülmüştür. Hipertansiyon ve mikroRNA üzerine yapılan bazı çalışmaların sonuçları ile çalışmamızdaki hipertansiyon sonuçları çoğunlukla korelasyon göstermiştir. 26 hastanın internal mamariyan arterinde artan miR-155 seviyelerinin endotel bağımlı vazodilatasyonu bozduğu gözlenen bir çalışmada, miR-155'in bunu eNOS ve NO salınımını modüle ederek sağladığı ölçümü yapılan nitrit ve nitrat değerleri ile desteklenmiştir (87). Başka bir klinik örnekli ve hücre kültürü ile doğrulanmış çalışmada ise koroner arter bypas cerrahisi veya karotid endarterektomi yapılmış 12 hastadan alınan plaklarda kontrole göre artmış inflamasyon yükselmiş miR-155 seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir ve miR-155 proinflamatuvar kabul edilmiştir (84).

MikroRNA-155 gibi, SHR deneklerde miR-21'in hipertansiyonda arttığı, bu sırada da nükleer faktör kappa b yolağını aktive ederek ROS üretimini indüklediği Li ve ark. (90) çalışmasında izlenmiştir. Artan ROS ve buna bağlı endotel disfonksiyonunun da kan basıncında yükselmeye sebep olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Türkiye'de yürütülmüş klinik bir çalışmada ise hipertansif hastalarda artmış miR-21 ve eNOS ile NO'de azalma ile ilişkili endotel disfonksiyonu arasında anlamlı bir bağlantı gösterilmiştir (91). Aynı yazarların bulunduğu mir-21 ile ilgili başka bir çalışmada, hipertansiyonlu, beyaz önlük hipertansiyonlu ve normotansif hastaların plazmadaki miR düzeyleri karşılaştırılmış. Hipertansiyon tanılı hastaların plazma mir-21 düzeylerinin normotansiflere göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (92).

Çalışmamızda ise hem aorta hem de kandan izole edilen lökositlerde miR-155 ve miR-21 seviyelerinin hipertansif grupta arttığı ve sitagliptin tedavisi ile bu artışın anlamlı şekilde gerilediği görüldü. Bu sonuçlarla hipertansiyonda artıp sitagliptin tedavisi ile azalan proinflamatuvar olduğu kabul edilen miR-155, çalışmamızın diğer bulgularından inflamatuvar bir parametre olan ICAM-1'in sonuçları ile korelasyon göstermekte ve hipertansiyonda erken dönemde meydana gelen inflamasyonu yansıtmaktadır. Hipertansif grupta yükselmiş seviyelerinin ROS artışını beraberinde

getirdiği miR-21'in sitagliptin tedavisi ile 14 günde seviyeleri anlamlı şekilde düşürmesi NOS inhibitörü olan ADMA'ya dair sonuçlarımızla uyuşmaktadır Öte yandan eNOS inhibisyonu ile NO salınımını azaltan miR-155'in vazodilatasyonu bozması ve bu durumun sitagliptin eklenen hipertansiyon grubunda gerilemesi, çalışmamızın invitro kasılma-gevşeme cevapları ve ADMA seviyelerinin değişimi ile benzerlik göstermektedir. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde mir-155'in endotel disfonksiyonunu göstermede, miR-21'in oksidatif stres belirteci olarak iyi birer biyobelirteç olabilecekleri ve miR-155 ile mir-21'in endotel disfonksiyonunda hipertansiyonda tedavi hedefleri olabilecekleri düşünülebilir. Sitagliptin de mikroRNA seviyelerinde azalma sağlaması ile endotel disfonksiyonunda ve inflamasyonda koruyucu etkisini bir kez daha göstermiştir.

Endotel hücreleri döngüsü, inflamasyon, NO sinyal yollarında etkin olan olan miR-181b'nin NF-kB yolağını inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterdiği bilinmektedir (94). Ayrıca hipertansiyonda endotel disfonksiyonu ile beraber akım stresinin artması sonucu miR-181b seviyeleri yükselmekte ve artan miR-181b damarı koruyucu etki sağlamaktadır (95).

Çalışmamızın sonuçlarında da literatürle uyumlu olacak şekilde hipertansiyonda koruyucu olarak kanda miR181b değerleri artmıştır. Bu artışın yalnızca kanda olması, aort dokusunda gözlenecek değişiklik için deney süresinin yeterli olmayışından kaynaklanmış olabilir. Sitagliptin verilen gruplarda ise bu ajanın daha önceden ICAM-1 seviyeleri ile kanıtlanmış antiinflamatuvar, ADMA ve invitro gevşeme cevapları ile desteklenmiş endotel koruyucu etkileri sayesinde, miR181b seviyelerinin gerilediği gözlenmiştir. Sitagliptinin uygulandığı gruplarda anlamlı sonuçlar sağlaması, ilerde bu alanda yapılacak çalışmalar için yol gösterici olabilir.

