

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA SUBPRESSÖR DOZLARDA  
N<sup>o</sup>-NİTRO-L-ARGİNİN (L-NNA) UYGULAMASI VE TUZ  
YÜKLEMESİYLE GELİŞTİRİLEN HİPERTANSİYONDA,  
OKSİDATİF STRES ve VASKÜLER ALFA ADRENERJİK  
RESEPTÖRLERİN KATILIMININ ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Selçuk İLHAN**

**TEZ DANIŞMANI:  
Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU**

**ELAZIĞ  
2009**

**DEKANLIK ONAYI**

Prof. Dr. İrfan ORHAN

**DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU

**Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı**

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

Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU \_\_\_\_\_ **Danışman**

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Ahmet AYAR \_\_\_\_\_

Doç. Dr. Ayhan DOĞUKAN \_\_\_\_\_

Doç. Dr. Selim KUTLU \_\_\_\_\_

Doç. Dr. Engin ŞAHNA \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık sürecimin başından beri eğitimimde ve akademik çalışmalarında maddi ve manevi desteğini hiç eksiltmeyen değerli hocam Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU'ya, gerek asistanlığım süresince eğitim faaliyetlerinde gerekse diğer proje çalışmalarında ilgi ve desteğiyle katkısını unutmayacağım Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi hocam Doç. Dr. Engin ŞAHNA'ya, laboratuvar çalışmalarında önemli desteğini gördüğüm Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Salih KUK'a ve yardımlarından dolayı bölüm personelimize teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin hazırlanmasında finansman desteği sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

Yüksek tuz diyetiyle beraber subpressör dozlarda *N*<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine (L-NNA) uygulaması ratlarda hipertansiyona neden olmaktadır. Sempatik sinir sistemi, vasküler alfa-adrenerjik reseptör duyarlılığı ve oksidatif stresin bu modeldeki rolü açık değildir. Bu modelde tuza bağımlılığın, Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibisyonunun büyüklüğü, vasküler alfa-adrenerjik reseptör duyarlılığı veya artmış oksidatif stresle ilişkisi olup olmadığını belirlemek için, erişkin Sprague-Dawley ratlara standart (% 0.8) veya yüksek tuz (% 8) içeren diyet ve günlük 5 veya 25 mg/kg oral L-NNA tedavisi uygulandı. Kan basıncı tail-cuff yöntemi, plazma NOx düzeyleri spektrofotometre, idrar ve serum elektrolitleri, idrar kreatinin ve protein otoanalizör ile, idrar 8-izoprostan ve prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) Eliza ve idrar vanililmandelikasit (VMA), homovanilikasit (HVA) ve 5-hidroksiindolasetikasit (5-HIAA) yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) metodu kullanılarak ölçüldü. Alfa-adrenerjik reseptör yanıtları izole torasik aorta halkalarında “*in vitro*” şartlarda değerlendirildi. Düşük doz L-NNA tedavisi, beraberinde tuz yüklemesi yapıldığında kan basıncı artışına neden oldu. Yüksek doz L-NNA alan ratlarda hipertansiyon tuzun artırılmasıyla şiddetlendi. Çalışmanın 14. gününde düşük dozda L-NNA ile birlikte yüksek tuz diyeti alan grupta idrar VMA düzeyleri, diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulundu. Aynı zamanda bu grupta alfa-1 adrenerjik reseptör duyarlılığı anlamlı olarak düştü. L-NNA veya tuz diyeti idrar 8-izoprostan seviyelerinde değişiklik yapmazlarken birlikte uygulandıklarında önemli değişikliklere neden oldular. Bu bulgular gösterir ki; subpressör dozda L-NNA ile beraber yüksek tuz diyeti verilmesiyle hipertansiyon gelişiminde sempatik sinir sistemi aktivasyonu yanında kısmen de olsa oksidatif stres katılımcı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Hipertansiyon, L-NNA, 8-izoprostan, tuz diyeti, vanililmandelik asit.

## ABSTRACT

### **The Participations of Oxidative Stress and Vascular Alpha Adrenoceptor Responsiveness in Hypertension Generated by Co-administration of High Salt Diet and Subpressor Dose of L-NNA (N<sup>ω</sup>-Nitro-L-Arginin) in Rats.**

Co-administration of subpressor doses of N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine (L-NNA) and high salt diet (8 %) leads to hypertension. The roles of sympathetic nervous system, vascular alpha-adrenergic receptor responsiveness and oxidative stress in this model of hypertension is unclear. To verify whether salt dependence in this model is related to the extent of nitric oxide inhibition, vascular adrenoceptor responsiveness and increased oxidative stress, we administrated to adult male Sprague-Dawley rats a standard salt, or high salt diet and oral L-NNA treatment at either 5 or 25 mg/kg per day. Blood pressure was measured by using tail-cuff method, plasma NOx levels were measured by spectrophotometrically, urine and serum electrolytes, urine creatinin and protein by autoanalyser, urine 8-isoprostane and Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) by ELISA, and urine vanillylmandelic acid (VMA), homovanillic acid (HVA) and 5-Hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. Alpha-adrenergic receptor responses in isolated thorasic aorta rings were evaluated in “*in vitro*” conditions. Low-dose L-NNA treatment induced a blood pressure augmentation only when associated with sodium overload. In rats receiving high-dose L-NNA, hypertension was aggravated by sodium excess. At 14<sup>th</sup> days of treatment, the urine VMA levels was significantly increased in rats receiving low-dose L-NNA with high salt diet compared with others. Also, vascular alpha-1 adrenergic receptor sensitivity in this group was significantly decreased. Administration of L-NNA or high salt diet did induce any changes in urine 8-isoprostane levels, whereas co-administration of L-NNA with high salt diet induced important changes. These findings indicate that the sympathetic nervous system activation and partly oxidative stress may participate in the development of hypertension induced by co-administration of high salt diet with subpressor dose of L-NNA in rats.

**Key words :** hypertension, L-NNA, 8-isoprostane, salt diet, vanillylmandelic acid

## İÇİNDEKİLER

KONU .....	SAYFA NO
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Kan basıncını belirleyen faktörler ve esansiyel hipertansiyonun tanımı.....	2
1.2. Esansiyel hipertansiyona katılımcı olduğu düşünülen patofizyolojik olaylar.....	3
1.2.1. Hemodinamik değişiklikler.....	4
1.2.1.1. Kardiyak değişiklikler.....	4
1.2.1.2. Periferik arter değişiklikleri.....	4
1.2.2. Genetik etkenler.....	4
1.2.3. Aşırı tuz alımı.....	4
1.2.4. Renal kaynaklı sodyum ve su retansiyonu.....	4
1.2.4.1. Basınç-natriürezisi (guyton hipotezi).....	4
1.2.4.2. Natriüretik hormon ve vazopressin.....	5
1.2.5. Azalmış nefron kitlesi.....	5
1.2.6. Renin-angiotensin-aldosteron sistem (RAAS) değişiklikleri.....	5
1.2.7. Stres ve artmış sempatik aktivite.....	6
1.2.8. Hücre membranındaki anormallikler ve iyon transportundaki değişiklikler	7
1.2.9. Damar endoteli disfonksiyonu.....	7
1.2.9.1. Nitrik oksit.....	7
1.2.9.2. Prostaglandinler.....	8
1.2.9.3. Endotelin.....	8
1.2.10. Obezite.....	8
1.2.11. Anormal steroid metabolizması.....	8
1.2.12. Vazoaktif peptidler.....	8
1.2.13. Kalsiyum-PTH metabolizması.....	9
1.2.14. Sigara.....	9
1.2.15. Alkol.....	9
1.2.16. Fiziksel inaktivite.....	9
1.3. Deneysel hipertansiyon modelleri.....	10
1.3.1. Genetik indüklü hipertansiyon.....	10
1.3.2. Çevresel indüklü hipertansiyon.....	11
1.3.3. Farmakolojik indüklü hipertansiyon.....	11
1.3.4. Renal indüklü hipertansiyon.....	11
1.4. Diyetle sodyum miktarı ve esansiyel hipertansiyonla ilişkisi.....	12
1.4.1. Aşırı sodyum alımı.....	12
1.4.2. Diyetle klorür.....	13
1.4.3. Sodyum duyarlılığı.....	13
1.4.4. Na-K-ATPaz inhibitör kuramı.....	13
1.5. Nitrik oksit ve fizyopatolojik önemi.....	13
1.5.1. NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon.....	16
1.5.2. NOS inhibitörleri ve doz-etki ilişkisi.....	18
1.5.3. Akut NOS inhibisyonu.....	20
1.5.4. Kronik NOS inhibisyonu.....	20
1.5.5. NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyonda katılımcı olduğu düşünülen mekanizmalar.....	21
1.5.5.1. Artmış damar direnci.....	21

1.5.5.2. Sempatoadrenerjik aktivasyon.....	21
1.5.5.3. Bozulmuş basınç natriürezisi ve tuz dengesi.....	22
1.5.5.4. Oksidatif stress artışı.....	23
1.5.5.5. Renal prostatiklin yapımında azalma.....	25
1.6. Çalışmanın amacı.....	26
<b>2.GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>27</b>
2.1. Denekler.....	27
2.2. Tuz uygulama.....	27
2.3. L-NNA uygulamaları.....	27
2.4. Deney protokolü.....	27
2.4.1. Gruplar.....	27
2.4.2. Kan basıncı ölçümleri.....	28
2.4.3. İdrar örneklerinin toplanması.....	28
2.4.4. Cerrahi uygulamalar.....	28
2.4.5. İn vitro deneyler.....	28
2.4.6. Biyokimyasal analizler.....	29
2.4.6.1. Serum NOx ölçümleri.....	29
2.4.6.2. Serum ve idrar Na <sup>+</sup> ve K <sup>+</sup> ölçümleri.....	30
2.4.6.3. İdrar 8-isoproston ve prostatiklin ölçümü.....	30
2.4.6.4. İdrar katekolamin metabolitleri ölçümü.....	30
2.4.6.5. İdrar Albümin ve kreatinin ölçümleri.....	30
2.4.7. İstatistiksel analiz.....	30
2.4.8. Kullanılan Kimyasallar.....	30
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>31</b>
3.1. İlaç Alımı.....	31
3.2. Deneklerin gelişimleri.....	31
3.2.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamalarının deneklerin gelişimi üzerine etkisi.....	31
3.2.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının deneklerin gelişimlerine etkileri.....	32
3.3. Metabolik Çalışmalar.....	32
3.3.1. Yem alımı.....	32
3.3.1.1. Normal veya Yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama yem alımları üzerine etkileri.....	32
3.3.1.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının yem alımı üzerine etkileri.....	33
3.3.2. Su alımı.....	33
3.3.2.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama su alımları üzerine etkileri.....	33
3.3.2.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının su alımı üzerine etkileri.....	34
3.3.3. İdrar çıkarma.....	34
3.3.3.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama idrar hacimleri üzerine etkileri.....	35
3.3.3.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının günlük idrar hacmi üzerine etkileri.....	35
3.3.4. Ortalama günlük su dengesi.....	36
3.3.4.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama su dengesi üzerine etkileri.....	36
3.3.4.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının günlük ortalama su dengesi üzerine etkileri.....	37

3.3.5. Kan basınçları.....	37
3.3.5.1. Normal tuz oranına sahip diyet alan ratlarda, artan dozlarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının sistolik kan basınçları üzerine etkileri.....	38
3.3.5.2. Yüksek tuz oranına sahip diyet alan ratlarda, artan dozlarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının sistolik kan basınçları üzerine etkileri.....	38
3.3.6. Biyokimyasal analizler.....	42
3.3.6.1. İdrarda son gün potasyum düzeyleri.....	42
3.3.6.1.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin son gün idrarda potasyum atılımları üzerine etkileri.....	43
3.3.6.1.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının son gün idrarda potasyum atılımları üzerine etkileri.....	43
3.3.6.2. İdrarda son gün sodyum düzeyleri.....	43
3.3.6.2.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deney sonu 24 saatlik Na <sup>+</sup> atılımlarına etkisi.....	43
3.3.6.2.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu 24 saatlik Na <sup>+</sup> atılımları üzerine etkileri.....	44
3.3.6.3. Serumda son gün Na <sup>+</sup> düzeyleri.....	44
3.3.6.3.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deney sonu serum sodyum seviyeleri üzerine etkileri.....	46
3.3.6.3.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu serum Na <sup>+</sup> seviyeleri üzerine etkileri.....	46
3.3.6.4. Sodyum dengesi .....	47
3.3.6.4.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deney sonu Na <sup>+</sup> dengesi üzerine etkileri.....	47
3.3.6.4.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu Na <sup>+</sup> dengesi üzerine etkileri.....	48
3.3.6.5. İdrarda 24 saatlik protein atılımı.....	48
3.3.6.5.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin son gün 24 saatlik idrar proteini üzerine etkileri.....	48
3.3.6.5.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının son gün 24 saatlik idrar proteini üzerine etkileri.....	48
3.3.6.6. İdrar 24 saatlik kreatinini.....	49
3.3.6.6.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin 24 saatlik idrar kreatinini üzerine etkileri.....	49
3.3.6.6.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrar kreatinini üzerine etkileri.....	50
3.3.6.7. Serum NOx düzeyleri .....	50
3.3.6.7.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin serum NOx seviyeleri üzerine etkileri.....	51
3.3.6.7.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının serum NOx seviyeleri üzerine etkileri.....	53
3.3.6.8. İdrar Katekolamin, Dopamin ve Serotonin Metabolitleri.....	53
3.3.6.8.1. İdrarda 24 saatlik Vanililmandelikasit (VMA) atılımı.....	53
3.3.6.8.1.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin deney sonu 24 saatlik idrarda VMA atılımlarına etkisi.....	53
3.3.6.8.1.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrarda VMA atılımları üzerine etkileri.....	53



3.3.6.8.2. İdrarda 24 saatlik homovanilikasit (HVA) atılımı.....	54
3.3.6.8.2.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin deney sonu 24 saatlik idrarda HVA atılımları üzerine etkileri.....	54
3.3.6.8.2.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu 24 saatlik idrarda atılımları üzerine etkileri.....	55
3.3.6.8.3. İdrarda 24 saatlik 5-hidroksiindolasetikasit (5-HİAA) atılımı.....	56
3.3.6.8.3.1.“Normal” veya “Yüksek” tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin 24 saatlik idrarda 5-HİAA atılımları üzerine etkileri.....	56
3.3.6.8.3.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrarda 5-HİAA atılımları üzerine etkileri .....	57
3.3.6.8.4. İdrarda 24 saatlik 8-İzoproston atılımı.....	57
3.3.6.8.4.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının, deneklerin 24 saatlik idrarda 8-izoproton atılımı üzerine etkisi.....	57
3.3.6.8.4.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrarda 8-isoprostane atılımı üzerine etkileri.....	58
3.3.6.8.5. İdrarda 24 saatlik Prostatiklin atılımı.....	58
3.3.6.8.5.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının deneklerin deney sonu 24 saatlik idrarda prostatiklin atılımları üzerine etkileri.....	59
3.3.6.8.5.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu 24 saatlik idrarda prostatiklin atılımları üzerine etkileri.....	60
3.4. İn-Vitro Çalışmalar .....	60
3.4.1. Fenilefrin için maksimum kasılma (Emax) yanıtı.....	60
3.4.1.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının fenilefrin Emax’ı üzerine etkileri.....	60
3.4.1.2. Diyetle yüksek tuz uygulamasının fenilefrin Emax’ı üzerine etkileri.....	60
3.4.2. Fenilefrin EC50 değerleri.....	61
3.4.2.1. Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamasının Fenilefrin EC50 değerleri üzerine etkileri.....	62
3.4.2.2.Diyette yüksek tuz uygulamasının Fenilefrin EC50 değerleri üzerine Etkileri.....	62
<b>4. TARTISMA.....</b>	<b>64</b>
<b>5. KAYNAKLAR.....</b>	<b>76</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>97</b>

## TABLO LİSTESİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
<b>Tablo 1</b>	: Tüm gruplarda 0., 7. ve 14. günlerde sistolik kan basıncı değerleri.	<b>37</b>
<b>Tablo 2</b>	: Tüm gruplarda uygulanan ilaç dozu, yem ve su alımları, idrar hacmi ve ağırlık değişimleri.	<b>41</b>
<b>Tablo 3</b>	: Tüm gruplarda idrar ve kanda sodyum ve potasyum değerleri ve deney sonu sodyum dengesi.	<b>45</b>
<b>Tablo 4</b>	: Tüm gruplarda idrar katekolamin metabolitleri, 8-izoprostan, prostasiklin ve serum NOx değerleri.	<b>52</b>
<b>Tablo 5</b>	: Tüm gruplarda Fenilefrin EC50 ve EMAX değerleri.	<b>63</b>

## SEKİL LİSTESİ

Şekil No:	Açıklama	Sayfa No
Şekil 1	: Jukstaglomerüler aparat.	6
Şekil 2	: Hipertansif hayvan modelleri.	10
Şekil 3	: 14 günlük % vücut ağırlığı artışları.	31
Şekil 4	: 14 günlük ortalama yem alımları.	33
Şekil 5	: 14 günlük ortalama su alımları.	34
Şekil 6	: Ortalama günlük idrar hacmi .	35
Şekil 7	: Ortalama günlük su dengesi.	36
Şekil 8	: Sistolik kan basınçlarına L-NNA ve tuz diyetinin etkisi.	38
Şekil 9	: Tüm gruplarda 0., 7. ve 14. günlerde SKB grafiği	40
Şekil 10	: İdrarda son gün potasyum düzeyleri.	42
Şekil 11	: Deney sonu idrarda 24 saatlik sodyum atılımı.	44
Şekil 12	: Serumda son gün Na <sup>+</sup> düzeyi	46
Şekil 13	: Deney sonu sodyum dengesi	47
Şekil 14	: Deney sonu idrarda günlük total protein.	49
Şekil 15	: Deney sonu 24 saatlik idrar kreatinini	50
Şekil 16	: Deney sonu serum NOx seviyeleri	51
Şekil 17	: Deney sonu 24 saatlik idrarda VMA seviyeleri.	54
Şekil 18	: Deney sonu 24 saatlik idrarda HVA seviyeleri.	55
Şekil 19	: Deney sonu 24 saatlik idrarda 5-HİAA seviyeleri.	56
Şekil 20	: Deney sonu 24 saatlik idrarda 8-izoprostan seviyeleri.	58
Şekil 21	: Deney sonu 24 saatlik idrarda prostasiklin seviyeleri.	59
Şekil 22	: Fenilefrin Emax/ KCI Emax değerleri.	61
Şekil 23	: Fenilefrin EC50 değerleri.	62

## KISALTMALAR LİSTESİ

Kısaltma	Açıklama
<b>2BİK</b>	: 2 böbrek 1 klemb
<b>5-HİAA</b>	: 5-hidroksi-indol-asetikasit
<b>ADE</b>	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
<b>ANF</b>	: Atrial Natriüretik Faktör
<b>AT-I</b>	: Anjiyotensin1
<b>AT-II</b>	: Anjiyotensin 2
<b>AVP</b>	: Arjinin-Vazopressin
<b>BH4</b>	: Tetrahidrobiyopterin
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	: Kalsiyum
<b>cGMP</b>	: Siklik Guanozin Monofosfat
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz
<b>DKB</b>	: Diyastolik Kan Basıncı
<b>DOCA</b>	: Deoksikortikositeron Asetat
<b>DS Rat</b>	: Dahl's salt sensitive rat
<b>EDRF</b>	: Endotelyumdan Derive Gevşetici Faktör
<b>eNOS</b>	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
<b>FAD</b>	: Flavin Adenin Dinükleotid
<b>FMN</b>	: Flavin Mononükleotid
<b>GCA</b>	: Guanilat siklaz aktivitesi
<b>GFH</b>	: Glomeruler filtrasyon hızı
<b>HT</b>	: Hipertansiyon
<b>IP3</b>	: İnozitoltrifosfat
<b>iNOS</b>	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
<b>JGA</b>	: Juxtaglomerüler Aparat
<b>KH</b>	: Kalp Hızı
<b>L-NAME</b>	: N <sup>0</sup> -Nitro-L-Arjinin Metil Ester
<b>L-NMMA</b>	: N <sup>0</sup> -Monometil-L-Arjinin
<b>L-NNA</b>	: N <sup>0</sup> -Nitro-L-Arginin
<b>Na<sup>+</sup></b>	: Sodyum
<b>nNOS</b>	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz

---

<b>NO</b>	:	Nitrik Oksit
<b>NOS</b>	:	Nitrik Oksit Sentaz
<b>NOx</b>	:	Nitrit/Nitrat
<b>NTS</b>	:	Nükleus Traktus Solitarius
<b>OKB</b>	:	Ortalama Kan Basıncı
<b>PVN</b>	:	Paraventriküler Nükleus
<b>PGI2</b>	:	Prostasiklin
<b>RAAS</b>	:	Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi
<b>RKA</b>	:	Renal Kan Akımı
<b>SD</b>	:	Sprague-Dawley
<b>SH</b>	:	Spontan Hipertansif
<b>SHR</b>	:	Spontan Hipertansif Rat
<b>SKB</b>	:	Sistolik Kan Basıncı
<b>SOR</b>	:	Serbest Oksijen Radikalleri

---

## 1 GİRİŞ:

Esansiyel hipertansiyonda kan basıncı artışının gelişme ve yerleşme mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu multifaktoriyel mekanizmaların aydınlatılması amacıyla çalışılan deneysel hipertansiyon modellerinden birisi de, güçlü vazodilatör nitrik oksit, nitrik oksit sentaz inhibitörleri uygulamasıyla oluşturulan inhibisyonu sonucu gelişen hipertansiyondur. Farklı doz ve sürelerde uygulanan NOS inhibitörlerinin kan basıncında yükselmeler meydana getirdiği iyi bilinmektedir. Ancak meydana gelen hipertansiyonun şiddeti ve karakteri uygulanan NOS inhibitörlerinin dozlarına ve uygulama sürelerine bağlı olarak değişmektedir. Yüksek dozda NOS inhibitörü uygulamasında hipertansiyonun gelişmesi ve yerleşmesi daha kısa sürede olurken, düşük dozda NOS inhibitörü uygulamasında hipertansiyonun gelişmesi için çok daha uzun süreler gereklidir ve yerleşmesine dair bilgi bulunmamaktadır. Bu model hipertansiyonun gelişmesi ve yerleşmesinden sorumlu mekanizmalar, araştırmacılar tarafından yoğun bir biçimde çalışılmasına rağmen, henüz tam olarak tanımlanamamıştır. Yüksek dozda kronik NOS inhibitörü uygulamasıyla oluşturulan hipertansiyonda, nitrik oksit sentezinin total inhibisyonu sonucu periferik direnç artışı birinci derecede rol oynarken, renal tuz ve su tutulumu, sempatik sistem aktivasyonu ve oksidatif stres artışı gibi faktörlerin de, gelişen hipertansiyona katıldıklarına dair bulgular vardır. Total NOS inhibisyonu sonucu gelişen hipertansiyonun yerleşmesi, renal ve vasküler yapısal değişikliklerle beraber seyrederek. Bunun yanında subpressör olarak bilinen daha düşük dozlarda NOS inhibitörlerinin uygulanmasıyla oluşturulan kısmi NOS inhibisyonu sonucu hipertansiyon gelişmesi kısa sürelerde mümkün olmamaktadır. Tuza dirençli normotensif ratlarda tuz yüklemesinin kan basıncını etkilemediği bilinmektedir. Ancak, total NOS inhibisyonu sonucu hipertansiyon gelişen ratlarda tuz yüklemesi, hipertansiyonu anlamlı olarak şiddetlendirmektedir. Bu durumda meydana gelen hipertansiyona, sempatik aktivasyon artışı, oksidatif stres ve tuz tutulumunun eşlik ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, NOS inhibitörü kısmi inhibisyon yapan ve hipertansiyon geliştirmeyen dozlarda, normotansif ratlara tuz yüklemesiyle beraber uygulandığında kan basıncında 2. haftada artma gözlemlenmiş olmasına rağmen, mekanizması üzerine hiçbir yaklaşım yapılamamıştır. Oysa, tek başına tuz yüklemesi yapılan tuza dirençli normotensif ratlarda kan basıncı artmamasına

rağmen, tuz yüklemesinin oksidatif strese ve prostasiklin düzeylerinde azalmaya neden olduğu bilinmektedir. İlginç olarak, tuza duyarlı normotensif ratların prostasiklin düzeyleri tuza dirençli ratlardakilerden anlamlı olarak daha düşüktür. Tuza dirençli ratlara tuz yüklemesi yapıldığında prostasiklin düzeyleri tuza duyarlı ratların prostasiklin seviyelerine düşmektedir.

Kan basıncının kontrolünde ve lokal kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynayan güçlü vazodilatör prostasiklinin renal komponentinin tuza dirençlilikte katkısı bilinmemektedir. Tek başlarına kan basıncını etkilemeyen kısmi NOS inhibisyonu ve tuz yüklemesi, birlikte uygulandıklarında oluşturdukları hipertansiyonda, sempatik sinir sistemi aktivitesinin ve oksidatif stresin katkıları ne derecede olduğuna dair veriler ise sınırlı sayıdadır.

### **1.1 Kan basıncını belirleyen faktörler ve esansiyel hipertansiyonun tanımı :**

Arteriyel kan basıncını oluşturan faktörler, kalp debisi (kardiyak output) ve sistemik damar direncidir. Kan basıncı = Kalp Debisi X Periferik Damar Direnci , olup birimi mmHg'dir (1). Arterdeki maksimum kan basıncını ifade eden sistolik kan basıncı (SKB) kalp atım hacmi ve aortanın gerilebilirliği (distansibilitesi) tarafından belirlenirken, arterdeki minimum kan basıncının karşılığı olan diyastolik kan basıncı (DKB) periferik damar direnci tarafından belirlenmektedir. Ortalama kan basıncı (OKB)=DKB+(SKB-DKB)/3 formülüyle ifade edilmektedir. Kan basıncı, kalp debisi ile total periferik direncin çarpımlarıyla doğru orantılı bir seyir izlediğinden, hipertansiyon durumunda doğal olarak bu iki değişkenden birisinde artma beklenilebilir. Kalp debisini, atım hacmi (stroke volüm) ile kalp hızının çarpımı belirlerken, sistemik damar direncini, damar çapı, damar duvarının yapısı ve damar düz kaslarının tonüsü gibi faktörler belirler. Atım hacmini ön yük, art yük ve kalbin kasılma gücü etkilerken, damar düz kaslarının tonusunda çeşitli nörojenik, humoral, miyojenik ve lokal damar faktörlerinin etkili olduğu bilinmektedir (2). Bununla birlikte kan basıncı, kalp debisi, periferik damar direnci arasındaki ilişki basit bir formüle indirgenemeyecek kadar karışıktır. Bu iki değişkeni etkileyen farklı mekanizmalar konusudur (3, 4).

Hipertansiyon, kalp ve böbrek yetersizliği, inme ve nihayetinde ölüme yol açabilen kardiyovasküler hastalıkların yaygın bir nedenidir. Toplumda tespit edilme

sıklığı ve neden olabileceği komplikasyonlar açısından bakıldığında ciddi bir sağlık problemidir. Dünya nüfusunun % 20 den fazlasını etkilediği tahmin edilmektedir (2). Sıklığı ırk ve coğrafyalara göre değişmekle beraber, ABD, Avrupa ve diğer bir çok ülkede erişkin popülasyonun yaklaşık %25'inde hipertansiyon vardır. ABD de yapılan bir çalışmaya göre 65 yaş ve üzeri beyazlarda ~% 40, aynı grup zencilerde ise ~% 50 oranında kişi yüksek kan basıncının herhangi bir formundan yakınmaktadır (5).

Hipertansiyon, birincil (primer, esansiyel) ve ikincil (sekonder) olarak ikiye ayrılır. Birincil hipertansiyon, olguların yaklaşık % 90 dan fazlasını oluşturmaktadır (6). Geride kalan bölüm ise sekonder hipertansiyon olarak tanımlanır. Hipertansiyonun tespit edilme sıklığı yaşla ilişkilidir; yaş ilerledikçe tespit edilme sıklığı, komplikasyonları ve buna bağlı ölüm oranı artar. Yirmi yaş altı bireylerde primer hipertansiyon çok seyrek tespit edilir ve genç bireylerde kan basınç yüksekliği sıklıkla sekonder nedenlere bağlıdır (7). Primer hipertansiyonun tespit edilme sıklığı bakımından cinsler arasında da farklılıklar vardır. Genç erişkinlik ve orta yaş altı dönemde; erkeklerde daha sık tespit edilirken orta yaş üstünde ; kadınlarda daha sık tespit edilir. Orta yaş üstündeki kadın/erkek oranı 3/2 dir. Primer hipertansiyonun ırklar arasında tespit edilme sıklığı da farklılık gösterir. Siyah ırkta daha sık tespit edilmektedir. Primer hipertansiyon açısından, her iki ırkta da eğitim düzey düşüklüğü ve sosyoekonomik düzey düşüklüğü ile gittikçe artış gösteren bir ilişki tespit edilmiştir (2, 8).

Hipertansiyon uzun yıllar klinik belirti oluşturmadan kalabildiği gibi, tedavi edilmeyen hipertansiyonun, kalp yetmezliği, koroner kalp hastalığı, hemorajik ve trombotik inme, böbrek yetersizliği, periferik arter hastalığı, aort diseksiyonu ve ölüm oranını arttırdığı ortaya koymuştur (1). Etkili tedavi uygulanan hastalarında inme, kalp yetersizliği, ve miyokard infarktüsü riskinde anlamlı azalmalar meydana gelmektedir (2).

## **1.2 Esansiyel hipertansiyona katılımcı olduğu düşünülen patofizyolojik durumlar:**

Esansiyel (primer) hipertansiyon, progresif seyirli ve multifaktöriyel nedenli olduğu düşünülen fakat, henüz oluş mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamış bir hastalıktır. Progresif seyirli olan bu patolojik durumun temelinde sodyum hipotezi, dokuların sempatik etkinliğe cevaplarındaki artış, baroreseptör duyarlılığın



değişmesi, oksidativ stres artışı, renin-anjiyotensin sisteminde anormal aktivasyon ve renal sodyum tutulumu artışı gibi değişimlerin olabileceği ileri sürülmüştür.

### **1.2.1 Hemodinamik değişiklikler :**

#### **1.2.1.1 Kardiyak değişiklikler :**

Erken yaşta, yüksek kan basıncına sahip ve dolaşımı hiperkinetik olan bazı kişilerde kalp debisinin artmış olduğu bulunmuştur. Ancak kalp debisindeki artış hipertansiyonun başlamasından sorumlu olsa bile, yerleşmiş hipertansif durumda kalp debisinde artış olmamaktadır (2).

#### **1.2.1.2 Periferik arter değişiklikleri :**

Damar direncindeki (periferik rezistans) yükselme, çapı 1mm'nin altında olan distal arteriyolleri ilgilendirir. Yüksek kan basınçlı kişilerin, deri altı yağ dokularındaki küçük direnç damarlarının, normal kan basınçlılarla karşılaştırılması ile yapılan çalışmalarda, media kalınlığı/iç çap oranında %26-62 arasında değişen artışlar saptanmıştır (2).

### **1.2.2 Genetik Etkenler :**

Esansiyel hipertansiyonun patogenezi açısından önemli faktörlerden birisidir. Bu konuda birden fazla genin ilgisi olduğu ileri sürülmektedir. Epidemiyolojik araştırmalar, genetik faktörlerin hipertansiyon patogenezinde %30-60 gibi önemli derecede rol oynadığı göstermiştir (2). Eğer her iki ebeveynde hipertansif ise çocuklarda hipertansiyon prevalansı %46, bir ebeveyn ise %28, her iki ebeveyn normatansif ise %3 düzeyinde kalmaktadır (9) .

### **1.2.3 Aşırı Tuz Alımı :**

(Bknz. Konu 1.4.1.)

