

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

**KLONİDİN'İN NİTRİK OKSİT SENTAZ (NOS) İNHİBİSYONU  
ARACILI HİPERTANSİYON, VASKÜLER ALFA ADRENERJİK  
RESEPTÖRLERİN DUYARLILIKLARI VE PLAZMA  
NİTRİT/NİTRAT (NO<sub>x</sub>) DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ  
Dr.Süleyman OKTAR**

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

**Bu çalışma FÜBAP (Proje no: 1190) tarafından desteklenmiştir.**

**ELAZIĞ - 2007**

## **ONAY SAYFASI**

*Benim için çok değerli olan aileme*

## TEŐEKKÜR

Araştırma görevlisi olarak çalıştığım sürede eğitimime olan çok değerli katkıları ve tez hazırlığı sırasında yardımlarından dolayı danışman hocam Sayın Prof.Dr. Hakkı Engin AKSULU'ya, asistanlığım süresince kritik yönlendirmeleri için ana bilim dalımız ğretim yesi hocam Sayın Doç.Dr. Engin ŐAHNA'ya, laboratuvar çalışmalarımnda yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş.Grv.Dr. Selçuk İLHAN'a ve değerli destekleri için Sayın Arş.Grv.Dr. İbrahim TEKEDERELİ'ye, çalışmalarımız için fiziki ortamı her an hazır hale getiren bölüm çalışanlarımıza teŐekkür etmeyi bir borç biliyorum.

## İÇİNDEKİLER

KONU .....	SAYFA NO
<b>1.ÖZET</b> .....	<b>1</b>
<b>2.ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>3.GİRİŞ</b> .....	<b>3</b>
3.1.NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyon.....	6
3.1.1. Nitrik Oksit.....	6
3.1.1.1.Nitrik Oksit'in Fizyolojik Önemi.....	9
3.1.2.Patofizyolojik Süreçlerde Nitrik Oksit'in Rolü.....	11
3.1.2.NOS İnhibitörleri.....	13
3.1.3.NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyonun Mekanizmaları .....	14
3.1.3.1.Akut NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyonun Mekanizmaları.....	15
3.1.3.2. Kronik NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyonun Mekanizmaları.....	15
3.1.3.2.1.Doz Bağımlı Olarak Kan Basıncı Değişiklikleri.....	16
3.1.3.2.2.Böbreklerin Rolü.....	17
3.1.3.2.3.Sempatik Sinir Sisteminin Rolü.....	20
3.2.Klonidin.....	22
3.2.1.Santral Etkileri.....	22
3.2.2.Periferik Etkileri.....	23
3.2.3.Antihipertansif Etkileri.....	25
<b>4.GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>28</b>
4.1.Denekler.....	28
4.2.Deneysel Protokol.....	28
4.3.İlaç uygulamaları.....	29
4.4.Kan Basıncı ve Kalp Hızı Ölçümü Ölçümleri.....	30
4.5.Cerrahi Uygulamalar.....	31
4.6."in vitro" Deneysel.....	31
4.7.Plazma NOx Ölçümü.....	32
4.7.1.Çözeltilerin Hazırlanması.....	32
4.7.2.Ölçümün Yapılışı.....	33
4.8.Kullanılan kimyasallar.....	34
4.9.İstatistik.....	34
<b>5.BULGULAR</b> .....	<b>35</b>
5.1. Sıçanların Gelişmesi .....	35
5.1.1. Sıçanların İçtikleri Su ve Aldıkları İlaç Miktarları.....	35
5.1.1.1. "in vivo" L-NNA Uygulamasının Etkileri.....	35
5.1.1.2. "in vivo" Klonidin Uygulamasının Etkileri.....	35
5.1.2.Ağırlık Artışı Oranları.....	38
5.1.2.1. "in vivo" L-NNA Uygulamasının Sıçanların Ağırlık Artışı Üzerine Etkileri	38
5.1.2.2. "in vivo" Klonidin Uygulamasının Sıçanların Ağırlık Artışı Üzerine etkileri.....	38
5.2. Hemodinamik Değişiklikler.....	38
5.2.1. Sistolik Kan Basıncı (SKB) Değerleri.....	38
5.2.1.1. "in vivo" L-NNA uygulamalarının etkileri.....	41
5.2.1.2. "in vivo" Klonidin uygulamalarının etkileri.....	44

5.2.2. Diastolik Kan Basıncı (DKB) Değerleri.....	46
5.2.2.1. “ <i>in vivo</i> ” L-NNA uygulamalarının etkileri.....	47
5.2.2.2. “ <i>in vivo</i> ” Klonidin uygulamalarının etkileri.....	47
5.2.3. Gece-gündüz farkının kan basıncı üzerine etkileri.....	48
5.3. Kalp Hızı (KH) Değerleri.....	49
5.3.1. “ <i>in vivo</i> ” L-NNA Uygulamasının Etkileri.....	49
5.3.2. “ <i>in vivo</i> ” klonidin Uygulamasının Etkileri.....	50
5.4. “ <i>in vitro</i> ” Şartlarda Vasküler Cevaplar.....	52
5.4.1. Fenilefrin Cevapları.....	52
5.4.1.1. Normal Krebs Ortamında Fenilefrin Maksimum Kasılma ve EC50 cevapları.....	52
5.4.1.1.1. “ <i>in vivo</i> ” L-NNA Uygulamasının Etkileri .....	52
5.4.1.1.2. “ <i>in vivo</i> ” Klonidin Uygulamasının Etkileri.....	54
5.4.1.2. L-NNA ( $10^{-5}$ ) Krebs Ortamında Maksimum Kasılma ve EC50 Cevapları.....	55
5.4.1.2.1. “ <i>in vivo</i> ” L-NNA Uygulamasının Etkileri .....	55
5.4.1.2.2. “ <i>in vivo</i> ” Klonidin Uygulamasının Etkileri.....	56
5.4.1.3. İNDO ( $10^{-5}$ ) Krebs Ortamında Maksimum Kasılma ve EC50 Cevapları...	58
5.4.1.3.1. “ <i>in vivo</i> ” L-NNA Uygulamasının Etkileri .....	58
5.4.1.3.2. “ <i>in vivo</i> ” Klonidin Uygulamasının Etkileri.....	60
5.4.2. Klonidin Cevapları.....	61
5.4.2.1. “ <i>in vivo</i> ” L-NNA Uygulanan Ratlarda “ <i>in vitro</i> ” ortamda klonidinin maksimum Kasılma Cevapları ve EC50 Değerleri.....	61
5.4.2.2. “ <i>in vivo</i> ” Klonidin Uygulanan Ratlarda “ <i>in vitro</i> ” ortamda klonidinin maksimum Kasılma Cevapları ve EC50 Değerleri.....	62
5.4.3. Normal Krebs Ortamında L-NNA ve/veya Klonidin Uygulamasının Fenilefrin, Klonidin Emax (mg) Cevapları ile Fenilefrin ve Klonidin EC50 (log) değerlerinin Karşılaştırılması.....	64
5.4.4. Kontrol, KLO ve yKLO grubunun EC50 ve Emax Değerlerinin karşılaştırılması.....	64
5.5. Plazma Nitrit/Nitrat (pNOx) Değerleri.....	67
5.5.1. “ <i>in vivo</i> ” L-NNA Uygulamasının Etkileri.....	67
5.5.2. “ <i>in vivo</i> ” klonidin Uygulamasının Etkileri.....	67
<b>6. TARTIŞMA.....</b>	<b>70</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>84</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>99</b>

## TABLO LİSTESİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının 10 günlük deney boyunca içtikleri su miktarları (ml/gün).	36
Tablo 2	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının 10 günlük deney boyunca aldıkları L-NNA ve Klonidin miktarları (sırayla mg/kg/gün ve µg/kg/gün).	37
Tablo 3	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının 10 günlük deney boyunca aldıkları kilo artışları (g).	39
Tablo 4	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH.	40
Tablo 5	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH.	46
Tablo 6	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO grupları KH (atım/dakika) ortalamaları±SH.	50
Tablo 7	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin <i>in vitro</i> şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).	53

Tablo 8	:	Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin <i>in vitro</i> şartlarda normal ve L-NNA krebs ortamında kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).	57
Tablo 9	:	Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin <i>in vitro</i> şartlarda normal ve İNDO krebs ortamında kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).	59
Tablo 10	:	Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında klonidinin <i>in vitro</i> şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).	63
Tablo 11	:	Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının normal krebs ortamında sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrin, klonidin ve KCl Emax cevapları (mg) ile fenilefrin ve klonidin EC50 değerleri (logaritmik).	65
Tablo 12	:	Kontrol, KLO ve yKLO grubunun EC50 ve Emax değerlerinin Karşılaştırılması	66
Tablo 13	:	Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının plazma NOx değerleri ( $\mu$ M) ortalamaları $\pm$ SH.	68



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	: Spektrofotometre için kalibrasyon eğrisi (Y:Absorbans, X: NaNO <sub>2</sub> µmol/L)	33
Şekil 2	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; LNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının SKB (mm/Hg).	41
Şekil 3	: Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının SKB (mm/Hg) .	42
Şekil 4	: Kontrol, dLNNA ve yLNNA gruplarının 0, 5 ve 10. gün SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH.	43
Şekil 5	: Düşük ve yüksek doz L-NNA ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda düşük ve yüksek doz klonidin uygulaması ile meydana gelen kan basıncı değişiklikleri (mmHg).	44
Şekil 6	: Kontrol, dLNNA ve dLNNA+KLO gruplarının kalp atım hızları (atım/dk).	51
Şekil 7	: Kontrol, yLNNA , yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının kalp atım hızları (atım/dk).	52
Şekil 8	: Kontrol, dLNNA, yLNNA gruplarının plazma NOx değerleri (µM) ortalamaları±SH.	69

## KISALTMALAR LİSTESİ

NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
L-NNA	: N <sup>G</sup> -nitro-L-arjinin
L-NAME	: N <sup>G</sup> -nitro-L-arjinin metil ester
L-NMMA	: N <sup>G</sup> -monometil-L-arjinin
ADE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
Ach	: Asetilkolin
EDRF	: Endotelyum Salıverilen Gevşetici Faktör
Ca <sup>+2</sup>	: Kalsiyum
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
FMN	: Flavin mononükleotid
BH <sub>4</sub>	: Tetrahidrobiopterin
IP <sub>3</sub>	: İnozitoltrifosfat
cGMP	: Siklik Guanosin Monofosfat
AgII	: Anjiyotensin II
NTS	: nükleus traktus solitarius
PVN	: Paraventriküler nükleus
SH	: Spontan Hipertansif
BRS	: Baroreseptör duyarlılık
SBP	: Sistolik Kan Basıncı
DBP	: Diyastolik Kan Basıncı
KH	: Kalp Hızı
NO <sub>x</sub>	: Nitrit/Nitrat
dLNNA	: 15mg/100ml konsantrasyonda L-NNA
yLNNA	: 45mg/100ml konsantrasyonda L-NNA
KLO	: 150µg/100ml konsantrasyonda Klonidin
yKLO	: 225µg/100ml konsantrasyonda Klonidin

## 1.ÖZET

Uzun süreli klonidinin uygulamasının kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon ve vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler üzerine etkileri bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı klonidinin kronik N<sup>G</sup>-nitro-L-arjinin (L-NNA) uygulamasıyla gelişen hipertansiyon üzerine etkilerini incelemek ve NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun mekanizmalarını aydınlatmaya çalışmaktır. Tüm gruplara L-NNA ve/veya klonidin iki farklı konsantrasyonda içme suyuyla 10 gün süreyle uygulandı. dLNNA ve yLNNA grupları sırasıyla 15 ve 45mg/100ml konsantrasyonda L-NNA aldı. KLO ve yKLO gruplarına sırasıyla 150 ve 225 $\mu$ g/100ml konsantrasyonda klonidin uygulandı. Kan basıncı ve kalp hızı tail-cuff metodu, plazma NOx düzeyleri spektrofotometre ile tespit edildi.  $\alpha$ -adrenerjik reseptör yanıtları izole torasik aorta halkalarında “*in vitro*” şartlarda değerlendirildi. Klonidin L-NNA uygulaması ile oluşan hipertansiyonun gelişimini doz bağımlı olarak önledi, ancak L-NNA uygulamasıyla düşen kalp hızını etkilemedi. Tek başına klonidin uygulanan normotensif ratların kan basıncı ve kalp hızında bir değişiklik olmadı. Plazma NOx seviyesi dLNNA grubunda arttı, diğer gruplarda ise değişmedi. “*in vitro*” deneylerde izole torasik aorta halkalarının yLNNA grubunda hem fenilefrinin hem de klonidine, dLNNA grubunda ise fenilefrine duyarlılığının arttığı tespit edildi. KLO grubunda torasik aorta halkalarının klonidine, yKLO grubunda ise fenilefrine duyarlılığı arttı. Bu bulgular kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişiminden esas olarak sempatik sinir sistemi aktivasyonunun sorumlu olduğu görüşünü desteklemektedir. Sonuç olarak santral etkili bir antihipertansif ajan olan klonidinin kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişimini doz bağımlı olarak önlediği bu çalışmada ilk kez gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Hipertansiyon, Nitrik Oksit, Klonidin, Alfa Adrenerjik Reseptörler

## 2.ABSTRACT

### **The Effects of Clonidine on NOS Inhibition Induced Hypertension, Vascular Alpha Adrenoceptor Sensitivity and Plasma Nitrite/Nitrate Levels in Rats**

Effects of long-term clonidine administration on chronic NOS inhibition induced hypertension and vascular  $\alpha$ -adrenoceptor sensitivities remain to be elucidated. The aim of the present study is to investigate mechanisms of NOS inhibition induced hypertension and effects of clonidine on chronic N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine (L-NNA) induced hypertension. All groups were administrated L-NNA and/or clonidine in two different concentrations for ten days. L-NNA was administrated in concentration of 15 and 45 mg/100ml to dLNNA and yLNNA groups, respectively. Clonidine was also administrated in concentration of 150 and 225  $\mu$ g/100ml to KLO and yKLO groups, respectively. Blood pressure and heart rates were measured with tail-cuff method, plasma NOx levels with spectrophotometer. The  $\alpha$ -adrenoceptor responses were evaluated in toracic aorta rings in “in vitro” conditions. Clonidine prevented the L-NNA induced hypertension dose-dependently, but did not effect the heart rates decreased by L-NNA. The heart rates and blood pressure of normotensive rats were not changed by clonidine alone. Plasma NOx levels increased in dLNNA group but did not change in other groups. The sensitivity of toracic aorta rings to phenylephrine and clonidine in yLNNA group and phenylephrine in dLNNA group increased. The sensitivity of toracic aorta rings to phenylephrine in yKLO group and to clonidine in KLO group increased. This study supports the idea suggesting that symphathetic nervous system activation is primarily responsible for the chronic NOS inhibition induced hypertension. In conclusion, it was shown for first time that clonidine prevented chronic NOS inhibition induced hypertension dose-dependently.

**Key Words:** Hypertension, Nitric Oxide, Clonidine, Alpha Adrenergic Receptors

### 3.GİRİŞ

Esansiyel hipertansiyon günümüzde yaygın bir sağlık problemidir. Esansiyel hipertansiyonda kan basıncı artışının nedeni multifaktöriyel kabul edilmektedir. Fakat esansiyel hipertansiyonun gelişimi ve buna katkısı olan faktörler henüz yeterince aydınlatılamamıştır. Sodyum hipotezi, sempatik aktiviteye karşı dokuların duyarlılığının artması, baroreseptör ayarının değişmesi, renin-anjiyotensin, renal dopaminerjik ve vasküler lokal düzenleyici sistemlerdeki değişimler esansiyel hipertansiyon patojenezini aydınlatmaya yönelik güçlü yaklaşımlardır. Periferik damar direnci artışıyla seyreden esansiyel hipertansiyon, nitrik oksit (NO) ve prostasiklin gibi endotelyum kaynaklı vazodilatör sistemlerin zaafiyetiyle de ilişkilendirilmiştir (1). Bindokuzyüzseksenli yıllarda NO'in keşfedilmesiyle birlikte araştırmalar kan basıncı artışının NO sentezindeki azalmayla olan ilişkisine yoğunlaşmıştır. Güçlü bir vazodilatör olan NO, endotelyal hücrelerden bazal ve/veya uyarılmış olarak salınır ve arteriyel kan basıncı ile kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynar (2). NO, L-arjinin'den nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri tarafından sentezlenir. NOS enzimlerinin akut ve kronik inhibisyonu sonucu arteriyel kan basıncının artması, yaşlanma, hiperkolesterolemi ve arteriyel hipertansiyonda bazal ve uyarılmış NO sentez ve/veya salınımının azalması, oldukça güçlü vazodilatör etkili NO'in arteriyel kan basıncı ile lokal kan akımının düzenlenmesinde önemli rolü olduğuna ve bu sistemin yetersizliğinin esansiyel hipertansiyon patojenezinden sorumlu olabileceğine işaret etmiştir (2-5).

Günümüzde NOS enziminin akut ve kronik inhibisyonu sonucu NO sentezinin engellenmesiyle yeni bir hipertansiyon modeli geliştirilmiştir. N<sup>G</sup> – monometil-L-arjinin (L-NMMA), N<sup>G</sup>-nitro-L-Arjinin (L-NNA), N<sup>G</sup>-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME)

gibi NOS inhibitörü L-arjinin analoglarının uygulanmasıyla deney hayvanlarında geliştirilen hipertansiyonda etkilenen sistemler ve kan basıncının artmasına neden olan faktörler yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (6, 7). Kronik NOS inhibisyonuna total periferik direnç artışının, artmış renal sodyum tutulumunun, sempatik sistem aktivasyonunun ve çeşitli vazoaaktif maddelerin katkısı olduğu ileri sürülmektedir: Genel olarak düşük doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan sodyum tutulumu, yüksek doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan ise total periferik direnç artışı sorumlu tutulmaktadır (8). Kronik NOS inhibisyonu sonucu oluşan hipertansiyonda böbrekte sodyum tutulumunun artması ve sempatoadrenerjik sistem aktivitesinin katkısı öne çıkmaktadır (9, 10). Aksulu ve ark. tavuklarda yaptıkları uzun süreli NOS inhibisyonu çalışmasında kan basıncı artmasına rağmen plazma adrenalin ve noradrenalin düzeyinin azaldığını göstermişlerdir (11). Mevcut veriler çelişkili olmakla birlikte kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona santral ve periferik sempatik sistemin katıldığına işaret etmektedir. Ayrıca birçok vazoaaktif ajanın vasküler yataklarda vazomotor yanıtların değişmesine yol açtığı ve bu durumun kan basıncının yükselmesine katkısı olduğu bildirilmektedir. Çalışmalarda NOS inhibisyonuyla oluşan hipertansiyon modellerinde, vasküler düzeyde özellikle  $\alpha$ -adrenerjik agonistlere vasküler cevap artmakta, azalmakta ya da değişmemektedir (12-14).

Kronik NOS inhibisyonu sonucu meydana gelen hipertansiyonun önlenmesinde ADE inhibitörleri, anjiotensin reseptör antagonistleri, kalsiyum kanal blokörleri gibi antihipertansif ajanların etkili olduğu gösterilmiştir. Bu antihipertansif ajanların kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda NO'yi etkilemediği, hipertansif kişilerde ise NO salınımını arttırdıkları bildirilmiştir (15, 16). Literatürde klonidinin NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona etkilerini bildiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Klonidin santral

etkili bir antihipertansif ajan olup, sempatik aktiviteyi inhibe ederek kan basıncını düşürmektedir (17). Klonidinin doğrudan vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptörleri etkilemesinin de kan basıncını düşürücü tesirine katkıda bulunduğu işaret edilmektedir (18). “in vitro” çalışmalarda klonidinin NO üretimini aktive ettiğine dair bulgularda elde edilmiştir (19). Klonidinin vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler üzerine etkileri yeterince bilinmemektedir ve henüz klonidinin hem periferik vasküler etkileri hem de antihipertansif tesirine bu etkilerin katkısı ve mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır.

Araştırmalarda denek türlerinin değişmesi, farklı NOS inhibitörlerinin farklı doz ve sürelerde kullanılması söz konusudur. Kullanılan NOS inhibitörünün türü, dozu ve uygulama süresi oluşan hipertansiyonun niteliğini değiştirmektedir (20). Bu nedenle araştırmalardan elde edilen farklı ve bazen çelişkili verilerin değerlendirilmesi ve yorumlanması zorlaşmaktadır. Kronik NOS inhibisyonu sonucu meydana gelen bu hipertansiyonun oluşmasında NO'nun vazodilatör etkinliğinin ve bu model hipertansiyonun oluşum mekanizmasında sempatoadrenerjik sistem aktivitesinin katkısının incelenmesi öncelik arz etmektedir. Beraberinde, vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin kan basıncı artışına katkısı yeterince açık olmadığından vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin vazomotor davranışlarındaki muhtemel değişikliklerin tespit edilmesi ve buna katkısı olan faktörlerin ortaya konması önemlidir. Ayrıca santral etkili antihipertansif ajan olan klonidinin NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona etkileri henüz araştırılmamıştır ve uzun süreli uygulanmasının vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler üzerine etkileri de bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı;

- 1) Uzun süreli L-NNA uygulamalarının;

- a) vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptör duyarlılıklarına,
  - b) plazma nitrit/nitrat düzeylerine etkileri incelemek,
- 2) Klonidinin;
- a) NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon oluşumuna,
  - b) vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptör duyarlılıklarına etkilerini araştırmaktır.

### **3.1.NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyon**

#### **3.1.1. Nitrik Oksit**

Seksenli yıllarda Furchgoit ve Zmvdzki organ banyosunda izole arter preparatlarında, asetilkolinin (Ach) oluşturduğu gevşemenin endotelyuma bağımlı olduğunu ve bu etkinin labil bir madde salınımı ile sağlandığını göstermişlerdir. Bu faktör “endothelium-derived relaxing factor (endotel kaynaklı gevşetici faktör)” (EDRF) olarak adlandırılmıştır (21). Yapılan çalışmalarda EDRF olarak isimlendirilen bu maddenin NO olduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (22). NO kimyasal stabilitesi olmayan, reseptöre bağımlı olmadan kolayca difüze olabilen ve düşük moleküler ağırlıklı oldukça lipofilik bir maddedir. NO, L-arjininden NOS olarak adlandırılan 3 enzim tarafından sentezlenir ve salıverilir. NO sentezi için gerekli olan L-arjinin önemli oranda organizmada protein sentezi ve metabolizmasıyla elde edilmektedir. L-arjininin hücre içine geçişi endotelyum hücresi içinde yer alan  $y^+$  sistemi ile sağlanmaktadır. Bu sistem fizyolojik konsantrasyonlarda L-arjininin önemli bir miktarının membranlardan geçişini sağlayan yolaktır (23). Sitokrom p-450 redüktaz



homologu olan NOS enzimi, L- arjinin'den NO sentezinde NADPH, kalmodulin, oksijen, 'heme', FMN, FAD, tetrahidrobiopterin (BH<sub>4</sub>) gibi çeşitli kofaktörleri kullanmaktadır.

L-arjininden NO sentezini katalizleyen üç NOS izoenzimi vardır (24). Bunlardan ikisi endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) kalsiyum bağımlıdır ve yapısal enzimler olarak adlandırılırlar. Yapısal NOS enzimlerince üretilen NO'nin bazal bir salınımı vardır. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi ise kalsiyumdan bağımsız olup, sitokin ve endotoksinler tarafından indüklenir, patolojik durumlarda aktive olur (25). Bu enzimler eNOS, nNOS, iNOS sırasıyla 7, 12 ve 17.kromozomlar üzerinde üç farklı gen tarafından kodlanmaktadır (24).

Endotelial NOS (eNOS) : Aynı zamanda isoform 3 olarak isimlendirilir, ilk olarak vasküler endotelial hücrelerinde yapısal olarak tanımlanmıştır. Daha sonraları endotelial hücreleri dışında nöronlarda olmak üzere birçok hücrede bulunduğu gösterilmiştir. Endotelial NOS enzimi tarafından NO üretilebilmesi için; heme grubu ve NADPH 6(R)-5,6,7,8'in, (BH<sub>4</sub>) -flavin adenin dinükleotid ve -flavin mononükleotid ile birleşmesi gerekmektedir. BH<sub>4</sub> ile eNOS birleştiğinde enzim kararlı hale gelirken ortamda L-arjinin varlığı bu kompleksi daha kararlı bir hale getirir. Enzimin fosforile olmasını takiben sinyal yolları ile sinyal transdüksiyonu olur. G proteini aktifleşerek glikoprotein ile birleşir ve burada inozitoltrifosfat (IP<sub>3</sub>) üretilir. Üretilen IP<sub>3</sub> tarafından Ca<sup>+2</sup>'un hücre içine geçişi ve böylece hücre içindeki miktarı artar. Hücre içinde artmış Ca<sup>+2</sup> miktarı kalmodulinin aktive olmasına yol açar. Böylece protein kinaz özelliği gösteren bir protein aktifleşir (23). NOS enziminin aktivasyonu ile L-arjininden NO

sentezlenir. Oluşan NO endotel hücresinden düz kas hücresine difüze olur, burada solubl guanilil siklazı aktive ederek cGMP'yi artırır ve gevşemeye yol açar (24).