Araştırmamızda sitagliptinin sıçanların vücut ağırlıklarına etkisi de değerlendirilmiştir. Önceki çalışmalara bakıldığında sitagliptinin vücut ağırlığı üzerine etkisi konusunda tam bir fikir birliği yoktur. Deneysel bir çalışmada L-NAME ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanların 6 haftalık 10 ve 30 mg/kg dozlar ile almış oldukları sitagliptin tedavisi sonrası vücut ağırlıkları değişmemiştir (132). İn-vitro verilerinin daha önce paylaşıldığı bir çalışmada ise, 20 mg/kg/gün dozuyla 6 hafta uygulanan sitagliptin tedavisi ile diyabetik sıçanların vücut ağırlıklarında azalma gözlenmiştir (107). Cox ve ark. (133) çalışmalarında 14 günlük sitagliptin

uygulamasının vücut ağırlığına etkisinin görülmesi için kısa bir süre olduğunu vurgulamışlardır. Aynı çalışmanın 4,5 ay süresince sitagliptin alan deneklerinde ise kilo kaybı olduğu gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda sitagliptin 14 gün süre ile uygulanmıştır. Bu sürede gruplar arası vücut ağırlıklarında istatistiksel bir fark oluşmadı. On dört günlük tedavi süresi kilolar üzerine etkinin gözlenebilmesi için kısa olabilir. Ancak grup içi analizlerde hipertansiyon ve kontrol grubu sıçanların kilo alımlarının başlangıçtan 28. güne anlamlı arttığı, sitagliptin uygulanan gruplarda (Sita, HT+Sita) ise 14-28. günler arasında kilo alımının anlamlı olmadığı görüldü. Bu durumda sitagliptinin sıçanların kilo alımlarını baskıladığı söylenebilir.

### **Sonuç ve Öneriler:**

Nitrik oksit sentetaz enzimi inhibisyonu sonucu endotel disfonksiyonu ile gelişen hipertansiyon oluşumuna katılımları ile ADMA, ICAM-1 ve Tirozin hidroksilazın birer biyobelirteç ve tedavi planlamada önemli hedef olabilecekleri düşünülebilir. Ek olarak çalışmamızın sonuçlarına göre gen düzeyinde hipertansiyon patogenezinde yer alan özellikle miR155, miR21 ve miR181b'nin NO salınımı, ROS üretimi ve inflamasyona etkileri ile hipertansiyonda hem diagnostik hem de tedavide hedeflenebilir moleküller olabilirler.

Sitagliptinin;

Muhtemel NO biyoyararlanımını, endotel bağımlı asetilkolin gevşeme cevaplarını artırması ve/veya, NOS inhibitörü ve oksidatif hasar göstergesi ADMA'yı ayrıca hipertansiyonda yükselerek NO salınımını azaltan miRNA-155 ve ROS'u indükleyerek endotel disfonksiyonunda rol alan miRNA-21'i azaltması,

İnflamatuvar süreçte rol alan ICAM-1 ile miR-21, miRNA-155 ve miRNA-181b seviyelerini düşürmesi,

Sempatik sistemde hız kısıtlayıcı enzim tirozin hidroksilaz inhibisyonu ile sempatik aktiviteyi azaltması,

Adrenerjik reseptör duyarlılığını azaltarak Phe kasılma cevaplarını baskılaması,

Endotel ve damar tonusunun korunmasına, böylece kan basıncını düşürmedeki etkisine aracılık etmiş olabilir.

Daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmasıyla birlikte, prevalansı hızla artan majör hastalıklarda yeni ilaç hedefleri haline gelen barsak salınımı GLP-1 ve GIP yıkımını inhibe eden diyabetteki kullanımı kanıtlanmış sitagliptin, kan basıncındaki birkaç milimetrecivalık düşüşlerin bile kardiyovasküler olaylarda riski ciddi azalttığı ve henüz mevcut antihipertansiflerin kan basıncı kontrolündeki yararlarının kısıtlı olduğu düşünülürse; selektif hasta gruplarında hipertansiyon tedavisinde klinik çalışmalar için umut vadedebilir.



## 5. KAYNAKLAR

1. Türk Kardiyoloji Derneği Ulusal Hipertansiyon Tedavi ve Takip Kılavuzu. www.tkd.org.tr. Erişim tarihi 05.02.2019.
2. Brook RD, Appel LJ, Rubenfire M, Ogedegbe G, Bisognano JD, Elliott WJ, et al. Beyond medications and diet: alternative approaches to lowering blood pressure: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* 2013; 61: 1360-1383.
3. Kilickap M, Barcin C, Goksuluk H, Karaaslan D, Ozer N, Kayikcioglu M, et al. Data on prevalence of hypertension and blood pressure in Turkey: Systematic review, meta-analysis and meta-regression of epidemiological studies on cardiovascular risk factors. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2018; 46: 525-545.
4. World Health Organization. A global brief on hypertension. Silent killer, global public health crisis. World Health Day 2013. 2015. www.who.gov.en. Erişim Tarihi: 12.01.2019
5. Hay SI, Jayaraman SP, Manzano AGC, Millier A, Kemmer L, Bell B, et al. Global regional and national comparative risk assessment of 79 behavioural environmental and occupational and metabolic risks or clusters of risks 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease. *Lancet* 2017; 389: 1659-1724.
6. Hocher B, Reichetzeder C, Alter ML. Renal and cardiac effects of DPP4 inhibitors- from preclinical development to clinical research. *Kidney Blood Press Res* 2012; 36: 65–84.
7. Akhilesh R, Ravi N. Is there a role for incretin system in blood pressure regulation? *Curr Hypertension Rep* 2014; 16: 417.
8. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360: 1903-1913.
9. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J* 2018; 39: 3021–3104.

10. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Handler J, Ogedegbe O, et al. Evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults. report from the panel members appointed to the eighth joint national committee. JAMA 2014; 311: 507-520.
11. Weber MA, Schiffrin EL, White WB, Mann S, Lindholm LH, Kenerson JG, et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American society of hypertension and the international society of hypertension. J Clin Hypertens 2014; 16: 14-26.
12. TEMD. Hipertansiyon Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2018. www.temd.org.tr Erişim Tarihi 08.11.2018.
13. Yu K, Lu D, Rowland NE, Raizada MK. Angiotensin II regulation of tyrosine hydroxylase gene expression in the neuronal cultures of normotensive and spontaneously hypertensive rats. Endocrinology 1996; 137: 3566–3576.
14. Soto-Piña AE, Franklin C, Rani CS, Gottlieb H, Hinojosa-Laborde C, Strong R. A novel model of dexamethasone-induced hypertension: Use in investigating the role of tyrosine hydroxylase. JPET 2016; 358: 528-536.
15. Lüscher TF, Raji L, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive dahl rats. Hypertension 1987; 9: 157-163.
16. Gkaliagkousi E, Gavriilaki E, Triantafyllou A, Douma S. Clinical significance of endothelial dysfunction in essential hypertension. Curr Hypertens Rep 2015; 17: 85-89.
17. Cekmen MB, Turgut M, Turkoz Y. Nitric oxide and nitric oxide synthase physiologic and pathologic characteristics. Türkiye Klinikleri J Ped 2001; 10: 226-235.
18. Ibrahim MA, Geddawy A, Abdel-Wahab S. Sitagliptin prevents isoproterenol-induced myocardial infarction in rats by modulating nitric oxide synthase enzymes. Eur J Pharmacol 2018; 829: 63-69.
19. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri 2000; 20: 107-11.

20. Forstermann U, Gath I, Schwarz P, Closs EI, Kleinert H. Isoforms of nitric oxide synthase. Properties, cellular distribution and expressional control. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 1321-1332.
21. Tsai EJ, Kass DA. Cyclic GMP signaling in cardiovascular pathophysiology and therapeutics. *Pharmacol Ther* 2009; 122: 216-238.
22. Pravenec M, Zidek V, Landa V, Kostka V, Musilova A, Kazdova L, et al. Genetic analysis of cardiovascular risk factor clustering in spontaneous hypertension. *Folia Biol (Praha)* 2000; 46: 233-240.
23. Intengan HD, Park JB, Schiffrin EL. Blood pressure and small arteries in DOCA-salt-treated genetically AVP-deficient rats: role of endothelin. *Hypertension* 1999; 34: 907-913.
24. Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RM, Moncada S. Nitric oxide synthase inhibitors cause sustained, but reversible, hypertension and hindquarters vasoconstriction in brattleboro rats. *Eur J Pharmacol* 1992; 213: 449-451.
25. Türkiye Diyabet Programı 2015-2020. [https://extranet.who.int/ncdccs/Data/TUR\\_D1\\_Türkiye%20Diyabet%20Programı%202015-2020](https://extranet.who.int/ncdccs/Data/TUR_D1_Türkiye%20Diyabet%20Programı%202015-2020). Erişim tarihi. 06.02.2019.
26. Huang ES. Management of diabetes mellitus in older people with comorbidities. *BMJ* 2016; 353: 2200-2208.
27. TEMD Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu-2018. [www.temd.org.tr](http://www.temd.org.tr). Erişim Tarihi 08.01.2019.
28. Turnbull F, Neal B, Algert C, Chalmers J, Chapman N, Cutler J. Effects of different blood pressure-lowering regimens on major cardiovascular events in individuals with and without diabetes mellitus: results of prospectively designed overviews of randomize trial. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1410-1419.
29. Tarkun İ. Oral Antidiabetics. *T Klin J Endocrin-Special Topics* 2015; 8: 62-66.
30. Jia Y, Lao Y, Zhu H, Li N, Leung SW. Is metformin still the most efficacious first-line oral hypoglycaemic drug in treating type 2 diabetes? A network meta-analysis of randomized controlled trials. *Obesity Rewievs* 2018; 20: 1-12.