### **1.2.4 Renal Kaynaklı Sodyum ve Su Retansiyonu :**

#### **1.2.4.1 Basınç-natriürezis (Guyton Hipotezi):**

Bu konseptte göre renal sodyum atılımı kan basıncı tarafından kontrol edilir (10, 11) ve bu basit mekanizma bir çok nörohumoral kontrol sistemleri tarafından ayarlanılır (12). Eğer vücutta fazla tuz alımı meydana gelirse uzun dönemde kan basıncı değerleri değişmeden sistemik kan basıncında artmalar, renal intersitisyel alana iletilmekte ve fazla tuz yükünün atılımı sağlanmaktadır. Bu mekanizmada bir

buzulma (NOS inhibitörü uygulama vs..) meydana gelirse basınç natriürezis eğrisi yüksek kan basıncı olarak kabul edilen daha yüksek bir değere ayarlanmakta ve bu kısır döngünün esansiyel hipertansif olgularda hastalığın başlangıcında ve devamlılığında etkili bir faktör olabileceği ileri sürülmektedir (12).

#### **1.2.4.2 Natriüretik hormon :**

Periferde damar genişletici etkisi vardır, dolayısı ile kan basıncını düşürür. Atriyumlarda hacim genişlemesine cevap olarak sentezlenir. Sodyum atılımını artırıcı etkisi glomeruler filtrasyon hızı (GFH)'ndaki artış sonucudur. Aferent arteriyolu genişletir, eferent arteriyolu daraltır. Norepinefrin, AII, AVP gibi ajanlar tarafından daha önce daraltılmış damarlarda gevşeme yapar. Renin ve aldosteron salınımlarını baskılar (2).

#### **1.2.4.3 Vazopressin :**

Vazopressin (ADH), plazma ozmolaritesinin yükselmesine yanıt olarak arka hipofizden salgılanır. Bunun sonucunda sodyum ve su tutulması uyarılır. Sodyum tutulmasının fizyolojik önemi açık değildir.

#### **1.2.5 Azalmış nefron kitlesi :**

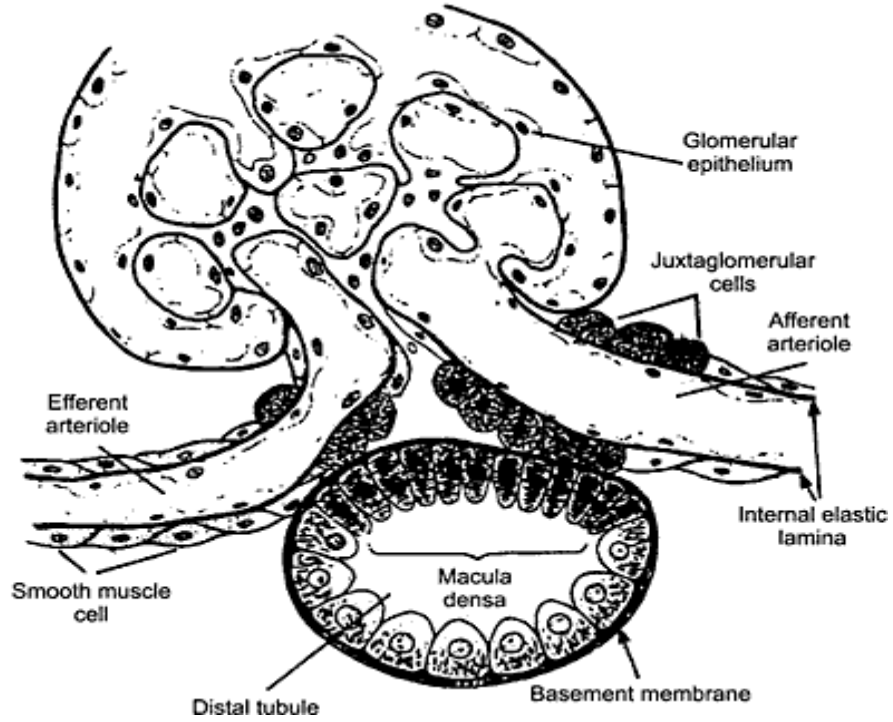
Bu hipotezde hipertansiyonun, nefron sayısında ya da glomerül başına filtrasyon yüzey alanındaki doğumsal bir azalma sonucunda ortaya çıkabileceği öne sürülmektedir.

#### **1.2.6 Renin-angiotensin-aldosteron sistem (RAAS) değişiklikleri :**

Renin, aferent arterioldeki juxtaglomerüler (JG) hücrelerden prorenin olarak salgılanır. Bu hücreler Henle'nin çıkan bacağına macula densa hücrelerine ve glomerülün merkezindeki mezangiyal hücrelere yakındırlar ve burada hep birlikte JG aparatı oluştururlar (JGA) (Şekil 1). Böbrek, dolaşıma aktif renin salar. Prorenin böbrek ve böbrek dışı dokular tarafından salınırsa da çevre dolaşımında renine dönüştürülemez. Bundan dolayı plazma renin düzeyi böbrekler tarafından belirlenir. Renin karaciğerden salgılanan anjiyotensinojenin, anjiyotensin I'e (6) dönüşmesini sağlar. AT-I anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) ile anjiyotensin II'ye (AT-II) değiştirilir. ADE damar genişletici olan bradikinini ise inaktive eder. ADE bütün organların damar yataklarında ve özellikle akciğer damar yatağında bol olarak

bulunur. AT-II, böbrek üstü bezi korteksinden aldosteron salgılatan ve çevresel damar direncini artıran güçlü bir damar daraltıcıdır. Renin salgılanmasını sağlayan 3 faktör vardır:

1. Macula densaya gelen sodyum klorür yoğunluğunun azalması,
2. Glomerul aferent arteriyollerindeki basıncın azalması,
3.  $\beta$ 1 sempatik aktivasyon.



Şekil 1: Jukstaglomerüler aparat .

Primer HT’de, yüksek veya normal kan hacmi ve yüksek kan basıncının etkilerine uygun olarak renin salıverilmesinde baskılanma ve dolayısıyla düşük plazma renin düzeyleri beklenir. Fakat hastaların çoğunda renin düzeyleri normal ya da yüksek bulunur. Bu düzeylerin uygunsuz olması, akla hastalık patogenezinde reninin direkt bir rol oynayıp oynamadığını getirmiştir. Primer HT bulunan bir çok hastada bu mekanizma anormal şekilde etkilenmiş olabilir.

### 1.2.7 Stres ve aşırı sempatik aktivite :

Sempatik sinir sistemi aktivitesinde artış, kan basıncını belirgin derecede yükseltebilir, ayrıca bir çok yüksek kan basınçlı kişide tespit edilen artmış kalp hızından da sorumlu olabilir. Aralıklarla yaşanan stresler sonucu böbrek üstü bezinin

medullasından salgılanan katekolaminler; hem kan basıncında yükselmeyi başlatan presör mekanizma olmaya, hem de kan basıncı yüksekliğini damar hipertrofisi yoluyla sürdüren trofik mekanizma olmaya en iyi adaydır(2).

### **1.2.8 Hücre membranındaki anormallikler ve iyon transportundaki değişiklikler :**

Yüksek kan basınçlı hayvan ve insanlarda hücre zarlarında birincil değişiklikler olmaktadır. Bu durum, iyonların anormal hareketine olanak tanıyarak, hücre içi koşullarını kasılma ve büyüme lehinde değiştirebilmektedir:

1. Hücre içi sodyum ölçümlerinin çoğunda, yüksek kan basınçlıların hücrelerindeki yoğunluk normal kan basınçlılardan daha yüksek bulunmuştur. Na-K-ATPaz pompası etkinliğinde azalmaya bağlı hücre içi sodyumunda artış buna yol açabilir.
2. Na-Li kotransportu da yüksek kan basınçlılarda artmıştır.
3. Esansiyel HT bulunan hastaların yaklaşık yarısında, lenfositlerde hücre içi serbest sitozolik kalsiyum yoğunluğunda artma saptanmıştır.

Na-H değiştiricisinin (exchanger) güçlenmesi hem damar tonüsünü ve hücre büyümesini uyararak hem de böbrek proksimal tubulus hücrelerinde sodyum geri emilmesini artırarak hipertansiyon patogeneğinde önemli rol oynayabilir (2).

### **1.2.9 Endotel disfonksiyonu :**

Endotel, fonksiyonları hakkındaki bilgilerimiz arttıkça, önemi ve üzerindeki araştırma sayısı çok fazla artan bir “organ”dır. Endotel tarafından salgılanan bir çok madde içinde Nitrik Oksit, bazı Prostaglandinler ve Endotelin kan basıncını direkt veya indirekt etkileyebilen önemli moleküllerdir.

#### **1.2.9.1 Nitrik Oksit :**

Argininden nitrik oksit (NO) üretimi, pek çok değişken uyarıya bağlı olarak, farklı bir çok hücre tipinde meydana gelir. NO endotelyumdan, komşu damar düz kaslarına nüfuz eder ve burada cGMP oluşumunu uyararak kan damarlarını genişletir. Esansiyel hipertansiyon bulunan hastalarda, toplam vücut NO üretimi azalmıştır. NO Azlığında glomerüller kapiller basınç artışı, böbrek kan akımının azalması, glomerüler kapiller geçirgenlikte azalma tespit edilir. Sodyum atılımında belirgin düşüş ve sistemik kan basıncında yükselme oluşur (2).

Nitrik oksit, böbreklerde tonik olarak da sentezlenen ve böbrek kan akımı ve sodyum atılımında önemli rol oynayan bir maddedir. Bu işlemin bir bölümü nitrik oksit ile RAAS tarafından ortaklaşa olarak düzenlenmektedir. Bradikinin ve asetil kolin NO sentezini uyarıcı rol oynamaktadırlar. L-arjinin-nitrik oksit metabolik yolunun bloke edilmesi hem kısa dönemde hem uzun dönemde böbrek damar direncini artırmasına, renal kan akımının azalmasına, idrar akımının ve sodyum atılımının azalmasına neden olmaktadır. Bu nedenle esansiyel hipertansiyonun gelişiminde önemli bir mekanizma olarak öne sürülmektedir (13).

#### **1.2.9.2 Prostaglandinler :**

Çeşitli prostaglandinler kan basıncı değerlerine, artırıcı veya azaltıcı yönde etki ederler. Damar kasılmasını sağlayan prostaglandinlerin artması veya damar gevşeticilerin düzeyinin azalması kan basıncı değerlerinde yükselme yapacaktır.

#### **1.2.9.3 Endotelin:**

Angiotensin II ve norepinefrinden daha güçlü bir damar daraltıcıdır. Bilinen üç izoformu vardır. Endotelin I esas olarak endotelde sentezlenir, bilinen depo yeri yoktur. Endotelin etkilerini özgün reseptörleri yoluyla parakrin veya otokrin yolla ortaya koyar. Yüksek kan basınçlılarda katkısı kesin olarak bilinmemekle birlikte, plazma düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda renal medullada salgılanan endotelinin meduller kan akımını etkileme yoluyla da kan basıncı üzerinde indirekt etkiye sahip olabileceği ileri sürülmüştür (14).

#### **1.2.10 Obezite :**

Kilo fazlalığında, sempatik sinir sistemi ve RAAS aktivasyonu, plazma hacminin artması, hiperinsülinemi gibi mekanizmalarla kan basıncı değerlerinde artma meydana gelir.

#### **1.2.11 Anormal steroid metabolizması :**

Esansiyel HT'da kortikosteron düzeylerinde hafif bir yükselme ve glukokortikoidlere vazokonstriktör duyarlılıkta artma bildirilmiştir.

#### **1.2.12 Vazoaktif peptidler :**

Esansiyel HT'da natriüretik peptid, adrenomedullin, kallikrein, kinin, dopamin, serotonin, vazopressin, opioid peptidler, nöropeptid Y ve medullipinin rol oynayabileceği düşünülmektedir (2).

### **1.2.13 Kalsiyum-Parathormon metabolizması :**

Diyetle alınan kalsiyum ile kan basıncı arasında zıt bir ilişki vardır fakat bu ilişki kan basıncı yüksek hastalara kalsiyum verilmesini gerektirecek kadar kuvvetli değildir. Yeterli günlük kalsiyum alımı dışında ek kalsiyum alımı önerilmemektedir. Serum kalsiyumunun azalması ile gelişen hiperparatiroidinin YKB etyolojisinde rol oynadığı sanılmaktadır. Yüksek kan basınçlı kişilerde damar düz kas hücrelerinde kalsiyum düzeyi yüksektir. Hücre içi kalsiyumun, dışarı çıkmasında sorun olduğu varsayılmaktadır (2).

### **1.2.14 Sigara :**

Nikotin, nikotinik reseptörlere etki ederek, adrenerjik sinir uçlarında noradrenalin salınmasına neden olmaktadır. Düşük nikotinli, düşük katranlı ya da filtreli sigara içimi kalp damar sistemi hastalık riskini değiştirmez. Sigara dumanındaki nikotin, aşırı sigara tiryakilerinin bile kan basıncını akut olarak yükseltmektedir. Tolerans gelişmez ve bu yüzden hasta sigara içmeyi sürdürdükçe kan basıncı yüksek kalmaktadır. Ancak her sigaranın etkisi geçicidir ve 30 dk içinde etkisi kaybolmaktadır. Bu nedenle sigaranın etkisini görmek için, içicilerde kan basıncı değerlerine, bu yarım saat içinde bakılmalıdır. Sigaranın etkisinden bağımsız kan basıncı değerleri için ise içimden yarım saat sonra kan basıncı ölçülmelidir. Sigara, insülin direnci, endotele bağımlı gevşemede zayıflama ve endotelin düzeylerinde bir yükselmeye YKB'ye yol açar (2).

### **1.2.15 Alkol :**

Makul ölçülerde alınan alkolün kan basıncı üzerine olumlu etkilerinin olduğunu savunan görüşlerin aksine, bir çok yazar, makul ölçülerde bile olsa süregelen (kronik) alkol tüketiminin kan basıncını yükselttiğini savunmaktadır. Daha fazla miktarlardaki alkol ise yüksek kan basıncının önemli bir bölümünden sorumlu tutulabilir. Alkol sempatik sinir sistemini ve RAAS'yi aktive ederek, plazma kortizon düzeyini artırarak kan basıncı değerlerini yükseltir (2).

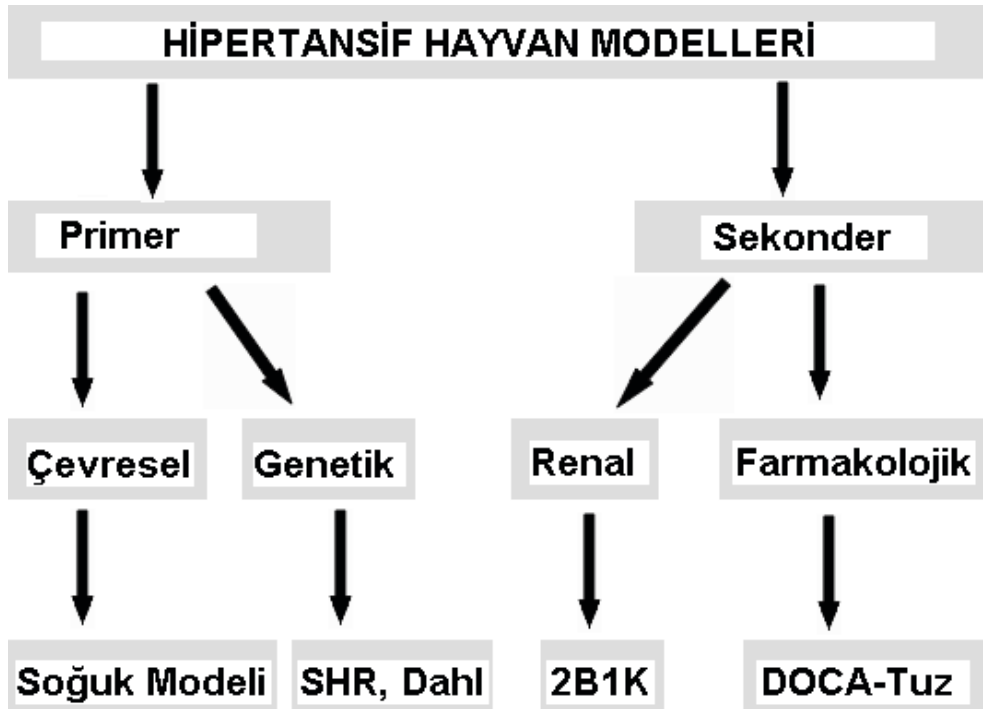
### **1.2.16 Fiziksel inaktivite :**

Fiziksel açıdan aktif ve antrenmanlı kişilerde daha az yüksek kan basıncı gelişmektedir. Hipertansiflerde de düzenli izotonik egzersize başladıktan sonra kan basıncında düşme tespit edilmektedir. Egzersize yeni başlayan hastalardaki tespit edilebilecek kan basıncı artışları zamanla azalacaktır. Bu sorun egzersizin

birakılmasına yol açmamalıdır. Fakat egzersiz öncesi çok yüksek kan basıncı değerleri kontrol altına alınmalıdır (2).

### 1.3 Deneysel Hipertansiyon Modelleri:

Temel olarak hipertansiyon hayvan modelleri etiyojilerine göre primer ve sekonder olarak iki gruptan oluşur (Şekil 2). Uygulama yoluna göre Primer hipertansiyon genetik ve çevresel indüklü olarak iki ana grupta, sekonder hipertansiyon ise renal ve farmakolojik olarak iki ana grupta incelenebilir.



Şekil 2: Hipertansif Hayvan Modelleri.

#### 1.3.1 Genetik İndüklü Hipertansiyon:

Bu model için en iyi iki örnek Spontan Hipertansif Rat (SHR) ve Dahl'in tuza duyarlı ratlarıdır. SHR, kökeni hipertansif wistar cinsi rat olan, hep yakın akraba içinde çiftleştirme yaptırılan ve doğumdan sonra yaklaşık 4-6. haftalarda hipertansif olup kan basıncı yükselmesi tuza bağımlı olmayan modeldir. Dahl cinsi tuza duyarlı ratlar ise; Sprague-Dawley cinsi ratlardan, tuz diyetine verdikleri kan basıncı cevabına göre küçük yaşta hipertansif ve non-hipertansif olarak ayrılan ratların kendi içinde çiftleştirilmesiyle türeyen yeni ratlardan, tuz diyetine en yüksek kan basıncı cevabını verenlerin seçilmesiyle elde edilirler. Dahl tuza duyarlı ratların genetik analizi sonucunda, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) ve guanilil siklaz A

(GCA)/atriyal natriüretik faktör (ANF) reseptör genlerinin yakın bölgesinde bir bağlantı ortaya çıkarılmıştır (15). Spontan hipertansif ratlar kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği ve kardiyak hipertrofi gibi bir çok hipertansif end-organ hasarı özelliğine sahip olmalarına ve günümüzde kullanılmakta olan deneysel hipertansiyon modelleri arasında ilk sırada olduğu rapor edilmesine rağmen (16), patogenezi hala açık değildir.

### **1.3.2 Çevresel İndüklü Hipertansiyon :**

Soğuk indüklü hipertansiyon, stres indüklü hipertansiyon ve diyet (yüksek yağ, şeker veya tuz oranına sahip diyet) indüklü hipertansiyon modelleri bu grupta incelenebilirler.

### **1.3.3 Farmakolojik İndüklü Hipertansiyon :**

DOCA-Tuz indüklü hipertansiyon modeli, bu tip HT modelinin tipik gösterimidir. Deneklere hipertansiyon oluşumu için 300-1000 mg/kg/gün (sc) gibi çok yüksek bir dozda DOCA (deoxycorticosterone acetate) uygulanır ve beraberinde hipertansiyonun şiddetini artırmak amacıyla içme suyu olarak Sadece salin solüsyonu verilir. Bu modelde HT gelişimine katkı sağlamak için renal kitlenin de cerrahi olarak azaltılması sıklıkla gerekir. Bu modelde tespit edildiği üzere HT başlangıç safhasında tuza bağımlı özellik gösterir. DOCA-tuz uygulamasının tek taraflı nefrektomi ile kombinasyonu hipertansiyon, kardiyak ve renal hipertrofi ve nefrosklerozis ile sonuçlanır (17). DOCA-tuz hipertansiyon düşük reninli ve volüm yüklü bir hipertansiyon formudur. Arginine vasopressin (AVP) bu model hipertansiyonun gelişim ve devamlılığında rolü olduğuna dair kanıtlar vardır (18, 19). Aynı zamanda sempatik sinir sisteminin de bu modelde katılımcı olduğuna dair kanıtlar vardır (20).

### **1.3.4 Renal İndüklü Hipertansiyon :**

Böbreğin sıvı-elektrolit dengesini sağlamak ve RAS sisteminin önemli bir üyesi olan renini salgılamak gibi önemli fizyolojik fonksiyonları bulunmaktadır. Bundan dolayı hipertansiyon patogenezinde önemli role sahip olabileceği her zaman düşünülmüş bir yapıdır. 1934 te Goldblatt ve arkadaşlarının köpek renal arterinin kısmen kasılması yoluyla kan basıncında yükselme elde etmelerinden bu yana bir çok renal indüklü HT modeli değişik türlerde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Genel olarak Goldblatt modeli iki böbrek bir klembe (tek renal arter klembe, diğeri işler



durumdadır) ve tek böbrek tek klemb (bir böbrek çıkarılıp, diğerine klemb konulur) uygulamalarını içerir. Bu şekilde oluşturulan HT da 2B1K (iki böbrek, bir klemb) modelinde plazma renin düzeyi bifazik seyir gösterir. Başlangıç fazında tespit edilen sodyum retansiyonu 1. haftayı doğru düzelme eğilimi gösterir ve bu plazma renin aktivitesi ile paralellik gösterdiğinden RAS'ın 2B1K goldblatt modelinde katılımcı olabileceğini düşündürür. Bu model böylece sodyum-sıvı volüm bağımlı bir modeldir ve hipertansiyon gelişiminde volüm genişlemesinin rolünü çalışmak için ideal bir modeldir. Her iki tip goldblatt modelinde de klip çıkarıldığı zaman kan basıncı geri döner. Böylece bu model geri dönüşlü ve tekrarlanabilir bir model olarak karşımıza çıkar.

#### **1.4 Diyetle Sodyum Miktarı ve Esansiyel Hipertansiyonla İlişkisi:**

##### **1.4.1 Aşırı sodyum alımı:**

Dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalarda diyetteki ortalama sodyum miktarı ile o toplumdaki hipertansiyon prevalansı arasında ilişki bulunmuştur. 32 ülkede 10.000 kişi üzerinde yapılan çalışmada (İNTERSALT çalışması) tüketilen tuz miktarı (24 saat idrarda sodyum atılımı ile saptanan) ile kan basıncı arasındaki ilişki irdelenmiş ve tuz tüketimi ile hipertansiyon arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (21).

Tuz tüketimi yüksek olan toplumlarda hipertansiyon sıklığının fazla olması, tuz kısıtlaması ile kan basıncı değerlerinde düşüş tespit edilmesi ve tuzdan fakir diyetle beslenen ilkel toplumların diyetlerindeki tuz oranı artırıldığında esansiyel hipertansiyon insidansının artması, esansiyel hipertansiyon etyolojisinde tuz alımının önemine dair ip uçları sağlamaktadır. Klasik bilgilerimize göre, aşırı sodyum alınması dolaşım hacmini ve ön yükü (kalbe dönen kan) artırıp bu yoldan kalp debisini yükseltir ve sonucunda yüksek kan basıncı ortaya çıkar. Fakat sodyumun kan basıncı yüksekliği patogenezindeki rolü bundan daha komplekstir.

Normal kişilerde kan basıncı yükseldiğinde böbreklerden sodyum ve su atılması artar, sıvı hacmi azalır ve basınç normale döner (basınç natriürezisi). Bu mekanizmada meydana gelebilecek bir bozulmanın pratikte, kan basıncında yükselmeye yol açabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında sodyum fazlalığı kan basıncını, damarsal reaktiviteyi etkileme yoluyla da artırabilir. Diyetle alınan günlük

sodyum miktarı primer hipertansiyon patogenezi ile yakından ilişkilidir, ancak tek başına yüksek kan basıncı oluşumu açısından yeterli bir faktör değildir (2).

#### **1.4.2 Diyetteki klorür:**

İnsanda NaCl ile kan basıncının, sodyumun klorür olmayan tuzlarına oranla daha fazla yükseldiği gözlemlenmiştir (2).

#### **1.4.3 Sodyum duyarlılığı:**

Batı ülkelerinde hemen herkes sodyum içeriği yüksek diyetle beslendiği halde, bu kişilerin yalnızca yarısında hipertansiyon gelişmesi gerçeği, kan basıncının sodyuma duyarlılığının değişken derecede olduğunu düşündürmektedir. Sodyum duyarlılığı için birçok mekanizma ileri sürülmüştür. Tam mekanizması bilinmemesine rağmen, sodyum duyarlılığı olasılıkla kalıtsaldır ve sodyum kısıtlamasına kan basıncı yanıtı anne ve çocuklarda birbirine çok benzemektedir (2).

#### **1.4.4 Na-K-ATPaz İnhibitör Kuramı:**

Bazı araştırmacılar plazma volümü arttığında “natriüretik hormonlar” adı verilen ikiden fazla sayıdaki maddenin salgılandığını ve bu maddelerin plazma Na-K-ATPaz aktivitesini inhibe ettiklerini, noradrenalin ve vazopresin gibi vazokonstriktörlere verilen yanıtı arttırdıklarını öne sürmüşlerdir. Atrial natriüretik peptid, ani volüm artışlarında böbrekten sodyum ve su atılımını kısa süreli olarak arttırabilmekte ancak Na-K-ATPaz’ı inhibe etmemektedir ve sistemik vasküler direnci arttırmamaktadır. Hipotalamik kökenli olduğu düşünülen diğer uyarı ile de Na-K-ATPaz aktivitesinin inhibe olduğu ve sodyum geri emiliminin azaldığı varsayılmaktadır. Bu kurama göre “kontrollü bir volüm ekspansiyonu” olmaktadır. Esansiyel hipertansiflerden alınan plazmanın Na-K-ATPaz’ı kontrollere göre daha fazla inhibe ettiği gösterilmiştir (22).

### **1.5 Nitrik Oksit ve Fizyopatolojik Önemi:**

Nitrik Oksit (NO), çeşitli uyarılar sonucu vücutta farklı organ ve dokular tarafından L-argininden direkt olarak sentezlenen bir moleküldür. Damar sürtünme stresi, artmış lümen içi basınç ve kan basıncı gibi farklı mekanik faktörler damarlarda NO üretimi için fizyolojik bir tetikleyicilerdir (23). İlk defa damar endotelinden sentezlendiği gösterilmiştir (24). NO büyük arterlerden en küçük kapiller damarlara

kadar bütün endotelial dokularda bulunmaktadır. Sağlam damar endotelinden bazal bir hızda üretilmektedir. Vasküler endoteliumdan düşük düzeylerde salınan NO damar tonusunun ve arteriyel kan basıncının ve lokal kan akımının düzenlenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. NO, cGMP üzerinden vasküler düz kaslarda gevsemeye yol açarak vazodilatasyonu sağlamakta ve NO salınımındaki azalma kan basıncının yükselmesine neden olmaktadır (25). L-argininden NO oluşumunu katalizleyen enzim grubu ise Nitrik Oksit Sentaz (NOS) olarak adlandırılmaktadır (26). Bu enzimler yardımıyla üretilmiş olan NO üretildiği yerden efektör bölgeye transfer edilir. NO için biyolojik yarılanma zamanı kısa olduğu için efektör bölge genellikle üretim yerine yakın komşuluktadır. Örneğin kan damarlarında bradikininle uyarılma neticesinde NO, damar endotelinden sentezlenip hemen bitişiğindeki düz kas hücrelerine ulaşır ve burada guanilat siklaz aktivasyonu ve nihayetinde hücre içi cGMP artışına yol açarak vazorelaksasyon oluşumunu sağlamaktadır (27).

NOS enziminin üç ayrı formu bilinmektedir. Endotelial NOS (eNOS), ilk defa damar endotelinde tanımlanan formudur. Daha sonra; başlıca beyinde bulunduğu gösterilen nöronal NOS (nNOS) ve üçüncü olarak da ilk defa makrofajlarda gösterilen ve aktive edilmemiş hücrelerde bulunmayan İndüklenebilen NOS (iNOS) literatüre dahil edilmiştir. iNOS aktivasyonu için ortamda bazı sitokinlerin veya lipopolisakkaritlerin miktarında bir artış olması şeklinde bir uyarıma ihtiyaç vardır. İnsanlarda eNOS, iNOS ve nNOS yerleşimlerinin sırasıyla 7, 17 ve 12. kromozomlarda olduğu bulunmuştur. NO'nun vücutta başlıca kardiyovasküler sistem olmak üzere, santral ve periferik sinir sistemi, immun sistem ve inflamasyonda rolü olduğu gösterilmiştir (26). NO sentezi için gerekli olan L-arginin ve/veya kofaktör düzeyinde eksiklik gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak NO biyoyararlanımında azalma meydana gelebilir. NO, endotelium hücresi ve düz kas hücre proliferasyonunu önleyerek vasküler büyümenin modülasyonunu sağlar. NO, vasküler düz kas hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu inhibe eder (28). NO, vasküler tonusun düzenlenmesi yanında platelet inhibisyonu, nötrofil agregasyon ve adezyonunun inhibisyonunu da sağlamakta (29, 30), endotelium yüzeyinde antitrombotik etkinliğinden dolayı, damar duvarında platelet agregasyonu ve adezyonunu inhibe etmektedirler. Damarlarda monosit ve granüositlerin adezyonunun yapısal NOS enzimlerinin stimülasyonunu takiben azaldığı

bildirilmiştir (31). Tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki demir-sülfür taşıyan enzimler makrofaj hücresince sentezlenen NO tarafından nitrolize edilir, böylece NO antimikrobiyal, antitümöral, sitotoksik ve sitostatik etkiler gösterir. Bu özellik NO'ye vasküler, immün ve nöronal sinyal molekülü olmasının yanı sıra antibakteriyal, antiviral etkinlikte de işlev görmektedir (32).

NO, santral ve periferik sinir sisteminde nonadrenerjik nonkolinerjik sinirlerde bir nörotransmitter olarak etkinlik gösterir. Ayrıca santral ve periferik sinirlerde katekolaminlerin salgılanmasından sorumludur (33, 34). NO tek başına hem peroksinitrit oluşturarak hem de süperoksit ile kombine olarak transmitter salınımındaki artışı etkileyebilir (35). Özellikle santral motor nöronların aktivitesini ve vagal stimülasyona kardiyak cevabı artırır (36, 37). Gastrointestinal sistem, mesane sfinkter fonksiyonları ve penil ereksiyonun sağlanmasında rol oynamaktadır (38). Barsakta splanik kan akımını, barsak hareketlerini ve iyon transportunu düzenler (39, 40). Böbrek dokularında sentezlenen NO, glomerüler filtrasyon hızını, total renal ve medüller kan akımını, basınç natriürezini, epiteliyal Na<sup>+</sup> transportunu ve renin gibi vazoaaktif ajanların sentezini düzenlemektedir (41, 42).

