

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**L-NAME İLE HİPERTANSİYON OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KRONİK
OLARAK KALSİYUM KANAL BLOKERİ BARNİDİPİN UYGULAMASININ
VASKÜLER SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DENİZ EKER KIZILAY

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. F. İLKAY ALP**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2010

TEZ ONAYI

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

31 / 08 / 2010


Prof. Dr. Tamer DEMİRALP
Müdür

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Farmakoloji
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı : Farmakoloji
Tez Sahibi : Deniz EKER KIZILAY
Tez Başlığı : L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda kronik olarak kalsiyum kanal blokeri Barnidipin uygulamasının vasküler sistem üzerine etkilerinin incelenmesi
Sınav Yeri : Eczacılık Fakültesi
Sınav Tarihi : 26 / 08 / 2010

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1. Prof. Dr. Gül BAKTİR (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AbD)

2. Prof. Dr. B. Sönmez UYDEŞ-DOĞAN (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AbD)

3. Prof. Dr. Cihan DEMİRCİ (İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji AbD)

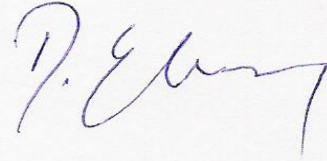
4. Yrd. Doç. Dr. F. İlkay ALP (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AbD)

5. Yrd. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AbD)

BEYAN

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

Ecz. Deniz EKER KIZILAY



İTHAF

“ Sevgili Ailem’e ithaf ediyorum.”

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, ilgisini ve desteğini her zaman hissettiğim değerli danışman hocam Sayın *Yrd. Doç. Dr. F. İlkey ALP*'e,

Yüksek lisans eğitimin süresince sağladığı bilimsel ve manevi desteğinden dolayı değerli hocam, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın *Prof. Dr. Gül BAKTIR*'a

Lisans ve yüksek lisans eğitimin boyunca bilimsel ve manevi desteği ile her zaman bana yol gösteren ve yanımda olan değerli hocam Sayın *Prof. Dr. B. Sönmez UYDEŞ DOĞAN*'a,

Deneyimlerinden yararlanma fırsatı bulduğum değerli hocam Sayın *Prof. Dr. Osman ÖZDEMİR*'e,

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

Tez çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını gördüğüm Sayın *Yrd. Doç. Dr. Selçuk TAKIR*'a ve *Yrd. Doç. Dr. Alper OKYAR*'a, manevi destek ve yönlendirmeleriyle yanımda olan Sayın *Yrd. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ*'a,

Çalışmalarım boyunca gösterdikleri dostluklarından dolayı *Dr. Ecz. Deniz KALELİ DURMAN*'a, *Dr. Ecz. Zeliha PALA KARA*'ya ve *Dr. Ecz. Nihan ÇARÇAK*'a,

Çalışmalarım süresince her zaman destekleri ve dostlukları ile yanımda olan sevgili çalışma arkadaşlarım *Uzm. Ecz. Narin ÖZTÜRK*'e, *Ecz. Deniz YAVUZ*'a ve *Ecz. İsmail Hakkı ALTUN*'a,

Tezimin tüm aşamalarında verdikleri destek ve gösterdikleri dostluktan ötürü *Uzm. Ecz. Merve AGUŞ*'a ve *Uzm. Ecz. Fulya GEZERLER*'e, çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen *Erdal DOĞAN*'a ve *Suzan DANIŞ*'a,

Yaşamımın her döneminde yanımda olan, sevgilerini ve bana duydukları güveni her zaman hissettiren *Sevgili Ailem*'e ve *Sevgili Eşim Emrah KIZILAY*'a

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4924

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
FSEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XİV
ÖZET	XVI
ABSTRACT	XVII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hipertansiyon	4
2.1.1. Hipertansiyonun Sınıflandırılması	4
2.1.2. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi	5
2.1.3. Hipertansiyonun Etiyolojisi	8
2.1.3.1. Esansiyel Hipertansiyon	10
2.1.3.2. Sekonder Hipertansiyon	10
2.1.4. Hipertansiyonun Patofizyolojisi	11
2.1.4.1. Kalp Debisi ve Periferik Direnç	11
2.1.4.2. Genetik Yatkınlık	12
2.1.4.3. Aşırı Sempatik Sistem Aktivasyonu	12
2.1.4.4. İnsülin Direnci	13
2.1.4.5. Artmış Sodyum Alımı	13
2.1.4.6. Renal Sodyum Tutulumu	14
2.1.4.7. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi	14
2.1.4.8. Endotel Disfonksiyonu	15
2.1.4.9. Vasküler Hipertrofi	16
2.1.5. Hipertansiyonun Komplikasyonları	16
2.1.5.1. Kardiyak Komplikasyonlar	17

2.1.5.2. Vasküler Komplikasyonlar	18
2.1.5.3. Serebrovasküler Komplikasyonlar	18
2.1.5.4. Renal Komplikasyonlar	19
2.1.5.5. Göz İle İlgili Komplikasyonlar	21
2.1.6. Hipertansiyon ve Endotel Disfonksiyonu.....	22
2.1.6.1. Hipertansiyonun Nitrik Oksit İle İlişkisi	22
2.1.6.2. Hipertansiyon ve Endotel Aracılı Kastırıcı Faktörlerin Etkisi.....	28
2.1.7. Kalsiyum Kanalları	29
2.1.8. Hipertansiyon ve Kalsiyum Kanalları.....	32
2.1.9. Hipertansiyonun Tedavisi.....	34
2.1.9.1. Kalsiyum Kanal Blokerleri	36
2.1.9.2. Dihidropiridin Türevi Kalsiyum Kanal Blokerleri.....	39
2.2. Barnidipin.....	41
2.2.1. Barnidipin'in Farmakolojik Etki Profili.....	42
2.2.2. Barnidipin'in Farmakokinetik Profili.....	44
2.2.3. Barnidipin'in Yan Etki Profili	45
2.2.4. Barnidipin ve İlaç Etkileşimleri.....	46
2.2.5. Barnidipin'in Toksikolojik Profili	47
2.2.6. Barnidipin'in Diğer Kalsiyum Kanal Blokerleri ile Kıyaslanması.....	47
2.2.7. Barnidipin'in Müstahzarları	48
2.3. Deneysel Hipertansiyon Modelleri.....	49
2.3.1. Spontan ve Genetik Hipertansiyon Modelleri	49
2.3.1.1. Spontan Hipertansif Sıçanlar	49
2.3.1.2. Spontan Hipertansif İnme - Eğilimli Sıçanlar.....	50
2.3.1.3. Dahl Tuz-duyarlı Sıçanlar.....	50
2.3.1.4. Transgenik Sıçan (TGR) Modeli.....	51
2.3.2. Diyet veya Farmakolojik Ajanlar ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri....	51
2.3.2.1. Aşırı Tuz Yükleme	51
2.3.2.2. DOCA-Tuz Modeli.....	52
2.3.2.3. NO Sentezinin İnhibisyonu.....	52
2.3.3. Cerrahi Girişim ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri	53
2.3.3.1. Çift Böbrek-Tek Darlık Modeli (Goldblatt Metodu, 2K1C)	53
2.3.3.2. Tek Böbrek-Tek Darlık Modeli (1K1C).....	54

2.3.3.3. Çift Böbrek-Çift Darlık Modeli (2K2C).....	54
2.3.4. Diğer Hipertansiyon Modelleri.....	54
2.3.4.1. Obezite-İlişkili Hipertansiyon.....	54
2.3.4.2. Psikojenik Hipertansiyon.....	55
2.4. Deney Hayvanlarında Kan Basıncı Ölçümü ve Takibi.....	55
2.4.1. İndirekt Ölçüm Yöntemleri (Kuyruk manşon [tail-cuff] yöntemi).....	55
2.4.2. Direkt Ölçüm Yöntemleri.....	56
2.4.2.1. Radyotelemetri.....	56
2.4.2.2. “Fluid-filled” katater	56
2.4.2.3. Transdüser Uçlu Katater.....	57
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	58
3.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri.....	58
3.2. Araç ve Gereçler.....	58
3.3. Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları	60
3.4. Yöntem.....	61
3.4.1. Sıçanlarda Hipertansiyon Oluşturulması ve Takibi	62
3.4.2. Sıçanlara Barnidipin Uygulanması	62
3.4.3. Dokuların Fonksiyonel Çalışmalar İçin Hazırlanması.....	63
3.4.3.1. Sıçan Mezenterik ve Renal Arterlerinin İzolasyonu	63
3.4.3.2. Arterlerin Standardizasyonu	63
3.4.4. Fonksiyonel Çalışmalar	64
3.4.4.1. İzole Arterlerde Kastırıcı Ajana Karşı Reaktivitenin Belirlenmesi	64
3.4.4.2. İzole Arterlerde Endotel Aracılı Gevşeme Yanıtlarının Belirlenmesi	64
3.4.4.3. İzole Arterlerde Düz Kas Aracılı Gevşeme Yanıtlarının Belirlenmesi.....	64
3.4.5. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeler	65
3.4.6. İstatistiksel Analiz.....	66
4. BULGULAR.....	67
4.1. Fonksiyonel Bulgular.....	67
4.1.1. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanların Ağırlık ve Sistolik Kan Basıncı Düzeyleri	67
4.1.2. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Noradrenalin + Potasyum Klorür (NAK)’ın Kastırıcı Etkisi.....	72

4.1.3. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Noradrenalin'in Konsantrasyon Bağımlı Kastırıcı Etkisi.....	74
4.1.4. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Asetilkolin'in Endotel Aracılı Gevşetici Etkisi	77
4.1.4.1. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Sodyum Nitroprussiyat'ın Düz Kas Aracılı Gevşetici Etkisi.....	80
4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemelerin Sonuçları	83
4.2.1. Histopatolojik Bulgular	83
4.2.1.1. Işık Mikroskobu Bulguları.....	83
4.2.1.2. Elektron Mikroskobu Bulguları	90
4.2.2. İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları	98
5. TARTIŞMA	111
KAYNAKLAR	122
ETİK KURUL KARARI.....	138
ÖZGEÇMİŞ	139

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kan Basıncının Sınıflandırılması	5
Tablo 2-2: Kan Basıncını Yükselten Nedenler	8
Tablo 2-3 : Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Sınıflandırılması	39
Tablo 4-1: Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde noradrenalinin E_{maks} ve pD_2 değerleri	76
Tablo 4-2 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde asetilkolinin E_{maks} ve pD_2 değerleri	79
Tablo 4-3: Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde sodyum nitroprussiyatın E_{maks} ve pD_2 değerleri	82

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 : Hipertansiyon Varlığında Çeşitli Ölüm Nedenlerinin Yüzde Dağılımları	7
Şekil 2-2 : ROS Aracılığıyla Hipertansiyona Neden Olan Major Yolaklar	26
Şekil 2-3 : L-tipi Kalsiyum Kanalinin Yapısal Şeması	30
Şekil 2-4 : L-tipi Kalsiyum Kanalinin Alfa1 Alt-biriminin Genel Yapısı.....	31
Şekil 2-5 : Barnidipin'in moleküler yapısı	42
Şekil 4-1 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların 0-5. hafta arasındaki ağırlık değişimleri.....	67
Şekil 4-2 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların 0-5. hafta arasındaki sistolik kan basıncı düzeyleri	68
Şekil 4-3 : Kontrol ve Kontrol+Barnidipin gruplarında sistolik kan basıncı düzeyleri. .	69
Şekil 4-4 : Kuyruk-manşon yöntemi ile Kontrol (A) ve Kontrol+Barnidipin (B) grup sıçanlara ait sistolik kan basıncı ölçümünü gösteren trase örnekleri.	70
Şekil 4-5 : Kuyruk-manşon yöntemi ile L-NAME (A) ve L-NAME+Barnidipin (B) uygulanmış sıçanlara ait sistolik kan basıncı ölçümünü gösteren trase örnekleri.....	71
Şekil 4-6 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde NAK (120 mM KCl + 10^{-4} M Noradrenalin) ile elde edilen kasılma yanıtları.	73
Şekil 4-7 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde NAK (120 mM KCl + 10^{-4} M Noradrenalin) ile elde edilen kasılma yanıtları.	73
Şekil 4-8 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde noradrenalin (NA; 10^{-8} M - 10^{-4} M) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrileri.	75
Şekil 4-9 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde noradrenalin (NA; 10^{-8} M - 10^{-4} M) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrileri.	75
Şekil 4-10 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde asetilkolinin (Ach; 10^{-9} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.....	78

Şekil 4-11 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde asetilkolinin (Ach; 10^{-9} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.	78
Şekil 4-12 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde sodyum nitroprussiyatın (SNP; 10^{-10} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.	81
Şekil 4-13 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde sodyum nitroprussiyatın (SNP; 10^{-10} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.	81
Şekil 4-14: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü	84
Şekil 4-15: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü	85
Şekil 4-16 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü	86
Şekil 4-17 : L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü	87
Şekil 4-18 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun ışık mikroskopundaki görünümü.....	88
Şekil 4-19: L-NAME (A) ve L-NAME+Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun ışık mikroskopundaki görünümü.....	89
Şekil 4-20: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü	92
Şekil 4-21: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü	93
Şekil 4-22:Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü	94
Şekil 4-23: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü	95
Şekil 4-24:Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun elektron mikroskopundaki görünümü.....	96
Şekil 4-25: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun elektron mikroskopundaki görünümü.....	97

Şekil 4-26 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde eNOS dağılımı.....	99
Şekil 4-27: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde eNOS dağılımı.....	100
Şekil 4-28: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde iNOS dağılımı	101
Şekil 4-29: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde iNOS dağılımı	102
Şekil 4-30 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde eNOS dağılımı.....	103
Şekil 4-31: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde eNOS dağılımı.....	104
Şekil 4-32: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde iNOS dağılımı	105
Şekil 4-33 : L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde iNOS dağılımı	106
Şekil 4-34: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda eNOS dağılımı.....	107
Şekil 4-35: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda eNOS dağılımı	108
Şekil 4-36 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda iNOS dağılımı.....	109
Şekil 4-37: L-NAME (A) ve L-NAME+Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda iNOS dağılımı.....	110

FSEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

L-NAME : Nω-Nitro-L-arginin metil ester

NO : Nitrik oksit

NOS : Nitrik oksit sentaz

eNOS : Endotelyal nitrik oksit sentaz

iNOS : İndüklenebilen nitrik oksit sentaz

nNOS : Nöronal nitrik oksit sentaz

Ach : Asetilkolin

SNP : Sodyum nitroprussiyat

NA : Noradrenalin

KCl : Potasyum klorür

CCB: Kalsiyum kanal blokeri

ACE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim

BH₄ : Tetrahidrobiopterin

NADPH : Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat

CaM : Kalmodulin

Akt : Protein kinaz B

TNF_α : Tümör nekroz faktör α

ROS : Reaktif oksijen türleri

LDL : Düşük yoğunluklu lipoprotein

FMN : Flavin mono nükleotid

FAD : Flavin adenin nükleotid

ADMA : Asimetrik dimetil arjinin

O₂⁻: Süperoksit

H₂O₂ : Hidrojen peroksit

ONOO⁻: Peroksinitrit

ET-1: Endotelin-1

Ang II : Anjiyotensin-II

TP : Tromboksan-prostanoid

SOD : Süperoksit dismutaz

GP_x : Glutasyon peroksidaz

EDCF : Endotel aracılı kastırıcı faktör

COX : Siklooksijenaz

DOCA : Deoksikortikosteron asetat

SHR : Spontan hipertansif sıçan

WKY : Wistar Kyoto sıçan

ARB : Anjiyotensin reseptör blokleri

DHP : Dihidropiridin

MDA : Malondialdehit

ADP : Adenozin difosfat

ATP : Adenozin trifosfat

ATPaz : Adenozin trifosfataz

p.o : per oral

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

JNC : Joint National Committee

RAAS : Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi

EDHF : Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör

ÖZET

Eker Kızılay, D. (2010). L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda kronik olarak kalsiyum kanal blokeri Barnidipin uygulamasının vasküler sistem üzerine etkilerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Barnidipin lipofilik karakterde, L-tipi kalsiyum kanallarına yüksek afinite gösteren uzun etkili dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokeridir. Deneysel hipertansif modellerde Barnidipin'in renal hemodinamik parametreler üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ayrıca izole damarlarda direkt gevşetici etkisinin olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda non selektif Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibitörü L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda, uzun süreli Barnidipin uygulamasının mezenterik ve renal arter reaktivitesi ve hipertansiyon ile ilişkili renal hasar gelişimi üzerindeki etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Deneysel hipertansiyon, Wistar Albino erkek sıçanların (200-250 g) içme suyuna 5 hafta boyunca L-NAME (60 mg/kg/gün) ilavesiyle oluşturulmuştur. L-NAME uygulanan sıçanlara 2. haftadan itibaren Barnidipin (3 mg/kg/gün p.o) uygulanmaya başlanmış ve 5. haftanın sonuna kadar devam edilmiştir. 5 hafta süre ile vücut ağırlıkları ve sistolik kan basınçları ölçülen sıçanlar, bu süre sonunda deneye alınarak mezenterik ve renal arterleri izole edilmiş ve myograf sisteminde endotel ve düz kas fonksiyonları ile noradrenalin aracılı kasılma yanıtları değerlendirilmiştir. Hipertansif mezenterik ve renal arterlerin noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Endotel aracılı gevşeme yanıtları hipertansif mezenterik arterlerde azalırken, renal arterlerde değişmemiştir. Her iki arterde de düz kas aracılı gevşeme yanıtlarında gruplar arası farklılık gözlenmemiştir. Barnidipin uygulaması hipertansiyona bağlı olarak vasküler düz kas tonusu (mezenterik ve renal arterler) ve endotel fonksiyonunda (mezenterik arterler) meydana gelen değişiklikleri geriye döndürmüştür. Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler, Barnidipin uygulamasının hipertansiyona bağlı olarak mezenterik ve renal arterler ile böbrek dokusunda oluşan yapısal değişiklikleri önemli ölçüde geriye döndürdüğünü ve eNOS ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir. Sonuç olarak, hipertansiyona bağlı olarak gelişebilecek patofizyolojik değişiklikler uzun süreli Barnidipin uygulaması ile büyük ölçüde engellenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Barnidipin, hipertansiyon, L-NAME, kronik, vasküler sistem

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4924

ABSTRACT

Eker Kizilay, D. (2010). Investigation of the effects of chronic Barnidipine, a calcium channel blocker, administration on vascular system in L-NAME-induced hypertensive rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacology. Master Thesis. İstanbul.

Barnidipine is a long acting, lipophilic dihydropyridine calcium channel blocker which exerts high affinity for L-type calcium channels. In the experimental hypertension models, it is determined that Barnidipine has beneficial effects on renal hemodynamic parameters and direct vasorelaxing effect on isolated vessels. Herein, we aimed to investigate the effect of long term Barnidipine treatment on mesenteric and renal arteries reactivity and hypertension induced renal damage in rats. Experimental hypertension was induced by giving L-NAME (60 mg/kg/day), a non-selective Nitric Oxide Synthase (NOS) inhibitor, to Wistar Albino rats (200-250 g) for 5 weeks. Rats were received Barnidipine (3 mg/kg/day p.o) followed by 2 weeks L-NAME administration, for subsequent 3 weeks concomitantly with L-NAME. Weights and systolic blood pressures of the rats were recorded weekly. After 5 weeks, endothelial and smooth muscle functions and vascular reactivity to noradrenaline were determined on isolated mesenteric and renal arteries in a wire myograph system. Contraction responses to noradrenaline were significantly reduced in hypertensive mesenteric and renal arteries. Additionally, endothelium-dependent relaxations were significantly reduced in hypertensive mesenteric arteries whereas, no change was determined in hypertensive renal arteries. Impaired vascular tone (in mesenteric and renal arteries) and endothelial functions (in mesenteric arteries) were restored by Barnidipine administration. Endothelium-independent relaxations were found similar between groups in both arteries. Histopathological and immunohistochemical examinations showed that, Barnidipine treatment significantly restored hypertension induced structural and functional alterations in mesenteric and renal arteries and kidney tissue, also increased eNOS expression. Consequently, Barnidipine was able to reverse L-NAME-exacerbated hypertensive pathophysiological alterations.

Key Words: Barnidipine, hypertension, , L-NAME, chronic, vascular system

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 4924

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının devamlı olarak yükselmesi ile kendini gösteren kronik nitelikte bir kalp-damar hastalığıdır. Kardiyoovasküler morbidite ve mortalitenin gelişmesinde majör risk faktörüdür. Hipertansiyona bağlı olarak gelişen endotel disfonksiyonu; özellikle kalp, damar, beyin, böbrek ve retinayı olumsuz yönde etkileyen makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar ile arteriyel sertlik gibi patofizyolojik sonuçlara neden olmaktadır.

Nitrik oksit (NO), damar endotelinden salıverilen ve damar düz kas tonüsünün lokal regülasyonunda rol oynayan önemli bir endojen vazodilatör maddedir. NO; vasküler permeabilitenin düzenlenmesi, trombosit agregasyonu ve lökositlerin adhezyonunun engellenmesi, düz kas hücrelerinin proliferasyonun ve yeniden yapılanma (remodelling)nın düzenlenmesi, ayrıca vasküler inflamatuvar ve immünolojik aktivitenin kontrolü gibi görevlerinin yanı sıra arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır. NO sentezinde ve biyoyararlanımında meydana gelen bir azalma ve buna bağlı olarak damarların yetersiz gevşemesi ile kendini gösteren endotel disfonksiyonunun hipertansiyon ve diyabet gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde katkısı olduğu bilinmektedir. Endotel kaynaklı NO sentezinin inhibisyonunun endotel disfonksiyonunun yanı sıra arteriyel sertliğe de neden olduğu bilinmektedir. Arteriyel sertliğin gelişiminde, azalmış NO biyoyararlanımının etkisiyle damar duvarında meydana gelen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler rol oynamaktadır. Hipertansiyonun önemli komplikasyonlarının başında renal komplikasyonlar yer almaktadır. NO'nun, renal atılım fonksiyonlarının ve kan basıncının düzenlenmesi gibi birçok intrarenal prosesin kontrolünde önemli bir rolü bulunmaktadır. NO sentezinin azalması sonucunda renal medüller kan akımında azalma, sodyum ve su tutulumu gibi renal hemodinamik fonksiyonlarda görülen kayıplar ile birlikte hipertansiyonun geliştiği gözlenmiştir. Hipertansif renal hasar; sistemik kan basıncı yüksekliğinin etkisiyle başlayan ve hızlanan böbrek harabiyeti olarak tanımlanmaktadır. Esansiyel hipertansiyonda oluşan böbrek hasarı, renal arterlerde sertleşme, glomerüllerde fibrinoid yapılaşma ve proteinüri şeklinde görülmektedir.

Klinikte hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında yer alan kalsiyum kanal blokerleri, damar düz kası ve kalp hücrelerinde sitoplazma membranlarındaki voltaja-bağımlı kalsiyum kanal proteini ve oligomerik kompleks üzerindeki özel bağlanma yerleri olan kendilerine özgü reseptörlere yüksek afiniteli bir şekilde bağlanarak kalsiyum girişini azaltırlar. Bunun sonucu olarak damarları gevşetirler, myokardı ve diğer kalp hücrelerini deprese ederler. Kalsiyum kanal blokerleri yapıca farklı üç alt gruba ayrılırlar: i. Dihidropiridin türevleri ii. Fenilalkil amin türevleri iii. Benzotiazepin türevleri. Bu üç grup arasında damar düz kaslarındaki ve kalp kasındaki etki güçleri arasındaki farka dayanan farmakolojik etki profili farklılığı söz konusudur. Dihidropiridin türevleri vazoselektiftirler ve diğer iki gruptan farklı olarak damarları gevşeten doz ve konsantrasyonlarda kalp kası ve diğer kalp hücreleri üzerinde belirgin bir depresan etki meydana getirmezler.

Kalsiyum kanal blokerlerinin antihipertansif olarak klinik etkinliği diüretiklerin, beta-blokerlerinin ve anjiyotensin antagonistlerinininkine yaklaşık olarak eşittir. Diüretiklerin ve beta-blokerlerin aksine kalp, beyin ve böbrek kan akımını ve diğer yerlerdeki doku perfüzyonunu azaltmazlar; onların aksine karbonhidrat ve lipid metabolizmasını olumsuz yönde etkilemezler. Hatta lipid metabolizması üzerinde olumlu etki yapabilirler. Kalsiyum kanal blokerlerinin damarları gevşetici etkisi arteriyollerde belirgin iken, venüller üzerindeki gevşetici etkisi önemsiz derecededir. Vazodilatör etkilerinde kısmen damar endotelinden NO salıverilmesini arttırmaları rol oynamaktadır. Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri kısa etkililer ve uzun etkililer şeklinde sınıflandırılmaktadırlar. Dihidropiridin türevleri, ilgili türevin kan basıncını düşürücü etkisinin hız ve derecesine göre değişen şiddette akut vazodilatasyona yanıt olarak oluşan refleks sempatik stimülasyona bağlı kardiyovasküler yan etkilere (refleks taşikardi, akut miyokardiyal enfarktüs) neden olurlar. Bu nedenle kısa etkili dihidropiridin türevleri, modifiye salan formları hariç hipertansiyon tedavisinde tercih edilmemektedirler. Geniş hasta grupları üzerinde yapılan klinik çalışmalar, uzun etkili kalsiyum kanal blokerlerinin kardiyovasküler mortalite ve morbidite üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu göstermiştir.

Barnidipin lipofilik karakterde, stereoselektivitesi olan L-tipi kalsiyum kanallarına yüksek afinite gösteren uzun etkili dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokeridir. Barnidipin'in modifiye edilen formlarının hipertansif hastalarda kardiyak etkilerinden bağımsız olarak refleks nörohormonal aktivasyona neden olmaksızın sistemik vasküler rezistansı azaltarak uzun süreli antihipertansif etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Barnidipin'in spontan hipertansif sıçanlarda majör organlara kan akımını arttırdığı ve diüretik etki gösterdiği belirlenmiştir. Diüretik etkisinin muhtemelen renal vasküler rezistansı azaltmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Barnidipin'in deneysel hipertansif modellerde renal hemodinamik parametreler üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ve izole damarlarda direkt gevşetici etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada non selektif Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibitörü olan L-NAME (60 mg/kg/gün) ile 5 hafta süre ile deneysel hipertansiyon oluşturulan Wistar albino erkek sıçanlarda (200-250 g) hipertansiyonun erken döneminden başlanarak uzun süreli Barnidipin (3 mg/kg/gün) uygulanmasının periferik damarlar ve hipertansiyona bağlı olarak gelişen renal hasar üzerindeki etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla kontrol grubu, hipertansif ve Barnidipin uygulanan hipertansif sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerin endotel ve düz kas aracılı gevşeme kapasiteleri ve çeşitli spazmojen ajanlara karşı reaktiviteleri myograf sisteminde değerlendirilmiştir. Fonksiyonel çalışmaları desteklemek amacıyla, hipertansiyon oluşumuna bağlı olarak mezenterik arter, renal arter ve böbrek dokusunda oluşan yapısal değişiklikler, uygun takip ve boyama işlemlerinden sonra ışık ve elektron mikroskopunda yapılan histopatolojik incelemeler ile belirlenmiştir. İzole edilen dokulardan alınan örnekler immünohistokimyasal yöntem ile endotelyal NOS (eNOS) ve indüklenabilir NOS (iNOS) dağılımları açısından da incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipertansiyon

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının devamlı olarak yüksek olması ile kendini gösteren kronik nitelikte bir kalp-damar hastalığıdır. Kardiyoovasküler morbidite ve mortalitenin gelişmesinde majör risk faktörüdür. Zaman içinde başlıca kalp ve damarlarda geri dönüşümsüz değişiklikler oluşturarak ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır. Toplumda en sık görülen hastalıkların başında gelmesi nedeniyle önemli bir klinik sorun teşkil etmektedir (Spieker 1998, Kayaalp 2000 p. 421, Zeglin ve ark. 2009).

2.1.1. Hipertansiyonun Sınıflandırılması

Hipertansif kan basıncı sınır değerleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın 1997 (JNC 6) ve 2003 (JNC 7) yılında yayınladığı durum raporlarında sınıflandırılmıştır (Tablo 2-1). 1997 yılında yayınlanan durum raporunda 120-129/80-84 mmHg (sistolik/diyastolik) kan basıncı değerleri normal olarak kabul edilirken, 2003 yılında yayınlanan durum raporunda bu değerler prehipertansiyon değerleri olarak kabul edilmiştir. Sınır değerinin altındaki kan basıncı değerlerinde dahi kardiyovasküler mortalitenin arttığının gözlenmesi, yeni sınıflandırmalara dinamik bir esneklik getirmiştir. Prehipertansiyonun toplumda yaygın olarak görülmesi ve artan kardiyovasküler risk ile ilişkili olabileceğinin düşünülmesi, hipertansiyonun erken dönemde tanısının konmasının önemini artırmıştır. Erken dönemde başlanan tedavi ile hipertansiyonun ve olası komplikasyonların gelişiminin engellenebileceği bildirilmiştir (Landmesser ve Drexler 2007).

Tablo 2-1: Kan Basıncının Sınıflandırılması

Kan Basıncı Değerleri (mmHg)	JNC 6	JNC 7
<120/ 80	Optimal	Normal
120-129/80-84	Normal	PREHİPERTANSİYON
130-139/85-89	Sınırdı	
≥140/90	HİPERTANSİYON	HİPERTANSİYON
140-159/90-99	Evre 1	Evre 1
160-180/100-109	Evre 2	Evre 2
>180/110	Evre 3	

(JNC 6 - 1997 ve JNC 7 - 2003'ten uyarlanmıştır.)

JNC : Joint National Committee

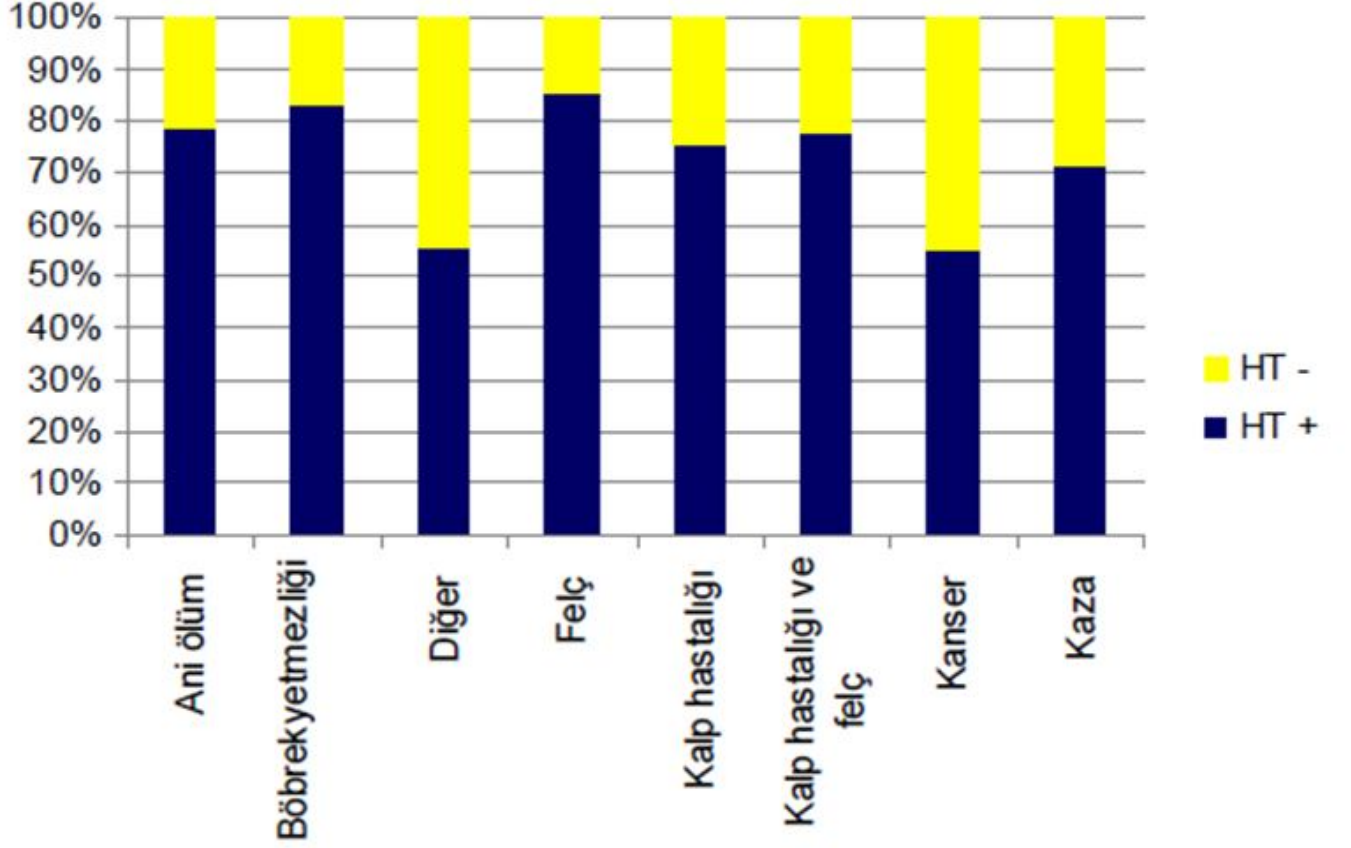
2.1.2. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi

Hipertansiyonun, dünyada önlenebilir ölüm nedenleri içerisinde bir numaralı risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Dünya üzerinde her yıl 7,6 milyon kişinin ölümüne, 90 milyon kişinin maluliyet haline neden olmaktadır (Lawes ve ark. 2008). Hipertansiyon 40 yaş altı bireylerde seyrek görülürken, 40 yaşın üstünde prevalans yaş ile doğru orantılı olarak artmakta ve 65 yaşın üstünde prevalans % 50 değerini aşmaktadır. Yaklaşık 50 yaşına kadar prevalans erkeklerde daha yüksek iken daha sonra kadınlarda daha yüksek değerlere ulaşmaktadır (Kayaalp 2000 p. 421). Kadınlarda 50 yaş sonrası hipertansiyon görülme sıklığındaki artış menopoz ile birlikte östrojen progesteron gibi hormonların düzeylerindeki azalma ile ilişkilidir.

Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği tarafından 2003 yılında yayınlanan “Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması”na göre Türkiye’de hipertansiyon prevalansı % 31,8 iken, 2008 yılında yayınlanan “Türk Hipertansiyon İnsidans Çalışması”na göre bu oran % 38 olarak bildirilmiştir (Altun ve ark. 2005, Türk

Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği 2008). 2005 yılı itibari ile ülkemizde hipertansiyon prevalansının kadınlarda % 36,1 erkeklerde % 27,5 olduğu; hipertansiyon ile ilgili farkındalığının (% 40,7) ve tedavi alma (% 31,1) oranlarının düşük olduğu ve normotansif erişkinlerin yaklaşık % 20'sinin kan basıncının yüksek-normal (sistolik kan basıncı: 130-139 mmHg, diyastolik kan basıncı: 85-89 mmHg) sınırlarda olduğu gösterilmiştir. Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği'nin 2008 yılında yaptığı "Türk Hipertansiyon İnsidans Çalışması"na göre hipertansiyona bağlı komplikasyonlar nedeniyle yaşanan ölüm vakaları değerlendirildiğinde, hipertansiyon varlığında böbrek yetmezliği ve felce bağlı ölümler ile ani ölümün görülme sıklığının oldukça fazla olduğu görülmektedir (Şekil 2-1). Ülkemizdeki hipertansif olguların yaklaşık % 6'sında kronik böbrek hastalığının olduğu belirlenmiştir (Altun ve ark. 2005, Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği 2008).

Sonuç olarak hipertansiyonun epidemi boyutlarında yaygın bir sorun olduğu, hipertansiyonda erken tanı ve tedavinin hipertansiyonla ilişkili komplikasyonların gelişiminin azaltılması / engellenmesi suretiyle hipertansiyonun topluma getireceği yükün azaltılmasında önemli bir rolü olduğu vurgulanmıştır. (Altun ve ark. 2005, Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği 2008).



Şekil 2-1 : Hipertansiyon Varlığında Çeşitli Ölüm Nedenlerinin Yüzde Dağılımları

(Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği, 2008)

2.1.3. Hipertansiyonun Etiyolojisi

Hipertansiyonlu hastaların % 92-95'inin esansiyel hipertansiyonlu olduğu, % 5-6 oranındaki hastada ise hipertansiyonun kronik böbrek parankim hastalığına bağlı olarak geliştiği bildirilmiştir. Diğer tüm nedenlerin hipertansiyon etiyolojisinde % 1-3 oranında rol oynadığı bildirilmiştir. Türk Kardiyoloji Derneği'nin 2000 yılında yayınladığı Ulusal Hipertansiyon Tedavi ve Takip Kılavuzu'nda kan basıncını yükselten nedenler Tablo 2-2'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 2-2: Kan Basıncını Yükselten Nedenler

I. SİSTOLİK VE DİYASTOLİK HİPERTANSİYON
1. Primer (Esansiyel hipertansiyon)
2. Sekonder hipertansiyonlar
2.1. Renal hipertansiyon
2.1.1. Renal parankimal hipertansiyon
2.1.2 Renovasküler hipertansiyon
2.1.3. Renin salgılayan tümörler
2.1.4. Renoprival hipertansiyon
2.1.5. Primer sodyum retansiyonu (Liddle sendromu, Gordon sendromu)
2.2. Endokrin hipertansiyonlar
2.2.1. Akromegali
2.2.2 Hipotiroidi
2.2.3. Hipertiroidi
2.2.4. Hiperkalsemi (hiperparatiroidi)
2.2.5. Sürrenal kökenli hipertansiyonlar
2.2.5.1. Sürrenal korteks kökenli hipertansiyonlar
a. Cushing sendromu
b. Primer hiperaldosteronizm
c. Konjenital sürrenal hiperplazisi
2.2.5.2. Sürrenal medülla kaynaklı hipertansiyon: Feokromositoma
2.2.5.3. Sürrenal bezlerin alınmasına bağlı hipertansiyonlar

2.2.5.4. (Meyan kökü, anabolik steroidler, iyatrojenik glukokortikoid fazlalığı, kontraseptifler ve benzeri östrojen içeren ilaçlar, sempatomimetik ilaçlar, tiramin içeren yiyecekler ile birlikte peynir, şarap gibi ürünlerin alınması, monoaminooksidaz inhibitörü antidepresanlar).

2.2.6. Sürrenal dışı kromafin tümörler

2.2.7. Karsinoid oluşumu

2.3. Aort koarktasyonu

2.4. Gebeliğe bağlı hipertansiyon

2.5. Nörolojik bozukluklara bağlı hipertansiyon

2.5.1. Kafa içi basınç artışı

2.5.2. Uyku apnesi

2.5.3. Kuadripleji

2.5.4. Ailevi disotonomi

2.5.5. Kurşun zehirlenmesi

2.5.6. Guillain-Barré sendromu

2.6. Fiziksel ve mental stres

2.7. İntravasküler hacim artışı

II. SİSTOLİK HİPERTANSİYON

1. Artmış kalp debisi

1.1. Aort kapak yetersizliği

1.2. Arteriovenöz fistül

1.3. Hipertiroidi

1.4. Beriberi

1.5. Hiperkinetik dolaşım yaratan diğer nedenler

2. Aort rijiditesindeki artış (yaşlılardaki sistolik hipertansiyon)

(Türk Kardiyoloji Derneği Ulusal Hipertansiyon Tedavi ve Takip Kılavuzu, 2000).

2.1.3.1. Esansiyel Hipertansiyon

Temel nedeni belli olmayan esansiyel hipertansiyon genel olguların yaklaşık % 95'ini oluşturur. Esansiyel hipertansiyonda kan basıncı yükselmesi total periferik damar rezistansının yükselmesine bağlıdır. Bazı olgularda kalp debisi ve dolaşan kan hacmindeki artış da patogeneze katkıda bulunur. Olguların yaklaşık % 50'sinde genetik faktörler rol oynamaktadır. Esansiyel hipertansiyon uzun yıllar semptomsuz veya komplikasyonsuz olarak seyrederken hastalığın tek göstergesi diyastolik ve/veya sistolik kan basıncının yükselmiş olmasıdır. Kan basıncının uzun süre yüksek olması, organların arterleri ve miyokard üzerindeki zararlı etkisine bağlı olarak ciddi komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olabilir (Kayaalp 2000 p. 421).

2.1.3.2. Sekonder Hipertansiyon

Sekonder hipertansiyonda esansiyel hipertansiyondan farklı olarak kan basıncı yüksekliğinin tanımlanabilir bir nedeni vardır. Hipertansiyon, renovasküler hastalıklar ve bazı endokrin hastalıklar olmak üzere arteriyel kan basıncını yükselttiği bilinen primer patolojik bozukluklara bağlıdır. Kombine oral kontraseptif ilaçlar, kortikosteroidler, siklosporin, MAO inhibitörleri, eritropoietin ve sempatomimetik ilaçlara veya efervesan tabletler içinde bulunan aşırı sodyumun alınmasına bağlı olarak ilaca-bağımlı geçici sekonder hipertansiyon gelişebilir (Kayaalp 2000 p. 421).

Her ne kadar hipertansiyonun varlığı küçük arteriollerde ve böbrekteki glomerüllerde hasar oluştursa da, önceden var olan böbrek hastalıkları da sekonder hipertansiyona neden olabilmektedir. Böbrek, renal perfüzyon basıncı ve üriner sodyum atılımı ile ekstraselüler sıvı hacmini regüle ederek kan basıncının dengelenmesine yardımcı olmaktadır. Basınç ve natriürez döngüsünden dolayı, böbrekte artan renal perfüzyon basıncına karşılık üriner sodyum atılımı artmakta ve vasküler hacim azalmakta, arteriyel basınç normal değerlerine dönmektedir. Hipertansiyon, renal sodyum atılım fonksiyonunun azalması ya da basınç-natriürez ilişkisinin bozulması sonucunda gelişebilmektedir (Guyton 1987, Granger ve Alexander 2000, Hsu 2002).

Aterosklerotik veya fibromusküler displastik renal hastalığa bağlı olarak renal arterde oluşan stenoz, böbrekteki iskemiye indükleyebilmekte ve aşırı derecede renin salgılanmasına neden olabilmektedir. Renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin sürekli aktivasyonuna bağlı olarak kan basıncında artış gözlenmektedir (Doggrell ve Brown 1998, Liao 2005, Wenzel 2005). Hipertansiyon, renal parankimal hastalığının edinsel ve konjenital tiplerinin hemen hepsine eşlik etmekte ve glomerüler filtrasyon hızı azaldıkça daha sık olarak görülmektedir. Bu birlikteliğin varlığında, hipertansiyon böbrek işlevlerinin kaybını hızlandırmaktadır. Bu nedenle hipertansiyonun tedavisi, renal hasarın ilerleyişinin yavaşlatılmasında önemli rol oynamaktadır (Brown ve Whitworth 1992, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

2.1.4. Hipertansiyonun Patofizyolojisi

2.1.4.1. Kalp Debisi ve Periferik Direnç

Kan akımını sağlamak için gerekli olan basınç, kalbin pompalama işlevine (kalp debisine) ve arterlerin tonusuna (periferik direnç) bağlıdır. Kan basıncı, kalp debisi ve periferik direnç çarpımı ile doğru orantılıdır (sistemik kan basıncı = kalp debisi x periferik arteriyel direnç). Bu denklemin bileşenlerini düzenleyen nöral, humoral ve metabolik etkenler belirli bir dengede kaldığı takdirde, kan basıncı normal düzeyde seyretmektedir. Kan basıncının düşmesi ya da yükselmesi durumunda, baroreseptörlerde refleks olarak kalp atım hacmi ile kalp hızı ve periferik direnç etkilenecek kan basıncının dengede kalması sağlanır. Hipertansif hastalarda baroreseptör cevap daha yüksek kan basıncı düzeylerinde ortaya çıkmaktadır. Kalp debisinin veya periferik direncin artması halinde kan basıncı da artmaktadır. Kalp debisinin artması, sıvı volümünün (preload) artışından ya da kalbin nöronal uyarılması sonucu kontraktilite ve kalp hızının artışından kaynaklanabilir. Periferik direnci etkileyen faktörlerden en önemlisi damar çapıdır. Damarlardaki media tabakasının kalınlaşmasıyla artan damar duvarı / damar iç çapı oranı büyük bir duvar stresine ve intraluminal basınç artışına yol açmaktadır. Bununla birlikte esansiyel hipertansiyonun erken dönemlerinde daha büyük arterlerde de hipertrofi gözlenmektedir. Damar

duvarındaki yapısal kalınlaşma şeklindeki bu yeniden yapılanma (remodelling) ve gelişen işlevsel vazokonstriksiyon hem periferik direnç artışına yol açan bir sebep hem de hipertansiyon ile birlikte ortaya çıkan bir sonuç olarak görülebilir (Kaplan 1998 p. 41-99).

2.1.4.2. Genetik Yatkınlık

Hipertansiyon olgularının yaklaşık % 50'sinde genetik yatkınlığın önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Esansiyel hipertansiyon gelişimi ile ilgili olarak yürütülen genetik çalışmalarda renin-anjiyotensin sisteminin bileşenleri (anjiyotensinojen, anjiyotensin dönüştürücü enzim, anjiyotensin-II tip 1 reseptörü), alfa ve beta adrenerjik reseptörler gibi proteinleri kodlayan genlerin polimorfizm gösterdiği bildirilmiştir. Bu proteinler ile ilişkili genetik bozuklukların ortak noktası; artmış tuz ve su tutulumu ile sonuçlanan kalıtsal bir renal disfonksiyonun varlığıdır (Dluhy ve Lifton 1995).

2.1.4.3. Aşırı Sempatik Sistem Aktivasyonu

Sempatik sinir sistemindeki aktivite artışı, hem hipertansif hem de normotansif bireylerde kalp, böbrek ve periferik damarlar üzerindeki etkileri yoluyla kalp debisi ve damar direncini artırarak ve sıvı retansiyonuna neden olarak kan basıncında yükselmelere yol açmaktadır. Sempatik sinir sisteminin uyarılmasının sonucunda kalp hızında artış, periferik vazokonstriksiyon, adrenal korteksten noradrenalin salınımı ve kan basıncında artış gerçekleşmektedir. Ayrıca damar düz kas hücresinde hipertrofi ve buna bağlı sertlik gelişimine yol açmaktadır. Artmış sempatik sinir sistemi aktivitesinin damar duvarında oluşturduğu yapısal değişikliklerin zamanla, sempatik sinir sistemindeki aktivitede azalma olmasına rağmen kan basıncı düzeyinin yüksek devam etmesine neden olduğu düşünülmektedir. Sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile renal efferent sempatik lifler uyarılmakta, böylece renal kan akımında azalma ve renal vasküler dirençte artışla sonuçlanan vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Renal sempatik uyarılma doğrudan sodyum reabsorpsiyonu ve jukstaglomerüler aparattan renin salınımını uyarmaktadır (Dibona ve Kopp 1997).

2.1.4.4. İnsülin Direnci

Esansiyel hipertansiyonlularda insülin direnci sık görülen bir durum olup hipertansiyonla ilişkili kardiyovasküler riskin artışında önemli rol oynamaktadır. Özellikle obez hipertansiflerin hemen hemen tamamı, insülinin karaciğer tarafından alımının azalması sonucu hiperinsülinemiktir. İnsülin direnci ve hiperinsülinemiye bağlı olarak kan basıncı yükselmesi ile ilişkili diyetle alınan tuza karşı kan basıncı duyarlılığının artışı, renal tuz ve su tutulumunun artması, hücre içinde sodyum ve kalsiyumun artması, sempatik sinir sistemi aktivitesinin artması, vazodilatör prostaglandinlerin azalması, endotelin salınımının artması, anjiyotensin-II'nin vazokonstriktör etkisinin ve aldosteron salınımını uyarıcı etkisinin artması ve damar düz kas hücresi büyüme faktörlerinin uyarılması yer almaktadır (Haffner ve ark. 1992, Baron ve ark. 1993).

Endotel bağımlı vazodilatasyonun azalması, insülin direncine bağlı hipertansiyon patogeneğinde en önemli faktördür. Sağlıklı bireylerde insülinin hem sempatik sinir sistemi aktivitesi artışı yoluyla vazopresör etkisi ve dolayısıyla kan basıncını artırıcı etkisi, hem de doğrudan vazodilatör etkisiyle kan basıncını düşürücü etkisi bulunmaktadır. Bu zıt yönlü iki etkinin net sonucunda, ya kan basıncında değişme olmaz ya da hafif bir azalma gerçekleşir. Ancak hipertansif hastalarda insülinin doğrudan vazodilatasyon yapıcı etkisinde azalma olduğundan, sempatik sinir sistemi uyarıcı etkisi yoluyla gerçekleşen kan basıncını artırıcı etkisi baskın hale gelir ve kan basıncı yükselir (Baron ve ark. 1993, Hausberg ve ark. 1997).

2.1.4.5. Artmış Sodyum Alımı

Sodyum alımının artması (sodyum klorlu tuz), su tutulumunun ve kalp debisinin artışına yol açarak, renal fonksiyonları ve vasküler reaktiviteyi değiştirerek hipertansiyona neden olabilmektedir. Sodyum alımının artması, hipertansiyon gelişiminde gerekli fakat tek başına yeterli olmayan bir faktördür. Fazla sodyum alımı, kan basıncı artırıcı etkisinden bağımsız olarak inme riskini artırmakta, sol ventrikül

hipertrofisine yol açmakta ve hiperfiltrasyona bağlı renal fonksiyonların bozulmasına da neden olmaktadır (Sasaki ve ark. 1995, Barba ve ark. 1996, MacGregor ve Sever 1996).

2.1.4.6. Renal Sodyum Tutulumu

Konjenital veya edinsel hastalıklar sonucunda nefron sayısı veya fonksiyonundaki azalmaya bağlı olarak renal filtrasyon yüzeyinin azalması, basınç-natriürez ilişkisinin bozulması ve nefron heterojenitesi böbreklerden sodyum gerialımında artışa neden olabilmektedirler. Nefron sayısında azalma veya glomerülün filtrasyon yüzeyindeki azalma, böbreklerden sodyum atılım miktarını azaltmakta, kan basıncını yükseltmekte ve bu kısır döngü neticesinde glomerüler hipertansiyon yoluyla sistemik hipertansiyon indüklenmektedir. Sağlıklı bireylerde kan basıncı yükseldiğinde, böbreklerden sodyum ve su atılımı artarak intravasküler hacim küçültülür ve böylece kan basıncı normale döner. Basınç-natriürez ilişkisinin hakim olduğu bu denge, hipertansiflerde bozulur ve kan basıncının bu yolla regülasyonu gerçekleşemez. Böbreklerde afferent arteriyollerde vazokonstriksiyona veya intrensek bir daralmaya bağlı olarak iskemik nefron topluluklarının bulunması ve buna bağlı olarak renin salgısının homojenitesinin bozulması (nefren heterojenitesi), kan basıncının yükselmesine neden olan faktörlerden birisidir (Laragh 1992, Brenner ve Chertow 1994, Hall ve ark. 1996).

2.1.4.7. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi

Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi (RAAS) hem hipertansif hem de normotansif kişilerde dolaşan kan hacmini ve kan basıncını düzenleyen en önemli mekanizmalardan biridir. Renin böbrekte jukstaglomerüler hücrelerden salgınır ve karaciğerden plazmaya verilen anjiyotensinojenin anjiyotensin-I'e çevrilmesi reaksiyonunu katalize eder. Ardından anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından anjiyotensin-II'ye yıkım gerçekleşir. RAAS'ın fizyolojik ve patolojik etkileri anjiyotensin-II üzerinden gerçekleşmektedir. Anjiyotensin-II'nin etkilerin çoğunda rolü olan AT1 reseptörüne bağlanması ile periferik damarlarda vazokonstriksiyon,

aldosteron sentez ve salınımı, renal tübüler sodyum gerialımı, santral sinir sistemi aktivitesi ve vazopressin salınımı uyarılırken, kan basıncında yükselme meydana gelmeye başladığında negatif feedback mekanizması ile renin salınımı inhibe olur. Hipertansiflerde plazma renin düzeyleri homojen olmayıp kan basıncı düzeyi ile orantılı olmayabilir. Hipertansif bireylerin yaklaşık % 30'unda renin düzeyi düşük, % 50'sinde normal, % 20'sinde ise yüksektir. Hipertansif hastalarda plazma renin düzeylerinin uygunsuz bir şekilde normal veya yüksek olmasını açıklayabilecek 2 mekanizma öne sürülmüştür. Birincisi, nefron heterojenitesidir. İskemik nefronlardan salınan renin normal ya da yüksek plazma düzeylerine neden olmakta ve anjiyotensin-II oluşumuna yol açmaktadır. Hiperfiltrasyon yapan nefronlarda aşırı vazokonstriksiyon ve sodyum tutulumu gerçekleşerek hipertansiyon gelişmektedir. İkinci mekanizma, esansiyel hipertansif bireylerde sodyum kısıtlamasına yanıt olarak aldosteron salgılanmasının uyarılmamasıdır. Ayrıca rezistans damarların anjiyotensin-II'ye olan duyarlılığında artış meydana geldiği, renin ve anjiyotensin-II'nin düşük serum düzeylerinde bile kan basıncının yükselebileceği öne sürülmüştür (Laragh 1992, Googfriend ve ark. 1996, Williams ve ark. 2000).

2.1.4.8. Endotel Disfonksiyonu

Damar endotel hücreleri, NO ve prostasiklin, endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) gibi vazodilatörlerin yanı sıra; tromboksan A₂, endotelin-1 ve anjiyotensin-II gibi vazokonstriktörlerin salınımına aracılık ederek kan basıncı ve kan akımı kontrolüne katkıda bulunurlar. Damar endoteli kaynaklı vazodilatör etkili maddelerin lokal sentezindeki/salınımındaki bir azalma veya vazokonstriktör etkili maddelerin sentezindeki artış, esansiyel hipertansiyon ve ateroskleroz başta olmak üzere çeşitli vasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (Cines ve ark. 1998).

Kan basıncı yükseldiğinde NO salınımı uyarılmakta, düştüğünde ise NO salınımı baskılanmaktadır. Deney hayvanlarına NO sentezini inhibe edici ilaçlar verildiğinde hipertansiyon geliştiğinin gözlenmesi NO'nun kan basıncını düzenleyici rolünü destekler niteliktedir. NO'ya bağlı azalan vazodilatör yanıt, anormal vasküler

yeniden yapılanmaya ve kalıcı hasara yol açabilmektedir (Ribeiro ve ark. 1992, Gkaliagkousi ve ark. 2009).

2.1.4.9. Vasküler Hipertrofi

Kronik fiziksel ve emosyonel stresin neden olabileceği sempatik sinir sistemi aktivitesinin arttığı durumlarda, vazokonstriksiyonla lümen çapı azalırken lümen içi basınç artmakta ve damar düz kas hücrelerinin hipertrofisi uyarılmaktadır. Endotelin ve anjiyotensin-II gibi birçok mediyatörün meydana getirdiği bu etkiler periferik damar direncindeki artışın sürekliliğine ve kan basıncında artışa neden olmaktadır. Bu mekanizma yavaş, fakat ilerleyicidir ve meydana getirdiği vasküler değişiklikler nonspesifik olup başlatıcı mekanizma ne olursa olsun, son patolojik yapı tüm esansiyel hipertansiyonlu hastalarda birbirine benzer şekildedir (Lever ve Harrap 1992).

2.1.5. Hipertansiyonun Komplikasyonları

Hipertansiyon, zamanla arterlerde irreversibl zedelenme yaparak ciddi kardiyovasküler komplikasyonlara yol açabilmektedir (Kayaalp 2000 p. 421). Sistemik arteriyal kan basıncında meydana gelen artış beyin, kalp ve böbrek gibi hayati organlara zarar verebilmekte ve inme, kalp krizi, kalp yetmezliği ve böbrek yetmezliğine yol açabilmektedir. Hipertansiyonda kan basıncının kontrol altında tutulması ile serebrovasküler ve kardiyovasküler morbidite ve mortalite risklerinin azaldığı bilinmektedir (Liau 2005, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006, Laurent ve ark. 2009).

2.1.5.1. Kardiyak Komplikasyonlar

Sol Ventrikül Hipertrofisi ve Kalp Yetmezliği :

Sol ventrikül hipertrofisi, artmış sistemik damar direncine karşılık kardiyak kasında gelişen bir cevaptır. Hipertansiyon ya da aortik stenoz gibi durumlarda yüksek basınca bağlı olarak gelişen kronik miyokardiyal stres, kalbin artan yükünü kompanse etmek amacıyla miyokardın kalınlaşmasına ve sonucunda kardiyak kasta hipertrofiye neden olabilmektedir. Fakat zamanla hipertrofiye uğramış kalp kası lifleri kısalabilir ve gevşeme özelliğini kaybedebilirler. Hipertansiyona bağlı olarak gelişen hipertrofide miyokardın değişime uğraması ile birlikte kalpte sertleşme de görülebilir. Sol ventrikül hipertrofisinde koroner mikrosirkülasyonda meydana gelen değişimler, organ hasarının gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Kalp yetmezliği, kompanse hipertrofidan kaynaklanan değişimin sonucunda ortaya çıksa da, gelişiminde fibröz ve inflamatuvar mekanizmaların da önemli birer rolü bulunmaktadır (Koren ve ark. 1991, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

Anjina ve Miyokard İnfarktüsü:

Anjina pectoris, miyokardın geçici bir iskemisinden yani lokal olarak yetersiz kanlanmasından kaynaklanan ve sıklıkla göğsün ortasında baskı şeklindeki sıkışma hissi ile kendini gösteren koroner kalp rahatsızlığı ile ilişkili bir durumdur. Arteriyel hipertansiyon, miyokardiyal iskeminin oluşumunda majör risk faktördür. Ateroskleroz nedeniyle kan akışını limitleyen daralmış ya da tıkanmış koroner arterler ve kopan aterosklerotik plaklar miyokardiyal enfarktüse neden olabilmektedir. Ayrıca koroner arterlerde meydana gelen yapısal değişiklikler, kalbin mikrovasküleritesindeki değişiklikler ile gizlice ilerleyen iskemi de nedenler arasında yer alabilir. Hipertansif kalp hastalığında, küçük arterler ve arteriyollerde kalınlaşma, kapiller dansitede azalma, kardiyomiyosit boyutlarına bağlı olarak inter-kapiller mesafede artma görülmekte ve buna bağlı olarak kötüleşen miyokard iskemisi gelişebilmektedir (Safar 2001, Heusch ve ark. 2004, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

2.1.5.2. Vasküler Komplikasyonlar

Makrodamarlarda görülen arteriyel sertlik, hipertansiyon, dislipidemi ve diyabet gibi kardiyovasküler sistem hastalıklarının patofizyolojisinde önemli bir role sahiptir. Yaş ve yükselen kan basıncına bağlı olarak damar elastikiyetinde azalma ve damar duvarında hasar görülebilmektedir (Schiffin 2004, Cohuet ve Struiker-Boudier 2006, Rizzoni ve ark. 2009). Endotelde meydana gelen hasar; inflamasyon artışına ve düz kas hücrelerinin hipertrofisine neden olmakta, tromboz ve vazokonstriksiyon oluşumuna yol açmakta ve aterosklerotik plakların hızlı bir şekilde büyümesi için uygun bir ortamın gelişimine katkıda bulunmaktadır (Cohen 2007).

Mikrodamarlar olan rezistans arterler, kan basıncının kontrolünde anahtar unsurdur. Hidrostatik basınçtaki değişiklikler rezistans arterler (küçük rezistans arterler [$<300 \mu\text{m}$ çapında], arterioller [$<100 \mu\text{m}$ çapında], kapiller [yaklaşık $7 \mu\text{m}$ çapında]) seviyesinde meydana gelmektedir. Bundan dolayı, mikrosirkülasyonda meydana gelen yapısal değişiklikler, direkt olarak güçlü bir şekilde kan basıncı değerlerini etkileyebilmektedir. Mikrodamarlarda oluşan yapısal anormalliklerin kronik hipertansiyon gelişimi ve hipertansiyona bağlı olarak ortaya çıkan iskemik kalp hastalığı, kalp yetmezliği, serebral iskemik ataklar ve böbrek yetmezliği gibi hastalıklarda organ hasarının oluşumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Laurent ve ark. 2009, Rizzoni ve ark. 2009).

2.1.5.3. Serebrovasküler Komplikasyonlar

Geçici İskemik Atak ve İnme:

Geçici iskemik atak, akut geçici bir kriz olmasına rağmen serebral fonksiyonlarda odaksal kayıplar yaşanmasına neden olabilir. Arter duvarından kopan aterosklerotik plakların damarlarda tıkanıklık oluşturması sonucu meydana gelmektedir. İnme, serebral infarktüs (iskemik inme) ve intrakraniyal hemoraji (beyin-içi kanama)

olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Serebral infarktüs, kardiyak orijinli pıhtının ya da arterlerdeki aterotrombozların beyne ulaşması sonucu ortaya çıkmaktadır ve görülme sıklığı daha yüksektir. Beyin içindeki küçük kan damarlarında oluşan tıkanıklık laküner inme olarak adlandırılır ve kronik hipertansiyon ile ilişkilidir (Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

Demans:

Demans; öğrenme, bellek, oryantasyon, dil fonksiyonları ve kişilik gibi mental fonksiyonların bozulması ile karakterize, sosyal ve iş hayatını etkileyen, çoğunlukla geri dönüşümsüz ve ilerleyici nitelikte bir serebral hastalıktır. Alzheimer, Huntington, Parkinson gibi primer nörodejeneratif bozukluklar; enfeksiyonlar, kanserler ve fiziksel hasarlar demans gelişimine neden olabilir. Bu nedenler vasküler (multi-infarkt, Binswanger sendromu) ya da enflamasyon kaynaklı (multipl skleroz, vaskülit) olabilmektedir. Bir çok epidemiyolojik çalışma, yaşamın ileri dönemlerinde kan basıncı düzeyleri ile kognitif bozukluk ve demans arasında bir ilişki olduğunu bildirmektedir (Hanon ve ark. 2003, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

2.1.5.4. Renal Komplikasyonlar

Esansiyel hipertansiyon; renal arterlerde sertleşme, glomerüllerde fibrinoid yapılaşma ve proteinüri gibi renal hasarlar ile yakından ilişkilidir. Renal vasküler yatakta sistemik hipertansiyonun zararlı etkileri, mikrosirkülasyonun yüksek kan basıncına maruz kalma derecesine bağlıdır. Renal hasar, preglomerüler otoregülatör mekanizmanın böbrek kan akımı ve basıncını regüle edemediği zaman gelişmektedir (Bidani ve Griffin 2004, Wenzel 2005, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

Kan basıncından bağımsız olarak hipertansif renal hasar gelişimi bazı lokal mekanizmalar aracılığı ile de gelişebilmektedir. Çeşitli hücrel toksik ve moleküler yolların anjiyotensin-II ve aldosteronun doku hasarına neden olan etkileri artırdığı,

oksidatif strese yol açtığı, büyüme faktörlerinin ve fibrojenik mediyatörlerin aktivasyonunu sağladığı ve doku hasarına neden olduğu kabul edilmektedir. İnterstisyel enflamasyon ve oksidatif stres nedeniyle azalan nefron sayısı sodyum filtrasyonunun kısıtlanmasına ve böbrek hastalığına bağlı hipertansiyon gelişimine neden olmaktadır (Franco ve ark. 2001, Rodriguez-Iturbe ve ark. 2001, Bidani ve Griffin 2004, Germano ve ark. 2004, Cohuet ve Struijker-Boudier 2006). Hipertansiyonda, glomerüllerin geçirgenliği artmakta ve aşırı miktarda protein birikimi gerçekleşmektedir. Proteine bağlı gelişen toksisite sonrasında tübüler hasar, enflamasyon ve skarlaşma görülmektedir (Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

Hipertansif böbrek hasarı genellikle asemptomatiktir ve noktüri sıklıkla ilk bulguyu oluşturur. Günde 30 mg'dan daha az albümin atılımı normal olarak kabul edilmektedir. İdrarda günlük albümin atılımı 30–300 mg arasında ise bu duruma mikroalbuminüri adı verilir ve hipertansiyonu olan bir hastada mikroalbuminürinin varlığı böbreklerde harabiyetin başladığının bir göstergesidir. İntrarenal vazodilatör cevabın azalması sonucu ortaya çıkan mikroalbuminüri, tubulointerstisyel hasarın başlamasından ve progresyonundan sorumludur. Mikroalbuminüri yalnızca progressif renal tutuluşun değil, kardiyovasküler morbiditenin de genel bir göstergesidir. Nefrotik sınırlarda olabilen proteinüri de görülebilir. Kan basıncı ne kadar yüksekse böbrek yetmezliği gelişme riski o oranda yüksektir. Siyah ırk ve diyabetli hastalar yüksek risk grubu içinde yer alırlar (Gansevoort ve ark. 1997, Crippa 2002, Bidani ve Griffin 2004, Segura 2004, Wenzel 2005, Futrakul ve ark. 2009).

Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda hipertansiyona bağlı olarak gelişen renal hasar, klinikte “benign” ve “malign” nefroskleroz olmak üzere iki ayrı şekilde görülmektedir. Benign nefroskleroz çoğunlukla komplikasyon gelişmemiş primer hipertansiyon hastalarında görülür ve afferent arteriyol duvarında hiyalinizasyon ve skleroz ile karakterizedir. Bu durumda nefron kaybı zaman içerisinde gelişmektedir. Malign nefroskleroz ise ağır hipertansiyon durumunda kendini gösterir. Belirgin fibrinoid nekroz ve trombozisin görüldüğü akut vasküler ve glomerüler hasarın karakteristik renal fenotipidir. Vasküler hasardan dolayı iskemik glomerüllere sık

rastlanmaktadır. Renal hasar uygun terapi yapılmadığı takdirde hızlı bir şekilde gelişmektedir (Bidani ve Griffin 2004).

Hipertansif renal hasarın meydana gelmesinde rolü olan faktörleri üç başlık altında toplayabiliriz (Bidani ve Griffin 2004) :

1. Yüksek sistemik kan basıncı
2. Sistemik kan basıncının böbrek damar yatağındaki etkisi
3. Lokal dokunun oluşan barotravmaya gösterdiği duyarlılık

Normal koşullarda, preglomerüler vasküler sistemin renal kan akımı ve glomerüler hidrostatik basınç gibi otoregülatör mekanizmaların regülasyonu ile sistemik kan basıncındaki düzensiz ya da sürekli olarak yükselmenin renal mikrovasküler sisteme zarar vermesi engellenmektedir. Bu otoregülatör yanıtlar, hipertansif renal hasara karşı ilk korumadır. Eğer kan basıncı belli bir limitin (otoregülatör aralığının içerisinde) üzerine çıkarsa sadece benign nefroskleroz görülür; fakat eşik değerinin üzerine çıkarsa otoregülatör mekanizmaya rağmen akut hasarlar (malign nefroskleroz) ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle hipertansiyonlu olgularda, kan basıncının birden yükselmesi otoregülatör mekanizmayı devre dışı bırakmakta ve daha ciddi hasarlara yol açmaktadır (Hsu 2002, Bidani ve Griffin 2004).