31. La Barre J, Still EU. Studies on the physiology of secretin. III. further studies on the effects of secretin on the blood sugar. *Am J Physiol* 1930; 91: 649–653.
32. Jens F Rehfeld. The origin and understanding of the incretin concept. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9: 387-391.
33. Farilla L, Bulotta A, Hirshberg B, Li Calzi S, Khoury N, Noushmehr H. Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *Endocrinology* 2003; 144: 5140-5158.
34. Sayan ÖH, Bayraktaroğlu T. Glukagon benzeri peptid-1'in sinir sistemi ve iştah kontrolü üzerine etkileri. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi* 2017; 1: 1-6.
35. Shah Z, Kampfrath T, Deuliis JA, Zhong J, Pineda C, Ying Z, et al. Long-term dipeptidyl-peptidase 4 inhibition reduces atherosclerosis and inflammation via effects on monocyte recruitment and chemotaxis. *Circulation* 2011; 124: 2338-2349.
36. Noyan-Ashraf MH, Shikatani EA, Schuiki I, Mukovozov I, Wu J, Li RK, et al. A glucagon-like peptide 1 analog reverses the molecular pathology and cardiac dysfunction of a mouse model of obesity. *Circulation* 2013; 127: 74-85.
37. Doyle ME, Egan JM. Mechanisms of action of GLP-1 in the pancreas. *Pharmacol Ther* 2007; 113: 546-593.
38. Brown J, Dupre SA, Ross D, Watson JC. Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 37: 826–828.
39. Mietlicki-Baase EG, Koch-Laskowski K, McGrath LE, Krawczyk J. Daily supplementation of dietary protein improves the metabolic effects of GLP-1-based pharmacotherapy in lean and obese rats. *Physiology & Behavior* 2017; 177: 122-128.
40. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: their role in health and disease. *Diabetes Obes Metab* 2018; 1: 5-21.
41. Munir KM, Lamos EM. Diabetes type 2 management: what are the differences between DPP-4 inhibitors and how do you choose? *Expert Opin Pharmacother* 2017; 18: 839-841.



42. Duvnjak L, Blaslov K. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors improve arterial stiffness, blood pressure, lipid profile and inflammation parameters in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr* 2016; 8: 26-32.
43. Al-Awar A, Almási N, Szabó R, Takacs I, Murlasits Z, Szűcs G, et al. Novel potentials of the DPP-4 inhibitor sitagliptin against ischemia-reperfusion (I/R) injury in rat ex-vivo heart model. *Int J Mol Sci* 2018; 19: 3226.
44. Jackson EK, Dubinion JH, Mi Z. Effects of dipeptidyl peptidase IV inhibition on arterial blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 29-34.
45. Dobrian AD, Ma Q, Lindsay JW, Leone KA, Ma K, Coben J, et al. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin reduces local inflammation in adipose tissue and in pancreatic islets of obese mice. *J Physiol Endocrinology Metab* 2011; 300: 410-421.
46. Jackson EK, Mi Z, Tofovic SP, Gillespie DG. Effect of dipeptidyl peptidase 4 inhibition on arterial blood pressure is context dependent. *Hypertension* 2015; 65: 238-349.
47. Dror D. DDP-4 Inhibitors: Impact on glycemic control and cardiovascular risk factors. *Diabetes Care* 2011;34: 276-278.
48. Amori RE, Lau J, Pittas AG. Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007; 298: 194-206.
49. Wang H, Zhou Y, Guo Z, Dong Y, Xu J, Huang H. Sitagliptin attenuates endothelial dysfunction of Zucker diabetic fatty rats: implication of the antiperoxynitrite and autophagy. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2018; 2: 66-78.
50. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S. Sitagliptin augments protective effects of GLP-1 against advanced glycation end product receptor axis in endothelial cells. *Horm Metab Res* 2011; 43: 731-734.
51. Ferreira L, Teixeira-de-Lemos E, Pinto F, Parada B, Mega C, Vala H, et al. Effects of sitagliptin treatment on dysmetabolism, inflammation, and oxidative stress in an animal model of type 2 diabetes (ZDF rat). *Mediators Inflamm* 2010; 2010: 11-19.