NO, vasküler tonusun düzenlenmesinde, nöronal iletişimde ve vücut savunması gibi birçok fizyolojik süreçte anahtar bir sinyal molekülüdür. NO aynı zamanda esansiyel bir molekül olup, her zaman faydalı değildir. NO insan vücudunda doz bağımlı bir şekilde etki göstermektedir. Örneğin, kan basıncı, dolaşımdaki NO seviyesinin fizyolojik sınırlarda dengeli bir biçimde sürdürülmesiyle ayarlanmaktadır. Bunun yanında endotoksik şokta tespit edildiği gibi çok büyük miktarda NO salgısı ölüme götüren dolaşım yetmezliğine yol açabilmektedir. NO başta antiaterojenik, antiproliferatif ve antitrombotik olmak üzere çok çeşitli etkilere sahiptir. Bu nedenle aterosklerozis için risk faktörleri olan hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diyabet ve sigara kullanımı gibi farklı patolojik durumların fizyopatolojisinde NO üretiminin ve/veya biyoaktivitesinin kaybı önemli bir rol oynamaktadır. Esansiyel hipertansiyonlu hastaların damarlarında ve plateletlerinde NO oluşumunda azalma vardır. Esansiyel hipertansiyon koroner arter hastalığı için bir risk faktörü kabul edilmektedir. Koroner aterosklerozlu hastalarda koroner arterlerden NO salınımı ile hipertansiyon ve bozulmuş Ach gevşemesi arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Aynı araştırmacılar hiperkolesterolemik hayvanlara ve

insanlara L-arjinin verildiğinde bozulmuş olan endotelial NO üretimini düzeldiğini ve ilişkili vasküler lezyonların azaldığını bildirmişlerdir (43). Özellikle tip-I diabeti olan hastalarda bazal NO salınımının yetersiz olması hastalığın belirgin özelliği olan trombotik mikroanjiopatiye katkıda bulunabilmektedir (44). Septik şokta ise aktive olan hücrelerden aşırı miktarda NO salınımı ağır hipotansiyona yol açmaktadır (45). NO ve/veya metabolitlerinin birçok hastalıkta arttığı ya da azaldığı gösterilmiştir. Özellikle inflamasyon ve infeksiyon durumlarında NO ve/veya metabolitlerinin arttığı bildirilmiştir. İnflamatuvar barsak hastalığı olan kişilerde ve gut hastalığının hayvan modellerinde NO ve metabolitleri artmaktadır (46). Dizanterili hastaların kolonik mukozasının epiteliyal hücre yüzeyinde iNOS ve eNOS genlerinin ekspresyonu özellikle akut dönemde belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (47). Kolera hastalarında da, özellikle akut dönemde NO<sub>2</sub> - ve NO<sub>3</sub> - konsantrasyonunda da anlamlı bir artma bulunmuştur (48). Serebral iskemi veya epilepside aşırı NO üretimi nörotoksositeye yol açmaktadır. Ortamdaki yüksek miktardaki NO ile aşırı derecede uyarılma sinir hücrelerinin tahribine yol açar. Beyin hasarı olan hastalarda serebrospinal sıvıda NO<sub>x</sub> düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte plazma ve idrar NO<sub>x</sub> düzeylerinin intratekal NO üretimini belirleyicisi olarak kullanılamayacağı gösterilmiştir (49). Hirshprung hastalığı, hepatit, primer Reynauld fenomeni, portal HT gibi durumlarda ise NO ve/veya metabolitlerinin azaldığı bildirilmektedir (50).

### **1.5.1 NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyon:**

Esansiyel hipertansiyonun aydınlatılması amacıyla geliştirilmiş olan birçok deneysel hipertansiyon modeli vardır. 1980'li yıllarda güçlü bir vazodilatör madde olan nitrik oksit (NO) keşfedilmesiyle birlikte kan basıncı artışının NO sentezinde bir azalma ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Takip eden yıllarda esansiyel hipertansiyonun başlangıcı ve devamlılığının, NO ve prostasiklin gibi endotelial kaynaklı vazodilatör sistemlerin yetersizliğiyle muhtemel ilişkisi, çeşitli hipertansif modeller üzerinde araştırılmaya devam edilmiştir.

Organizmada L-arjinin'den NO sentezi, nitrik oksit sentaz enzim ailesi tarafından katalizlenmektedir (51). Güçlü bir vazodilatör olan NO, endotelial hücrelerden bazal ve/veya uyarılmış olarak salınır ve arteriyal kan basıncı ile kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynar (52). Yaşlanma, hiperkolesterolemi (53)

ve arteriyel hipertansiyonda bazal ve uyarılmış NO salınımı zayıflamaktadır. Sağlıklı organizmada vasküler sistemde NO oluşmasında temel unsur endotel hücrede ekspres olan NOS enzimidir ve bu enzimin çeşitli L-arjinin analogları kullanılarak inhibe edilmesi mümkündür.

Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda yapılan çeşitli çalışmalarda, bu hastalarda plazma NO düzeylerinin ve NO metabolitleri (NOx)'nin üriner atılımının sağlıklı deneklere göre azaldığı gösterilmiştir (54, 55). Bu bulgu hipertansiyonda NO aracılı vazodilasyon kaybını düşündürmesine karşın, NO miktarındaki azalmanın sempatik sinir sistemi, oksijen radikalleri gibi başka sistemlerle de etkileşebileceği ihtimalleri dışlanamamaktadır. NO konsantrasyonlarında düşmenin hipertansiyon meydana gelmesinde rolünü aydınlatmak için farklı doz ve sürelerde NOS inhibitörleri kullanılarak araştırmalar yapılmıştır. N<sup>o</sup>-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME), N<sup>o</sup>-monometil-L-arjinin (L-NMMA), N<sup>o</sup>-nitro-L-arjinin (L-NNA) ve benzeri L-arjinin analogları NO sentezini inhibe ederek deney hayvanlarında sistemik hipertansiyona sebep olurlar. NOS inhibitörü L-NMMA'nın anestezisi altındaki deneye, i.v. olarak verilmesiyle denekte kan basıncı artışı gözlemlenmiş ve bu artışlar damar duvarında NO sentezinin inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir (24). Aynı zamanda L-NMMA'nın oral verilmesi durumunda, uygulama süresi boyunca denekin sürekli hipertansif durumda kaldığı gözlemlenmiştir (56). Platismografik çalışmalarda ise L-NMMA, ön kol dolaşımına verildiğinde kan akımını azalttığı bulunmuştur (57). Halbuki bu ajan, adrenalini veya angiotensin gibi kasıcı bir madde değildir. Sistemik verildiğinde kan basıncında artma yapan, lokal verildiğinde ise damar tonusunu artırıcı bir etki gösteren bu maddenin damar düz kas üzerinde zaten var olan NO'nun devamlı bazal gevşetici etkisini bloke etmek yoluyla sistemik basıncı artırdığı varsayımı bu şekilde desteklenmiş olmaktadır. Ön kol kan akımı çalışmalarından bir başka sonuç ise; hipertansif kişilerin, normotansif olanlara göre NOS inhibitörü uygulamasına daha hafif bir kan akımı azalmasıyla cevap vermesinden yola çıkılarak, hipertansiflerde vasküler sistemde NO sentezinin azalmış olabileceği gerçeğidir (58).

Kronik NOS inhibisyonu sonucu gelişen hipertansiyonda sempatik sinir sisteminin aktivasyonu, oksidatif stres ve renal tuz tutulumu gibi faktörlerin de katkısı olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca sempatik deşarj vasküler duyarlılığın artması

da sözkonusu olabilir. Çalışmalarda NOS inhibisyonuyla oluşan hipertansiyon modellerinde, vasküler düzeyde özellikle  $\alpha$ -adrenerjik agonistlere vasküler cevap artmakta, azalmakta yada değişmemektedir (59, 60). Genel görüş düşük doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan sodyum tutulumunun, yüksek doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan ise genel NO üretimi yetersizliğinden dolayı total periferik direnç artışının sorumlu olduğu yönündedir (61). Özellikle yüksek doz L-NAME ve L-NNA ile yapılan uzun süreli NOS inhibisyonunda, dokularda bir takım patolojiler oluştuğuna dair raporlar mevcuttur. Böbreklerde tübüler nekroz ve glomeruloskleroza kadar varan doku hasarı, damarlarda özellikle media tabakasında kalınlaşma ve kalpte fokal nekroz odakları oluşabilmektedir (41). Buna bağlı olarak 11 hafta boyunca yüksek doz NOS inhibisyonu uygulanan ratlarda, NOS inhibisyonunun kesilmesi sonrası artmış kan basıncının kalıcı olduğu bildirilmiştir (62). Gerek kronik NOS inhibisyonu gerekse buna bağlı gelişen hipertansiyonda, hem vasküler yatakta hem de diğer dokularda bazı adaptif değişiklikler meydana gelebilir. NO'nun aynı zamanda platelet agregasyonunun ve damar düz kas proliferasyonunun bir inhibitörü olarak damar duvarında genel homeostatik rol oynadığı bilinmektedir (63). Aynı zamanda kan damarlarındaki NO sentezinde bir azalmanın ateroskleroz gibi durumlarla sonuçlanabileceği bildirilmiştir (64). Bir hayvanda NO sentezi inhibe edilir ve vasküler hasar yapılırsa, neointimal proliferation hızlanır ve bir aterosklerotik plak oluşturulur. Bu süreç NO donörü olan bir ilaç olan nitrogliserin ve benzeri ilaçların uygulanmasıyla önlenmektedir ki, bu sürece müdahale etmek için bazı endikasyonlarda bu ilaçlar kullanılmaktadır (64). Östrojenler kan damarlarında NO yapımını artırmaktadırlar ve bu etki, kadınların vasküler hastalıklara karşı belirli bir yaşa kadar neden erkek popülasyona göre daha dirençli oldukları konusunda kısmen de olsa fikir vermektedir.

### **1.5.2 NOS İnhibitörleri ve Doz-Etki İlişkisi:**

Nitrik oksit setaz'ın inhibisyonu L-arjinin analogları veya NOS enzimlerinin kofaktörlerinin etkilenmesi ile sağlanmaktadır. İlk sentezlenen NOS inhibitörü N<sup>0</sup>-monomethyl-L-arjinin (L-NMMA) dir ve, bu bileşik tüm NOS isoformlarına benzer oranda selektivite gösterir (65, 66). L-NMMA genelde akut NOS inhibisyonu çalışmalarında kullanılmaktadır. Daha sonra L-NNA ve L-NAME gibi nonselektif

NOS inhibitörleri sentezlenmiştir. L-NMMA, L-NNA ve L-NAME NOS enzimini kompetitif olarak inhibe etmektedirler. Son iki bileşik kronik NOS inhibisyonu modelinde en çok kullanılan bileşiklerdir. L-NAME, esterazlarla L-NNA'ya metabolize olur ve dokulara bu şekilde geçer (67). L-NAME'nin L-NNA'ya hidrolizi sıvı tamponlarda yavaş, fakat kan ve dokular gibi fizyolojik sıvılarda oldukça çabuk bir şekilde gerçekleşmektedir (68). Bu nedenle hem L-NNA hemde L-NAME'nin kan basıncı üzerine potenslerinin benzer olduğu tespit edilmektedir (66). Her iki ajan da suda çözünebilen bileşiklerdir. İçme suyuyla oral yoldan kullanılabilirlikle birlikte intravenöz, intraperitoneal ve subkutan (s.c.) uygulandıklarında sistemik dolaşıma geçebilmektedirler. Bu ajanlarla farklı uygulama yolları tercih edildiğinde akut değil fakat özellikle kronik sonuçlar açısından benzer bulgular elde edilmektedir. Hem L-NNA hemde L-NAME sistemik uygulamalarda kan beyin bariyerini geçerek yaklaşık 2-6 saat içerisinde beyinde tüm bölgelerinde maksimum NOS inhibisyonu sağlar. Bu ajanlar yapısal ve indüklenebilir NOS enzim formlarının tamamını inhibe ederler. Sonraki yıllarda bunların dışında N-iminoethyl-L-ornithine (L-NIO), N<sup>ω</sup>-amino-L-arginine(L-NAA), asimetric N<sup>ω</sup>-dimethyl-L-arginine (L-ADMA), N<sup>ω</sup>-dimethyl-L-arginine (L-SDMA), 7-nitroindazole (7-NI), L-canavanine ve aminoguanidine gibi yeni NOS inhibitörleri sentezlenmiştir. L-NMMA, L-NNA ve L-NAME NOS enzimlerini nonspesifik bir şekilde inhibe ederken bazı inhibitörler selektivite gösterirler. L-canavanine ve L-NIO, iNOS enzimini nNOS ve eNOS enziminden çok daha güçlü bir şekilde inhibe etmektedirler (69). L-NMMA ve L-ADMA, protein döngüsü sırasında metillenmiş protein arginin rezidülerinden derive olabilen doğal bileşiklerdir. L-NNA iNOS enzimi oldukça zayıf inhibe ederken, eNOS ve nNOS enzimlerini oldukça kuvvetli bir şekilde inhibe etmektedir (70). Difenilendiiodonium ise NOS enzimini maruziyet süresine ve ortam sıcaklığına bağlı olarak progresif ve irreversibl bir şekilde inhibe eder. Trifluoperazin, klorpromazin, kalmidazolium gibi kalmodulin antagonistleri Ca<sup>2+</sup>-kalmodulin bağımlı olan nNOS ve eNOS izoenzimlerini inhibe etmektedirler (68, 71).

Biyolojik sistemlerde NOS enziminin BH<sub>4</sub> sentez inhibitörleri gibi ajanlarla substrat ve kofaktörlerin elde edilebilirliğinin sınırlanmasıyla indirekt inhibisyon sağlanır. NOS aynı zamanda ürünü olan NO molekülünün bizzat kendisiyle de



feedback olarak inhibe olabilmektedir. Bu inhibisyon olasılıkla NOS enziminin "heme" kısmı ile etkileşimiyle sonuçlanır. "Heme" ile etkileşen metilen mavisi gibi ajanlarda NOS enzimini bloke etmektedir (68, 71).

L-NNA, L-NAME ve benzeri L-arjinin analogları ile NOS enziminin akut ve kronik olarak inhibe edilmesiyle deney hayvanlarında hipertansiyon meydana gelir. Özellikle NOS enziminin kronik inhibisyonu hipertansiyon araştırmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır (41). Yaklaşık 15 mg/kg/gün dozunda L-NAME uygulamasının tama yakın bir NOS inhibisyonu sağladığı bildirilmiştir (72-74).

### **1.5.3 Akut NOS İnhibisyonu:**

Akut NOS inhibisyonunda sistemik vasküler dirençte artma, kardiyak debide ve atım hacminde azalma meydana gelmektedir (75, 76). Bu değişiklikler muhtemelen artmış sistemik vasküler dirence bağlı olarak art-yükte meydana gelen artma ve myokardiyal perfüzyonda bir azalmanın sonucudur. Sistemik vasküler dirençteki bu artışta sempatik sistem aktivasyonunun rol oynamadığına ve baroreflaks mekanizmayla sempatik inhibisyon oluştuğuna dair kanıtlar vardır (77). Akut NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda kan basıncı artışı doz bağımlıdır (41, 63, 75, 78). NOS inhibitörlerinin pressör dozlarında plazma renin aktivitelerinde azalma, nonpressör dozlarında ise artma olduğu gösterilmiştir (79, 80).

### **1.5.4 Kronik NOS İnhibisyonu:**

Gardiner ve ark. Brattleboro ratlarında 7 gün için oral L-NMMA uygulamasının kan basıncında artışa neden olduğunu ilk kez göstermişlerdir (75). Araştırmacılar ratlara içme suyu ile L-NAME uygulayarak uzun süreli NOS inhibisyonu elde etmişler ve devamında kan basıncı yüksekliğinin devamlılık gösterdiğini bildirmişlerdir (62). NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon oluşturulan ratlarda L-arjinin uygulandığında, gelişen hipertansiyonun düzelmesi, NO eksikliğinin bu mekanizmadaki rolünü desteklemektedir (61). Yine eNOS geninin tahrip edildiği farelerde hipertansiyon gelişimi, kan basıncının düzenlenmesinde NO'in rolünü göstermektedir (81). Moncada 1999'da NOS inhibisyonu aracılı deneysel hipertansiyon modelinde NO üretiminde iki tip değişikliğin olduğunu ileri sürmüştür. Normal durumlarda damarlar üzerindeki kasıcı faktörlerin etkileri NO üretimiyile dengelenir. Hipertansiyonda ise birinci durumda, aşırı miktarda kasıcı faktör

üretimine koruyucu bir cevap olarak NO üretiminde artış meydana gelmekte, fakat yeterli olamamaktadır. İkinci durumda ise, damarlarda vazokonstriktör aktivite normaldir fakat NO üretimi azalmıştır. Bundan dolayı normalde kan basıncı artışına yol açmayan vazokonstriktör ajanlar anormal bir şekilde vazokonstriksiyona yol açmakta ve böylece kan basıncında artış meydana gelmektedir (26).

### **1.5.5 NOS İnhibisyonu İle Oluşturulan Hipertansiyonda Katılımcı Olduğu Düşünülen Mekanizmalar:**

#### **1.5.5.1 Artmış damar direnci:**

Bazı patolojik durumlarda plazma sempatik sistem aktivitesi değişmese bile vasküler yapının mevcut sabit katekolaminlere karşı cevabında artma olabileceği düşünülebilir. Gerçekten de NOS inhibisyonunun sempatik uyarıya karşı oluşan vasküler cevabı potansiyelize ettiği gösterilmiştir (59). Dolayısıyla bu amaçla yapılan çalışmalarda vasküler fonksiyonların değerlendirilmesinin de yararlı olacağı görülmektedir.

#### **1.5.5.2 Sempatoadrenerjik Aktivasyon:**

Esansiyel hipertansiyonda noradrenalin spillover hızında artma olduğuna dair bulgular yapılan çalışmalardan bilinmektedir (82-84). Akut NOS inhibisyon çalışmalarında ise sempatik sistem aktivitesinin kısmen de olsa katılımcı olmadığını düşündüren bulgular gösterilmiştir (85). NO'nin sempatoeksitator bir rolü dışlanamamasına rağmen, akut NOS inhibisyonu esnasında baroreflaks yolak üzerinden sempatoinhibisyona işaret eden çalışmalar bulunmaktadır (77). Bunun yanında ganglion blokajı ile birlikte yapılan kronik NOS inhibisyonunda kan basıncı düşmesinin kontrole göre fazla olması kronik NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyonda sempatik sistemin rolünü düşündürmektedir (74, 86). Yine laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda kronik 15 mg/kg/gün oral L-NNA uygulaması ile meydana getirilen kan basıncı yükselmesinin santral etkili sempatoolitik ajan olan klonidin ile önlenmesi de sempatik sistem aktivasyonunun bu tip hipertansiyon modelinde kronik uygulama esnasında meydana gelen kan basıncına katkısı olabileceğini düşündürmektedir (68). Yüksek doz NOS inhibisyonu yapılan başka bir çalışmada ise üriner NA atılımı artışı tespit edilmesi dikkate değerdir (87). Buna rağmen kronik NOS inhibisyonu esnasında plazma katekolamin seviyelerinin

değişmediğini ve ganglion blokajına artmış depresör yanıtın olmadığını gösteren karşıt bulgular içeren çalışmalar da mevcuttur (88). Bir çok çalışmada en önemli sınırlama ganglion blokajı gibi, vasküler yapı üzerine sempatik sistemin etkisini sadece dolaylı yoldan gösteren yöntemlerin kullanılmasıdır. Halbuki santral sinir sisteminin, sempatik sinir aktivitesini farklı organlarda farklı şekilde düzenlediği bildirilmiş (89). Bir başka dikkate alınması gereken durum ise, esansiyel hipertansiyon hastalığına sahip insanların kalp ve böbreklerinde selektif sempatik sinir aktivitesi rapor edilmiş olmasıdır (82).

#### **1.5.5.3 Bozulmuş Basınç Natriürezisi :**

Tuz retansiyonunun NOS inhibisyon hipertansiyon modelindeki patojenik rolüne dair veriler ise karışıktır. Bu model hipertansiyonda tuzun vücutta birikiminin kan basıncında bir yükselmeyi beraberinde getirdiği (90), pressör (73) ve subpresör (80) dozda NOS inhibitörü uygulanmasının tuza duyarlılığa neden olduğu ve spontan tuza duyarlılığın ortaya çıkmasının altında yatan sebebin NO cevabının eksikliği olabileceğine dair kanıtlar içeren çalışmalar vardır. Bu çalışmalarla uyumlu olarak diğer çalışmalar da göstermiştir ki akut NOS inhibisyonu basınç natriürez eğrisini sağa kaydırmakta ve böylece renal sodyum atılım yeteneğini bozmaktadır (91). Yüksek tuz diyeti tuza-duyarlı spontan hipertansif ratlarda ve Dahl cinsi tuza duyarlı ratlarda kan basıncını arttırır. NOS inhibitörleri ile birlikte yüksek tuz diyeti uygulandığında ise kan basıncının daha da arttığı gösterilmiştir. Bu artıştan, sodyum ve su tutulumu ile birlikte son çalışmalarda, sempatik sistem aktivasyonu veya oksidatif stres artışının da sorumlu olabileceğine dair bulgular yayınlanmıştır. Bununla beraber, subpresör dozlarda uzun süreli NOS inhibitörü uygulamalarında tek başına anlamlı kan basıncı yükselmesi tespit edilmemesine rağmen, yüksek tuz diyetiyle beraber uygulandığında kan basıncında anlamlı bir artış tespit edilmektedir. Kan basıncındaki bu yükselmeden renal sodyum tutulumunda bir artış sorumlu tutulsa da, çelişki olarak plazma sodyum düzeyinin değişmediğini gösteren sonuçlar vardır (92).

#### **1.5.5.4 Oksidatif Stress:**

Süper oksit (O<sup>-</sup>) ve diğer serbest oksijen radikalleri (SOR) sabit hücrel metabolizma ürünleridirler (72, 93) ve kan basıncını arttırdıkları gösterilmiştir (94,

95). Oksidatif stres gelişimi için bu radikallerin yapımında bir artma veya yıkımlarında bir azalma gibi dengeyi bozucu bir patolojik durum gerekmektedir. Süper oksit tarafından damarlarda protein kinaz C (PKC) aktivasyonu üzerinden vazokonstriksiyon olduğu gösterilmiş (96) ve bu etkinin süper oksit tarafından araşidonik asitin nonenzimatik oksidasyonu yoluyla üretilen izoprostanlar tarafından olabileceği ileri sürülmüştür (97, 98). Süper oksitin, renal kan akımı ve GFH'nı değiştirmeksizin tubuler sodyum geri emilimini artırma yoluyla (99), idrar volümü (72) ve sodyum atılımını da azalttığı (100, 101) gösterilmiştir. Diğer taraftan süper oksitin PKC üzerinden gerçekleştiği bildirilen santral sinir sistemi üzerine bazı etkileri de bilinmektedir (102, 103). Süper oksit normal olarak hızlı bir şekilde sağlıklı dokulardan Süperoksit dismutaz (SOD) tarafından temizlenmektedir (104). NO ise kendisi de bir oksijen radikali olmakla beraber aynı zamanda dokulardan serbest oksijen radikallerinin sürekli olarak temizlenmesine ve bu şekilde serbest oksijen radikali düzeylerinin daha aşağı seviyelerde tutulmasına yardımcı olduğu bilinen bir moleküldür. NO bu antioksidan özelliği ile böbrek dahil bir çok organı oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden koruyucu işlev görmektedir (99). NO'in eksikliği durumunda ise dokularda SOR düzeylerinde artma gözlenmesi olasıdır (105). NOS enziminin akut inhibisyonunun, böbrekte vazokonstriksiyon, antidiürezis ve antinatriürezise neden olacak biçimde süper oksit aktivitesinde artmaya neden olduğu gösterilmiştir (101). Bu bulgulardan hareketle NO eksikliğinin vücutta oksidatif strese yol açabileceği fikri önem kazanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda oksidatif stres artışının, bir çok hipertansiyon formunun patogenezinde suçlanılan bir faktör olmasına rağmen, tam mekanizması halen anlaşılamamıştır (94). SOR'nin ortamdaki kaldırılması özellikle tuza duyarlı olan formlar olmak üzere bir çok hipertansiyon modelinde kan basıncını azaltmaktadır (106). NO in NOx ürünlerine çevrilmesi işlemi dokularda serbest oksijen radikalleri tarafından katalizlendiği, doku banyosuna SOD eklenmesinin NO yarılanma ömrünü artırmasından ve süperoksit anyonu üretici ajanların ilavesi NO yarılanma ömrünü azalttığı gerçeğinden bilinmektedir (107). Şimdilerde NO'in organizmamızda SOD kadar güçlü bir antioksidan olarak işlev görebileceği ileri düzey çalışmalarla gösterilmiştir (108). NO'in peroksinitrit oluşturmak üzere süperoksit anyonu ile reaksiyonu, SOD un hidrojen peroksit oluşturmak üzere aynı maddeyle

reaksiyonundan yaklaşık 3 kat daha hızlı olduğu bulunmuştur (109, 110) .Daha önce yapılan çalışmalar yüksek tuz diyeti esnasında NOS inhibisyonunun tuza duyarlı hipertansiyon gelişimine ve renal fonksiyon kaybına yol açtığını göstermişlerdir (73). Takip eden çalışmalarda ise maksimuma yakın dozda uzun süreli NOS inhibisyonunda yüksek tuz diyeti uygulanmış ve meydana gelen hipertansiyona oksidatif stresin katkısı olduğu, oksidatif ürünlerin ölçülen değerlerinde yükselmeler ve SOD mimetik ajanların burada meydana gelen kan basıncı artışını kısmi olarak düşürmesiyle gösterilmiştir (72). Ancak düşük doz NOS inhibisyonunda yüksek tuz diyeti kombine uygulandığında meydana gelen hipertansiyonun patogenezinde oksidatif stresin rolü bilinmemektedir.

İzoprostanlar serbest oksijen radikalleri tarafından araşidonik asitin oksidasyonu ile üretilen bileşiklerdir. Bunlardan birisi olan 8-isoprostaglandin F<sub>2</sub>α (8-iso-PGF<sub>2</sub>α), nonenzimatik orijinli eikozanoid ailesine dahildir (111). 8-Iso-PGF<sub>2</sub>α oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (112-114). İzoprostanlar uzamış veya uygunsuz depolanma esnasında oksidatif bozunmaya uğrayan plazma ve doku örneklerinde bulunabildikleri gibi normal koşullar altında plazma ve idrarda görünürler ve oksidatif stres tarafından artırılırlar. Bunlardan en azından 8-izoprostanın biyolojik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bu molekül güçlü bir pulmoner ve renal vazokonstriktördür (115) ve hepatorenal sendrom ve pulmoner oksijen toksisitesinde nedensel aracı olarak ileri sürülmüşlerdir (116). 8-izoprostan aynı zamanda sigara içicilerinde de yüksek bulunmuştur (114). 8-izoprostan seviyeleri aynı zamanda serum, plazma ve tam hücre preparasyonları gibi lipid içeren örneklerin örnek güvenliği için göreceli bir indikatördür (111). Sağlıklı gönüllülerin plazmaları orta dereceli 8-izoprostan seviyeleri (40-100 pg/ml) içerir ve bu yaşla birlikte artma gösterir (117). Çeşitli kromatografik yöntemler 8-isoprostane ölçümleri için geliştirilmiş ve kullanılmış olmasına karşın, gerektirdikleri teknolojik imkanlar ve yüksek maliyet oranları, rutinde kullanılmalarına engel teşkil etmektedir (118). Günümüzde yaygın kullanım kazanmış olan yeni bir yöntem ise immunassay ile 8-iso-PGF<sub>2</sub>α ölçülmesidir (119, 120). Bu yöntemle hem idrar hem de plazmadan ölçüm yapılabilir.

### 1.5.5.5 Renal prostasiklin yapımında azalma:

Prostasiklin kan damarlarından salınan, sistemik ve renal vazodilatör etkisi ve aynı zamanda su ve tuz atılımını artırıcı etkileri bulunan stabil olmayan bir COX ürünüdür (121, 122). Vazodilatör ve natriretik etkisiyle NO molekülüne fonksiyonel olarak benzerlik göstermektedir. COX (siklooksijenaz) enzimi tarafından üretilen prostanoidler böbrekte kompleks etkiler gösterirler. Bu prostanoidler otokrin ve parakrin etkilere sahip olabilir ve böbreği, fizyolojik stres ortamında aşırı fonksiyonel değişikliklerden koruyucu fizyolojik bir ortam olarak işlev görebilir ve dolayısıyla bu etkiler üzerinden; kan basıncı, renal fonksiyonlar ve vücut sıvı dengesinin korunmasında rol oynayabilirler. Renal kortikal COX2-derive prostanoidler ve özellikle PGI<sub>2</sub> and PGE<sub>2</sub>, volüm genişlemesi durumunda kan basıncı ve renal fonksiyonun korunmasında kritik rol oynayabilirler. Renal meduller COX2-derive prostanoidlerin ise, yüksek tuz diyeti almakta olan kişilerde antihipertansif etkilere sahip oldukları görünmektedir. Bu prostanoidler aynı zamanda belli patolojik durumlarda da müdahil olabilmektedirler (123).

Tuza duyarlı Dahl tip ratlarda plazma prostasiklin seviyelerinin, tuza dirençli olan ve normal tuz diyeti almakta olan gruba göre anlamlı oranda düşük olduğu tespit edilmiştir. Çelişkili olarak tuz yüklemesi yapılmayan tuza duyarlı Dahl ratlarda dirençli gruba hemen hemen aynı oranda prostasiklin düzeyleri olmasına karşın tuz yüklemesi olmayan grupta hipertansif cevap meydana gelmemektedir. Diğer taraftan tuza dirençli Dahl ratlarda tuz yüklemesi sonucu plazma prostasiklin seviyelerinde anlamlı oranda azalma tespit edilmesine karşın hipertansif yanıt oluşmaması prostasiklinin tuza duyarlı hipertansiyon gelişimindeki rolü olup olmayacağı hususunda çelişki oluşturmaktadır.

Prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) primer olarak damar endoteli ve renal korteks tarafından araşidonik asitten oluşturulur (124, 125). Güçlü bir vazodilatör ve platelet agregasyon inhibitörüdür (124). PGI<sub>2</sub> non enzimatik olarak (t<sub>1/2</sub> = 2-3 minutes) dakikalar içinde 6-keto PGF<sub>1α</sub> ya hidrate edilir ve daha sonra majör metaboliti olan 2,3-dinor-6-keto PGF<sub>1α</sub>'ya (t<sub>1/2</sub>=30 dakika) dönüştürülür (126-128). Prostasiklin ilk zamanlar platelet-damar ilişkisini düzenleyen bir hormon olarak düşünüldü fakat, kısa yarı

ömürü ile ilişkili sekresyon hızı gösterir ki; prostasiklin lokal olarak fonksiyon yapar (129).

COX-derive prostanoidlerin diabetik nefropati patogeneğinde müdahil oldukları rapor edilmiştir (130). 6-keto PGF1 $\alpha$ , prostasiklin ölçmek amacıyla plazma ve idrarda genel olarak bakılan bir metabolit olmasına rağmen, PGI2'nin bu örneklerde miktarını belirleyen kaynakların çeşitli olduğu hatırdan çıkmamalıdır. Örneğin venöz kan alma sırasında plazma prostasiklin (6-keto PGF1 $\alpha$ ) konsantrasyonları artefaksiyel olarak artabilmektedir (131) . idrar PGI2 kaynağının sadece ~14% kadarının plazma kaynaklı olduğu ve geri kalanının renal orjinli olduğu bildirilmektedir (129, 131). Verilerin analizinde bu faktörlerin de dikkate alınması önemlidir.

#### **Çalışmanın Gerekçesi / Amacı:**

Kan basıncının kontrolünde ve lokal kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynayan güçlü vazodilatör prostasiklinin renal komponentinin tuza dirençlilikte katkısı bilinmemektedir. Tek başlarına kan basıncını etkilemeyen kısmi NOS inhibisyonu ve tuz yüklemesi, birlikte uygulandıklarında oluşturdukları hipertansiyonda, sempatik sinir sistemi aktivitesinin ve oksidatif stresin katkıları ne derecede olduğuna dair veriler ise sınırlı sayıdadır.

Bu nedenlerle bu çalışmada: Tuza dirençli normotensif ratlarda total ve kısmi NOS inhibisyonu yapan dozlarda NOS inhibitörü ve tuz yüklemesi uygulayarak idrarda katekolamin metaboliti olan VMA, dopaminerjik sistemin ana metaboliti HVA ve serotonin metaboliti olan 5-HİAA, oksidatif stres göstergesi olan 8-izoprostan, renal kaynaklı prostasiklin düzeyleri ile, günlük su tüketimi, idrar volümü, deney sonu 24 saatlik idrarda sodyum, potasyum, total protein ve kreatinin düzeylerinde değişiklikler ve aynı zamanda “*in vitro*” ortamda torasik aorta halkalarında fenilefrin kasılma cevaplarıyla, bunların kan basıncı değişimlerine muhtemel katkılarının değerlendirilmesi amaçlandı.