Endotelial NOS'un damar endotelyumu, iskelet kasları, kardiyak myozitler, plateletler gibi birçok hücrede varlığı gösterilmiştir. Endotelyum dışında nöronlar, epidermal keratinositler, fibroblastlar, eraktör pili kası ve apokrin gland hücrelerinde mevcuttur. eNOS vasküler tonusun düzenlenmesi, lökositlerin endotelyuma adezyonu, platelet agregasyonunun ve damar düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi, renal oksijen tüketimi ve anjiyogeneziste rol almaktadır. Kalsiyum bağımlı potasyum kanallarını direkt olarak aktive ederek vasküler düz kaslarda endotelyum bağımlı hiperpolarizasyona yol açmaktadır (24).

Nöronal NOS (nNOS) : nNOS enzimi isoform 1 olarak isimlendirilir. İlk olarak sinir dokularında yapısal olarak var olduğu gösterilmiştir. nNOS hem nöronal hem de epiteliyal hücrelerde mevcut olup non-adrenerjik non-kolinerjik sinir uçlarından salınmaktadır. NO sentezinde eNOS enziminden farklı olarak nNOS enzimi monomerler yapılarından "heme" ve demir gruplarının bağlanmasıyla gevşek bir şekilde dimer yapılar oluşturur. "Heme"nin bağlanması ile birlikte hücre içi  $Ca^{+2}$  seviyesi artmaya başlar (26).

Nöronal NOS beyindeki serebellum, olfaktor bulbus, hipotalamus, orta beyin, corpus striatum, hipokampus ve medulla oblongata gibi dokulardaki nöron popülasyonundan salınır ve nörotransmisyon için NO üretir, ayrıca nöronal plastisite ve ağrı duyusunu düzenler. nNOS esas olarak nöronlarda sentezlenirse de vücutta birçok dokuda varlığı gösterilmiştir. Çalışmalar göstermiştir ki nNOS iskelet kasında dominant NOS isoformudur ve nöromusküler sonplak bölgesinde görece daha yoğundur. İskelet kas liflerinde mitokondri, sitoplazma ve sarkolemmada mevcuttur. Özellikle iskelet kas sisteminde tip I liflerinde ve tip II liflerine göre daha yoğun bulunur. Plorik sfinkter

kasında görece daha yoğun olmakla birlikte hem gastrik hem intestinal düz kaslarda vardır. Akciğerlerde havayolu epitel hücrelerinde olmamakla birlikte kapiller endotelial hücrelerinde varlığı saptanmıştır. Burada muhtemelen kapiller permeabilitenin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Böbreklerde en fazla makula densa olmak üzere glomerüller, damar yatakları ve birçok tübül segmentlerinde bulunur. Medüller nNOS aktivitesi korteksten daha fazladır (24).

İndüklenebilir NOS (iNOS) : İsoform 2 olarak adlandırılan bu enzim vücutta yapısal olarak bulunmaz. Kalmodule çok sıkı bağlandığı için bu enzim kalsiyum bağımlı değildir. iNOS proinflamatuvar sitokinler ve bakteriyal ürünlere ait çeşitli sinyal molekülleriyle indüklenebilir (2, 24). İnflamasyona maruz kalan iNOS enziminin uyarılması genel olarak 3-4 saat sonra meydana gelir ve enzim bir defa uyarıldığında 24-48 saat boyunca NO üretilir (27). İlk olarak makrofajlarda tariflenmiştir (28). Bununla birlikte bugün nötrofiller, hepatositler, vasküler düz kas hücreleri, endotelial hücreler ve kardiyomyositler gibi diğer hücrelerde de bulunduğu gösterilmiştir (29-32). iNOS tarafından üretilen NO düzeyinin artrit, greft reddi, diabet, ateroskleroz ve septik şokta görülen doku yıkımındaki immünolojik cevaplarla ilgili olduğu gösterilmiştir (33-37).

### **3.1.1.1.Nitrik Oksit'in Fizyolojik Önemi**

NO büyük arterlerden en küçük kapiller damarlara kadar bütün endotelial dokularda bulunmakta ve sağlam damar endotelinden bazal bir hızda üretilmektedir. Vasküler endotelyumdan düşük düzeylerde salınan NO damar tonusunun ve arteriyel kan basıncının ve lokal kan akımının düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. NO, cGMP üzerinden vasküler düz kaslarda gevşemeye yol açarak vazodilatasyonu sağlamakta ve NO salınımındaki azalma kan basıncının yükselmesine neden olmaktadır

(38, 39). Damar sürtünme stresi, artmış lümen içi basınç ve kan basıncı gibi farklı mekanik faktörler damarlarda NO retimi için fizyolojik bir tetikleyicidirler (40, 41). NO sentezi için gerekli olan L-arjinin ve/veya kofaktör düzeyinde eksiklik gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak NO biyoyararlanımında azalma meydana gelebilir. NO sentezinin inhibisyonu ile oluşturulan akut ya da kronik NOS inhibisyonunda endotelial hücrelerde NO üretiminin yetersizliğine bağlı olarak hipertansiyon meydana gelmektedir. Bu nedenle NO sentezindeki veya biyoaktivitesindeki azalma hipertansiyon fizyopatolojisinde önemli rol oynamaktadır.

NO, endotelial hresi ve düz kas hre proliferasyonunu önleyerek vasküler büyümenin modülasyonunu sağlar. NO, vasküler düz kas hre migrasyonunu ve proliferasyonunu inhibe eder (42, 43). NO, vasküler tonusun düzenlenmesi yanında platelet inhibisyonu, nötrofil agregasyon ve adezyonunun inhibisyonunu sağlar (44, 45). Aynı zamanda NO endotelial yüzeyinde antitrombotik etkinliğe sahiptir, böylece damar duvarında platelet agregasyonu ve adezyonunu inhibe eder.

NOS inhibisyonu mikrovasküler geçirgenliği artıarak lökositlerin gücünü ve adezyonunu artırmaktadır. Buna göre NO lökosit adezyonunu, aktivasyonunu ve agregasyonunu azaltır (45). Damarlarda monosit ve granülositlerin adhezyonu yapısal NOS enzimlerinin stimülasyonunu takiben azalmaktadır (46). NOS inhibitörü olan L-NAME ile platelet ve lökosit adhezyonu artmaktadır (47).

Tümör hresi ve mikroorganizmalardaki demir-sülfür taşıyan enzimler makrofaj hresince sentezlenen NO tarafından nitrolize edilir, böylece NO antimikrobiyal, antitümöral, sitotoksik ve sitostatik etkiler gösterir. Bu zellik NO'e vasküler, immün ve nöronal sinyal molekülü olmasının yanı sıra antibakteriyal, antiviral etkinlik kazandırır (48).

NO, santral ve periferik sinir sisteminde nonadrenerjik nonkolinerjik sinirlerde bir nörotransmitter olarak etkinlik gösterir. Santral ve periferik sinirlerde NO katekolaminlerin salgılanmasından sorumludur (49, 50). Sempatik uyarıya beyin sapında nükleuslarının aktivitesini ve sempatik uyarıya kardiyak cevapları zayıflatır (51, 52). NO tek başına hem peroksinitrit oluşturarak hem de süperoksit ile kombine olarak transmitter salınımındaki artışı etkileyebilir (53). Özellikle santral motor nöronların aktivitesini ve vagal stimülasyona kardiyak cevabı artırır (51, 52, 54).

NO, gastrointestinal sistem, mesane sfinkter fonksiyonları ve penil ereksiyonun sağlanmasında rol oynamaktadır (55). Barsakta splanik kan akımını, bağırsak hareketlerini ve iyon transportunu düzenler (56, 57).

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 (20, 58).

### **3.1.1.2. Patofizyolojik Süreçlerde Nitrik Oksit'in Rolü**

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 görüldüğü 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, diabet 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 üretiminin düzeldiğini ve ilişkili vasküler lezyonların azaldığını bildirmişlerdir (59). Özellikle tip I diabeti olan hastalarda bazal NO salınımının yetersiz olması hastalığın belirgin özelliği olan trombotik mikroanjyopatiye katkıda bulunabilmektedir (60). Septik şokta ise aktive olan hücrelerden aşırı miktarda NO salınımı ağır hipotansiyona yol açmaktadır (37).

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 (61, 62). Dizanterili hastaların kolonik mukozasının epitelial hücre yüzeyinde iNOS ve eNOS genlerinin ekspresyonu özellikle akut dönemde belirgin olarak artmıştır (63). Ek olarak kolerada da, özellikle akut dönemde  $\text{NO}_2^-$  ve  $\text{NO}_3^-$  konsantrasyonunda da anlamlı bir artma bulunmuştur (64).

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  $\text{NO}_x$  düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte plazma ve idrar  $\text{NO}_x$  düzeylerinin intratekal NO üretiminin belirleyicisi olarak kullanılamayacağı gösterilmiştir (65).

Hirshprung hastalığı, hepatit, primer Reynauld fenomeni, portal hipertansiyon gibi durumlarda ise NO ve/veya metabolitlerinin azaldığı bildirilmektedir (66).

### **3.1.2.NOS İnhibitörleri**

L-arjinin analogları veya NOS enzimlerinin kofaktörlerinin etkilenmesi ile NOS inhibisyonu sağlanmaktadır. İlk olarak NOS inhibitörü N<sup>0</sup>-monomethyl-L-arjinin (L-NMMA) sentezlenmiştir ve bu bileşik tüm NOS isoformlarına benzer oranda selektivite gösterir (24, 67). 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 (68). L-NAME'nin L-NNA'ya hidrolizi sıvı tamponlarda yavaş, fakat kan ve dokular gibi fizyolojik sıvılarda oldukça hızlıdır. Bu nedenle hem L-NNA hem de L-NAME'nin kan basıncı üzerine potenslerinin benzer olduğu görülmektedir (24). Her iki ajanda suda çözünebilen bileşiklerdir. İçme suyuyla oral yoldan kullanılmakla birlikte intravenöz, intraperitoneal ve subkutan uygulandıklarında sistemik dolaşıma geçebilmektedirler. Bu ajanlarla farklı uygulama yolları tercih edilse akut değil fakat özellikle kronik sonuçlar açısından benzer bulgular elde edilmektedir. Hem L-NNA hem de 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-iminoetil-L-ornitin (L-NIO), N<sup>0</sup> -amino-L-arjinin (L-NAA), asimetrik N<sup>0</sup> -dimetil-L-arjinin (L-ADMA), N<sup>0</sup> -dimetil-L-arjinin (L-SDMA), 7-nitroindazol (7-NI), L-kanavanin ve aminoguanidin gibi yeni NOS inhibitörleri

sentezlenmiştir. L-NMMA, L-NNA ve L-NAME NOS enzimlerini nonspesifik bir şekilde inhibe ederken bazı inhibitörler selektivite gösterirler. L-kanavanin ve L-NİO, iNOS enzimini nNOS ve eNOS enziminden çok daha güçlü bir şekilde inhibe etmektedirler (69). 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  $Ca^{2+}$ -kalmodulin bağımlı olan nNOS ve eNOS izoenzimlerini inhibe etmektedirler (71).

Biyolojik sistemlerde NOS enziminin  $BH_4$  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 (71).

### **3.1.3.NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyon Mekanizmaları**

Fizyolojik şartlar altında endotelyumdan salınan kasıcı ve gevşetici faktörler denge halinde iken esansiyel hipertansiyonda bu denge bozulur ve kasıcı faktörlerin salınımı artarken endotelyum bağımlı gevşeme bozulur (72). Endotelyal disfonksiyon NO üretiminde bir azalma ya da NO etkisini bozan kasıcı faktörlerin endotelden aşırı salınımı ile birlikte dir. Endotelyum hasarına bağılı olarak hipertansiyonda periferik damar tonusu artmaktadır. Endotelyum bağımlı vazodilatasyon en çok NO salınımı ile ilgilidir. Vasküler endotelyumda NO sentezinin zayıflaması akıma bağılı vazodilatasyonda bir azalmaya neden olmaktadır (69, 73, 74). NO sentezi L-NAME, L-



NNA gibi çeşitli NOS inhibitörü ajanlarla inhibe edilebilir. NOS enzim sentezinin farmakolojik olarak akut ve kronik inhibisyonu sonucunda hipertansiyon olduğu birçok hayvan türleri ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Böylece çeşitli NOS inhibitörlerinin kullanılmasıyla NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon sıklıkla çalışılan bir model olmuştur. Kan basıncında meydana gelen yükselmenin en olası nedeni endotel hücrelerde NO üretiminin yetersizliği sonucu damarların yetersiz gevşemesi ve kasılmalara abartılı cevap vermesi olarak kabul edilmektedir (75). Ancak NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun mekanizmaları henüz yeterince bilinmemektedir.

#### **3.1.3.1. Akut NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyonun Mekanizmaları**

Akut NOS inhibisyonunda sistemik vasküler dirençte artma, kardiyak debide ve atım hacminde azalma meydana gelmektedir. (76, 77). Bu değişiklikler muhtemelen artmış sistemik vasküler dirence bağlı olarak art-yükte meydana gelen artma ve myokardiyal perfüzyonda bir azalmanın sonucudur. Akut NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda kan basıncı artışı doz bağımlıdır (2, 20, 76, 78). NOS inhibitörlerinin pressör dozlarında plazma renin aktivitelerinde azalma, nonpressör dozlarında ise artma olduğu gösterilmiştir (79, 80).

#### **3.1.3.2. Kronik NOS İnhibisyonu Aracılı Hipertansiyonun Mekanizmaları**

Gardiner ve ark. Brattleboro sıçanlarında 7 gün için oral L-NMMA uygulamasının kan basıncında artışa neden olduğunu ilk kez göstermişlerdir (76). Araştırmacılar sıçanlara içme suyu ile L-NAME uygulayarak uzun süreli NOS inhibisyonu elde etmişler ve devamında kan basıncı yüksekliğinin süregelen hal aldığını bildirmişlerdir (6). NOS inhibitörleri aracılı hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda L-arjinin verildiğinde gelişen hipertansiyonun düzelmesi NO'nin önemini desteklemektedir

(8). Yine eNOS geninin tahrip edildiği farelerde hipertansiyon gelişimi, kan basıncının düzenlenmesinde NO'nin rolünü göstermektedir (45). 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 üretimiyle dengelenir. Hipertansiyonda ise birinci durumda, aşırı miktarda kasıcı faktör üretimine karşı 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 (81).

#### **3.1.3.2.1. Doz Bağımlı Olarak Kan Basıncı Değişiklikleri**

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 (20). Kronik NOS inhibisyonu aracılı meydana gelen hipertansiyonun birçok nedeni bildirilmektedir. Kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona total periferik direnç artışının, artmış renal sodyum tutulumunun, sempatik sistem aktivasyonunun ve çeşitli vazoaktif maddelerin katkısı olduğu ileri sürülmektedir. Araştırmalarda denek türlerinin değişmesi, farklı NOS inhibitörlerinin farklı doz ve sürelerde kullanılması söz konusudur. Kullanılan NOS inhibitörünün türü, dozu ve uygulama süresi meydana gelen hipertansiyonun niteliğini değiştirmektedir (20) Kan basıncı artışına yol açmayan düşük doz kronik NOS inhibisyonunda, beraberinde sodyum yüklemesi yapıldığında hipertansiyon gelişir (80). Benzer şekilde kronik NOS

inhibisyonuna eşlik eden tuz yüklemesi, oluşan hipertansiyonu şiddetlendirmektedir (82). Sadece sodyum yüklemesi yapılan ratlarda hipertansiyon görülmediği halde, düşük doz NOS inhibisyonu ile böbreklerin adaptasyonu önlendiği zaman, sodyum atılımının bozulmasının olası bir sonucu olarak hipertansiyon gelişmekte, doz ve süre bağımlı olarak renal hasar oluşmaktadır. (83). Yüksek doz NOS inhibitörleri ile yapılan kronik NOS inhibisyonunda oluşan kan basıncı artışından başlıca total periferik direnç artışı sorumlu tutulmaktadır. Özellikle yüksek doz L-NAME ve L-NNA ile yapılan uzun süreli NOS inhibisyonunda dokularda hasar oluşmaktadır. Böbreklerde tübüler nekroz ve glomeruloskleroza kadar varan doku hasarı, damarlarda media tabakasında kalınlaşma ve kalpte fokal nekroz odakları oluşabilmektedir (20). Mevcut veriler ışığında düşük doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan esasen sodyum tutulumunun, yüksek doz NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyondan ise total periferik direnç artışının sorumlu olduğu bildirilmiştir (8). Hem kronik NOS inhibisyonu hem de buna bağlı olarak gelişen hipertansiyonda, vasküler yatakta ve diğer dokularda bazı adaptif değişiklikler meydana gelebilir.

#### **3.1.3.2.2.Böbreklerin Rolü**

Dolaşım sisteminin önemli bir parçası olan böbrekler kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir yer tutar. NO, renal fonksiyonların düzenlenmesinde önemli bir rol oynamakta ve böylece kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda meydana gelen kan basıncı artışının sürdürülmesine katkı sağlamaktadır. İntrarenal NO sentezinin inhibe edilmesiyle kan basıncında artma olmaktadır (84). Endotelial NOS, afferent ve efferent arteriyollerde, glomerüllerde ve tübüllerde yer alırken, nNOS özellikle makula densa ile ilişkilidir (85). Kronik NOS inhibisyonu, glomerüler kapiller hipertansiyon ve

glomerüler hasarla birlikte sistemik hipertansiyona neden olmaktadır (86). Altı hafta süreyle L-NNA ile (14mg/kg/gün) hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda renal kan akımının ve glomerüler filtrasyon hızının azaldığı gösterilmiştir (87). İki ay süreyle daha ilımlı dozda L-NAME (5mg/kg/gün) ile oluşturulan hipertansiyonda renal vazokonstriksiyon, glomerüler filtrasyon hızında hafif azalma, glomerüler kapiller basınçta artış, albuminüri, glomerüloskleroz ve interstisyel fibrozis meydana gelmektedir (88).

Kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda volüm artışının ve alınan tuz miktarının önemli olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (80). Endojen NO doğrudan tübüler etki ile sodyum geri Emilimini inhibe etmektedir. Uygulanan yüksek tuz diyetinin kronik L-NAME verilen sıçanlarda hipertansiyonu ve renal hasarı ağırlaştırdığı diyetteki tuz kısıtlamasının bu modelin gelişimini tamamen önlediği gösterilmiştir (80, 82). Aksine L-NAME indüklü hipertansiyonda tuz alımındaki değişikliklerin etkili olmadığını bildiren çalışmalarda vardır (89, 90). Sonuç olarak kronik NOS inhibisyonunun oluşturduğu hipertansiyonda sodyum ve volüm etkisi ile ilişkili sonuçlar çelişkiler göstermektedir. Araştırmalarda çelişkili sonuçların elde edilmesi özellikle araştırmalarda farklı tür ve dozlarda NOS inhibitörleri kullanılmasına ve farklı denek türlerinde çalışılmasına bağlanmaktadır. Gerçekten göreceli olarak NOS inhibitörleri subpressör ve düşük dozlarda kullanıldığında sodyum duyarlılığı ve buna bağlı sodyum tutulumu artarken, NOS inhibitörlerinin daha yüksek dozlarında sodyum duyarlılığı göreceli olarak azalmaktadır (80, 91). Uzun süreli NOS inhibisyonu yapılan deney hayvanlarında basınç-natriürezis doğrusunda hipertansif bir sağa kayma meydana gelmektedir (92). Yuasa ve ark. yaptıkları çalışmada uzun süreli NOS inhibisyonunda sodyum duyarlılığının arttığını ve birlikte, artan sempatik aktiviteninde bu duyarlılık

artışına katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (93). Hem intramedüller hem de intravenöz NOS inhibitörü uygulamalarında medüller kan akımı azalmakta ve, sodyum ve su atılımının azalması hipertansiyona yol açmaktadır (84, 94). Sodyum tutulumunda esas olarak NO'nin medüller kan akımını düzenleyici rolünün, kortikal kan akımında ise Anjiyotensin II'nin (AgII) etkin olduğu bildirilmiştir (84, 94). Bu durum volüm ve sodyum tutulumunun NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda rol oynadığını göstermekle birlikte, ne derece önem arz ettiğine yeterli açıklama getirememektedir (82, 90).

NOS inhibisyonu aracılığıyla oluşan hipertansiyon sırasında veya öncesinde, AgII reseptör antagonisti losartan uygulamasının hipertansiyonu büyük ölçüde önlemesi, renin anjiyotensin sisteminin bu hipertansiyon modelinde önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir (91). Kronik NOS inhibisyonu oluşturulan sıçanlarda AgII reseptör antagonistleri ile AgII kronik olarak inhibe edildiğinde, meydana gelmiş olan hipertansiyon, kardiyak hipertrofi, renal fonksiyonel ve yapısal hasar gerilemekte veya tamamen önlenmektedir (95). Hipertansiyonda renal dokuda vazokonstriktör AgII ve vazodilatör NO arasındaki denge durumunun ilişkisine işaret edilmiştir. Kronik L-NAME uygulanan anesteziye ratlarda renal kan akımı azalırken renal vasküler direnç artmakta ve bu artışa büyük ölçüde AgII'nin aracılık ettiği öne sürülmektedir (96). Renin-anjiyotensin sistemi, NOS inhibisyonundan sonra yükselmiş kan basıncının sürdürülmesinden sorumlu olabilir (97). Bu model hipertansiyonun başlangıç ve sürdürülmesine AgII'nin katkıda bulunduğu, artmış renin düzeyinin ise hipertansiyonla bir ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (98). Bununla birlikte L-NAME uygulanan sıçanlarda kan basıncındaki artışla paralel olarak plazma renin düzeyinde artış meydana gelmesi ve L-NAME ile birlikte kaptopril uygulaması sonucunda kan basıncındaki artışın

zayıflaması, hipertansiyon gelişiminin kısmen renindeki artışa sekonder olduğuna işaret etmektedir (99). Ayrıca kan basıncı artışı ile birlikte plazma renin seviyesi artarken, sodyum ve su dengesinde, fenilefrin, bradikinin ve asetilkoline vazopressör, vazodepressör ve vazodilatör cevaplar değişmemiştir. L-arjinin ilave edildiğinde ise hipertansiyon hızla geri dönmektedir (100). Aksine L-NAME aracılı kronik NOS inhibisyonu oluşturulan ratlarda kan basıncı artışıyla birlikte plazma renin aktivitesinin düştüğü gösterilmiştir. Buna göre NOS inhibisyonunda renal perfüzyon basıncındaki artışa bağlı olarak kompensatuvar bir şekilde renin salınımının stimülasyonu zayıflamaktadır (101). Bu hipertansiyon modelinde renin aktivitesinin arttığı, değişmediği, veya azaldığını gösteren çelişkili bulgular renin aktivitesinin NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona kısmen katkıda bulunabilse bile, reninin kan basıncını arttırıcı esas mekanizmadan sorumlu olmadığını göstermektedir (96, 98, 102).

### **3.1.3.2.3.Sempatik Sinir Sisteminin Rolü**

Literatür ışığında kronik NOS inhibisyonu sonucu meydana gelen hipertansiyonun oluşmasında NO'nin vazodilatör etkinliği ve böbrek tübüllerinden sodyum geri emilimini önleyici etkisine ilaveten sempatoadrenerjik sistem aktivitesinin katkısı olduğunu ileri süren çalışmalar vardır (9, 10, 91). Bilindiği gibi NO, vasküler endotelyum dışında beyinde sempatik akımın kontrol edildiği nükleus traktus solitarius (NTS), paraventriküler nükleus (PVN) ve ventral medullada sentezlenmektedir (103, 104). Kronik NOS inhibisyonu için kullanılan NOS inhibitörlerinin özellikle de L-NNA ve L-NAME gibi nonselektif ajanların kan-beyin bariyerini geçebildikleri bilinmektedir. Sistemik verilen bu NOS inhibitörleri kan beyin bariyerini geçerek santral sinir sisteminin stratejik alanlarında lokal NOS inhibisyonu oluşturmaktadırlar (105). Kronik NOS inhibisyonu kısmen artmış santral sempatik aktivite aracılığıyla hipertansiyon

oluşturabilir (97, 106). Yüksek doz (40mg/kg/gün 6 hafta, içme suyunda) L-NAME ile kronik NOS inhibisyonunda kan basıncı ve dolaşımdaki katekolaminler özellikle adrenalin ve noradrenalin artmaktadır. Aynı zamanda beyinde NOS aktivitesi belirgin olarak düşmektedir. Bu bulgular ve düşük tuz diyeti almalarına rağmen deney hayvanlarında kan basıncı artışı görülmesi hipertansiyona sempatik aktivasyon artışının katılımına işaret etmektedir (107). Aynı zamanda NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona sempatik aktiviteye karşı artmış vasküler  $\alpha$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının katkısı ileri sürülmektedir (12-14). İntraserebroventriküler L-NAME uygulaması ile sempatik stimülasyona vasküler cevaplar artmaktadır. Fakat aynı doz ajanın i.v. verilmesi ile kan basıncı artmamaktadır. Buna göre i.c.v. L-NAME aracılı oluşan kan basıncı artışından, artan sempatik aktiviteye bağlı olarak gelişen vasküler duyarlılık değil, santral sempatik aktivitedeki bir artış sorumludur (108). Kronik oral L-NAME alan hipertansif ratlarda, L-NAME ile birlikte ganglion blokörü pentolinium uygulandığında kan basıncı düzelmektedir. Pentoliniumun kan basıncını düşürücü etkileri beyinde NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona sempatik sistemin katılımına işaret etmektedir (109). Kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişimine renal sempatik sinir sisteminin katkısı da, artmış plazma katekolamin düzeyleri yanında, hipertansiyonun renal denervasyon ve/veya sempatektomi ile gecikmesi ve/veya zayıflaması ile gösterilmiştir (91, 110). Yuasa ve ark. uzun süreli NOS inhibisyonunda sempatik sinir sisteminin aktive olduğunu ve sodyum duyarlılığını arttırmak suretiyle doğrudan olmasa bile dolaylı olarak kan basıncı artışına katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (93). Sempatik sinir sistemi etkinliğindeki artışın NOS inhibisyonu ile oluşan hipertansiyonda, hipertansiyonun başlangıcında değil devamında yer aldığı

belirtilmektedir (111). Mevcut veriler kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona santral ve periferik sempatik sistemin katıldığını düşündürmektedir.