52. Liu L, Liu J, Wong WT, Tian XY, Lau CW, Wang YX, et al. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor sitagliptin protects endothelial function in hypertension through a glucagon-like peptide 1-dependent mechanism. *Hypertension* 2012; 60: 833-841.
53. Wang X, Hausding M, Weng SY, Kim YO, Steven S, Klein T. Gliptins suppress inflammatory macrophage activation to mitigate inflammation, fibrosis, oxidative stress, and vascular dysfunction in models of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis. *Antioxid Redox Signal* 2018; 10; 28: 87-109.
54. Omoto S, Taniura T, Nishizawa T, Tamaki T, Shouzu A, Nomura S. Anti-atherosclerotic effects of sitagliptin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2015; 8: 339-345.
55. McCormick LM, Kydd AC. Chronic dipeptidyl peptidase-4 inhibition with sitagliptin is associated with sustained protection against ischemic left ventricular dysfunction in a pilot study of patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Imaging* 2014; 7: 274-281.
56. Wong WT, Tian XY, Huang Y. Endothelial dysfunction in diabetes and hypertension: cross talk in RAS, BMP4, and ROS-dependent COX-2-derived prostanoids. *J Cardiovasc Pharmacol* 2013; 61: 204-214.
57. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1149–1160.
58. Harrison DG, Gongora MC. Oxidative stress and hypertension. *Med Clin North Am* 2009; 93: 621–635.
59. Sena CM, Pereira AM, Seica R. Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1832: 2216-2231.
60. Kurioka S, Koshimura K, Murakami Y, Nishiki M, Kato Y. Reverse correlation between urine nitric oxide metabolites and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrine Journal* 2000; 47: 77–81.
61. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *J Clin Exp Inv* 2015; 6: 331-333.

62. Li JM, Shah AM. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287: 1014-1030.
63. Pope AJ, Karupiah K, Cardounel AJ. Role of the PRMT-DDAH-ADMA axis in the regulation of endothelial nitric oxide production. *Pharmacol Res* 2009; 60: 461-465.
64. Boger RH, Ron ES. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern Med Rev* 2005; 10: 14-23.
65. KeKurt TG, Yaman H, Çakır E, Akgül EÖ, Çaycı T. Metabolism of asymmetric dimethylarginine and its clinical significance. *Turk J Biochem* 2012; 37: 99-105.
66. Beltowski J, Kedra A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacol Rep* 2006; 58: 159-178.
67. Schlaich MP, Parnell MM, Ahlers BA, Finch S, Marshall T, Zhang WZ, et al. Impaired L-arginine transport and endothelial function in hypertensive and genetically predisposed normotensive subjects. *Circulation* 2004; 110: 3680-3686.
68. Hu Y, Liu HB, Simpson RW, Dear AE. GLP-1-dependent and independent effects and molecular mechanisms of a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor in vascular endothelial cells. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 2273-2279.
69. Tong S, Neboori HJ, Tran ED, Schmid-Schönbein GW. Constitutive expression and enzymatic cleavage of ICAM-1 in the spontaneously hypertensive rat. *J Vasc Res* 2011; 48: 386-396.
70. Widlansky ME, Puppala VK, Suboc TM, Malik M, Branum A, Signorelli K. Impact of DPP-4 inhibition on acute and chronic endothelial function in humans with type 2 diabetes on background metformin therapy. *Vasc Med* 2017; 22: 189-196.
71. Tremblay AJ, Lamarche B, Deacon CF, Weisnagel SJ, Couture P. Effects of sitagliptin therapy on markers of low-grade inflammation and cell adhesion molecules in patients with type 2 diabetes. *J Metabolism* 2014; 63: 1141-1148.
72. Fadini GP, Avogaro A. Cardiovascular effects of DPP-4 inhibition: beyond GLP-1. *Vascul Pharmacol* 2011; 55: 10-16.

73. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005; 96: 939-949.
74. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 300: 472-476.
75. Chen C, Jiang J, Lü JM, Chai H, Wang X, Lin PH, Yao Q. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299: 193–201.
76. Zhang M, Cui H, Zhu BP, Fu SH. Association of serum resistin with cystatin C and urinary albumin-to-creatinine ratio in elderly Chinese men with essential hypertension. *Postgrad Med J* 2015; 91: 132-137.
77. Fang C, Lei J, Zhou SX, Zhang YL, Yuan GY, Wang JF. Association of higher resistin levels with inflammatory activation and endothelial dysfunction in patients with essential hypertension. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126: 646-649.
78. Derosa G, Carbone A, D'Angelo A, Querci F, Fogari E, Cicero AF, Maffioli P. Variations in inflammatory biomarkers following the addition of sitagliptin in patients with type 2 diabetes not controlled with metformin. *Intern Med* 2013; 52: 2179-2187.
79. Lee TM, Chen WT, Chang NC. Sitagliptin decreases ventricular arrhythmias by attenuated glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)-dependent resistin signalling in infarcted rats. *Biosci Rep* 2016; 25; 36-42.
80. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: 69–73.
81. Ryszard Nosalski, Eilidh McGinnigle, Mateusz Siedlinski. Novel Immune Mechanisms in Hypertension and Cardiovascular Risk. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 2017; 11: 12.
82. Dominika Klimczak, Krystian Jazdzewski, Marek Kuch. Regulatory mechanisms in arterial hypertension: role of microRNA in pathophysiology and therapy. *Blood Pressure* 2017; 26: 1.