## 2 GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1 Denekler :

Araştırmada 220-260 gr ağırlığında Spraque-Dawley cinsi erkek ratlar (n=42) kullanıldı. Ratlar standart şartlarda (12 saat günışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odalarda), bireysel metabolik kafeslerde barındırıldı.

### 2.2 Tuz uygulama :

Tuz diyeti ratlara yemle beraber verildi. Ratların beslenmeleri ilk 3 günlük eşitleme periyodunda normal standart rat yemiyle, devamında ise çalışma sonlandırılincaya kadar % 0.8 veya % 8'lik ticari rat yemlerinden biriyle yapıldı.

### 2.3 L-NNA uygulamaları :

L-NNA deneklere içme suyuyla birlikte uygulandı. Tüm gruplarda deneklerin su alımı serbest bırakıldı. Yüksek tuz grubunda olan ratların diğerlerine nazaran daha fazla su içeceği göz önünde tutularak, yüksek tuz diyeti alan gruplarda sudaki L-NNA konsantrasyonu içilen günlük su miktarına göre düzeltildi ve nihai günlük dozlar çalışma sonunda hesaplanarak ortalama günlük uygulanan ilaç dozu elde edildi. Tuz ve L-NNA uygulaması 14 gün ve devamında ratlar dekapite edilinceye kadar sürdürüldü.

### 2.4 Deney protokolü :

#### 2.4.1 Gruplar :

Ratlar her bir grupta 7, rat olacak şekilde altı gruba ayrıldı (n=42).

- 1.Grup: % 0.8 tuz içeren yem verildi. (Kontrol)
- 2.Grup: Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu Verildi. (Tuz [T])
- 3.Grup: Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5 mg/kg/gün dozda L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi. (LNNA5)
- 4.Grup: Ratlara deney süresi boyunca % 8'lik tuz içeren yem ve ~5mg/kg/gün dozda L-NNA içeren içme suyu verildi. (TLNNA5)
- 5.Grup: Ratlara deney süresi boyunca içme suyunda ~25 mg/kg/gün dozda L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi. (LNNA25)
- 6.Grup: Ratlara deney süresi boyunca % 8'lik tuz içeren yem ve içme suyunda ~25 mg/kg/gün dozda L-NNA verildi. (TLNNA25)



#### **2.4.2 Kan basıncı ölçümleri :**

Bilinci açık ratların kan basıncı ölçümleri (sistolik kan basıncı) kuyruktan indirekt tail cuff yöntemi ile yapıldı (MAY BPHR 9610-PC TAİL-CUFF Indirect Blood Pressure Recorder, Ankara, Türkiye) Tüm gruptaki Ratların kan basıncı ölçümleri 0., 7. ve 14. günlerde yapıldı. Alınan kan basıncı değerleri bilgisayara kaydedildi. Her ratdan 5 ölçüm alındı ve ortalamaları hesaplandı.

#### **2.4.3 İdrar örneklerinin toplanması:**

24 saatlik idrar örnekleri çalışmanın bitiminden sonraki 3 gün alındı. İlk gün alınan idrar örneğinden elektrolit, kreatinin ve total protein analizi için 1,5 ml lik ependorf tüplerine 1 ml idrar alınıp -20 °C de ölçüm yapılmaya kadar saklandı. Aynı gün idrar prostasiklin analizi için alınan idrar örneği 13.000 rpm devirde 5 dk. santrifüj sonrası -80 C de ölçüm yapılmaya kadar muhafaza edilmiştir. İkinci gün idrar toplama kaplarına 6 molarlık HCl çözeltisinden düşük tuz grubuna 200 yüksek tuz grubuna ise 500 mikrolitre konularak idrar toplamaya geçildi. Alınan örnekler High Performance Liquid Chromatography (HPLC) yöntemiyle hemen analiz edildi. Üçüncü gün ise 8-isoprostane ölçümleri (ELİSA) için 20 (Normal Tuz) veya 50 (Yüksek Tuz) mikrolitre (2mM) EDTA içeren idrar kapları kullanıldı. Alınan idrarlar 1000 rpm devirde 10 dk. Santrifüj sonrası -80 C ye konuldu ve analiz yapılmaya kadar muhafaza edildi.

#### **2.4.4 Cerrahi uygulamalar:**

Deney sonunda, denekler dekapite edilerek kan örnekleri alındı. Daha sonra çabuk bir biçimde abdomen ve toraks orta hattan açıldı. Torasik aorta diafragmanın üzerinden başlayarak arkus aortaya doğru diseke edilerek çıkarıldı ve soğuk krebs solüsyonu içine alındı. Torasik aorta çevre bağ ve destek dokularından dikkatlice temizlenerek arkusa yakın uçtan 4 mm boyunda halka halinde kesildi.

#### **2.4.5 İn vitro deneyler:**

Hazırlanan 4 mm boyundaki torasik aorta halkaları, lümeninden birbirine paralel iki paslanmaz çengel geçirilerek içerisinde 37°C'ta ısıtılmış ve %95 O<sub>2</sub> + %5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan Krebs-Ringer bikarbonat solüsyonu bulunan 10 ml'lik izole organ banyosuna asıldı. Alt çengel izole organ banyosunun tutma kısmına tutturulacak üst çengel de izometrik kasılma cevaplarını kaydetmek için force-displacement transducerlerine (FT 0.03) bağlandı. Kayıtlar Grass marka

(Model 79) poligrafla yapıldı. 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 solusyonla yenilendi. İn vitro torasik aorta çalışmaları endotel varlığında çalışıldı. Aortik halkaların fenilefrin ( $10^{-9}$  -  $10^{-4}$  mol/L) kasılma cevapları bakıldı. Emax değerleri için 80 mmol/L KCl ile elde edilen kasılma cevabı referans alınarak % kasılma cevabı olarak ifade edildi.

#### **2.4.6 Biyokimyasal analizler:**

##### **2.4.6.1 Serum NOx ölçümleri:**

Cerrahi prosedür sırasında kalpten alınan kanlar düz biyokimya tüplerine konuldu 4000 rpm devirde 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen örnek daha sonra ölçüm yapılana kadar  $-20$  °C de saklanıldı. NOx ölçümleri spektrofotometri cihazı kullanılarak yapıldı. Serum NOx ölçümü için alınan kan örnekleri 5000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi ve serum kısmı ayrıldı. Ayrılan serumlar numaralandırılmış ependorf tüplerine konuldu ve ölçümler yapılana kadar ( $-20$  °C) de saklandı. Serumlardan NOx ölçümü yapmak için serumlar oda sıcaklığında eritilerek herbirinden 250µl alındı ve üzerine 1ml çinko sülfat çözeltisi ilave edildi. Vortekslendikten sonra 1,250 µl (55mmol/l) sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilerek 3500g de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki çözelti kısmından 2ml alınarak üzerine 2ml distile su 1ml glisin tamponu ilave edildi ve bu çözelti yıkanmış kadmiyum granüllerinin üzerine eklendi. Sonrasında karanlık odada 90 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübe edilen indirgenmiş çözülden 2ml numune alınarak üzerine 1ml sülfanilamid, 1ml naftiletilediamin çözeltisi ve 0.5ml distile su ilave edildi. Yaklaşık 20-60 dakika bekletildikten sonra ultraviyole spektrofotometresinde 545 nm dalgaboyunda ölçüm yapıldı. Her bir numunenin konsantrasyon değeri, elde edilen absorbans değerlerinin kalibrasyon eğrisine yerleştirilmesiyle hesaplandı (132).

##### **2.4.6.2 Serum ve idrar $Na^+$ ve $K^+$ ölçümleri:**

Cerrahi işlem sırasında kalpten alınan kanın bir kısmı biyokimya tüplerine alınarak 4000 rpm de santrifüj sonrası elde edilen serumdan ve deneyin son gününde

toplanan 24 saatlik idrar örneklerinden Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> düzeyleri otoanalizör (Olympus AU600 Chemistry Analyzer, USA) ile ölçüldü.

#### **2.4.6.3 İdrar 8-isoprostan ve prostasiklin ölçümü:**

İdrar örneklerinden 8-isoprostane (133) ve prostasiklin (134) ölçümleri hazır olarak alınan 96 kuyucuklu Eliza kitleri (Cayman Chemical, USA) kullanılarak yapıldı. Standart ve örneklerin ortalama absorban değerleri alındı. %B/B0 değerleri bulundu. Standart eğri linear grafik ile çıkartılarak örneklerin %B/B0 değerleri yerleştirildi ve 8-izoprostan ve PGI2 konsantrasyonları pg/ml cinsinden hesaplandı.

#### **2.4.6.4 İdrar katekolamin metabolitleri ölçümü :**

24 saatlik idrardan VMA, HVA ve 5-HIAA ölçümleri High Performance Liquid Chromatography (HPLC) kitleriyle (Hewlett Packard 1100 series HPLC system and ClinRep®, Recipe Chemicals and Instruments GmbH Munich, Germany) çalışıldı.

#### **2.4.6.5 İdrar Albümin ve kreatinin ölçümleri :**

24 saatlik idrardan total protein ve kreatinin analizi otoanalizör (Olympus AU600 Chemistry Analyzer, USA) yardımıyla çalışıldı.

#### **2.4.7 İstatistiksel analiz:**

Elde edilen veriler ortalama±standart hata (SH) olarak belirtildi. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılık düzeylerini belirlemek için “Origin 5.0” paket istatistik programları kullanıldı. İstatistiksel farklar bağımsız gruplarda “one-way ANOVA” ve “independent student-t” testleri ile hesaplandı. Aynı grubun farklı zaman noktalarındaki değerleri arasındaki fark değerlendirmek için “paired student-t test” kullanıldı. Elde edilen sonuçların yorumlanmasında p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### **2.4.8 Kullanılan Kimyasallar :**

Fenilefrin, Asetilkolin, L-NNA, n-(-1naphthyl)-etilendiamin dihidroklorid (Sigma Aldrich Inc. St. Louis, MO. A.B.D) dan; sülfirikasit, hidroklorik asit, bakır sülfat pentahidrat, sodyum nitrit, sodyum hidroksit, sülfanil amid (Merk. KgaA, Almanya) dan; granül kadmiyum (Fluka Chemie, Steinheim, İsviçre); glisin hidroklorid (Sigma Aldrich Inc.St. Louis, MO. A.B.D); çinko sülfat heptahidrat Carlo Erba’dan satın alındı.

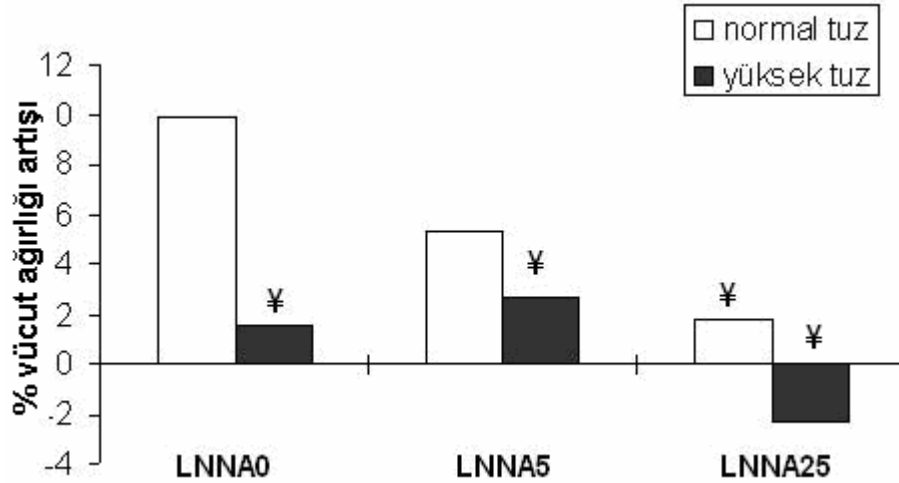
### 3 BULGULAR:

#### 3.1 İlaç Alımı:

L-NNA uygulanmakta olan herbir grupta deneklerin günlük aldıkları su hacmine göre, içtikleri suda L-NNA konsantrasyonları ayarlandı. Daha sonra herbir denek için 14 günlük ortalama bulundu. Bu veriler kullanılarak grup ortalamaları belirlendi. Deney sonunda alınan L-NNA konsantrasyonları (mg/kg/gün) LNNA5; TLNNA5; LNNA25; TLNNA25NT5; grupları için sırasıyla,  $4.67 \pm 0.21$ ;  $4.87 \pm 0.21$ ;  $24.21 \pm 1.82$ ;  $25.12 \pm 0.92$  olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 1).

#### 3.2 Deneklerin gelişimleri :

Grupların 14 günlük ortalama ağırlık artışları % değişim olarak ifade edildi. Kontrol; Tuz (T); LNNA5; TLNNA5; LNNA25; TLNNA25 için % Ağırlık değişimleri ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak sırasıyla  $9.90 \pm 0.94$ ;  $1.54 \pm 1.67$ ;  $5.26 \pm 2.04$ ;  $2.68 \pm 2.03$ ;  $1.77 \pm 2.16$ ;  $-2.30 \pm 1.49$  olarak hesaplandı.



Şekil 3 : 14 günlük % vücut ağırlığı artışları.

¥ Kontrol grubuna göre anlamlı farklıdır (p<0.5)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.  
LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.  
LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

#### 3.2.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamalarının deneklerin gelişimi üzerine etkisi:

L-NNA uygulamalarının normal tuz içeren diyet alan gruplarda deneklerin gelişimlerine etkileri değerlendirildiğinde, L-NNA dozuyla paralellik gösteren bir

ağırlık kazanımı azalması bulunmakla birlikte, sadece Kontrol (9.90±0.94) grubu ile LNNA25 grubu arasındaki % ağırlık artışı farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (p<0.05) (Şekil 3). Yüksek tuz içeren diyet alan gruplarda 5 veya 25 mg L-NNA uygulamalarının Tuz grubuna göre % ağırlık kazanımı yönünden değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık tespit edilmedi. Kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde ise Tuz, TLNNA5 ve TLNNA25 gruplarında anlamlı azalma bulundu (p<0,05). Bunun yanında TLNNA25 grubunda ağırlık kazanımı yerine belirgin ağırlık kaybı gözlemlendi (Şekil 3).

### **3.2.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının deneklerin gelişmelerine etkileri:**

Şekil 3'te gösterildiği gibi tuz uygulanan gruplarda tuz uygulanmayan gruplara göre % ağırlık kazanımında belirgin bir azalma tespit edilmekte iken, farklılık sadece Tuz grubu ile Kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,05).

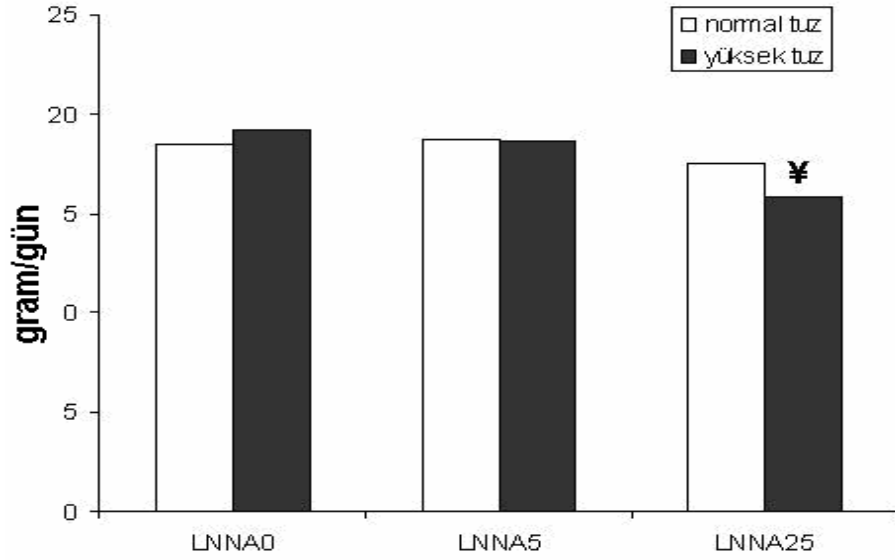
## **3.3 Metabolik Çalışmalar :**

### **3.3.1 Yem alımı :**

Deneklerin 14 günlük ortalama yem alımları (gram/gün) KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için ortalama ± standart hata (SH) olarak sırasıyla 18.51±0.27; 19.14±1.09; 18.68±0.50; 18.60±0.43; 17.57±0.34; 15.76±1.09 olarak hesaplandı (Tablo 1).

#### **3.3.1.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama yem alımları üzerine etkileri :**

Normal tuz içerikli diyet alan gruplar arasında günlük ortalama yem alımına “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Yüksek tuzlu diyete alınan gruplarda ise sadece TLNNA25 grubunda, Kontrol grubuna göre yem alımında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu (p<0.05) (Şekil 4).



Şekil 4: 14 günlük ortalama yem alımları (gram).

¥ Kontrol grubuna göre anlamlı farklıdır (p<0.5)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.  
 LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.  
 LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.1.2 Diyette yüksek tuz uygulamasının yem alımı üzerine etkileri :

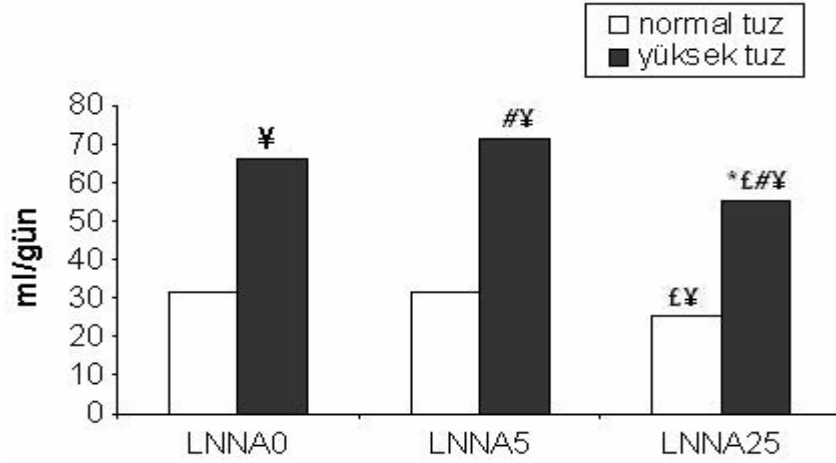
Tuz uygulaması yapılan gruplarda, normal diyet uygulananlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşmadı (Şekil 4).

### 3.3.2 Su alımı:

Deneklerin ortalama günlük su alım miktarları KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için ortalama ± standart hata (SH) olarak sırasıyla 31.5±0.93; 65.97±3.48; 31.81±1.39; 71.19±3.69; 25.69±2.35; 55.03±2.35 olarak hesaplandı (Tablo 1).

#### 3.3.2.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama su alımları üzerine etkileri.

Normal tuz içeren diyet alan gruplar arasında günlük ortalama su alımı üzerine “*in vivo*” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde sadece LNNA25 grubunda Kontrol ve LNNA5 gruplarına göre anlamlı azalma bulundu (p<0,05). Yüksek tuzlu diyete alınan gruplarda L-NNA etkisine bakıldığında, sadece TLNNA25 grubunda , TUZ ve TLNNA5 gruplarına göre su alımında anlamlı azalma olduğu bulundu (p<0.05) (Şekil 5).



Şekil 5: 14 günlük ortalama su alımları.

¥ Kontrolle göre anlamlı farklıdır (p<0,05)

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklıdır (p<0,05)

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklıdır (p<0,05)

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklıdır (p<0,05)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.2.2 Diyette yüksek tuz uygulamasının su alımı üzerine etkileri :

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan grupların hepsinde normal tuz diyeti alan gruba göre su tüketiminde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi (p<0,0001) (Şekil 5).

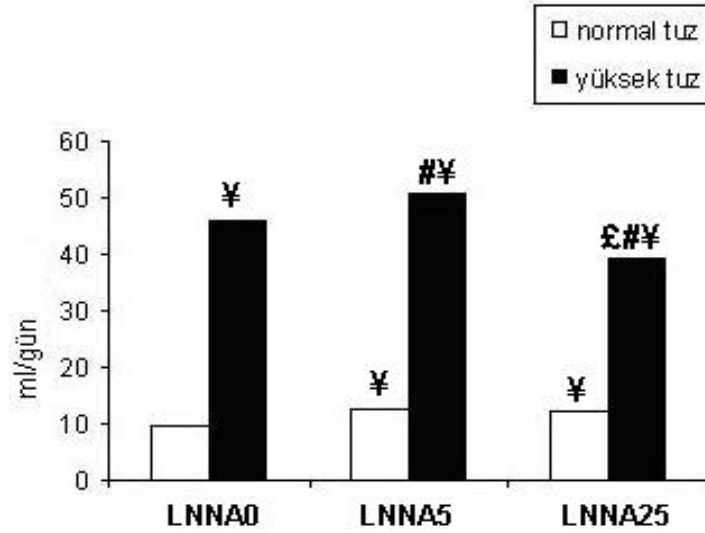
### 3.3.3 İdrar çıkarma :

Deneklerin 14 gün boyunca çıkardıkları günlük idrar miktarlarından, ortalama idrar hacimleri (ml/gün) hesaplandı ve ortalama ± standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için günlük ortalama idrar hacimleri sırasıyla 9.77±0.35; 45.86±3.52; 12.54±0.64; 50.56±1.21; 12.21±0.86; 39.42±2.40 olarak bulundu.

#### 3.3.3.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama idrar hacimleri üzerine etkileri:

Normal tuz içeren diyet alan gruplar arasında günlük ortalama idrar hacmi üzerine “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde; Kontrol grubuna göre LNNA5 ve LNNA25 grubunun anlamlı artış gösterdiği bulundu (p<0.05) (Şekil 6). LNNA5 ile LNNA25 grupları arasında anlamlı bir farklılık

bulunamadı. Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplar üzerine L-NNA etkisi incelendiğinde ise TLNNA5 grubuna göre TLNNA25 grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda azalma bulundu ( $p<0.05$ ) (Şekil 6), diğer farklılıklar anlamlı değildi.



Şekil 6: Ortalama günlük idrar hacmi .

- ¥ Kontrolle göre anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )
- \* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )
- # Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )
- £ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.  
LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.  
LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.3.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının günlük idrar hacmi üzerine etkileri:

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan grupların hepsinde normal tuz diyeti alan gruba göre su tüketiminde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ( $p<0,0001$ ) (Şekil 6).

### 3.3.4 Ortalama günlük su dengesi

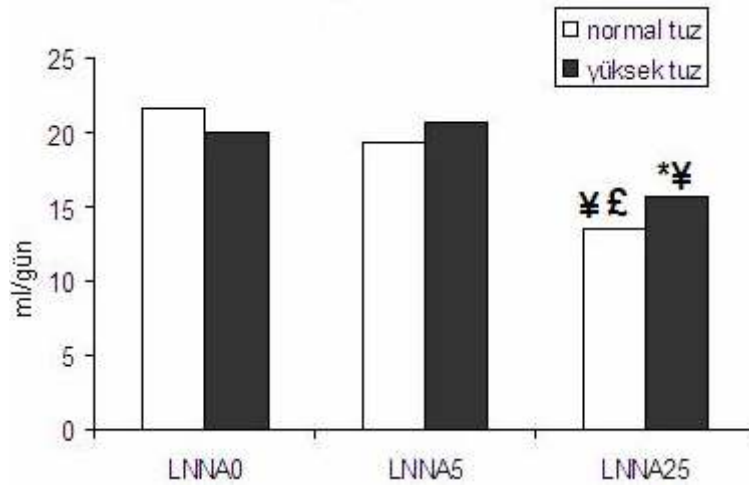
Deneklerin 14 gün boyunca aldıkları günlük su hacminden, çıkardıkları idrar miktarı çıkarılarak günlük su dengeleri hesaplandı. Daha sonra 14 günlük ortalamalar bulundu ve grup ortalamaları hesaplanarak ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi (Tablo 1). Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25



ve TLNNA25 grupları için günlük ortalama su dengesi sırasıyla 21.73±0.64; 20.11±0.79; 19.27±1.09; 20.63±2.69; 13.49±1.6; 15.61±0.52 olarak bulundu.

### 3.3.4.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının deneklerin günlük ortalama su dengesi üzerine etkileri.

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında günlük ortalama su dengesi üzerine “*in vivo*” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildi. LNNA25 grubunda, Kontrol ve LNNA5 gruplarına göre su dengesinin anlamlı azalma gösterdiği bulundu ( $p<0.05$ ) (Şekil 7). LNNA5 grubunda ise Kontrol grubuna göre anlamlılık taşımayan minimal düzeyde azalma vardı. Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplarda günlük ortalama su dengesi üzerine “*in vivo*” L-NNA etkisi incelendiğinde ise TLNNA25 grubunda, TUZ ve TLNNA5 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azalma bulundu ( $p<0,0001$ ) (Şekil 7), diğer farklılıklar anlamlı değildi.



Şekil 7: Ortalama günlük su dengesi.

£ Kontrolle göre anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.4.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının günlük ortalama su dengesi üzerine etkileri .

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan grupların hiçbirinde, aynı oranda LNNA alan grup ve Kontrol grubuna göre günlük ortalama su dengesinde istatistiksel olarak anlamlı değişme tespit edilmedi ( $p>0,05$ ) (Şekil 7).

### 3.3.5 Kan Basınçları :

Deneklerin sistolik kan basıncı değişimleri tüm gruplarda 0., 7. ve 14. günlerde Tail cuff cihazı kullanılarak ölçüldü ve ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi (Tablo 2).

Tablo 1: Tüm gruplarda 0., 7. ve 14. günlerde sistolik kan basıncı değerleri.

Gruplar	Sistolik Kan Basınçları (Ortalama $\pm$ SH) (mmHg)		
	0. gün	7. gün	14. gün
<b>Kontrol</b> (n=6)	122.67 $\pm$ 4.09	117.50 $\pm$ 1.09	123.83 $\pm$ 4.23
<b>Tuz</b> (n=6)	120.00 $\pm$ 1.21	113.17 $\pm$ 3.50	120.17 $\pm$ 4.4
<b>LNNA5</b> (n=7)	123.43 $\pm$ 1.19	126.50 $\pm$ 0.76	127.29 $\pm$ 1.92
<b>TLNNA5</b> (n=7)	127.00 $\pm$ 2.77	136.71 $\pm$ 6.18	141.43 $\pm$ 3.12 $\Psi^*\#\text{¥}$
<b>LNNA25</b> (n=6)	123.83 $\pm$ 1.58	135.50 $\pm$ 4.36 $\Psi$	147.17 $\pm$ 3.60 $\Psi\omega\text{¥£}$
<b>TLNNA25</b> (n=6)	122.00 $\pm$ 2.82	136.67 $\pm$ 5.47 $\Psi$	162.50 $\pm$ 9.46 $\Psi\omega^*\text{£¥}$

$\text{¥}$  Kontrole göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

$\Psi$  Aynı grubun 0. gününe göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

$\omega$  Aynı grubun 7. gününe göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

Kontrol : % 0.8 tuz içeren yem verildi.

Tuz : Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu verildi.

LNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

LNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

Buna göre sistolik kan basıncı değerleri ortalaması 0., 7. ve 14. gün için sırasıyla Kontrol grubunda 122.67 $\pm$ 4.09; 117.50 $\pm$ 1.09; 123.83 $\pm$ 4.23, Tuz grubunda 120.00 $\pm$ 1.21; 113.17 $\pm$ 3.50; 120.17 $\pm$ 4.4, LNNA5 grubunda 123.43 $\pm$ 1.19; 126.50 $\pm$ 0.76; 127.29 $\pm$ 1.92, TLNNA5 grubunda 127.00 $\pm$ 2.77; 136.71 $\pm$ 6.18; 141.43 $\pm$ 3.12, LNNA25 grubunda 123.83 $\pm$ 1.58; 135.50 $\pm$ 4.36; 147.17 $\pm$ 3.6 ve TLNNA25 grubunda 122.00 $\pm$ 2.82; 136.67 $\pm$ 5.47; 162.50 $\pm$ 9.46 olarak hesaplandı. Başlangıç (0. gün) SKB ortalamaları açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu

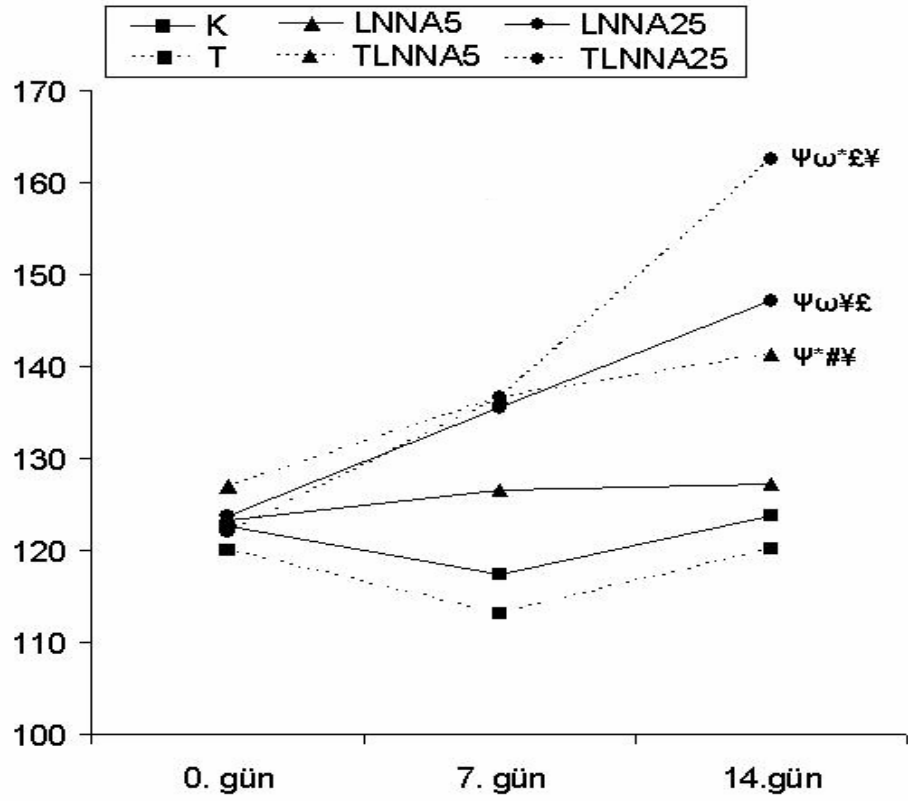
( $p<0,05$ ). 14. gün SKB ortalamaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar mevcuttu ( $p>0,05$ ) (Tablo 2). Genel olarak 14. gün değerleriyle karşılaştırıldığında tuz ve 5mg L-NNA uygulamalarının tek başlarına anlamlı kan basıncı değişimine neden olmadıkları buna karşın 14 gün boyunca 5mg L-NNA + tuz uygulamasının sistolik kan basıncında istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşan değerlerde SKB artışına neden oldukları tespit edilmektedir. L-NNA dozu 25 mg olan LNNA25 ve TLNNA25 gruplarında ise dikkate değer oranda SKB artışı olduğu ve bu artışın TLNNA25 grubunda en tepeye ulaştığı görünmektedir (Şekil 9).

#### **3.3.5.1 Normal tuz oranına sahip diyet alan ratlarda, artan dozlarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının sistolik kan basınçları üzerine etkileri :**

Normal tuz içeren diyet alan gruplarda 0., 7. ve 14. gün kan basınçları kendi aralarında karşılaştırıldı. Kontrol ve LNNA5 gruplarında farklı zaman noktaları arasında anlamlı bir kan basıncı değişimi saptanmazken, LNNA25 grubunda 14. gün ve 7. gün ortalama SKB değerlerinin 0. gün değerine göre anlamlı yüksek olduğu bulundu ( $p<0,005$ ) ve ( $p<0,05$ ). Aynı zamanda LNNA25 grubunun 14. gün ort. SKB değerinin, aynı grubun 7. gün değerine göre karşılaştırmada anlamlı yüksek olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ).