2.1.5.5. Göz İle İlgili Komplikasyonlar

Kontrol altında tutulmayan kronik hipertansiyonda, kan basıncının sürekli yüksek olması sonucunda retinal arteriyollerde ve retinal, koroidal ve optik sinir dolaşımında patofizyolojik değişiklikler meydana gelebilmekte ve hipertansif retinopati, hipertansif koroidopati, hipertansif optik nöropati gelişebilmektedir. Hipertansiyon körlük ile sonuçlanabilecek vasküler hastalıklar, retinal ven ve arter tıkanması, retinal-arteriyel emboli ve diyabetik retinopati gelişimi açısından önemli bir risk faktörüdür. Ayrıca, körlük ile sonuçlanabilecek glokom ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon gibi

non-vasküler oküler hastalıklar açısından da patojenik bir faktördür (Cohuet ve Struijker-Boudier 2006, Wong ve Mitchell 2007).

2.1.6. Hipertansiyon ve Endotel Disfonksiyonu

2.1.6.1. Hipertansiyonun Nitrik Oksit İle İlişkisi

Nitrik oksit (NO), L-arjinin aminoasidinden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile meydana gelmektedir. Reaksiyonun sonunda NO ile birlikte L-Sitrulin oluşmaktadır. NO'nun sentezlendiği reaksiyonda ko-faktör olarak flavin mono nükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), kalmodülin (CaM), tetrahidrobiopterin (BH₄), ko-substrat olarak ise NADPH ve O₂ kullanılmaktadır. Reaksiyon sırasında oluşan sitrulin, endotel hücre kültüründe yapılan çalışmalar sonucunda üreden gelen bir azot atomunun eklenmesiyle L-arjinin'e geri dönüşmektedir. Nitrik oksit sentaz enziminin indüklenebilen NOS (iNOS), endotelial NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS) olmak üzere üç izoformu bulunmaktadır. nNOS çoğunlukla bazı nöronlarda ve iskelet kasında; eNOS çoğunlukla endotel hücrelerinde; iNOS ise çeşitli inflamatuvar mediyatörlere yanıt olarak endotel hücrelerinde, düz kas hücrelerinde, kardiyak miyositlerde ve makrofajlarda eksprese edilmektedir. Bu her üç izoformun da NO sentezleyebilmesi için kalsiyum regülatuar proteini olan kalmoduline ihtiyacı vardır. eNOS ve nNOS'un kalmoduline bağlanabilmesi için ortamda artmış kalsiyuma ihtiyacı varken, düşük konsantrasyonda ortamda kalsiyum bulunması durumunda bile iNOS kalmodüline bağlanabilmektedir. Dolayısıyla intrasellüler kalsiyum miktarı eNOS ve nNOS aktivitesini regüle etmektedir (Yetik-Anacak ve Catravas 2006, Gkaliagkousi ve ark. 2009, Napoli ve Ignarro 2009).

Asetilkolin, serotonin, bradikinin, ADP, ATP, histamin ve trombin NO salınmasına neden olan uyarıcılardır. eNOS miktarı, fizyolojik kayma gerilimi (shear stress) ile artış gösterirken; lipoproteinler (LDL), anjiyotensin-II ve tümör nekroz faktör α (TNF α) ile azalma göstermektedir. NOS enziminin endojen inhibitörü olan asimetrik

dimetil arjinin (ADMA) eNOS enzimine yarışmalı olarak bağlanarak NO oluşumunu inhibe etmektedir (Napoli ve Ignarro 2009).

Endotel disfonksiyonu, vasküler sistemde reaktif oksijen türleri (ROS)'nin üretimindeki artış ile ilişkilidir. ROS'nin artışı olarak tanımlanan oksidatif stres, hipertansif hastalarda görülen endotel aracılı vazodilatasyon yanıtlarındaki kayıp ile ilişkili olabilmektedir (Gkaliagkousi ve ark. 2009, Napoli ve Ignarro 2009).

Endotelyal hasar ve inflamasyon gibi durumlarda süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi reaktif oksijen türleri (ROS), direkt ya da dolaylı olarak tuz, vazopressin, endotelin-1 (ET-1), renin, anjiyotensin II (AngII) ve aldosteron gibi hipertansif ajanlar tarafından hedef dokularda artış göstermektedir. Vasküler sistemde ROS oluşumuna aracılık eden başlıca enzimatik kaynaklar; NAD(P)H oksidaz, eNOS kenetsizlenmesi (eNOS uncoupling), ksantin oksidaz, siklooksijenazlar ve mitokondriyal solunum zincirinin enzimleridir. Süperoksit (O_2^-) üretiminde meydana gelen artış hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumuna neden olurken diğer yandan NO ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit ($ONOO^-$) açığa çıkmasına neden olur. eNOS'un esansiyel kofaktörü olan BH_4 'ün peroksinitrit ($ONOO^-$) tarafından dihidrobipterin oksidasyonu sonucu oluşan BH_4 deplesyonu, L-arjinin substratının lokal eksikliği, biyoyararlanımı azalan substrat L-arjinin ya da kofaktör BH_4 ile eNOS'un kenetlenememesi eNOS dengesinin bozulmasına neden olabilmektedir. eNOS'un ko-substratı olan oksijen, süperoksit (O_2^-) radikallerin aşırı üretimine ve ardından süperoksit radikallerinin, eNOS biyoaktivasyonunu azaltıcı bir faktör olan peroksinitrit ($ONOO^-$)'e dönüşmesine neden olabilmektedir (Lassegue ve Griendling 2004, Gkaliagkousi ve ark. 2009, Napoli ve Ignarro 2009). NAD(P)H oksidazın aktivasyonu, süperoksit (O_2^-) üretiminin artmasına ve NO inaktivasyona yol açan major mekanizmadır. NAD(P)H oksidaz-bağımlı süperoksit (O_2^-) üretimi doğrudan NO biyoyararlanımında azalmaya neden olmanın yanı sıra, dolaylı olarak eNOS kofaktörü olan BH_4 'ün oksidasyonunda artışa ve endotelyal ksantin oksidaz aktivasyonuna da yol açmaktadır (Landmesser ve Drexler 2007).

İnsanda aterojenezin gelişiminde önemli rol oynayan aterojenik lipidler, kısmen oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoproteinler (okside LDL) hücrel disfonksiyondan sorumludurlar. Okside LDL endotele monosit adezyonunu indüklemekte, düz kas hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonunu sağlamakta, hücrelere zarar vermekte ve NO salınımını engellemektedir. Doğal ve okside LDL, eNOS kenetsizlenmesine (eNOS uncoupling) neden olabilmekte ve L-arjinin geri alımının azalmasına yol açabilmektedir (Napoli ve Ignarro 2009).

Reaktif oksijen radikalleri, süperoksit dismutaz (SOD) enzimini inhibe etmektedirler. SOD enzimi, superoksitin hidrojen peroksite dönüşümünü sağlamaktadır. Hidrojen peroksit de katalaz ya da glutatyon peroksidaz (GP_x) aracılığı ile su (H_2O)'ya indirgenir. Hidrojen peroksit direkt olarak ya da BH_4 sentezini artırarak NOS aktivitesini artırabilir, endotel aracılı gevşetici faktör gibi davranabilir. Şekil 2-2'te noktalı oklar ile gösterilmiştir (Lassegue ve Griendling 2004).

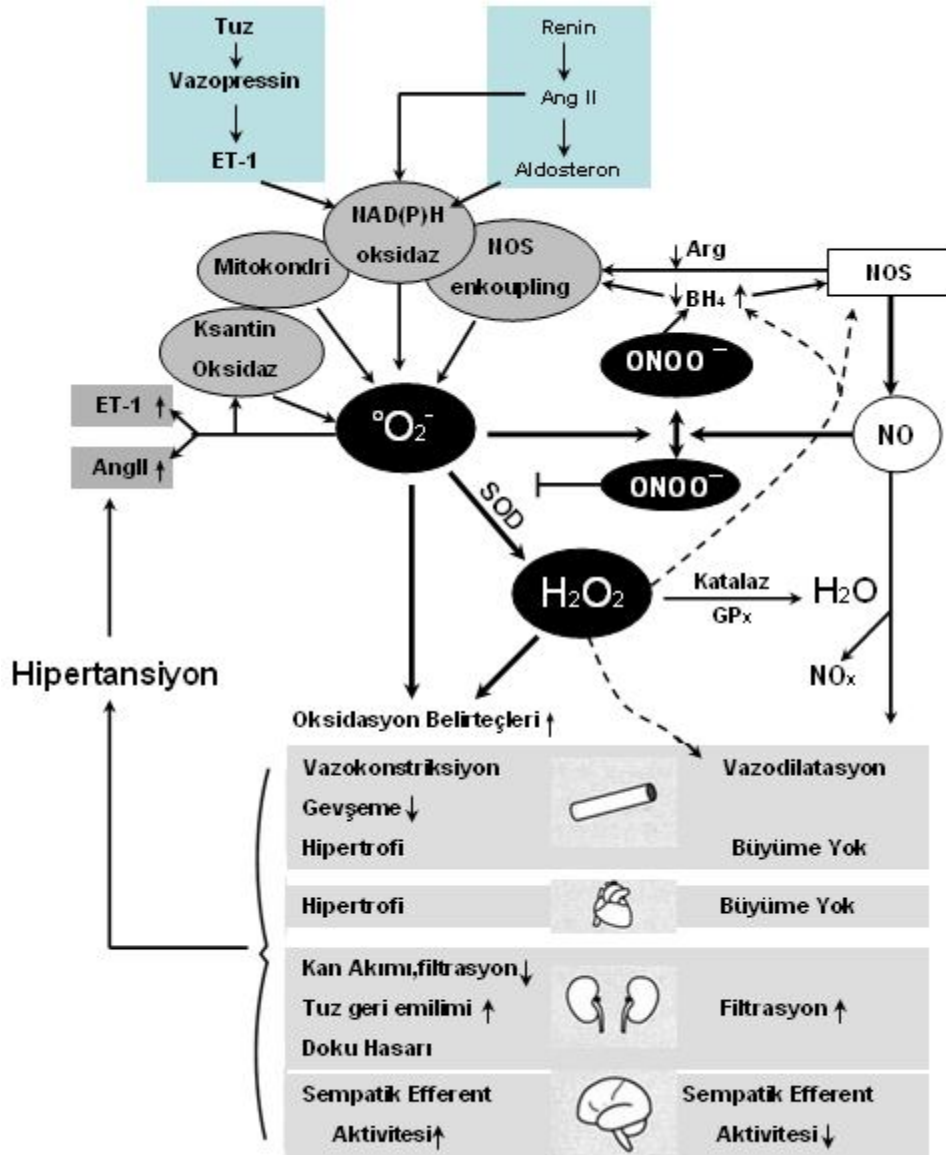
Süperoksit (O_2^-) ve metabolitleri vazokonstriksiyonu, vasküler ve miyokardiyal hipertrofiyi indükleyebilir, böbrek fonksiyonlarını azaltabilir, santral sinir sisteminde sempatik efferent aktiviteyi artırabilir. Hipertansiyon gelişimine katkıda bulunan tüm bu etkiler NO ile antagonize edilebilmektedir (Lassegue ve Griendling 2004).

Dokular ile kan arasında bulunan ve vücudun her tarafına yayılmış dinamik bir organ niteliği taşıyan endotel tabakası, sentezlediği ve salıverdiği mediyatörler ile vasküler homeostazın regülasyonunu sağlamaktadır. Bu mediyatörlerin koordineli bir şekilde çalışmasıyla ve vazokonstriktör / vazodilatör etkilerin dengelenmesiyle doku kanlanması sağlanmaktadır. Nitrik oksit (NO), rezistans arterlerin bazal tonusu, kan basıncı ve kan akımı dağılımının düzenlenmesinde önemli rolü olan ve damar endotelinden salınan endojen bir maddedir. NO'nun vasküler yapıların tonusunun belirlenmesindeki rolünün yanında başka etkileri de bulunmaktadır. Damar düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunun engellenmesi, trombosit agregasyonunun, lökosit adezyonunun engellenmesi, LDL oksidasyonunun ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunun inhibisyonu gibi etkileri ile de vasküler homeostazi

sağlamaktadır. Serbest süperoksit anyon (O_2^-) süpürücü etkisi ile proaterojenik lipid peroksidasyonunu azaltmak ve hem oksijenaz-1 ekspresyonunu artırmak suretiyle antioksidan etkinlik göstermektedir (Yetik-Anacak ve Catravas 2006, Gkaliagkousi ve ark. 2009). Ayrıca NO'nun L-tipi kalsiyum kanallarının aktivitesini module ettiği ve bu nedenle hücre metabolizması ve özellikle de eksitabl dokular üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Török 1998).

Endotel disfonksiyonu, endotel tabakasının bütünlüğünde ve homeostazında geniş ölçüde oluşan anormallikler nedeni ile endotel aracılı vazodilatasyon yanıtlarının bozulması ile kendini gösterir. L-arjinin geri alımı ve Ca^{+2} , kalmodulin, BH_4 gibi ko-faktörlerin seviyesindeki azalma, NADPH ve flavinler gibi elektronların akışındaki azalma, NOS ekspresyonunun inhibisyonu gibi faktörler NO'nun biyolojik aktivitesinde azalma meydana getirebilirler. Artan oksidatif / nitrosatif strese ya da azalan antioksidan enzim aktivitesine bağlı olarak gelişen eNOS ekspresyon seviyesindeki azalma, eNOS enzimatik aktivitesindeki azalma ve NO biyoyararlanımındaki azalma ateroskleroz, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, diabetes mellitus, tromboz ve serebrovasküler hastalıklar gibi rahatsızlıkların oluşumuna neden olmaktadır (Yetik-Anacak ve Catravas 2006, Napoli ve Ignarro 2009, Quyyumi ve Patel 2010).

Klinikte endotel disfonksiyonun teşhisinde en çok tercih edilen yöntem brakial ve koroner damarlara asetilkolin gibi endotel bağımlı vazodilatör bir maddenin infüzyonu ile damarlardaki kan akışı ve akış aracılı gevşemenin saptanması şeklindedir. Azalan gevşeme yanıtları endotel disfonksiyonun geliştiğini göstermektedir. Ayrıca asimetrik dimetil arjinin (ADMA), nitrotirozin, endotelial progenitör hücreler ve mikropartiküllerin kan düzeylerinin ölçümü, arteriyel sertlik ve karotid arterde intima/media kalınlığının ölçümü de endotel disfonksiyon teşhisinde yol gösteren yöntemlerdir (Ganz ve Vita 2003, Gkaliagkousi ve ark. 2009).



Şekil 2-2 : ROS Aracılığıyla Hipertansiyona Neden Olan Major Yolaklar

(Lassegue ve Griendling, Am J Hypertens, 2004'ten değiştirilerek)

Nitrik Oksit ve Hipertansif Renal Hasar :

NO'nun, renal atılım fonksiyonlarının ve kan basıncının düzenlenmesi gibi bir çok intrarenal prosesin kontrolünde önemli bir rolü bulunmaktadır. NO; hipertansiyon, diyabet, iskemik reperfüzyon hasarı gibi durumlarda görülen renal disfonksiyonun gelişimi ile ilişkisi olan tübüler elektrolit transport mekanizması üzerinde etkilidir (Granger ve Alexander 2000, Wu ve Mattson 2000, Palm ve ark. 2009). Sıçanlar ve köpekler üzerinde yapılmış deneysel çalışmaların sonucunda, uzun süreli NOS inhibisyonu ile renal medüller kan akımında azalma, sodyum ve su tutulumu gibi renal hemodinamik fonksiyonlarda görülen kayıplarla birlikte hipertansiyonun geliştiği gözlenmiştir (Baylis ve ark. 1990, Manning ve Hu 1994, Granger ve ark. 1996, Wu ve Mattson 2000). NO sentezindeki azalma, direkt olarak bazal renal vasküler rezistanstaki ya da tübüler reabsorpsiyondaki artış, dolaylı olarak renin-anjiyotensin aktivasyonu ve vazokonstriktör faktörlere karşı renal vasküler yanıtın artışı ile renal sodyum atılım fonksiyonlarında azalmaya yol açabilmektedir (Granger ve Alexander 2000, Wu ve Mattson 2000). Renal vasküler rezistanstaki artma, renal plazma akışındaki azalma ve glomerüler filtrasyon hızındaki azalma NOS inhibisyonu süresince böbrekte meydana gelen ilk değişikliklerdir (Baylis ve ark. 1990).

2.1.6.2. Hipertansiyon ve Endotel Aracılı Kastırıcı Faktörlerin Etkisi

Endotel disfonksiyonunda, azalan NO biyoyararlanımına bağlı olarak endotel, çeşitli kompenzatuvar mekanizmaları aktive etmektedir. Endotel aracılı gevşetici faktörlerin salınımindaki azalma, endotelin-1 (ET-1), tromboksan A₂, prostaglandin H₂ ve ROS gibi arter duvarına zarar verici endotel aracılı kastırıcı faktörler (EDCF)'in açığa çıkmasına neden olmaktadır (Vanhoutte ve ark. 2005, Versari ve ark. 2009).

Vazomotor sistemde diyabet, vazospazm, reperfüzyon hasarı ve hipertansiyon gibi patolojik koşulların gelişimi açısından gevşetici faktörler kadar kastırıcı faktörlerin de önemli bir role sahip olduğu deneysel çalışmalar ile ortaya konmuştur. Siklooksijenaz (COX)-bağımlı ürünlerin prekürsörü olan araşidonik asidin arterler ve venlerde endotel aracılı kasılma yanıtlarını indüklediği, COX inhibitörleri ile bu yanıtların baskılandığı görülmüştür. Deneysel diyabet ya da deneysel hipertansiyon gibi patolojik durumlarda ya da kayma gerilimi (shear stress) gibi fizyolojik durumlarda, asetilkolin ve kalsiyum iyonoforu A23187 ile COX-bağımlı EDCF'lerin salınımının gerçekleştiği gözlenmiştir. Deneysel çalışmalar başlıca iki COX-aracılı ürünün (tromboksan A₂, prostaglandin H₂) EDCF gibi davrandığını tanımlamıştır. Prostatiklin, vazodilatör bir faktör olarak düşünülmesine rağmen hipertansiyon gibi patolojik koşullarda EDCF gibi davranabilmektedir. Bu maddeler tromboksan-prostanoid (TP) reseptörlerini aktive ederek kasılmayı indüklemektedirler. Dolayısıyla, TP reseptör antagonistleri ile COX-bağımlı endotel aracılı kasılma yanıtları inhibe edilebilmektedir. Spontan hipertansif sıçanların aortaları ile yapılan deneysel çalışmalar sonucunda, asetilkolin uygulaması ile görülen endotel aracılı kasılma yanıtlarının önlenmesinde COX-1 enziminin selektif inhibitörlerinin COX-2 enziminin inhibitörlerine kıyasla daha etkili olduğu, dolayısıyla bu yanıtların önlenmesinde COX-1 enziminin önemli olduğu görülmüştür. Hipertansiyon, asetilkoline bağımlı gevşeme yanıtlarındaki azalma ile ilişkilidir. Hipertansif hasta grupları ile yapılan çalışmalarda, COX inhibitörü indometazinin arter içine yapılan uygulama sonrasında asetilkolinin vazodilatasyon yanıtlarında iyileşme meydana getirdiği ve insanlarda görülen hipertansiyonda COX-bağımlı EDCF'lerin endotel disfonksiyonun gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Vanhoutte ve ark. 2005, Versari ve ark. 2009).

2.1.7. Kalsiyum Kanalları

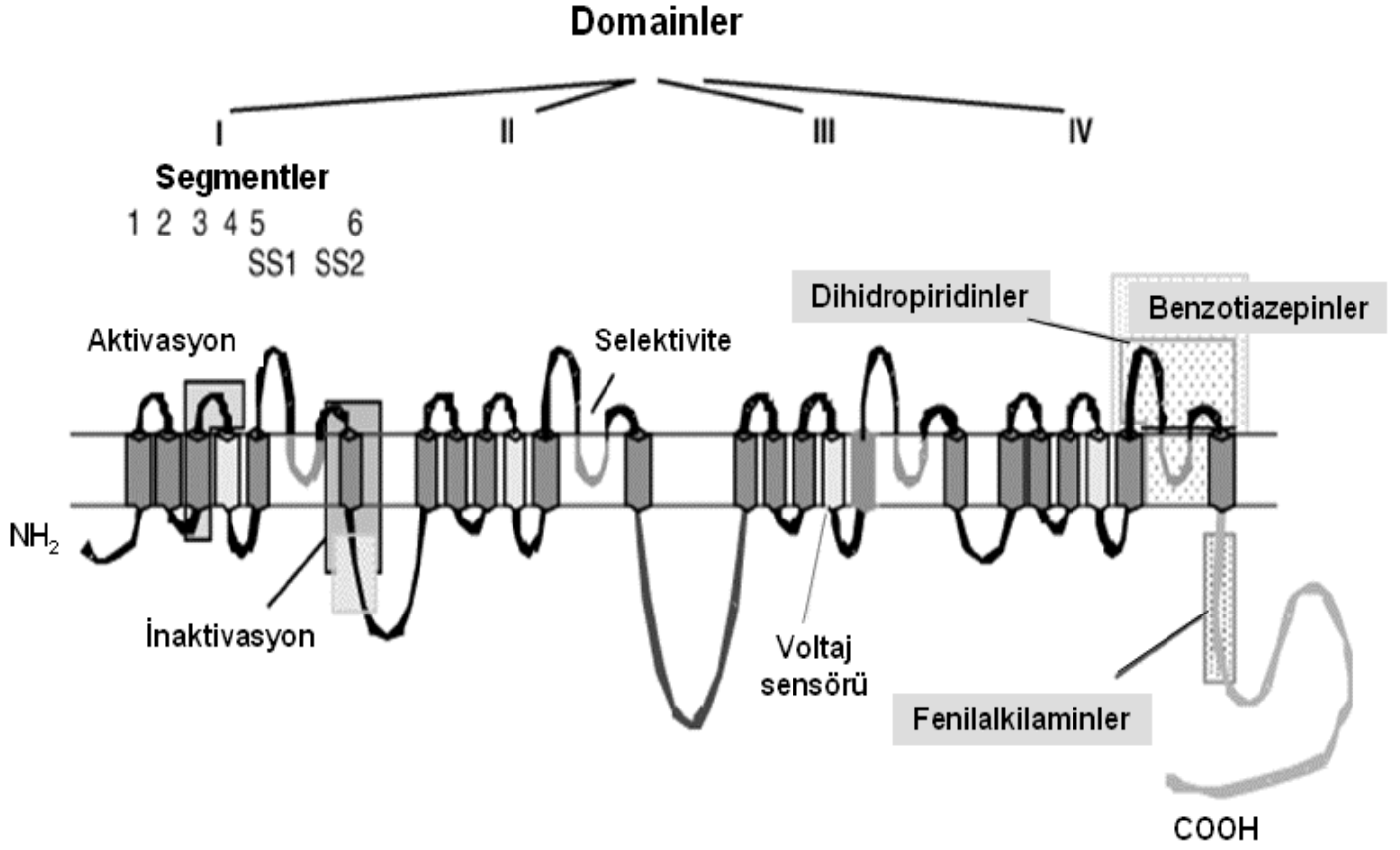
İstiharat halindeki bir hücrede sitoplazma içindeki serbest Ca^{+2} konsantrasyonu yaklaşık $0,1 \mu\text{M}$ iken, hücre dışında yaklaşık 1 mM 'dır. Hücre dışında 10.000 kez daha yüksek bir konsantrasyonda bulunan Ca^{+2} , hücre içine esas olarak membrandaki voltaja-bağımlı kalsiyum kanallarının aktivasyonu sonucunda konsantrasyon gradiyentine uyarak pasif bir şekilde girmektedir. Ayrıca membrandaki $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ değiş-tokuş mekanizması da hücre içine Ca^{+2} girişine ikincil katkıda bulunmaktadır. Hücre içinde aşırı Ca^{+2} birikmesinin önlenmesi, iç ve dış arasındaki 10.000 kezlik konsantrasyon gradiyentinin sürdürülmesi ve hücrenin aşırı kalsiyumun sitotoksik etkisinden korunması, esas olarak $\text{Ca}^{+2}/\text{Mg}^{+2}$ - ATPaz ile endoplazmik Ca^{+2} pompası tarafından sağlanır. Damar ve diğer düz kas hücrelerinde depolarizasyondan sorumlu katyon olan Ca^{+2} 'un dışarıdan hücre içine girmesi ile sarkoplazmik retikulumdaki depodan ve sitoplazma membranının iç yüzüne bağlı kalsiyum havuzundan kalsiyum saliverilmektedir. Eksitasyon sırasında dışarıdan giren ve içeriden saliverilen kalsiyum sayesinde sitoplazmada kalsiyum düzeyi bir an için yaklaşık $10 \mu\text{M}$ konsantrasyonuna yükselir ve kasılma mekanizması aktive edilir. Ca^{+2} homeostazını kalpte sitoplazma membranındaki $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ değiş-tokuş mekanizması sağlarken, damar düz kaslarında ise Ca^{+2} pompası daha çok önem taşımaktadır (Kayaalp 2000 p. 482, Romero ve ark. 2003, Richard 2005).

Ca^{+2} girişini sağlayan kalsiyum kanallarının voltaja-bağımlı ve reseptöre-bağımlı olmak üzere başlıca iki tipi vardır. Voltaja-bağımlı kalsiyum kanalları, aktive edilmeleri için istiharat halindeki eksitabl hücreye uygulanması gereken voltajın büyüklüğüne göre düşük voltajla aktive edilen ve yüksek voltajla aktive edilen kalsiyum kanalları olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Düşük voltajla aktive edilen grup T kanallarını kapsamaktadır. Yüksek voltajla aktive edilen kalsiyum kanalları L-tipi, N-tipi, P-tipi, R-tipi ve Q-tipi kanallarını kapsamaktadır. L-tipi kalsiyum kanalları, konduktansı en yüksek ve inaktivasyon süresi en uzun kanallardır ve sadece L-tipi kalsiyum kanalları dihidropiridin türevi ilaçlara duyarlıdır (Kayaalp 2000 p. 482-483, Richard 2005, Sonkusare ve ark. 2006, Ohashi ve ark. 2009).

Kardiyovasküler sistemin efektör hücrelerinin esas Ca^{+2} kanallarını oluşturan L-tipi kalsiyum kanalları alt-birimden oluşan heterooligomerik bir proteindir. Bu alt birimler : alfa1, alfa2, beta, gama ve delta alt-birimleridir (Şekil 2-3). Alfa1 alt-birimi kanal fonksiyonu yapan ve ilaçları bağlayan en geniş alt-birimdir. Alfa1 proteini, 2000'den fazla amino asid rezidüsünün yaptığı ve her biri altışar transmembranal segmentten (S1, S2, S3, S4, S5 ve S6 segmentleri) oluşan 4 alan içeren bir makromoleküldür (Şekil 2-4). L-tipi kalsiyum kanalının alfa1 alt-birimi üzerinde, kanalın açılıp kapanma mekanizmasını allosterik bir şekilde ve genellikle kapatıcı yönde etkileyen en az üç stereoselektif bağlanma yeri vardır. Bunlar 1,4-dihidropiridin, fenilalkilamin ve benzotiazepin bağlanma yerleri veya reseptörleridir. Kalsiyum kanal blokerleri kendilerine özgü reseptör noktalara bağlanmaları kanalın açılmasını engeller ve Ca^{+2} 'un kanaldan girişini bloke eder (Kayaalp 2000 p. 483-484, Cox ve Rusch 2002, Romero ve ark. 2003, Sonkusare ve ark. 2006).



Şekil 2-3 : L-tipi Kalsiyum Kanalının Yapısal Şeması



Şekil 2-4 : L-tipi Kalsiyum Kanalinın Alfa1 Alt-biriminin Genel Yapısı.

(Richard, Drugs,2005'ten değiştirilerek)

(NH₂ : Amino terminal bölgesi, COOH : Karboksil terminal bölgesi, SS : Disülfür bağı)

2.1.8. Hipertansiyon ve Kalsiyum Kanalları

Normal koşullarda, vasküler düz kas hücrelerinde L-tipi kalsiyum kanallarının Ca^{+2} girişi, vasküler tonüs ve kan basıncı üzerinde düzenleyici bir rolü bulunmaktadır. Hipertansiyonun patogeneğinde bu prosesin aksadığı ve artan Ca^{+2} girişinin anormal vasküler tonüsün gelişimi ile periferel vasküler rezistansı artışı tetikleyebileceğı düşünölmektedir (Cox ve Rusch 2002, Sonkusare ve ark. 2006).

L-tipi kalsiyum kanalları, küçük arterlerde basınç ile indüklenen kasılmalara aracılık etmektedir ve koroner, serebral ve renal vasküler sistemdeki dinamik otoregölasyona katkıda bulunmaktadır. Kanallardan voltaj-bağımlı Ca^{+2} girişi, belli bir düzeyde vazokonstriksiyon oluşturmaktadır ve arter çapı üzerinde muhtemel modölasyonu sağlayan endojen vazoaaktif maddeleri uyarıcı bir model olarak görev yapmaktadır (Sonkusare ve ark. 2006). Fareler üzerinde yapılan gen silme (gen-deletion) çalışmalarında düz kas spesifik - $\alpha_1\text{c}$ geninin ($\text{Ca}_v1.2$) inaktivasyonu durumunda, arterlerde depolarizasyon ile indüklenen kasılmaların ve miyojenik tonusun ortadan kalktığı ve $\alpha_1\text{c}$ alt-biriminin vasküler reaktivitenin düzenlenmesinde anahtar bir rol oynadığı bildirilmiştir (Moosmang ve ark. 2003). Kan basıncında akut yükselme esnasında küçük arterler ve arterioller gerime-bağılı depolarizasyon yanıtı göstermektedir ve damarların gerilmesine bağılı olarak düz kasların kasılmasına miyojenik yanıt adı verilmektedir. Küçük arterler ve arteriollerin oluşturduğu miyojenik yanıt, kan basıncındaki ilk yükselmeyi amplifiye etmektedir ve periferel vasküler rezistansı ve kan basıncı düzeyini yükseltmektedir. Diğer yandan da serebral, koroner ve renal dolaşımda lokal kan akımının otoregölasyonunda primer olarak rol oynamakta ve beyin, kalp ve böbrekte kapiller yatağın basınca-bağılı hasarını önlemektedir. Hipertansiyon gelişiminde miyojenik yanıtın, farklı vasküler yataklarda kan basıncı seviyesinin düzenlenmesi ve organ kan akımı üzerinde önemli bir rolü bulunmaktadır (Cox ve Rusch 2002, Richard 2005, Sonkusare ve ark. 2006).

Küçük arter ve arteriol çapındaki değışiklikler, vasküler düz kas hücrelerindeki Ca^{+2} ve K^{+} kanalları arasındaki dinamik etkileşim aracılığı ile düzenlenmektedir. Voltaj-bağımlı Ca^{+2} kanallarından kalsiyum girişi vazokonstriksiyona neden olurken, K^{+}

kanallarının açılması ile hiperpolarizasyon, voltaj-bağımlı Ca^{+2} kanallarının inaktif olmasına bağlı olarak vazodilatasyon yanıt meydana gelmektedir (Cox ve Rusch 2002).

Voltaj-bağımlı Ca^{+2} girişinin artışı ve yüksek basınca maruz kalmış vasküler düz kas hücrelerinde kasılma yanıtını değiştiren iki önemli hücresel mekanizma tanımlanmıştır. Bunlardan biri; deneysel hipertansif sıçanlardan izole edilen vasküler düz kas hücrelerinde, istirahat halindeki membranın K^{+} iletkenliğindeki kaybının, depolarizasyon ile indüklenen L-tipi kalsiyum kanallarının açılması ile sonuçlanması (Harder ve ark. 1985, Stekiel ve ark. 1986, Stekiel ve ark. 1993) diğeri ise; vasküler düz kas hücrelerinde yüksek damar içi basınca kısa süreli maruziyetin, alfa1c alt-biriminde ve fonksiyonel L-tipi kalsiyum kanalların sayısında upregülasyona neden olması şeklindedir (Wilde ve ark 1994, Martens ve Gelband 1996, Lozinskaya ve Cox 1997, Simard ve ark 1998, Pesic ve ark. 2004). Hipertansiyon gelişimi sırasında miyojenik stimülasyonun, var olan L-tipi kalsiyum kanallarını aktive edebileceği; ayrıca vasküler düz kas hücrelerinde L-tipi kalsiyum kanallarının sayısında artış meydana getirebileceği ileri sürülmektedir (Pesic ve ark. 2004). Hipertansiyon durumunda vasküler düz kas hücrelerin bazal membran potansiyelinde azalmaya neden olabilecek iyonik değişiklikler, yüksek kan basıncına maruz kalmış arteriyel plazma membranlarındaki voltaj-bağımlı K^{+} kanallarında down-regülasyona neden olabilmektedir (Martens ve Gelband 1996, Wang ve ark. 1997, Cox ve ark. 2001). Kronik hipertansiyonda, kan basıncının düzenlenmesi ve hayati organlara kan akışının sağlandığı damar yatağındaki L-tipi Ca^{+2} kanallarındaki upregülasyonun ve K^{+} kanallarındaki downregülasyonun vasküler tonus anomalileri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Cox ve Rusch 2002, Sonkusare ve ark. 2006).