### **3.2.Klonidin**

Klonidin yeni sınıf santral etkili antihipertansif ajanların prototipidir, imidazolin derivatif bir sempatomimetik ajan olup nazal dekonjestan olarak sentezlenmiştir. Bir rastlantı sonucu 1962 de hipotansif etkisi keşfedilmiştir ve antihipertansif bir ajan olarak ilk defa 1966 da Almanya'da kullanılmaya başlanmıştır. Klonidin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler için selektif bir agonisttir ve seçicilik oranı  $\alpha_2/\alpha_1$  yaklaşık 200/1 dir. Klonidin oral yoldan hızlı ve tam absorbe olur. Elli-altmış dakikada maksimum plazma seviyesine ulaşır. Klonidinin eliminasyon yarı ömrü 9–12 saattir. Klonidin %50 oranında karaciğerde inaktif metabolitlerine dönüşür, % 50'si de böbreklerle değişmeden atılır (112). Panik tedavisinde verildiğinde klonidinin sedatif etkisi görülmektedir, kronik kullanımında sedatif etkisi ortadan kalkar, ilaca tolerans gelişir.  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistlerinin güçlü analjezik etkileri vardır, ancak bu etkinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda,  $\alpha_2$ -adrenerjik agonistlerin diüreti arttırdıkları gözlenmiştir. Bu diüretik etki, yapılan çalışmalarda mekanizma farklılığı göstermiştir. Antidiüretik hormonun renal tübüllere olan etkisi  $\alpha_2$ -adrenerjik agonistler tarafından bloke edilir.  $\alpha_2$ -adrenerjik agonistlerin glomerüler filtrasyon hızını arttırdığı görülmüş, fakat bu etkinin mekanizması anlaşılamamıştır. Bu etkinin renin salınımı inhibisyonu ve atriyal natriüretik peptidin salınımının kolaylaşması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (113).

#### **3.2.1.Santral Etkileri**

Klonidin santral postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aktivasyonu yoluyla efferent sempatik nöronal ateşlemeyi ve böylece sempatik aktivasyonu inhibe ederek kan



basıncını düşürür. Aynı zamanda presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aracılığıyla nöroefektör kavşaktan noradrenalin salınımını azaltır. Böylece periferal rezistansı zayıflatması da antihipertansif tesirine katkı sağlar (114). Presinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler periferal adrenerjik nöronlardan norepinefrin salınımının düzenlenmesine negatif-feed back yoluyla katılmaktadır. Klonidin parsiyel  $\alpha$ -adrenerjik agonist özelliklere sahip olup, hem presinaptik hem de postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin her ikisine de bağlanmaktadır (115). Deney hayvanlarında klonidin direk intra-arteriyel enjeksiyonu vazokonstriksiyonla sonuçlanmakta ve vasküler düz kaslarda postsinaptik  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin stimülasyonuna bağlı olarak bölgesel kan akımında bir azalmaya neden olmaktadır (115). Klonidinle kan basıncı azalması sempatik akımda bir azalma ve baroreseptör refleks duyarlılığında bir artışla karakterizedir. Bu cevaplar klonidin bir santral  $\alpha$ -adrenerjik agonist etkisine bağlanabilir ki burasının baroreseptör arkusun ilk merkezi nakil yeri olan nukleus traktus solitarius olması olasıdır (116). Alfa-adrenerjik reseptör aracılı vasküler düz kas tonusundaki artış periferal baroreseptör duyarlılığındaki bir artıştan kaynaklanmaz çünkü afferent “tampon” sinirlerin kesilmesi klonidin bu etkisini ortadan kaldırmamaktadır (117).

### **3.2.2.Periferik Etkileri**

Klonidin santral vazodepressör merkezlerde esas etkisini ortaya çıkardığı görülmekle birlikte, insan ve hayvan deneylerindeki çalışmalar periferal adrenerjik sinir sisteminde de bir azalmaya yol açtığını göstermektedir. Hipertansif hastalarda kısa ve uzun süreli klonidin uygulamalarında üriner katekolamin atılımı, plazma adrenalin ve noradrenalin konsantrasyonu azalmaktadır (118). Klonidin verilmesi ile dolaşımdaki

noradrenalin miktarı ve katekolamin metabolitlerinin idrardaki miktarının azaldığı yakın çalışmalarda teyit edilmiştir (47).

SH ratlara 4 hafta 0,1 mg/kg/gün klonidin uygulandığında kan basıncı düşmezken, aynı doz klonidin akut uygulamada kan basıncını düşürmüştür. Kronik uygulamada “*in vitro*” aortik noradrenalin kasılma ve klonidin aracılı gevşeme cevapları değişmemiştir. Klonidin kronik uygulamasında antihipertansif etkinliğin sürekliliğini sağlayacak doza ulaşılammış olabilir. Tolerans gelişmeside muhtemeldir veya kullanılan klonidin dozu, klonidin periferal vazokonstiktif etkisini sınırlayacak terapötik doz olmayıp klonidin santral antihipertansif etkisini antagonize edebilir (119). Akut i.v. L-NAME veya metilen mavisi uygulanan ratlarda i.v. klonidin uygulandığında kan basıncındaki artış anlamlı olarak azalmıştır. Klonidin antihipertansif etkisi santral sinir sistemi ve/veya periferal vasküler dolaşım seviyesinde NO-cGMP aracılı olabilir (120). Literatürden elde edilen veriler klonidin pre-ve/veya postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörler aracılı hem periferik hem de santral sempatik aktiviteyi azaltarak kan basıncını düşürdüğünü ve buna NO’in kısmen aracılık ettiğini göstermektedir.

Dört hafta klonidin alan SH ratlarda kan basıncı düşmekte fakat 2. haftada geri dönmektedir. Klonidin damarlarda yapısal bir değişikliğe yol açmamıştır. Bununla beraber mezenterik arterde noradrenalin ve KCl kasılma cevapları klonidin uygulanan ratlarda zayıflamaktadır (18). Altı hafta 10 mg pellet klonidin uygulanan SH ratlarda kan basıncı düşmüştür. Basiler arterde “*in vitro*” deneylerde KCl, serotonin,  $Ca^{++}$  kasılma cevapları ve Ach, isoproterenol, sodyum nitropurussid gevşeme cevaplarında bir değişiklik olmamıştır (121).

### 3.2.3. Antihipertansif Etkileri

Hipertansif kişilerdeki akut ve kronik klonidin uygulamalarında klonidin kan basıncını düşürücü etkisi azalmış kardiyak debiyeye bağlı bulunmakla birlikte, hastalar arasında periferel vasküler dirençteki değişiklikler tutarsız bulunmakta ve tüm hastalar göz önüne alındığında anlamlı bir değişiklik bulunmamaktadır (122, 123). Akut intravenöz klonidin enjeksiyonu sonrası kalp hızı değişmemekle birlikte atım hacmi anlamlı olarak azalmaktadır. Fakat 11-12 ay süreyle klonidin tedavisi almış hipertansif hastalarda atım hacmi değişmezken kalp hızında azalmayla bağlantılı kardiyak debide azalma ve kan basıncında düşme olmaktadır. Burada klonidin kardiyak debiyi azaltıcı etkisi direkt miyokardiyal bir etkisinden ziyade sempatik sinir sistemi üzerine olan etkisine bağlanabilir (123). Esansiyel hipertansiyonlu 30 hastada 2 hafta klonidin terapisi sonucu kan basıncı azalmakta, plazma adrenalin, noradrenalin konsantrasyonu düşmekte ve kalp hızı azalmaktadır. Baroreseptör duyarlılık (BRS) ve fenilefrine duyarlılık ise artmaktadır. Fenilefrine duyarlılık artışı azalmış plazma noradrenalin düzeyini izleyen  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerdeki bir upregülasyonun yansıması olabilir (124). Klonidin kesilmesinden 72 saat sonra rebound hipertansiyon, beraberinde serebrospinal sıvıda ve plazmada adrenalin, noradrenalin seviyelerinde artma gözlenmiştir. Buna göre klonidin sempatik aktiviteyi inhibe ederek kan basıncını düşürmektedir (17).

Adrenal medullektomi ve bilateral vagetektomi yapılmış ratlarda klonidin doz bağımlı olarak sempatik stimülasyon indüklü plazma noradrenalin cevaplarını inhibe eder. Klonidin presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aracılı noradrenalin salınımını inhibe ederek sempatik stimülasyonu azaltıyor olabilir (125). Yakın bir çalışmada klonidin parasempatik aktivasyonla kan basıncını düşürdüğü de bildirilmiştir. Atropinle klonidin parasempatik aktivitesi inhibe edilmiştir (126). Klonidin hem i.c.v. hem de

i.v. uygulandığında NO salımını arttırarak kan basıncını düşürmektedir (120, 127). Bu durum akut NOS inhibisyonu ile önlenmektedir. Aksine klonidin ve benzeri ajanların santral NO aracılı antihipertansif tesir göstermedikleri bildirilmiştir (128).

İntravenöz klonidin uygulanan deney hayvanlarında renin sekresyonu azalmaktadır, fakat intrasisternal uygulama sonucu kan basıncı düşmesine rağmen renin sekresyonu değişmemektedir (129). Bunun temel nedeni klonidinin renin sekresyonunu inhibe edici etkisinin renal sempatik sinir aktivitesinin santral inhibisyonundan ziyade böbrekteki  $\alpha$ -adrenerjik reseptör aktivasyonu aracılı olması şeklinde yorumlanmaktadır (114). İzole perfüze sıçan böbreğinde yapılan çalışmada düşük doz klonidin uygulamasında perfüzyon basıncında artma olmaksızın renin salımını azalmaktadır; yüksek doz uygulamada ise hem renal vazokonstriksiyon hemde renin salımında anlamlı azalma meydana gelmektedir (130). Bu bulgular klonidinin düşük dozlarda sempatik sinir aktivitesi inhibisyonu aracılığıyla, yüksek dozlarda ise postsinaptik alfa-adrenerjik reseptörler aracılı direk agonistik etkiyle renin sekresyonuna etki ettiğini göstermektedir. Başlangıç plazma renin aktivitesi yüksek olan hastalarda 1 ay klonidin uygulaması ile plazma renin aktivitesi düşmekte, fakat 3 ay sonra plazma renin seviyesi başlangıç seviyelerine dönmektedir (131). Bu araştırmalar klonidinin antihipertansif etkisinin klonidin indüklü plazma renin aktivitesinde bir azalma veya tedavi öncesi plazma renin aktivitesi ile bir korelasyonu olmadığını göstermektedir (114).

Diüretik ilaçlar hariç tüm sınıf antihipertansif ajanlar yaygın olarak değişen derecelerde su ve tuz tutulumunu indüklerler. Klonidin kullanan hastalarda muhtemelen aldosteron sentezindeki bir azalmadan dolayı sodyum tutulumu diğer birçok ajana göre daha azdır (118). Direk vazodilatör ajanlara kompensatör cevap olarak gelişen artmış

plazma renin aktivitesi ve artmış kardiyak debi karakteristiktir, fakat klonidin alan hastalarda bu gözlenmez (132).

Klonidin kesilmesi sonrası hastalarda gelişen rebound hipertansiyon insidansı ve rebound hipertansiyona yol açan sınır doz bilinmemekle birlikte, genelde ilacın kesilmesini takiben 24-36 saat içinde kan basıncında belirgin yükselme görülmektedir. Bunun yanında bazı vakalarda taşikardi, taşiaritmi, insomnia, ajitasyon, baş ağrısı gibi şikayetler görülür (133, 134). Klonidin terapisinin kesilmesini takiben plazma noradrenalin konsantrasyonu ve üriner katekolamin atılımı belirgin olarak artmış bulunmuştur (134). Bu durum klonidin sonrası gelişen rebound hipertansiyonun patogenezinde dolaşımdaki artmış noradrenalin konsantrasyonunun veya noradrenalinin artmış nöronal salınımının rolü olduğuna işaret etmektedir. Muhtemelen klonidin uygulaması periferik sempatik sinirlerde noradrenalinin nöronal salınımını inhibe ederken, klonidin aracılı inhibisyon zayıflamaya başladığı zaman sinaptosomal noradrenalin salınımında bir artış meydana gelmektedir. Bununla beraber rebound kan basıncı artışından sorumlu mekanizmalar henüz yeterince açıklığa kavuşmamıştır.

## 4.GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1.Denekler

Deneylerde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinden (FÜTDAM) sağlanan yaklaşık 300 g ağırlığında 62 adet erkek Wistar türü sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar dörtlü gruplar halinde özel kafeslere alınarak, standart şartlara sahip FÜTDAM laboratuvarında (12 saat günışığı, 12 saat karanlık, havalandırmalı, sabit ısıli odalarda) bakıma alındılar. Yaklaşık 4 hafta sonra deneysel çalışmalara başlandı. Sıçanların beslenmesinde 8 mm'lik standart sıçan pellet yemi kullanıldı. Hayvanlar için içme suyu olarak musluk suyu verildi. Hayvanların istedikleri kadar yem ve su içmelerine izin verildi. Deneklerin ağırlık artışları deney başlangıcında ve bitiminde elektronik tartı (Chyo MP-300 electronic balance) ile gram olarak ölçüldü. Bu çalışmanın tüm prosedürleri ve çalışma protokolü Fırat üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul yönetmeliğinin onayına uygun olarak yapıldı.

### 4.2.Deneysel Protokol

Deneylerde 62 adet erkek Wistar albino sıçan, 7 grupta 8 denek ve bir grupta 6 denek olacak şekilde toplam 8 grup oluşturuldu;

Grup Kontrol (n=8) = Sıçanlara deney süresince herhangi bir işlem yapılmadı. Bu grup kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Grup dLNNA (n=8) = Sıçanlara 10 gün süreyle içme suyunda 15mg/100ml L-NNA uygulandı.

Grup yLNNA (n=8) = Sıçanlara 10 gün süreyle içme suyunda 45mg/100ml L-NNA uygulandı.

Grup dLNNA+KLO (n=8) = Sıçanlara 10 gün süreyle içme suyunda 15mg/100ml L-NNA + 150µg/100ml klonidin birlikte uygulandı.

Grup yLNNA+KLO (n=8) = Sıçanlara 10 gün süreyle içme suyunda 45mg/100ml L-NNA + 150µg/100ml klonidin birlikte uygulandı.

Grup yLNNA+yKLO (n=8) = Sıçanlara 10 gün süreyle içme suyunda 45mg/100ml L-NNA + 225µg/100ml klonidin birlikte uygulandı.

Grup KLO (n=8) = Sıçanlara 10 gün süreyle içme suyunda 150µg/100ml klonidin uygulandı.

Grup yKLO (n=6) = Sıçanlara 10 gün süreyle içme suyunda 225µg/100ml klonidin uygulandı.

#### **4.3.İlaç uygulamaları**

NOS inhibisyonu ile hipertansiyon oluşturmak için; 10 gün boyunca her gün yLNNA grubu ve dLNNA grubunun içme sularına sırasıyla L-NNA (Sigma Deishofen Almanya) 45mg/100ml ve 15mg/100ml olacak şekilde musluk suyunda çözülerek verildi. Klonidin (Clonidine hydrochloride, Sigma) içme suyunda çözülerek 150µg/100ml olacak şekilde KLO grubuna, 225 µg/100ml olacak şekilde yKLO grubuna 10 gün boyunca uygulandı. yLNNA+KLO grubuna 10 gün boyunca hergün L-NNA 45mg/100ml ve klonidin 150µg/100ml olacak şekilde, yLNNA+yKLO grubuna 10 gün boyunca hergün L-NNA 45mg/100ml ve klonidin 225µg/100ml olacak şekilde aynı içme suyunda çözülerek verildi. dLNNA+KLO grubuna 10 gün boyunca hergün L-NNA 15mg/100ml ve klonidin 150µg/100ml olacak şekilde aynı içme suyunda çözülerek uygulandı. Kontrol grubuna ilaçsız normal musluk suyu verildi. Uygulanan konsantrasyona göre aldıkları günlük L-NNA miktarları dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarında sırasıyla (mg/kg/gün)

15,1±0,1; 46,3±0,6; 15,1±0,1; 46,1±0,6 ve 46,3±0,9 oldu. Klonidin miktarları ise dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve KLO; yKLO gruplarında sırasıyla ( $\mu\text{g/kg/gün}$ ), 151,3±1,5; 151,6±2,2; 231,7±4,5 ve 148,5±1,7; 231,2±4,1 olarak hesaplandı (Tablo 2).

Günlük olarak her gün grupların tükettikleri içme suyu miktarları ölçüldü. Kontrol grubunun ilaçsız, KLO, yKLO dLNNA, yLNNA, dLNNA+KLO, yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının ilaçlı içme suları her gün yenilenecek tazelandı.

#### **4.4.Kan Basıncı ve Kalp Hızı Ölçümü Ölçümleri**

Bilinci açık sıçanların sistolik ve diyastolik kan basıncı ile kalp hızı ölçümleri kuyruktan indirekt tail-cuff metodu ile yapıldı (MAY BPHR 9610-PC TAİL CUFF İndirect Blood Pressure Recorder, Commat Ltd. Ankara- Türkiye). Deneklerin kan basıncı ölçümleri ilaç uygulamasına başlamadan önce (0. gün) ve ilaç uygulamasına başladıktan sonra 5. ve 10. günlerde yapıldı. Kan basıncı ve kalp hızı ölçümleri için denekler önce tek kişilik muhafaza edici kutulara yerleştirildi. Muhafaza kutusuna alınan deneklerin kuyruğuna cihazın kaf ve sensörü yerleştirildi ve kuyrukları 37-38 °C de 10-15 dakika ölçüm için düzenli sinyal sesi ve nabız atımı alana kadar MAY TWC 02 Tail Warming Controller (Commat Ltd. Ankara- Türkiye) ile ısıtıldı. Ölçümler sessiz ve sakin labaratuvar ortamında yapıldı. Ölçüm yapabilmek için deneğin rahat sakin ve hareketsiz olması gerektiğinden dolayı ölçüm boyunca denekler sürekli gözlemlendi. Gözlem süresince sinyal sesinin düzenli ve deneğin sakin olduğu anlarda ölçüm alınarak bilgisayara kaydedildi. Her bir denek için 6 adet düzgün kan basıncı ve kalp hızı ölçüm değerleri bilgisayara kaydedildi. Daha sonra her bir denek için, deneğin 6 ölçüm değerinden en büyük ve en küçük değerler çıkarılarak geriye kalan 4 değer



ortalamaları alındı. Deney boyunca kan basıncı ve kalp hızı kayıt ve ölçüm işlemleri tek ve aynı çalışmacı tarafından yürütüldü.

#### **4.5.Cerrahi Uygulamalar**

Deney sonunda *in vitro* şartlarda çalışmalar için denekler 1,2 gr/kg i.p. üretan anestezisi ile uyutuldu. Hayvanlar tam olarak anesteziyeye girdikten sonra sırt üstü yatırılarak hızlı bir şekilde abdomen ve toraks orta hattan açıldı. Plazma NOx ölçümü için kalpten yaklaşık 2 ml kan örneği EDTA'lı tüplere alındı. Torasik aorta diafragmanın üzerinden başlayarak arkus aortaya kadar diseke edilerek hızlı bir şekilde çıkarıldı.

#### **4.6. "in vitro" Deneyler**

Torasik aorta çıkarıldıktan sonra soğuk Krebs-Ringer bikarbonat solusyonu içine alınarak çevre bağ ve destek dokularından dikkatlice temizlendi. Torasik aorta temizlendikten sonra abdominal aortaya yakın uçtan 4 mm boyunda halka halinde kesildi. Torasik aortadan elde edilen 4 mm boyundaki halkalar, lümeninden birbirine paralel iki paslanmaz çengel geçirilerek içerisinde 37°C de ısıtılmış ve %95 O<sub>2</sub> + %5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan Krebs-Ringer bikarbonat solüsyonu bulunan 20 ml'lik izole organ banyosuna asıldı. Alt çengel izole organ banyosunun tutma kısmına tutturuldu, üst çengel ise izometrik kasılma cevaplarını kaydetmek için force-displacement transducerlerine ( FT 0.03) bağlandı. Kayıtlar Grass marka ( Model 79 ) poligraf ile yapıldı. Krebs-Ringer bikarbonat solusyonu pH 7,4 olacak şekilde (mmol/L) 118 NaCl, 4.7 KCl, 1.2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub> , 10.1 Dekstroz , 2.5 CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 1.2 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O içermektedir. İzole organ banyosuna asılan torasik aorta halkaları 2 gramlık optimal istirahat gerimi altında 1 saat boyunca dengelendi. İzole organ

banyosunda metabolik son ürünlerin birikimini önlemek için banyodaki Krebs-Ringer bikarbonat solüsyonu yaklaşık 15 dakika arayla tazelandı.

Sıçan torasik aorta halkaları dengelendikten sonra, tek doz fenilefrinle ( $10^{-6}$ M) ön kasılma uygulanmış preparatlar asetilkolinle ( $10^{-6}$ M) test edilerek endotelyumun sağlamlığı teyit edildi. Test işlemini takiben yıkama yapıp preparat dengelendikten sonra klonidin (Sigma, Deishofen, Almanya) artan konsantrasyonlarda banyoya uygulanarak konsantrasyon cevap eğrileri elde edildi. Yıkama yapıldı ve preparatlar dengelendikten sonra fenilefrin (Sigma Deishofen Almanya) artan konsantrasyonlarda banyoya uygulanarak konsantrasyon cevap eğrileri elde edildi. Sonraki aşamalarda ayrı ayrı  $10^{-5}$  M konsantrasyonda L-NNA ve indometasin (İNDO) içeren Krebs-Ringer bikarbonat solüsyonu hazırlanarak aynı işlemler tekrarlandı.

#### **4.7. Plazma Nitrit/Nitrat (NO<sub>x</sub>) Ölçümü**

##### **4.7.1. Çözeltilerin hazırlanması**

0,1 M sülfirik asit çözeltisi :2.8 ml derişik sülfirik asit alınıp 500 ml ye seyreltildi.

5 mmol/L bakır sülfat çözeltisi: 1,234 gr bakır sülfat alınıp distile suda çözüldü. Sonra 1L ye tamamlandı.

N-naftiletillen diamin çözeltisi: 50mg N-naftiletillen diamin alınıp bir miktar distile suda çözüldü. Son hacim 250 ml ye tamamlandı.

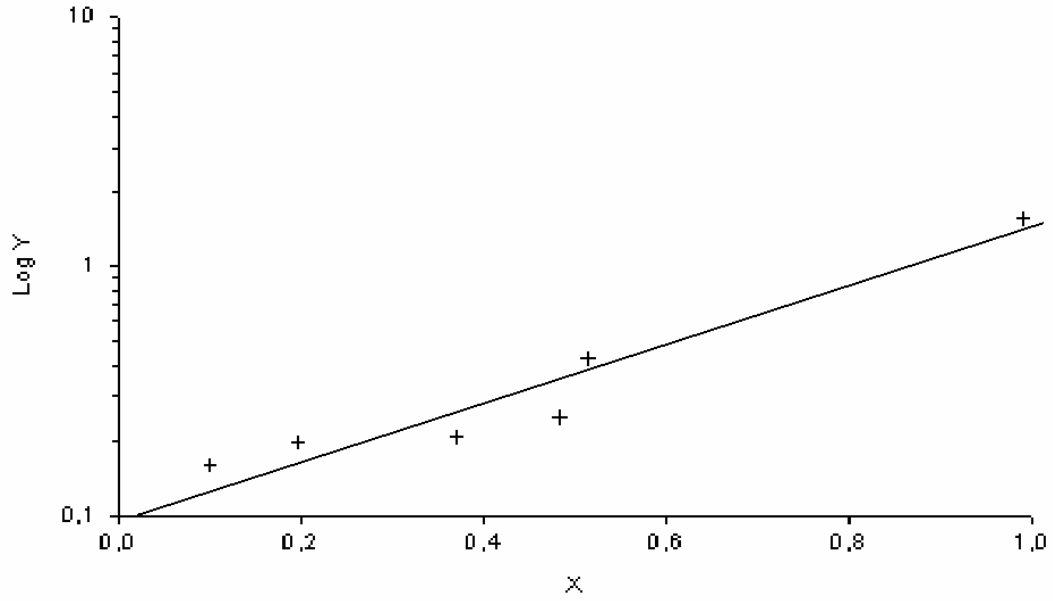
Sülfanilamid çözeltisi: 5 gr sülfanil amid 500ml 3M HCl de çözüldü.

Glisin-NaOH tamponu: 1,5 gr glisin hidroklorür bir miktar suda çözüldü. Sonra üzerine 2M NaOH çözeltisi ilave edilerek pH 9,7 ye ayarlandı. Sonra çözelti 1L ye seyreltildi.