#### **3.3.5.2 Yüksek tuz oranına sahip diyet alan ratlarda, artan dozlarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının sistolik kan basınçları üzerine etkileri:**

Yüksek tuzlu diyetle beslenen gruplarda 0., 7. ve 14. gün ort. SKB değerleri kendi içinde karşılaştırıldı. TUZ grubunda anlamlı bir değişim saptanmadı. TLNNA5 grubunda 14. gün ort. SKB değeri aynı grubun 0. gün değerine göre anlamlı oranda artmış bulundu ( $p<0,004$ ). TLNNA25 grubunda ise 14. gün ort. SKB değeri aynı grubun 0. gün ve 7. gün değerlerine göre anlamlı oranda artmış bulundu. Yine TLNNA25 grubunun 7. gün ort. SKB değeri aynı grubun 0. gün ort. SKB değerinden de anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 2).

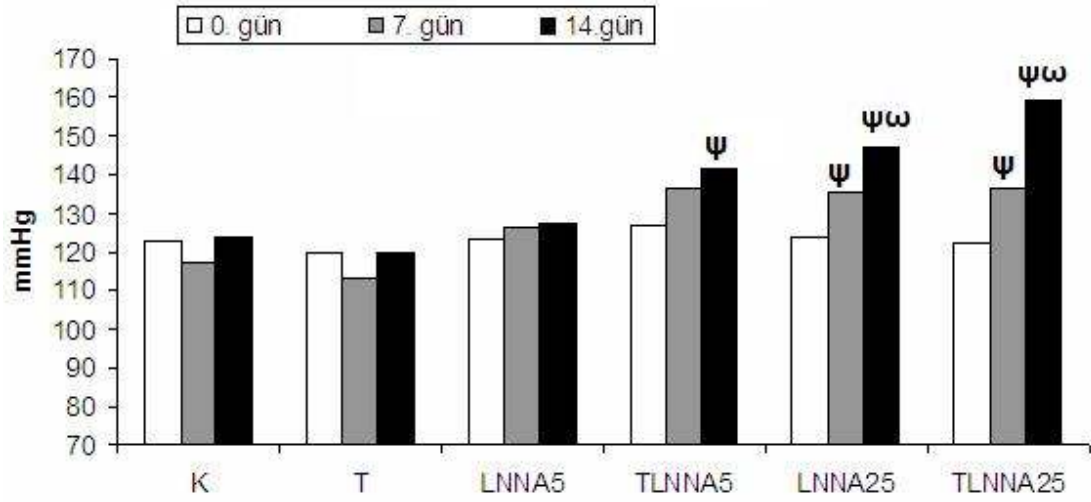


Şekil 8: Sistolik kan basınçlarına artan dozlarda L-NNA uygulaması ve tuz diyetinin etkisi.

(Not: Sadece 14. kan basınçları anlamlılık değerleri gösterilmiştir)

- ¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- \* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- # Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- £ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- Ψ Aynı grubun 0. gününe göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- ω Aynı grubun 7. gününe göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

- Kontrol : % 0.8 tuz içeren yem verildi.
- Tuz : Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu verildi.
- LNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA içeren su ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.
- TLNNA5 : Ratlara deney süresi boyunca % 8'lik tuz içeren yem ve ~5mg/kg/gün L-NNA içeren içme suyu verildi.
- LNNA25 : Ratlara deney süresi boyunca içme suyunda ~25 mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.
- TLNNA25 : Ratlara deney süresi boyunca % 8'lik tuz içeren yem ve içme suyunda ~25 mg/kg/gün L-NNA verildi.



Şekil 9: Tüm gruplarda 0., 7. ve 14. günlerde SKB grafiği\*.

\*(Not: Sadece grup içi anlamlılıklar verilmiştir)

**ψ Aynı grubun 0. gününe göre anlamlı farklılık vardır.**

**ω Aynı grubun 7. gününe göre anlamlı farklılık vardır.**

Kontrol : % 0.8 tuz içeren yem verildi.

Tuz : Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu verildi.

LNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA içeren su ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA5 : Ratlara deney süresi boyunca % 8'lik tuz içeren yem ve ~5mg/kg/gün L-NNA içeren içme suyu verildi.

LNNA25 : Ratlara deney süresi boyunca içme suyunda ~25 mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA25 : Ratlara deney süresi boyunca % 8'lik tuz içeren yem ve içme suyunda ~25 mg/kg/gün L-NNA verildi.

Tablo 2: Tüm gruplarda Uygulanan İlaç dozu, yem ve su alımları, idrar hacmi ve ağırlık değişimleri.

Gruplar	L-NNA (mg/kg/gün)	Yem Alımı (gram/gün)	Su Alımı (ml/gün)	Ort. İdrar Hacmi (ml/gün)	Ort. su dengesi (ml/gün)	% Ağırlık Artışı
<b>Kontrol (n=6)</b>	-	18.51 ± 0.27	31.5±0.93	9.76923±0.35	21.73±0.64	9.90±0.94
<b>Tuz (n=6)</b>	-	19.14 ± 1.09	65.97±3.48 ¥	45.86111±3.52 ¥	20.11±0.79	1.54±1.67 ¥
<b>LNNA5 (n=7)</b>	4.67±0.21	18.68 ± 0.49	31.81±1.39	12.53571±0.64 ¥	19.27±1.09	5.26±2.04
<b>TLNNA5 (n=7)</b>	4.87±0.21	18.60 ± 0.43	71.19±3.69 #¥	50.55952±1.21 #¥	20.63±2.69	2.68±2.03 ¥
<b>LNNA25 (n=6)</b>	24.21±1.82	17.57 ± 0.34	25.69±2.35 ¥£	12.20833±0.86 ¥	13.49±1.6¥£	1.77±2.16 ¥
<b>TLNNA25 (n=6)</b>	25.12±0.92	15.76 ± 1.09 ¥	55.03±2.35 *£#¥	39.41667±2.40 £#¥	15.61±0.52*¥	-2.30±1.49 ¥

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

Kontrol : % 0.8 tuz içeren yem verildi.

Tuz : Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu verildi.

LNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

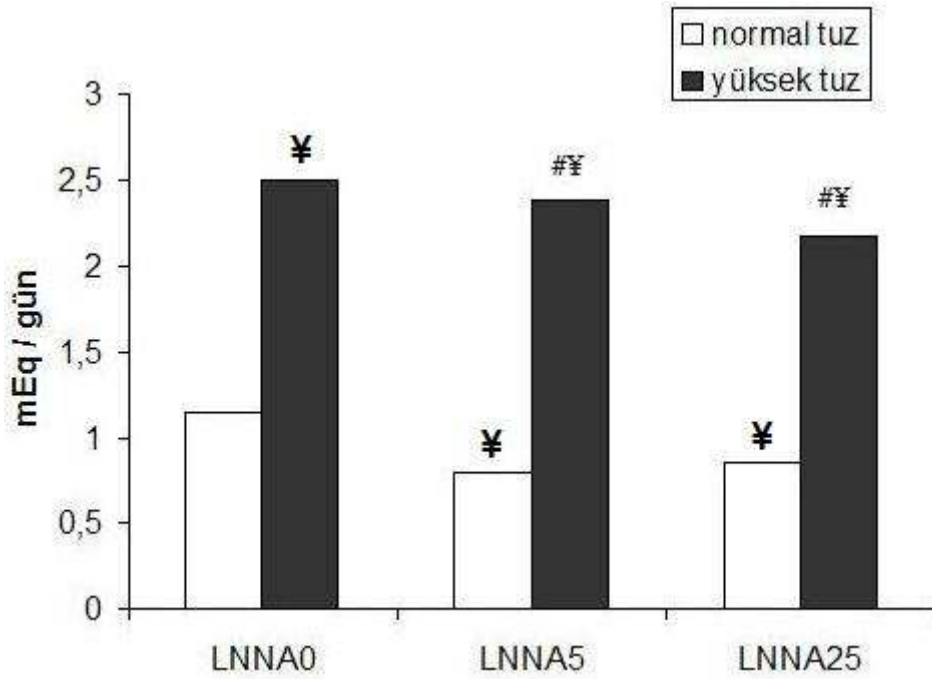
LNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

### 3.3.6 Biyokimyasal Analizler :

#### 3.3.6.1 İdrarda son gün potasyum düzeyleri :

Deneklerin 14. gün idrar örneklerinde ölçülen potasyum düzeylerinden, çıkardıkları 24 saatlik idrar miktarına göre 24 saatlik potasyum miktarları hesaplandı. Son gün idrar potasyum düzeyleri (mEq/gün) ortalama±standart hata (SH) olarak KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için sırasıyla 1.15±0.06; 2.50±0.14; 0.80±0.02; 2.38±0.18; 0.85±0.03; 2.18±0.14 olarak bulundu (Tablo 3).



Şekil 10: idrarda son gün potasyum düzeyleri.

- ¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- \* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- # Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- £ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.  
LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.  
LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### **3.3.6.1.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının deneklerin son gün idrarda potasyum atılımları üzerine etkileri.**

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında son gün idrar potasyum atılımları üzerine “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildi. LNNA5 ve TLNNA5 gruplarında Kontrol grubuna göre azalma tespit edildi. Farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ). LNNA5 grubuna göre LNNA25 grubunda anlamlı bir farklılık yoktu (Şekil 10) (Tablo 3). Yüksek tuz diyeti alan gruplarda artan dozlarda LNNA uygulaması değerlendirildiğinde ise, LNNA dozları arttıkça TUZ grubundan TLNNA25 grubuna doğru bir azalma tespit edilmekle beraber, farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi.

### **3.3.6.1.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının son gün idrarda potasyum atılımları üzerine etkileri .**

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan grupların hepsinde potasyum değerleri, normal tuz ve aynı oranda LNNA alan grubun değerine göre yüksek oranda anlamlılık taşıyan bir artma gösterdiler ( $p<0,00005$ ) (Şekil 10).

### **3.3.6.2 idrarda son gün sodyum düzeyleri :**

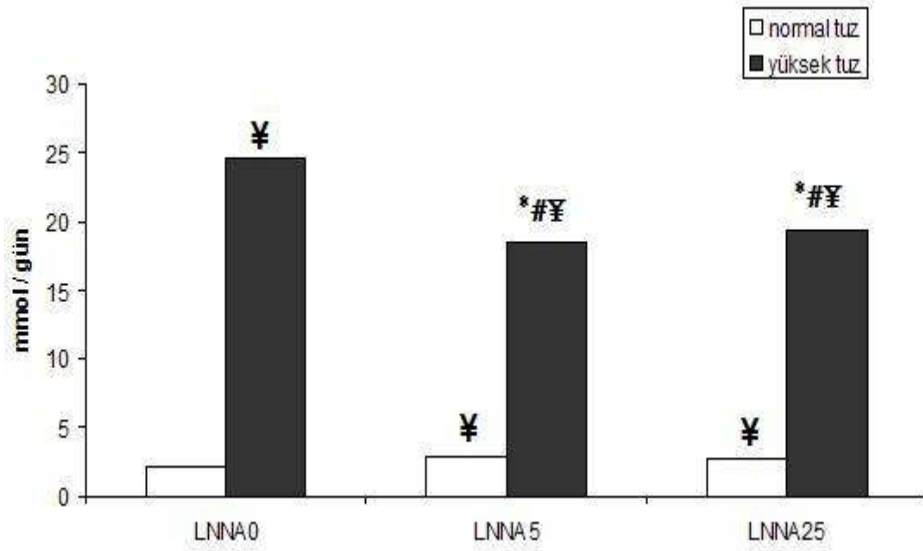
Deneklerin 14. günde alınan idrar örneklerinde  $\text{Na}^+$  düzeyleri analiz edildikten sonra, günlük idrar volümüne göre toplam  $\text{Na}^+$  atılımı hesaplanıp (mmol/gün), ortalama±standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için günlük ortalama sodyum atılımları sırasıyla  $2.19\pm 0.10$ ;  $24.50\pm 1.04$ ;  $2.87\pm 0.24$ ;  $18.50\pm 1.05$ ;  $2.77\pm 0.10$ ;  $19.40\pm 1.44$  olarak bulundu (Tablo 3).

### **3.3.6.2.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının deney sonu 24 saatlik $\text{Na}^+$ atılımlarına etkisi.**

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında deney sonu 24 saatlik  $\text{Na}^+$  atılımları üzerine “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildi. Kontrol grubuna göre değerlendirmede LNNA5 ve LNNA25 gruplarında sodyumun 24 saatlik atılımında anlamlı artma olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ). Yüksek tuz diyeti alan gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde ise, TUZ grubuna göre bakıldığında anlamlı



olmamakla beraber TLNNA5 ve TLNNA25 gruplarında 24 saatlik tuz atılımında dikate değer azalma tespit edilmektedir (Şekil 11).



Şekil 11: Deney sonu idrarda 24 saatlik sodyum atılımı.

- ¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )  
\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )  
# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )  
£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.  
LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.  
LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.6.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu 24 saatlik $Na^+$ atılımları üzerine etkileri .

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan grupların hepsinde, aynı oranda LNNA alan grup ve Kontrol grubuna göre 24 saatlik idrarda  $Na^+$  atılımında belirgin artma tespit edilmiştir ve farklılık istatistiksel olarak büyük anlamlılık taşımaktadır ( $p<0,0000005$ ) (Şekil 11).

### 3.3.6.3 Serumda son gün sodyum düzeyi :

Deneklerin serum örnekleri deney bitiminde alındı ve  $Na^+$  analizi yapıldı. Sonuçlar ve ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için deney sonu serum  $Na^+$  seviyeleri (mmol/L) sırasıyla 138.50 $\pm$ 0.84; 138.17 $\pm$ 1.30; 134.71 $\pm$ 1.85; 140.57 $\pm$ 1.11; 135.67 $\pm$ 1.58; 134.17 $\pm$ 1.49 olarak bulundu (Tablo 3).

Tablo 3: Tüm gruplarda idrar ve kanda Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> değerleri ve deney sonu Na<sup>+</sup> dengesi.

Gruplar	potasyum atılımı (mEq / gün)	sodyum atılımı (mmol / gün)	Serum Sodyum düzeyi (mmol/L)	sodyum dengesi son gün (mmol)	İdrarda total protein (mg/gün)	İdrar kreatinin (mg/gün)
<b>Kontrol (n=6)</b>	1.1549 ± 0.06	2.19±0.10	138.50±0.84	0.25±0.17	33.31±1.76	6.09±0.32
<b>Tuz (n=6)</b>	2.49773 ± 0.14 ¥	24.50±1.04 ¥	138.17±1.30	5.91±1.18 ¥	73.07±8.96 ¥	6.23±0.65
<b>LNNA5 (n=7)</b>	0.7954 ± 0.02 ¥	2.87±0.24 ¥	134.71±1.85	-0.15±0.24	45.69±2.08 ¥	6.12±0.14
<b>TLNNA5 (n=7)</b>	2.37814 ± 0.18 #¥	18.50±1.05 *#¥	140.57±1.11 #	7.10±0.80 #¥	58.83±8.31 ¥	3.01±1.06 ¥*#
<b>LNNA25 (n=6)</b>	0.846 ± 0.03 ¥	2.77±0.10 ¥	135.67±1.58	-0.62±0.15 ¥	44.23±2.87 ¥	6.98±0.17 ¥£
<b>TLNNA25 (n=6)</b>	2.1819 ± 0.14 #¥	19.40±1.44 *#¥	134.17±1.49 £¥	7.10±3.51 #¥	59.63±5.89 ¥#	6.00±0.74 £

¥ **Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

\* **L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

# **Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

£ **5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

Kontrol : % 0.8 tuz içeren yem verildi.

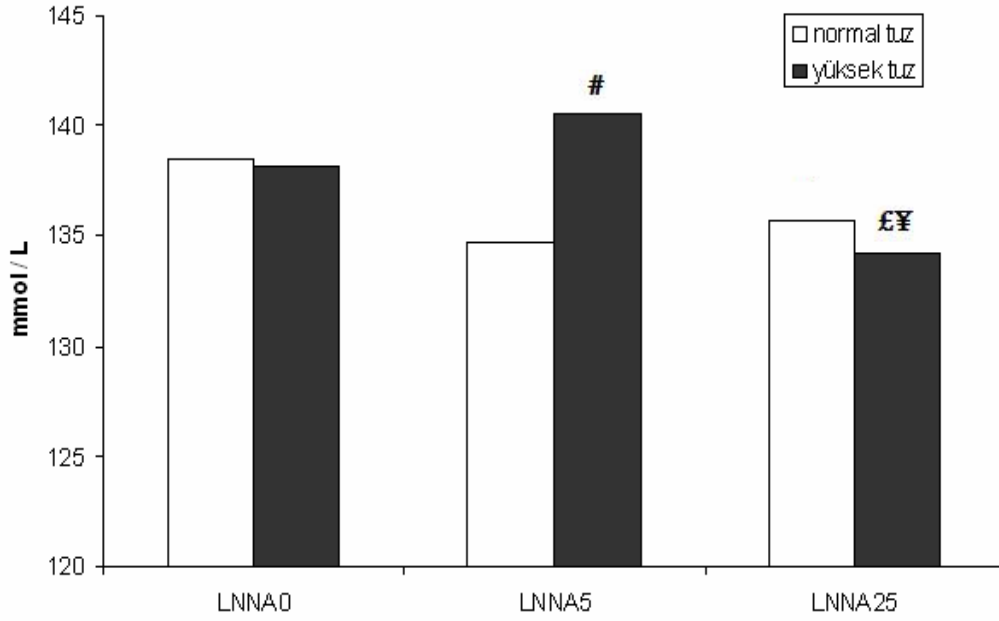
Tuz : Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu verildi.

LNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

LNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.



Şekil 12: Serumda son gün Na<sup>+</sup> düzeyi

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0.05)

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.6.3.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*”

#### L-NNA uygulamasının deney sonu serum Na<sup>+</sup> seviyeleri üzerine etkileri.

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında deney sonu serum Na<sup>+</sup> düzeylerine L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılığa rastlanmadı. LNNA5 ve LNNA25 gruplarında Kontrol grubuna göre azalmalar tespit edilse de bunlar istatistiksel anlamlılık taşımamaktadır. Yüksek Na<sup>+</sup> diyetine alınan gruplarda ise TUZ grubuna göre değerlendirildiğinde TLNNA5 grubunda bir artma ve TLNNA25 grubunda bir azalma tespit edilmesine karşı istatistiksel olarak anlamlı değildi. TLNNA5 grubuna göre değerlendirmede ise TLNNA25 grubunda anlamlı bir azalma mevcuttu (p<0.05) (Şekil 12).

### 3.3.6.3.2 Diyette yüksek tuz uygulamasının deney sonu serum Na<sup>+</sup>

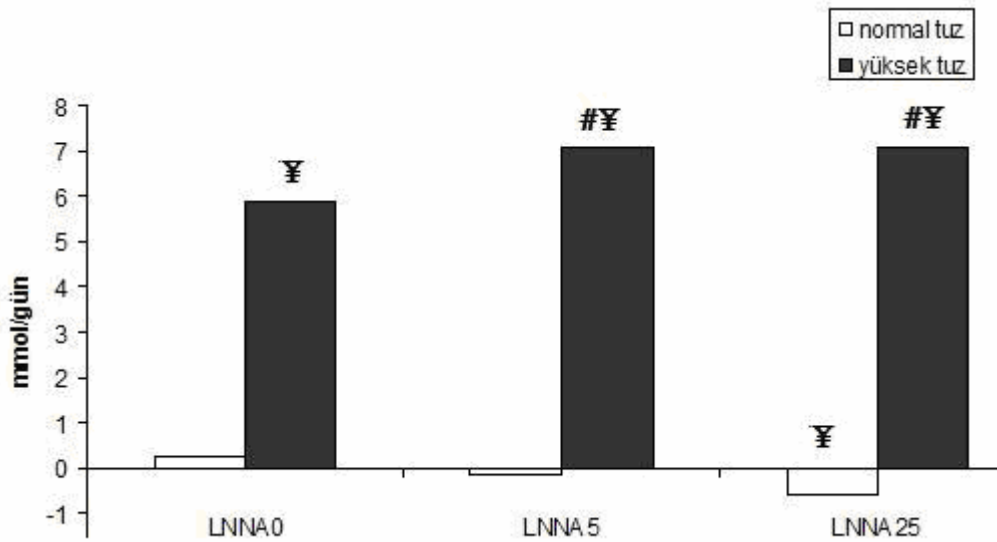
#### seviyeleri üzerine etkileri .

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplarda, aynı oranda LNNA alan grup ve Kontrol grubuna göre değerlendirildiklerinde TLNNA5 grubunda LNNA5

grubuna göre anlamlı artış tespit edildi. Diğer taraftan TLNNA25 grubunda Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 12).

#### 3.3.6.4 Sodyum dengesi son gün :

Deneklerin son gün aldıkları toplam yem miktarından tuz alımları hesaplandı. Aynı gün 24 saatlik idrarda  $\text{Na}^+$  analizi de yapıldı. Alınan  $\text{Na}^+$  miktarından atılan  $\text{Na}^+$  miktarı çıkarılarak (gayta, terleme ve gözyaşı  $\text{Na}^+$  atılımı minimal kabul edildi) günlük  $\text{Na}^+$  dengesi hesaplandı ve ortalama±standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için deney sonu  $\text{Na}^+$  dengesi sırasıyla  $0.25\pm0.17$ ;  $5.91\pm1.18$ ;  $-0.15\pm0.24$ ;  $7.10\pm0.80$ ;  $-0.62\pm0.15$ ;  $7.10\pm3.51$  olarak bulundu (Tablo 3).



Şekil 13: Sodyum dengesi (deneyin 14. günü)

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

#### 3.3.6.4.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo”

##### L-NNA uygulamasının deney sonu sodyum dengesi üzerine etkileri :

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında  $\text{Na}^+$  alımı ile atılımı arasındaki fark (sodyum dengesi) üzerine “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde Kontrol grubuna göre sadece LNNA25 grubunda anlamlı

azalma bulundu. LNNA5 grubunda hafif bir azalma gözlemlenmesine karşın, istatistiksel olarak anlamlılık taşımamaktadır. Yüksek tuz diyeti alan gruplarda ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

#### **3.3.6.4.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu Na<sup>+</sup> dengesi üzerine etkileri :**

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplarda aynı oranda LNNA alan grup ve Kontrol grubuna göre değerlendirme yapıldığında Kontrol grubuna göre Tuz, LNNA5 grubuna göre TLNNA5 grubunda anlamlı artış saptandı ( $p < 0,005$ ). LNNA25 grubuna göre TLNNA25 grubunda meydana gelen artma istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Şekil 13).

#### **3.3.6.5 İdrarda 24 saatlik protein atılımı :**

Deneyin 14. gününde alınan 24 saatlik idrar örneklerinden total protein (mg/gün) çalışıldı ve ortalama±standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için deney sonu 24 saatlik idrar protein miktarları sırasıyla 33.31±1.76; 73.07±8.96; 45.69±2.08; 58.83±8.31; 44.23±2.87; 59.63±5.89 olarak bulundu.

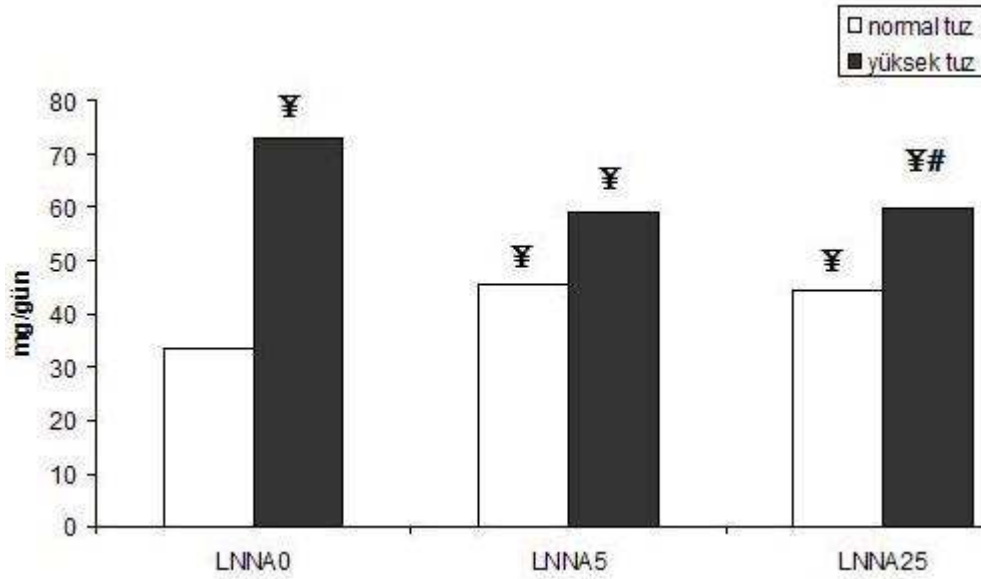
#### **3.3.6.5.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının deneklerin son gün 24 saatlik idrar proteini üzerine etkileri.**

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında son gün 24 saatlik idrar proteini üzerine “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde, Kontrol grubuna göre LNNA5 ve LNNA25 gruplarında anlamlı protein artışı tespit edildi. Son iki grup kendi arasında anlamlı bir farklılık içermiyorlardı. Yüksek tuz diyetine maruz kalan gruplarda ise kendi aralarında anlamlı bir farklılığa rastlanmadı (Tablo 3).

#### **3.3.6.5.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının son gün 24 saatlik idrar proteini üzerine etkileri .**

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplardan TUZ grubunda, Kontrol grubuna göre anlamlı bir artma saptandı. TLNNA25 grubunda ise Kontrol ve

LNNA25 gruplarına göre anlamlı protein artışı saptandı. Yine TLNNA5 grubu Kontrol grubuna göre anlamlı artmış bulunmaktadır ( $p<0.05$ ) (Şekil 14).



Şekil 14: Deney sonu idrarda günlük total protein.

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

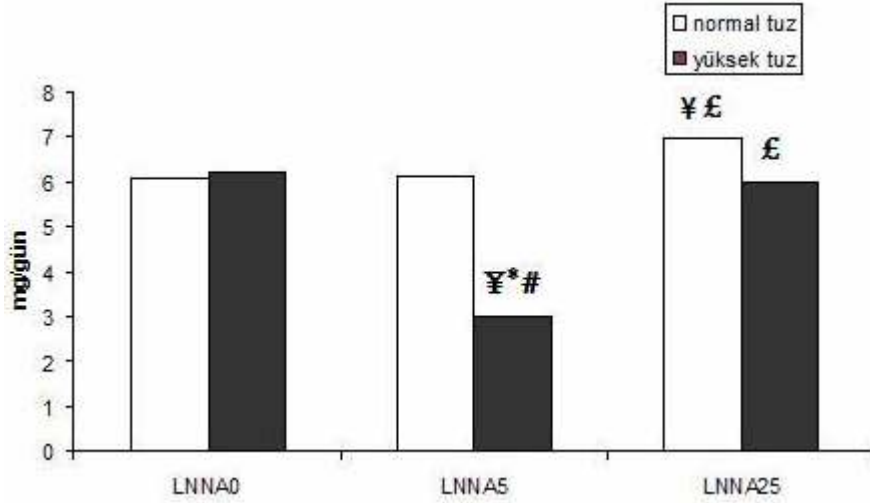
### 3.3.6.6 İdrarda 24 saatlik kreatinin seviyesi :

Deneyin 14. gününde alınan 24 saatlik idrar örneklerinde kreatinin analizi yapıldı. Çıkan sonuçlar o güne ait total idrar miktarına göre düzeltildi. Sonuçlar (mg/gün) ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için 24 saatlik idrar kreatinin miktarları sırasıyla  $6.09\pm 0.32$ ;  $6.23\pm 0.65$ ;  $6.12\pm 0.14$ ;  $3.01\pm 1.06$ ;  $6.98\pm 0.17$ ;  $6.00\pm 0.74$  olarak bulundu.

#### 3.3.6.6.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının deneklerin 24 saatlik idrar kreatinin seviyesi üzerine etkileri.

Normal tuz diyetine maruz kalan gruplar arasında 24 saatlik idrar keatinin atılımına “*in vivo*” L-NNA uygulamasının etkileri açısından ortalamalar

karşılaştırıldığında sadece LNNA25 grubunda Kontrol ve LNNA5 gruplarına göre anlamlı kreatinin seviyesi artışı tespit edildi (Şekil 15). Yüksek tuz diyetine alınan gruplardan, TLNNA5 grubu TUZ ve TLNNA25 gruplarına göre aşikar bir azalma gösterdi. Farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0.05$ ) (Şekil 15).



Şekil 15: Deney sonu 24 saatlik idrar kreatinin seviyesi

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

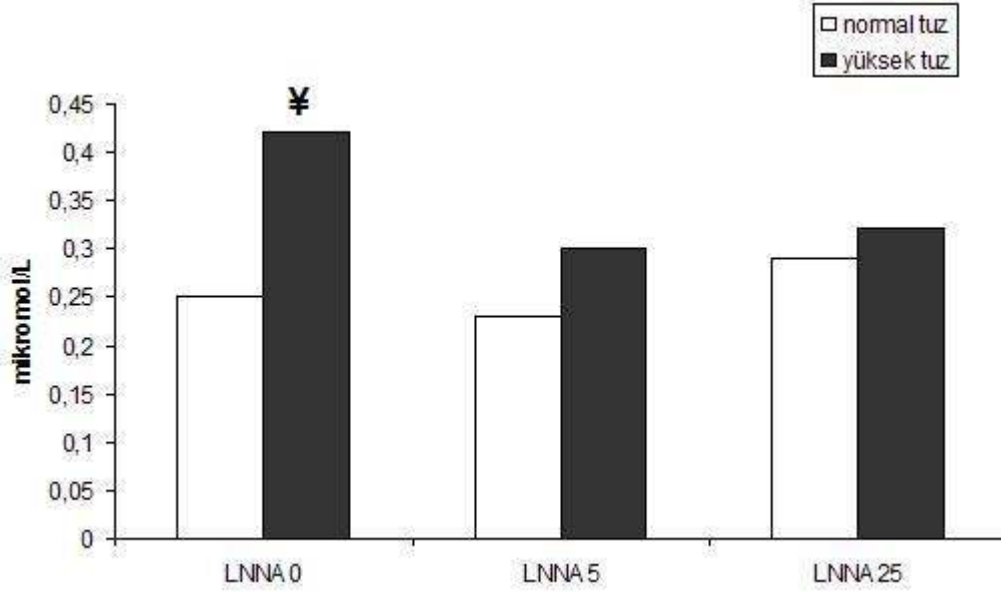
### 3.3.6.6.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrar kreatinin seviyesi üzerine etkileri .

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplar, normal tuz diyeti alan gruplarla karşılaştırıldığında; sadece TLNNA5 grubu, normal tuz diyeti alan LNNA5 grubuna göre kreatinin seviyesinde azalma sergiledi. Farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0.05$ ) (Şekil 15).

### 3.3.6.7 Serum NOx düzeyleri :

Deneklerin “*in vitro*” çalışma öncesi alınan serum örneklerinde NOx seviyeleri spektrofotometrik olarak analiz edildi (mikromol/L) ve ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için deney sonu serum NOx seviyeleri sırasıyla

0.25±0.03; 0.42±0.04; 0.23±0.03; 0.3±0.04; 0.29±0.05; 0.32±0.06 olarak bulundu (Tablo 4).



Şekil 16: Serum NOx düzeyleri.

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.6.7.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının deneklerin serum NOx seviyeleri üzerine etkileri.

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında serum NOx düzeylerine “*in vivo*” L-NNA etkisi incelendiğinde sadece LNNA25 grubunda Kontrol ve LNNA5 gruplarına göre belirgin bir yükselme tespit edilmesine karşın, farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yüksek tuz diyetine alınmış olan gruplarda LNNA etkisi incelendiğinde ise TLNNA5 ve TLNNA25 gruplarında TUZ grubuna göre belirgin bir azalma izlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlılık taşımamaktadır (Şekil 16).



Tablo 4: Tüm gruplarda idrar katekolamin metabolitleri, 8-iso, prostasikin ve serum NOx değerleri.