83. Kumar S1, Kim CW1, Simmons RD1, Jo H. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs. 2014; 34(10): 2206-2216.
84. Jun Zhang, Fei Zhao, Xiaoling Yu, Xiang Lu, Guofeng Zheng. MicroRNA-155 modulates the proliferation of vascular smooth muscle cells by targeting endothelial nitric oxide synthase. *Int J Mol Med* 2016; 35(6): 1708-1714.
85. Huang Y, Chen J, Zhou Y, Tang S, Li J, Yu X, Mo Y, Wu Y, Zhang Y, Feng Y. Circulating miR155 expression level is positive with blood pressure parameters: Potential markers of target-organ damage. *Clin Exp Hypertens* 2016; 38: 331-336.
86. Yang LX, Liu G, Zhu GF. MicroRNA-155 inhibits angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, 2014: 15: 109–116.
87. Sun HX, Zeng DY, Li RT, Pang RP, Yang H, Hu YL, et al. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension* 2012; 60(6): 1407–1414.
88. Ji R, Cheng Y, Yue J. MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation. *Circ Res* 2007: 100:1579–1588.
89. Kontaraki JE, Marketou ME, Parthenakis FI, Maragkoudakis S, Zacharis EA, Petousis S, et al. Hypertrophic and antihypertrophic microRNA levels in peripheral blood mononuclear cells and their relationship to left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. *J Am Soc Hypertens*, 2015; 9(10):802-810.
90. Li H, Zhang X, Wang F, Zhou L, Yin Z, Fan J, et al. MicroRNA-21 lowers blood pressure in spontaneous hypertensive rats by upregulating mitochondrial translation. *Circulation*. 2016;134: 734–751.
91. Cengiz M, Yavuzer S, Kılıçkiran Avcı B, Yürüyen M, Yavuzer H, Dikici SA, et al. Circulating miR-21 and eNOS in subclinical atherosclerosis in patients with hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2015; 37(8): 643-649.

92. Cengiz M, Karatas OF, Koparir E. Differential expression of hypertension-associated microRNAs in the plasma of patients with white coat hypertension: *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: 693.
93. Li TJ, Chen YL, Gua CJ, Xue SJ, Ma SM, Li XD. MicroRNA 181b promotes vascular smooth muscle cells proliferation through activation of PI3K and MAPK pathways. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 1; 8(9): 10375-10384.
94. Sun X, Icli B, Wara AK, Belkin N, He S, Kobzik L, et al. MicroRNA-181b regulates NF- $\kappa$ B-mediated vascular inflammation. *J Clin Invest* 2012; 122(6): 1973-90.
95. Nemezc M, Alexandru N, Tanko G, Georgescu A. Cite as Role of MicroRNA in Endothelial Dysfunction and Hypertension *Current Hypertension Reports* December 2016; 18: 87.
96. Jackson KL, Marques FZ, Watson AM, Palma-Rigo K, Nguyen-Huu TP, Morris BJ, et al. A novel interaction between sympathetic overactivity and aberrant regulation of renin by miR-181a in BPH/2J genetically hypertensive mice. *Hypertension* 2013; 62(4): 77581
97. De Gennaro CV, Fioretti S, Rigamonti A, Bonomo S, Manfredi B, Muller EE, et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonism improves endothelial vasodilator function in L-NAME-induced hypertensive rats by a kinin-dependent mechanism. *J Hypertens* 2006; 24: 95-102.
98. Bilanda DC, Dzeufiet PDD, Kouakep L, Aboubakar BFO, Tedong L, Kamtchouing P, Dimo T. *Bidens pilosa* ethylene acetate extract can protect against L-NAME-induced hypertension on rats. *BMC Complement Altern Med* 2017; 17: 479-484.
99. Simko F, Baka T, Poglitsch M, Repova K, Aziriova S, Krajcirovicova K, et al. Effect of ivabradine on a hypertensive heart and the renin-angiotensin-aldosterone system in L-NAME-induced hypertension. *Int J Mol Sci* 2018; 3; 19-23.
100. Duvnjak L, Blaslov K. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors improve arterial stiffness, blood pressure, lipid profile and inflammation parameters in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr* 2016; 8: 26-32.