Çinko sülfat çözeltisi: 2,156 gr çinko sülfat alınarak bir miktar distile suda çözüldü. Sonra hacim 100ml ye tamamlandı.

Standart: Standart hazırlamak için  $\text{NaNO}_2$  ın 0,1 mol/L konsantrasyonunda stok solüsyonu hazırlandı.

Kör çözelti: 2,5 ml distile su alındı. Üzerine 1 ml sülfanil amid çözeltisi 1 ml naftiletilendiamin hidroklorür çözeltisi ilave edildi.



R=0,9219

Şekil 1. Spektrofotometre için kalibrasyon eğrisi (Y:Absorbans, X:  $\text{NaNO}_2$  μmol/L)

#### 4.7.2. Ölçümün Yapılışı

Plazma  $\text{NO}_x$  ölçümü için alınan kan örnekleri 5000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar numaralandırılmış Eppendorf tüplerine konuldu ve ölçümler yapılana kadar ( $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ) de saklandı. Plazmalardan  $\text{NO}_x$  ölçümü yapmak için plazmalar oda sıcaklığında eritilerek herbirinden 250μl alındı ve deproteinizasyon için 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 çözeltiden 2ml numune alınarak üzerine 1ml sülfanilamid, 1ml naftiletilediamin çözeltisi ve 0.5ml distile su ilave edildi. Yaklaşık 20-60 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 545 nm dalgaboyunda ölçüm yapıldı. Her bir numunenin konsantrasyon değeri, elde edilen absorbans değerlerinin kalibrasyon eğrisine yerleştirilmesiyle hesaplandı (Şekil 1) (135).

#### **4.8.Kullanılan kimyasallar**

Fenilefrin, Asetilkolin, Klonidin, İndometazin, L-NNA, N-(-1naphthyl)-etilendiamin dihidroklorid, glisin hidroklorid, üretan (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); çinko sülfat heptahidrat Carlo Erba (Milano, İtalya)'dan satın alındı.

#### **4.9.İstatistik**

Elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak belirtildi. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılık düzeylerini belirlemek için “Origin 5.0” paket istatistik programları kullanıldı. İstatistiksel farklar ANOVA ve Student t-testleri ile hesaplandı. Elde edilen sonuçların yorumlanmasında  $p<0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 5.BULGULAR

### 5.1. Sıçanların Gelişmesi

#### 5.1.1. Sıçanların İçtikleri Su ve Aldıkları İlaç Miktarları

Yaklaşık 11-12 haftalıkken temin edilen ve 4 haftalık bir alışma döneminden sonra 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü alan sıçanların günlük içtikleri su miktarları her gün ölçüldü.

##### 5.1.1.1. “*in vivo*” L-NNA Uygulamasının Etkileri

İçilen su miktarları Kontrol; dLNNA; yLNNA gruplarında ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak sırasıyla (ml)  $30,5 \pm 0,3$ ;  $30,0 \pm 0,3$ ;  $30,6 \pm 0,4$  şeklinde idi ve gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ), (Tablo1).

Uygulanan konsantrasyona göre kg başına aldıkları günlük L-NNA miktarları dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO ; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO gruplarında sırasıyla ortalama  $\pm$  SH olarak (mg/kg/gün)  $15,1 \pm 0,1$ ;  $46,1 \pm 0,6$ ;  $15,1 \pm 0,1$ ;  $46,3 \pm 0,6$ ;  $46,3 \pm 0,9$  olarak hesaplandı (Tablo2).

##### 5.1.1.2. “*in vivo*” Klonidin Uygulamasının Etkileri

İçilen su miktarları Kontrol; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarında ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak sırasıyla (ml)  $30,5 \pm 0,3$ ;  $30,0 \pm 0,3$ ;  $30,3 \pm 0,3$ ;  $30,6 \pm 0,5$ ;  $30,1 \pm 0,3$ ;  $30,2 \pm 0,5$  şeklinde idi ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ), (Tablo1).

Uygulanan konsantrasyona göre kg başına aldıkları günlük klonidin miktarları dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarında sırasıyla ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$ )  $151,3 \pm 1,5$ ;  $151,6 \pm 2,2$ ;  $231,7 \pm 4,5$   $148,5 \pm 1,7$ ;  $231,2 \pm 4,1$  olarak hesaplandı (Tablo2).

**Tablo 1.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarında ratların 10 günlük deney boyunca içtikleri su miktarları (ml/gün). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).

<b>Gruplar</b>	<b>Su (ml/gün)</b>
Kontrol (n:8)	30,5±0,3
dLNNA (n:8)	30,0±0,3
yLNNA (n:8)	30,3±0,3
dLNNA+KLO (n:8)	29,9±0,3
yLNNA+KLO (n:8)	30,6±0,4
yLNNA+yKLO (n:8)	30,6±0,5
KLO (n:8)	30,1±0,3
yKLO (n:6)	30,2±0,5

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

**Tablo 2.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının 10 günlük deney boyunca aldıkları L-NNA ve Klonidin miktarları (sırayla mg/kg/gün ve µg/kg/gün). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p>0,05).

<b>Grup</b>	<b>L-NNA (mg/kg/gün)</b>	<b>Klonidin (µg/kg/gün)</b>
Kontrol (n:8)	-	-
dLNNA (n:8)	15,1±0,1	-
yLNNA (n:8)	46,1±0,6	-
dLNNA+KLO (n:8)	15,1±0,1	151,3±1,5
yLNNA+KLO (n:8)	46,3±0,6	151,6±2,2
yLNNA+yKLO (n:8)	46,3±0,9	231,7±4,5
KLO (n:8)	-	148,5±1,7
yKLO (n:6)	-	231,2±4,1

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

## 5.1.2. Ağırlık Artışı Oranları

L-NNA ve/veya Klonidin uygulanan sıçanların ağırlıklarının (gram) ortalamaları  $\pm$  SH hesaplandı.

### 5.1.2.1. “*in vivo*” L-NNA Uygulamasının Sıçanların Ağırlık Artışı Üzerine

#### Etkileri

Sıçanların ağırlıkları deney başında Kontrol; dLNNA; yLNNA, gruplarında sırasıyla (gram) 296,1 $\pm$ 2,6; 296,1 $\pm$ 2,3; 297,6 $\pm$ 3,5 ve deney sonunda sırasıyla (gram) 297,3 $\pm$ 2,5; 297,6 $\pm$ 1,7; 294,6 $\pm$ 5,9 olarak ölçüldü. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ), (Tablo3).

### 5.1.2.2. “*in vivo*” Klonidin Uygulamasının Sıçanların Ağırlık Artışı Üzerine

#### Etkileri

Sıçanların ağırlıkları deney başında Kontrol; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarında sırasıyla 296,1 $\pm$ 2,6; 295,5 $\pm$ 2,5; 296,7 $\pm$ 5,8; 293,2 $\pm$ 2,8; 301,1 $\pm$ 7,4; 296,3 $\pm$ 1,6 ve deney sonunda sırasıyla 297,3 $\pm$ 2,5; 297,1 $\pm$ 1,7; 298,0 $\pm$ 4,1; 294,6 $\pm$ 2,1; 305,0 $\pm$ 5,8; 298 $\pm$ 1,1 olarak ölçüldü. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ), (Tablo 3).

## 5.2. Hemodinamik Değişiklikler

### 5.2.1. Sistolik Kan Basıncı (SKB) Değerleri

Yaklaşık 11-12 haftalık olarak temin edilen Wistar türü erkek sıçanların 4 haftalık alışma döneminden sonra sistolik kan basınçları (SKB) ve diyastolik kan basınçları (DKB) deneylere başlamadan önce (0.gün), 5.gün ve deney sonunda (10.gün) gereç ve yöntem kısmında belirtilen şekilde ölçüldü (Tablo 4, Şekil 1).



**Tablo 3.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının 10 günlük deney boyunca aldıkları kilo artışları (g). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).

<b>Gruplar</b>	<b>0.Gün (g)</b>	<b>10.Gün (g)</b>
Kontrol (n:8)	296,1±2,6	297,3±2,5
dLNNA (n:8)	296,1±2,3	297,6±1,7
yLNNA (n:8)	297,6±3,5	294,6±5,9
dLNNA+KLO (n:8)	295,5±2,5	297,1±1,7
yLNNA+KLO (n:8)	296,7±5,8	298,0±4,1
yLNNA+yKLO (n:8)	293,2±2,8	294,6±2,1
KLO (n:8)	301,1±7,4	305,0±5,8
yKLO (n:6)	296,3±1,6	298±1,1

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

**Tablo 4.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH.

Gruplar/ günler	0. gün	5.gün	10.gün
Kontrol (n:8)	132,5±0,9	133,5±1,1	132,1±0,9
dLNNA (n:8)	128,8±1,6	142,9±0,9*	147,2±2,7*#
yLNNA (n:8)	133,0±1,3	165,9 ± 3,1*#§	177,1±2,7*#§
dLNNA+KLO (n:8)	130,1±0,9	131±2,1	127,6±2
yLNNA+KLO (n:8)	128,1 ± 2,2	140,9 ± 2,5*#	144,8± 3,7*#
yLNNA+yKLO (n:8)	132,3±1	133,2±1,3	135,2±5,2
KLO (n:8)	130,3±1,7	131,2±0,9	133,1±0,5
yKLO (n:6)	135,2±1,7	127,6±2,8	132,4±0,9

\* Aynı grubun 0. gününe göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

# Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

§ dLNNA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.

dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.

yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.

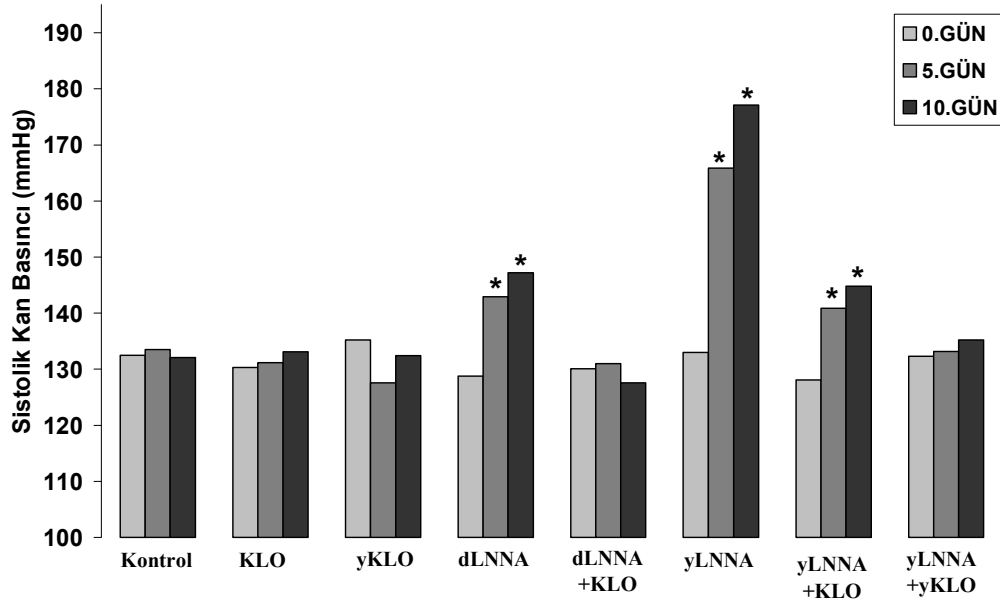
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.



**Şekil 2.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; LNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının SKB (mm/Hg).

\* Aynı grubun 0. gününe ve Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklıdır (p<0,05)

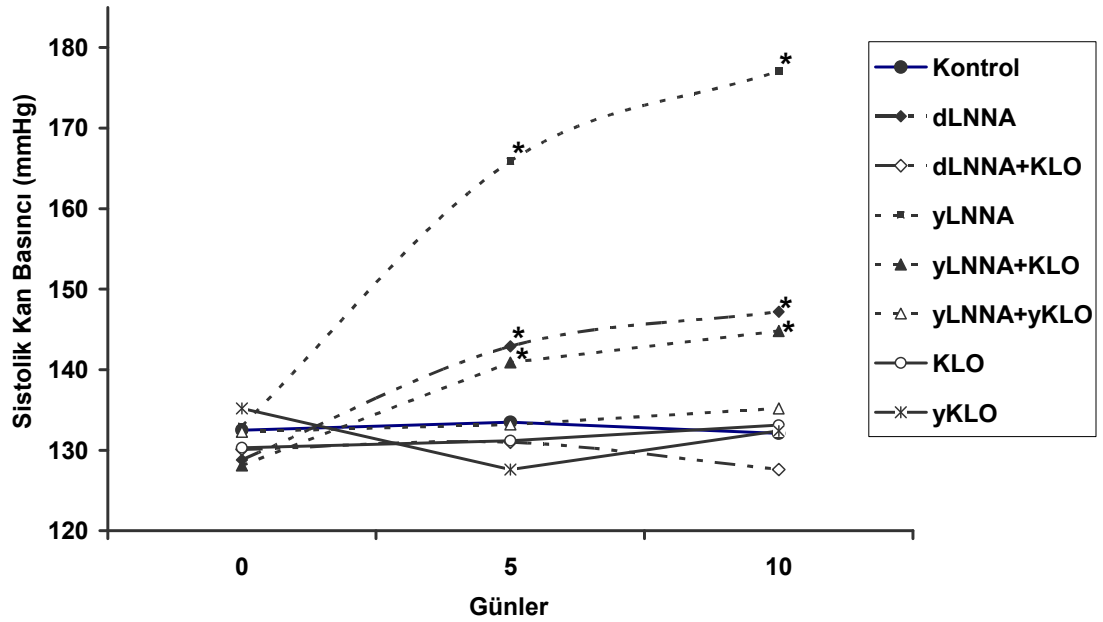
- Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

### 5.2.1.1. “*in vivo*” L-NNA uygulamalarının etkileri

Kontrol grubu sıçanlarda 0; 5 ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 132,5±0,9; 133,5±1,1 ve 132,1±0,9 olarak ölçüldü. Bu grubun SKB değerleri deney süresince anlamlı bir farklılık göstermedi (p>0,05), (Tablo 4, Şekil 2).

Non-selektif NOS inhibitörü L-NNA alan sıçanlarda sistolik kan basıncı 5. ve 10. günlerde başlangıca göre progresif olarak arttı (Şekil 3).

Düşük doz (~15mg/kg/gün) L-NNA alan dLNNA grubunda 0; 5 ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) sırasıyla 128,8±1,6; 142,9±0,9 ve 147,2±2,7 olarak ölçüldü. Hem 5.gün hemde 10.günde SKB 0.güne ve Kontrol grubunun 5 ve 10. günlerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,001), (Tablo 4, Şekil 3,4). Kan basıncı 5. günde anlamlı olarak yükselirken bu yükselme 10.günde 5.güne göre anlamlı değildi.

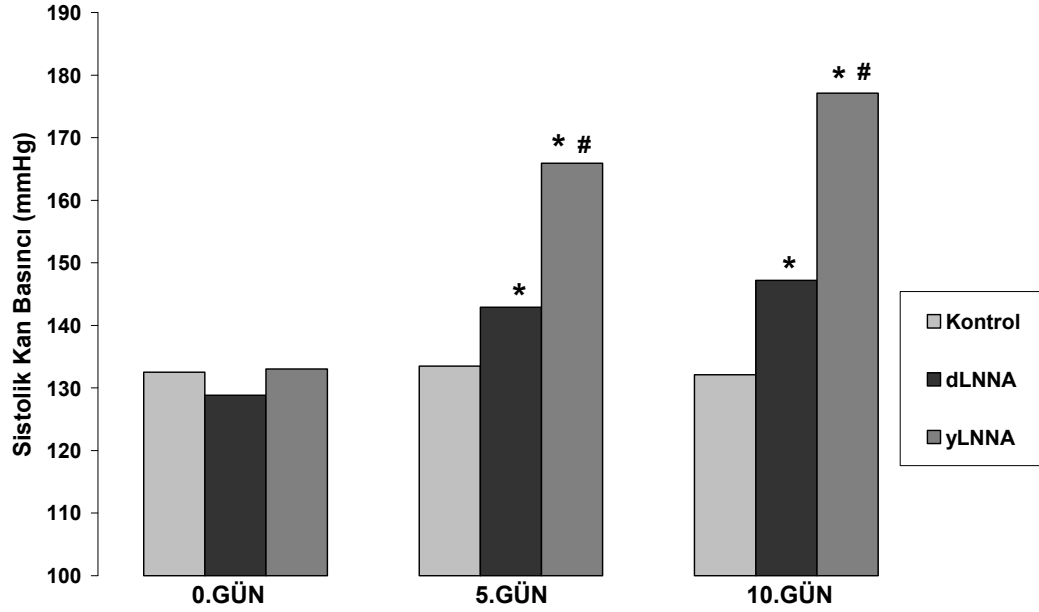


**Şekil 3.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının SKB (mm/Hg) .

\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05) .

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

Yüksek doz L-NNA alan (~45 mg/kg/gün) yLNNA grubu sıçanlarda 0; 5 ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 133,0±1,3; 165,9±3,1 ve 177,1±2,7 olarak ölçüldü. yLNNA grubunun 5 ve 10. günlerdeki SKB değerleri, 0. gün SKB değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,001). Meydana gelen kan basıncı 10. günde 5.güne göre anlamlı olarak yükseldi ve en yüksek düzeye ulaştı. Yine Kontrol grubunun 5 ve 10. günlerine göre bu değerler anlamlı olarak yüksekti (p<0,001), (Tablo 4, Şekil 3,4).



\*\*

**Şekil 4.** Kontrol, dLNNA ve yLNNA gruplarının 0, 5 ve 10. gün SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH.

\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir (p<0,05).

# dLNNA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir (p<0,05).

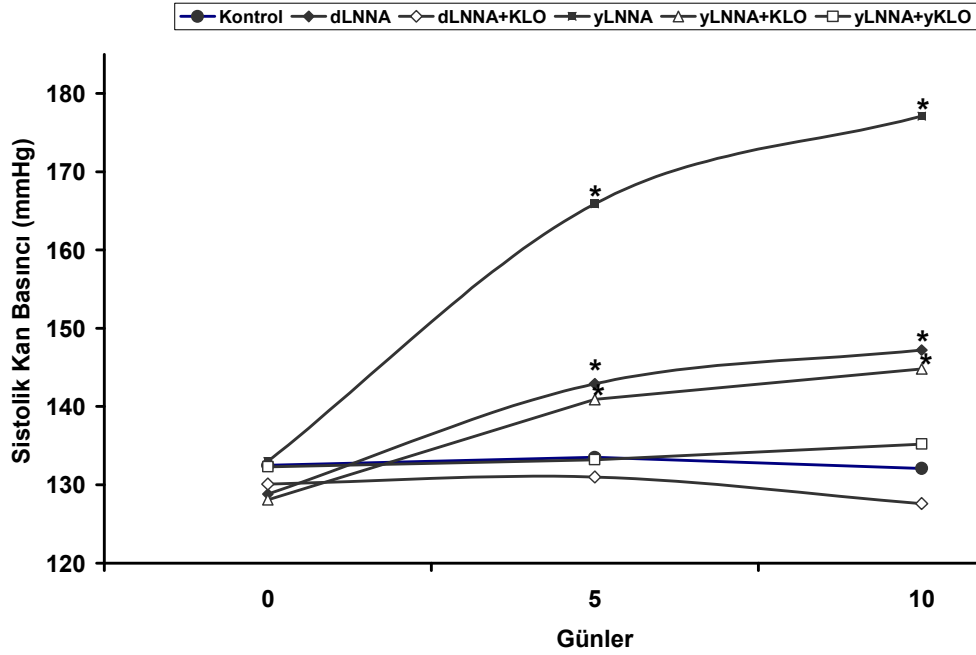
Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.

dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.

yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.

yLNNA ve dLNNA gruplarında 5. ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH karşılaştırıldığında sırasıyla 165,9±3,1, 142,9±0,9 ve 177,1±2,7, 147,2±2,7 olarak bulundu. Yüksek doz L-NNA alan yLNNA grubunda dLNNA grubuna göre SKB hem 5. hemde 10. günde anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0,001$ ), (Tablo 4, Şekil 3,4).

### 5.2.1.2. “*in vivo*” Klonidin uygulamalarının etkileri



Şekil 5. Düşük ve yüksek doz L-NNA ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda düşük ve yüksek doz klonidin uygulaması ile meydana gelen kan basıncı değişiklikleri (mmHg).

\*Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ( $p<0,05$ ).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

Yaklaşık 150 µg/kg/gün klonidin alan KLO grubu sıçanlarda 0; 5 ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 130,3±1,7; 131,2±0,9 ve 133,1±0,5 olarak ölçüldü. Tek başına Klonidin uygulaması sıçanların sistolik kan basınçlarında herhangi bir değişikliğe yol açmadı ( $p>0,05$ ), (Tablo 4, Şekil 5).

Yüksek doz klonidin alan (~230 µg/kg/gün) yKLO grubu sıçanlarda 0; 5 ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 135,2±1,7; 127,6±2,8 ve 132,4±0,9 olarak ölçüldü. Tek başına yüksek doz klonidin uygulaması sıçanların sistolik kan basınçlarında herhangi bir değişikliğe yol açmadı ( $p>0,05$ ), (Tablo 4, Şekil 5).

dLNNA+KLO grubunda 0; 5 ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 130,1±0,9; 131±2,1 ve 127,6±2 olarak bulundu. Bu grupta düşük doz L-NNA ile birlikte klonidin uygulaması SKB artışını tamamen önledi ( $p<0,001$ ), (Tablo 4, Şekil 5).

yLNNA+KLO grubunda 0; 5 ve 10. günlerde SKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 128,1 ± 2,2; 140,9 ± 2,5 ve 144,8± 3,7 olarak ölçüldü. Bu grupta yüksek doz L-NNA uygulamasına eşlik eden klonidin uygulaması kan basıncında anlamlı bir azalmaya neden oldu ( $p<0,001$ ). Fakat klonidin meydana gelen kan basıncı artışını tam önlemeyip, bu grupta kan basıncı 0.gün ve Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0,001$ ), (Tablo 4, Şekil 5).

yLNNA+yKLO grubunda ise yüksek doz klonidin uygulaması kan basıncı artışını tamamen önledi: 0; 5 ve 10.gün SKB (mmHg) sırasıyla 132,3±1; 133,2±1,3 ve 135,2±5,2 ( $p<0,001$ ), (Tablo 4, Şekil 5).

### 5.2.2.Diyastolik Kan Basıncı (DKB) değerleri

İndirekt kan basıncı ölçümü yönteminde diastolik kan basıncı değerleri sistolik kan basıncı değerlerine göre göreceli olarak daha az güvenilirdir. Bununla birlikte çalışmamızda elde edilen DKB bulguları SKB ile paralellik göstermektedir.

**Tablo 5.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH.

Gruplar/Günler	0. gün	5.gün	10.gün
Kontrol (n:8)	82,7±0,4	82,4±0,5	82,2±0,5
dLNNA (n:8)	80,7±0,8	85,3±0,4*	87,5±0,9*#
yLNNA (n:8)	83,9±0,6	103,2±2,3*#	111,1±1,6*#
dLNNA+KLO (n:8)	81,7±0,6	83,3±1,1	80,9±0,7
yLNNA+KLO (n:8)	81,4±1,4	88,5±1,6*#	90±1,6#
yLNNA+yKLO (n:8)	81,4±0,5	82±0,5	81,3±2,5
KLO (n:8)	82,9±0,9	81,2±0,9	82,1±0,5
yKLO (n:6)	81±0,9	80,4±0,9	81,2±0,5

\* Aynı grubun 0. gününe göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

# Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

Kontrol, KLO, YLNNA, YLNNAKLO, DLNNA, DLNNAKLO gruplarında DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 82,7±0,4, 82,9±0,9, 83,9±0,6, 81,4±1,4,



80,7±0,8, 81,7±0,6 olarak ölçüldü . Tüm grupların başlangıç (0.gün) DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH değerleri benzerdi (p>0,05), (Tablo 5).

#### **5.2.2.1. “*in vivo*” L-NNA uygulamalarının etkileri**

Kontrol grubu sıçanlarda 0, 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) sırasıyla 82,7±0,4, 82,4±0,5 ve 82,2±0,5 olarak ölçüldü. Bu grubun DKB değerleri deney süresince anlamlı bir farklılık göstermedi (p>0,05), (Tablo 5).

Düşük doz L-NNA alan dLNNA grubunda 0, 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 80,7±0,8, 85,3±0,4 ve 87,5±0,9 olarak ölçüldü. Hem 5.gün hemde 10.günde DKB Kontrol grubuna ve 0.güne göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,05 ve p<0,001), (Tablo 5).

yLNNA grubu sıçanlarda 0, 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 83,9±0,6, 103,2±2,3 ve 111,1±1,6 olarak ölçüldü. yLNNA grubunun 5 ve 10. günlerdeki DKB değerleri, 0. gün DKB değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,001), (Tablo 5). Meydana gelen kan basıncı 10. günde en yüksek düzeye ulaştı.

yLNNA ve dLNNA gruplarında 5. ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH karşılaştırıldığında sırasıyla 165,9±3,1, 85,3±0,4 ve 177,1±2,7, 87,5±0,9 olarak bulundu. Yüksek doz L-NNA alan yLNNA grubunda dLNNA grubuna göre DKB hem 5. hemde 10. günde anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,001), (Tablo 5).