<b>GRUPLAR</b>	<b>VMA</b> (mikrogram/gün)	<b>HVA</b> (mikrogram/gün)	<b>5-HIAA</b> (mikrogram/gün)	<b>Serum NOx</b> (mikromol/L)	<b>8-iso</b> (ng/gün)	<b>PGI<sub>2</sub></b> (ng/gün)
<b>Kontrol (n=6)</b>	5.27±1.40	13.44±2.33	19.33±3.79	0.25±0.03	56.03±7.67	14.85±3.00
<b>Tuz (n=6)</b>	54.57±9.70 ¥	45.51±12.12 ¥	48.29±5.71 ¥	0.42±0.04 ¥	46.78±8.92	23.79±2.56 ¥
<b>LNNA5 (n=7)</b>	11.08±1.78 ¥	56.67±4.76 ¥	59.44±5.13 ¥	0.23±0.03	69.94±11.3	14.15±0.80
<b>TLNNA5 (n=7)</b>	202.65±51.92 ¥*#	28.84±3.31 ¥#	28.66±2.67 *#	0.3±0.04	93.49±16.3 *	31.36±3.41 #¥
<b>LNNA25 (n=6)</b>	12.76±2.67 ¥	80.66±10.48 ¥£	76.26±10 ¥	0.29±0.05	79.96±15.00	15.03±1.20
<b>TLNNA25 (n=6)</b>	23.34±4.11 ¥*£	43.63±11.56 ¥#	64.48±11.27 ¥£	0.32±0.06	195±45.02 #¥*	35.42±3.94 #¥*

¥ **Kontrole göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

\* **L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

# **Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

£ **5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)**

Kontrol : % 0.8 tuz içeren yem verildi.

Tuz : Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu verildi.

LNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

LNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

### **3.3.6.7.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının serum NOx seviyeleri üzerine etkileri.**

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplar, serum NOx seviyeleri açısından normal tuz diyeti alan gruplarla karşılaştırıldığında sadece TUZ grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde bir artış tespit edildi (Şekil 16) ( $p<0,05$ ).

### **3.3.6.8 İdrarda Katekolamin, Dopamin ve Serotonin Metabolitleri :**

#### **3.3.6.8.1 Vanililmandelikasit (VMA) :**

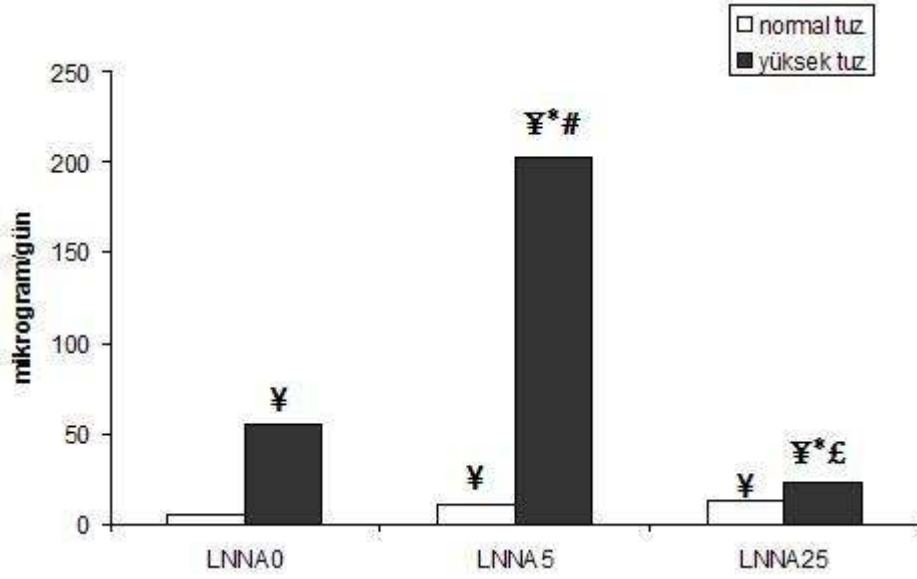
Deneklerden deney bitiminde toplanan 24 saatlik idrardan VMA analizi yapıldı. Değerler günlük toplam idrar hacimlerine göre düzeltildi (mikrogram/gün) ve ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için idrarda 24 saatlik toplam VMA düzeyleri sırasıyla  $5.27\pm 1.40$ ;  $54.57\pm 9.70$ ;  $11.08\pm 1.78$ ;  $202.65\pm 51.92$ ;  $12.76\pm 2.67$ ;  $23.34\pm 4.11$  olarak bulundu (Tablo 4).

#### **3.3.6.8.1.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının deneklerin deney sonu 24 saatlik idrarda VMA atılımlarına etkisi:**

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında idrarda 24 saatlik VMA atılımı üzerine “*in vivo*” L-NNA etkisi incelendiğinde sadece Kontrol grubuna göre LNNA5 ve LNNA25 gruplarında anlamlı düzeyde artış tespit edildi. LNNA5 ve LNNA25 grupları kendi aralarında istatistiksel farklılık göstermedi (Şekil 17). Yüksek tuz diyeti alan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında TLNNA5 grubunda TUZ grubuna göre anlamlı artma tespit edilmekteyken, TLNNA25 grubu TUZ ve TLNNA5 gruplarına göre azalma gösterdi (Şekil 17).

#### **3.3.6.8.1.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrarda VMA atılımları üzerine etkileri:**

Yüksek tuz diyeti alan gruplar, normal tuz diyeti alan gruplar ile karşılaştırıldığında, TUZ grubunda Kontrol grubuna göre artma, TLNNA5 grubunda ise LNNA5 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artma bulundu ( $p<0.05$ ) (Şekil 17). 25 mg /kg/gün LNNA alan gruplarda tuz diyeti VMA düzeyi açısından anlamlı değişikliğe neden olmadı (Şekil 17).



Şekil 17: Deney sonu 24 saatlik idrarda VMA seviyeleri.

- ¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- \* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- # Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)
- £ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.  
 LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.  
 LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

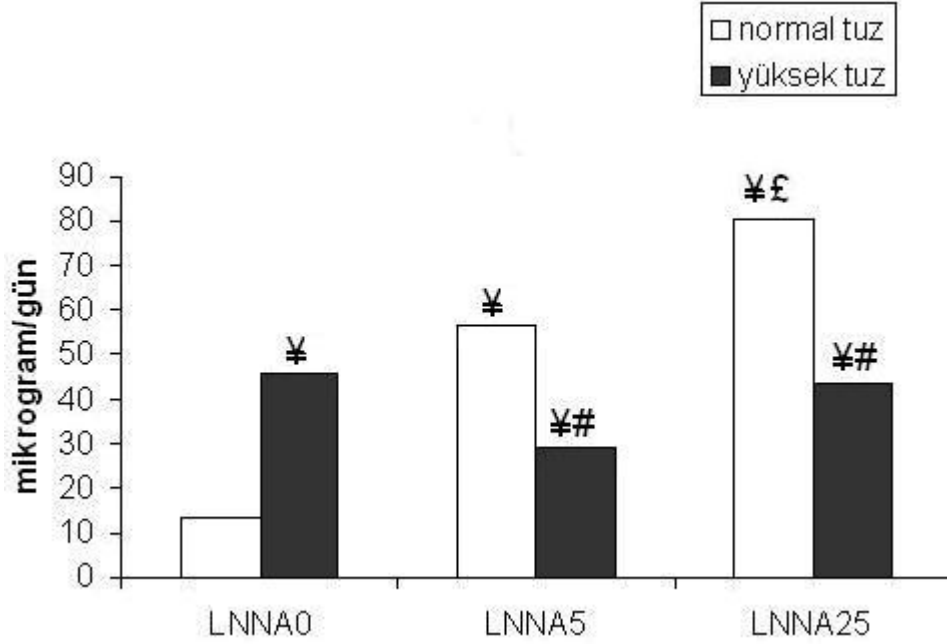
### 3.3.6.8.2 İdrarda homovalinik asit (HVA) düzeyleri:

Deneklerden deney bitiminde toplanan 24 saatlik idrardan HVA analizi yapıldı. Değerler günlük toplam idrar hacimlerine göre düzeltildi (mikrogram/gün) ve ortalama ± standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için idrarda 24 saatlik toplam HVA düzeyleri sırasıyla 13.44±2.33; 45.51±12.12; 56.67±4.76; 28.84±3.31; 80.66±10.48; 43.63±11.56 olarak bulundu (Tablo 4).

#### 3.3.6.8.2.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının deneklerin deney sonu 24 saatlik idrarda HVA atılımları üzerine etkileri:

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında 24 saatlik idrarda HVA düzeyleri üzerine “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildi. Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında LNNA5 ve LNNA25 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı oranda artma tespit edildi. LNNA5 grubuna göre karşılaştırmada ise LNNA25

grubunda belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Yüksek tuz diyetiyle beslenen gruplarda ise, TUZ ve TLNNA5 gruplarına göre karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir farklılık bulunmadı (Şekil 18).



Şekil 18: Deney sonu 24 saatlik idrarda HVA seviyeleri.

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

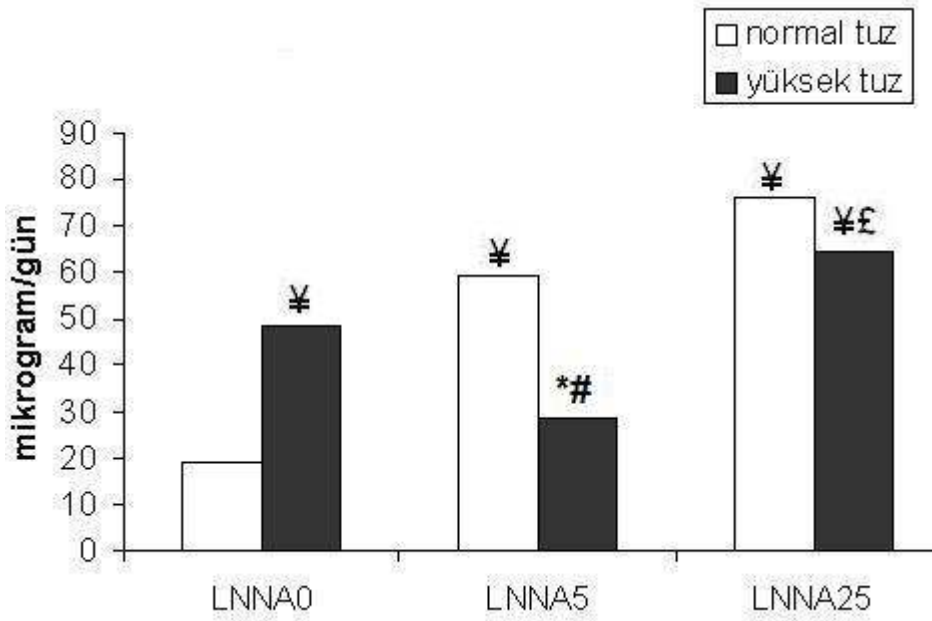
LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.6.8.2.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu 24 saatlik idrarda HVA atılımları üzerine etkileri :

Yüksek tuz etkisini değerlendirebilmek için, yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplar ile normal tuz diyeti alan gruplar idrar HVA düzeyleri yönünden karşılaştırıldığında, Kontrol grubuna göre TUZ grubunda anlamlı oranda artma, LNNA5 grubuna göre TLNNA5 grubunda anlamlı azalma ve LNNA25 grubuna göre TLNNA25 grubunda anlamlı azalma tespit edildi (Şekil 18). TLNNA5 ve TLNNA25 grupları Kontrol grubuna değerlendirildiğinde anlamlı düzeyde yüksek kaldı ( $p<0,05$ ).

### 3.3.6.8.3 İdrarda 5-hidroksiindolasetikasit (5-HİAA) düzeyleri:

Deneklerin 24 saatlik deney sonu idrarından aynı zamanda 5-HİAA analizi yapıldı. Değerler günlük toplam idrar hacimlerine göre düzeltildi (mikrogram/gün) ve ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için idrarda 24 saatlik toplam 5-HİAA düzeyleri sırasıyla  $19.33\pm 3.79$ ;  $48.29\pm 5.71$ ;  $59.44\pm 5.13$ ;  $28.66\pm 2.67$ ;  $76.26\pm 10$ ;  $64.48\pm 11.27$  olarak bulundu (Tablo 4).



Şekil 19: Deney sonu 24 saatlik idrarda 5-HİAA seviyeleri.

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

#### 3.3.6.8.3.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının deneklerin 24 saatlik idrarda 5-HİAA atımları üzerine etkileri.

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında 24 saatlik idrarda 5-HİAA atılımı üzerine “*in vivo*” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde, Kontrol

grubuna göre LNNA5 ve LNNA25 gruplarında anlamlı artış saptandı. LNNA5 grubuna göre ise herhangi bir anlamlı farklılık gözlenmedi. Yüksek tuz diyeti alan gruplarda ise, TUZ grubuna göre TLNNA5 grubunda anlamlı düşme tespit edilirken, TLNNA5 grubuna göre değerlendirildiğinde TLNNA25 grubunda anlamlı artış saptanıldı ( $p<0.05$ ) (Şekil 19).

#### **3.3.6.8.3.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrarda 5-HİAA atılımları üzerine etkileri .**

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplar, normal tuz diyeti alan gruplarla karşılaştırıldığında; TUZ grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı artma, TLNNA5 grubunda LNNA5 grubuna göre anlamlı azalma tespit edilmektedir ( $p<0.05$ ) (Şekil 19). TLNNA25 grubunda da LNNA25 grubuna göre değerlendirildiğinde hafif bir azalma tespit edilmesine karşın anlamlı değildi. Kontrol grubuna göre değerlendirmede TLNNA25 grubunun da anlamlı olarak yüksek kaldığı tespit edildi ( $p<0,05$ ).

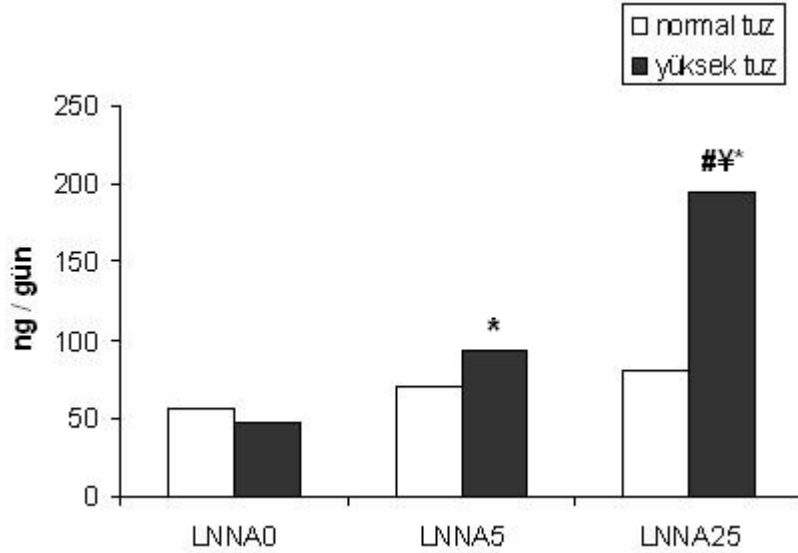
#### **3.3.6.8.4 İdrar 8-İzoprostan düzeyleri:**

Tüm gruplarda 24 saatlik idrardan 8-isoprostane, ELİZA yöntemi kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar 24 saatlik idrar miktarına göre (ng/gün) düzeltildikten sonra ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre 14. gün ortalama 24 saatlik idrar 8-isoprostane atılımları KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için sırasıyla  $56.03\pm 7.67$ ;  $46.78\pm 8.92$ ;  $69.94\pm 11.3$ ;  $93.49\pm 16.3$ ;  $79.96\pm 15$ ;  $195.00\pm 45.02$  olarak bulundu.

#### **3.3.6.8.4.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının, deneklerin 24 saatlik idrarda 8-izoprostan atılımı üzerine etkisi.**

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında idrarda 24 saatlik 8-izoprostan atılımı açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı. Yüksek tuz diyeti alan gruplara bakıldığında ise; TUZ grubuna göre karşılaştırıldığında TLNNA5 ve TLNNA25 gruplarında L-NNA dozuyla korelasyon gösteren bir artış meydana geldiği tespit edildi. Ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

TLNNA5 grubuna göre değerlendirildiğinde ise TLNNA25 grubunda anlamlı artış saptanmadı ( $p<0.05$ ) (Şekil 20).



Şekil 20: Deney sonu 24 saatlik idrarda 8-izoprostan seviyeleri.

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

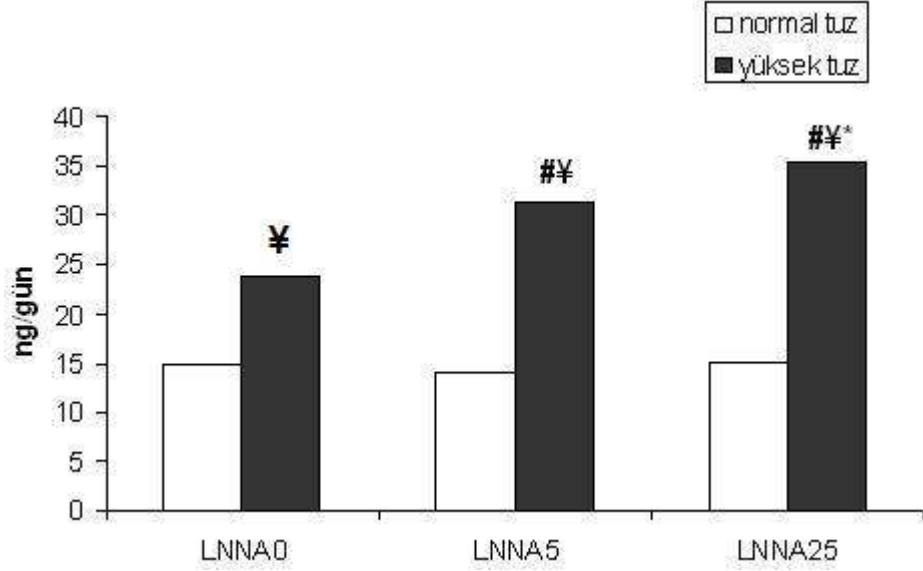
#### 3.3.6.8.4.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının 24 saatlik idrarda 8-isoprostane atılımı üzerine etkileri :

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplardan TUZ grubu Kontrol grubuna göre, TLNNA5 grubu ise LNNA5 grubuna göre değerlendirildiklerinde anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). TLNNA25 grubu, LNNA25 grubuyla karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı artma belirlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 20).

#### 3.3.6.8.5 İdrar Prostaglandin (PGI<sub>2</sub>) düzeyleri :

Tüm gruplarda 24 saatlik idrardan PGI<sub>2</sub> ELISA yöntemi kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar 24 saatlik idrar miktarına göre (ng/gün) düzeltildikten sonra ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre ortalama 24 saatlik

deney sonu idrar PGI<sub>2</sub>atılımları KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için sırasıyla 14.85±3.00; 23.79±2.56; 14.15±0.80; 31.36±3.41; 15.03±1.20; 35.42±3.94 olarak bulundu.



Şekil 21: Deney sonu 24 saatlik idrarda prostasiklin seviyeleri.

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır (p<0,05)

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.3.6.8.5.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının deneklerin deney sonu 24 saatlik idrarda PGI<sub>2</sub> atılımları üzerine etkileri :

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında idrarda 24 saatlik PGI<sub>2</sub>atılımı açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı. Yüksek tuz diyeti alan gruplara bakıldığında ise; TUZ grubuna göre karşılaştırıldığında sadece TLNNA25 grubunda anlamlı farklılık sergileyen fakat, TLNNA5 grubunda da belirgin olup, L-NNA dozuyla korelasyon gösteren bir artma meydana geldiği tespit edildi (p<0.05) (Şekil 21).



### **3.3.6.8.5.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının deney sonu 24 saatlik idrarda PGI<sub>2</sub> atılımları üzerine etkileri :**

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplardan; TUZ grubu Kontrol grubuna, TLNNA5 grubu LNNA5 grubuna ve TLNNA25 grubu LNNA25 grubuna göre değerlendirildiklerinde hepsinde PGI<sub>2</sub> düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artma meydana geldiği belirlendi (p<0,05). Ayrıca TLNNA5 ve TLNNA25 grupları ortalamalarının Kontrol grubuna kıyaslandıklarında, istatistiksel olarak anlamlı yüksek oldukları saptandı (p<0.05) (Şekil 21).

## **3.4 “İn-vitro” Çalışmalar :**

### **3.4.1 Fenilefrin için maksimum kasılma (Emax) cevapları:**

İn vitro şartlarda ratların torasik aorta halkalarında fenilefrin ve KCI kasılma cevapları (gr) elde edildi. Daha sonra fenilefrin cevapları KCI cevaplarına oranlanarak % KCI kasılması şeklinde ortalama ± standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için fenilefrin Emax/KCI Emax (%) sırasıyla 92.95±8.76; 83.55±3.58; 78.23±5.16; 132.5±17.72; 80.85±6.63; 116.87±11.4 olarak bulundu (Tablo 5).

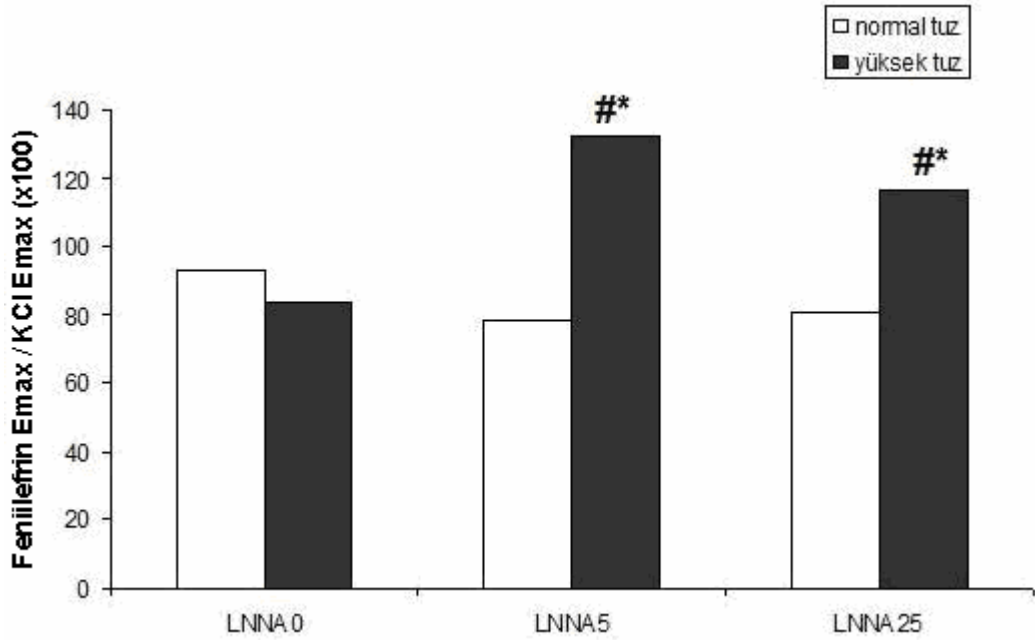
### **3.4.1.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “in vivo” L-NNA uygulamasının fenilefrin maksimum kasılma cevapları üzerine etkileri.**

Normal tuz diyeti alan gruplar arasında fenilefrine maksimum kasılma cevapları üzerine “in vivo” L-NNA uygulamasının etkileri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi (p>0,05). Yüksek tuz diyeti almakta olan ratlarda ise TUZ grubuna göre karşılaştırıldığında TLNNA5 ve TLNNA25 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artma tespit edildi (p<0.05) (Şekil 22). TLNNA5 grubuna göre TLNNA25 grubunda anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

### **3.4.1.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının fenilefrin maksimum kasılma cevapları üzerine etkileri .**

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplardan, TUZ grubu Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmadı. TLNNA5 grubu LNNA5

grubuna ve TLNNA25 grubu LNNA25 grubuna göre karşılaştırıldıklarında herikisi de anlamlı olarak artmış bulundu ( $p<0.05$ ) (Şekil 22).



Şekil 22: Fenilefrin Emax / KCI Emax değerleri. (x100)

¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.

LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

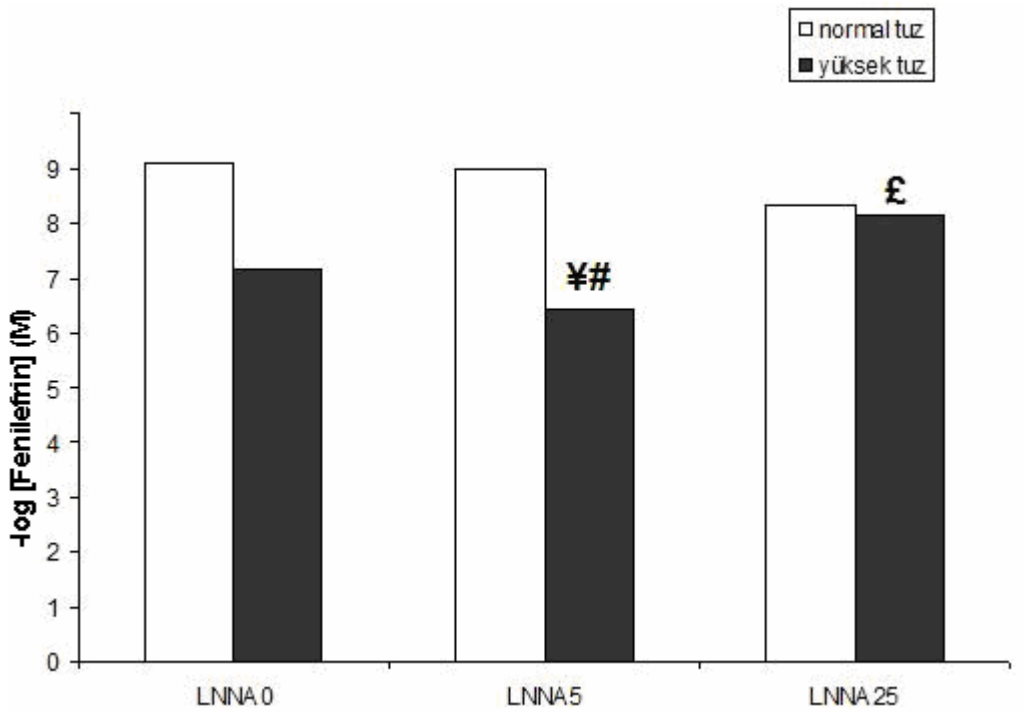
LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.4.2 Fenilefrin EC50 değerleri :

İn vitro şartlarda torasik aorta halkalarında elde edilen Fenilefrin cevapları, negatif logaritmik biçimde, ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak ifade edildi. Buna göre KONTROL; TUZ; LNNA5; TLNNA5; LNNA25 ve TLNNA25 grupları için fenilefrin -logaritmik EC50 değerleri sırasıyla  $9.09\pm 0.94$ ;  $7.19\pm 0.21$ ;  $8.98\pm 0.64$ ;  $6.42\pm 0.53$ ;  $8.34\pm 0.46$ ;  $8.16\pm 0.52$  olarak bulundu (Tablo 5).

### 3.4.2.1 Normal veya yüksek tuzlu diyet alan gruplarda “*in vivo*” L-NNA uygulamasının Fenilefrin EC50 değerleri üzerine etkileri :

Normal tuz diyeti alan gruplarda fenilefrin EC50 değerleri üzerine, “*in vivo*” L-NNA uygulamasının herhangi bir anlamlı değişikliğe neden olmadığı belirlendi. Yüksek tuzlu diyet verilen grupta ise TUZ grubuna göre herhangi bir anlamlı farklılık saptanmazken, TLNNA5 grubuna göre değerlendirmede TLNNA25 grubunda EC50 değerinde anlamlı bir azalma tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Şekil 23).



Şekil 23: Fenilefrin EC50 değerleri.

- ¥ Kontrolle göre anlamlı farklılık vardır ( $p < 0,05$ )
- \* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p < 0,05$ )
- # Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p < 0,05$ )
- £ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p < 0,05$ )

LNNA0 : 14 gün boyunca L-NNA uygulaması yapılmadı.  
LNNA5 : 14 gün boyunca yaklaşık 5mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.  
LNNA25 : 14 gün boyunca yaklaşık 25mg/kg/gün dozunda L-NNA aldı.

### 3.4.2.2 Diyetle yüksek tuz uygulamasının Fenilefrin EC50 değerleri üzerine etkileri :

Yüksek tuz diyetine maruz bırakılan gruplarda fenilefrin EC50 değerleri incelendiğinde sadece TLNNA5 grubunda LNNA5 grubuna göre karşılaştırıldığında

istatistiksel olarak anlamlı artma tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Şekil 23). Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında TUZ grubunda bir artış tespit edilse de, bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

Tablo 5: Tüm gruplarda Fenilefrin EC50 ve EMAX değerleri.

Gruplar	Ec50 (-Logaritmik)	Emax / KCI*100
Kontrol (n=6)	9.09±0.94	92.95±8.76
Tuz (n=6)	7.19±0.21	83.55±3.58
LNNA5 (n=6)	8.98±0.64	78.23±5.16
TLNNA5 (n=6)	6.42±0.53 ¥ #	132.5±17.72 *#
LNNA25 (n=6)	8.34±0.46	80.85±6.63
TLNNA25 (n=6)	8.16±0.52 £	116.87±11.4 *#

¥ Kontrole göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

\* L-NNA almamış gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

# Normal tuz alan gruba göre anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

£ 5 mg L-NNA alan gruba göre (25 mg L-NNA) anlamlı farklılık vardır ( $p<0,05$ )

Kontrol : % 0.8 tuz içeren yem verildi.

Tuz : Ratlara 14 gün boyunca % 8'lik tuz içeren rat yemi ve normal içme suyu verildi.

LNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA5 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~5mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

LNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 0.8 tuz içeren yem verildi.

TLNNA25 : Ratlara 14 gün boyunca içme suyunda, ~25mg/kg/gün L-NNA ve % 8 tuz içeren yem verildi.

#### 4. TARTIŞMA

Kan basıncının uzun süreli düzenlenmesinde ve böbrek fonksiyonlarının kontrolünde, nitrik oksit önemli role sahiptir (135, 136). Akut ve kronik NOS inhibisyonu hipertansiyona yol açar; ayrıca, esansiyel HT'lu hastaların plazma NOx düzeylerinde azalma olduğunu gösteren çalışmalar vardır (54, 55). L-arjinin-NO metabolik yolunun bloke edilmesinin, hem kısa dönemde, hem de uzun dönemde renal ve sistemik damar direncinin artmasına, renal kan akımının azalmasına, idrar akımının ve sodyum atılımının azalmasına ve dolayısıyla ratların kan basıncı artışı ve sodyum duyarlılığına neden olduğu gösterilmiştir (73). NOS inhibitörlerinin sistemik uygulandığında hipertansiyon oluşturmeyen dozlarının santral sinir sistemine uygulanmasıyla kan basıncının arttığı ve bu artışın özellikle yüksek tuz diyeti alan ratlarda daha da şiddetlendiği de gösterilmiştir (137-139). Diğer taraftan, kan basıncı artışına yol açmayan düşük dozda ve sürede NOS inhibitörü uygulamasına, sodyum yüklemesi ilave edildiğinde hipertansiyon geliştiği tespit edilmiştir (73, 80, 90). Yüksek dozda uzun süreli NOS inhibitörü uygulamasına eşlik eden tuz yüklemesi ise oluşan hipertansiyonu şiddetlendirmektedir (87, 140). Tuza dirençli olduğu bilinen normal kan basıncı değerlerine sahip ratlarda yüksek tuz uygulaması HT geliştirmezken, tuza duyarlı ratlarda uzun süreli tuz uygulamasının kan basıncında anlamlı yükselmelere neden olduğu bilinmektedir (141-145).