101. Yuasa S, Sato K, Furuki T, Minamizawa K, Sakai H, Numata Y, et al. Primary care-based investigation of the effect of sitagliptin on blood pressure in hypertensive patients with type 2 diabetes. *J Clin Med Res* 2017; 9: 188–192.
102. Türk E. Hipertansif Diyabetik Hastaların Tedavisine Sitagliptin (Dipeptidil Peptidaz-4 İnhibitörü) Eklenmesinin Kan Basıncı Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, Ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD, 2010.
103. Pacheco BP, Crajoinas RO, Couto GK, Davel AP, Lessa LM, Rossoni LV, Girardi AC. Dipeptidyl peptidase IV inhibition attenuates blood pressure rising in young spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2011; 29: 520-528.
104. Giannocco G, Oliveira KC, Crajoinas RO, Venturini G, Salles TA, Fonseca-Alaniz MH, et al. Dipeptidyl peptidase IV inhibition upregulates GLUT4 translocation and expression in heart and skeletal muscle of spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 2013; 698: 1-3.
105. Nakamura K, Oe H, Kihara H, Shimada K, Fukuda S, Watanabe K, et al. DPP-4 inhibitor and alpha-glucosidase inhibitor equally improve endothelial function in patients with type 2 diabetes: EDGE study. *Cardiovasc Diabetology* 2014; 13: 110-116.
106. Huang CY, Shih CM, Tsao NW, Lin YW, Huang PH, Wu SC, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor improves neovascularization by increasing circulating endothelial progenitor cells. *Br J Pharmacol* 2012; 167: 1506–1519.
107. Nade SV, Kawale LA, Patel KM. Protective effect of sitagliptin and rosuvastatin combination on vascular endothelial dysfunction in type-2 diabetes. *Indian J Pharm Sci* 2015; 77: 96–102.
108. Kim HJ, Baek EB, Kim SJ. Potentiation of endothelium-dependent vasorelaxation of mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats by gemigliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor class of anti-diabetic drug. *Korean J Physiol Pharmacol* 2018; 22: 713-719.
109. Tang ST, Su H, Zhang Q, Tang HQ, Wang CJ, Zhou Q, et al. Sitagliptin inhibits endothelin-1 expression in the aortic endothelium of rats with streptozotocin-induced

- diabetes. by suppressing the nuclear factor- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$  system through the activation of AMP-activated protein kinase. *Int J Mol Med* 2016; 37: 1558-1566.
110. Nader MA. Sitagliptin ameliorates lipid profile changes and endothelium dysfunction induced by atherogenic diet in rabbits. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2014; 387: 433-444.
  111. Badawi GA, Abd El Fattah MA, Zaki HF, El Sayed MI. Sitagliptin and liraglutide modulate L-dopa effect and attenuate dyskinetic movements in rotenone-lesioned rats. *Neurotox Res* 2019 [Epub ahead of print]
  112. Li J, Zhang S, Li C, Li M, Ma L. Sitagliptin rescues memory deficits in parkinsonian rats via upregulating BDNF to prevent neuron and dendritic spine loss. *Neurol Res* 2018; 40: 736-743.
  113. Lee TM, Chen WT, Chang NC. Sitagliptin decreases ventricular arrhythmias by attenuated glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)-dependent resistin signalling in infarcted rats. *Biosci Rep* 2016; 25: 36-42.
  114. Gkaliagkousi E, Gavriilaki E, Triantafyllou A, Douma S. Clinical significance of endothelial dysfunction in essential hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2015; 17: 8591-8594.
  115. Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1455-1459.
  116. Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 652-658.
  117. Crane BR, Arvai AS, Ghosh DK, Wu C, Getzoff ED, Stuehr DJ. Structure of nitric oxide synthase oxygenase dimer with pterin and substrate. *Science* 1998; 279: 2121-2126.
  118. Hu XL, Xu X, Zhu GB, Atzler D, Kimoto M, Chen J, et al. Vascular endothelial-specific dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 deficient mice reveal that



vascular endothelium plays an important role in removing asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2009; 120: 2222-2229.

119. Matsubara J, Sugiyama S, Akiyama E, Iwashita S, Kurokawa H, Ohba K. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, sitagliptin, improves endothelial dysfunction in association with its anti-inflammatory effects in patients with coronary artery disease and uncontrolled diabetes. *Circ J* 2013; 77: 1337-1344.
120. Esposito G, Cappetta D, Russo R, Rivellino A, Ciuffreda LP, Roviezzo F. Sitagliptin reduces inflammation, fibrosis and preserves diastolic function in a rat model of heart failure with preserved ejection fraction. *Br J Pharmacol* 2017; 174: 4070-4086.
121. Jo CH, Kim S, Park JS, Kim GH. Anti-inflammatory action of sitagliptin and linagliptin in doxorubicin nephropathy. *Kidney and Blood Pressure Research* 2018; 43: 987-999.
122. Marfella R, Esposito K, Giunta R, Coppola G, De Angelis L, Farzati B. Circulating adhesion molecules in humans: role of hyperglycemia and hyperinsulinemia. *Circulation* 2000; 101: 2247-2251.
123. Yanamandra U, Singh SP, Yanamandra S, Mulajkar D, Grewal RS, Singh S. Endothelial markers in high altitude induced systemic hypertension (HASH) at moderate high altitude. *Med J Armed Forces India* 2017; 73: 363-369.
124. Mason RP, Jacob RF, Kubant R, Ciszewski A, Corbalan JJ, Malinski T. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition with saxagliptin enhanced nitric oxide release and reduced blood pressure and sICAM-1 levels in hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012; 60: 467-473.
125. Kosari S, Rathner JA, Chen F, Kosari S, Badoer E. Centrally administered resistin enhances sympathetic nerve activity to the hindlimb but attenuates the activity to brown adipose tissue. *Endocrinology* 2011; 152: 2626-2633.
126. Filkova M, Haluzik M, Gay S, Senolt L. The role of resistin. *Clin Immunol* 2009; 133: 157-170.
127. Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel RD, Mickle DA. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation* 2004; 108: 736-740.