2.1.9. Hipertansiyonun Tedavisi

Hipertansiyon mikrosirkülasyon üzerindeki etkileri nedeniyle kalp, beyin ve böbrek gibi hayati organlarda bir takım komplikasyonlara yol açabilirken, diğer taraftan da mikrovasküler sistemde var olan durumlar hipertansiyon gelişimine neden olabilmektedir. Uygun bir antihipertansif tedavi ile bu kısır döngüyü durdurmak mümkündür. Kan basıncını düşürücü tedavi seçeneklerinin yanı sıra mikrovasküler hasar üzerinde direkt olarak etkili ilaçlar tedavide avantaj sağlamaktadır (Cohuet ve Struijker-Boudier 2006).

Hipertansiyonun erken döneminde ve düşük risk taşıyan hasta gruplarında ilaç tedavisinden ziyade non-farmakolojik tedavi tercih edilmektedir. Fazla kilolardan kurtularak ideal kiloya ulaşmak, sodyumdan fakir potasyum ile kalsiyumdan zengin, sebze-meyve ağırlıklı, sağlıklı beslenme rejimlerini uygulamak, alkol ve sigara gibi olumsuz alışkanlıkları bırakmak ve sigara içilen ortamlardan uzak durmak, fiziksel aktiviteyi artırmak ve düzenli egzersiz yapmak gibi yaşam tarzı değişiklikleri non-farmakolojik tedavi ilkelerini oluşturmaktadır. Hipertansiyonun ileri safhalarında da farmakolojik tedavinin yanında yaşam tarzına dikkat etmek kan basıncının kontrolünde oldukça önem taşımaktadır (Germino 2009, Zeglin ve ark. 2009, Meka ve ark. 2010).

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan tüm ilaçlar benzer etkinlik meydana getirmesine rağmen aralarında güvenlik, tolerabilite, hastanın uyumu, maliyet ve olası hastalıkların gelişimini önleme ya da iyileştirme etkisi açısından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Antihipertansif ilaçların uzun süreli etki göstermesi istenmektedir. Ayrıca hipertansiyon tedavisi, hastanın beraberinde başka ilaçları da kullanmasına izin veren bir şekilde oluşturulmalıdır (Liau 2005).

Hipertansiyonun farmakolojik tedavisinde kullanılan başlıca yedi ilaç grubu bulunmaktadır : Diüretikler (furosemid, hidroklorotiyazit, spironolakton gibi), beta-blokerler (atenolol, karvedilol, propranolol gibi), kalsiyum kanal blokerleri (CCB) (verapamil, diltiazem, nifedipin gibi), anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE)

inhibitörleri (enalapril, kaptopril, ramipril gibi), anjiotensin II reseptör blokerleri (ARB) (losartan, valsartan, telmisartan gibi), alfa-adrenerjik blokerler (prazosin, doksazosin, terazosin gibi) ve direkt etkili vazodilatörler (hidralazin, minoksidil, sodyum nitroprussit gibi) (Liau 2005, Wenzel 2005, Zeglin ve ark. 2009).

Zorlayıcı endikasyon ya da herhangi bir kontrendikasyon yok ise 1. ve 2. evre hipertansiyonda tek başına tiazit diüretikleri ya da ACE inhibitörleri, ARBler, beta-blokerler ya da kalsiyum kanal blokerleri ile kombinasyon önerilmektedir. Hipertansiyonun beraberinde kalp yetmezliği, miyokard enfarktüsü, kronik böbrek hastalığı veya diyabet gibi zorlayıcı bir endikasyon varlığında ise ACE inhibitörleri, ARBler, CCBler ya da beta-blokerler gibi spesifik bir ilaç grubuna ihtiyaç duyulabilir (Meka ve ark. 2010).

Orta dereceli hipertansiyonun tedavisinde kan basıncını kontrol altında tutmak amacıyla iki ya da daha fazla farklı sınıftan ilaç ile kombinasyon yapılabilir. Kombinasyon tedavisinde antihipertansif etkinliğin farklı mekanizmalar kullanılarak artırılması, tamamlayıcı hemodinamik, nörohumoral ve metabolik mekanizmalar ile sinerjistik etkinin sağlanması, hedef organ etkilerinin artırılması ve yan etki sıklığının azaltılması amaçlanmaktadır (Liau 2005, Wenzel 2005, Frank 2008, Erdine 2010).

Diyabetik ya da diyabetik olmayan kronik böbrek hastalıklarında antihipertansif tedavi olarak ACE inhibitörleri ya da ARB ilk seçenek olarak önerilmektedir. Diüretikler, beta-blokerler veya kalsiyum kanal blokerlerinin ilavesi ile sağlanan kombinasyon tedavisi, kan basıncının düşürülmesi ve renal fonksiyonların korunmasında rasyonel bir stratejidir (Wenzel 2005, Frank 2008, Erdine 2010). Kalsiyum kanal blokerlerinin hepsi hipertansiyon tedavisinde ACE inhibitörleri ve anjiotensin reseptör blokerleri ile birlikte kullanılabilirler. Diüretik ilaçlar ile kombine edilebilirler. Fakat sadece diltiazem ve dihidropiridin türevleri beta-blokerler ile birlikte kullanılabilir (Kayaalp 2000 p. 437, Israili 2003, Grossman ve Messerli 2004, Epstein ve ark. 2007). Yeni geliştirilen üçüncü kuşak kalsiyum kanal blokerleri renal hemodinamik, proteinüri ve renal fonksiyonlar üzerinde gösterdikleri faydalı

etkilerinden dolayı, kronik böbrek hastalarında diğer ajanlardan daha yararlı bir tedavi imkanı sağlayabilmektedir (Wenzel 2005).

Hipertansif hastalarda endotel aracılı gevşeme yanıtlarında, anjiyotensin-dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin-II reseptör blokerleri ve dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri ile tedavi sonrasında iyileşme görüldüğü; fakat diüretikler ve ilk kuşak beta blokerler ile bu iyileşmenin görülmediği bildirilmiştir. Nitrik oksit serbestlenmesini sağlayan nebivolol gibi yeni kuşak beta blokerlerin ve antioksidan özellik gösteren karvedilol gibi beta blokerlerin, beta-blokajdan bağımsız olarak endotel fonksiyonlar üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Taddei ve ark. 2002, Landmesser ve Drexler 2007).

2.1.9.1. Kalsiyum Kanal Blokerleri

Kalsiyum kanal blokerleri, persistan kan basıncının kontrolü ve kardiyovasküler morbiditenin azaltılmasında önemli bir role sahiptir ve hipertansiyon tedavisinde yer alan önemli bir ilaç grubudur (Richard 2005, Epstein ve ark. 2007). Özellikle yaşlı, izole sistolik ve sistolik/diyastolik hipertansif hastalarda, inme başta olmak üzere kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri kabul görmüştür. İzole sistolik hipertansif ve diyabetli hastalarda diğer antihipertansif ilaçlara kıyasla daha avantajlı ajanlardır. Ayrıca bu ilaç grubunun serebral kan akımını arttırıcı etkilerinden dolayı yaşlılarda demans gelişimini geciktirebileceği de bildirilmiştir (Staessen ve ark. 2002, Israili 2003, Steffen 2004).

Kalsiyum kanal blokerleri, sitoplazma membranındaki kalsiyum kanal proteini veya oligomerik kompleksi üzerindeki özel bağlanma yerlerine veya reseptörlerine yüksek afiniteli bir şekilde bağlanarak Ca^{+2} girişini azaltırlar. Çizgili kaslarda eksitasyona bağlı intrasellüler Ca^{+2} düzeyinin artması membranlardaki kanallardan giren kalsiyuma değil, sarkoplazmik retikulumdan salıverilene bağlı olduğu için kalsiyum kanal blokerlerinin, çizgili kas kasılması ve tonusu üzerinde herhangi bir etkisi yoktur (Kayaalp 2000 p. 436-437).

Kalsiyum kanal blokerleri vazodilatör etkilerini kapasitans (venöz) damarlardan daha çok rezistans (arteriyoler) damarlar üzerinde göstermektedirler. Kalsiyum kanal blokerleri antihipertansif aktivitelerini total periferik vasküler rezistansı azaltarak göstermektedirler (van Zwieten 1998b). Vazodilatör etkilerinde kısmen damar endotelinden salınan nitrik oksit rol oynamaktadır (Kayaalp 2000 p. 436-437, Grossman ve Messerli 2004).

Kalsiyum kanal blokerleri glomerüler filtrasyon hızını ve renal kan akımını artırır. Diğer vazodilatör ajanların aksine natriüresi indükler ve su tutulumuna neden olmazlar (Tobe 2003). Kan basıncını etkin biçimde düşürmelerine ve kardiyovasküler morbiditeyi azaltmalarına rağmen beta bloker ve diüretiklerin böbrek hasarını geciktirme yönündeki etkileri sınırlıdır. Nondiyabetik renal hastalığı olan bireyler üzerinde yapılan çalışmalar, böbrek yetmezliğini geciktirme bakımından ACE inhibitörleri ve kalsiyum kanal blokerlerinin; diüretikler, adrenerjik antagonist gibi ilaçlara kıyasla daha etkili olduğunu göstermiştir (Maki ve ark. 1995, Epstein ve ark. 2007). Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri, kreatinin klirensi ve proteinüri üzerindeki iyileştirici etkileri nedeniyle diüretiklerden daha iyi bir böbrek koruyucu etki profili çizmektedir (Cohuet ve Struiker-Boudier 2006). Anjiyotensin II-aracılı vazokonstriksiyonu ve adrenal biyosentez üzerindeki anjiyotensin-II stimülatör etkisini aldosteron sekresyonu ile azaltırlar (Grossman ve Messerli 2004).

Kalsiyum kanal blokerleri trombosit agregasyonunu hafif derecede inhibe ederler ancak antiagregan ilaç olarak kullanılmazlar. Kalsiyum kanal blokerleri arteriyel kan basıncını düşürmelerine rağmen; diüretiklerin ve beta-blokerlerin aksine kalp, beyin ve böbrek kan akımını ve diğer yerlerdeki doku perfüzyonunu azaltmazlar, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını olumsuz yönde etkilemezler. Hatta lipoprotein lipazların sekresyonunu stimüle ederek lipid metabolizması üzerinde olumlu etkiler oluşturmaktadırlar (Kayaalp 2000 p. 436-437, Israili 2003, Grossman ve Messerli 2004). Tromboksan A2 ve malondialdehit (MDA) oluşumu serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasına ve aterojenik prosesin aktive olmasına neden olmaktadır. Özellikle yeni geliştirilen yüksek lipofilik karakterdeki kalsiyum kanal blokerleri

trombosit kaynaklı MDA üretimini baskılayarak antioksidan özellik göstermektedirler. Ayrıca kalsiyumun da önemli ölçüde katkı sağladığı vasküler lezyonlar ve ateroskleroz oluşumunda, kalsiyum kanal blokerlerinin koruyucu etkileri bulunmaktadır (Hernandez ve ark. 2003, Grossman ve Messerli 2004, Epstein ve ark. 2007).

L-tipi kalsiyum kanallarına yüksek afinite gösteren kalsiyum kanal blokerleri yapıca üç gruba ayrılmaktadır (Tablo 2-3) :

- i. Dihidropiridin türevleri (nifedipin, barnidipin gibi)
- ii. Fenilalkilamin türevleri (verapamil, gallopamil gibi)
- iii. Benzotiazepin türevleri (diltiazem gibi)

Fenilalkilamin türevleri ve benzotiazepin türevleri, vasküler sistemden ziyade kalpteki kalsiyum kanallarına karşı daha seçicidir. Bu nedenle vazodilatör etki yapan dozlarında kalbin miyokard hücreleri ve özellikle nodal hücreleri üzerinde belirgin depresan etki gösterirler. Fenilalkilamin türevlerinin kardiyak depresan etkileri, benzotiazepin türevlerine kıyasla daha belirgindir (Kayaalp 2000 p. 436, Messerli 2002, Hernandez ve ark. 2003).

Kısa etkili kalsiyum kanal blokerlerinin artan akut miyokard enfarktüs riski ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Advers etkilerin ortaya çıkmasındaki muhtemel mekanizma, akut vazodilatasyona yanıt olarak gelişen beta adrenerejik reseptör stimülasyonundaki artışa bağlıdır. Kısa etkili kalsiyum kanal blokerlerinin nörohormonal aktivitesini azaltmak amacıyla, kardiyovasküler mortalite ve morbidite üzerinde olumlu etkileri bulunan uzun etkili kalsiyum kanal blokerleri geliştirilmiştir (Messerli 2002, Epstein ve ark. 2007, Ohashi ve ark. 2009). Daha fazla doku selektivitesi gösteren, daha uzun etkili ve özellikle negatif inotropik etki bakımından daha olumlu bir yan etkili profile sahip olan ikinci kuşak (nitrendipin, nisoldipin, nimodipin, isradipin, felodipin, nikardipin, nilvadipin) ve üçüncü kuşak (amlodipin, lasidipin, lercanidipin, manidipin) dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri tedavide avantaj sağlamaktadır (Messerli 2002, Grossman ve Messerli 2004, Steffen 2004).

Tablo 2-3 : Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Sınıflandırılması

Dihidropiridinler		Fenilalkilaminler	Benzotiyazepinler
Prototipi : Nifedipin		Prototipi : Verapamil	Prototipi : Diltiazem
Amlodipin	Manidipin	Anipamil	
Barnidipin	Nikardipin	Devapamil	
Benidipin	Niguldipin	Gallopamil	
Elgoidipin	Niludipin	Ronipamil	
Felodipin	Nilvadipin	Tiapamil	
Flordipin	Nimodipin		
Isradipin	Nisoldipin		
Klevidipin	Nitrendipin		
Lasidipin	Teludipin		

(Hernandez ve ark., Am J Ther, 2003).

2.1.9.2. Dihidropiridin Türevi Kalsiyum Kanal Blokerleri

1,4-dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri, vasküler sistemde düz kas gevşemesini yol açarak periferik direncin düşmesini sağlayan etkili bir antihipertansif ilaç grubudur. L-tipi kalsiyum kanallarına bağlanarak hücre içine kalsiyum girişini inhibe ederler (Korstanje 2000). Böbrek üzerinde koruyucu etkinliği de bulunan dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri, hipertansiyon tedavisinde çoğunlukla ilk seçenek olarak kullanılmaktadır (Spieker 1998, Wenzel 2005). Dihidropiridin türevlerinin antianginal etkinliği yeterli derecededir, ancak antiaritmik etkinlik göstermezler (Kayaalp 2000 p. 436-437, Epstein ve ark. 2007). Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri, tokolitik olarak obstetrik ve jinekoloji alanında da kullanılmaktadır (Economy ve Abuhamad 2001).

Kalsiyum kanal blokerlerinin hipertansiyon, ateroskleroz ve hiperkolesterolemi gibi durumlarda gelişen anormal koroner vazomotor yanıtlarını iyileştirdiği, özellikle dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerlerinin koroner makrosirkülasyon ve periferik mikrosirkülasyonda endotel disfonksiyonu geriye döndürdüğü; amlodipin, nitrendipin, nifedipin, nisoldipin ve nimodipin'in eNOS'u aktive ettiği dolayısıyla NO salınımını indüklediği bildirilmiştir (Zhang ve Hintze 1998, Ding ve Vaziri 2000, Kitakaze ve ark. 2000, Berkels ve ark. 2001, Motro ve ark. 2001, Taddei ve ark. 2002, Grossman ve Messerli 2004). Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri, antihipertansif etkilerini iki yol üzerinden göstermektedir (Dhein ve ark. 1999):

1. Düz kas L-tipi kalsiyum kanallarından Ca^{+2} iyonlarının girişinin inhibisyonuna bağlı direkt gevşetici etki.
2. Vasküler endotelden NO salınımı aracılığı ile sağladığı indirekt gevşetici etki.

Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerlerinin, NO biyoyararlanımını artırarak endotel fonksiyonlar üzerinde gösterdiği yararlı etkisi, antioksidan aktivitesi ile ilişkilidir (Berkels ve ark. 2001, Lopez-Jaramillo ve Casas 2002, Taddei ve ark. 2002).

Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri farmakolojik etki profili açısından diğer iki grup kalsiyum kanal blokerlerinden ayrılmaktadır. Dihidropiridin türevleri vazoselektif özellikte oldukları için, damarları gevşeten doz ve konsantrasyonlarda kalp kası ve diğer kalp hücreleri üzerinde genellikle belirgin bir depresan etki oluşturmazlar. Uzun etkili dihidropiridin türevleri kısa etkililere kıyasla ortostatik hipotansiyona, refleks taşikardiye neden olmaz (Kayaalp 2000 p. 436-437, Hernandez ve ark. 2003, Israili 2003, Grossman ve Messerli 2004, Epstein ve ark. 2007).

Nifedipin, nikardipin, amlodipin ve diltiazem gibi klasik dihidropiridinler afferent arterioller üzerindeki baskın etkilerinden dolayı glomerüler hipertansiyonu şiddetlendirirken; manidipin, nilvadipin, benzindamin ve efonidipin gibi yeni dihidropiridinler hem afferent hem de efferent arterioller üzerindeki gevşetici etkilerinden dolayı glomerüler hipertansiyonu iyileştirmekte ve böbrek üzerinde

koruyucu etki sağlamaktadırlar (Grossman ve Messerli 2004, Richard 2005). Dihidropiridin türevlerinin böbrek üzerindeki koruyucu etkileri, esas olarak böbrek tübülleri üzerindeki etkinlikleri ile sodyum reabsorbsiyonunu azaltmalarına ve kısmen de renal kan akımını artırmalarına bağlıdır. Bu sebeple uzun süre tek başına kullanıldıklarında su ve tuz retansiyonuna ve kilo artışına neden olmazlar (Kayaalp 2000 p. 436-437, Epstein ve ark. 2007).

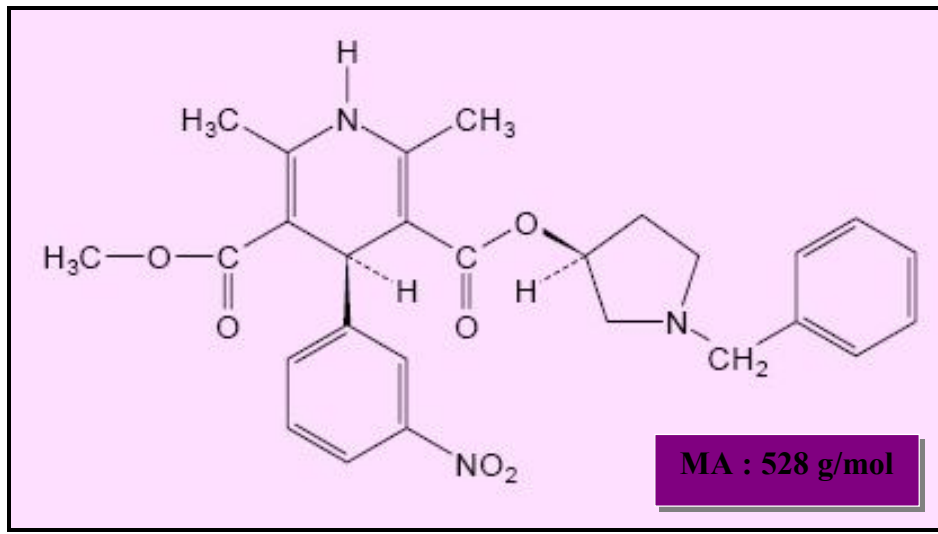
2.2. Barnidipin

Barnidipin, vazoselektif etkili, stereoselektif ve lipofilik karakterde uzun etkili bir dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokeridir (van Zwieten 1998a). Barnidipin (YM-09730-5, Mepirodipin, LY198561) ilk olarak 1992 yılında Japonya’da hafif-orta dereceli esansiyel hipertansiyonun tedavisinde ve 1994 yılında renovasküler hipertansiyonun tedavisinde kullanıma girmiştir (Malhotra ve Plosker 2001, Liau 2005).

L-tipi kalsiyum kanallarının inaktivasyonundaki yüksek potensi, yüksek vasküler selektivitesi ve yüksek lipofilitesi sayesinde, yavaş başlayan ve uzun süren bir arteriyoler vazodilatasyon yanıt oluşturmakta ve bu sayede organ hasarı veya akut kardiyovasküler bir vaka gelişimine neden olabilecek kan basıncındaki dalgalanmayı önlemektedir (Spieker 1998, van Zwieten 1998a, Beudeker 2000, Malhotra ve Plosker 2001). Modifiye salınımlı tek izomer formülasyonu ile Barnidipin, yavaş başlayan etkisi ve aralıksız dağılımı ile aşırı hipotansiyona ve refleks taşikardiye neden olmaksızın 24 saat boyunca kan basıncını kontrol altında tutabilmektedir (Liau 2005).

Yetişkinlerde yüksek kan basıncının kontrolünde önerilen başlangıç dozu sabahları alınmak üzere günde bir defa 5-10 mg’dır. Eğer gerekli ise doz günde bir kez 20 mg’a kadar artırılabilir (Liau 2005, Üstünes 2010).

Kapalı formülü $C_{27}H_{29}N_3O_6$ olan Barnidipin [(+)-(3'S,4S)-3-(1'-benzil-3'-pirrolidinil)-metil-2,6-dimetil-4-(m-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat] (Şekil 2-5) antihipertansif bir ilaç olarak Yamanouchi Pharmaceutical Co Ltd. (Tokyo, Japan) tarafından sentez edilmiş ve geliştirilmiştir. Barnidipin'in çözünürlüğü oda sıcaklığında 2,89 mg/ml'dir (Sakai ve ark. 1997, Üstünes 2010). Barnidipin'in S,S enantiomerinin en potent ve en uzun etkili kalsiyum kanal blokörü olduğu bildirilmiştir (Sakai ve ark. 1997, van Zwieten 1998a).



Şekil 2-5 : Barnidipin'in moleküler yapısı

(Malhotra ve Plosker, Drugs, 2001)

2.2.1. Barnidipin'in Farmakolojik Etki Profili

Hipertansif hayvan modelleri ve geniş hasta grupları üzerinde yapılmış çalışmalarda Barnidipin'in vazodilatör, diüretik ve natriüretik etkinliği olan bir antihipertansif ajan olduğu ortaya konmuştur (Kawashima ve ark. 1991, Sakai ve ark. 1997, van Zwieten 1998a, Korstanje 2000, Park ve ark. 2000, Liao 2005). Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda total periferik damar rezistansı, renovasküler rezistansı ve hepatik vasküler rezistansı önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir (Liao 2005).

Vazoselektif özellikte olduğu ve dolayısıyla antihipertansif etki meydana getirdiği dozlarda kardiyodepresan etki meydana getirmediği bildirilmiştir (Sakai ve ark. 1997, van Zwieten 1998a, Liao 2005). Kobay izole atriyum ve aortası ile yapılmış olan bir çalışmaya göre Barnidipin'in düşük plazma seviyelerinde bile yüksek potense sahip olduğu, vasküler düz kasında kardiyak kasında olduğundan 1100 kat daha etkili yani vazoselektif özellikte olduğu bildirilmiştir (Sakai ve ark. 1997). Barnidipin'in izole aorta, koroner ve mezenterik arterler üzerinde direkt gevşetici etkinliğinin olduğu belirlenmiştir (Nakayama ve ark. 1989, van der Lee ve ark. 1998, Inagaki ve ark. 1999). Ayrıca, Wistar sıçanlardan izole edilen mezenterik arterler ile yürütülen bir çalışmada Barnidipin'in diğer kalsiyum kanal blokerlerine kıyasla daha potent bir vazodilatör etki meydana getirdiği ve etkisinin daha yavaş başladığı gösterilmiştir (van-der-Lee ve ark. 1998).

Spontan hipertansif sıçanlarda hidronefrotik böbrek modeli oluşturulmuş bir çalışmada, Barnidipin'in afferent ve efferent arteriollerde önemli ölçüde gevşeme yanıtı meydana getirdiği ve glomerüler kan akımını artırdığı gösterilmiştir (Kimura ve ark. 1998). Stroke-prone spontan hipertansif sıçanlar ile yapılan bir çalışmada Barnidipin (3mg/kg)'in doz bağımlı olarak diüze ve idrardaki Na^+ , K^+ ve Cl^- iyonlarının seviyesinde artışa neden olduğu, renal arter içine yapılan infüzyon sonrasında ise doz bağımlı olarak idrar akış oranı ve üriner Na^+ miktarı artarken, glomerüler filtrasyon oranı ve ortalama renal kan basıncında bir değişiklik meydana getirmediği bildirilmiştir (Kawashima ve ark. 1991). Spontan hipertansif sıçan glomerüllerinin incelendiği bir çalışmada ise Barnidipin'in hipertansif böbrek hasarı oluşumunda etkili bir faktör olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü B-zincirinin, mRNA ekspresyonunda ve proteinüri düzeyinde azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (Hashimoto ve ark. 1998).

Hipertansif hasta grupları ile yapılan çalışmalarda Barnidipin'in serum total kolesterol, trigliserid ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol seviyelerinde önemli bir değişiklik meydana getirmediği, non-obez hipertansif sıçanlar ile yapılan çalışmada ise insulin duyarlılığını iyileştirdiği görülmüştür (Malhotra ve Plosker 2001).

2.2.2. Barnidipin'in Farmakokinetik Profili

Oral yoldan kullanılan Barnidipin, gastrointestinal kanaldan kolayca emilir, fakat karaciğerde büyük oranda ilk geçiş etkisine uğrayarak birçok inaktif metabolitlerine dönüşmektedir. Barnidipin'in oral biyoyararlanımı % 1,1'dir. Barnidipin'in biyoyararlanımının artırılması amacı ile uzun salımlı formları kullanılmaktadır. Besinler Barnidipin'in biyoyararlanımını önemli ölçüde etkilememektedir (van Zwieten 1998, Beudeker 2000, Malhotra ve Plosker 2001).

İn vitro çalışmalar Barnidipin'in plazma proteinlerine, özellikle albumine yüksek oranda (% 92,4-98,9) bağlandığını göstermiştir. Proteinlere bağlanma esnasında Barnidipin'in diğer ilaçlar (triklorometiazid, diazepam, propranolol, tolbutamid, kaptopril gibi) ile yarışmaya girmediği görülmüştür. Sıçanlarda oral yoldan tek doz radyoaktif işaretlenmiş Barnidipin ile yapılan çalışmalar, Barnidipin'in gastrointestinal kanal, karaciğer ve böbreklerde plazmaya göre daha yüksek düzeylerde bulunduğunu, beyindeki düzeyinin ise düşük bulunduğunu göstermiştir. Barnidipin'in anne sütüne geçtiği bilinmektedir (Sakai ve ark. 1997; Malhotra ve Plosker 2001).

Barnidipin başlıca karaciğerde sitokrom P450 3A4 (CYP3A4) enzimi tarafından metabolize edilmekte ve büyük ölçüde inaktif metabolitlerine dönüşmektedir. Metabolitler; yan zincirde N-debenzilasyonu, pirrolidin esterinin hidrolizi, dihidropiridin halkasının oksidasyonu, metilesterin hidrolizi, amino grubuna bağlı nitro grubunun redüksiyonu, glukuronik asit ile konjugasyon gibi birçok reaksiyon sonucunda oluşmaktadır (Sakai ve ark. 1997, Teramura ve ark. 1997, Malhotra ve Plosker 2001, Liao 2005).

Barnidipin maksimum plazma düzeylerine oral yoldan 20 mg dozunda uygulanmasından 5-6 saat sonra ulaşmaktadır (Beudeker 2000). Tekrarlanan uygulamalardan sonra Barnidipin'in medyan terminal eliminasyon yarılanma ömrü, iki kompartmanlı analitik modele göre 20 saattir (Malhotra ve Plosker 2001). Barnidipin ve

metabolitleri feçes ve idrar yoluyla atılır (Sakai ve ark. 1997). Sağlıklı gönüllüler ile yapılan bir çalışmada, 5-20 mg tek doz oral yoldan Barnidipin uygulanmasından sonra, değişmemiş ilacın idrarla atılımı ihmal edilebilir düzeyde bulunmuştur (Teramura ve ark. 1996).

2.2.3. Barnidipin'in Yan Etki Profili

Barnidipin genelde iyi tolere edilebilen ve güvenle kullanılan bir ilaçtır. Barnidipin, modifiye salınlı formülasyonu ile uygun bir yan etki profili göstermektedir (Beudeker 2000). Diğer dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerlerinde olduğu gibi Barnidipin'in 10 mg/gün dozunun baş ağrısı (% 4,3) , flushing (% 4,3) , periferik ödem (% 2,7), baş dönmesi (% 2,3) ve palpasyon (% 1,9) gibi geçici vazodilatör yan etkilerinin olduğu bildirilmiştir (van der Velden ve ark. 1998, Beudeker 2000, Malhotra ve Plosker 2001, Liao 2005). Yan etkiler, 20 mg/gün başlangıç dozu ile daha sık görülebilmektedir ve bu nedenle 10 mg/gün dozu ile başlanıp 20 mg/gün devam edildiğinde yan etkilerin görülme sıklığı azalmaktadır (Malhotra ve Plosker 2001). Yan etkiler Barnidipin tedavisinin başlangıcında meydana gelmektedir ve genellikle geçicidir. Barnidipin kullanımında meydana gelen advers etkilerin görülme sıklığı diğer dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri ile kıyaslandığında daha azdır (Beudeker 2000, Malhotra ve Plosker 2001).

Barnidipin sempatik stimülasyona yol açmamaktadır ve dolayısıyla oral kullanımından sonra diğer dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerlerinden farklı olarak refleks taşikardi görülmemektedir (Malhotra ve Plosker 2001, Liao 2005). Bu durumun, ilacın dağılımdan sonra biriktiği hücre membran depolarından yavaş difüze olması ve bunun sonucunda etkisinin yavaş başlaması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (van Zwieten 1998a).

Özellikle yaşlı hastalarda meydana gelen advers etkiler, ilacın farmakokinetiğinin değişmesi nedeniyle plazma konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak görülmektedir. Ayrıca, advers etkiler yaşlı hastalarda sıkça görülen polifarmasi

sonucunda ilaç-ilaç etkileşimi nedeniyle de meydana gelebilmektedir. Fakat yapılan çalışmalar, 10mg/gün dozunda Barnidipin kullanımında meydana gelen advers etkiler açısından genç ve yaşlı hastalar arasında farklılık gözlenmediğini ve yaşlı hipertansif hastalarda Barnidipin'in doz ayarlaması yapılmadan da güvenle kullanılabileceğini göstermektedir (Beudeker 2000).

2.2.4. Barnidipin ve İlaç Etkileşimleri

Barnidipin'in diğer kalsiyum kanal blokerlerine kıyasla daha olumlu bir farmakokinetik etkileşim profili sergilediği görülmüştür (Beudeker 2000).

İnsan karaciğer sitokrom P450 izoenzimleri ile yapılmış olan in vitro bir çalışmada diazepam, simvastatin, terfenadin (CYP3A4) ve metoprololün (CYP2D6) Barnidipin metabolizmasını inhibe ettikleri bildirilmiştir. Sitokrom P450 izoenzim ailesi aracılığı ile metabolize olan ilaçlar ile kombinasyon halinde kullanıldığında Barnidipin'in metabolizması etkilenebilmektedir. Fakat Barnidipin'in sitokrom P450 izoenzimleri tarafından metabolize edilen ilaçların farmakokinetikleri üzerinde klinik olarak önemli bir etkiye sahip olmadığı görüşü bildirilmiştir (Beudeker 2000, Korstanje 2000, Liao 2005).

Spesifik bir etkileşim çalışmasına göre, Barnidipin'in simetidin ile birlikte kullanımı Barnidipin'in plazma düzeylerinin ortalamanın iki katına çıkmasına yol açmıştır (Beudeker ve ark. 2000). Yapılan bir in vivo etkileşim çalışmasına göre diğer kalsiyum kanal blokerlerine kıyasla Barnidipin'in, digoksin farmakokinetiğini etkilemediği bildirilmiştir (Beudeker 2000, Liao 2005). In vitro çalışmalardan elde edilen sonuçlar, Barnidipin metabolizmasının amitriptilin, diklofenak, fenitoin, teofilin, glibenklamid, simvastatin ve varfarinden etkilenmediğini, siklosporinin ise Barnidipin metabolizmasını inhibe edebileceğini göstermektedir (Teramura ve ark. 1997, Beudeker 2000).

Alkol ve greyfurt suyu ile birlikte uygulandığında, Barnidipin'in oral biyoyararlanımında artış görülebileceği ancak bu artış klinik olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (Beudeker ve ark. 2000).

2.2.5. Barnidipin'in Toksikolojik Profili

Barnidipin'in genellikle terapötik dozdan 5-10 kat daha yüksek bir dozda uygulanmasından sonra 30-60 dakika içinde toksik semptomlar gelişir. Hipotansiyon, sinüs bradikardisi, uzamış AV ileti, ikinci ve üçüncü derece AV blok, sersemlik, konfüzyon, nadiren konvülsiyonlar, bulantı-kusma ve hiperglisemi gibi belirtiler beklenebilir (Üstünes 2010). Yapılmış olan birçok in vitro ve in vivo çalışmalar ile Barnidipin'in mutajenik etki göstermediği bildirilmiştir, ayrıca Barnidipin'in insanlar için karsinogenik risk taşıdığına dair bir kanıt rastlanmamıştır (Sakai ve ark. 1997). Anne sütüne geçen Barnidipin'in hamilelik kategorisi B'dir (Üstünes 2010).