#### **5.2.2.2. “*in vivo*” klonidin uygulamalarının etkileri**

KLO grubu sıçanlarda 0, 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları±SH sırasıyla 82,9±0,9, 81,2±0,9 ve 82,1±0,5 olarak ölçüldü. Tek başına Klonidin

uygulamasý sýçanların kan basýnçlarında herhangi bir deęişikliğe yol açmadý ( $p>0,05$ ), (Tablo 5).

Yüksek doz klonidin alan yKLO grubu sýçanlarda 0; 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları $\pm$ SH sırasıyla  $81\pm0,9$ ;  $80,4\pm0,9$  ve  $81,2\pm0,5$  olarak ölçüldü. Tek başına yüksek doz klonidin uygulamasý sýçanların kan basýnçlarında herhangi bir deęişikliğe yol açmadý ( $p>0,05$ ), (Tablo 5).

dLNNA+KLO grubunda ise 0, 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları $\pm$ SH sırasıyla  $81,7\pm0,6$ ,  $83,3\pm1,1$  ve  $80,9\pm0,7$  olarak bulundu. Düşük doz L-NNA ile birlikte Klonidin uygulamasý SKB artışını tamamen önledi ( $p<0,001$ ), (Tablo 5).

yLNNA+KLO grubunda 0; 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları $\pm$ SH sırasıyla  $81,4\pm1,4$ ;  $88,5\pm1,6$  ve  $90\pm1,6$  olarak ölçüldü. Bu grupta yüksek doz L-NNA uygulamasına eşlik eden klonidin uygulamasý kan basýncında anlamlı bir azalmaya neden oldu ( $p<0,001$ ). Bununla birlikte bu grupta kan basýncı 0.gün ve Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0,001$ ), (Tablo 5).

Yüksek doz klonidin alan yLNNA+yKLO grubunda ise 0; 5 ve 10. günlerde DKB (mm/Hg) ortalamaları $\pm$ SH sırasıyla  $81,4\pm0,5$ ;  $82\pm0,5$  ve  $81,3\pm2,5$  olarak ölçüldü. Bu grupta yüksek doz L-NNA uygulamasına eşlik eden yüksek doz klonidin uygulamasý kan basýncı artışını tamamen önledi ( $p<0,001$ ), (Tablo 5).

### **5.2.3. Gece-gündüz farkının kan basýncı üzerine etkileri**

Çalışmamızda sýçanların kan basýncı üzerine gece-gündüz farkının etkilerini araştırmak için yLNNA+KLO grubunun 5.gün SKB deęerleri gündüz saat 9-12:00 ve 5.gün gece saat 21-

24:00 arasında ölçüldü. Gündüz ve gece SKB değerleri sırasıyla (mmHg)  $140,9 \pm 2,5$  ve  $142,3 \pm 3,1$  şeklinde idi. Her iki değer arasında anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ).

### **5.3.Kalp Hızı (KH) Değerleri**

Bilinci açık sıçanların kuyruktan indirekt tail-cuff metodu ile kan basıncı ölçümü sırasında 0, 5 ve 10. günlerde nabız atım hızları hesaplanarak kalp hızı elde edildi. Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO grupları KH (atım/dakika) ortalamaları $\pm$ SH karşılaştırıldığında (0.gün) sırasıyla:  $317,7 \pm 5,9$ ;  $328,2 \pm 8,2$ ;  $334 \pm 7,6$ ;  $316,1 \pm 8,6$ ;  $332,8 \pm 6,6$ ;  $323,5 \pm 7,7$ ;  $335,2 \pm 6,2$ ;  $335 \pm 8,1$  olarak ölçüldü. L-NNA ve/veya klonidin uygulamasına başlamadan önce (0.gün) tüm grupların kalp hızları benzerdi ( $p>0,05$ ), (Tablo 6).

#### **5.3.1. “in vivo” L-NNA Uygulamasının Etkileri**

Kontrol grubunun kalp hızı değerleri 0; 5 ve 10.günlerde sırasıyla (atım/dakika)  $317,7 \pm 5,9$ ;  $311,2 \pm 4,1$  ve  $315 \pm 5,7$  olarak ölçüldü. Kalp atım hızında herhangi bir değişiklik gözlenmedi ( $p>0,05$ ), (Tablo 6).

Hem yüksek doz hemde düşük doz L-NNA alan gruplarda kalp hızında benzer şekilde azalma meydana geldi. yLNNA grubunda kalp hızında 5. ve 10.günlerde anlamlı azalma oldu. Sıfırncı; 5. ve 10. günlerde yLNNA grubunun KH (atım/dakika) ortalamaları $\pm$ SH sırasıyla:  $334 \pm 7,6$ ;  $286,5 \pm 4,3$  ve  $299 \pm 9,4$  olarak ölçüldü. Yine düşük doz L-NNA alan dLNNA grubu sıçanlarda kalp hızında 5. ve 10.günlerde anlamlı azalma oldu ( $p<0,05$ ), (Tablo 6). Sıfırncı; 5. ve 10. günlerde dLNNA grubunun KH (atım/dakika) ortalamaları $\pm$ SH sırasıyla;  $328,2 \pm 8,2$ ;  $272,7 \pm 7,9$  ve  $281,8 \pm 6,5$  olarak ölçüldü ( $p<0,05$ ), (Tablo 6).

**Tablo 6.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO grupları KH (atım/dakika) ortalamaları±SH.

Gruplar/ günler	0. gün	5.gün	10.gün
Kontrol (n:8)	317,7±5,9	311,2±4,1	315±5,7
dLNNA (n:8)	328,2±8,2	272,7±7,9*	281,8±6,5*
yLNNA (n:8)	334±7,6	286,5±4,3*	299±9,4*
dLNNA+KLO (n:8)	316,1±8,6	272,3±6,7*	268,7±5,6*
yLNNA+KLO (n:8)	332,8±6,6	295,1±5*	280±4,8*
yLNNA+yKLO (n:8)	323,5±7,7	296,2±5,7*	292,2±6,9*
KLO (n:8)	335,2±6,2	340,5±7,5	328,5±10
yKLO (n:6)	335±8,1	317±18,4	335,3±4,4

\* Aynı grubun 0.gün değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

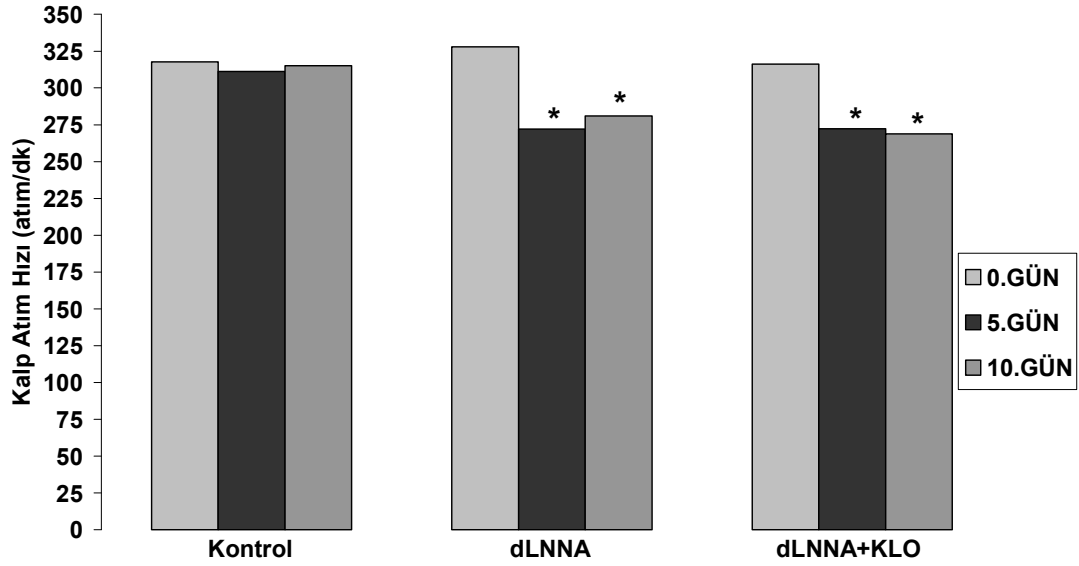
Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

### 5.3.2. “in vivo” klonidin Uygulamasının Etkileri

Klonidin alan KLO grubunda KH (atım/dakika) 0; 5 ve 10.günlerde sırasıyla 335,2±6,2; 340,5±7,5 ve 328,5±10 olarak ölçüldü. Klonidin kalp hızında herhangi bir etki yapmadı (p>0,05), (Tablo 6). Yüksek doz klonidin alan yKLO grubunun 0; 5 ve 10.gün kalp

hızları (atım/dakika) sırasıyla 335±8,1; 317±18,4 ve 335,3±4,4 oldu ve anlamlı bir değişiklik gözlenmedi( $p>0,05$ ),(Tablo 6).

Yüksek ve düşük doz L-NNA alan sıçanlarda düşmüş olan kalp hızı üzerine klonidin uygulaması herhangi bir değişikliğe yol açmadı ( $p>0,05$ ), (Tablo 6, Şekil 6-7). dLNNA+KLO grubunun KH (atım/dakika) ortalamaları±SH sırasıyla; 316,1±8,6, 272,3±6,7, 268,7±5,6 olarak ölçüldü. yLNNA+KLO grubunun KH (atım/dakika) ortalamaları±SH sırasıyla; 332,8±6,6, 295,1±5, 280±4,8 olarak ölçüldü. Bunun yanında yüksek doz klonidin alan yLNNA+yKLO grubunun 0; 5 ve 10.gün kalp hızları (atım/dakika) sırasıyla 323,5±7,7; 296,2±5,7 ve 292,2±6,9 oldu ve anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ( $p>0,05$ ), (Tablo 6, Şekil 6-7).



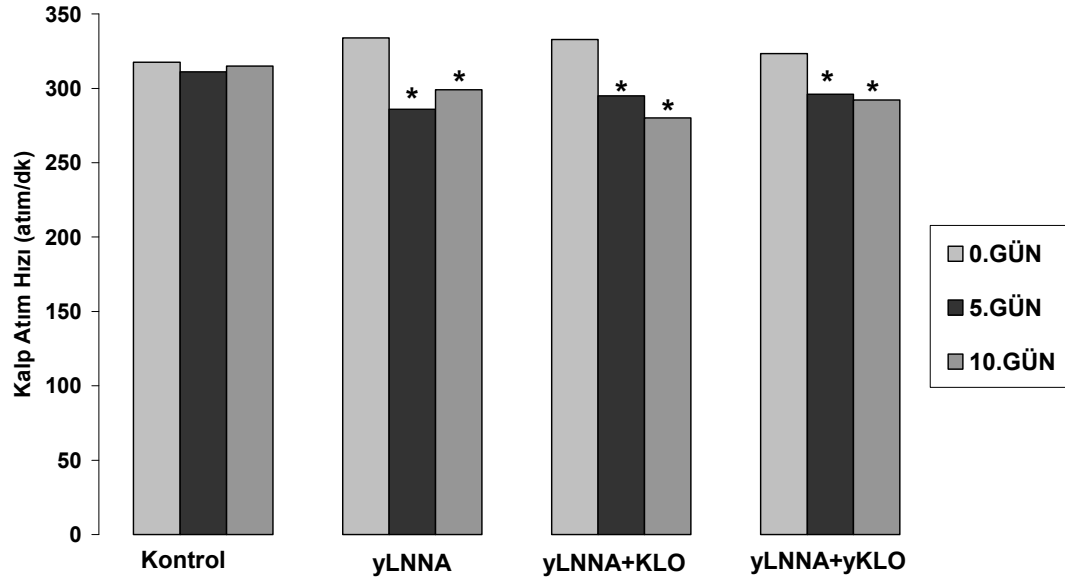
**Şekil 6.** Kontrol, dLNNA ve dLNNA+KLO gruplarının kalp atım hızları (atım/dk).

**\*Aynı grubun 0.gün kalp hızına göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşme vardır ( $p<0,05$ ).**

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.

dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.

dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.



**Şekil 7.** Kontrol, yLNNA , yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının kalp atım hızları (atım/dk).

\* Aynı grubun 0.gün kalp hızına göre istatistiksel olarak anlamlı düşme vardır (p<0,05).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

#### 5.4. “*in vitro*” Şartlarda Vasküler Cevaplar

##### 5.4.1.Fenilefrin Cevapları

###### 5.4.1.1.Normal Krebs Ortamında Fenilefrin Maksimum Kasılma ve EC50

##### Cevapları

###### 5.4.1.1.1. “*in vivo*” L-NNA Uygulamasının Etkileri

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları değerlendirildi.

**Tablo 7.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin *in vitro* şartlarda Normal Krebs ortamında kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).

Gruplar	Fenilefrin Emax (mg)	Fenilefrin EC50 (logaritmik)
Kontrol (n:6)	1542,9±84,9	-6,37±0,13
dLNNA (n:8)	1315,3±133,6	-6,73±0,10*
yLNNA (n:5)	1465,2±184,8	-7,30±0,24*
dLNNA+KLO (n:8)	1523,4±113,5	-6,54±0,22
yLNNA+KLO (n:5)	1466,5±184,9	-6,86±0,52
yLNNA+yKLO (n:7)	1636,4±278,7	-7,12±0,29*
KLO (n:4)	1548,4±170,6	-6,98±0,11
yKLO (n:4)	1215,4±95,6*	-7,93±0,16*

\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

Kontrol; dLNNA ve yLNNA gruplarının fenilefrin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama±SH sırasıyla 1542,9±84,9; 1315,3±133,6 ve 1465,2±184,8 olarak bulundu. Kontrol grubuna göre düşük ve yüksek doz L-NNA uygulanan gruplarda fenilefrinin maksimum kasılma cevapları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ),(Tablo 7).

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalannda fenilefrinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları kasılma cevaplarının EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; dLNNA ve yLNNA gruplarının fenilefrin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama±SH sırasıyla -6,37±0,13; -6,73±0,10 ve -7,30±0,24 olarak bulundu (Tablo 7). Kontrol grubuna göre hem düşük hemde yüksek doz L-NNA alan gruplarda fenilefrin EC50 değerleri anlamlı olarak azaldı (sırasıyla  $p=0,01$  ve  $p=0,004$ ). Yine yüksek doz L-NNA alan grubun EC50 değeri dLNNA grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla -6,73±0,10 ve -7,30±0,24;  $p<0,001$ ), (Tablo 7).

#### **5.4.1.1.2. “*in vivo*” Klonidin Uygulamasının Etkileri**

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalannda fenilefrinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları değerlendirildi. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının fenilefrin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama±SH sırasıyla 1542,9±84,9; 1548,4±170,6 ve 1215,4±95,6 olarak bulundu. Kontrol grubuna göre yKLO uygulanan grupta fenilefrinin maksimum kasılma cevapları anlamlı olarak düştü ( $p=0,03$ ),(Tablo 7).



dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının fenilefrinin maksimum kasılma cevapları sırasıyla 1523,4±113,5; 1466,5±184,9 ve 1636,4±278,7 şeklindeydi ve Kontrole göre herhangi bir değişiklik gözlenmedi ( $p>0,05$ ), (Tablo).

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları kasılma cevaplarının EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının fenilefrin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama±SH sırasıyla -6,37±0,13; -6,98±0,11 ve -7,93±0,16 olarak bulundu (Tablo 9). yKLO fenilefrin EC50 değeri hem Kontrole hemde KLO grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p=0,003$ ), (Tablo 7).

dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının fenilefrin EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama±SH sırasıyla -6,54±0,22; -6,86±0,52 ve -7,12±0,29 olarak bulundu (Tablo 9). Kontrole yLNNA+yKLO grubunun fenilefrine EC50 değeri göre anlamlı olarak düşüktü, sırasıyla -6,37±0,13 ve -7,12±0,29 ( $p=0,01$ ), (Tablo 7).

#### **5.4.1.2.L-NNA ( $10^{-5}$ M) Krebs Ortamında Fenilefrin Maksimum Kasılma ve EC50 Cevapları**

##### **5.4.1.2.1. “*in vivo*” L-NNA Uygulamasının Etkileri**

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda *in vitro* şartlarda Normal Krebs ortamında torasik aorta halkalarının fenilefrinin kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları değerlendirildikten sonra ortama ilave edilen L-NNA ( $10^{-5}$  M) Krebs varlığında yine fenilefrinin kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum

kasılma cevapları değerlendirildi. L-NNA ( $10^{-5}$  M) içeren Krebs ortamında Kontrol; dLNNA ve LNNA gruplarının fenilefrin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama $\pm$ SH sırasıyla 1631,7 $\pm$ 222,7; 1590 $\pm$ 317,2 ve 1744,9 $\pm$ 252,2 olarak bulundu. Kontrol grubuna göre L-NNA uygulanan gruplarda maksimum kasılma cevapları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ), (Tablo 8). Her üç grupta normal Krebs ortamına göre L-NNA ( $10^{-5}$  M) Krebs ortamında Emax cevapları değişmedi, (Tablo 8).

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında *in vitro* şartlarda L-NNA ( $10^{-5}$  M) içeren Krebs ortamı şartlarında fenilefrinin EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; dLNNA ve yLNNA gruplarının fenilefrin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama $\pm$ SH sırasıyla -6,97 $\pm$ 0,17 ; -6,35 $\pm$ 0,14 ve -6,21 $\pm$ 0,29 olarak bulundu (Tablo 8).

Hem düşük hem de yüksek doz L-NNA alan heriki grupta da EC50 değerleri kontrole göre anlamlı olarak yüksekti (sırayla  $p=0,01$  ve  $p=0,04$ ). Bununla birlikte Kontrol grubunun fenilefrin EC50 değerleri normal Krebs ortamına göre L-NNA ( $10^{-5}$  M) Krebs ortamında anlamlı olarak düştü, sırasıyla -6,37 $\pm$ 0,13 ve -6,97 $\pm$ 0,17 ( $p=0,02$ ), (tablo 8). Yine yLNNA grubunun fenilefrin EC50 değerleri normal Krebs ortamına göre L-NNA ( $10^{-5}$  M) Krebs ortamında anlamlı olarak düştü, sırasıyla -7,30 $\pm$ 0,24 ve -6,21 $\pm$ 0,29 ( $p<0,001$ ), (Tablo 8). Fakat dLNNA grubunda herhangi bir değişiklik gözlenmedi, sırasıyla -6,73 $\pm$ 0,10 Ve -6,35 $\pm$ 0,14 ( $p>0,05$ ), (Tablo 8).

#### **5.4.1.2.2. “*in vivo*” Klonidin Uygulamasının Etkileri**

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin *in vitro* şartlarda L-NNA

**Tablo 8.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin *in vitro* şartlarda L-NNA Krebs ortamında kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).

Gruplar	Fenilefrin Emax (mg)		Fenilefrin EC50 (logaritmik)	
	Normal Krebs	L-NNA( $10^{-5}$ M) Krebs	Normal Krebs	L-NNA( $10^{-5}$ M) Krebs
Kontrol (n:6)	1542,9±84,9	1631,7±222,7	-6,37±0,13	-6,97±0,17*
dLNNA (n:8)	1315,3±133,6	1590±317,2	-6,73±0,10#	-6,35±0,14#
yLNNA (n:5)	1465,2±184,8	1744,9±252,2	-7,30±0,24#	-6,21±0,29#*
dLNNA+KLO (n:8)	1523,4±113,5	1881,4±161,5	-6,54±0,22	-6,94±0,21
yLNNA+KLO (n:5)	1466,5±184,9	1933,14±373,5	-6,86±0,52	-6,78±0,13
yLNNA+yKLO (n:7)	1636,4±278,7	2055±345,8	-7,12±0,29#	-6,94±0,32
KLO (n:4)	1548,4±170,6	2281,2±219,8#	-6,98±0,11	-6,58±0,43
yKLO (n:4)	1215,4±95,6#	1581,7±152,2	-7,93±0,16#	-7,55±0,20

\* Aynı grubun Normal Krebs ortamı değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.  
# Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

( $10^{-5}$  M) içeren Krebs ortamı şartlarında şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları değerlendirildi. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının fenilefrin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama±SH sırasıyla 1631,7±222,7; 2281,2±219,8 ve 1581,7±152,2 olarak bulundu. Kontrol grubuna göre

herhangi bir değişiklik olmadı, fakat, KLO uygulanan grupta normal Krebs ortamına göre fenilefrinin maksimum kasılma cevapları anlamlı olarak yükseldi, sırasıyla 1548,4±170,6 ve 2281,2±219,8 (p=0,03), (Tablo 8).

dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının fenilefrinin maksimum kasılma cevapları sırasıyla 1881,4±161,5; 1933,14±373,5 ve 2055±345,8 şeklindeydi ve Kontrole göre herhangi bir değişiklik gözlenmedi (p>0,05), (Tablo8).

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin *in vitro* şartlarda L-NNA ( $10^{-5}$  M) içeren şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları kasılma cevaplarının EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının fenilefrin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama±SH sırasıyla -6,97±0,17; -6,58±0,43 ve -7,55±0,20 olarak bulundu ve anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p>0,05), (Tablo 8).

dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının fenilefrin EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama±SH sırasıyla -6,94±0,21; -6,78±0,13 ve -6,94±0,32 olarak bulundu ve anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p>0,05), (Tablo 8).

#### **5.4.1.3. İNDO ( $10^{-5}$ M) Krebs Ortamında Fenilefrin Maksimum Kasılma ve EC50 Cevapları**

##### **5.4.1.3.1. “*in vivo*” L-NNA Uygulamasının Etkileri**

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında *in vitro* şartlarda İNDO ( $10^{-5}$  M) içeren Krebs ortamı şartlarında fenilefrinin kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları değerlendirildi. Kontrol; dLNNA ve yLNNA gruplarının

fenilefrin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama±SH sırasıyla 1720,5±157; 1798,2±190,4 ve 1385,2±208,9 olarak bulundu. Kontrol grubuna göre L-NNA uygulanan gruplarda maksimum kasılma cevapları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 9).

**Tablo 9.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında fenilefrinin *in vitro* şartlarda İNDO Krebs ortamında kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).

Gruplar	Fenilefrin Emax (mg)		Fenilefrin EC50 (logaritmik)	
	Normal Krebs	İNDO(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	Normal Krebs	İNDO(10 <sup>-5</sup> M) Krebs
Kontrol (n:6)	1542,9±84,9	1720,5±157	-6,37±0,13	-6,46±0,20
dLNNA (n:8)	1315,3±133,6	1798,2±190,4	-6,73±0,10#	-6,62±0,11
yLNNA (n:5)	1465,2±184,8	1385,2±208,9	-7,30±0,24#	-6,24±0,03*
dLNNA+KLO (n:8)	1523,4±113,5	1973±236,1	-6,54±0,22	-6,55±0,17
yLNNA+KLO (n:5)	1466,5±184,9	1599,84±169,9	-6,86±0,52	-7,21±0,38
yLNNA+yKLO (n:7)	1636,4±278,7	1864,8±316,7	-7,12±0,29#	-6,94±0,37
KLO (n:4)	1548,4±170,6	2097,9±272,5	-6,98±0,11	-6,26±0,06*
yKLO (n:4)	1215,4±95,6#	1032,3±88,1#	-7,93±0,16#	-6,79±0,17*

\* Aynı grubun Normal Krebs değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

# Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalannda *in vitro* şartlarda İNDO ( $10^{-5}$  M) içeren Krebs ortamı şartlarında fenilefrinin EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; dLNNA ve yLNNA gruplarının fenilefrin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama $\pm$ SH sırasıyla  $-6,46\pm 0,20$ ;  $-6,62\pm 0,11$  ve  $-6,24\pm 0,03$  olarak bulundu. Kontrol grubuna göre L-NNA uygulanan gruplarda fenilefrin EC50 değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ). Bununla birlikte yLNNA grubunun normal Krebs ortamına göre İNDO ( $10^{-5}$  M) Krebs ortamında fenilefrinin EC50 değeri anlamlı olarak yüksekti, sırasıyla  $-7,30\pm 0,24$  ve  $-6,24\pm 0,03$  ( $p<0,001$ ). Kontrol ve dLNNA grbunda ise herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Tablo 9).

#### 5.4.1.3.2. “*in vivo*” Klonidin Uygulamasının Etkileri

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalannda fenilefrinin *in vitro* şartlarda İNDO ( $10^{-5}$  M) içeren şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları değerlendirildi. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının fenilefrin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama $\pm$ SH sırasıyla  $1720,5\pm 157$ ;  $2097,9\pm 272,5$  ve  $1032,3\pm 88,1$  olarak bulundu. Kontrol grubuna göre yKLO uygulanan grupta fenilefrinin maksimum kasılma cevapları anlamlı olarak düştü ( $p=0,01$ ), (Tablo 9).

dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının fenilefrinin maksimum kasılma cevapları sırasıyla  $1973\pm 236,1$ ;  $1599,84\pm 169,9$  ve  $1864,8\pm 316,7$  şeklindeydi ve Kontrole göre herhangi bir değişiklik gözlenmedi ( $p>0,05$ ), (Tablo 9).