128. Chuang TY, Au LC, Wang LC, Ho LT, Yang DM, Juan CC. Potential effect of resistin on the ET-1-increased reactions of blood pressure in rats and Ca<sup>2+</sup> signaling in vascular smooth muscle cells. *J Cell Physiol* 2012; 227: 1610-1618.
129. Zhang Y, Li Y, Yu I, Zhou L. Association between serum resistin concentration and hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8: 41529–41537.
130. Samancı B, Samancı Y, Tüzün E, Altıokka-Uzun G, Ekizoğlu E, İçöz S, et al. Evidence for potential involvement of pro-inflammatory adipokines in the pathogenesis of idiopathic intracranial hypertension. *Cephalalgia* 2017; 37: 525-531.
131. Lee TM, Chen WT, Chang NC. Sitagliptin decreases ventricular arrhythmias by attenuated glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)-dependent resistin signalling in infarcted rats. *Biosci Rep* 2016; 36: 00307.
132. Abd El Mottelab DM, Elshazly SM. Renoprotective effect of sitagliptin against hypertensive nephropathy induced by chronic administration of L-NAME in rats: Role of GLP-1 and GLP-1 receptor. *Eur J Pharmacol* 2013; 158-165.
133. Cox AR, Lam CJ, Rankin MM, Rios JS, Chavez J, Bonnyman CW, et al. Incretin therapies do not expand  $\beta$ -Cell mass or alter pancreatic histology in young male mice. *Endocrinology* 2017; 158: 1701-1714.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

Merve Yılmaz Bozoğlan, 1983 Sivas doğumludur. İlkokul, ortaokul ve liseyi Elazığ ilinde tamamlayıp, 2001 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde (İngilizce) lisans eğitime başlamıştır. 2008 yılında aynı fakülteden mezun olup, hekimlik mesleğine ilk görev yeri olan Erzurum ili Pasinler ilçesi Ana-Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması biriminde başlamıştır. 2010 yılında tıpta uzmanlık sınavıyla Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları'ndaki eğitimini aynı yıl noktalamış ve Van İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı Stok koordinasyon, AÇSAP-AP birimleri ve görevlendirme ile 4 ay Van Devlet Hastanesi'nde acil hekimi olarak çalışmıştır. Buradaki görevinden 2012 yılında Ankara Başkent Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimi almak için ayrılmıştır. Anestezi uzmanlık eğitimindeki 2 yıllık sürenin ardından bu görevinden, eş durumu sebebiyle geçiş yaptığı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi'nden ayrılmıştır. 2015 yılından itibaren Fırat Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki görevine halen devam etmektedir.

İyi derecede İngilizce bilen Yılmaz Bozoğlan evli ve iki çocuk annesidir.

### Yayınları:

1. Bozoğlan A, Dundar S, Yildirim TT, Bulmus O, Ertugrul AS, Bozoğlan MY, Tekin S, Toy VE. Effects of different levels of restraint stress on bone-implant contact. J Craniofac Surg 2018
2. Kitap bölümü çevirisi: Kwong TC, Magnani B, Rosano TG, Shaw LM. Klinik Toksikoloji Laboratuvarı Zehirlenme Değerlendirilmesinin Çağdaş Uygulaması. Şahna E, Bozoğlan MY (Çeviren) s.11-22, Elazığ, Nobel Tıp Kitapevleri, 2017.
3. Çeğin MB, Soyoral L, Yüzkat N, Bozoğlan MY, Göktaş U. Aydınlatılmış anestezi onamı alınan hastada etik belirsizlik (Olgu Sunumu). TARK 2014.

### Sözlü Sunum ve Bildiriler:

1. Bozoğlan MY, Onat E, Etem E, Sahna E. Sitagliptin attenuates blood pressure, endothelial dysfunction and inflammation in experimental

hypertension. 3rd international congress of Turkish Neuroendocrinology Society, Malatya, 2018 (Sözlü sunum).

2. Aslan G, Bozoğlan MY. Protection of atorvastatin against oxidative stress in renal hypercholesterolemia induced by high cholesterol diet. 1. Uluslararası Battalgazi Multidisipliner alışmalar Kongresi, Malatya, 2018 (Sözlü sunum).

3. Aslan G, Onat E, Yeşil B, Yılmaz M, Sezgin D, Bahçeci E, şahna E. Deneysel hiperkolesterolemi beyin stat-3 düzeyi üzerine melatoninin etkilerinin araştırılması, Trabzon, 2017.

**Sahip olduğu sertifikalar:**

1. Rahim içi araç (RIA) uygulama sertifikası

**Katıldığı kurslar:**

1. Toksikoloji Kursu, Eskişehir, 2017

2. Gelişimsel Kalça Displazisi Kursu, Ankara, 2010

3. Birinci Basamak Aile Hekimliği Uygulama Eğitimi, Ankara, 2009