2.2.6. Barnidipin'in Diğer Kalsiyum Kanal Blokerleri ile Kıyaslanması

Renal hipertansif sıçan ve köpekler, spontan hipertansif sıçanlar ve DOCA-salt hipertansif sıçanlar ile yürütülmüş araştırmalarda, bazı kalsiyum kanal blokerleri potens ve etki süresi açısından incelenmiştir. Potens açısından kalsiyum kanal blokerleri şu şekilde sıralanmıştır : barnidipin $\geq$ nifedipin > nisoldipin $\geq$ nikardipin = nitrendipin > verapamil > diltiazem (van-der-Lee ve ark. 1998, Korstanje 2000).

Barnidipin'in 4 ile 12 hafta boyunca 10-20 mg/gün dozunda uygulandığı orta dereceli hipertansif bir hasta grubu ile yapılmış olan klinik bir çalışmada, plazma noradrenalin seviyesinde önemli ölçüde bir düşüş meydana gelirken, 10-20 mg/gün nitrendipin uygulamasında ise, plazma noradrenalin düzeyinde bir değişiklik meydana gelmemiştir. Barnidipin ve nitrendipin adrenalin, dopamin, aldosteron ve vazopressin'in plazma düzeylerinde ise önemli ölçüde bir değişiklik meydana getirmemiştir (Argenziano ve ark. 1998).

Orta dereceli hipertansif bir hasta grubu ile yapılmış olan 12 haftalık klinik bir çalışmada Barnidipin, nitrendipin ve amlodipin ile kıyaslanmış ve Barnidipin'in (10-20 mg/gün) diyastolik kan basıncında meydana getirdiği düşüşün; nitrendipin (10-20 mg/gün) ve amlodipinin (5-10 mg/gün) meydana getirdiği düşüş ile benzer olduğu bildirilmiştir (Spieker 1998, Malhotra ve Plosker 2001).

Barnidipin (5-10-15 mg/gün) ve nikardipin (40-80 mg/gün)'in etkileri orta dereceli hipertansif hastalar üzerinde yapılmış olan 12 haftalık bir çalışmada kıyaslanmış ve efikasite açısından önemli derecede bir farklılık gözlenmemiştir (Liau 2005).

Orta dereceli hipertansif bir hasta grubu üzerinde yapılmış olan 12 haftalık bir çalışmada kan basıncını düşürücü etki bakımından Barnidipin (5-15 mg/gün) ve felodipin (5-10 mg/gün) kıyaslanmış ve istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Barnidipin'in advers etkiler bakımından felodipin ile kıyaslandığı bir başka çalışmada ise palpitasyon dışındaki advers etkilerin görülme sıklığı açısından bir farklılık gözlenmemiştir. Palpitasyona felodipin kullanan hastalarda daha sık rastlanmıştır (Liau 2005).

2.2.7. Barnidipin'in Müstahzarları

Ülkemizde Astellas Pharma (Hollanda) firması tarafından Libradin© adı altında modifiye salımlı kapsül formülasyonunda 10 mg ve 20 mg dozlarında takdim edilmiştir (Üstünes 2010).

Dünya'da ise Cyress, Libradin, Vasexten, Hypoca, Osipine ticari isimleri ile müstahzarları bulunmaktadır (Üstünes 2010).

2.3. Deneysel Hipertansiyon Modelleri

Kardiyovasküler araştırmalarda, kullanılan hayvan modelleri kardiyovasküler hastalıkların oluşumuna neden olan mekanizmaların ve tedavide kullanılacak ilaçların etkisinin incelenmesine olanak sağlamalıdır. Hipertansiyon araştırmaları için tercih edilen ideal hayvan modelinin, kardiyovasküler anatomisi, hemodinamiği ve fizyolojisi insana benzer nitelikte olmalı ve insan hastalıklarının karakteristik özelliklerini, zaman içerisinde görülen komplikasyonlarını da yansıtabilmelidir (Doggrell ve Brown 1998, Lerman ve ark. 2005).

Çalışmalarda kullanılacak ideal deneysel hipertansiyon modeli aşağıda belirtilen temel kriterlere sahip olmalıdır :

- 1) Gerçekleştirilmesi basit ve tekrarlanabilir olmalıdır.
- 2) İnsan hipertansiyon özelliklerini taklit edebilmelidir.
- 3) ngrlen ve izlenebilen semptomlar göstermelidir.
- 4) Ekonomik olmalı ayrıca teknik koşullar ve hayvan refahı açısından tatmin edici olmalıdır.
- 5) Kardiyak, biyokimyasal ve hemodinamik parametrelerin ölçümüne elverişli olmalıdır (Doggrell ve Brown 1998, Lerman ve ark. 2005).

2.3.1. Spontan ve Genetik Hipertansiyon Modelleri

2.3.1.1. Spontan Hipertansif Sıçanlar

Spontan hipertansif sıçanlar (SHR), Wistar sıçanların inbred soy oluşturmak üzere eşleştirilmeleri ile elde edilmiş ve herhangi bir farmakolojik ya da cerrahi müdahaleye gereksinim duymaksızın hipertansiyonun geliştiği bir modeldir. 6-8 hafta içinde sistolik kan basıncıları 100-120 mmHg düzeylerine çıkan sıçanlar pre-hipertansif duruma gelmekte, 12-14 hafta sonunda ise sistolik kan basıncı belirgin en yüksek

düzeye ulaşarak hipertansiyon gelişmektedir. Spontan hipertansif sıçanlar, günümüzde klinik araştırmalarda da yer almaktadır. Gerek patofizyolojik gerekse hipertansiyona bağlı komplikasyonlar ile benzerlik açısından insan hipertansiyonu çok iyi taklit edilmektedir. Pre-hipertansiyon evresi de dahil olmak üzere hipertansiyonun tüm evreleri haftalar içerisinde görülebilmektedir (Doggrell ve Brown 1998).

Yaş ile ilişkili olarak hipertansiyonun görüldüğü bu modelde androjenler, basınç-natriürez ve tubulo-glomerüler feedback mekanizması üzerinde etki göstererek hipertansiyon oluşumu ve yaşa bağlı renal hasarı sağlamaktadır ve bu model menopoz sonrası görülen hipertansiyonu taklit etmektedir (Lerman ve ark. 2005). Kardiyak hipertrofi, kardiyak yetmezlik, proteinüri ve azalan kreatinin klirensi ile seyreden böbrek bozukluğu görülürken endotel aracılı gevşeme yanıtlarında kayıplar dışında ağır vasküler problemler gözlenmemiştir. Spontan hipertansif sıçanların kullanıldığı çalışmalarda kontrol grubu olarak Wistar Kyoto sıçanlar (WKY) tercih edilmektedir (Doggrell ve Brown 1998).

2.3.1.2. Spontan Hipertansif İnme - Eğilimli Sıçanlar

Spontan hipertansif sıçanların serebrovasküler hastalıkları geçirme insidansının daha yüksek olduğu bir alt türüdür. 5 hafta içinde hipertansiyon gelişmektedir ve süre sonunda sistolik kan basıncı en az 250 mmHg düzeyine ulaşmaktadır. Artan serebral lezyonlar ve kan basıncı ile ilişkili olarak sıçanlarda son organ hasarı inme şeklinde görülmektedir. Tuz-alımı hipertansiyon gelişimi ve inme oluşumunu hızlandırmaktadır (Doggrell ve Brown 1998).

2.3.1.3. Dahl Tuz-duyarlı Sıçanlar

İlk olarak Sprague-Dawley sıçanlar ile yapılan bir çalışmada tuz tüketimi ve kan basıncı arasında direkt bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Meneely ve Ball 1958). Etiyolojik faktörler incelendiğinde Lewis K. Dahl, tuza duyarlılık ya da direnç gösteren

sıçanlarda kan basıncında meydana gelen değişikliklerde genetik faktörlerin rol oynadığını düşünmüş ve Sprague-Dawley sıçanlardan hipertansif etkilere karşı duyarlı ve dirençli olmak üzere iki tür üretmiştir. Tuza duyarlı sıçanlarda, normal tuz diyetiyle beslenseler dahi kan basınçlarında belli bir dereceye kadar artış meydana gelmektedir (Dahl ve ark. 1962). Artan sodyum ve su tutulumu, renal parenkimal lezyonlar, artan sempatik sinir sistem aktivitesi görüldüğü bu modelde; guanilil siklaz A / atrial natriüretik peptit (GCA/ANP) genlerinin ya da epitel sodyum kanalı gibi yapılarda meydana gelen genetik bozuklukların sorumlu olduğu düşünülmektedir (Sanders 1996, Lerman ve ark. 2005).

2.3.1.4. Transgenik Sıçan (TGR) Modeli

Reninin aşırı ekspresyonu ile birlikte kardiyak hipertrofi ve endotel disfonksiyon gibi komplikasyonların geliştiği hipertansiyonun oluşumundan sorumlu murin Ren-2 geni [TGR(mREN2)27] transgenik sıçanların üretimi için seçilmiştir. Dişi Ren-2 transgenik sıçanlar, renin-anjiyotensin sistemi ile östrojenin karşılıklı etkileşiminin hipertansiyon patojenezindeki rolünün araştırılması amacıyla kullanılmaktadır. İnsan hipertansiyonu genellikle normal ve yüksek plazma renin konsantrasyonu ile ilişkilidir. Transgenik sıçanlar, insan anjiyotensinojen genini eksprese etmektedir, bu sayede lokal insan renin-anjiyotensin sisteminin kardiyovasküler hastalıklardaki etkisinin ve hipertansiyon gelişimi üzerindeki fonksiyonel öneminin daha iyi anlaşılabilmesine imkan sağlamaktadır (Doggrell ve Brown 1998, Lerman ve ark. 2005).

2.3.2. Diyet veya Farmakolojik Ajanlar ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri

2.3.2.1. Aşırı Tuz Yükleme

Tavşan ve sıçanların içme sularına kronik olarak yüksek-tuz (%8 NaCl) diyeti uygulaması sonucunda hipertansiyon ve renal vasküler değişikliklerin meydana geldiği görülmüştür (Weinstock ve Borosh 1993, Vasdev ve ark. 2007).

2.3.2.2. DOCA-Tuz Modeli

İnsan hipertansiyonunda görülen tuz retansiyonunun taklit edildiği bir modeldir. Bir mineralokortikoid olan deoksikortikosteron asetat (DOCA)'nın haftalık olarak subkütan enjeksiyonu ve beraberinde içme suyuna %1-2 oranında NaCl uygulanması sonucunda sıçan, köpek ve kobaylarda hipertansiyonun olduğu gözlenmiştir (Doggrell ve Brown 1998, Lerman ve ark. 2005). Nefrektomize sıçanlara DOCA ya da tuzun tek başına verilmesi durumunda kan basıncında belirgin bir artış gözlenmezken, kombine halde verilmesi durumunda kadiyak ve renal ağırlıklarında artış ile birlikte kan basıncında artış görülmüştür (De Champlain ve ark. 1967). Tuz yüklemesi olmadan sadece DOCA uygulanması veya sadece nefrektomi yapılmasının kan basıncında önemli bir değişiklik meydana getirmemesi, bu modelin tuz bağımlı olduğunu göstermektedir. DOCA-tuz modelinde artan kalp debisi, endotel disfonksiyon, proteinüri ve glomerüloskleroz ile karakterize hipertansiyon gelişimi görülmektedir (Doggrell ve Brown 1998, Lerman ve ark. 2005).

2.3.2.3. NO Sentezinin İnhibisyonu

NO sentaz enziminin L-NAME (Nω-Nitro-L-arginin metil ester) gibi L-arjinin analogları ile en az 4 hafta süreyle inhibe edilmesi sonucunda artan total periferik dirence bağlı olarak kan basıncında yükselme, renal fonksiyonlarda azalma meydana geldiği, zaman ve doza bağlı olarak hipertansiyonun geliştiği görülmüştür (Ribeiro ve ark. 1992, Zatz ve Baylis 1998, Török 2008, Gkaliagkousi ve ark. 2009). NO sentazın kronik inhibisyonu endotel disfonksiyon gelişimine neden olmakta, adrenerjik stimulanlara karşı vasküler yanıtlarda, perivasküler inflamasyonda ve renal sodyum tutulumunda artış görülmektedir. Renin-anjiyotensin sisteminin, endotel kasılma faktörlerinin, arteriyel remodellemenin ve sempatik sinir sisteminin L-NAME ile oluşturulan hipertansiyona katkısı olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca yapılan morfolojik çalışmalarda NOS inhibisyonu ile oluşturulan hipertansiyon modelinde glomerüloskleroz, glomerüller kollaps gibi renal parenkimal hasara, kadiyak ve vasküler hipertrofiye, fibroz ve ateroskleroza rastlanmıştır (Zatz ve Baylis 1998, Török 2008).

NOS inhibitörleri deney hayvanlarının içme suyuna her gün katılmak suretiyle, oral gavaj yöntemiyle ya da ilacın subkütan infüzyonu şeklinde sıçan, köpek ve domuza uygulanmıştır (Priviero ve ark. 2007, Jover ve ark. 1993, Lerman ve ark. 2005, Takei ve ark. 2007). Teknik açıdan kolay ve prosedür bakımından daha az ölüme yol açması bakımından son yıllarda ilgi çekici bir metod olmuştur (Doggrell ve Brown 1998).

2.3.3. Cerrahi Girişim ile Oluşturulan Hipertansiyon Modelleri

2.3.3.1. Çift Böbrek-Tek Darlık Modeli (Goldblatt Metodu, 2K1C)

İnsanlarda renovasküler hipertansiyon, genellikle aterosklerotik veya fibromusküler diplastik renal hastalıklara bağlı olarak dolaylı renal arterde meydana gelen daralmadan dolaylı meydana gelmektedir. Bu nedenle renal perfüzyon basıncındaki azalma, böbreğin aşırı renin üretmesine ve renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin sürekli aktivasyonuna yol açmaktadır. 2K1C hipertansiyon modeli insanda oluşan bu durumu taklit etmektedir. Böbrekte cerrahi girişim ile oluşturulan renovasküler hipertansiyon modellerinde, insanlarda yavaş bir şekilde gelişen hipertansiyonun aksine kan basıncında ani bir yükselme görülmektedir (Doggrell ve Brown 1998).

İlk kez 1934 yılında Goldblatt ve arkadaşları tarafından köpeklerde yapılan tek taraflı renal arter daralması ile deneysel hipertansiyon hayvan modeli oluşturulmuştur. Bu model fareler, sıçanlar, tavşanlar, domuzlar, maymunlar ve fareler üzerinde de uygulanmıştır. 2K1C modelinde 2-4 hafta sonunda kan basıncında yükselme görülmektedir. Renal artere takılan klipin çıkarılmasıyla yükselen kan basıncı ve artan renin aktivitesi normale dönmektedir (Doggrell ve Brown 1998, Lerman ve ark. 2005).

2.3.3.2. Tek Böbrek-Tek Darlık Modeli (1K1C)

Tek böbreğin çıkarıldığı, kalan böbreğin renal arterine ise klip takılarak daraltıldığı modeldir. Renal atılım ve sıvı kaybı gerçekleşmediğinden dolayı renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin stimülasyonu hakimdir. İnsanlardaki renovasküler hipertansiyon ve beraberindeki kronik renal parenkimal hastalığı taklit etmektedir (Doggrell ve Brown 1998).

2.3.3.3. Çift Böbrek-Çift Darlık Modeli (2K2C)

Her iki renal arterin daraltılması sonucu oluşturulan bu modelde, insandaki bilateral renal arter stenozu taklit edilmektedir (Doggrell ve Brown 1998).

2.3.4. Diğer Hipertansiyon Modelleri

2.3.4.1. Obezite-İlişkili Hipertansiyon

Wistar Kyoto ve obez Zucker sıçanların çiftleştirilmesi ile devamlı hiperinsülinemi ve hipertansiyonun görüldüğü bir model oluşturulmuş ve obezite ile hipertansiyon arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır (Ikeda ve ark. 1981). Obezite ile ilişkili hipertansiyonun mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamışsa da insülin rezistansı ve sonradan gelişen kompenzator hiperinsülinemisinin bu hipertansiyon modelinin etiyolojisinde rolünün olabileceği düşünülmektedir (Yamakawa ve ark. 1995).

2.3.4.2. Psikojenik Hipertansiyon

Duygusal ve elektriksel uyaranlar ile psikososyal ve immobilizasyon stresi gibi durumlara uzun süre maruz kalınması sonucunda devamlı bir hipertansiyon gelişebilmektedir. Sıçanların uzun süreli tekrarlanan stresli durumlara maruz bırakılması ile kan basıncında artış ve erken kardiyovasküler patolojilerin geliştiği görülmüştür (Henry ve ark. 1993).

2.4. Deney Hayvanlarında Kan Basıncı Ölçümü ve Takibi

2.4.1. İndirekt Ölçüm Yöntemleri (Kuyruk manşon [tail-cuff] yöntemi)

Kan basıncı ölçümü ve takibinde en çok tercih edilen yöntem olan kuyruk-manşon yönteminde sistolik kan basıncı, kuyruğa yerleştirilen manşonun şişirilmesi ve bırakılması sırasında manşon basıncının ölçülmesi ile belirlenmektedir. Ölçüm, kuyruktaki kaudal arterin pulsatil kan akışının izlenmesi esasına dayanmaktadır. Pulsatif kan akımı, deney hayvanının önceden ısıtılmış bir ısı pedi üzerine konması ve etrafında ısıyı koruyacak bir ısı çemberinin sağlanması ile en uygun şekilde ölçülmektedir. Cerrahi müdahale gerektirmeyen, noninvazif ve direkt ölçüm yöntemlerine kıyasla daha ucuz ve kolay kullanılan bir yöntemdir. Uzun ya da kısa süreli olarak anesteziye gerek duyulmadan tekrarlanan ölçümler yapılabilmektedir. Ancak bu ölçüm yöntemi ile sadece sistolik kan basıncı takip edilmektedir. Günlük ortalama sistolik kan basıncını ölçmek mümkün değildir çünkü gece ile gündüz yapılan ölçümler arasında farklılıklar görülebilir. Isı ve hareketsizlikten kaynaklanan strese bağlı olarak kan basıncı, kalp atım hızı ve stres hormonlarında değişiklikler meydana gelebileceği düşünülmektedir (Gross ve Luft 2003, Kurtz ve ark. 2005).

2.4.2. Direkt Ölçüm Yöntemleri

2.4.2.1. Radyotelemetri

Fareden maymuna kadar tüm laboratuvar hayvanlarında kullanımı mümkün olan, kullanımı kolay kablosuz radyotelemetrik teknolojidir. Kan basıncını ölçmek için kullanılan bu yöntemde, sürekli ölçüm yapılabilmektedir ve ölçüm yapılacak hayvanı sabitleme ya da anesteziye alma gereği duyulmamaktadır. Fakat fare gibi vücut ağırlığı 25 g'dan küçük hayvanlarda, 2 g'dan büyük transmitterler hayvanda stres yaratabilir. Radyotelemetri diğer yöntemlere kıyasla daha pahalı bir sistemdir ve özellikle küçük hayvanlar üzerinde cerrahi işlem yapabilecek düzeyde eğitim ve manipulasyon yeteneği gerektirebilir (Kurtz ve ark. 2005).

2.4.2.2. “Fluid-filled” katater

Kan basıncının direkt ölçümünde kullanılan en eski ve en yaygın yöntemdir. Heparinize sıvı ile dolu bir katater majör bir arter içine yerleştirilir ve kataterin dışarıda kalan ucu kalibre edilmiş basınç transdüserine bağlanır. Akut çalışmalarda hayvan anestezi altındayken, uzun süreli ve sürekli ölçüm alınması gereken durumlarda şuuru açık hayvanlar ile çalışma imkanı sağlamaktadır. Sürekli ölçümün yapılmadığı kronik çalışmalarda kataterin dışarıda kalan bölümü uygun bir şekilde korunarak transdüserden ayrı tutulabilir, kan basıncı ölçümünün yapılması gerektiği an bağlanabilir. Sürekli ölçümün alınması gerektiği kronik çalışmalarda, *swivel-tether* gibi bir sistem yardımı ile deney hayvanı kafes içinde serbestçe dolaşabilirken ölçüm yapılabilmektedir. Swivel-tether sistemi damar içine ilaç uygulaması imkanı da sağlamaktadır; fakat hayvanda az da olsa strese neden olabilecek bir donanımdır (Kurtz ve ark. 2005).

2.4.2.3. Transdüser Uçlu Katater

Pahalı bir sistem olmasına karşın, katater transdüserlerin arter basıncı ölçümleri yüksek doğruluktadır. Daha çok akut çalışmalar için tercih edilmektedir. Farklı boyutlardaki kataterler, çok büyük ya da çok küçük hayvanlar üzerinde ölçüm yapabilme imkanı sağlamaktadır (Kurtz ve ark. 2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri

Çalışmamızda 10-12 haftalık 200-250 g ağırlığında Wistar Albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Hayvanlar deney süresince *ad libitum* olarak standart pellet sıçan yemi ile beslenmişlerdir. İçme suyu olarak kontrol gruplarında çeşme suyu kullanılmıştır. Deneysel hipertansiyon oluşturulacak sıçanlara ise içme suyu olarak 60 mg/kg/gün dozunda non-selektif NOS inhibitörü olan L-NAME içeren çeşme suyu verilmiştir. Hayvanlar 20 ± 2 °C'de ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunun sağlandığı bir ortamda muhafaza edilmişlerdir.

Deneyler İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24.09.2009 tarihli, 113 no'lu Etik Kurul kararına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araç ve Gereçler

1. Kuyruktan Kan Basıncı Ölçüm Sistemi (NIBP) (Tail-cuff) (ADInstruments; Model ML125/R)
2. Dört kanallı myograf sistemi (DMT & ADInstruments; Model 610M)
3. Diseksiyon mikroskobu (Zeiss 2000)
4. Soğuk ışık kaynağı (Schott)
5. Işık mikroskobu (Leica)
6. Image Pro-Plus fotoğraflama sistemi
7. Elektron mikroskobu (Jeol Jem 1011)

8. Mikrotom (Leica RM 2125 RT)
9. Termostatlı su banyosu (Thermomiks)
10. % 95 O₂ + CO₂ içeren gaz karışımı tüpü
11. Derin dondurucu (-20 °C) (Electrolux)
12. Elektronik Terazı (Sartorius)
13. Elektronik Hassas Terazı (Sartorius)
14. Vorteks (Velp Scientifica)
15. Hayvan sabitleyici (Restraıner) (ADInstruments)
16. Cerrahi makas ve pens (Geuder, Aesculap)
17. 40 µm çapında paslanmaz çelik tel
18. Otomatik mikropipet (Genex Beta, Eppendorf)
19. Petri kutusu
20. Eppendorf tüp
21. Lateks membran (Tail-cuff için) (ADInstruments)

Bilgisayar ve yazılım programları :

1. Bilgisayar ve yazıcı
2. “ADInstruments PowerLab Chart5 for Windows” yazılım programı
3. “ADInstruments PowerLab DMT Normalization v1 for Windows” yazılım programı
4. “ADInstruments PowerLab NIBP LabChart6” yazılım programı
5. “GraphPad Prism 4 Project” yazılım programı

3.3. Kimyasal Maddeler ve Hazırlanışları

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

Sıçanların içme sularına her gün 60 mg/kg dozunda eklenmiştir. Her gün taze olarak hazırlanarak uygulanmıştır.

Noradrenalin (Sigma): Vazokonstriktör ajan. Preparatların standardizasyonu için 10^{-4} M olan konsantrasyonda ve 120 mM KCl ile birlikte kullanılmıştır.

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

KCl (Merck) : Kastırıcı ajan.

Stok çözeltisi 10^{-2} M olarak distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Asetilkolin HCl (Sigma) : Endotel bağımlı gevşetici ajan.

Stok çözeltisi 10^{-1} M olarak distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltisi ve dilüsyonlar ışıktan korunmuştur.

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

Stok çözeltisi 10^{-1} M olarak distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltisi ve dilüsyonlar ışıktan korunmuştur.

Barnidipin HCl (Euroasias) : Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokeri antihipertansif ajan. Deneysel olarak hipertansiyon oluşturulan sıçanlara 2. haftadan itibaren uygulanarak etkinliği araştırılmıştır.

Sıçanlara her gün gavaj ile oral olarak 3 mg/kg dozunda çeşme suyu içerisinde çözülerek verilmiştir. Her gün taze olarak hazırlanarak uygulanmıştır.

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

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

Glutaraldehit : Elektron mikroskopunda incelenecek dokuların tespit edilmesi amacıyla kullanılmıştır. % 2'lik glutaraldehit +4 °C'de söresen fosfat tamponu (pH:7.4) ile hazırlanmıştır.

Osmiyum tetroksit (OsO₄) : % 1'lik çözeltisi +4 °C'de söresen fosfat tamponu (pH:7.4) ile hazırlanarak % 2'lik glutaraldehit ile birlikte elektron mikroskopunda incelenecek dokuların tespiti için kullanılmıştır.

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

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

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

Deneylerde kullanılan ilaç solüsyonları derin dondurucuda muhafaza edilen stoklardan Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi ile dilüe edilerek her gün taze olarak hazırlanmıştır. Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisinin içeriği şu şekildedir : (NaCl: 135 mM, KCl: 5 mM, NaHCO₃: 20 mM, Glukoz: 10 mM, CaCl₂: 2,5 mM, MgSO₄.7H₂O: 1,3 mM, KH₂PO₄: 1,2 mM, EDTA: 0,026 mM).

3.4. Yöntem

Çalışmalar kontrol grubu, deneysel hipertansif, Barnidipin uygulanan deneysel hipertansif ve Barnidipin uygulanan normotansif sıçanlardan izole edilen mezenterik arterler, renal arterler ve böbrek dokusu ile yürütülmüştür.

3.4.1. Sıçanlarda Hipertansiyon Oluşturulması ve Takibi

Deneyisel hipertansiyon, sıçanların içme sularına hergün taze olarak hazırlanmak suretiyle, 5 hafta boyunca 60 mg/kg/gün dozunda non-selektif NOS enzim inhibitörü L-NAME ilave edilmek suretiyle oluşturulmuştur (Ribeiro ve ark. 1992). Kontrol grubundaki sıçanlara sadece içme suyu verilmiştir.

Kontrol, hipertansif ve Barnidipin uygulanmış hipertansif sıçanların vücut ağırlıkları, sistolik kan basınçları haftada bir defa yapılan ölçümler ile 5 hafta süresince takip edilmiştir. Sistolik kan basıncının ölçümünde kuyruk-manşon yöntemi (tail-cuff) kullanılmıştır.

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

3.4.2. Sıçanlara Barnidipin Uygulanması

Hipertansif model oluşturmak amacıyla L-NAME uygulanan sıçanların sistolik kan basınçlarında anlamlı bir değişikliğin izlenmeye başlandığı 2. haftadan itibaren gavaj ile oral olarak her gün 3 mg/kg/gün dozunda Barnidipin uygulanmıştır. Bu uygulamaya 5. haftanın sonuna kadar devam edilmiştir (Kawashima ve ark. 1991, Saitoh ve ark. 1995). Barnidipin'in direkt bir etkisinin olup olmadığının araştırılması amacıyla bir grup normotansif sıçana 3 mg/kg/gün dozunda Barnidipin uygulanmıştır.

3.4.3. Dokuların Fonksiyonel Çalışmalar İçin Hazırlanması

3.4.3.1. Sıçan Mezenterik ve Renal Arterlerinin İzolasyonu

5. haftanın sonunda deneye alınan kontrol, hipertansif ve Barnidipin uygulanmış hipertansif sıçanların hafif eter anestezisi altında servikal dislokasyon ile ötenazileri sağlanmıştır. Karın bölgeleri açılarak superior mezenterik arterleri ve sağ renal arterleri izole edilmiş ve Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi içeren petri kutularına alınmıştır. Diseksiyon mikroskobu altında mezenterik arterin üçüncü dalı, çevre dokulardan temizlenmiş ve mezenter ağından izole edilmiştir. Sağ renal arterden ve izole edilen mezenterik arter dalından myograf sisteminin doku tutucuları arasına girecek uzunlukta preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatların her biri 40 µm çapında iki paslanmaz çelik telden geçirilmek suretiyle myografin doku tutucuları arasına yerleştirilmiştir. Bu tellerden biri güç duyarlı (force displacement) transdüserle fiks edilmiştir. Diğer tel ise, dokuya yollanan pasif gerimi kontrol etmek amacıyla iki tel arasındaki mesafeyi ayarlayan mikrometreye bağlıdır.

3.4.3.2. Arterlerin Standardizasyonu

Myograf sistemine yerleştirilen izole arterler % 95 O₂ + % 5 CO₂ gaz karışımı ile havalandırılmış ve 37 °C'de bir saat süreyle dengelenmeye bırakılmıştır. Dengelenme süresi boyunca banyoların Krebs-Ringer bikarbonat çözeltisi her 10 dakikada bir değiştirilmiştir. Dengelenme süresinin ardından mezenterik arter için normalizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Normalizasyon işlemi esnasında mezenterik artere uygulanan gerim kademeli olarak artırılmış ve pasif damar duvar gerimi-iç çevre ilişkisi çalışılmıştır. Böylece normal fizyolojik koşullarda, tamamen gevşemiş damarın içinden geçen kanın duvara yaptığı basıncın (transmural basınç; 13,3 kPa [100 mmHg]), % 90'ına karşılık gelen iç çevre belirlenerek mezenterik arterin gerimi mikrometre yardımı ile bu düzeye getirilmiştir (Mulvany ve Halpern 1977). Renal arterlere ise 2,5 mN'lık ön gerim uygulanmıştır (Karagiannis ve ark. 2004, Leung ve ark 2005). İzole arterler standardizasyon işlemi sonrasında uygun ön gerim altında 30 dakika süreyle

tekrar dengelenmeye bırakılmıştır. Dengelenme sürecinin ardından preparatlar 20-30 dakika ara ile iki defa potasyum klorür (KCl; 120 mM) ve noradrenalin (NA; 10^{-4} M) kombinasyonu (NAK) ile kastırılarak standardize edilmiştir.

3.4.4. Fonksiyonel Çalışmalar

3.4.4.1. İzole Arterlerde Kastırıcı Ajana Karşı Reaktivitenin Belirlenmesi

Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen arterlerde vazokonstriktör ajana karşı reaktivitenin belirlenmesi amacı ile, izole sıçan mezenterik ve renal arterlere noradrenalin (NA; 10^{-8} - 10^{-4} M) kümülatif olarak uygulanmış ve konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilmiştir.

3.4.4.2. İzole Arterlerde Endotel Aracılı Gevşeme Yanıtlarının Belirlenmesi

İzole sıçan mezenterik ve renal arterlerinde endotel fonksiyonun belirlenmesi amacı ile noradrenalin (NA; 5×10^{-6} - 10^{-5} M) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak asetilkolin (Ach; 10^{-9} - 10^{-4} M) uygulanmıştır.

3.4.4.3. İzole Arterlerde Düz Kas Aracılı Gevşeme Yanıtlarının Belirlenmesi

İzole sıçan mezenterik ve renal arterlerinde düz kas gevşeme kapasitelerinin belirlenmesi amacı ile noradrenalin (NA; 5×10^{-6} - 10^{-5} M) ile prekontrakte edilen arterlere kümülatif olarak sodyum nitroprusiyat (SNP; 10^{-10} - 10^{-4} M) uygulanmıştır.

3.4.5. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeler

Işık mikroskobu incelemeleri için sol böbrek, sol renal arter ve mezenterik arter parçaları % 10' luk nötral formalinde tespit edildikten 24 saat sonra, % 70'lik alkol çözeltisi içerisine alınmıştır. Yükselen alkol serilerinden geçirilerek ksilolde saydamlaştırılan dokular, 58 °C' lik parafin içerisine gömülmüştür.

Parafin bloklardan Leica RM 2125 RT mikrotomu aracılığı ile 4 µm kalınlığında alınan kesitlerde, eNOS ve iNOS'un dağılımları immünohistokimyasal yöntem ile incelenmiştir. Alınan kesitler, bir gece 56 °C'de tutulduktan sonra, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek suya kadar getirilmiştir. Histolojik çalışmalar için kesitler rutin Hematoksilin-Eozin ile boyanmıştır. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler için kesitler, sitrat tamponu (pH 6.0) içerisinde mikrodalgada 700 Watt'da 10 dakika tutulduktan sonra, 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğuma işlemini takiben distile suya alınan kesitlerin etrafı, pap pen ile işaretlenmiştir. Endojen peroksidaz aktivitesi için, % 3 H₂O₂ ile 10 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Kesitler, distile sudan geçirildikten sonra her basamakta üç defa olacak şekilde fosfat tamponunda (PBS) 15 dakika yıkanmıştır. Yıkamadan sonra kesitlere, oda sıcaklığında 5 dakika Ultra V Blok (Lab vision, TP-125-HL) uygulanmıştır. Daha sonra kesitler, rabbit anti eNOS (1:100) (eNOS Rabbit Pab Neomarker, RB-1711-P) ve rabbit anti iNOS (1:100) (iNOS Rabbit Pab Neomarker, RB-1605-P) antikorları ile bir gece buzdolabında +4 °C'de inkübe edilmiştir (Antikorlar, antikor sulandırıcısında (Lab vision, TA-125-UD) 1:100 oranında sulandırılmıştır). Kesitler, PBS'de yıkandıktan sonra biotinlenmiş goat anti-rabbit (Lab vision, TP-125-HL) ile oda sıcaklığında 30 dakika bırakılmıştır. PBS ile yıkanan kesitlere, 30 dakika streptavidin peroxidase label reagent (Lab vision, TP-125-HL) uygulanmıştır ve ardından PBS ile yıkanmıştır. 5 dakika AEC (Lab vision, TA-125-HA) inkübasyonu ile renkli reaksiyon ürünü sağlanmıştır. Kontrol olarak kabul edilen kesitlere PBS uygulanmıştır. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra, Mayer hematoksilen ile zıt boyama yapılmış ve gliserol jelatin ile kapatılmıştır (McNaughton ve ark. 2002). Hazırlanan preparatlar Leica ışık mikroskobu ile incelenerek, Image Pro-Plus sistemi aracılığı ile fotoğraflanmıştır.