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalannda fenilefrinin *in vitro* şartlarda İNDO ( $10^{-5}$  M) içeren şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları kasılma cevaplarının

EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının fenilefrin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama±SH sırasıyla -6,46±0,20; -6,26±0,06 ve -6,79±0,17 olarak bulundu (Tablo 9). Her iki grupta Kontrole göre anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ). Fakat hem KLO hemde yKLO fenilefrin EC50 değeri normal Krebse göre İNDO ( $10^{-5}$  M) Krebs ortamına göre anlamlı olarak yüksekti, sırasıyla -6,98±0,11; -6,26±0,06 ve -7,93±0,16; -6,79±0,17 (sırasıyla  $p=0,001$  ve  $p=0,003$ ), (Tablo 9).

dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının fenilefrin EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama±SH sırasıyla -6,55±0,17; -7,21±0,38 ve -6,94±0,37 olarak bulundu (Tablo 9). Kontrole göre fenilefrin EC50 değeri gruplar arasında değişmedi ( $p>0,05$ ).

#### **5.4.2.Klonidin Cevapları**

##### **5.4.2.1. “*in vivo*” L-NNA Uygulanan Ratlarda “*in vitro*” ortamda klonidinin Maksimum Kasılma Cevapları ve EC50 Değerleri**

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında klonidinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları değerlendirildi. Kontrol; dLNNA ve yLNNA gruplarının klonidin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama±SH sırasıyla 477,3±97,9; 649,3±95,6 ve 972,3±271,8 olarak bulundu. Kontrol grubuna göre düşük ve yüksek doz L-NNA uygulanan gruplarda klonidinin maksimum kasılma cevapları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ),(Tablo 10).

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda NOS inhibitörü L-NNA uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalarında klonidinin *in vitro* şartlarda kümülatif

konsantrasyonlarına oluşturdıkları kasılma cevaplarının EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; dLNNA ve yLNNA gruplarının klonidin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, sırasıyla  $-6,24 \pm 0,23$ ;  $-6,79 \pm 0,15$  ve  $-7,45 \pm 0,28$  olarak bulundu (Tablo 10). Kontrol grubuna göre yüksek doz L-NNA alan yLNNA grubunun klonidin EC50 değeri anlamlı olarak azaldı ( $p=0,009$ ), (Tablo 10).

#### **5.4.2.2. “*in vivo*” Klonidin Uygulanan Ratlarda “*in vitro*” ortamda klonidinin Maksimum Kasılma Cevapları ve EC50 Değerleri**

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalannda klonidinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdıkları maksimum kasılma cevapları değerlendirildi. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının klonidin maksimum kasılma cevapları (mg) ortalama $\pm$ SH sırasıyla  $477,3 \pm 97,9$ ;  $799,2 \pm 190,3$  ve  $216,4 \pm 49,5$  olarak bulundu ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ), (Tablo 10).

dLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarının klonidinin maksimum kasılma cevapları sırasıyla (mg)  $765,9 \pm 112,5$  ve  $780,1 \pm 134,5$  şeklindeydi ve Kontrole göre herhangi bir değişiklik gözlenmedi ( $p>0,05$ ), (Tablo 10). yLNNA+KLO grubunda klondinin kasılma cevapları elde edilemedi.

Kontrol grubu ve 10 gün boyunca içme suyunda L-NNA ve/veya klonidin uygulanan sıçanlarda torasik aorta halkalannda klonidinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdıkları kasılma cevaplarının EC50 değerleri (logaritmik) hesaplandı. Kontrol; KLO ve yKLO gruplarının klonidin kasılma cevaplarının EC50 değerleri, logaritmik olarak, ortalama $\pm$ SH sırasıyla  $-6,24 \pm 0,23$ ;  $-7,20 \pm 0,10$  ve -



6,47±0,21 olarak bulundu (Tablo 9x). KLO grubunun klonidin EC50 değeri Kontrole göre anlamlı olarak düşüktü ( p=0,01).

**Tablo 10.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının sıçanlarda torasik aorta halkalarında klonidinin *in vitro* şartlarda kümülatif konsantrasyonlarına oluşturdukları maksimum kasılma cevapları (Emax) (mg) ve bu cevapların EC50 değerleri (logaritmik).

Gruplar	Klonidin Emax (mg)	Klonidin EC50 (logaritmik)
Kontrol (n:6)	477,3±97,9	-6,24±0,23
dLNNA (n:8)	649,3±95,6	-6,79±0,15
yLNNA (n:5)	972,3±271,8	-7,45±0,28*
dLNNA+KLO (n:8)	765,9±112,5	-6,35±0,13
yLNNA+KLO (n:5)	-	-
yLNNA+yKLO (n:7)	780,1±134,5	-6,95±0,39
KLO (n:4)	799,2±190,3	-7,20±0,10*
yKLO (n:4)	216,4±49,5	-6,47±0,21

\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

dLNNA+KLO; ve yLNNA+yKLO gruplarının klonidin EC50 değerleri, logaritmik olarak, sırasıyla -6,35±0,13 ve -6,95±0,39 olarak bulundu (Tablo 10).

Kontrole göre klonidin EC50 değerleri farklılık göstermedi ( $p=0,01$ ). yLNNA+KLO grubunun klonidin kasılma cevapları elde edilemediği için EC50 değerleri hesaplanamadı.

#### **5.4.3. Normal Krebs Ortamında L-NNA ve/veya Klonidin Uygulamasının Fenilefrin, Klonidin Emax (mg) Cevapları İle Fenilefrin ve Klonidin EC50 (log) Değerlerinin Karşılaştırılması.**

Normal Krebs ortamında torasik aorta halkalarının fenilefrin, klonidin ve KCl aksimum kasılma cevapları ile fenilefrin ve klonidinin EC50 değerleri karşılaştırılarak *in vivo* L-NNA ve/veya klonidin uygulamasının torasik aortanın vazokonstriktör kapasitesi üzerine etkileri değerlendirildi (Tablo 11). Karşılaştırma sonuçlarına göre; dLNNA grubunda fenilefrin EC50 değeri anlamlı olarak düştü.

yLNNA grubunda fenilefrin ve klonidin EC50 değerleri anlamlı olarak düştü.

dLNNA+KLO grubunda Kontrole göre herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

yLNNA+KLO grubunda Kontrole göre herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

yLNNA+yKLO grubunda fenilefrin EC50 değeri anlamlı olarak düştü.

KLO grubunda klonidin EC50 değeri anlamlı olarak düştü.

yKLO grubunda fenilefrin Emax cevabı ve fenilefrin EC50 değeri anlamlı olarak düştü.

#### **5.4.4. Kontrol, KLO ve yKLO grubunun EC50 ve Emax Değerlerinin Karşılaştırılması**

Kontrol grubunun fenilefrin EC50 değeri L-NNA Krebs ortamında anlamlı azalmıştır. KLO grubunun fenilefrin Emax cevabı L-NNA Krebs ortamında, fenilefrin EC50 değeri ise İNDO Krebs ortamında anlamlı olarak yükselmiştir. Benzer şekilde klonidin EC50 değeri İNDO Krebs ortamında yükselirken, aksine normal Krebs

ortamında klonidin EC50 değeri kontrole göre düşmüştür. yKLO grubunun kontrole göre normal Krebs ortamında hem fenilefrin Emax değeri hemde EC50 değeri kontrol grubuna göre düşmüştür. İNDO Krebs ortamında ise fenilefrin EC50 değeri normal Krebs ortamına göre yükselmiştir (Tablo 12).

**Tablo 11.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının Normal Krebs ortamında sıçanların torasik aorta halkalarında fenilefrin, klonidin Emax cevapları (mg) ile fenilefrin ve klonidin EC50 değerleri (logaritmik).

Gruplar	Fenilefrin		Klonidin	
	Emax (mg)	EC50 (log)	Emax (mg)	EC50 (log)
Kontrol (n:6)	1542,9±84,9	-6,37±0,13	477,3±97,9	-6,24±0,23
dLNNA (n:8)	1315,3±133,6	-6,73±0,10*	649,3±95,6	-6,79±0,15
yLNNA (n:5)	1465,2±184,8	-7,30±0,24*	972,3±271,8	-7,45±0,28*
dLNNA+KLO (n:8)	1523,4±113,5	-6,54±0,22	765,9±112,5	-6,35±0,13
yLNNA+KLO (n:5)	1466,5±184,9	-6,86±0,52	-	-
yLNNA+yKLO (n:7)	1636,4±278,7	-7,12±0,29*	780,1±134,5	-6,95±0,39
KLO (n:4)	1548,4±170,6	-6,98±0,11	799,2±190,3	-7,20±0,10*
yKLO (n:4)	1215,4±95,6*	-7,93±0,16*	216,4±49,5	-6,47±0,21

\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150 µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

**Tablo 12.** Kontrol, KLO ve yKLO grubunun fenilefrin ve klonidin EC50 ve Emax Değerlerinin Karşılaştırılması

		<b>Kontrol</b> (n:6)	<b>KLO</b> (n:4)	<b>yKLO</b> (n:4)
<b>Fenilefrin Emax (mg)</b>	Normal Krebs	1542,9±84,9	1548,4±170,6	1215,4±95,6#
	L-NNA(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	1631,7±222,7	2281,2±219,8*	1581,7±152,2
	İNDO(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	1720,5±157	2097,9±272,5	1631,7±234,6
<b>Fenilefrin EC50 (log)</b>	Normal Krebs	-6,37±0,13	-6,98±0,11	-7,93±0,16#
	L-NNA(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	-6,97±0,17*	-6,58±0,43	-7,55±0,20
	İNDO(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	-6,46±0,20	-6,26±0,06*	-6,79±0,17*
<b>Klonidin Emax (mg)</b>	Normal Krebs	477,3±97,9	799,2±190,3	216,4±49,5
	L-NNA(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	-	682,65±204,1	-
	İNDO(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	-	582,7±207,7	-
<b>Klonidin EC50 (log)</b>	Normal Krebs	-6,24±0,23	-7,20±0,10#	-6,47±0,21
	L-NNA(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	-	-6,85±0,24	-
	İNDO(10 <sup>-5</sup> M) Krebs	-	6,21±0,02*	-

\* Aynı grubun Normal Krebs değerleriyle karşılaştırıldığında anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

# Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (p<0,05).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.

KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225µg/100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.

### **5.5.Plazma Nitrit/Nitrat (NOx) Değerleri**

Deney sonunda (10.gün) sıçanlardan toplanan plazma örnekleri gereç ve yöntem kısmında belirtildiği şekilde analiz edilerek plazma NOx değerleri ortalama±SH olarak ölçüldü (Tablo 13).

#### **5.5.1. “*in vivo*” L-NNA Uygulamasının Etkileri**

Yüksek doz L-NNA alan sıçanlarda plazma NOx seviyesinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken düşük doz L-NNA alan sıçanlarda plazma NOx seviyesi anlamlı olarak arttı ( $p<0,001$ ), (Tablo 13), (Şekil 8). Kontrol; dLNNA ve yLNNA grubu plazma NOx ( $\mu\text{M}$ ) ortalamaları±SH karşılaştırıldığında (10.gün) sırasıyla  $0,254\pm0,01$ ;  $0,623\pm0,113$  ve  $0,261\pm0,031$  olarak ölçüldü.

#### **5.5.2. “*in vivo*” klonidin Uygulamasının Etkileri**

Tek başına klonidin alan KLO ve yKLO gruplarında plazma NOx düzeyinde anlamlı herhangi bir değişiklik gözlenmedi ( $p>0,05$ ), (Tablo 13). Kontrol; KLO ve yKLO grubu plazma NOx ( $\mu\text{M}$ ) ortalamaları±SH karşılaştırıldığında (10.gün) sırasıyla  $0,254\pm0,01$ ;  $0,252\pm0,01$  ve  $0,344\pm0,08$  olarak ölçüldü (Tablo 13).

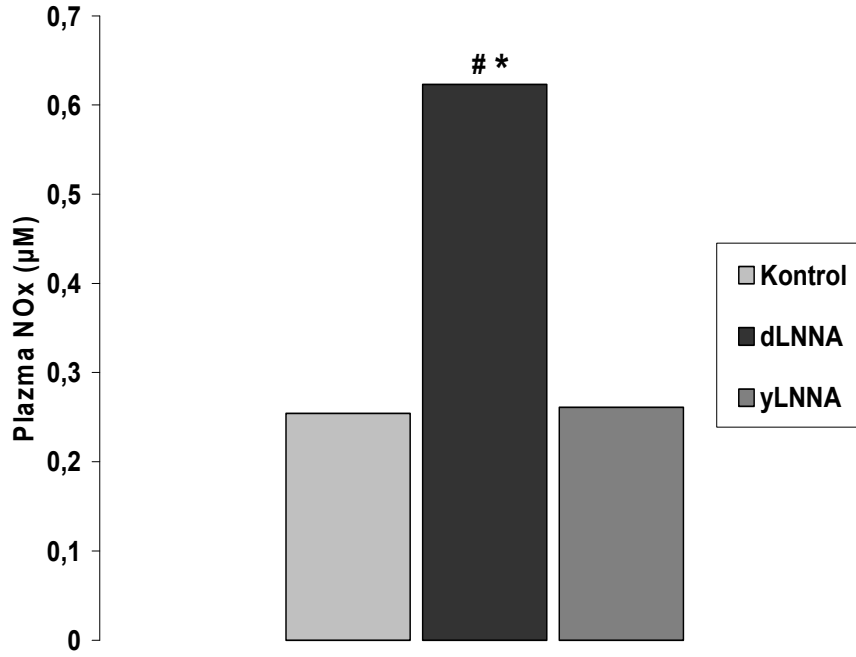
Hemde L-NNA hem birlikte klonidin uygulaması alan sıçanlarda plazma NOx seviyesi incelendi. Kontrol; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO ve yLNNA+yKLO gruplarında plazma NOx ( $\mu\text{M}$ ) ortalamaları±SH karşılaştırıldığında (10.gün) sırasıyla  $0,254\pm0,01$ ;  $0,459\pm0,105$ ;  $0,180\pm0,008$  ve  $0,221\pm0,026$  olarak ölçüldü (Tablo 13). Klonidin alan dLNNA+KLO ve yLNNA+KLO gruplarının plazma NOx değerleri sırasıyla dLNNA ve yLNNA ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik olmadı ( $p>0,05$ ),(Tablo 13).

**Tablo 13.** Kontrol; dLNNA; yLNNA; dLNNA+KLO; yLNNA+KLO; yLNNA+yKLO; KLO; yKLO gruplarının plazma NOx değerleri ( $\mu\text{M}$ ) ortalamaları $\pm$ SH.

Gruplar	Plazma NOx ( $\mu\text{M}$ )
Kontrol (n:7)	0,254 $\pm$ 0,010
dLNNA (n:5)	0,623 $\pm$ 0,113*
yLNNA (n:8)	0,261 $\pm$ 0,031
dLNNA+KLO (n:8)	0,459 $\pm$ 0,105
yLNNA+KLO (n:8)	0,180 $\pm$ 0,008
yLNNA+yKLO (n:8)	0,221 $\pm$ 0,026
KLO (n:8)	0,252 $\pm$ 0,010
yKLO (n:6)	0,344 $\pm$ 0,080

\* Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ( $p<0,001$ ).

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
dLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml L-NNA+150 $\mu\text{g}$ /100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml L-NNA+150  $\mu\text{g}$ /100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yLNNA+yKLO: 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100 ml L-NNA + 225 $\mu\text{g}$ /100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
KLO : 10 gün boyunca yaklaşık 150 $\mu\text{g}$ /100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.  
yKLO : 10 gün boyunca yaklaşık 225 $\mu\text{g}$ /100ml konsantrasyonunda klonidin aldı.



**Şekil 8.** Kontrol, dLNNA, yLNNA gruplarının plazma NOx değerleri (µM) ortalamaları±SH.

**\*# Kontrol ve yLNNA grubuna göre anlamlı olarak yüksektir (p<0,001).**

Kontrol : 10 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı.  
dLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 15mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.  
yLNNA : 10 gün boyunca yaklaşık 45mg/100ml konsantrasyonunda L-NNA aldı.

## 6.TARTIŞMA

Bu çalışmada L-NNA'nın iki farklı konsantrasyonda uygulamasıyla oluşturulan kronik NOS inhibisyonunu aracılı hipertansiyona klonidinin etkilerini belirlemek, bu model hipertansiyona katkıda bulunan mekanizmalara açıklık kazandıracak bulgulara ulaşmak amaçlanmıştır. Daha önceki çalışmalarda L-NNA'nın uzun süreli uygulamalarında kan basıncının arttığı ve bu artışın birçok antihipertansif ilaçla önlendiği bildirilmiştir. Yapılan klinik ve deneysel araştırmalarda klonidinin insanlarda ve birçok deneysel hipertansiyon modelinde kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada klonidinin NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon üzerine etkileri ilk defa araştırılarak klonidinin kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişimini önlediği gösterilmiştir.

Kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon modeli günümüzde hipertansiyon araştırmalarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon oluşturmak için non-selektif NOS inhibitörü L-NNA'nın düşük ve yüksek olmak üzere iki farklı dozu kullanıldı. Bilindiği gibi L-NAME bir ön ilaç olup, potensi ve seçiciliği tamamen L-NNA'ya hidrolize olabilme miktarıyla orantılıdır (136). L-NAME'e göre L-NNA'nın daha düşük dozlarında benzer oranda total NOS inhibisyonu sağlanması bunu doğrulamaktadır (105). NOS inhibitörleri ile oluşturulan hipertansiyonun temel nedeni NOS enziminin inhibisyonu sonucu NO sentezindeki azalmadır. Daha önceki çalışmalarda deney hayvanlarına oral yolla verilen L-NAME'nin 15 mg/kg/gün dozunun tama yakın bir NOS inhibisyonu için yeterli olduğu ileri sürülmüştür (137, 138). Bu nedenle bu çalışmada deneklere L-NNA'nın 15 mg/ 100 ml'lik konsantrasyonu uygulandı ve bu uygulama sonucu deneklerin yaklaşık 15 mg/kg/gün L-NNA dozu aldıkları tespit edildi. Ancak daha yüksek dozda NOS



inhibitörü uygulandığında hipertansiyonun şiddetinin arttığı ve literatür incelendiğinde kronik NOS inhibisyonu oluşturmak için sıklıkla NOS inhibitörlerinin daha yüksek dozlarının tercih edildiği görülmektedir. Bu nedenle diğer gruba L-NNA'nın 45 mg/ 100 ml konsantrasyonu uygulanarak NOS inhibisyonu oluşturuldu ve ratların aldığı doz yaklaşık 46 mg/kg/gün olarak tespit edildi. Bu çalışmada L-NNA ve klonidin aynı içme suyu içerisinde birlikte uygulanmıştır. Hem L-NNA hemde klonidinin suda çözünürlüğü iyi bilinmektedir. İçme suyuyla verilen klonidinin s.c. uygulamanın yarısı oranında plazmaya geçtiği bildirilmiştir (139). Ayrıca bir L-arjinin analogu olan L-NNA'nın oral yoldan içme suyuyla alındığında L-arjinine benzer şekilde gastrointestinal sistemden kolayca absorbe olduğu ileri sürülmüştür (140).

İlk olarak Gardiner ve ark. sıçanlarda uzun süreli L-NMMA uygulamasının kan basıncında artışa neden olduğunu göstermişlerdir (76). Uzun süreli L-NAME uygulandığında kan basıncı artışının süreklilik arz ettiği bildirilmiştir (6). NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon gelişiminden total periferik direnç artışı, artmış renal sodyum tutulumu, sempatik sistem aktivasyonu ve çeşitli vazoaaktif maddeler sorumlu tutulmaktadır. Araştırmalarda denek türlerinin değişmesi, farklı NOS inhibitörlerinin farklı doz ve sürelerde kullanılması söz konusu olmakla birlikte meydana gelen hipertansiyonun niteliği değişkenlik göstermektedir (20). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda uzun süreli NOS inhibisyonu yapılan deney hayvanlarında NOS inhibitörlerinin doz ve süre bağımlı olarak kan basıncı artışı meydana getirdiği net bir şekilde gösterilmiştir (8, 20). Bu çalışmada da yüksek doz L-NNA uygulamasıyla gelişen hipertansiyon düşük doz L-NNA ile oluşturulan hipertansiyondan daha şiddetlidir. Düşük doz L-NNA alan grupta plazma NO<sub>x</sub> seviyesi artarken, yüksek doz L-NNA alan grupta ise herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Moncada düşük doz NOS

inhibitörü uygulandığında plazma NOx seviyesinin yükselmesinin esas olarak artmış vazokonstriktör etkinliği kompanse etmek amacıyla daha fazla NO üretilmesinden kaynaklandığını ileri sürmüştür (81). Bu çalışmada kronik L-NNA uygulamasıyla hipertansiyon oluşturulan ratların plazma NOx seviyesindeki artış literatürle uygunluk göstermektedir. Yüksek dozda NOS inhibitörü uygulandığında hipertansiyonun şiddetinin artması NOS inhibisyonunda meydana gelen ilave bir artışa işaret etmektedir. Ancak daha önceki çalışmalarda özellikle yüksek doz NOS inhibitörleri ile yapılan hipertansiyona böbrek, kalp ve damarlarda meydana gelen kalıcı yapısal ve/veya fonksiyonel değişikliklerin katkıda bulunduğu bildirilmiştir (6, 20). 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 (6, 20, 99, 141). 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 (88, 98). 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. Aynı zamanda mevcut çalışmada L-NNA'nın uygulama süresinin kısa olması L-NNA'nın hem düşük hem de yüksek dozlarıyla oluşturulan hipertansiyona olası bir doku hasarının katkısının düşük bir olasılık olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmada ratlarda organ ve dokuların yapısal hasar değerlendirilmesi yapılmamıştır, fakat L-NNA'nın düşük ve yüksek dozlarının uygulanmasıyla gelişen hipertansiyonda ratların su alımında ve vücut ağırlığı artışında anlamlı bir farklılık olmaması nedeniyle NOS

inhibitörü uygulamasının yukarıdaki literatür çalışmalarında dikkate alındığında ratların gelişimini etkilemediği ve doku hasarı oluşmadığı ileri sürülebilir. Yüksek dozda NOS inhibitörü uygulandığında hipertansiyonun şiddetinin artması, NOS inhibitörleri ile meydana gelen hipertansiyondan temel olarak NOS inhibisyonu rol oynasa bile diğer sistemlerin etkilenmesinin oluşan hipertansiyona katkıda bulunabileceğide ihmal edilmemelidir.

Bu çalışmada L-NNA uygulanan ratların “*in vitro*” torasik aorta halkaları incelendiğinde düşük doz L-NNA alan grupta fenilefrine, yüksek doz L-NNA alan grupta ise hem fenilefrine hem de klonidine vazokonstriktör duyarlılığın arttığı tespit edilmiştir. Bilindiği gibi fenilefrin saf bir  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonisti, klonidin ise güçlü bir  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör agonistidir. Kanagy yaptığı bir çalışmada yüksek doz L-NAME (60 mg/kg/gün, 14 gün) uygulanan ratların endotelyumu tahrip edilmiş torasik aorta halkalarında  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlere duyarlılık artışı olmadığı halde  $\alpha_2$ -adrenerjik agonistlere (UK14304) vazokonstriktör duyarlılıkta bir artışın olduğunu göstermiştir (12). Düşük ve yüksek doz L-NNA uygulamasının  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör duyarlılığında meydana getirdiği artışın benzer olması, fakat yüksek doz L-NNA uygulaması ile  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlere duyarlılık artışının daha yüksek L-NNA dozuna bağlı olarak ilave bir sempatik aktivite artışından ve/veya sempatik aktiviteye bir duyarlılık artışından kaynaklanabilir.

Santral etkili bir antihipertansif ajan olan klonidinin hipertansif hastalarda plazma adrenalin ve noradrenalin düzeyini, üriner katekolamin metabolitlerini ve serebrospinal sıvıda noradrenalin düzeyini azaltarak sempatik aktiviteyi düşürdüğü erken çalışmalarda gösterilmiştir (17, 124). Yakın zamanda yapılan çalışmalar uzun süreli klonidin uygulanan hipertansif hastalarda üriner katekolamin atılımının, plazma

adrenalin ve noradrenalin konsantrasyonunun azaldığını teyit etmiştir (47). İntravenöz klonidin uygulamasıyla kan basıncında meydana gelen düşmenin santral sinir sistemine  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonisti uygulamasıyla önlenmesi klonidinin santral  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aracılı hipotansif etki gösterdiğine işaret etmektedir (142). Sonuç olarak klonidinin kan basıncını santral postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aktivasyonu yoluyla efferent sempatik nöronal ateşlemeyi zayıflatarak ve nöroefektör kavşakta presinaptik inhibisyonun da katkısıyla periferal rezistansı azaltarak düşürdüğü öne sürülmüştür (142, 143).

Klonidinin hipotansif etkisi akut ve kronik uygulamayla ilişkili olarak değişkenlik göstermektedir. Genel olarak akut uygulamalarda klonidinin kan basıncını hem insanlarda hem de deney hayvanlarında düşürdüğü görülmektedir. Klonidin normotensif kişilerde 1-200  $\mu\text{g/gün}$  i.v. doz aralığında, normotensif veya hipertansif farklı hayvan türlerinde ise 1-500  $\mu\text{g/kg/gün}$  i.v. doz aralığında kan basıncını düşürmektedir (125, 139, 142, 144-153). Klonidinin kan basıncını düşürmeyen i.v. dozları santral sinir sistemine intratekal, intraserebral ve intrasisternal uygulandığında da kan basıncı düşme meydana gelmektedir (154-156). Klonidinin akut uygulandığı hipertansif ratlarda kan basıncı anlamlı düşerken aynı doz klonidin (0,1 mg/kg/gün) günlere yayılarak kronik uygulandığında ise kan basıncını düşürmemektedir (157). Kronik uygulamada klonidinin özellikle düşük dozlarının (yaklaşık 0,05 mg/kg/gün) antihipertansif etkisine kısmi bir tolerans geliştiğine işaret edilmekte, fakat klonidinin daha yüksek dozlarının antihipertansif etkisine karşı tolerans gelişmediği bildirilmektedir (158, 159). Kan basıncında uzun süreli bir düşüş sağlamak için kronik uygulamada muhtemelen klonidinin daha yüksek dozları kullanılmalıdır. İlimli esansiyel hipertansiyonlu hastalarda ve SH ratlarda yapılan çalışmalarda klonidinin subkutan, oral

veya i.v. yolla uzun süreli uygulanmasıyla kan basınçlarında bir düşme gözlenmiştir (17, 119, 121, 124, 159-161).