Bu çalışmada, yüksek tuzlu diyet (%8) veya düşük doz L-NNA uygulanarak yapılan kısmi NOS inhibisyonu 7 ve 14. günlerde kan basıncı değişikliği meydana getirmezken; birlikte uygulanmaları anlamlı hipertansiyon geliştirmiştir. Ayrıca, yüksek doz L-NNA uygulaması 7 ve 14. günlerde hipertansiyona yol açarken, tuz ilavesi meydana gelen hipertansiyonu anlamlı olarak artırmıştır. Kan basınçlarıyla ilgili bu sonuçlar literatürle uygunluk göstermektedir (73, 90, 140). NOS enziminin uzun süreli inhibisyonuyla oluşturulan HT' nun oluşum ve yerleşmesinde sorumlu tutulan mekanizmalar açık bir şekilde gösterilmemiştir. Su ve tuz tutulumu, sempatik sinir sistemi aktivitesinde artış ve oksidatif stres artışının katılımları üzerinde durulmaktadır. Sempatik etkinliğin esansiyel hipertansiyonda ve NOS inhibisyonu ile geliştirilen hipertansiyonda rolüne dair literatürde önemli farklılıklar bulunmaktadır. Esansiyel hipertansiyonda noradrenalin spillover hızında artma olduğuna dair

çalışmalar vardır (82-84). NOS inhibitörlerinin uzun süreli uygulanmasıyla kan basıncında meydana gelen artışın sempatolitik bir ajan olan fentolamin (0.1 mg/kg i.v. bolus) infüzyonu ile dikkate değer bir şekilde önlenmesi kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyondan artmış sempatik aktivitenin sorumlu olabileceğini düşündürmektedir (74, 86, 146). Bir başka çalışmada mezenterik vasküler yatak bir NO vericisi ile inkübe edildiğinde dokudaki noradrenalin düzeyinin azaldığı, L-NAME ile inkübe edildiğinde ise arttığı bildirilmiştir. Buna dayanarak NOS inhibisyonunda periferik sempatik aktivitede artışla kan basıncının yükseldiği ileri sürülmüştür (147). Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda 15 mg/kg/gün uzun süreli oral L-NNA uygulaması ile meydana getirilen kan basıncı yükselmesinin santral etkili sempatolitik ajan olan klonidin ile önlenmesi de sempatik sistem aktivasyonunun, bu tip hipertansiyon modelinde kronik uygulama esnasında meydana gelen kan basıncı artışına katkısı olabileceğini düşündürmektedir (68). Akut NOS inhibisyon çalışmalarında, sempatik sistem aktivitesinde genellikle düşme tespit edilmektedir ve bu düşüşten barorefleks yolağın aktivasyonu sorumlu tutulmaktadır (85). NO'in sempatoeksitator bir rolü dışlanamamasına rağmen, akut NOS inhibisyonu esnasında barorefleks yolak üzerinden sempatoinhibisyona işaret eden çalışmalar bulunmaktadır (77). Yüksek doz NOS inhibisyonu yapılan başka bir çalışmada ise üriner noradrenalin atılımının arttığı bildirilmiştir (87). Buna rağmen kronik NOS inhibisyonu esnasında plazma katekolamin seviyelerinin değişmediğini ve ganglion blokajına artmış depresör yanıtın olmadığını gösteren karşıt bulgular içeren çalışmalar da mevcuttur (88). NOS inhibisyonunda plazma noradrenalin düzeyinin değişmediğini gösteren çalışmalar mevcut olmakla beraber bu durum noradrenalin siklusundaki bir artışı dışlayamamaktadır. Üstelik noradrenalin düzeyi değişmese dahi vasküler yataklarda sempatik duyarlılıkta meydana gelen bir artışın periferik vazokonstriksiyona ve dolayısıyla kan basıncının yükselmesine neden olabileceği muhtemeldir (77). Yüksek tuz diyeti uygulanan deneklerde uzun süreli NOS inhibisyonunun kan basıncını sodyum-duyarlı ve artmış sempatik aktivite aracılı arttırdığı bildirilmiştir. Uzun süreli %8 ve %1'lik tuz diyeti uygulanan tuza duyarlı SH ratların anterior hipotalamusuna klonidinin kronik olarak infüze edilmesiyle yüksek tuz diyeti alan SH ratlarda kan basıncı düşmüş diğer grupta ise bir değişiklik olmamıştır (148). Bu bulgulara göre yüksek tuz diyeti alan ratların

sempatik aktivitesinin arttığı ve klonidinin artmış sempatik aktiviteyi zayıflatarak kan basıncını düşürdüğü söylenebilir (148). Yüksek tuz diyetinin SH ratlarda anterior hipotalamusta santral alfa2-adrenerjik reseptör sayısında bir artış meydana getirdiği ve bu artışın muhtemel nedeninin santral sinir sistemindeki azalmış noradrenalin düzeyi olduğuna işaret edilmiştir (149). Yine bir başka çalışmada yüksek tuz uygulamasının lomber sempatik sinir aktivitesinde artış yapmasına rağmen renal sempatik sinir aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (150). Bu çalışmada sempatik sinir sisteminin oluşan kan basıncı değerlerine katkısını değerlendirmek amacıyla idrarda, norepinefrin/epinefrin ana metaboliti olan VMA değerleri ölçüldü. Tek başına tuz uygulaması VMA düzeylerinde artmaya yol açmasına rağmen kan basıncını değiştirmedir. Sadece subpressör dozda L-NNA uygulaması da VMA düzeylerinde anlamlı artışa neden olduğu halde kan basıncında önemli bir değişiklik yapmadı. Subpressör dozda L-NNA ile beraber yüksek tuzlu diyet (% 8) uygulamasında ise VMA düzeylerinin çok yüksek değerlere ulaşması ve beraberinde anlamlı kan basıncı artışı meydana gelmesi hipertansiyonun gelişmesinde sempatik aktivite artışının katılımına işaret eden güçlü bir delildir. Düşük doz L-NNA ve tek başına tuz yüklemesi yapılan gruplarda idrar VMA düzeylerinin artışına rağmen hipertansiyon gelişmemesi, sempatik sistem aktivitesinin hipertansiyon gelişmesine katılımını dışlamaz. Sadece tuz veya subpressör dozda L-NNA alan gruplarda meydana gelen VMA yükselmesi, sempatik etkinliğin arttığını ancak, hipertansiyon gelişmesini indükleyecek düzeylere ulaşmadığına işaret edebilir. Yine “in vitro” çalışmalarda en yüksek VMA değerine sahip olan TLNNA5 grubunun EC50 değerlerindeki anlamlı artış, sempatik sistem aktivasyonunda tespit edilmesi uzun dönemde olası bulunan reseptör down-regülasyonunu düşündürmektedir. Bu bulgular sempatik sinir sistemi aktivasyonunun tuza duyarlılık ve hipertansiyon başlangıcında rolü olabileceğine işaret etmektedir.

Oksidatif stresin, bir çok hipertansiyon formunun patofizyolojisinde müdahil olduğu ileri sürülmesine rağmen, bu katılımın tam mekanizması halen açıklığa kavuşturulmuş değildir (72, 106, 133, 151-153). Süper oksit süpürücülerin farklı hipertansiyon modellerinde özellikle de tuza duyarlı modellerde kan basıncında anlamlı azalma yaptığı gösterilmiştir (72, 152, 154-158). Bu çalışmada oksidatif stresin bir göstergesi olan idrar 8-izoprostan düzeyleri tek başına tuz uygulamasıyla

değişmemiş, tek başına L-NNA uygulamalarıyla ise anlamlı olmayan yükselmeler elde edilmiştir. Fakat tuzlu diyetle beraber düşük ve yüksek dozlarda L-NNA uygulamalarında, meydana gelen kan basıncıyla doğru orantılı 8-izoprostan düzeyi artışı tespit edilmiştir. İn vitro ve in vivo çalışmalar göstermiştir ki, NO defisiti, süper oksit aktivitesinde artmaya neden olmaktadır (72, 99, 151, 159-161). Nitrik oksitin vasküler düz kas gevşetici etkisinin yanında, doğrudan renal tübüleri etkileme yoluyla natriürezise yol açtığı da bilinmektedir. Bunun yanında, SOR'nin renal kan akımını ve sodyum atılımını engellediğine dair kanıtlar mevcuttur (99, 100, 162-164). Serbest oksijen radikalleriyle nitrik oksit etkileşiminin böbrek üzerindeki etkilerini değerlendirmek için L-NNA varlığında ve yokluğunda SOD inhibitörü diethyldithiocarbamate (DETC) uygulanan çalışmalarda gösterilmiştir ki; NOS inhibisyonu yokluğunda düşük dozda DETC uygulaması RKA (Renal Kan Akımı) ve GFH'ni etkilemeden renal sodyum ve sıvı atılımını azaltmaktadır (101). Bu bulgu, süperoksit radikalinin etkisinin renal hemodinamiklerden ziyade direkt tubuler fonksiyonları etkileme yoluyla olduğunu düşündürmektedir. Yüksek doz DETC uygulamasında ise RKA'nda azalma olmakla beraber, GFH yine değişmemektedir. Beraberinde NOS inhibisyonu yapıldığında ise sodyum ve su atılımı cevabıyla, RKA cevapları daha da azaltılır ve ayrıca, GFH'nda da belirgin ve anlamlı (% 60) azalma meydana gelmektedir. Bu bulgular göstermektedir ki; NO, süperoksit radikalleriyle etkileşme yoluyla bazal GFH'nin sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır. GFH'nin modülasyonunda afferent arteriyol üzerinde etkileşme yoluyla da NO-süper oksit ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar vardır (164-167). NOS inhibisyonuyla oluşturulan HT çalışmalarında, bir SOD mimetik ajan olan tempolün intraarteryel infüzyonunun renal kortikal ve meduller kan akımlarında, GFH ve sodyum atılımında anlamlı oranda artmaya ve renal vasküler dirençte azalmaya neden olduğu ve aynı etkileri normotansif ratlarda göstermedikleri tespit edildi (151). Bu bulgular gösterir ki; NOS inhibisyonu durumunda, artmış süper oksit aktivitesi, renal hemodinamikleri ve ekskretuar fonksiyonları zayıflatarak oluşturulan HT'na katılımcı olmaktadır. L-NAME tedavili ratlarda tempol uygulamasıyla gerçekleşen renal hemodinamik ve ekskretuar düzelmeler, DS ratlarda ve DOCA-tuz HT'lu ratlarda da gözlemlenmiştir. SHR ratlarda ise farklı olarak, antioksidan tedavi ile meydana gelen kan basıncı azalması, L-NAME tedavisi ile



önlenmiştir. Bunun nedeni SH ratlarda NOS aktivitesinin artması olarak gösterilmektedir (168, 169). Başka bir çalışmada L-NNA ön tedavisi uygulanmamış bir köpeğe bir SOD mimetik ajan olan tempol infüze edildiğinde RKA, GFH veya üriner sıvı-sodyum atılımında bir değişme olmazken , L-NNA ön tedavili köpeklere uygulandığında bu değerlerde belirgin yükselme tespit edilmiştir (99). Bu bulgu normal durumlar altında böbrekte SOR'nin çok az miktarda olduklarını, NOS inhibisyonu esnasında ise SOR yapımının artırıldığını ve sodyumun tubuler reabsorbsiyonunun arttırıldığını düşündürmektedir. Bu kavram, L-NNA tedavisi esnasında idrarda artmış 8-izoprostan bulunan, köpeklerdeki akut çalışmalar (99, 162, 165) ve ratlardaki (72, 151) kronik çalışmalar ile desteklenmektedir ve L-NNA uygulamasının meydana getirdiği renal tubuler ve hemodinamik bozulmalar tempol ile düzeltilebilmektedirler.

Yüksek tuz alımı Dahl tip tuza duyarlı (*DS*) ratlarda HT gelişimine yol açar ve bu tip HT patogenezi, oksidatif strese artma, anti-oksidan kapasitede azalma ve endotelial disfonksiyon ile ilişkilendirilmiştir (152). Bir diğer çalışmada ise normotansif SD ratlarda, oral yoldan salin uygulamasının (% 1 NaCl) plazmada 8-iso, ve aortik dokuda MDA ve GSH'u değiştirmedeği bildirilmiştir (170). Yakın zamanlı bir çalışmada % 0,4 tuz ve L-NAME alan ratlarda meydana gelen HT'u tempol uygulaması kısmen zayıflatmaktadır. L-NAME + % 4 tuz uygulandığında ise L-NAME + normal tuz alan gruptakinden daha fazla bir hipertansif cevap alınmış ve bu abartılı HT cevabının beraberinde tempol uygulamasıyla bozulduğu tespit edilmiştir (72). Bu veriler SOR'nin tuza duyarlılıkta katılımcı olduğunu destekler niteliktedir. Mevcut çalışmada, oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilen 8-izoprostanın idrarla atılım düzeyi değerlendirildi (112-114). Bu çalışmada yüksek tuz uygulaması tek başına 8-izoprostan düzeylerini değiştirmemektedir. Bu ratlarda aynı zamanda kan basıncı artışı da oluşmadığından literatürle uyumlu olarak ratlarımız tuza dirençli olarak değerlendirilebilirler. Normal tuz içeren diyetle beslenen ratlarda artan dozlarda L-NNA uygulamalarının kontrole göre anlamlı olmayan oksidatif stres artışı gösterdikleri belirlendi. Düşük dozda L-NNA uygulamasının oksidatif stres artırıcı etkisinin, tuzlu diyet eklendiğinde belirgin artış göstermesi ve dahası, yüksek dozda L-NNA uygulamasıyla birlikte yüksek tuz diyeti uygulandığında 8-izoprostan değerlerinin aşırı bir yükselme göstermesi, Silva ve ark (2006) tarafından ileri

sürülen NOS inhibisyonu esnasında oksidatif stresi indükleyici başka mekanizmaların da tetiklenmiş olabileceği ihtimalini kuvvetlendirmektedir. Bu bulgular; normal tuz diyeti ile değil, fakat yüksek tuz diyetiyle birlikte NOS inhibisyonu uygulamasıyla gelişen hipertansif durumun, oksidatif stres artışıyla doğru orantılı olduğu ve tuz uygulaması tek başına normotansif ratlarda oksidatif strese neden olmazken, NOS inhibisyonunun varlığında inhibisyonun şiddetiyle doğru orantılı bir oksidatif stres artışına neden olduğunu göstermektedir.

NOS inhibisyonu durumunda süper oksit aktivitesinin neden arttığına dair literatür bilgisi açık değildir. Her ikisi de sabit olarak belli oranda ve devamlı üretilen ve birbirleriyle biyolojik dokularda devamlı etkileşen hücresel ürünlerdir. NO-süper oksit etkileşimi normal durumlar altında devamlı üretilen bazal serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden böbreği koruyucu majör bir mekanizmadır. Yine de bu kuvvetli deneysel kanıtlara rağmen bu koruyucu etkinin tam mekanizması açık değildir. Bu etkileşimin son ürünü olan peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>)'in sitotoksik bir ajan olduğu bildirilmiştir (108, 165, 171). Bu etkisini hücre zedelenmesi ve ölümüne yol açan sülfidril oksidasyonu, protein tirozin nitrasyonu, membran lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı yoluyla indükleyebileceği belirtilmektedir (165, 172-174). Bunun yanında peroksinitritin sistemik vasküler relaksasyona neden olduğu (175, 176) ve iskemi-reperfüzyon injurisine karşı koruma sağladığı ileri sürülebilir (177). Fakat “*in vitro*” ortamda sitotoksik etki daha çok mikro-milimolar konsantrasyonlar arasında tespit edilmesine rağmen (173, 174), vazorelaksan etki daha fizyolojik olduğu düşünülen nano-mikromolar konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Bu nedenle peroksinitritin, sitotoksik bir ajan olarak davranmaktan çok, bir NO donörü gibi davranmak üzere NO-süper oksit etkileşimi sonucu oluşumu daha muhtemel görünmekle birlikte, bu yönde daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (175-177).

Normalde süper oksit dokularda SOD (süperoksitdismutaz) ve NO yardımıyla minimal seviyede tutulur (32, 108, 109, 178, 179). Doğal olarak NO eksikliğinde dengenin süper oksit artışı yönüne kayması mümkün görünmesine rağmen, bu yönde direkt kanıtlar mevcut değildir. Bir başka ihtimal ise sağlam NO sistemi tarafından süper oksit üretiminde rol oynayan enzimlerin ekspresyonunun

önlenmesi, eksikliğinde ise bu enzimlerin normalden fazla aktive olmasıdır (167, 180).

Bu çalışmada ratların yem alımları karşılaştırıldığında yüksek tuz ve beraberinde yüksek dozda L-NNA uygulanan grupta yem alımı açısından Kontrol grubuna göre anlamlı azalma tespit edildi. Bu bulgu, deneklerin hızlı seyirli kan basıncı yükselmesine karşı, özellikle santral sinir sisteminde iştah azalmasını tetikleyici bir yolağın uyarılabileceğini düşündürebilir. Bununla ilgili olarak çalışmamızda serotonin metaboliti olan 5-HİAA (5-hidroksiindolasetikasit) idrar düzeylerinin dikkate değer farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Bilinmektedir ki; serotonin maddesi iştahı azaltıcı etkiye sahiptir ve bu etkisinde 5HT<sub>2c</sub> reseptörlerinin yer aldığı ifade edilmektedir (181-184). Bu çalışmada da yem alımlarında azalma tespit edilen 25 mg/kg/gün L-NNA alan gruplarda, 5-HİAA idrar seviyelerinde Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artmalar tespit edildi. Sonuçta yüksek doz L-NNA alan gruplarda 5-HİAA aktivitesi artış göstermekte ve bu durum Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık arzeden yem alımı azalmasıyla beraber seyretmektedir. Daha önceden yapılan çalışmalara dayanılarak elde edilen verilerin serotoninergic aktivitede bir artışa işaret ettiği ve bu artışın günlük yem tüketiminin azalmasıyla ilişkili bir delil olabileceği ileri sürülebilir.

Mevcut çalışmada ratların ağırlık kazanımları değerlendirildiğinde, yüksek doz L-NNA ile birlikte tuzlu diyet alan grupta ağırlık değişiminin negatif yönde seyir izlediği tespit edildi. Yuasa ve ark (2000) da çalışmalarında 16 mg/kg/gün L-NNA alan ratlarda 4 hafta sonunda kontrole göre anlamlı ağırlık azalması bildirmişlerdir (87). Buna karşın L-NNA uygulamasıyla ağırlık artışının etkilenmediğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmada normal tuz diyeti almakta olan ratlarda 14 gün sonunda % vücut ağırlık artışı açısından L-NNA grubunda, Kontrol grubuna göre azalmalar tespit edildi ve 25 mg/kg/gün L-NNA alan grupta ağırlık azalması Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaştı. Bu bulgular literatürle uyumlu görünmektedir (87).

Vasküler endotelyum tarafından sentez edilen NO ile birlikte renal doku tarafından sentez edilen NO'inde, renal medullada Henle kulpu çıkan kalın kolunda Na-K-2Cl pompasını etkileyerek ve indirekt olarak interstisyel hidrostatik basıncı

artırmak suretiyle basınç natriürezisine yardımcı olarak, antihipertansif etkinlik gösterebileceğine dair bulgular vardır (185). Bir NOS inhibitörü olan L-NAME meduller aralığa direkt olarak veya i.v. (186, 187) verildiğinde, meduller kan akımında selektif bir azalma (% 15-20), sodyum retansiyonu ve anlamlı kan basıncı artışı ortaya çıkmaktadır. Renal “*western blot*” çalışmaları göstermiştir ki; özellikle inner (iç) kısmı olmak üzere renal medulla, kortekse göre anlamlı oranda daha fazla NOS ekspresyonu içerir ve yüksek oranda tuz içeren diyetle beslenen ratların medullasında, düşük oranda tuz içeren diyet alan ratlara göre karşılaştırmada tüm NOS izoformlarının ekspresyonu artmaktadır (188). Bu nedenle, renal meduller alanda natriürezisin düzenlenmesinde NO önemli role sahiptir ve NO inhibisyonu esnasında bu fonksiyonun zayıflaması muhtemel görünmektedir. Bu çalışmada tuz ve L-NNA uygulamalarının sıvı elektrolit dengesine etkisini değerlendirmek amacıyla günlük alınan ve çıkarılan sıvı-sodyum miktarları ve deney sonunda kan ve idrar elektrolitleri ölçüldü. Su alımı açısından gruplar değerlendirildiğinde yüksek tuzlu diyetin tüm gruplarda normal tuzlu diyetle göre su alımını yaklaşık 2,5 kat kadar artırdığı tespit edildi. Yüksek tuzlu diyetle beslenme, ratların günlük idrar çıkışını yaklaşık 3-4 kat artırdı. İdrar sodyum atılımlarının son gün değerleri dikkate alındığında, yüksek tuz diyeti almakta olan ratlarda subpressör ve pressör dozlarda L-NNA uygulamasının idrarla sodyum atılımını istatistiksel olarak anlamlı azalttığı tespit edildi. Buna zıt olarak diyetle normal tuz içeren gruplarda L-NNA uygulamaları idrarla sodyum atılımını kontrole göre anlamlı arttırdı. Buna paralel olarak, tuz yüklemesi yapılan gruplarda L-NNA uygulamaları günlük sodyum dengesinde artma ve normal tuz gruplarında ise, istatistiksel olarak anlamlı bulunmasa da, azalma meydana getirdi. Bir çok çalışmada uzun süreli NOS inhibisyonu sonucu meydana gelen kan basıncı artışından artmış tuz tutulumunun sorumlu olduğunu bildirilmiştir (73, 80, 87, 90, 189). Fakat NOS inhibitörü uygulamasıyla sodyum dengesinde bozulma olmadığını bildiren çalışmalar da vardır (190). NOS inhibisyonu esnasında serum sodyum değerlerinin değişmediği bildirilmiştir (92). Fakat düşük dozda NOS inhibisyonunda serum sodyum değerlerine dair veri bulunmamaktadır. Bu çalışma da, sadece 5 mg/kg/gün L-NNA + tuzlu diyet alan grup aynı oranda L-NNA ile normal tuz diyeti alan gruba göre

karşılaştırıldığında sodyum seviyesi anlamlı yüksek bulundu ve aynı zamanda bu gruptaki serum sodyum düzeyi bütün grupların üzerinde bir değere sahipti.

Renal dopaminerjik sistemin yüksek tuz alımı esnasında natriüreziste rolü olduğu, oksidatif stres artışının renal dopamin üretimini artırdığı fakat dopaminerjik reseptörlerde disfonksiyona neden oldukları ve renal dopaminerjik disfonksiyonun tuza duyarlılık gelişmesinde katılımcı olabileceği ileri sürülmüştür (191). Bu çalışmada dopaminerjik aktivitenin bir göstergesi olarak dopaminin majör yıkım ürünü olan HVA'nın idrarla günlük atımları değerlendirildi. Normal tuz diyeti alan ratlarda artan dozlarda L-NNA uygulamasının idrar HVA düzeylerinde paralel bir artmaya neden olduğu tespit edildi. Bu bulgu literatürle uyumludur. Bu amaçla yapılan bir çalışmada 14 gün boyunca ~10 mg/kg/gün dozunda L-NAME uygulaması sonucunda, idrarla atılan günlük dopamin, DOPAC ve L-DOPA gibi dopaminerjik sistem ara ürünlerinin atımlarının arttığı rapor edilmiştir (192). Bunlara ek olarak beyinde hipokampal dopaminin NOS inhibisyonu esnasında artırıldığı gösterilmiştir (193). Bunun yanında tek başına yüksek tuz uygulamasının HVA düzeylerinde önemli artmaya neden olması ve bu ratlarda oksidatif strese artış ve HT gelişmemesi dopaminerjik sistemin vücuttan fazla sodyumun atılımında önemli bir rolü olduğuna işaret edebilir. Diğer taraftan normal tuz içeren diyetle beslenen ratlarda subpressör ve pressör dozlarda L-NNA uygulamasıyla, idrar HVA düzeylerinde tespit edilen yükselmelerin, yüksek tuzlu diyet uygulamasıyla önemli ölçüde azalması, bu gruplarda meydana gelen hipertansif yanıtta, dopamin sentezinde artıştaki bir azalmanın, rolü olabileceğini düşündürmektedir. Mevcut çalışmada tuz uygulaması ve beraberinde subpressör ve pressör dozda L-NNA alan ratlarda anlamlı düzeyde oksidatif stress meydana gelmiş olması, aynı gruplarda HVA düzeyleri artışının göreceli olarak azaltılmış olması ve HT meydana gelmesi, bu modelde hipertansiyon gelişimine dopaminerjik aktivite artışındaki göreceli bir azalmanın da katılımcı olabileceğini ve oksidatif stres artışıyla dopamin sentezi arasında tuza duyarlılık oluşumunda bir etkileşme olabileceğini düşündürmektedir.

Endotel hücrelerinden kaynaklanan ve güçlü bir vazodilatör olan prostasiklin (PGI<sub>2</sub>)'in kan basıncı ve lokal kan akımının düzenlenmesindeki rolü iyi bilinmektedir. Ancak, renal kortikal COX2-kaynaklı PGI<sub>2</sub>'nin renin sentez ve

salınımını uyararak renovasküler hipertansiyona katılımcı olduğu da ileri sürülmüştür. Tuza duyarlı (SS) ve dirençli (SR) Dahl tip ratlarda serum PGI2 düzeyleri farklılık göstermektedir. SS Dahl ratlarda serum PGI2 düzeyleri düşüktür. Her iki tip ratlara, iki haftalık tuz yükleme sonucunda tuza duyarlı (SS) ratların tümünde zaten düşük olan plazma PGI2 seviyeleri değişmeyip hipertansiyon gelişmesine rağmen; ancak, SR ratlar yüksek tuz diyetine maruz kaldığında plazma PGI2 seviyesinin azaldığı fakat HT gelişmediği tespit edildi (123). Mevcut çalışmada L-NNA uygulamalarının PGI2 düzeylerini değiştirmemesi, NOS inhibitörleriyle meydana gelen HT'da PGI2 eksikliğinin bir katkısının olmadığını düşündürür. Yüksek tuz diyeti alan ratlarda ise PGI2 yapımında anlamlı bir artış tespit edilmiş ve ilginç olarak, tuz yüklemesi yapılan gruplarda L-NNA uygulamaları PGI2 düzeylerindeki artışı önlemediği gibi daha da artırmıştır. Ancak, PGI2 düzeylerindeki artış tuz artışı L-NNA uygulamalarıyla gelişen hipertansiyonu önleyememiştir. Bu artışın, fazla alınan tuzun atılımında etkili adaptif bir mekanizma olabileceği düşünülebilir.

Daha önceki çalışmalarda deney hayvanlarına oral yolla verilen L-NAME'in 15 mg/kg/gün dozunun tama yakın bir NOS inhibisyonu için yeterli olduğu ileri sürülmüştür (73, 74). Buna bağlı olarak 11 hafta boyunca yüksek doz NOS inhibisyonu uygulanan ratlarda, NOS inhibisyonunun kesilmesi sonrası artmış kan basıncının kalıcı olduğu bildirilmiştir (62). Gerek kronik NOS inhibisyonu gerekse buna bağlı gelişen hipertansiyonda, hem vasküler yatakta hem de diğer dokularda bazı adaptif değişiklikler meydana gelmektedir. Kan damarlarındaki NO sentezinde bir azalmanın ateroskleroz gibi durumlarla sonuçlanabileceği bildirilmiştir (64). Bir hayvanda NO sentezi inhibe edilir ve vasküler hasar yapılırsa, neointimal proliferasyon hızlanır ve bir aterosklerotik plak oluşturulur. Bu süreç NO donörü bir ilaç olan nitrogliserin ve benzeri ilaçların uygulanmasıyla önlenmektedir ki, bu sürece müdahale etmek için bazı endikasyonlarda bu ilaçlar kullanılmaktadır (64). Yapılan araştırmalar özellikle yüksek doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyona böbrek, kalp ve damarlarda meydana gelen kalıcı yapısal ve/veya fonksiyonel değişikliklerin katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (41, 62). Araştırmacılar yüksek doz L-NAME uyguladıklarında kardiyovasküler hipertrofi, renal arteriyollerde duvar kalınlaşması, fokal glomerüler kollaps, interstisyel

ekspansiyon ve tübüler atrofiyi içeren yapısal hasar bulguları bildirmişlerdir (41, 62, 194, 195). Düşük dozda fakat uzun süreli (5mg/kg/gün 2 ay ve 10 mg/kg/gün 3 hafta) L-NAME uygulandığında glomerüler skleroz ve renal vasküler duvar hasarı gözlenirken, 3 haftadan daha kısa sürelerde ise herhangi bir yapısal hasar gözlenmemiştir (15, 196). Son iki çalışmada kullanılan NOS inhibitörlerinin dozlarının düşük olmasına rağmen dokularda yapısal hasar meydana gelmesi, kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda yapısal hasarların kullanılan NOS inhibitörünün dozu kadar uygulama süresiyle de ilişkisinin önemine işaret etmektedir. Bu çalışmada histopatolojik teknikler kullanılmadığından renal yapılarda meydana gelebilecek yapısal değişiklikler hakkında bilğimiz kısıtlıdır. Fakat yukarıda da değinildiği gibi mevcut çalışmada uygulanan dozlar ve uygulama sürelerinin literatürde belirtilmiş olan patolojilerin oluşması için rapor edilen sürelerden kısa olması ve bunun yanında renal glomerular fonksiyon açısından bir fikir verebilecek olan idrarda 24 saatlik total protein analizlerinde, HT meydana gelen gruplarda total protein atılımının hipertansiyon gelişmeyen gruplardan yüksek bulunmamasından dolayı, renal dokuda özellikle glomeruler yapıda dikkate değer bir değişimin olmadığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada;

Tek başına tuz uygulamasının, oksidatif stresi artırıcı etki göstermemesine rağmen, subpressör ve pressör dozlarda uzun süreli L-NNA uygulamasıyla meydana gelen oksidatif stres cevabını potansiyelize ettiği,

Subpressör dozda NOS inhibitörü ve beraberinde yüksek tuz içeren diyet uygulamasıyla HT gelişmesinde; sempatik sistem aktivitesi ve oksidatif stres artışının önemli katılımcı oldukları,

Uzun süreli subpressör ve pressör dozlarda L-NNA uygulamasının, renal kaynaklı PGI<sub>2</sub> yapımını değiştirmediği, fakat, tuz yüklemesine cevap olarak gelişen renal PGI<sub>2</sub> üretimini daha da artırdiği, fakat PGI<sub>2</sub> artışının gelişen hipertansiyonu önleyemediği,

Uzun süreli NOS inhibisyonuna maruz kalan ratlarda serotonerjik aktivitede bir artma meydana geldiği ve bunun ratlarda meydana gelen büyüme azalmasıyla ilişkili olabileceği ilk kez gösterilmiştir.



## 5. KAYNAKLAR

1. The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. Arch Intern Med 1997;157(21):2413-46.
2. Sağlam K. Primer Hipertansiyon. 1. baskı ed. Ankara: GATA; 2003.
3. Bloem LJ, Manatunga AK, Tewksbury DA, Pratt JH. The serum angiotensinogen concentration and variants of the angiotensinogen gene in white and black children. J Clin Invest 1995;95(3):948-53.
4. Campese VM, Karubian F, Chervu I, Parise M, Sarkies N, Bigazzi R. Pressor reactivity to norepinephrine and angiotensin in salt-sensitive hypertensive patients. Hypertension 1993;21(3):301-7.
5. Bethesda MA. National Heart, Lung, and Blood Institute. Age Page.High blood pressure: a common but controllable disorder. USA: Department of Health and Human Services and National Institute of Health.; 1991.
6. Frohlich ED, Navar GN, Re RN. Hypertension means high blood pressure. Hypertension 1994;24(3):250.
7. Kannel WB, Zhang T, Garrison RJ. Is obesity-related hypertension less of a cardiovascular risk? The Framingham Study. Am Heart J 1990;120(5):1195-201.
8. Kaplan NM. Hypertension in General Population. New York The William and Wilkins Co.; 1998.
9. Carvalho JJ, Baruzzi RG, Howard PF, Poulter N, Alpers MP, Franco LJ, et al. Blood pressure in four remote populations in the INTERSALT Study. Hypertension 1989;14(3):238-46.
10. Bie P, Wamberg S, Kjolby M. Volume natriuresis vs. pressure natriuresis. Acta Physiol Scand 2004;181(4):495-503.