Elektron mikroskobu incelemeleri için kontrol ve hipertansif sıçanlardan izole edilen mezenterik, renal arterler ve böbrek dokusu +4 °C’de Sörensen fosfat tamponu (pH: 7,4) ile hazırlanan % 2’lik glutaraldehitte bir gece, yine aynı tamponda hazırlanan % 1’lik osmiyum tetroksit (OsO₄)’de ise bir saat tespit edilmiştir. Doku parçaları, 2 saat süresince fosfat tamponunda yıkandıktan sonra, yükselen alkol serileri ve propilen oksitten geçirilerek Araldite gömülmüştür. 5000-6000 A° kalınlığında alınan yarı ince kesitler jelatin kaplı lamalar üzerine yerleştirilmiştir. Kesitler toluidin mavisiyle boyandıktan sonra ışık mikroskobunda incelenmiştir. 300-500 A° kalınlığında alınan ince kesitler ise 200 delikli bakır gridlere yerleştirilmiştir. Kesitler, uranil asetat (Watson 1958) ve kurşun sitrat (Reynolds 1963) ile boyandıktan sonra, elektron mikroskobunda incelenmiştir.

3.4.6. İstatistiksel Analiz

Veriler “ortalama $\pm$ standart hata” şeklinde gösterilmiştir. Deney gruplarında belirtilen “n”, hayvan sayısını ya da farklı hayvanlardan izole edilerek çalışılan arter sayısını göstermektedir. Kasılma yanıtları “mN/mm”, prekontrakte arterlerde görülen gevşeme yanıtları ise prekontraksiyona göre “%” cinsinden verilmiştir. E_{maks}; arterlerde noradrenalin elde edilen maksimum kasılma yanıtlarını ve asetilkolin, sodyum nitroprussiyat ile oluşan maksimum gevşeme yanıtlarını göstermektedir. pD₂; maksimum yanıtın (kasılma veya gevşeme) % 50’sini oluşturan konsantrasyonun, yani EC₅₀’nin (-) logaritmasını ifade etmektedir.

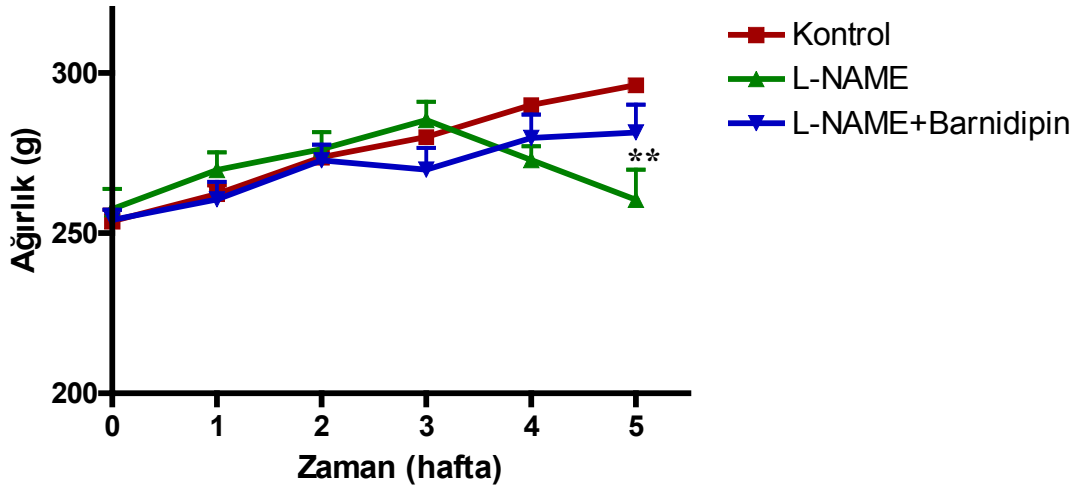
Deney sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Student’s t-testi (gruplar arası farkın anlamlılık testi) ile tek yönlü ve çift yönlü varyans analizi (ANOVA) ve sonrasında Bonferroni’nin çoklu karşılaştırmalar testi kullanılmıştır. “p” değeri 0,05’ten küçük olan karşılaştırmalar anlamlı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

4. BULGULAR

4.1. Fonksiyonel Bulgular

4.1.1. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanların Ağırlık ve Sistolik Kan Basıncı Düzeyleri

L-NAME ile deneysel hipertansiyon modeli oluşturulan sıçanların vücut ağırlıklarında, 3. haftadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir azalma meydana geldiği görülmüştür. 2. haftadan itibaren L-NAME ile beraber 3 mg/kg/gün dozunda Barnidipin uygulanmış sıçanların ağırlıklarında ise kontrol grubuna göre herhangi bir azalma gözlenmemiştir (Şekil 4-1).

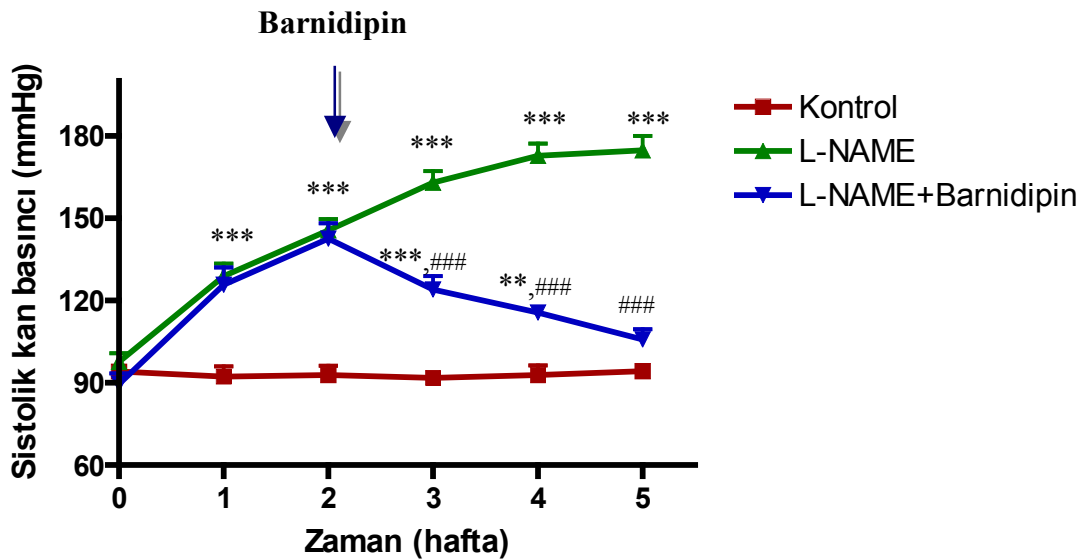


Şekil 4-1 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların 0-5. hafta arasındaki ağırlık değişimleri

**p<0,01 kontrol grubuna göre anlamlılık, n=7-10

Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların 5 hafta süre ile sistolik kan basınçları ölçümleri değerlendirildiğinde; L-NAME uygulanmış sıçanların sistolik kan basıncı düzeylerinde 1. haftadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde kademeli olarak artış meydana geldiği gözlenmiştir. L-NAME uygulamasının beraberinde, her gün gavaj ile oral yoldan 3 mg/kg/gün dozunda Barnidipin uygulanmaya başlandığı 2. haftadan itibaren sıçanların sistolik kan basınçlarında L-NAME grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde kademeli olarak bir azalma meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4-2). 5. haftanın sonunda kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanlardan elde edilen ortalama sistolik kan basıncı değerleri sırasıyla $94,2 \pm 2,18$ mmHg (n=5); $174,8 \pm 5,25$ mmHg (n=9); $105,7 \pm 3,7$ mmHg (n=7)'dir.

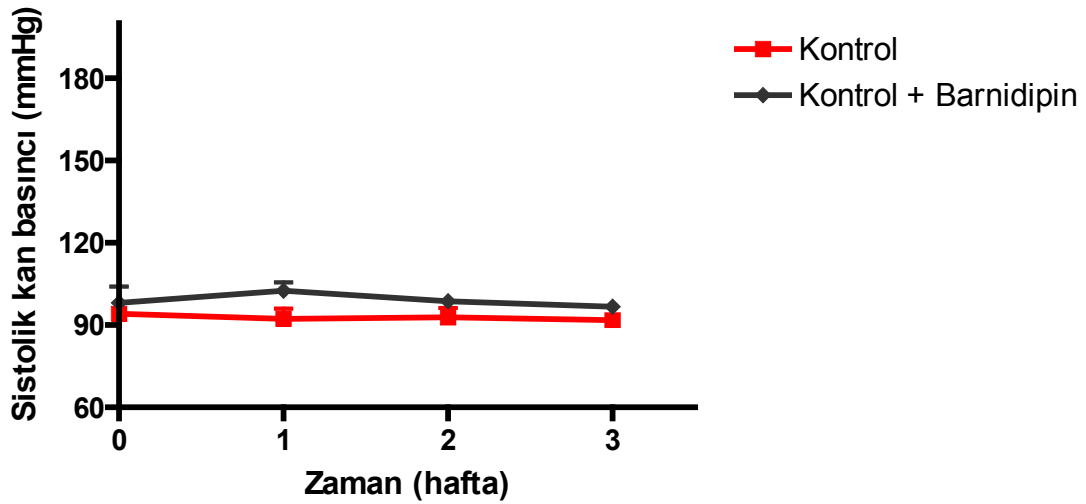
Bazı hipertansif hayvanlarda artan kan basıncının yanı sıra ekstremitelerde zayıflık, göz, burun ve kulakta kanama, solunum zorluğu, halsizlik gibi semptomlar ve ölüm gözlenmiştir.



Şekil 4-2 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların 0-5. hafta arasındaki sistolik kan basıncı düzeyleri

p<0,01, *p<0,001 kontrol grubuna göre anlamlılık; ###p<0,001 L-NAME grubuna göre anlamlılık, n=5-9.

Normotansif sıçanlara 3 hafta süre ile 3 mg/kg/gün dozunda Barnidipin uygulanan grupta (Kontrol + Barnidipin) sistolik kan basıncı değerleri, kontrol grubundan farklı bulunmamıştır (Şekil 4-3). 3. haftanın sonunda kontrol, kontrol+Barnidipin uygulanmış sıçanlardan elde edilen ortalama sistolik kan basıncı değerleri sırasıyla $91,76 \pm 2,24$ mmHg (n=5); $96,72 \pm 2,43$ mmHg (n=5)'dir.

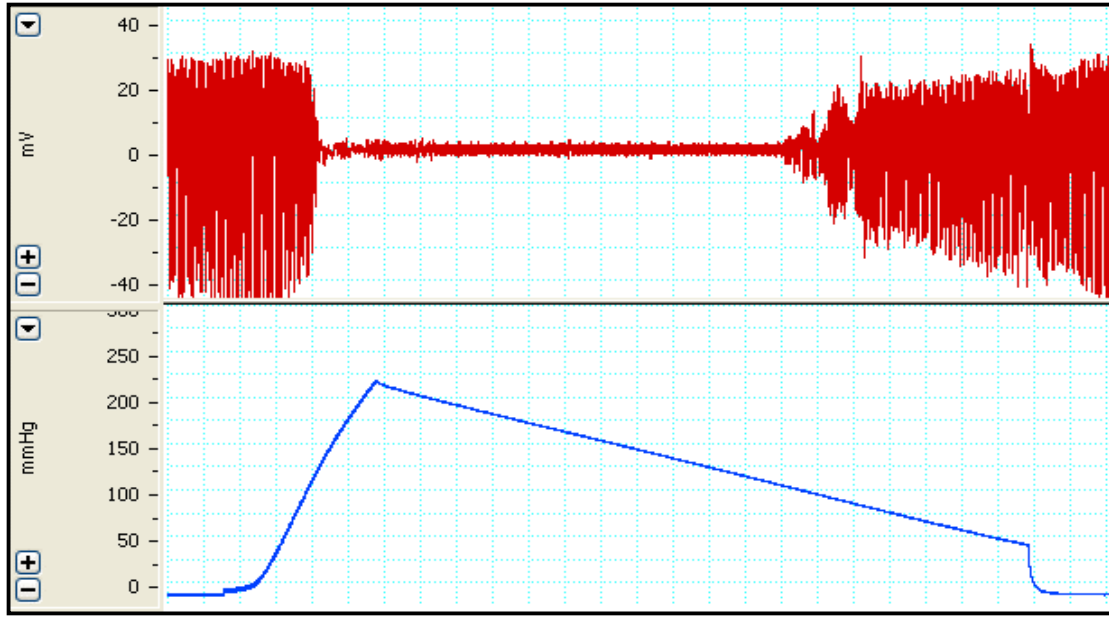


Şekil 4-3 : Kontrol ve Kontrol+Barnidipin gruplarında sistolik kan basıncı düzeyleri.

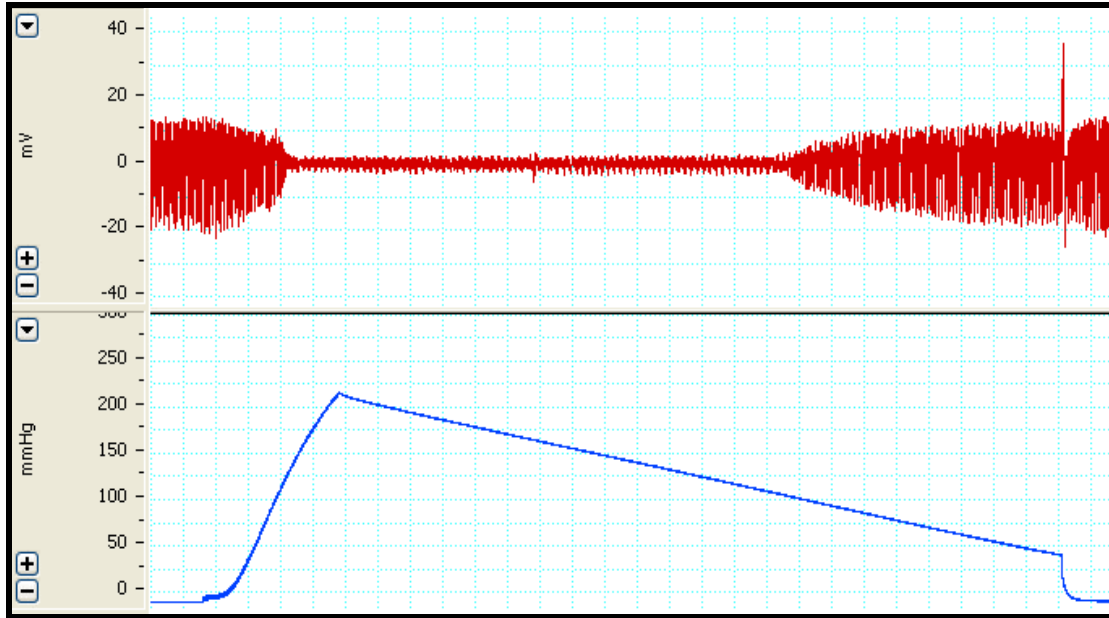
$p > 0,05$ kontrol ile karşılaştırıldığında, n=5.

Kontrol, Kontrol+Barnidipin, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların 5. hafta sonunda sistolik kan basınçlarına ait kuyruk-manşon (tail-cuff) yöntemi ile ölçülen trase örnekleri şekil 4-4 ve şekil 4-5'te gösterilmiştir. Kan basıncındaki yükselmeye paralel olarak, manşonun şişirilmesi ve bırakılması arasındaki sıkıştırma (basıncı) süresinin L-NAME uygulanmış sıçanlarda kontrol grubuna göre kısaldığı, L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanlarda ise kontrol grubu ile benzer olduğu görülmektedir.

A. Kontrol

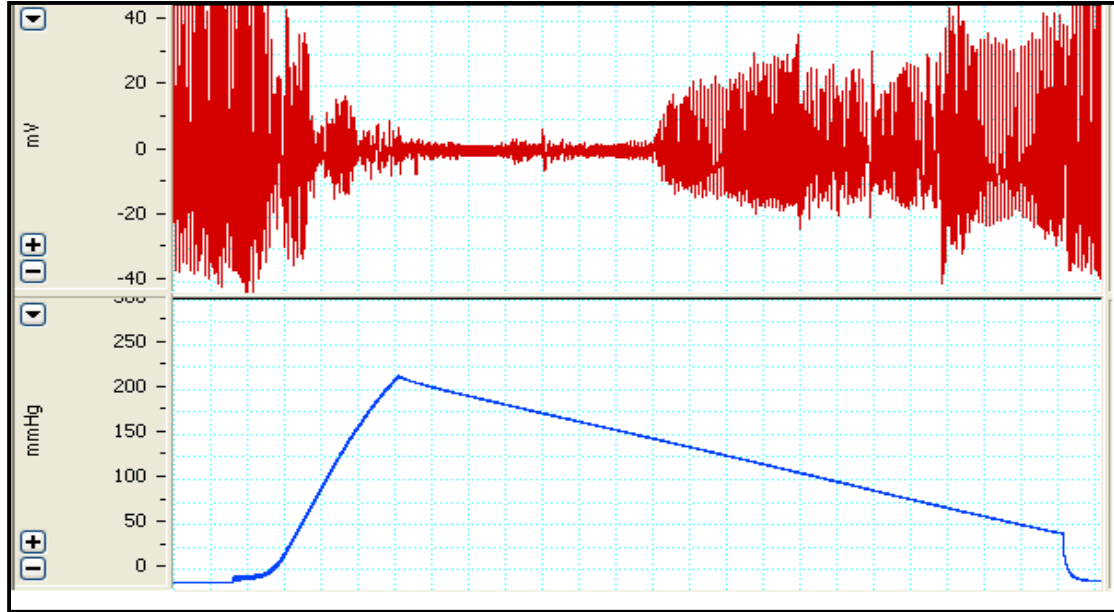


B. Kontrol + Barnidipin Grubu

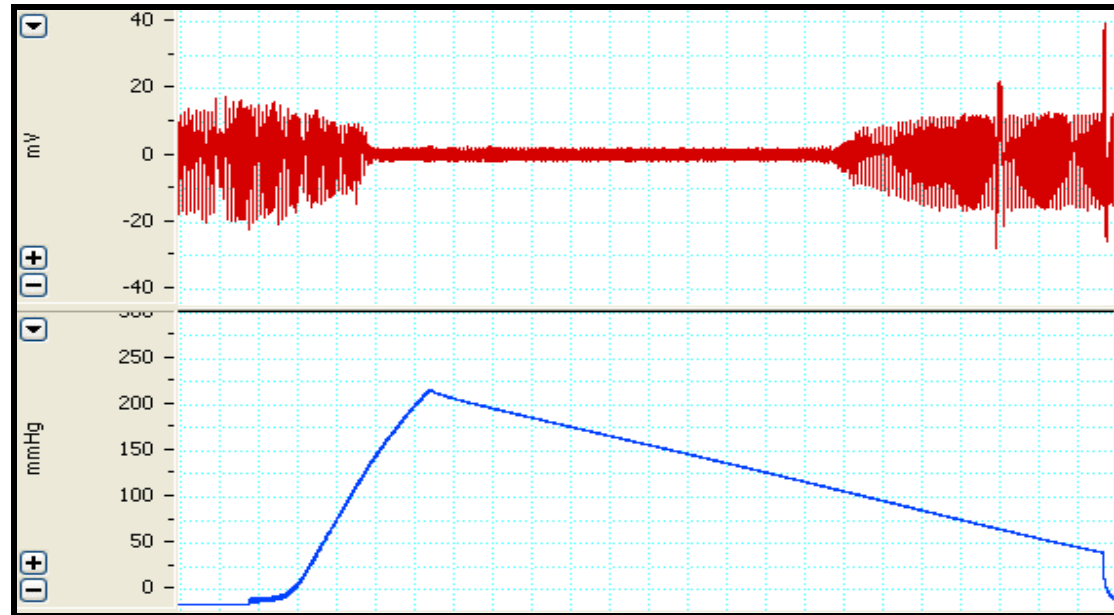


Şekil 4-4 : Kuyruk-manşon yöntemi ile Kontrol (A) ve Kontrol+Barnidipin (B) grup sıçanlara ait sistolik kan basıncı ölçümünü gösteren trase örnekleri.

A. L-NAME Grubu



B. L-NAME + Barnidipin Grubu

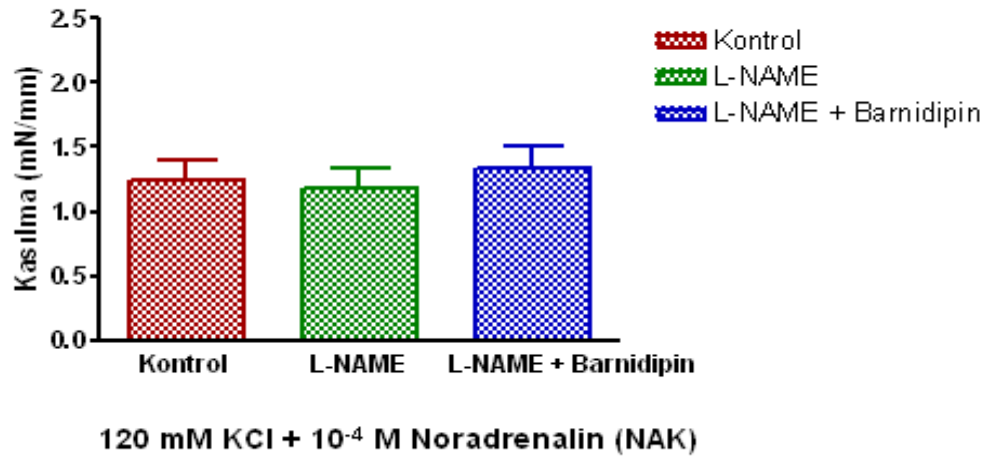


Şekil 4-5 : Kuyruk-manşon yöntemi ile L-NAME (A) ve L-NAME+Barnidipin (B) uygulanmış sıçanlara ait sistolik kan basıncı ölçümünü gösteren trase örnekleri.

4.1.2. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Noradrenalin + Potasyum Klorür (NAK)'ın Kastırıcı Etkisi

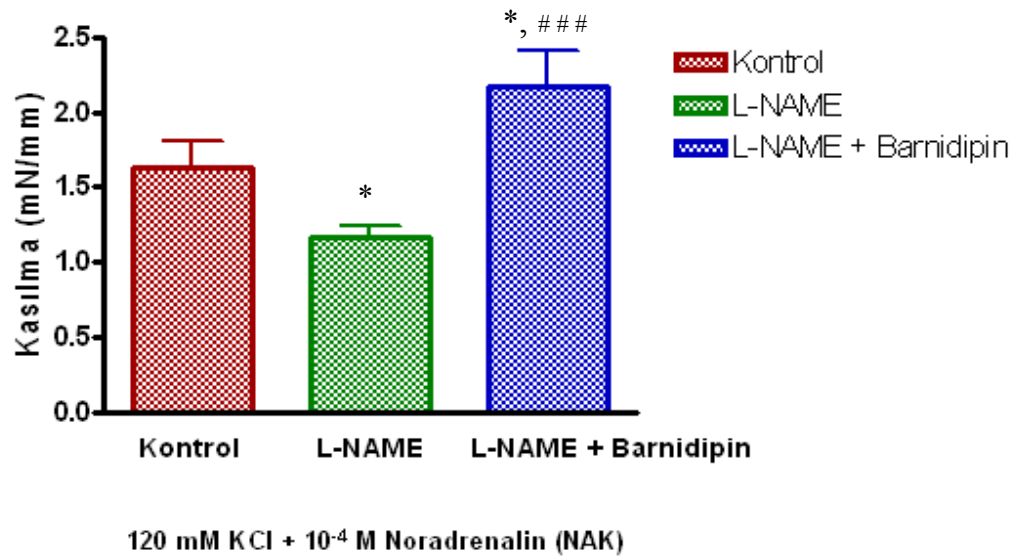
Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış olan sıçanlardan izole mezenterik arterlerde NAK kombinasyonu ile elde edilen kasılma yanıtlarında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 4-6).

L-NAME uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde NAK kombinasyonu ile elde edilen kasılma yanıtlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür. L-NAME uygulaması ile NAK kasılma yanıtlarında görülen azalmanın Barnidipin uygulanan grupta geriye döndüğü gözlenmiştir (Şekil 4-7).



Şekil 4-6 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde NAK (120 mM KCl + 10⁻⁴ M Noradrenalin) ile elde edilen kasılma yanıtları.

p> 0,05 kontrol ile karşılaştırıldığında, n=7-13.



Şekil 4-7 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde NAK (120 mM KCl + 10⁻⁴ M Noradrenalin) ile elde edilen kasılma yanıtları.

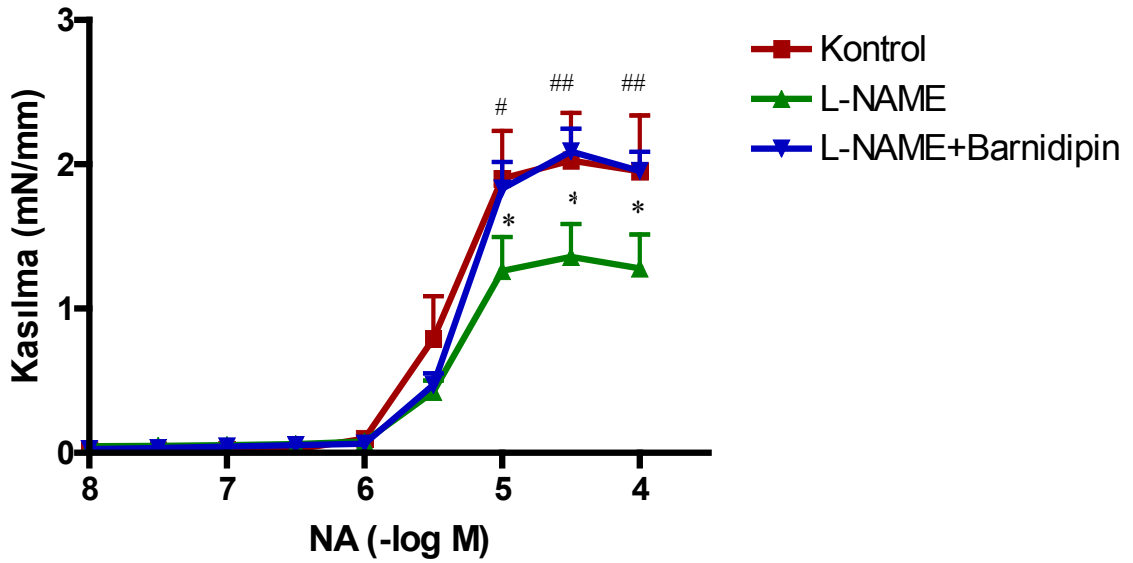
*p<0,05 kontrol grubuna göre anlamlılık; ###p<0,001 L-NAME grubuna göre anlamlılık, n=7-13.

4.1.3. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Noradrenalin'in Konsantrasyon Bağımlı Kastırıcı Etkisi

Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların izole sıçan mezenterik ve renal arterlerinde kümülatif olarak noradrenalin (NA; 10^{-8} - 10^{-4} M) uygulanması konsantrasyon bağımlı kasılmalara neden olmuştur.

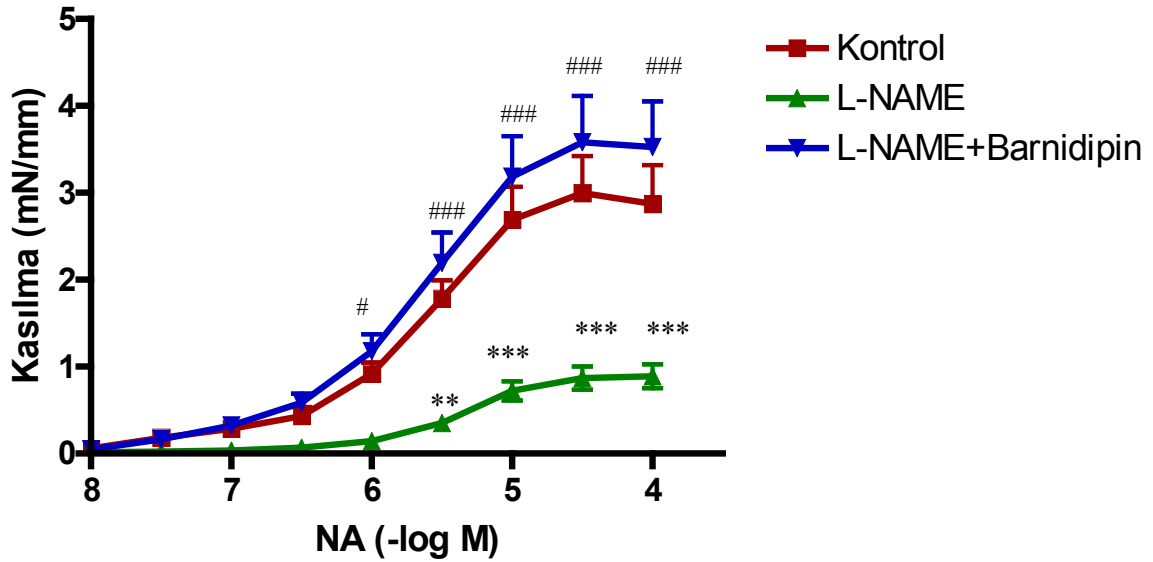
L-NAME uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde noradrenalin ile elde edilen kasılma yanıtlarının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir. L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde noradrenalin ile elde edilen kasılma yanıtlarının ise kontrol grubu düzeylerine geri döndüğü gözlenmiştir (Şekil 4-8, Şekil 4-9).

Mezenterik arterlerde noradrenalinin E_{maks} değerleri kıyaslandığında, L-NAME uygulanmış sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark görülmezken, L-NAME+Barnidipin uygulanmış olan sıçanlarda ise L-NAME uygulanan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir. Renal arterlerde noradrenalinin E_{maks} değerleri kıyaslandığında ise, L-NAME uygulanmış sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülürken, L-NAME + Barnidipin uygulanmış olan sıçanlarda ise L-NAME uygulanan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir. Mezenterik ve renal arterlerde noradrenalinin pD_2 değerleri kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-1).



Şekil 4-8 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde noradrenalin (NA; 10^{-8} M - 10^{-4} M) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrileri.

*p<0,05 kontrol grubuna göre anlamlılık; #p<0,05; ##p<0,01 L-NAME grubuna göre anlamlılık, n=7-11.



Şekil 4-9 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde noradrenalin (NA; 10^{-8} M - 10^{-4} M) ile elde edilen konsantrasyon-yanıt eğrileri.

p<0,01, *p<0,001 kontrol grubuna göre anlamlılık; #p<0,05; ###p<0,001 L-NAME grubuna göre anlamlılık, n=6-11.

Tablo 4-1: Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde noradrenalinin E_{maks} ve pD_2 değerleri

Noradrenalin			
	E_{maks} (mN/mm)	pD_2	n
Mezenterik Arter			
Kontrol	$2,11 \pm 0,34$	$5,37 \pm 0,18$	6
L-NAME	$1,41 \pm 0,24$ *	$5,31 \pm 0,17$	10
L-NAME + Barnidipin	$2,21 \pm 0,15$ ##	$5,24 \pm 0,09$	10
Renal Arter			
Kontrol	$3,00 \pm 0,43$	$5,63 \pm 0,14$	6
L-NAME	$0,91 \pm 0,14$ ***	$5,32 \pm 0,15$	10
L-NAME + Barnidipin	$3,64 \pm 0,54$ ###	$5,66 \pm 0,15$	11

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

E_{maks} : Maksimum kasılma yanıtı.

n : İzole arter sayısı.

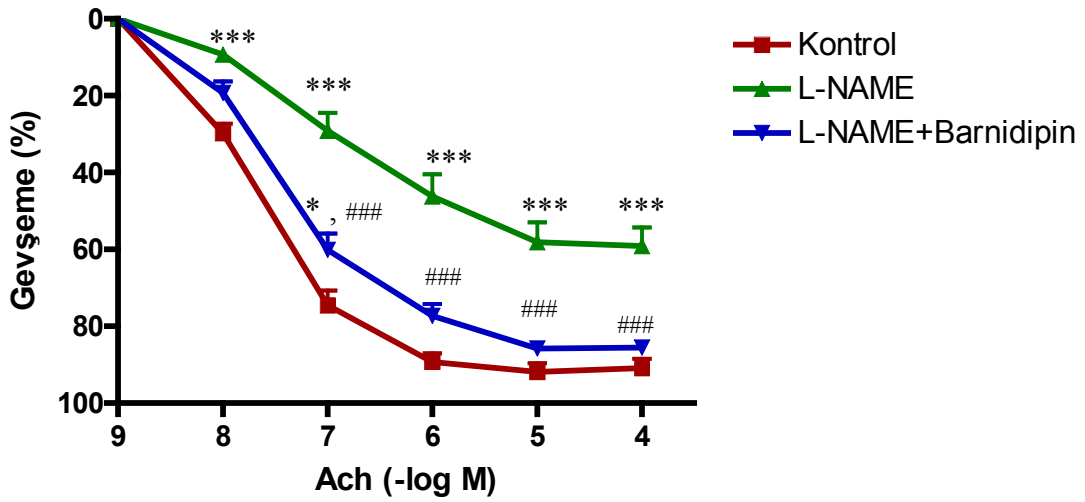
* $p<0,05$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı; # $p<0,05$, ### $p<0,001$ L-NAME grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir.