Bu çalışmada kronik klonidinin uygulanan (150 ve 225 µg/100 ml) normotensif ratların kan basınçlarında bir değişiklik olmamıştır. Uzun süreli subkutan klonidin alan normotensif kişilerin ve s.c. klonidin pelleti (yaklaşık 0,11 mg/kg/gün) uygulanan normotensif ratların kan basıncında bir değişiklik gözlenmemesi bu bulguları desteklemektedir (121, 162, 163). Normotensif tavşanlarda ise klonidinin düşük dozu (0,3 mg/kg s.c.) kan basıncını etkilemezken daha yüksek dozu (1 mg /kg/gün s.c) kan basıncında bir düşmeye yol açmaktadır (164). Muhtemelen klonidinin hipotansif dozu türe bağımlı olarak farklılık arz etmekte ve aynı zamanda klonidinin etkisi doza bağımlı olarak çok değişkenlik göstermektedir (126). Klonidinin değişik dozlarının farklı etkiler göstermesi klonidinin doz aralığının insanlardakine benzer şekilde deney hayvanlarında da oldukça dar olduğunu düşündürmektedir (158, 165).

Araştırmacılar SH ratlarda kronik klonidin uygulamasının damarlarda yapısal bir değişikliğe yol açmadığını, fakat bununla beraber mezenterik arterde noradrenalin kasılma cevaplarını zayıflattığını bildirmişlerdir (18). Bunun aksine kronik klonidin uygulaması sonucunda aortada ve basiler arterde kasılma ve gevşeme cevaplarının değişmediği gösterilmiştir (119, 121). Klonidinin kan basıncını düşürmediğinin tespit edildiği bir çalışmada karotis arteri çapında bir azalmaya neden olması vasküler α-adrenerjik reseptörler üzerine pressör etkisinin hipotansif etkisini bloke edebileceğine işaret etmektedir (157). Gerçektende normotensif farelerle yapılan bir çalışmada deneklere 1 mg/kg i.p. klonidin verildiğinde kan basıncını düşürmüştü, fakat klonidin 10 ve 50 mg/kg gibi çok yüksek dozlarda uygulandığında ise kan basıncını artırmıştır (126). Bu çalışmada klonidin uygulanan normotensif ratların kan basınçlarında bir değişiklik

olmaması seçilen dozun uygun olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda düşük doz klonidin alan grupta torasik aortada  $\alpha_2$ -adrenerjik ve yüksek doz klonidin alan rat grubunda  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör duyarlılığında bir artma tespit edilmiştir. Kronik klonidin uygulaması sonucu  $\alpha$ -adrenerjik reseptör duyarlılığındaki artışın klodininin sempatolitik etkisinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (124, 166, 167). İnsanlarda yapılan çalışmalarda da klonidinin sağlıklı insanlarda kan basıncını düşürürken önkolda periferik vasküler yatakta vazokonstriksiyona neden olması bu ajanın antihipertansif etkisinin gücünün santral sempatolitik ve periferik vazokonstriktör etkilerinin cebirsel toplamından oluştuğunu düşündürmektedir (148).

Santral etkili bir antihipertansif ajan olan klonidin sempatik aktiviteyi azaltarak kan basıncını düşürmektedir. Bilgilerimize göre bugüne kadar kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon modelinde klonidinin etkileri araştırılmamıştır. 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 olabileceğine işaret etmektedir (107). Bu çalışmada düşük doz L-NNA uygulanmasıyla oluşturulan hipertansiyonun gelişimi klonidinin 150  $\mu$ g/100 ml konsantrasyonunda uygulanmasıyla tamamen önlenmiştir. Ancak L-NNA'nın yüksek konsantrasyonda uygulanmasıyla (45 mg/100 ml) hipertansiyon gelişimi ise kısmen önlenmiştir. Bu yüksek doz L-NNA uygulanan ratların aldığı günlük klonidin konsantrasyonu arttırıldığında ise (225  $\mu$ g/100 ml), yüksek doz L-NNA aracılı hipertansiyon gelişimi tamamen önlenmektedir. Klonidinin kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişimini doz-bağımlı önlemesi bu model hipertansiyondan sempatik aktivitedeki bir artışın sorumlu olduğuna işaret etmektedir. Santral sinir

sitemine NOS inhibitörü uygulanmasıyla oluşan hipertansiyonun gangliyon blokörü pentolinyum ile önlenmesi bu yaklaşımı desteklemektedir (109). Yüksek tuz diyeti uygulanan deneklerde uzun süreli NOS inhibisyonunun kan basıncını sodyum-duyarlı ve artmış sempatik aktivite aracılı arttırdığı bildirilmiştir. Araştırmacılar aynı zamanda sempatik aktivitedeki bir artışın sodyum duyarlılığında artmaya yol açtığına işaret etmişlerdir (93). Uzun süreli hafta boyunca %8 ve %1'lik tuz diyeti uygulanan tuz 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. Buna göre yüksek tuz diyeti alan ratların sempatik aktivitesi artmakta ve klonidin sempatik aktiviteyi zayıflatarak kan basıncını düşürmektedir (83). Yüksek tuz diyetinin SH ratlarda anterior hipotalamusta santral  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör sayısında bir artış meydana getirdiği ve bu artışın muhtemel nedeninin santral sinir sistemindeki azalmış noradrenalin düzeyi olduğuna işaret edilmiştir (168). Bu çalışmada sodyum tutulumu incelenmemiş olmakla birlikte daha önceki çalışmalarda NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyona artmış sodyum tutulumunun katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar NOS inhibitörlerinin sistemik uygulandığında hipertansiyon oluşturmayan dozlarının santral sinir sistemine uygulanmasıyla kan basıncının arttığını, kan basıncındaki bu artışın özellikle yüksek tuz diyeti alan ratlarda daha da şiddetlendiğini göstermişlerdir (108, 169, 170). Nakanishi ve ark. da yaptıkları çalışmada uzun süreli NOS inhibisyonu sonucu meydana gelen kan basıncı artışından artmış tuz tutulumunun sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (94). Yüksek doz NOS inhibitörü alan gruba yüksek tuz verildiğinde ise hipertansiyonun dahada şiddetlenmesi bu görüşü desteklemektedir (82). Bu veriler kronik NOS inhibisyonunda kan basıncı

artışından özellikle sempatik aktivitedeki ve kısmende sodyum tutulumundaki bir artışın sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

Klonidinin santral sinir sistemine i.c.v. enjeksiyonunun hipotansiyon oluşturmaları, hem *in vivo* hemde *in vitro* olarak NTS içerisine verildiğinde NO konsantrasyonu artırması ve hipotansif etkisinin L-NNA ilave edildiğinde önlenmesi üzerine klonidinin santral sempatolitik etkisine NO'nin aracılık ettiği ileri sürülmüştür (127). Bu çalışmada ise L-NNA uygulanmasıyla hipertansiyon gelişiminin klonidin tarafından doz bağımlı olarak önlenmesi, özellikle yüksek doz L-NNA alan ratlarda güçlü bir NOS inhibisyonunun olduğu düşünülürse klonidinin santral antihipertansif etkisine NO'nin önem arz edecek derecede katılmadığı ileri sürülebilir. Diğer araştırmacıların yaptığı bir çalışmada klonidinin intrasisternal uygulamasıyla meydana gelen hipotansiyonun L-NNA ile önlenmemesi bu görüşü desteklemektedir (128). Fakat *in vitro* çalışmalardaki bulgular klonidinin endotelyumdan salınan kasıcı ve gevşetici ajanları stimüle ettiği yönündedir. Rat aortik halkaları ve mezenterik arterlerinde yapılan çalışmalarda klonidinin NO-cGMP yolağı aracılı gevşemeye yol açtığına işaret edilmiştir (171). İnsan derisindeki küçük damarlarda klonidinin hem NO hemde prostaglandin aracılı vazodilatasyona yol açtığı, ratlarda ise *in vitro* şartlarda damar çalışmalarında klonidinin kasılma cevabına tromboksan A2'nin katkısı olduğu bildirilmiştir (172, 173). Bu çalışmada *in vivo* klonidinin uygulanan ratların plazma NO<sub>x</sub> seviyelerinde bir değişiklik gözlenmemesi ve L-NNA uygulanan ratlara klonidin verildiğinde klonidinin plazma NO<sub>x</sub> miktarında anlamlı bir değişikliğe yol açmaması klonidinin NO üzerine ciddi bir etki göstermediğini düşündürmektedir.

Bir 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 aktivitenin artışıyla kan basıncının yükseldiği ileri sürülmektedir (174). Fakat NOS inhibisyonunda plazma noradrenalin düzeyinin değişmediğini gösteren çalışmalar mevcut olmakla beraber bu durum noradrenalin siklusundaki bir artışı dışlamamaktadır. Üstelik noradrenalin düzeyi değişmese dahi vasküler yataklarda sempatik duyarlılıkta meydana gelen bir artış periferik vazokonstriksiyona ve dolayısıyla kan basıncının yükselmesine neden olabilir (175). Bu çalışmada da düşük doz L-NNA alan grupta torasik aortada  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör duyarlılığı artarken, yüksek doz L-NNA alan grupta ise hem  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör hem de  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılığında artış tespit edilmiştir. Bu sonuç NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda sempatik aktivitedeki ve ayrıca sempatik duyarlılıktaki bir artışın vasküler yataklarda artmış vazokonstriksiyondan sorumlu olabileceği görüşünü desteklemektedir. Literatürdeki veriler ve bu çalışmanın bulguları biraraya getirildiğinde bu çalışmada uygulanan dozlarda, sonuçlar kronik NOS inhibisyonunda kan basıncı artışından santral ve periferik sempatik aktivitedeki bir artışın sorumlu olduğuna işaret etmektedir.

Kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon modeli ile yapılan önceki araştırmalar gözönüne alındığında bu model hipertansiyonda kan basıncı artışı ortak bir bulgu iken, kalp hızı bulgularının azaldığını, arttığını yada değişmediğini bildiren çeşitli çalışmalar vardır. Bu çalışmada L-NNA'nın düşük ve yüksek dozlarının uygulanmasıyla gelişen hipertansiyonda kalp hızı anlamlı olarak düşmektedir. L-NNA ve L-NAME'nin yaklaşık 10-70 mg/kg/gün doz aralığında uzun süreli uygulamasıyla kalp hızında düşme meydana geldiğini bildiren çalışmalar bulgularımızı desteklemektedir (87, 100, 110, 140). Bir L-arjinin alkil esteri olan L-NAME etkili bir muskarinik reseptör antagonisti iken, bir nitroarjinin bileşiği olan L-NNA ise antimuskarinik bir özellik göstermez (50).

Kalp hızında meydana gelen düşmeden L-NNA'nın direkt AV ve/veya SA nodal etkisinden ziyade L-NNA uygulaması ile artmış kan basıncına karşı gelişen bir baroreseptör refleks cevap aracılı vagal eksitasyon artışı sorumlu olabilir. Yabe ve ark. kedilerde yaptıkları çalışmada akut L-NNA uygulaması sonucu kan basıncının arttığını, kalp hızının ise düştüğünü bildirmişlerdir. Onlara göre NO kardiyak iletimi direkt olarak değil fakat vagal kolinerjik mekanizma aracılığıyla indirekt olarak düzenlemektedir. Bu araştırmacılar L-NNA uygulaması sonucunda hem intak hem de denerve kedilerde kardiyak sempatik sinir aktivitesinde herhangi bir artışın olmadığını, vagal denervasyon yapılan kedilerde kalp hızının arttığını ve bu nedenle sempatik sistemin NO aracılı kardiyak iletimin düzenlenmesine herhangi bir katkısının olası olmadığına işaret etmişlerdir (176). Akut NOS inhibitörü uygulamalarında kalp hızında meydana gelen düşmenin kan basıncındaki ani artışa refleks bir yanıtta kaynaklanması söz konusu olabilir. Uzun süreli NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda ise artmış sempatik aktiviteyi baskılamak için baroreseptör refleks aktivasyonuna bağlı kalp hızında bir azalma olabileceğine işaret edilmiştir (137, 177). Fakat NOS inhibitörleri farklı doz ve sürelerde uygulandığında kalp hızının arttığını veya değişiklik olmadığını bildiren çalışmalarda vardır (91, 97, 178-181). Gerçekte çok yüksek dozlarda (yaklaşık 100-150 mg/kg/gün) kronik NOS inhibitörü uygulanan ratların kan basıncı yükselirken kalp hızlarında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir, fakat kardiyak indekste bir artış meydana gelmiştir (178, 179). Çok yüksek dozda L-NAME kullanılan bu iki çalışmada başka sistemler aktive olmuş olabilir. Bu çalışmada da yüksek doz L-NNA alan grubun 10.gündeki kalp hızı düşük doz L-NNA alan gruba karşılaştırıldığında kalp hızındaki düşme göreceli olarak daha azdır. Elde edilen sonuçlardaki çelişkinin nedeni deneylerde farklı denek türlerinin kullanılması, çeşitli NOS inhibitörlerinin değişik doz ve sürelerde

uygulanması ve/veya deneklere uygulanan deneysel prosedürlerdeki farklılık olabilir (137). Kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon modelinde kalp hızı ile çelişkili sonuçlar olsa da, genel olarak NOS inhibitörleri 10-70 mg/kg/gün doz aralığında uygulandığında kan basıncı artışına kalp hızında bir azalmanın eşlik ettiği görülmektedir. Bu çalışmada L-NNA'nın kronik uygulanması sonucu kan basıncı artmış kalp hızı ise azalmıştır. Klonidin yükselmiş olan kan basıncını doz bağımlı olarak düşürmekle birlikte azalmış olan kalp hızını etkilememiş, yine normotensif kontrol ratlarda da kalp hızına etki etmemiştir. Klonidin kronik olarak uygulandığında genel olarak normotensif hayvanlarda ve SH ratlarda yapılan çalışmalarda kan basıncının devamlı düşük seyrettiği fakat kalp hızında bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (121, 158, 159, 163, 164). Diğer hipertansiyon modellerinde de kronik klonidin uygulamasının kalp hızını etkilemediği gösterilmiştir (83, 182). Klonidin kronik uygulamada kan basıncını düşürmesine rağmen kalp hızında anlamlı bir değişikliğe yol açmaması kalp hızını kontrol eden sistemlerin duyarlılığının kan basıncını düzenleyen sistemlere göre daha düşük olduğuna işaret etmektedir (146, 159). Kalp hızının ve kan basıncının santral düzenlenmesinin kısmen birbirinden bağımsız olması da söz konusudur ki  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin, klonidin uygulamasıyla kan basıncında meydana gelen düşüşü önlerken kalp hızındaki düşüşü ise etkilememiştir (153).

On gün süreyle L-NNA uygulaması Emax değişikliği yapmaksızın  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerde duyarlılık artışı meydana getirmekte ve bu artış doz-bağımlı bir görünüm arz etmektedir. Yine uzun süre klonidin uygulaması  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılığını doz-bağımlı bir şekilde arttırmaktadır. Bu duyarlılık artışı klonidin uygulama süresinde oluşan sempatotik etkinliğinin bir göstergesi olabilir. On gün boyunca tek başına L-NNA veya klonidin uygulanan ratlarda meydana gelen  $\alpha_1$ -

ve/veya  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılıklarındaki artış L-NNA ve klonidin birlikte uygulandığında geri dönmüştür. Uzun süreli L-NNA ve klonidin uygulaması ile  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlerde meydana gelen duyarlılık artışı *in vitro* şartlarda ortama İNDO Krebs ilave edildiğinde geri dönmüştür. Bu durum araşidonik asit metabolitlerinin  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör aktivitesini etkilediğini düşündürmektedir.

Özetle bu çalışmada;

Kronik L-NNA uygulamasıyla gelişen hipertansiyonun doz-bağımlı olduğu ve ratların kalp hızında düşme meydana getirdiği,

Tek başına uzun süre klonidin uygulamasının, uygulanan dozlarda, normotensif ratların kan basıncını ve kalp hızını etkilemediği,

L-NNA uygulaması ile hipertansiyon gelişiminin klonidin tarafından doz bağımlı bir şekilde önlendiği, fakat L-NNA uygulamasıyla düşen kalp hızını değiştirmedeği,

Düşük doz L-NNA uygulamasının plazma NOx seviyelerini artırırken, yüksek doz L-NNA, tek başına klonidin uygulaması ve L-NNA+klonidin uygulamalarının plazma NOx düzeylerini etkilemediği,

Düşük doz L-NNA uygulanan ratların torasik aorta halkalarının  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının arttığı, yüksek doz L-NNA uygulanan ratlarda ise hem  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör hem de  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının arttığı,

Klonidin düşük dozlarda uygulandığında ratların torasik aorta halkalarının  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının arttığı ancak daha yüksek dozlarda uygulandığında ise torasik aortanın  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının arttığı,

Düşük ve yüksek doz L-NNA uygulamasının torasik aorta halkalarının  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılığındaki artışı klonidinin düşük dozlarda azalttığı, ancak

yüksek doz klonidinin yüksek doz L-NNA'nın oluşturduğu artmış  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör duyarlılığını değiştirmediği ,

Uzun süreli L-NNA ve klonidin uygulaması sonucu  $\alpha_1$ - ve  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılıklarında meydana gelen artışın *in vitro* L-NNA ve İNDO varlığında geri döndüğü gösterilmiştir.

L-NNA uygulaması ile hipertansiyon gelişiminin klonidin ile önlenirken, L-NNA uygulaması ile düşmüş kalp hızının düzelmemesi, kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonda kalp hızı düşüşünün artmış kan basıncına refleks bir yanıtta kaynaklanmadığına işaret etmektedir. Düşük doz L-NNA uygulaması ile torasik aortada  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör ve yüksek doz L-NNA uygulaması ile hem  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör hem de  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının artması da meydana gelen hipertansiyona katkıda bulunabilir. Düşük doz klonidin uygulamasıyla torasik aortada  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının artması, yüksek doz klonidin uygulamasıyla  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör duyarlılığının artması, klonidinin sempatolitik etkisinin göstergesi olarak düşünülebilir. Sonuç olarak kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyon gelişiminin klonidin tarafından önlenmesi bu model hipertansiyonun gelişiminden esas olarak sempatik sinir sistemi aktivasyonunun sorumlu olduğu görüşünü desteklemektedir. Bu çalışmada klonidinin kronik NOS inhibisyonu aracılı hipertansiyonun gelişimini doz bağımlı olarak önlediğı ilk kez gösterilmiştir.

## 7.KAYNAKLAR

1. 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;21:184-190.
2. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142.
3. Hill C, Lateef AM, Engels K, Samsell L, Baylis C: Basal and stimulated nitric oxide in control of kidney function in the aging rat. *Am J Physiol* 1997;272:R1747-1753.
4. 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;129:397-400.
5. Linder L, Kiowski W, Buhler FR, Luscher TF: Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. *Circulation* 1990;81:1762-1767.
6. 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;20:298-303.
7. Tugrul İ, Oktar S, Deniz E, Yılmaz E, Aksulu HE: NOS inhibition mediated hypertension: High and low doses of L-NNA administration. In Turkish Pharmacological Society, 17th National Congress of Pharmacology, 1st Clinical Pharmacology Symposium, Joint Meeting of the Turkish Dutch Pharmacological Societies Belek, Antalya/TURKEY, 2003.
8. Vapaatalo H, Mervaala E, Nurminen ML: Role of endothelium and nitric oxide in experimental hypertension. *Physiol Res* 2000;49:1-10.
9. Halbrugge T, Lutsch K, Thyen A, Graefe KH: Role of nitric oxide formation in the regulation of haemodynamics and the release of noradrenaline and adrenaline. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1991;344:720-727.
10. Toda N, Kitamura Y, Okamura T: Neural mechanism of hypertension by nitric oxide synthase inhibitor in dogs. *Hypertension* 1993;21:3-8.
11. Aksulu HE, Bingol I, Karatas F, Sagmanligil H, Ustundag B: Changes in plasma angiotensin-converting enzyme activity and noradrenaline responses to long-term nitric oxide inhibition vary depending on their basal values in chickens. *Physiol Res* 2000;49:175-182.
12. Kanagy NL: Increased vascular responsiveness to alpha 2-adrenergic stimulation during NOS inhibition-induced hypertension. *Am J Physiol* 1997;273:H2756-2764.

13. Tugrul İ: Sıçanlarda uzun süreli nitrik oksid sentaz (NOS) ve siklooksijenaz (COX) enzimlerinin birlikte inhibisyonu (ko-inhibisyon) sonucu kan basıncı ve alfa adrenerjik agonistlere karşı gelişen vasküler cevaplar. In *Tibbi Farmakoloji AbD*. Elazığ, Firat Üniversitesi, 2002:82.
14. 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;19:241-248.
15. Takase H, Moreau P, Kung CF, Nava E, Luscher TF: Antihypertensive therapy prevents endothelial dysfunction in chronic nitric oxide deficiency. Effect of verapamil and trandolapril. *Hypertension* 1996;27:25-31.
16. Kato M, Matsumoto A, Nakajima T, Hirose K, Iwasawa K, Takenaka K, Yamashita H, Sugiura S, Hirata Y, Nagai R: Amlodipine increases nitric oxide production in exhaled air during exercise in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2004;17:729-733.
17. Cubeddu LX, Hoffmann IS, Davila S, Escontrelas C, Morales C, Rios A: Effects of propranolol, clonidine and hydrochlorothiazide treatment and abrupt discontinuation on central and peripheral noradrenergic activity in essential hypertension. *Life Sci* 1986;39:2463-2474.
18. Eerdmans PH, Struyker Boudier HA, De Mey JG: Contractile reactivity of isolated resistance arteries after 4 weeks of treatment with rilmenidine, clonidine or hydralazine in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens Suppl* 1991;9:S348-349.
19. Figueroa XF, Poblete MI, Boric MP, Mendizabal VE, Adler-Graschinsky E, Huidobro-Toro JP: Clonidine-induced nitric oxide-dependent vasorelaxation mediated by endothelial alpha(2)-adrenoceptor activation. *Br J Pharmacol* 2001;134:957-968.
20. Zatz R, Baylis C: Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertension* 1998;32:958-964.
21. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
22. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA: The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1988;12:365-372.
23. Maxwell AJ: Mechanisms of dysfunction of the nitric oxide pathway in vascular diseases. *Nitric Oxide* 2002;6:101-124.
24. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG: Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001;357:593-615.

25. Dinerman JL, Lowenstein CJ, Snyder SH: Molecular mechanisms of nitric oxide regulation. Potential relevance to cardiovascular disease. *Circ Res* 1993;73:217-222.
26. Dawson VL, Dawson TM: Nitric oxide neurotoxicity. *J Chem Neuroanat* 1996;10:179-190.
27. Stefano GB, Salzet M, Magazine HI, Bilfinger TV: Antagonism of LPS and IFN-gamma induction of iNOS in human saphenous vein endothelium by morphine and anandamide by nitric oxide inhibition of adenylate cyclase. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31:813-820.
28. Hibbs JB, Jr., Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM: Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;157:87-94.
29. Brady AJ, Warren JB, Poole-Wilson PA, Williams TJ, Harding SE: Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction. *Am J Physiol* 1993;265:H176-182.
30. Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ, Hofmann K, Simmons RL: Hepatocytes produce nitrogen oxides from L-arginine in response to inflammatory products of Kupffer cells. *J Exp Med* 1989;170:1769-1774.
31. Knowles RG, Merrett M, Salter M, Moncada S: Differential induction of brain, lung and liver nitric oxide synthase by endotoxin in the rat. *Biochem J* 1990;270:833-836.
32. Marletta MA: Nitric oxide synthase: function and mechanism. *Adv Exp Med Biol* 1993;338:281-284.
33. Langrehr JM, Murase N, Markus PM, Cai X, Neuhaus P, Schraut W, Simmons RL, Hoffman RA: Nitric oxide production in host-versus-graft and graft-versus-host reactions in the rat. *J Clin Invest* 1992;90:679-683.
34. Nathan C: Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Faseb J* 1992;6:3051-3064.
35. Niemann A, Bjorklund A, Eizirik DL: Studies on the molecular regulation of the inducible form of nitric oxide synthase (iNOS) in insulin-producing cells. *Mol Cell Endocrinol* 1994;106:151-155.
36. Rojas J, Paya M, Devesa I, Dominguez JN, Ferrandiz ML: Therapeutic administration of 3,4,5-trimethoxy-4'-fluorochalcone, a selective inhibitor of iNOS expression, attenuates the development of adjuvant-induced arthritis in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2003;368:225-233.
37. Tsukahara Y, Morisaki T, Kojima M, Uchiyama A, Tanaka M: iNOS expression by activated neutrophils from patients with sepsis. *ANZ J Surg* 2001;71:15-20.