11. Guyton AC. Long-term arterial pressure control: an analysis from animal experiments and computer and graphic models. *Am J Physiol* 1990;259(5 Pt 2):R865-77.
12. Guyton AC. Renal function curves and control of body fluids and arterial pressure. *Acta Physiol Scand Suppl* 1990;591:107-13.
13. Gifford RW, Jr. Resistant hypertension. Introduction and definitions. *Hypertension* 1988;11(3 Pt 2):II65-6.
14. Evans RG, Majid DS, Eppel GA. Mechanisms mediating pressure natriuresis: what we know and what we need to find out. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005;32(5-6):400-9.
15. Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 1992;90(1):278-81.
16. 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(6):233-40.
17. Selye H. Production of nephrosclerosis by overdosage with deoxycorticosterone acetate. *Can Med Assoc J* 1942;47:515-9.
18. Crofton JT, Share L, Shade RE, Lee-Kwon WJ, Manning M, Sawyer WH. The importance of vasopressin in the development and maintenance of DOCA-salt hypertension in the rat. *Hypertension* 1979;1(1):31-8.
19. 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(4 Pt 2):907-13.
20. Katholi RE, Naftilan AJ, Oparil S. Importance of renal sympathetic tone in the development of DOCA-salt hypertension in the rat. *Hypertension* 1980;2(3):266-73.

21. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996;84(3):491-5.
22. Colditz GA. Economic costs of obesity. *Am J Clin Nutr* 1992;55(2 Suppl):503S-7S.
23. Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, Ignarro LJ. Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991;17(2):187-93.
24. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989;38(11):1709-15.
25. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med* 1997;48:489-509.
26. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 1999;92(4):164-9.
27. Moncada S, Higgs EA. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest* 1991;21(4):361-74.
28. Cornwell TL, Arnold E, Boerth NJ, Lincoln TM. Inhibition of smooth muscle cell growth by nitric oxide and activation of cAMP-dependent protein kinase by cGMP. *Am J Physiol* 1994;267(5 Pt 1):C1405-13.
29. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(11):4651-5.
30. Lefer DJ, Jones SP, Girod WG, Baines A, Grisham MB, Cockrell AS, et al. Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice. *Am J Physiol* 1999;276(6 Pt 2):H1943-50.

31. Wong D, Prameya R, Wu V, Dorovini-Zis K, Vincent SR. Nitric oxide reduces T lymphocyte adhesion to human brain microvessel endothelial cells via a cGMP-dependent pathway. *Eur J Pharmacol* 2005;514(2-3):91-8.
32. Wink DA, Miranda KM, Espey MG. Cytotoxicity related to oxidative and nitrosative stress by nitric oxide. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001;226(7):621-3.
33. Deutsch DG, Goligorsky MS, Schmid PC, Krebsbach RJ, Schmid HH, Das SK, et al. Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest* 1997;100(6):1538-46.
34. Buxton IL, Cheek DJ, Eckman D, Westfall DP, Sanders KM, Keef KD. NG-nitro L-arginine methyl ester and other alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. *Circ Res* 1993;72(2):387-95.
35. Kieffer BL, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Hirth CG. The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(24):12048-52.
36. Chowdhary S, Vaile JC, Fletcher J, Ross HF, Coote JH, Townend JN. Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. *Hypertension* 2000;36(2):264-9.
37. Ma S, Abboud FM, Felder RB. Effects of L-arginine-derived nitric oxide synthesis on neuronal activity in nucleus tractus solitarius. *Am J Physiol* 1995;268(2 Pt 2):R487-91.
38. Jung HC, Mun KH, Park TC, Lee YC, Park JM, Huh K, et al. Role of nitric oxide in penile erection. *Yonsei Med J* 1997;38(5):261-9.
39. Holzer P, Livingston EH, Saria A, Guth PH. Sensory neurons mediate protective vasodilatation in rat gastric mucosa. *Am J Physiol* 1991;260(3 Pt 1):G363-70.
40. Rao RK, Riviere PJ, Pascaud X, Junien JL, Porreca F. Tonic regulation of mouse ileal ion transport by nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;269(2):626-31.

41. Zatz R, Baylis C. Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension* 1998;32(6):958-64.
42. Ito S. Nitric oxide in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995;4(1):23-30.
43. Busse R, Fleming I, Schini VB. Nitric oxide formation in the vascular wall: regulation and functional implications. *Curr Top Microbiol Immunol* 1995;196:7-18.
44. Lindsay RM, Peet RS, Wilkie GS, Rossiter SP, Smith W, Baird JD, et al. In vivo and in vitro evidence of altered nitric oxide metabolism in the spontaneously diabetic, insulin-dependent BB/Edinburgh rat. *Br J Pharmacol* 1997;120(1):1-6.
45. Tsukahara Y, Morisaki T, Kojima M, Uchiyama A, Tanaka M. iNOS expression by activated neutrophils from patients with sepsis. *ANZ J Surg* 2001;71(1):15-20.
46. Kimura H, Hokari R, Miura S, Shigematsu T, Hirokawa M, Akiba Y, et al. Increased expression of an inducible isoform of nitric oxide synthase and the formation of peroxynitrite in colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis. *Gut* 1998;42(2):180-7.
47. Islam D, Veress B, Bardhan PK, Lindberg AA, Christensson B. In situ characterization of inflammatory responses in the rectal mucosae of patients with shigellosis. *Infect Immun* 1997;65(2):739-49.
48. Rabbani GH, Islam S, Chowdhury AK, Mitra AK, Miller MJ, Fuchs G. Increased nitrite and nitrate concentrations in sera and urine of patients with cholera or shigellosis. *Am J Gastroenterol* 2001;96(2):467-72.
49. Rejdak K, Petzold A, Sharpe MA, Smith M, Keir G, Stelmasiak Z, et al. Serum and urine nitrate and nitrite are not reliable indicators of intrathecal nitric oxide production in acute brain injury. *J Neurol Sci* 2003;208(1-2):1-7.
50. Ellis G, Adatia I, Yazdanpanah M, Makela SK. Nitrite and nitrate analyses: a clinical biochemistry perspective. *Clin Biochem* 1998;31(4):195-220.

51. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288(5789):373-6.
52. Moncada S, Palmer RM. Biosynthesis and actions of nitric oxide. *Semin Perinatol* 1991;15(1):16-9.
53. Aksulu HE, Celtek S, Turker RK. Cholesterol feeding attenuates endothelium-dependent relaxation response to acetylcholine in the main pulmonary artery of chickens. *Eur J Pharmacol* 1986;129(3):397-400.
54. Armas-Padilla MC, Armas-Hernandez MJ, Sosa-Canache B, Cammarata R, Pacheco B, Guerrero J, et al. Nitric oxide and malondialdehyde in human hypertension. *Am J Ther* 2007;14(2):172-6.
55. Camilletti A, Moretti N, Giacchetti G, Faloia E, Martarelli D, Mantero F, et al. Decreased nitric oxide levels and increased calcium content in platelets of hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2001;14(4 Pt 1):382-6.
56. 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(3):449-51.
57. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989;2(8670):997-1000.
58. Calver A, Collier J, Moncada S, Vallance P. Effect of local intra-arterial NG-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens* 1992;10(9):1025-31.
59. Kanagy NL. Increased vascular responsiveness to alpha 2-adrenergic stimulation during NOS inhibition-induced hypertension. *Am J Physiol* 1997;273(6 Pt 2):H2756-64.
60. Mendizabal VE, Feleder EC, Adler-Graschinsky E. Effects of the chronic in vivo administration of L-NAME on the contractile responses of the rat perfused mesenteric bed. *J Auton Pharmacol* 1999;19(4):241-8.

61. Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML. Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res* 2000;49(1):1-10.
62. Ribeiro MO, Antunes E, de Nucci G, Lovisolo SM, Zatz R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension* 1992;20(3):298-303.
63. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43(2):109-42.
64. Moncada S, Higgs EA. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *Faseb J* 1995;9(13):1319-30.
65. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329(27):2002-12.
66. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001;357(Pt 3):593-615.
67. Needle MN, Goldwein JW, Grass J, Cnaan A, Bergman I, Molloy P, et al. Adjuvant chemotherapy for the treatment of intracranial ependymoma of childhood. *Cancer* 1997;80(2):341-7.
68. Oktar S. Klonidinin nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonu aracılı hipertansiyon, vasküler alfa adrenerjik reseptörlerin duyarlılıkları ve plazma nitrit/nitrat (NOx) düzeylerine etkilerinin araştırılması [Uzmanlık Tezi]. Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2007.
69. Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart* 2001;85(3):342-50.
70. Darblade B, Batkai S, Causse E, Gourdy P, Fouque MJ, Rami J, et al. Failure of L-nitroarginine to inhibit the activity of aortic inducible nitric oxide synthase. *J Vasc Res* 2001;38(3):266-75.

71. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994;298 ( Pt 2):249-58.
72. Kopkan L, Majid DS. Superoxide contributes to development of salt sensitivity and hypertension induced by nitric oxide deficiency. *Hypertension* 2005;46(4):1026-31.
73. Tolins JP, Shultz PJ. Endogenous nitric oxide synthesis determines sensitivity to the pressor effect of salt. *Kidney Int* 1994;46(1):230-6.
74. Scrogin KE, Hatton DC, Chi Y, Luft FC. Chronic nitric oxide inhibition with L-NAME: effects on autonomic control of the cardiovascular system. *Am J Physiol* 1998;274(2 Pt 2):R367-74.
75. Gardiner SM, Compton AM, Kemp PA, Bennett T. Regional and cardiac haemodynamic effects of NG-nitro-L-arginine methyl ester in conscious, Long Evans rats. *Br J Pharmacol* 1990;101(3):625-31.
76. Wang YX, Gavras I, Wierzbica T, Lammek B, Gavras H. Inhibition of nitric oxide, bradykinin, and prostaglandins in normal rats. *Hypertension* 1992;19(2 Suppl):II255-61.
77. Ramchandra R, Barrett CJ, Malpas SC. Nitric oxide and sympathetic nerve activity in the control of blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005;32(5-6):440-6.
78. Baylis C, Harton P, Engels K. Endothelial derived relaxing factor controls renal hemodynamics in the normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 1990;1(6):875-81.
79. Johnson RA, Freeman RH. Pressure natriuresis in rats during blockade of the L-arginine/nitric oxide pathway. *Hypertension* 1992;19(4):333-8.
80. Salazar FJ, Pinilla JM, Lopez F, Romero JC, Quesada T. Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1992;20(1):113-7.



81. Huang BS, Leenen FH. Brain 'ouabain' and desensitization of arterial baroreflex by high sodium in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension* 1995;25(3):372-6.
82. Aggarwal A, Esler MD, Morris MJ, Lambert G, Kaye DM. Regional sympathetic effects of low-dose clonidine in heart failure. *Hypertension* 2003;41(3):553-7.
83. Grassi G, Turri C, Seravalle G, Bertinieri G, Pierini A, Mancia G. Effects of chronic clonidine administration on sympathetic nerve traffic and baroreflex function in heart failure. *Hypertension* 2001;38(2):286-91.
84. Greenwood JP, Stoker JB, Mary DA. Single-unit sympathetic discharge : quantitative assessment in human hypertensive disease. *Circulation* 1999;100(12):1305-10.
85. Liu JL, Murakami H, Zucker IH. Angiotensin II-nitric oxide interaction on sympathetic outflow in conscious rabbits. *Circ Res* 1998;82(4):496-502.
86. Sander M, Hansen J, Victor RG. The sympathetic nervous system is involved in the maintenance but not initiation of the hypertension induced by N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester. *Hypertension* 1997;30(1 Pt 1):64-70.
87. Yuasa S, Li X, Hitomi H, Hashimoto M, Fujioka H, Kiyomoto H, et al. Sodium sensitivity and sympathetic nervous system in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27(1-2):18-24.
88. AK L, Foucart S, Moreau P, Lambert C, Cardinal R, de Champlain J. Sympathetic functions in NG-nitro-L-arginine-methyl-ester-induced hypertension: modulation by the renin-angiotensin system. *J Hypertens* 1998;16(1):63-76.
89. Deering J, Coote JH. Paraventricular neurones elicit a volume expansion-like change of activity in sympathetic nerves to the heart and kidney in the rabbit. *Exp Physiol* 2000;85(2):177-86.

90. Salazar FJ, Alberola A, Pinilla JM, Romero JC, Quesada T. Salt-induced increase in arterial pressure during nitric oxide synthesis inhibition. *Hypertension* 1993;22(1):49-55.
91. Majid DS, Williams A, Navar LG. Inhibition of nitric oxide synthesis attenuates pressure-induced natriuretic responses in anesthetized dogs. *Am J Physiol* 1993;264(1 Pt 2):F79-87.
92. Hu L, Manning RD, Jr., Brands MW. Long-term cardiovascular role of nitric oxide in conscious rats. *Hypertension* 1994;23(2):185-94.
93. DiGuseppi J, Fridovich I. the toxicology of molecular oxygen. *Crit Rev Toxicol.* 1984;12:315-42.
94. Wilcox CS. Reactive oxygen species: roles in blood pressure and kidney function. *Curr Hypertens Rep* 2002;4(2):160-6.
95. Wilcox C, Welch W. oxidative stress: cause or consequence of hypertension. *exp Biol Med (Maywood)* 2001;226:619-20.
96. Jin N, Packer C, Rhoades R. reactive oxygen-mediated contraction in pulmonary arter 1991.
97. Wagner RS, Weare C, Jin N, Mohler ER, Rhoades RA. Characterization of signal transduction events stimulated by 8-epi-prostaglandin(PG)F2 alpha in rat aortic rings. *prostaglandins* 1997;54(2):581-99.
98. Roberts L, Morrow J. The generation and actions of isoprostanes. *Biochim. Biophys. Acta* : 1997;1345:121-35.
99. Majid DS, Nishiyama A, Jackson KE, Castillo A. Inhibition of nitric oxide synthase enhances superoxide activity in canine kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287(1):R27-32.
100. Zou AP, Li N, Cowley AW, Jr. Production and actions of superoxide in the renal medulla. *Hypertension* 2001;37(2 Part 2):547-53.

101. Majid DS, Nishiyama A. Nitric oxide blockade enhances renal responses to superoxide dismutase inhibition in dogs. *Hypertension* 2002;39(2):293-7.
102. Klann E, Roberson ED, Knapp LT, Sweatt JD. A role for superoxide in protein kinase C activation and induction of long-term potentiation. *J Biol Chem* 1998;273(8):4516-22.
103. Vermeiren C, Hemptinne I, Vanhoutte N, Tilleux S, Maloteaux JM, Hermans E. Loss of metabotropic glutamate receptor-mediated regulation of glutamate transport in chemically activated astrocytes in a rat model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurochem* 2006;96(3):719-31.
104. Kitiyakara C, Chabrashvili T, Chen Y, Blau J, Karber A, Aslam S, et al. Salt intake, oxidative stress, and renal expression of NADPH oxidase and superoxide dismutase. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(11):2775-82.
105. Modlinger PS, Wilcox CS, Aslam S. Nitric oxide, oxidative stress, and progression of chronic renal failure. *Semin Nephrol* 2004;24(4):354-65.
106. Welch WJ, Blau J, Xie H, Chabrashvili T, Wilcox CS. Angiotensin-induced defects in renal oxygenation: role of oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288(1):H22-8.
107. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986;250(5 Pt 2):H822-7.
108. Grisham MB, Jourdain D, Wink DA. Nitric oxide. I. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation. *Am J Physiol* 1999;276(2 Pt 1):G315-21.
109. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000;87(10):840-4.
110. Huie RE, Padmaja S. The reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res Commun* 1993;18(4):195-9.

111. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ, 2nd. A series of prostaglandin F<sub>2</sub>-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(23):9383-7.
112. Morrow JD, Roberts LJ. The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation. *Prog Lipid Res* 1997;36(1):1-21.
113. Montuschi P, Barnes PJ, Roberts LJ, 2nd. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *Faseb J* 2004;18(15):1791-800.
114. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F<sub>2</sub>-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 1995;332(18):1198-203.
115. Banerjee M, Kang KH, Morrow JD, Roberts LJ, Newman JH. Effects of a novel prostaglandin, 8-epi-PGF<sub>2</sub> alpha, in rabbit lung in situ. *Am J Physiol* 1992;263(3 Pt 2):H660-3.
116. Vacchiano CA, Tempel GE. Role of nonenzymatically generated prostanoid, 8-iso-PGF<sub>2</sub> alpha, in pulmonary oxygen toxicity. *J Appl Physiol* 1994;77(6):2912-7.
117. Wang Z, Ciabattoni G, Creminon C, Lawson J, Fitzgerald GA, Patrono C, et al. immunological characterization of urinary 8-epi-prostaglandin F<sub>2</sub> alpha excretion in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;275(1):94-100.
118. Wang B, Zhu H, Sun H, Pan J, Yuan Z, Yu R. Plasma 8-isoprostane concentrations in patients with age-related cataracts. *Clin Chem* 2005;51(8):1541-4.
119. Vassalle C, Petrozzi L, Botto N, Andreassi MG, Zucchelli GC. Oxidative stress and its association with coronary artery disease and different atherogenic risk factors. *J Intern Med* 2004;256(4):308-15.
120. Devaraj S, Hirany SV, Burk RF, Jialal I. Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary F<sub>2</sub>-isoprostanes as measures of oxidative stress in type 2 diabetes. *Clin Chem* 2001;47(11):1974-9.

121. Miller MJ, Pinto A, Mullane KM. Impaired endothelium-dependent relaxations in rabbits subjected to aortic coarctation hypertension. *Hypertension* 1987;10(2):164-70.
122. Yilmaz G, Aksulu HE, Demirel E, Ercan ZS, Zengil H, Turker RK. Modulation by endothelium of the vascular effects of angiotensin II. *Agents Actions* 1987;21(1-2):184-90.
123. Bayorh MA, Ganafa AA, Socci RR, Silvestrov N, Abukhalaf IK. The role of oxidative stress in salt-induced hypertension. *Am J Hypertens* 2004;17(1):31-6.
124. Navamani M, Morgan M, Williams RJ. Ethanol modulates N-methyl-D-aspartate-evoked arachidonic acid release from neurones. *Eur J Pharmacol* 1997;340(1):27-34.
125. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;263(5579):663-5.
126. Samuelsson B, Goldyne M, Granstrom E, Hamberg M, Hammarstrom S, Malmsten C. Prostaglandins and thromboxanes. *Annu Rev Biochem* 1978;47:997-1029.
127. Dusting GJ, Moncada S, Vane JR. Prostacyclin (PGX) is the endogenous metabolite responsible for relaxation of coronary arteries induced by arachidonic acid. *Prostaglandins* 1977;13(1):3-15.
128. Rosenkranz B, Fischer C, Reimann I, Weimer KE, Beck G, JC FR. Identification of the major metabolite of prostacyclin and 6-ketoprostaglandin F1 alpha in man. *Biochim Biophys Acta* 1980;619(2):207-13.
129. Frolich JC. Measurement of icosanoids. Report of the Group for Standardization of Methods in Icosanoid Research. *Prostaglandins* 1984;27(3):349-68.

130. Hao CM, Breyer MD. Physiological regulation of prostaglandins in the kidney. *Annu Rev Physiol* 2008;70:357-77.
131. Catella F, Nowak J, Fitzgerald GA. Measurement of renal and non-renal eicosanoid synthesis. *Am J Med* 1986;81(2B):23-9.
132. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36(8 Pt 1):1440-3.
133. Schnackenberg CG, Wilcox CS. Two-week administration of tempol attenuates both hypertension and renal excretion of 8-Iso prostaglandin f<sub>2</sub>alpha. *Hypertension* 1999;33(1 Pt 2):424-8.
134. Song Y, Jones JE, Beppu H, Keaney JF, Jr., Loscalzo J, Zhang YY. Increased susceptibility to pulmonary hypertension in heterozygous BMPR2-mutant mice. *Circulation* 2005;112(4):553-62.
135. Kone BC, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol* 1997;272(5 Pt 2):F561-78.
136. Raji L, Baylis C. Glomerular actions of nitric oxide. *Kidney Int* 1995;48(1):20-32.
137. el Karib AO, Sheng J, Betz AL, Malvin RL. The central effects of a nitric oxide synthase inhibitor (N omega-nitro-L-arginine) on blood pressure and plasma renin. *Clin Exp Hypertens* 1993;15(5):819-32.
138. Qadri F, Carretero OA, Scicli AG. Centrally produced neuronal nitric oxide in the control of baroreceptor reflex sensitivity and blood pressure in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Jpn J Pharmacol* 1999;81(3):279-85.
139. Sakima A, Teruya H, Yamazato M, Matayoshi R, Muratani H, Fukiyama K. Prolonged NOS inhibition in the brain elevates blood pressure in normotensive rats. *Am J Physiol* 1998;275(2 Pt 2):R410-7.

140. Yamada SS, Sasaki AL, Fujihara CK, Malheiros DM, De Nucci G, Zatz R. Effect of salt intake and inhibitor dose on arterial hypertension and renal injury induced by chronic nitric oxide blockade. *Hypertension* 1996;27(5):1165-72.
141. Ni Z, Vaziri N. Effect of salt loading on nitric oxide synthase expression in normotensive rats. *Am J Hypertens* 2001;14:155-63.
142. Miyajima E, Bunag R. Dietary salt loading produces baroreflex impairment and mild hypertension in rats. *Am J Physiol* 1985;249:H278-H84.
143. Michel H, Meyer-Lehnert H, Backer A, Stelkens H, Kramer H. Regulation of atrial natriuretic peptide receptors in glomeruli during chronic salt loading. *Kidney Int* 1990;38:73-9.
144. Debinski W, Kuchel O, Buu N, Nemer M, Tremblay J, Hamet P. Effect of prolonged high salt diet on atrial natriuretic factor in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1990;194:251-7.
145. Osborn J, Hornfeldt B. Arterial baroreceptor denervation impairs long-term regulation of arterial pressure during dietary salt loading. *Am J Physiol* 1998;275:H1558-H66.
146. Zanchi A, Schaad NC, Osterheld MC, Grouzmann E, Nussberger J, Brunner HR, et al. Effects of chronic NO synthase inhibition in rats on renin-angiotensin system and sympathetic nervous system. *Am J Physiol* 1995;268(6 Pt 2):H2267-73.
147. Kolo LL, Westfall TC, Macarthur H. Nitric oxide decreases the biological activity of norepinephrine resulting in altered vascular tone in the rat mesenteric arterial bed. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286(1):H296-303.
148. Jin HK, Yang RH, Wyss JM, Chen YF, Oparil S. Intrahypothalamic clonidine infusion prevents NaCl-sensitive hypertension. *Hypertension* 1991;18(2):224-9.
149. Klangkalya B, Sripairojthikoon W, Oparil S, Wyss JM. High NaCl diet increases anterior hypothalamic alpha 2-adrenoceptors in SHR. *Brain Res* 1988;451(1-2):77-84.

150. Carillo BA, Beutel A, Mirandola DA, Vidonho AF, Jr., Furukawa LN, Casarini D, et al. Differential sympathetic and angiotensinergic responses in rats submitted to low- or high-salt diet. *Regul Pept* 2007;140(1-2):5-11.
151. Kopkan L, Majid DS. Enhanced superoxide activity modulates renal function in NO-deficient hypertensive rats. *Hypertension* 2006;47(3):568-72.
152. Manning RD, Jr., Meng S, Tian N. Renal and vascular oxidative stress and salt-sensitivity of arterial pressure. *Acta Physiol Scand* 2003;179(3):243-50.
153. Manning RD, Jr., Tian N, Meng S. Oxidative stress and antioxidant treatment in hypertension and the associated renal damage. *Am J Nephrol* 2005;25(4):311-7.
154. Tian N, Thrasher KD, Gundy PD, Hughson MD, Manning RD, Jr. Antioxidant treatment prevents renal damage and dysfunction and reduces arterial pressure in salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 2005;45(5):934-9.
155. Park JB, Touyz RM, Chen X, Schiffrin EL. Chronic treatment with a superoxide dismutase mimetic prevents vascular remodeling and progression of hypertension in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2002;15(1 Pt 1):78-84.
156. Beswick RA, Zhang H, Marable D, Catravas JD, Hill WD, Webb RC. Long-term antioxidant administration attenuates mineralocorticoid hypertension and renal inflammatory response. *Hypertension* 2001;37(2 Part 2):781-6.
157. Taylor NE, Glocka P, Liang M, Cowley AW, Jr. NADPH oxidase in the renal medulla causes oxidative stress and contributes to salt-sensitive hypertension in Dahl S rats. *Hypertension* 2006;47(4):692-8.
158. Deniz E, Colakoglu N, Sari A, Sonmez MF, Tugrul I, Oktar S, et al. Melatonin attenuates renal ischemia-reperfusion injury in nitric oxide synthase inhibited rats. *Acta Histochem* 2006;108(4):303-9.
159. Usui M, Egashira K, Kitamoto S, Koyanagi M, Katoh M, Kataoka C, et al. Pathogenic role of oxidative stress in vascular angiotensin-converting enzyme



activation in longterm blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Hypertension* 1999;34(4):546–51.

160. Cosentino F, Barker JE, Brand MP, Heales SJ, Werner ER, Tippins JR, et al. Reactive oxygen species mediate endothelium-dependent relaxations in tetrahydrobiopterin-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001;21(4):496–502.

161. Guzik T, West N, Pillai R, Taggart D, KM. C. Nitric oxide modulates superoxide release and peroxynitrite formation in human blood vessels. *Hypertension* 2002;39:1088–94.

162. Majid DS, Nishiyama A, Jackson KE, Castillo A. Superoxide scavenging attenuates renal responses to ANG II during nitric oxide synthase inhibition in anesthetized dogs. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;288(2):F412-9.

163. Makino A, Skelton MM, Zou AP, Roman RJ, Cowley AW, Jr. Increased renal medullary oxidative stress produces hypertension. *Hypertension* 2002;39(2 Pt 2):667-72.

164. Lopez B, Salom MG, Arregui B, Valero F, Fenoy FJ. Role of superoxide in modulating the renal effects of angiotensin II. *Hypertension* 2003;42(6):1150-6.

165. Majid DS, Kopkan L. Nitric oxide and superoxide interactions in the kidney and their implication in the development of salt-sensitive hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34(9):946-52.

166. Wilcox CS. Redox regulation of the afferent arteriole and tubuloglomerular feedback. *Acta Physiol Scand* 2003;179(3):217-23.

167. Haque MZ, Majid DS. Assessment of renal functional phenotype in mice lacking gp91PHOX subunit of NAD(P)H oxidase. *Hypertension* 2004;43(2):335-40.

168. Yanes L, Romero D, Iliescu R, Cucchiarelli VE, Fortepiani LA, Santacruz F, et al. Systemic arterial pressure response to two weeks of Tempol therapy in SHR:

involvement of NO, the RAS, and oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288(4):R903-8.

169. Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Di Paola R, Caputi A, D. S. Superoxide: A key player in hypertension. *FASEB J* 2004;18: 94–101.

170. Banday AA, Muhammad AB, Fazili FR, Lokhandwala M. Mechanisms of oxidative stress–induced increase in salt sensitivity and development of hypertension in Sprague–Dawley rats. *Hypertension* 2007;49(3):664-71.

171. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998;25(4-5):434-56.

172. Mikkelsen RB, Wardman P. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene* 2003;22(37):5734-54.

173. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1991;288(2):481-7.

174. Salgo MG, Stone K, Squadrito GL, Battista JR, Pryor WA. Peroxynitrite causes DNA nicks in plasmid pBR322. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;210(3):1025-30.

175. Liu S, Beckman JS, Ku DD. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268(3):1114-21.

176. Nossaman BD, Dabisch PA, Liles JT, Baber SR, Champion HC, Kaye AD, et al. Peroxynitrite does not impair pulmonary and systemic vascular responses. *J Appl Physiol* 2004;96(2):455-62.

177. Lefer DJ, Scalia R, Campbell B, Nossuli T, Hayward R, Salamon M, et al. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest* 1997;99(4):684-91.
178. Wink DA, Feelisch M, Fukuto J, Chistodoulou D, Jourdain D, Grisham MB, et al. The cytotoxicity of nitroxyl: possible implications for the pathophysiological role of NO. *Arch Biochem Biophys* 1998;351(1):66-74.
179. Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;289(4):R913-35.
180. Husain K, SR. H. Oxidative injury due to chronic nitric oxide synthase inhibition in rat: Effect of regular exercise on the heart. *Biochim. Biophys. Acta* 2002;1587:75-82.
181. Tecott LH, Sun LM, Akana SF, Strack AM, Lowenstein DH, Dallman MF, et al. Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT<sub>2c</sub> serotonin receptors. *Nature* 1995;374(6522):542-6.
182. Anıl AE, Meltzer HY. Atipik Antipsikotiklere Bağlı Glukoz Metabolizması Bozuklukları. *Türk Psikiyatri Dergisi* 2001;12(3):225-32.
183. Hillebrand JJ, Heinsbroek AC, Kas MJ, Adan RA. The appetite suppressant d-fenfluramine reduces water intake, but not food intake, in activity-based anorexia. *J Mol Endocrinol* 2006;36(1):153-62.
184. Luo SQ, Li ET. Effects of repeated administration of serotonergic agonists on diet selection and body weight in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1991;38(3):495-500.
185. Eppel GA, Malpas SC, Denton KM, Evans RG. Neural control of renal medullary perfusion. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004;31(5-6):387-96.

186. Mattson DL, Lu S, Nakanishi K, Papanek PE, Cowley AW, Jr. Effect of chronic renal medullary nitric oxide inhibition on blood pressure. *Am J Physiol* 1994;266(5 Pt 2):H1918-26.
187. Nakanishi K, Mattson DL, Cowley AW, Jr. Role of renal medullary blood flow in the development of L-NAME hypertension in rats. *Am J Physiol* 1995;268(2 Pt 2):R317-23.
188. Mattson DL, Higgins DJ. Influence of dietary sodium intake on renal medullary nitric oxide synthase. *Hypertension* 1996;27(3 Pt 2):688-92.
189. Nakanishi K, Hara N, Nagai Y. Salt-sensitive hypertension in conscious rats induced by chronic nitric oxide blockade. *Am J Hypertens* 2002;15(2 Pt 1):150-6.
190. Manning RD, Jr., Hu L, Mizelle HL, Montani JP, Norton MW. Cardiovascular responses to long-term blockade of nitric oxide synthesis. *Hypertension* 1993;22(1):40-8.
191. Banday AA, Lau YS, Lokhandwala MF. Oxidative stress causes renal dopamine D1 receptor dysfunction and salt-sensitive hypertension in Sprague-Dawley rats. *Hypertension* 2008;51(2):367-75.
192. Soares-da-Silva P, Pestana M, Vieira-Coelho MA, Fernandes MH, Albino-Teixeira A. Assessment of renal dopaminergic system activity in the nitric oxide-deprived hypertensive rat model. *Br J Pharmacol* 1995;114(7):1403-13.
193. Wegener G, Volke V, Rosenberg R. Endogenous nitric oxide decreases hippocampal levels of serotonin and dopamine in vivo. *Br J Pharmacol* 2000;130(3):575-80.
194. Morton JJ, Beattie EC, Speirs A, Gulliver F. Persistent hypertension following inhibition of nitric oxide formation in the young Wistar rat: role of renin and vascular hypertrophy. *J Hypertens* 1993;11(10):1083-8.

195. Ribeiro MO, Antunes E, Muscara MN, De Nucci G, Zatz R. Nifedipine prevents renal injury in rats with chronic nitric oxide inhibition. *Hypertension* 1995;26(1):150-5.

196. Qiu C, Muchant D, Beierwaltes WH, Racusen L, Baylis C. Evolution of chronic nitric oxide inhibition hypertension: relationship to renal function. *Hypertension* 1998;31(1):21-6.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

01.01.1979 tarihinde ORDU ili Gököy İlçesine bağlı Çatak köyünde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Gököy ilçesinde tamamladım. 2003 yılında Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. 2004-2005 yılları arasında yaklaşık 1 yıl süreyle ORDU ili Gürgentepe ilçesi Hasancık Köyü Sağlık ocağı tabipliği görevinde bulundum. 2004 yılı Eylül dönemi TUS sınavında başarılı olarak, 10 Ocak 2005 tarihinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime başladım.