4.1.4. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Asetilkolin'in Endotel Aracılı Gevşetici Etkisi

Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların noradrenalin (NA; 5×10^{-6} - 10^{-5} M) ile prekontrakte edilen izole mezenterik ve renal arterlerinde asetilkolinin (Ach; 10^{-9} - 10^{-4} M) kümülatif uygulanması konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur.

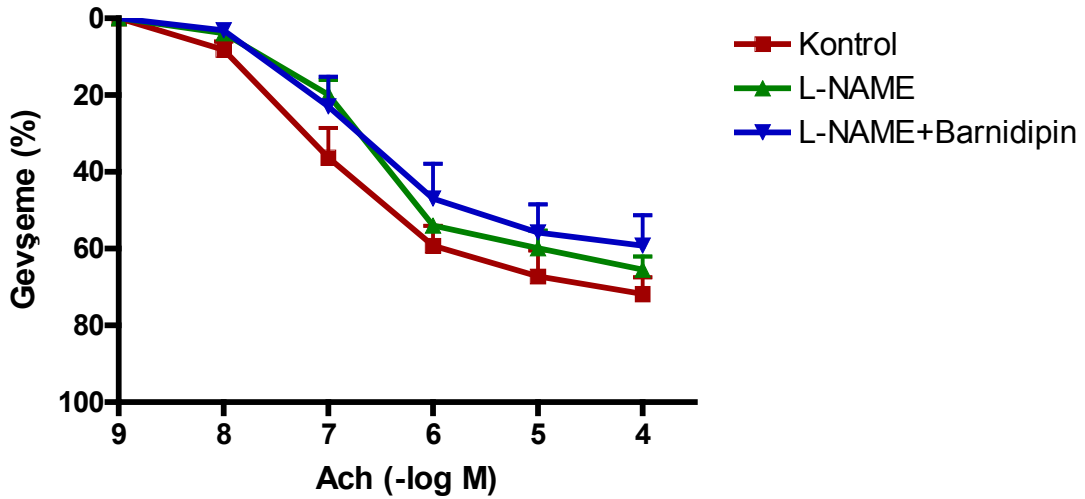
L-NAME uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde asetilkolin ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtlarının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir. L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde asetilkolin ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtlarının ise L-NAME grubuna göre geriye döndüğü ve kontrol grubu düzeylerine ulaştığı görülmüştür (Şekil 4-10). Buna karşın; kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde asetilkolinin maksimum gevşetici etkisinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4-11).

Mezenterik arterlerde asetilkolinin pD_2 değerleri kıyaslandığında, L-NAME uygulanmış sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelirken, L-NAME + Barnidipin uygulanmış olan sıçanlarda ise L-NAME uygulanan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir. Mezenterik arterlerde asetilkolinin noradrenalin ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Renal arterlerde de asetilkolinin pD_2 değerleri ve noradrenalin ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-2).



Şekil 4-10 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde asetilkolinin (Ach; 10^{-9} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre anlamlılık; ### $p < 0,001$ L-NAME grubuna göre anlamlılık, $n=7-13$.



Şekil 4-11 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde asetilkolinin (Ach; 10^{-9} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.

$p > 0,05$ kontrol ile karşılaştırıldığında, $n=5-7$.

Tablo 4-2 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde asetilkolinin E_{maks} ve pD_2 değerleri

Asetilkolin				
	Prekontraksiyon (mN/mm)	E_{maks} (%)	pD_2	n
Mezenterik Arter				
Kontrol	1,91 ± 0,54	92,14 ± 2,24	7,73 ± 0,06	7
L-NAME	1,24 ± 0,18	60,15 ± 4,51 ***	6,95 ± 0,16 ***	9
L-NAME + Barnidipin	1,71 ± 0,23	86,68 ± 1,36 ###	7,44 ± 0,07 ##	13
Renal Arter				
Kontrol	2,03 ± 0,31	73,13 ± 4,62	7,03 ± 0,15	7
L-NAME	1,60 ± 0,21	66,93 ± 2,80	6,68 ± 0,09	5
L-NAME + Barnidipin	2,35 ± 0,70	59,69 ± 7,61	6,79 ± 0,23	5

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

E_{maks} : Maksimum gevşeme yanıtı.

n : İzole arter sayısı.

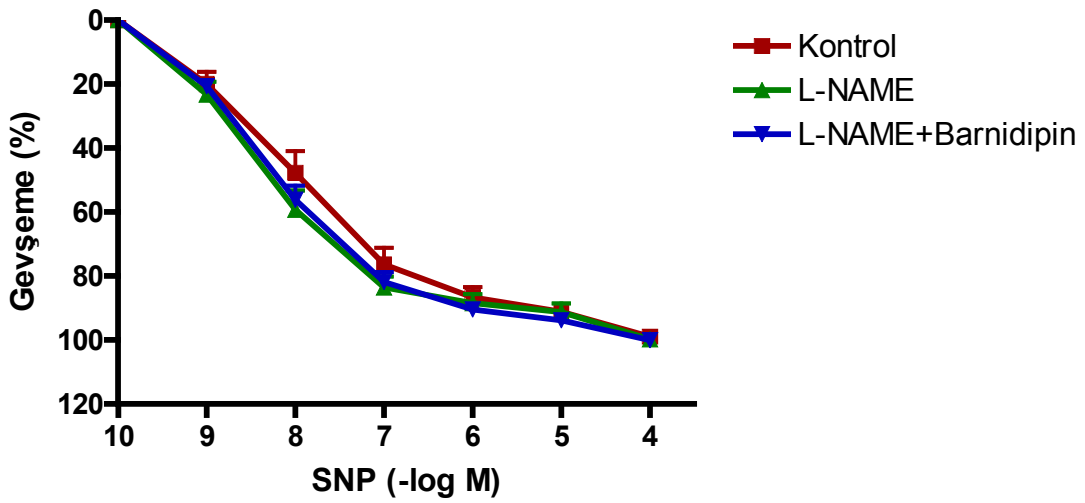
* $p<0,05$, *** $p<0,001$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı; ## $p<0,01$, ### $p<0,001$ L-NAME grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir.

4.1.4.1. Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin Uygulanmış Sıçanlardan İzole Edilen Mezenterik ve Renal Arterlerde Sodyum Nitroprussiyat'ın Düz Kas Aracılı Gevşetici Etkisi

Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanların noradrenalin (NA; 5×10^{-6} - 10^{-5} M) ile prekontrakte edilen izole mezenterik ve renal arterlerinde sodyum nitroprussiyatın kümülatif olarak (SNP; 10^{-10} - 10^{-4} M) uygulanması, konsantrasyon bağımlı gevşeme yanıtları oluşturmuştur.

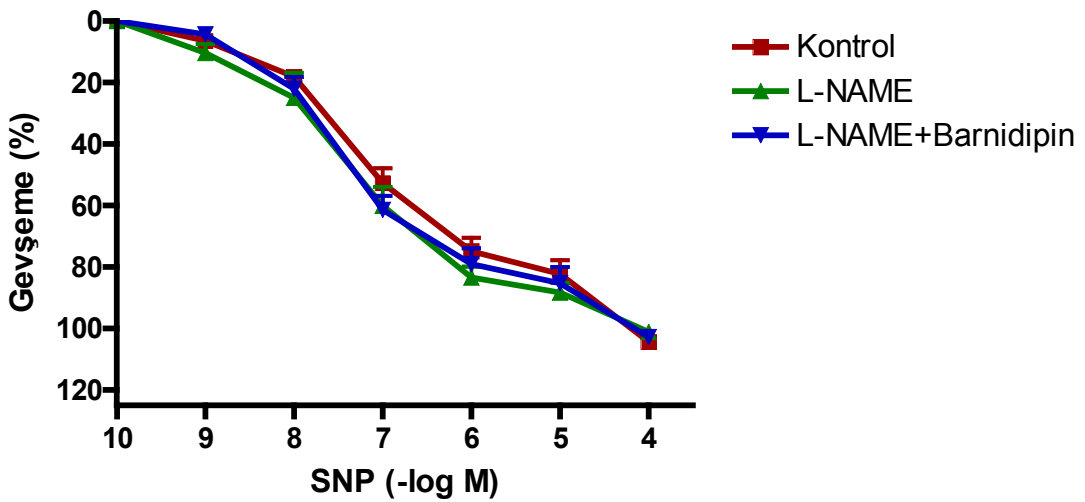
Kontrol, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde sodyum nitroprussiyatın maksimum gevşetici etkisinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4-12, Şekil 4-13).

Renal arterlerde sodyum nitroprussiyatın noradrenalin ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri kıyaslandığında, L-NAME uygulanmış sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana geldiği, L-NAME + Barnidipin uygulanmış olan sıçanlarda ise L-NAME uygulanan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmektedir. pD_2 değerleri kıyaslandığında ise gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Mezenterik arterlerde sodyum nitroprussiyatın pD_2 değerleri ve noradrenalin ile oluşturulan prekontraksiyon düzeyleri kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4-3).



Şekil 4-12 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde sodyum nitroprussiyatın (SNP; 10^{-10} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.

$p > 0,05$ kontrol ile karşılaştırıldığında, $n=7-13$.



Şekil 4-13 : Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen renal arterlerde sodyum nitroprussiyatın (SNP; 10^{-10} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı gevşetici etkisi.

$p > 0,05$ kontrol ile karşılaştırıldığında, $n=5-7$.

Tablo 4-3: Kontrol, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanmış sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde sodyum nitroprusiyatın E_{maks} ve pD_2 değerleri

Sodyum Nitroprusiyat				
	Prekontraksiyon (mN/mm)	E_{maks} (%)	pD_2	n
Mezenterik Arter				
Kontrol	1,29 ± 0,20	99,09 ± 1,42	7,99 ± 0,10	7
L-NAME	1,12 ± 0,15	99,83 ± 0,59	8,30 ± 0,09	11
L-NAME + Barnidipin	1,20 ± 0,18	100,1 ± 0,39	8,18 ± 0,06	13
Renal Arter				
Kontrol	1,63 ± 0,28	104,5 ± 2,20	7,09 ± 0,10	7
L-NAME	0,96 ± 0,11 **	101,2 ± 0,76	7,27 ± 0,12	5
L-NAME + Barnidipin	2,11 ± 0,36 *, ###	102,9 ± 2,22	7,33 ± 0,10	6

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

E_{maks} : Maksimum gevşeme yanıtı.

n : İzole arter sayısı.

* $p<0,05$, ** $p<0,01$ kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı; ### $p<0,001$ L-NAME grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir.

4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemelerin Sonuçları

4.2.1. Histopatolojik Bulgular

4.2.1.1. Işık Mikroskobu Bulguları

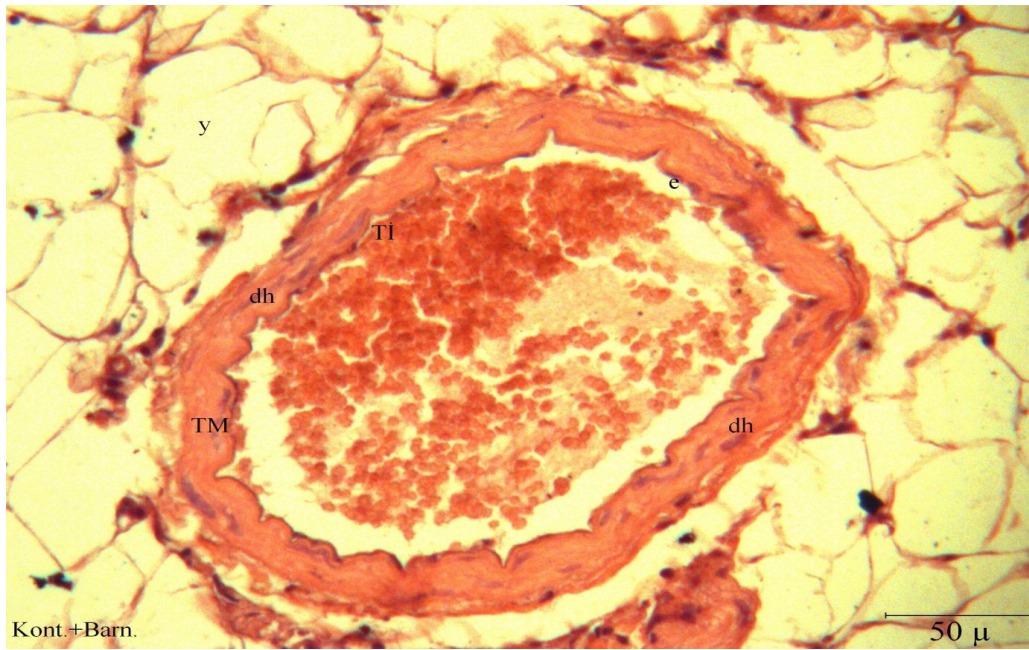
Kontrol grubu hayvanların mezenterik ve renal arterlerinde yapılan histolojik incelemelerde endotel hücrelerinin bulunduğu tunika intima, düz kas hücrelerinin bulunduğu tunika media ve bağ dokusu elemanlarından oluşan tunika adventisya tabakalarının normal yapı ve morfolojide oldukları ancak hipertansif grupta tunika media tabakasının oldukça kalınlaştığı, damar lümen çapının azaldığı ve düz kas hücrelerinin nukleuslarının normal yassı şeklini yitirerek oval şekil aldığı görülmüştür. Barnidipin uygulanan hipertansif hayvanların mezenterik ve renal arterlerinde ise damar duvar kalınlığının hipertansif gruba kıyasla azaldığı, düz kas hücrelerinin normal görünümde olduğu ve damar lümeninin genişleyerek normale döndüğü belirlenmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif sıçanlarda (Kontrol+Barnidipin) tunika media tabakası kalınlığının nispeten kontrole göre azaldığı, düz kas hücrelerinin nukleus şekillerinin normal olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4-14, Şekil 4-15, Şekil 4-16, Şekil 4-17).

Kontrol grubu hayvanların böbrek dokusunda glomerulus, bowman kapsülü ve tübüllerin normal yapı ve morfolojide olduğu gözlenmiştir. Buna karşın hipertansif grupta, glomerüler yumağın normal şeklini yitirerek dağınık ve atrofik bir görünümde olduğu, visseral ve pariyetal yaprakların arasındaki alanın genişlediği, ayrıca glomerulusun kan damarları arasında yer yer kanama odaklarının olduğu görülmüştür. Barnidipin uygulanan hipertansif grupta, hipertansiyon sonucu oluşan renal hasarın kısmen geriye döndüğü, böbrek yapı ve morfolojisinin kontrol grubuna benzer şekilde olduğu tespit edilmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif grupta ise renal korpüskül'ün ve çevresindeki yapıların kontrole benzer olduğu görülmüştür (Şekil 4-18, Şekil 4-19).

A. Kontrol



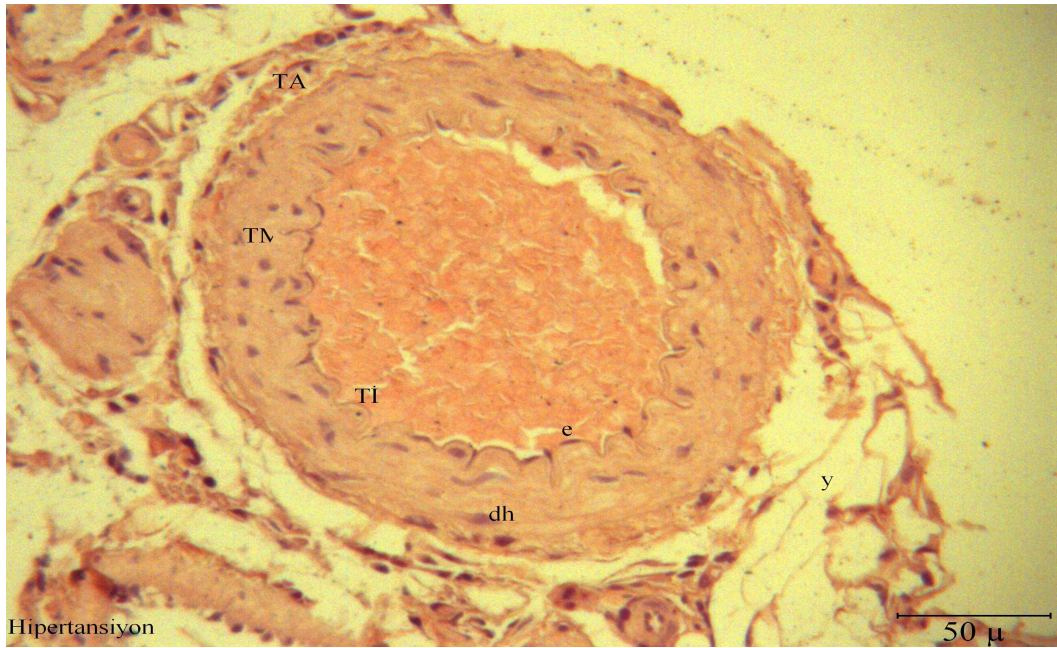
B. Kontrol + Barnidipin



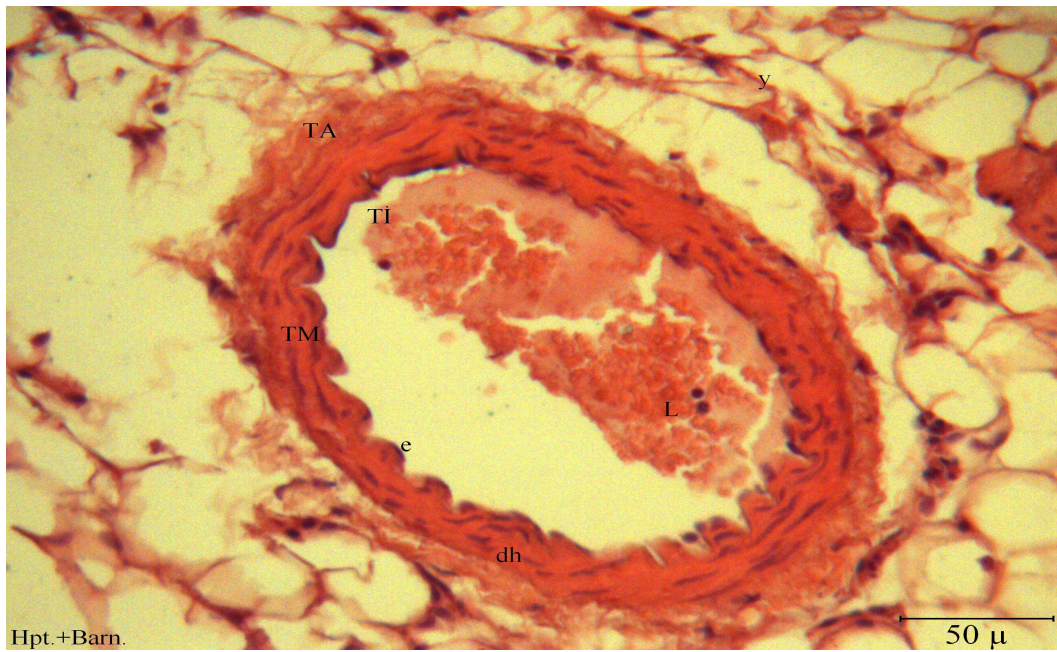
Şekil 4-14: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, Tİ: tunika intima, TA: tunika adventisya, dh: düz kas hücresi, e: endotel hücresi. n= 4-6.
Bar=50 μ m.

A. L-NAME



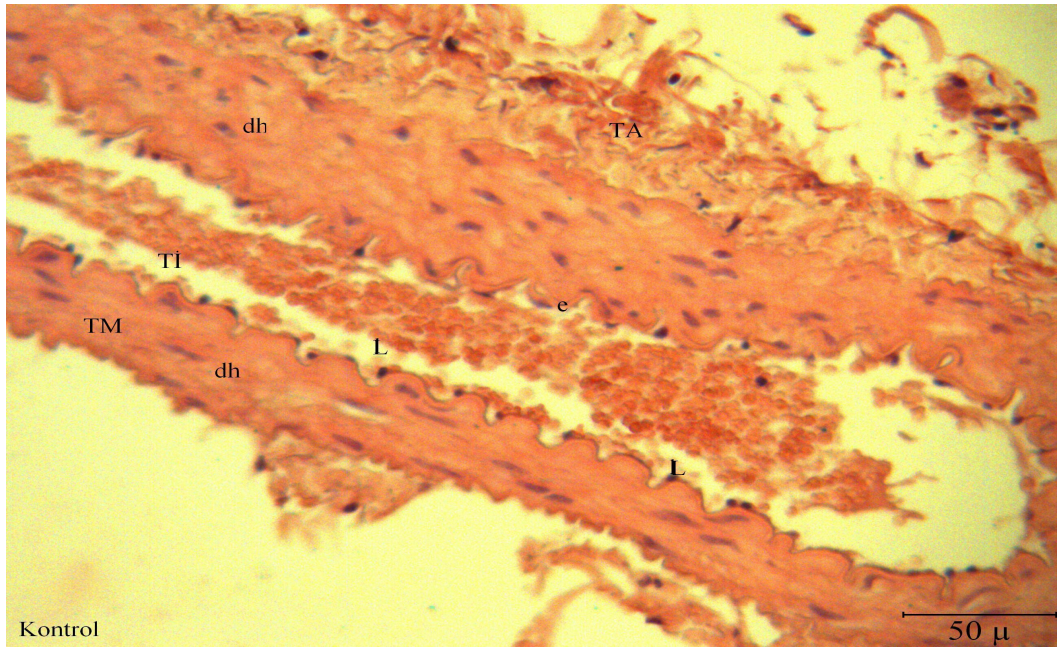
B. L-NAME+Barnidipin



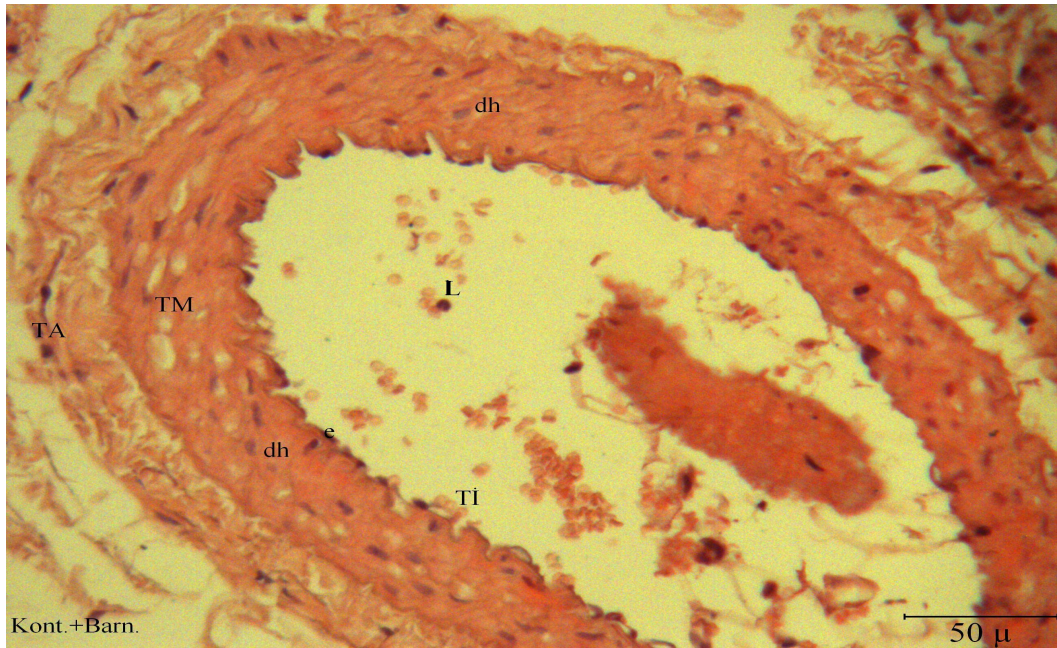
Şekil 4-15: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, Tİ: tunika intima, TA: tunika adventisya, dh: düz kas hücresi, y: yağ dokusu, e: endotel hücresi, L: lökosit. n= 4-6. Bar=50μm.

A. Kontrol



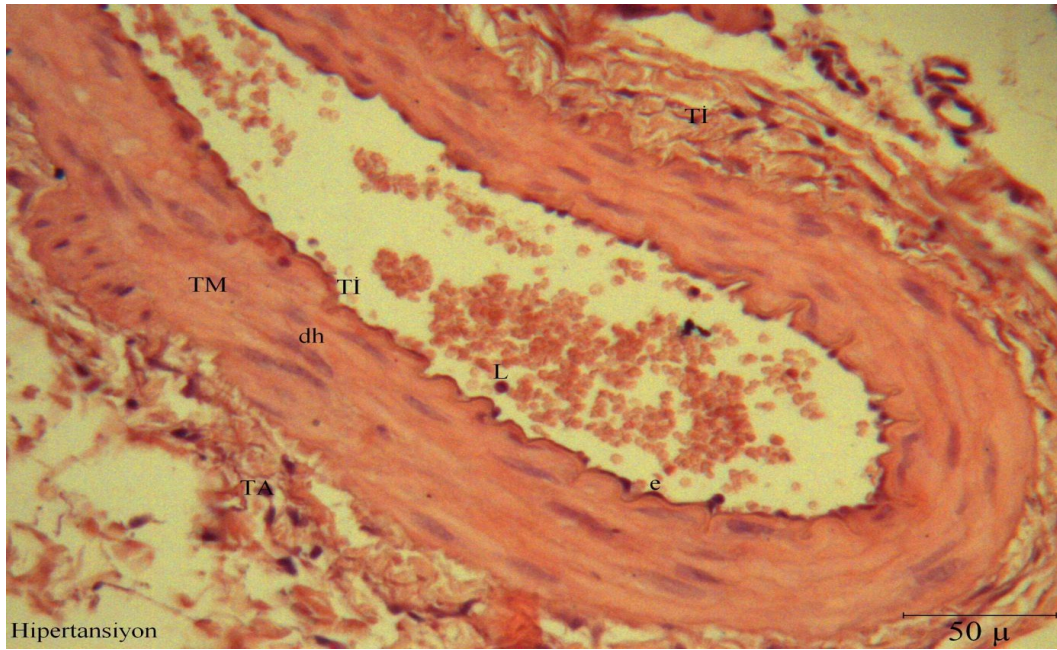
B.Kontrol+Barnidipin



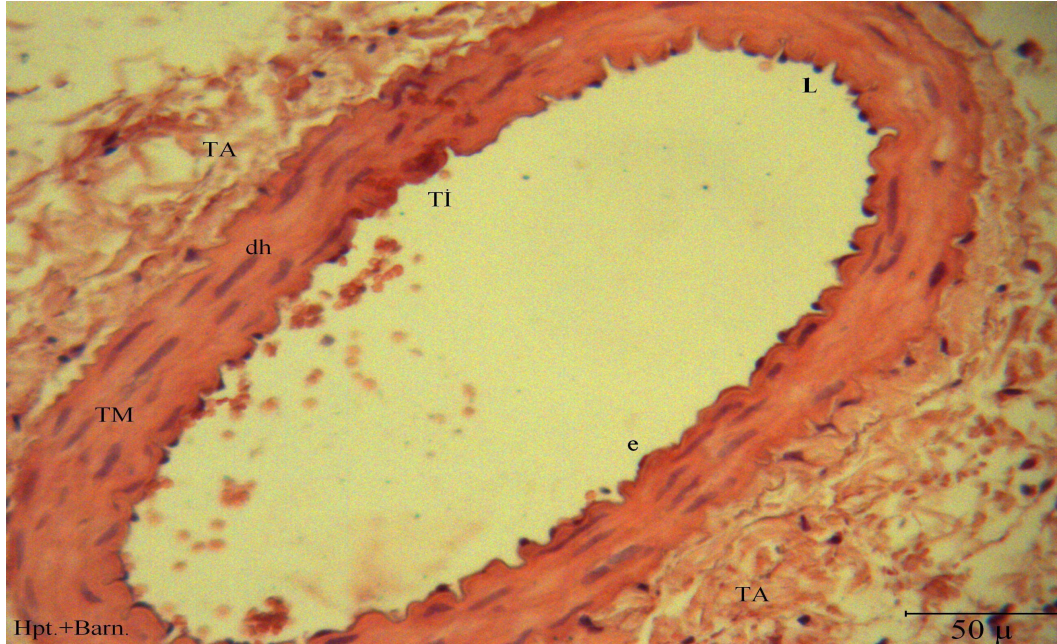
Şekil 4-16 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, Tİ: tunika intima, TA: tunika adventisya, dh: düz kas hücresi, e: endotel hücresi, L: lökosit. n= 4-6. Bar=50 μ m.

A. L-NAME



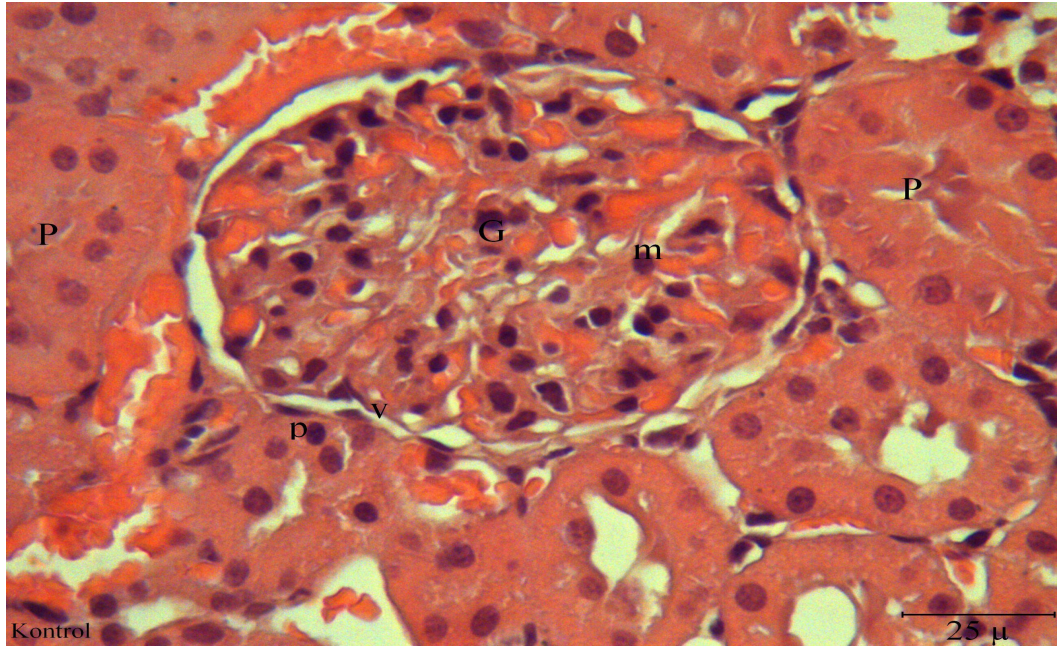
B. L-NAME+Barnidipin



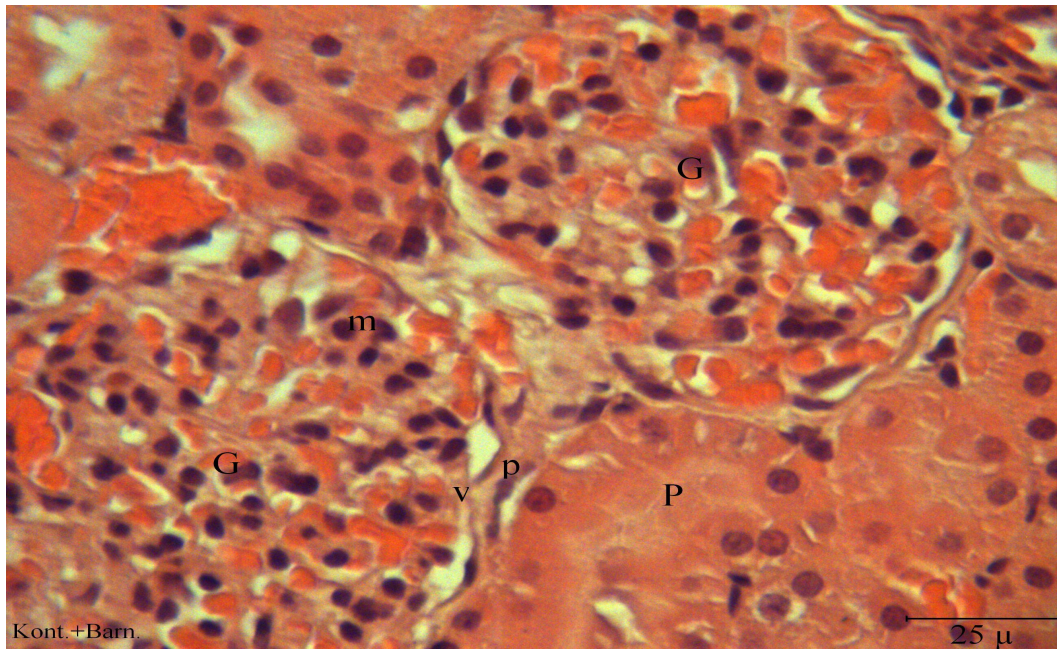
Şekil 4-17 : L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin ışık mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, Tİ: tunika intima, TA: tunika adventisya, dh: düz kas hücresi, e: endotel hücresi, L: lökosit. n= 4-6. Bar=50μm.