38. Cooke JP, Dzau VJ: Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med* 1997;48:489-509.
39. Zoghi M, Nalbantgil I: [Hypertension and endothelial dysfunction]. *Anadolu Kardiyol Derg* 2002;2:142-147, AXVIII.
40. Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, Ignarro LJ: Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991;17:187-193.
41. Posch K, Schmidt K, Graier WF: Selective stimulation of L-arginine uptake contributes to shear stress-induced formation of nitric oxide. *Life Sci* 1999;64:663-670.
42. 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:C1405-1413.
43. Janssens S, Flaherty D, Nong Z, Varenne O, van Pelt N, Haustermans C, Zoldhelyi P, Gerard R, Collen D: Human endothelial nitric oxide synthase gene transfer inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation after balloon injury in rats. *Circulation* 1998;97:1274-1281.
44. Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:4651-4655.
45. Lefer DJ, Jones SP, Girod WG, Baines A, Grisham MB, Cockrell AS, Huang PL, Scalia R: Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice. *Am J Physiol* 1999;276:H1943-1950.
46. 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;514:91-98.
47. Nabah YN, Mateo T, Cerda-Nicolas M, Alvarez A, Martinez M, Issekutz AC, Sanz MJ: L-NAME induces direct arteriolar leukocyte adhesion, which is mainly mediated by angiotensin-II. *Microcirculation* 2005;12:443-453.
48. Wink DA, Miranda KM, Espey MG: Cytotoxicity related to oxidative and nitrosative stress by nitric oxide. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001;226:621-623.
49. Deutsch DG, Goligorsky MS, Schmid PC, Krebsbach RJ, Schmid HH, Das SK, Dey SK, Arreaza G, Thorup C, Stefano G, Moore LC: Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest* 1997;100:1538-1546.
50. 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;72:387-395.

51. Chowdhary S, Vaile JC, Fletcher J, Ross HF, Coote JH, Townend JN: Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. *Hypertension* 2000;36:264-269.
52. 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:R487-491.
53. 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;89:12048-12052.
54. Tagawa T, Imaizumi T, Harada S, Endo T, Shiramoto M, Hirooka Y, Takeshita A: Nitric oxide influences neuronal activity in the nucleus tractus solitarius of rat brainstem slices. *Circ Res* 1994;75:70-76.
55. Jung HC, Mun KH, Park TC, Lee YC, Park JM, Huh K, Seong DH, Suh JK: Role of nitric oxide in penile erection. *Yonsei Med J* 1997;38:261-269.
56. Holzer P, Livingston EH, Saria A, Guth PH: Sensory neurons mediate protective vasodilatation in rat gastric mucosa. *Am J Physiol* 1991;260:G363-370.
57. 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;269:626-631.
58. Ito S: Nitric oxide in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995;4:23-30.
59. 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.
60. Lindsay RM, Peet RS, Wilkie GS, Rossiter SP, Smith W, Baird JD, Williams BC: In vivo and in vitro evidence of altered nitric oxide metabolism in the spontaneously diabetic, insulin-dependent BB/Edinburgh rat. *Br J Pharmacol* 1997;120:1-6.
61. Kimura H, Hokari R, Miura S, Shigematsu T, Hirokawa M, Akiba Y, Kurose I, Higuchi H, Fujimori H, Tsuzuki Y, Serizawa H, Ishii H: 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;42:180-187.
62. Miller MJ, Sadowska-Krowicka H, Chotinaruemol S, Kakkis JL, Clark DA: Amelioration of chronic ileitis by nitric oxide synthase inhibition. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;264:11-16.
63. 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;65:739-749.

64. 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;96:467-472.
65. Rejdak K, Petzold A, Sharpe MA, Smith M, Keir G, Stelmasiak Z, Thompson EJ, Giovannoni G: Serum and urine nitrate and nitrite are not reliable indicators of intrathecal nitric oxide production in acute brain injury. *J Neurol Sci* 2003;208:1-7.
66. Ellis G, Adatia I, Yazdanpanah M, Makela SK: Nitrite and nitrate analyses: a clinical biochemistry perspective. *Clin Biochem* 1998;31:195-220.
67. Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-2012.
68. Zhao H, Shimokawa H, Uragami-Harasawa L, Igarashi H, Takeshita A: Long-term vascular effects of Nomega-nitro-L-arginine methyl ester are not solely mediated by inhibition of endothelial nitric oxide synthesis in the rat mesenteric artery. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;33:554-566.
69. Vallance P, Chan N: Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart* 2001;85:342-350.
70. Darblade B, Batkai S, Causse E, Gourdy P, Fouque MJ, Rami J, Arnal JF: Failure of L-nitroarginine to inhibit the activity of aortic inducible nitric oxide synthase. *J Vasc Res* 2001;38:266-275.
71. Knowles RG, Moncada S: Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994;298 ( Pt 2):249-258.
72. Boulanger CM: Secondary endothelial dysfunction: hypertension and heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:39-49.
73. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuiliez C, Luscher TF: Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995;91:1314-1319.
74. Joannides R, Richard V, Haefeli WE, Linder L, Luscher TF, Thuiliez C: Role of basal and stimulated release of nitric oxide in the regulation of radial artery caliber in humans. *Hypertension* 1995;26:327-331.
75. Gerova M: Nitric oxide-compromised hypertension: facts and enigmas. *Physiol Res* 2000;49:27-35.
76. 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;101:625-631.

77. Wang YX, Gavras I, Wierzba T, Lammek B, Gavras H: Inhibition of nitric oxide, bradykinin, and prostaglandins in normal rats. *Hypertension* 1992;19:II255-261.
78. Baylis C, Harton P, Engels K: Endothelial derived relaxing factor controls renal hemodynamics in the normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 1990;1:875-881.
79. Johnson RA, Freeman RH: Pressure natriuresis in rats during blockade of the L-arginine/nitric oxide pathway. *Hypertension* 1992;19:333-338.
80. Salazar FJ, Pinilla JM, Lopez F, Romero JC, Quesada T: Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1992;20:113-117.
81. Moncada S: Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 1999;92:164-169.
82. 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;27:1165-1172.
83. Jin HK, Yang RH, Wyss JM, Chen YF, Oparil S: Intrahypothalamic clonidine infusion prevents NaCl-sensitive hypertension. *Hypertension* 1991;18:224-229.
84. 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:H1918-1926.
85. Kone BC, Baylis C: Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol* 1997;272:F561-578.
86. Qiu C, Engels K, Baylis C: Angiotensin II and alpha 1-adrenergic tone in chronic nitric oxide blockade-induced hypertension. *Am J Physiol* 1994;266:R1470-1476.
87. Loichot C, Cazaubon C, Grima M, De Jong W, Nisato D, Imbs JL, Barthelmebs M: Vasopressin does not effect hypertension caused by long-term nitric oxide inhibition. *Hypertension* 2000;35:602-608.
88. 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;90:278-281.
89. Yamamoto K, Shimamura K, Sekiguchi F, Sunano S: Effects of NG-nitro-L-arginine on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats with different degrees of hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2001;23:533-544.
90. Johnson RA, Freeman RH: Sustained hypertension in the rat induced by chronic blockade of nitric oxide production. *Am J Hypertens* 1992;5:919-922.

91. Jover B, Herizi A, Ventre F, Dupont M, Mimran A: Sodium and angiotensin in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade. *Hypertension* 1993;21:944-948.
92. Granger JP, Alexander BT: Abnormal pressure-natriuresis in hypertension: role of nitric oxide. *Acta Physiol Scand* 2000;168:161-168.
93. Yuasa S, Li X, Hitomi H, Hashimoto M, Fujioka H, Kiyomoto H, Uchida K, Shoji T, Takahashi N, Miki S, Miyatake A, Mizushige K, Matsuo H: Sodium sensitivity and sympathetic nervous system in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:18-24.
94. Nakanishi K, Hara N, Nagai Y: Salt-sensitive hypertension in conscious rats induced by chronic nitric oxide blockade. *Am J Hypertens* 2002;15:150-156.
95. Pollock DM, Polakowski JS, Divish BJ, Opgenorth TJ: Angiotensin blockade reverses hypertension during long-term nitric oxide synthase inhibition. *Hypertension* 1993;21:660-666.
96. Sigmon DH, Carretero OA, Beierwaltes WH: Plasma renin activity and the renal response to nitric oxide synthesis inhibition. *J Am Soc Nephrol* 1992;3:1288-1294.
97. Vasquez EC, Cunha RS, Cabral AM: Baroreceptor reflex function in rats submitted to chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Braz J Med Biol Res* 1994;27:767-774.
98. Qiu C, Muchant D, Beierwaltes WH, Racusen L, Baylis C: Evolution of chronic nitric oxide inhibition hypertension: relationship to renal function. *Hypertension* 1998;31:21-26.
99. 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;11:1083-1088.
100. Hu L, Manning RD, Jr., Brands MW: Long-term cardiovascular role of nitric oxide in conscious rats. *Hypertension* 1994;23:185-194.
101. Knoblich PR, Freeman RH, Villarreal D: Pressure-dependent renin release during chronic blockade of nitric oxide synthase. *Hypertension* 1996;28:738-742.
102. Kashiwagi M, Shinozaki M, Hirakata H, Tamaki K, Hirano T, Tokumoto M, Goto H, Okuda S, Fujishima M: Locally activated renin-angiotensin system associated with TGF-beta1 as a major factor for renal injury induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase in rats. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:616-624.
103. Tseng CJ, Liu HY, Lin HC, Ger LP, Tung CS, Yen MH: Cardiovascular effects of nitric oxide in the brain stem nuclei of rats. *Hypertension* 1996;27:36-42.

104. Zhang K, Mayhan WG, Patel KP: Nitric oxide within the paraventricular nucleus mediates changes in renal sympathetic nerve activity. *Am J Physiol* 1997;273:R864-872.
105. Traystman RJ, Moore LE, Helfaer MA, Davis S, Banasiak K, Williams M, Hurn PD: Nitro-L-arginine analogues. Dose- and time-related nitric oxide synthase inhibition in brain. *Stroke* 1995;26:864-869.
106. Patel KP, Li YF, Hirooka Y: Role of nitric oxide in central sympathetic outflow. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001;226:814-824.
107. Zanchi A, Schaad NC, Osterheld MC, Grouzmann E, Nussberger J, Brunner HR, Waeber B: Effects of chronic NO synthase inhibition in rats on renin-angiotensin system and sympathetic nervous system. *Am J Physiol* 1995;268:H2267-2273.
108. 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;81:279-285.
109. Moriguchi S, Ohzuru N, Koga N, Honda K, Saito R, Takano Y, Kamiya H: Central administration of a nitric oxide synthase inhibitor causes pressor responses via the sympathetic nervous system and the renin-angiotensin system in Wistar rats. *Neurosci Lett* 1998;245:109-112.
110. Matsuoka H, Nishida H, Nomura G, Van Vliet BN, Toshima H: Hypertension induced by nitric oxide synthesis inhibition is renal nerve dependent. *Hypertension* 1994;23:971-975.
111. 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;30:64-70.
112. Hayashi Y, Maze M: Alpha 2 adrenoceptor agonists and anaesthesia. *Br J Anaesth* 1993;71:108-118.
113. Bailey PL, Sperry RJ, Johnson GK, Eldredge SJ, East KA, East TD, Pace NL, Stanley TH: Respiratory effects of clonidine alone and combined with morphine, in humans. *Anesthesiology* 1991;74:43-48.
114. Lowenstein J: Drugs five years later: clonidine. *Ann Intern Med* 1980;92:74-77.
115. Kobinger W: Central  $\alpha$ -adrenergic systems as targets for hypotensive drugs. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1978;81:39-100.
116. Crill WE, Reis DJ: Distribution of carotid sinus and depressor nerves in cat brain stem. *Am J Physiol* 1968;214:269-276.

117. Boissier JR, Giudicelli JF, Fichelle J, Schmitt H, Schmitt H: Cardiovascular effects of 2-(2,6-dichlorophenylamino)-2-imidazoline hydrochloride (ST 155). I. Peripheral sympathetic system. *Eur J Pharmacol* 1968;2:333-339.
118. Hokfelt B, Hedeland H, Dymling JF: Studies on catecholamines, renin and aldosterone following Catapresan (2-(2,6-dichlor-phenylamine)-2-imidazoline hydrochloride) in hypertensive patients. *Eur J Pharmacol* 1970;10:389-397.
119. Smith LJ, Sussman AM, Serra M, Buccafusco JJ: Long term treatment with clonidine during the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1985;47:457-460.
120. Soares de Moura RS, Leao MC, Castro Resende AC, Moreira CF, Sena KM, Silveira SS, Lima AF, Nunes FR, Mesquita Ferreira AG: Actions of L-NAME and methylene blue on the hypotensive effects of clonidine and rilmenidine in the anesthetized rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35:791-795.
121. Soltis EE, Newman PS, Trowbridge JL: Differential cerebrovascular responsiveness in spontaneously hypertensive rats following antihypertensive treatment with clonidine and verapamil. *Life Sci* 1993;53:PL303-307.
122. Brod J, Horbach L, Just H, Rosenthal J, Nicolescu R: Acute effects of clonidine on central and peripheral haemodynamics and plasma renin activity. *Eur J Clin Pharmacol* 1972;4:107-114.
123. Lund-Johansen P: Hemodynamic changes at rest and during exercise in long-term clonidine therapy of essential hypertension. *Acta Med Scand* 1974;195:111-115.
124. Guthrie GP, Jr., Kotchen TA: Effects of prazosin and clonidine on sympathetic and baroreflex function in patients with essential hypertension. *J Clin Pharmacol* 1983;23:348-354.
125. Szemeredi K, Zukowska-Grojec Z, Bagdy G, Hill J, Kopin IJ: Evidence for a direct peripheral effect of clonidine on the norepinephrine release in vivo in pithed rats. *Eur J Pharmacol* 1988;145:251-255.
126. Tank J, Jordan J, Diedrich A, Obst M, Plehm R, Luft FC, Gross V: Clonidine improves spontaneous baroreflex sensitivity in conscious mice through parasympathetic activation. *Hypertension* 2004;43:1042-1047.
127. Dobrucki LW, Cabrera CL, Bohr DF, Malinski T: Central hypotensive action of clonidine requires nitric oxide. *Circulation* 2001;104:1884-1886.

128. Sy GY, Bruban V, Bousquet P, Feldman J: Nitric oxide and central antihypertensive drugs: one more difference between catecholamines and imidazolines. *Hypertension* 2001;37:246-249.
129. Chevillard C, Pasquier R, Duchene N, Alexandre JM: Mechanism of inhibition of renin release by clonidine in rats. *Eur J Pharmacol* 1978;48:451-454.
130. Vandongen R, Greenwood DM: The inhibition of renin secretion in the isolated rat kidney by clonidine hydrochloride (Catapres). *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1975;2:583-588.
131. Fyhrquist F, Kurppa K, Huuskonen M: Plasma renin activity, blood pressure and sodium excretion during treatment with clonidine. *Acta Med Scand* 1975;197:457-461.
132. Pettinger WA, Mitchell HC: Renin release, saralasin and the vasodilator-beta-blocker drug interaction in man. *N Engl J Med* 1975;292:1214-1217.
133. Geyskes GG, Boer P, Dorhout Mees EJ: Clonidine withdrawal. Mechanism and frequency of rebound hypertension. *Br J Clin Pharmacol* 1979;7:55-62.
134. Reid JL, Wing LM, Dargie HJ, Hamilton CA, Davies DS, Dollery CT: Clonidine withdrawal in hypertension. Changes in blood-pressure and plasma and urinary noradrenaline. *Lancet* 1977;1:1171-1174.
135. Cortas NK, Wakid NW: Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36:1440-1443.
136. Pfeiffer S, Leopold E, Schmidt K, Brunner F, Mayer B: Inhibition of nitric oxide synthesis by NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME): requirement for bioactivation to the free acid, NG-nitro-L-arginine. *Br J Pharmacol* 1996;118:1433-1440.
137. 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:R367-374.
138. Tolins JP, Shultz PJ: Endogenous nitric oxide synthesis determines sensitivity to the pressor effect of salt. *Kidney Int* 1994;46:230-236.
139. Ishii R, Naruse T, Tagawa T, Yamahata T, Dote S, Hamada K, Ishida T, Funabiki K, Namba K: Antihypertensive effects of a new transdermal delivery system for clonidine (M-5041T) in spontaneously hypertensive rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1994;327:294-308.
140. Dananberg J, Sider RS, Grekin RJ: Sustained hypertension induced by orally administered nitro-L-arginine. *Hypertension* 1993;21:359-363.



141. Ribeiro MO, Antunes E, Muscara MN, De Nucci G, Zatz R: Nifedipine prevents renal injury in rats with chronic nitric oxide inhibition. *Hypertension* 1995;26:150-155.
142. Vayssettes-Courchay C, Bouysset F, Cordi AA, Laubie M, Verbeuren TJ: A comparative study of the reversal by different alpha 2-adrenoceptor antagonists of the central sympatho-inhibitory effect of clonidine. *Br J Pharmacol* 1996;117:587-593.
143. Jarrott B, Conway EL, Maccarrone C, Lewis SJ: Clonidine: understanding its disposition, sites and mechanism of action. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1987;14:471-479.
144. Aggarwal A, Esler MD, Morris MJ, Lambert G, Kaye DM: Regional sympathetic effects of low-dose clonidine in heart failure. *Hypertension* 2003;41:553-557.
145. Kallio A, Saraste M, Scheinin M, Hartiala J, Scheinin H: Acute hemodynamic effects of medetomidine and clonidine in healthy volunteers: a noninvasive echocardiographic study. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;16:28-33.
146. Kooner JS, Birch R, Frankel HL, Peart WS, Mathias CJ: Hemodynamic and neurohormonal effects of clonidine in patients with preganglionic and postganglionic sympathetic lesions. Evidence for a central sympatholytic action. *Circulation* 1991;84:75-83.
147. Mitchell A, Buhrmann S, Opazo Saez A, Rushentsova U, Schafers RF, Philipp T, Nurnberger J: Clonidine lowers blood pressure by reducing vascular resistance and cardiac output in young, healthy males. *Cardiovasc Drugs Ther* 2005;19:49-55.
148. Talke PO, Caldwell JE, Richardson CA, Heier T: The effects of clonidine on human digital vasculature. *Anesth Analg* 2000;91:793-797.
149. Gorzalczany SB, Opezzo JA, del Carmen Garcia M, Taira CA: Effects of clonidine on the experimental hypertension by abdominal aortic coarctation in rats. *Pharmacol Res* 2003;48:17-24.
150. Gulati A, Srimal RC: Endothelin antagonizes the hypotension and potentiates the hypertension induced by clonidine. *Eur J Pharmacol* 1993;230:293-300.
151. Hohage H, Hess K, Jahl C, Greven J, Schlatter E: Renal and blood pressure effects of moxonidine and clonidine in spontaneously hypertensive rats. *Clin Nephrol* 1997;48:346-352.
152. Hohage H, Schlatter E, Greven J: Effects of moxonidine and clonidine on renal function and blood pressure in anesthetized rats. *Clin Nephrol* 1997;47:316-324.
153. Pompermayer K, Salgado MC, Feldman J, Bousquet P: Cardiovascular effects of clonidine-like drugs in pithed rabbits. *Hypertension* 1999;34:1012-1015.

154. Head GA, de Jong W: Differential blood pressure responses to intracisternal clonidine, alpha-methyldopa, and 6-hydroxydopamine in conscious normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986;8:735-742.
155. Horvath G, Brodacz B, Holzer-Petsche U: Blood pressure changes after intrathecal co-administration of calcium channel blockers with morphine or clonidine at the spinal level. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2002;366:270-275.
156. Rabkin SW: Comparative effects of central administration of naloxone and clonidine on the blood pressure and heart rate response to anterior and posterior hypothalamic stimulation. *Life Sci* 1994;54:1649-1657.
157. Dabire H, Chamiot-Clerc P, Chaouche-Teyara K, Fournier B, Safar ME: Acute and chronic sympathoinhibition on carotid artery diameter of spontaneously hypertensive rats: effects of clonidine and flesinoxan. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:715-723.
158. Atkinson J, Lambas-Senas L, Parker M, Boillat N, Luthi P, Sonnay M, Seccia M, Renaud B: Chronic clonidine treatment and its withdrawal: effects on blood pressure and catecholamine synthesizing enzymes in brain-stem nuclei. *Eur J Pharmacol* 1986;121:97-106.
159. Jarrott B, Lewis SJ, Doyle AE, Louis WJ: Effects of continuous infusions (10 days) and cessation of infusions of clonidine and rilmenidine (S 3341) on cardiovascular and behavioral parameters of spontaneously hypertensive rats. *Am J Cardiol* 1988;61:39D-44D.
160. Sannajust F, Julien C, Barres C, Cerutti C, Koenig-Berard E, Sassard J: Cardiovascular effects of rilmenidine, a new alpha 2-adrenoceptor agonist, and clonidine in conscious spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1989;16:837-848.
161. Thoolen MJ, Timmermans PB, van Zwieten PA: Discontinuation syndrome after continuous infusion of clonidine in the spontaneously hypertensive rat. *Life Sci* 1981;28:2103-2109.
162. 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;38:286-291.
163. El-Mas MM, Abdel-Rahman AA: Chronic ethanol-clonidine hemodynamic interaction in telemetered spontaneously hypertensive rats. *Vascul Pharmacol* 2004;41:107-113.
164. Parkin ML, Godwin SJ, Head GA: Importance of imidazoline-preferring receptors in the cardiovascular actions of chronically administered moxonidine, rilmenidine and clonidine in conscious rabbits. *J Hypertens* 2003;21:167-178.

165. Reid JL, Barber ND, Davies DS: The clinical pharmacology of clonidine: relationship between plasma concentration and pharmacological effect in animals and man. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1980;Suppl:11-16.
166. Davies IB, Sudera D, Sever PS: Endogenous agonist regulation of alpha-adrenoceptors in man. *Clin Sci (Lond)* 1981;61 Suppl 7:207s-210s.
167. Parlow JL, Sagnard P, Begou G, Viale JP, Quintin L: The effects of clonidine on sensitivity to phenylephrine and nitroprusside in patients with essential hypertension recovering from surgery. *Anesth Analg* 1999;88:1239-1243.
168. Klangkalya B, Sripairojthikoon W, Oparil S, Wyss JM: High NaCl diet increases anterior hypothalamic alpha 2-adrenoceptors in SHR. *Brain Res* 1988;451:77-84.
169. 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;15:819-832.
170. 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:R410-417.
171. Kamata K, Kanie N, Inose A: Mechanisms underlying attenuated contractile response of aortic rings to noradrenaline in fructose-fed mice. *Eur J Pharmacol* 2001;428:241-249.
172. Blanco-Rivero J, Balfagon G, Ferrer M: Orchidectomy modulates alpha2-adrenoceptor reactivity in rat mesenteric artery through increased thromboxane A2 formation. *J Vasc Res* 2006;43:101-108.
173. Hermann D, Schlereth T, Vogt T, Birklein F: Clonidine induces nitric oxide- and prostaglandin-mediated vasodilation in healthy human skin. *J Appl Physiol* 2005;99:2266-2270.
174. 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:H296-303.
175. Ramchandra R, Barrett CJ, Malpas SC: Nitric oxide and sympathetic nerve activity in the control of blood pressure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005;32:440-446.
176. Yabe M, Nishikawa K, Terai T, Yukioka H, Fujimori M: The effects of intrinsic nitric oxide on cardiac neural regulation in cats. *Anesth Analg* 1998;86:1194-1200.
177. Matsumura K, Abe I, Tsuchihashi T, Fujishima M: Central nitric oxide attenuates the baroreceptor reflex in conscious rabbits. *Am J Physiol* 1998;274:R1142-1149.

178. Okazaki H, Minamino T, Tsukamoto O, Kim J, Okada K, Myoishi M, Wakeno M, Takashima S, Mochizuki N, Kitakaze M: Angiotensin II type 1 receptor blocker prevents atrial structural remodeling in rats with hypertension induced by chronic nitric oxide inhibition. *Hypertens Res* 2006;29:277-284.
179. Scrogin KE, Veelken R, Luft FC: Sympathetic baroreceptor responses after chronic NG-nitro-L-arginine methyl ester treatment in conscious rats. *Hypertension* 1994;23:982-986.
180. Khattab M, Ahmad M, Al-Shabanah OA, Raza M: Effects of losartan on blood pressure, oxidative stress, and nitrate/nitrite levels in the nitric oxide deficient hypertensive rats. *Receptors Channels* 2004;10:147-157.
181. Khattab MM, Mostafa A, Al-Shabanah O: Effects of captopril on cardiac and renal damage, and metabolic alterations in the nitric oxide-deficient hypertensive rat. *Kidney Blood Press Res* 2005;28:243-250.
182. Thomas L, Gasser B, Bousquet P, Monassier L: Hemodynamic and cardiac anti-hypertrophic actions of clonidine in Goldblatt one-kidney, one-clip rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:203-209.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Anamur'da 1978 yılında dünyaya geldim. İlkokulu Örtülü 100.Yıl İlkokulu'nda, ortaokulu Tekeli İlköğretim Okulu'nda ve liseyi Tekeli Lisesi'nde okudum. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1996 yılında eğitimime başladım. Bu fakülteden Temmuz 2002'de mezun oldum. Eylül 2002 TUS sınavından sonra Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda asistanlık görevine başladım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evliyim ve bir oğlum var. İngilizce bilmekteyim.