A. Kontrol



B. Kontrol+Barnidipin

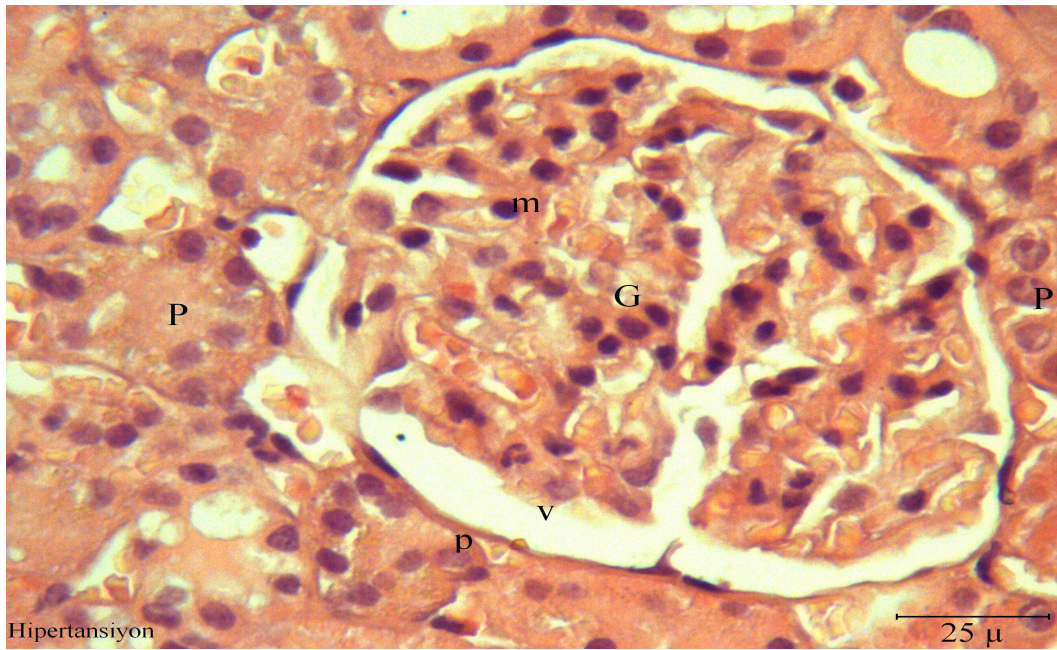


Şekil 4-18 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun ışık mikroskobundaki görünümü

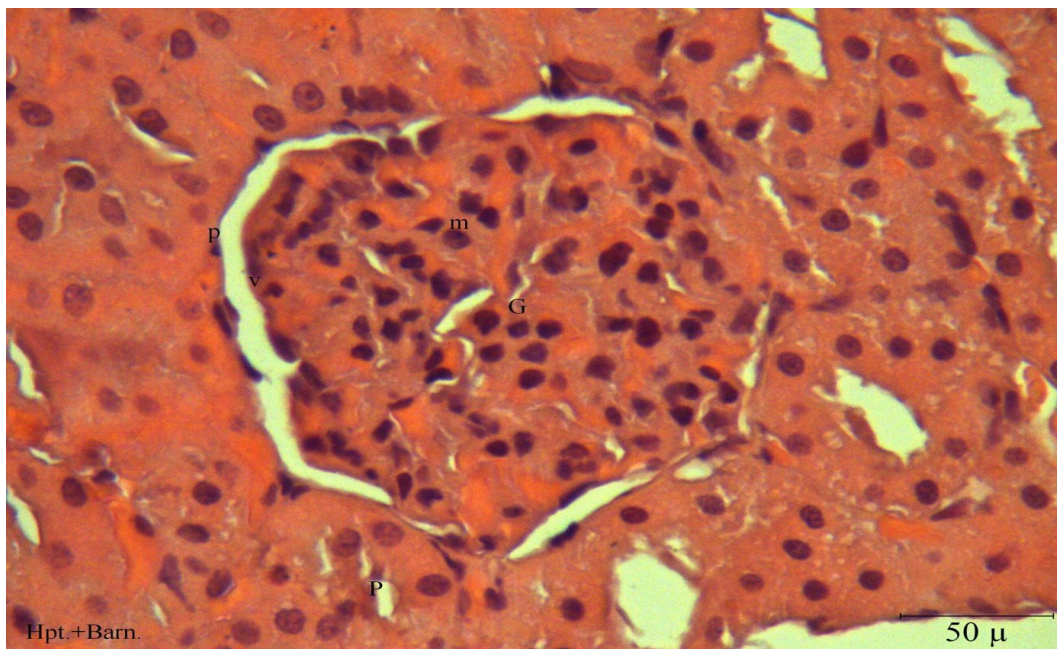
G: glomerulus, P: proksimal kanal, p:pariyetal yaprak, v: viseral yaprak, m: mezengiyal hücre. n= 4-6.

Bar=25μm.

A. L-NAME



B. L-NAME+Barnidipin



Şekil 4-19: L-NAME (A) ve L-NAME+Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun ışık mikroskopundaki görünümü

G: glomerulus, P: proksimal kanal, p:pariyetal yaprak, v: viseral yaprak, m: mezengiyal hücre. n= 4-6.
Bar=25-50μm.

4.2.1.2. Elektron Mikroskobu Bulguları

Kontrol grubu sıçanların mezenterik ve renal arterleri elektron mikroskobu ile incelendiğinde, damar tunika intima ve tunika media tabakalarının normal yapı ve görünümde olduğu, endotel hücrelerin şeklinin ve bazal membran ile adezyonunun normal olduğu ve düz kas hücrelerinin birbirleri ile olan bağlantısının ve yapılarının normal olduğu görülmüştür (Şekil 4-20A, Şekil 4-22A).

Barnidipin uygulanan normotansif sıçanların mezenterik ve renal arterleri incelendiğinde damar düz kas hücrelerinin kontrol grubuna göre daha gevşek paketlenildiği, endotel hücrelerinin yer yer bazal membran ile adezyonunun azaldığı ve hücre içerisinde büyük vakuollerin meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4-20B, Şekil 4-22B).

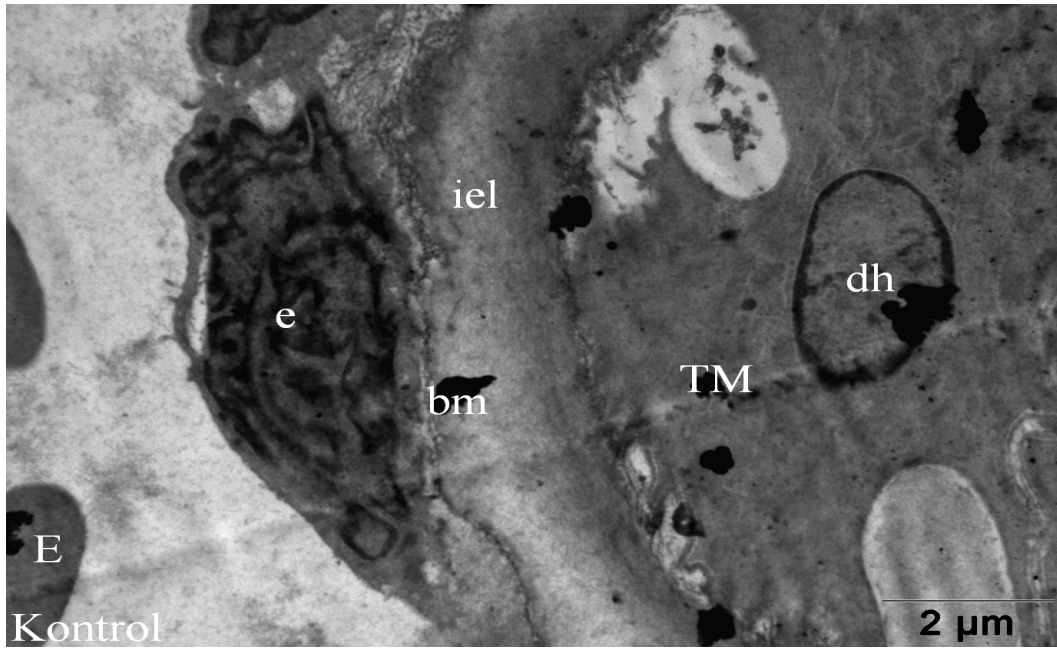
Hipertansif grupların mezenterik ve renal arterleri incelendiğinde özellikle tunika intima tabakasında yer alan endotel hücrelerin yapılarının bozulduğu, bazal membran ile olan adezyonlarının azalarak bağlantıların gevşediği ve özellikle subendoteliyal alanda iç elastik membran kalınlığının oldukça arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca tunika media tabakasında düz kas hücrelerinin oldukça sıkı şekilde paketlenildiği ve hücre içeriğinin yoğunlaştığı görülmüştür (Şekil 4-21A, Şekil 4-23A).

Hipertansif hayvanlara Barnidipin uygulamasının ise mezenterik ve renal arterlerde hipertansiyonun yol açtığı hasarları büyük ölçüde engellediği görülmüştür (Şekil 4-21B, Şekil 4-23B).

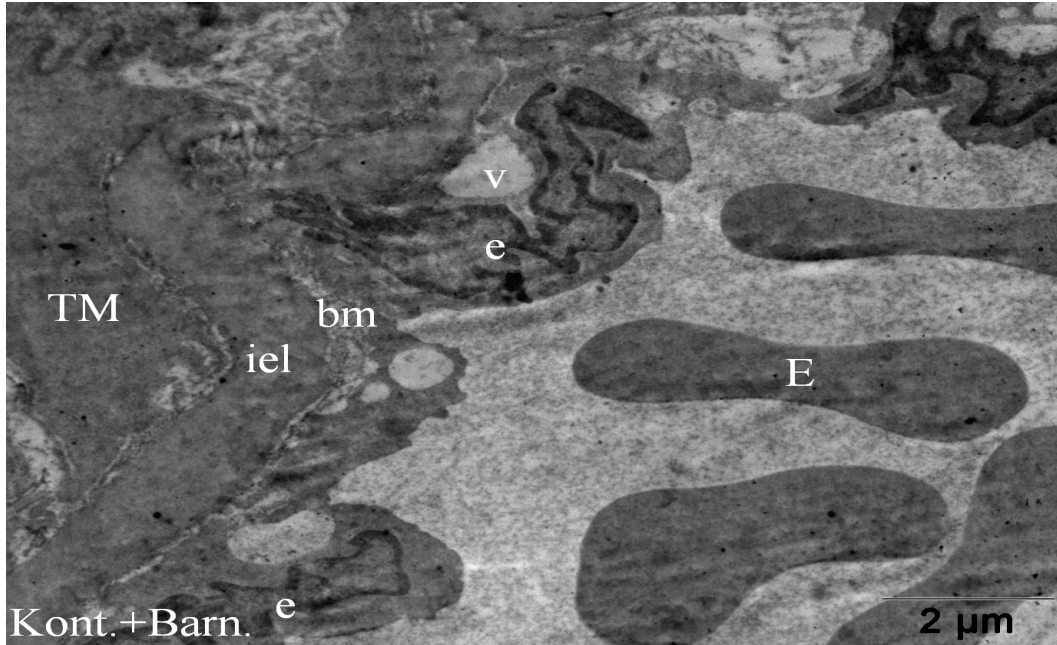
Çalışmada kullanılan sıçanların böbrek dokularında yapılan elektron mikroskobu incelemeleri sonucunda kontrol grubunda kapsüler ve glomerüler alan yapısının normal olduğu, burada yer alan podositlerin, mezengiyal hücrelerin, kan damarlarının ve endotel hücrelerinin normal yapıda olduğu, aynı zamanda endotel hücrelerinin bazal membran ile adezyonunun ve bu membranın kalınlığının normal sınırlarda olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca visseral ve pariyetal yapraklar arasındaki mesafenin normal olduğu görülmüştür. Barnidipin uygulanan kontrol grubunda glomerulus ve çevresindeki yapıların normal olduğu, ancak kapsüler alanın biraz azaldığı gözlenmiştir. Hipertansif

grupta ise özellikle glomerulus yapısının bozulduğu mezengiyal hücre, endotel hücresi ve podositlerin şekillerinin bozulduğu, adezyonlarını kaybettiği ve kapsüler alanın kontrol grubuna kıyasla genişlediği tespit edilmiştir. Hipertansif grupta yer alan sıçanlara Barnidipin uygulamasının ise belirtilen hasarları büyük ölçüde geriye döndürdüğü ve normale yaklaştırdığı belirlenmiştir (Şekil 4-24 ve Şekil 4-25).

A. Kontrol



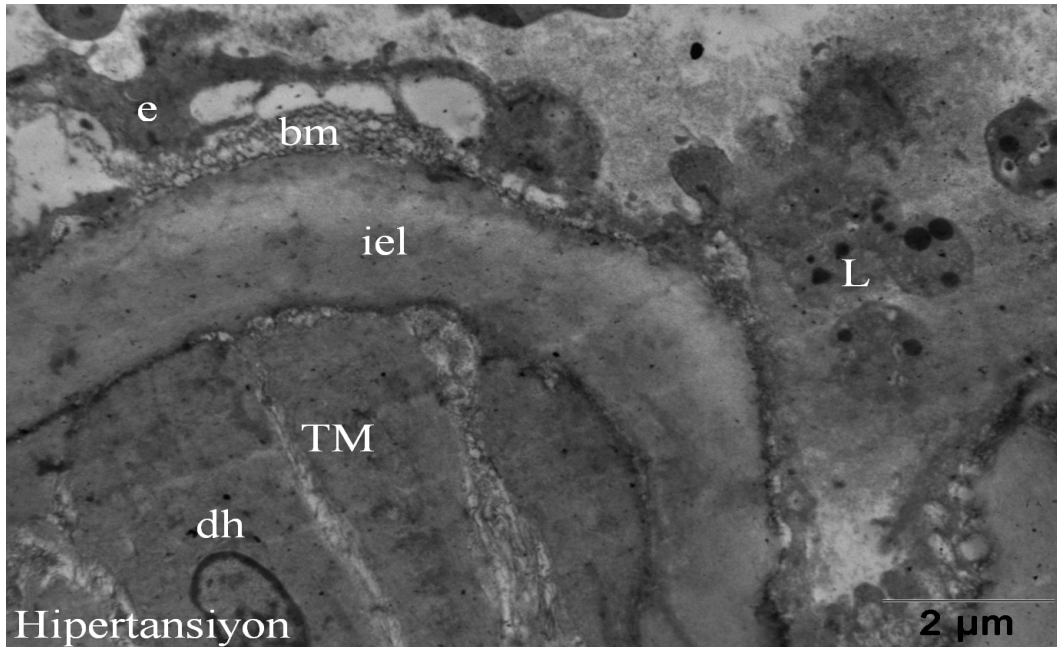
B. Kontrol+Barnidipin



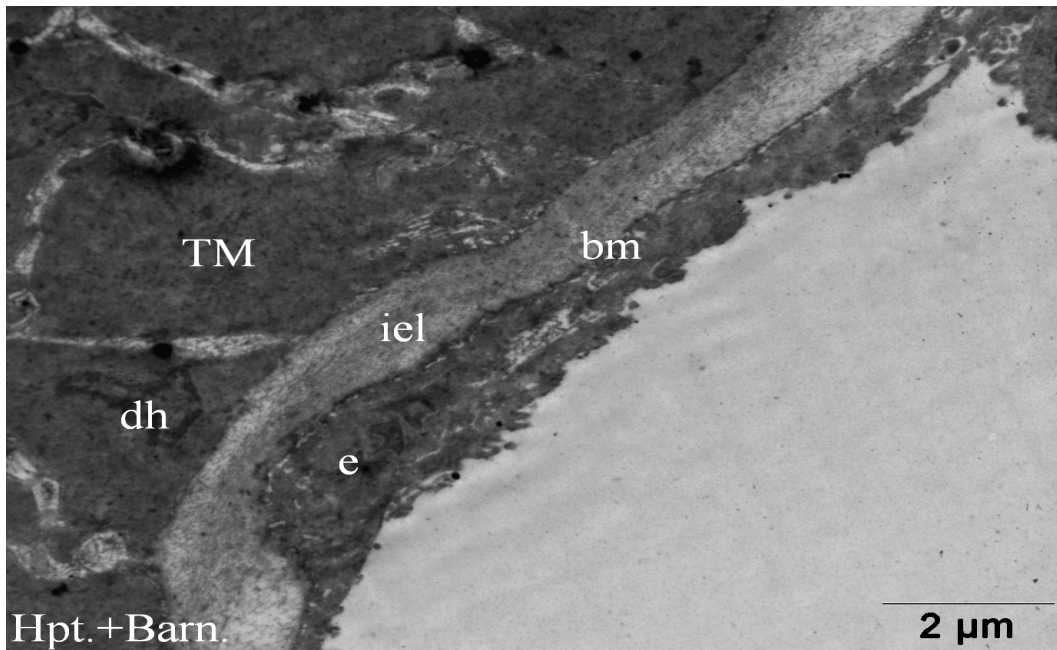
Şekil 4-20: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, iel: iç elastik lamina, dh: düz kas hücresi, v: vakuol, E: eritrosit, e: endotel hücresi, bm: bazal membran. n=4-6. Bar=2 μm.

A. L-NAME



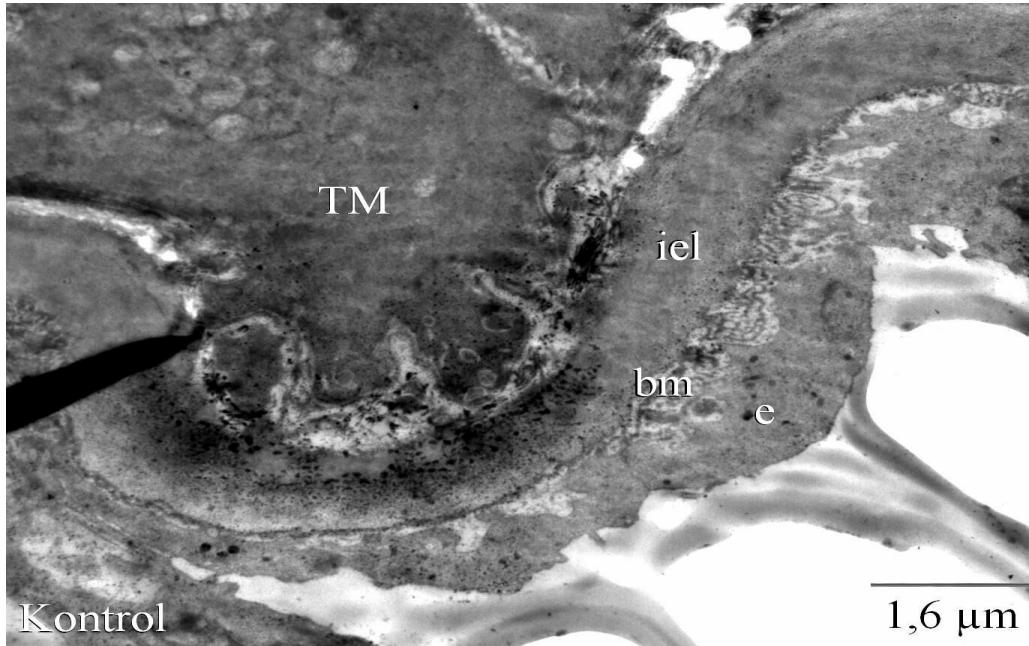
B. L-NAME+Barnidipin



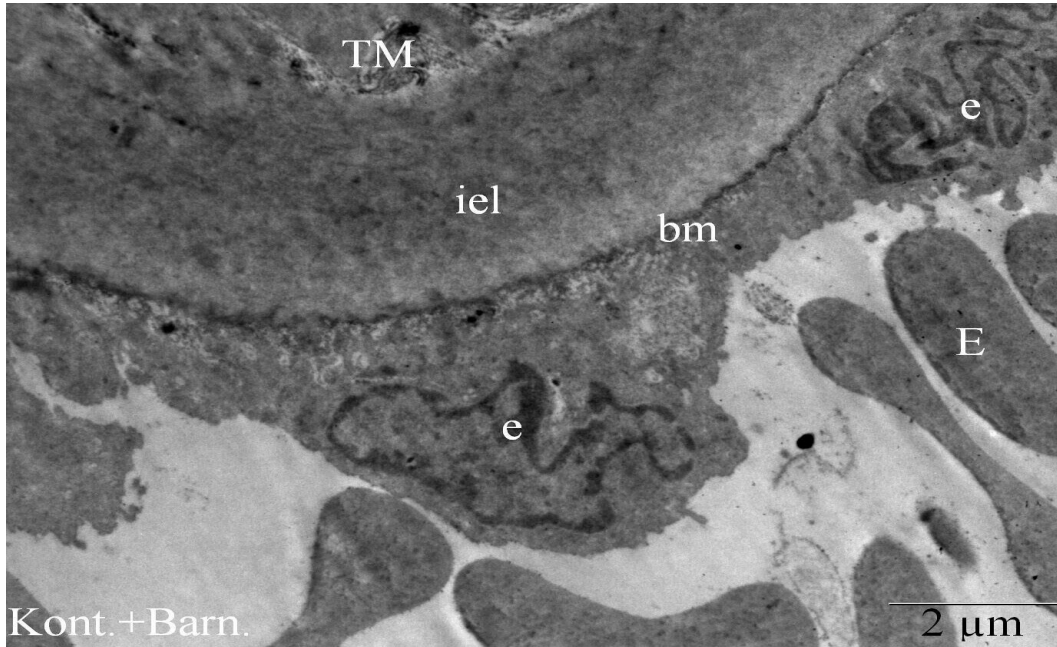
Şekil 4-21: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, iel: iç elastik lamina, dh: düz kas hücresi, e: endotel hücresi, L: lökosit, bm: bazal membran, n=4-6. Bar=2 µm.

A. Kontrol



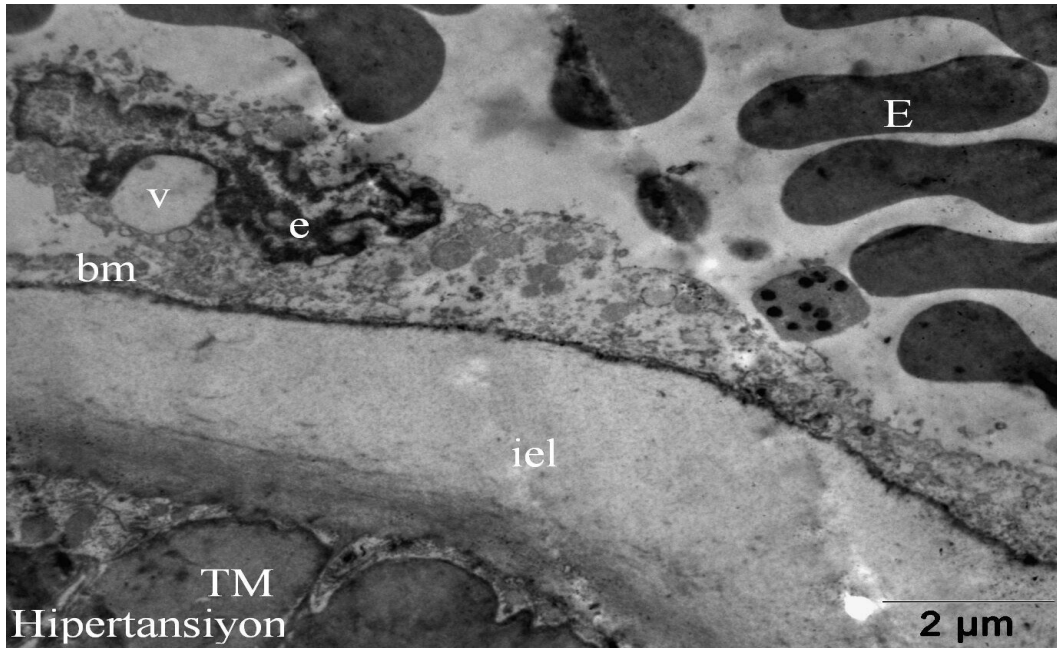
B. Kontrol+Barnidipin



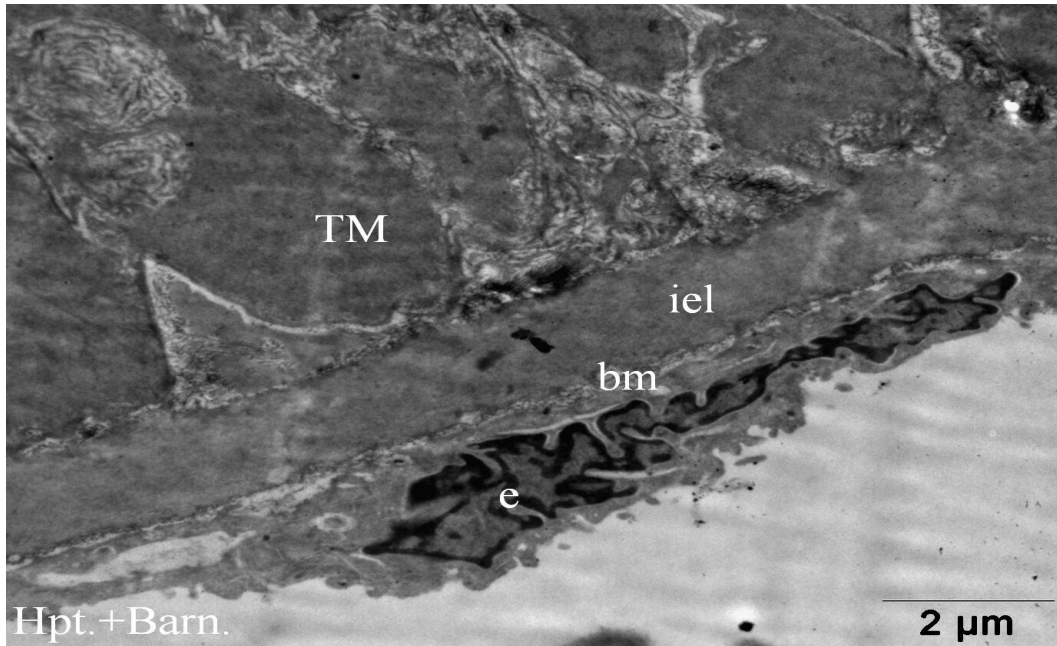
Şekil 4-22: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, iel: iç elastik lamina, E: eritrosit, e: endotel hücresi, bm: bazal membran. n=4-6.
Bar=1,6-2 µm.

A. L-NAME



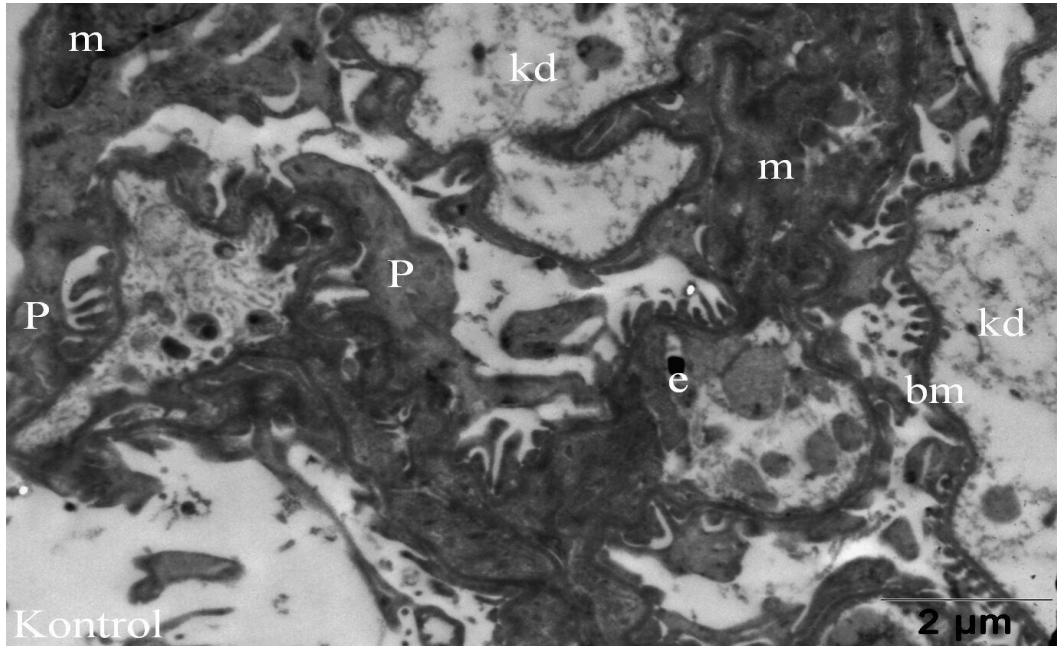
B. L-NAME+Barnidipin



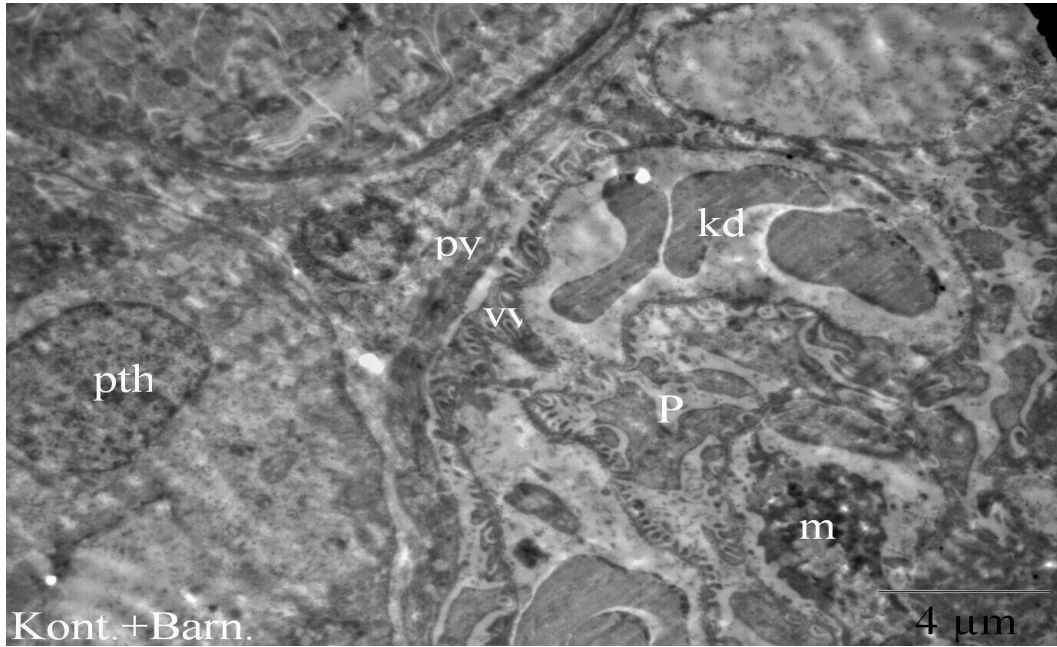
Şekil 4-23: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerin elektron mikroskopundaki görünümü

TM: tunika media, iel: iç elastik lamina, v: vakuol, E: eritrosit, e: endotel hücresi, bm: bazal membran. n=4-6. Bar=2 μm.

A. Kontrol



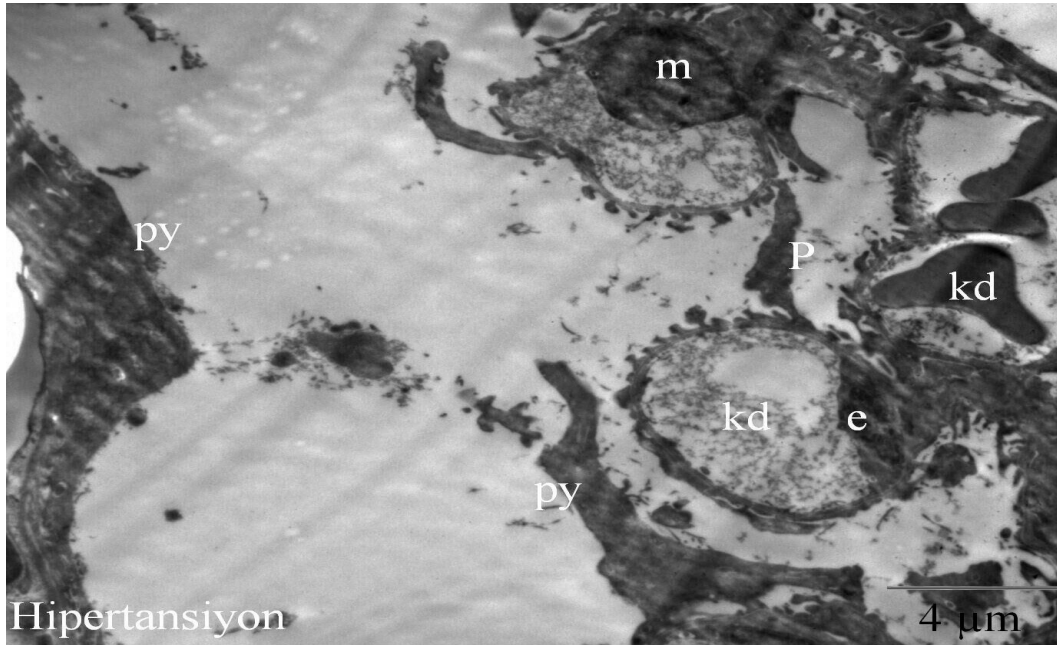
B. Kontrol+Barnidipin



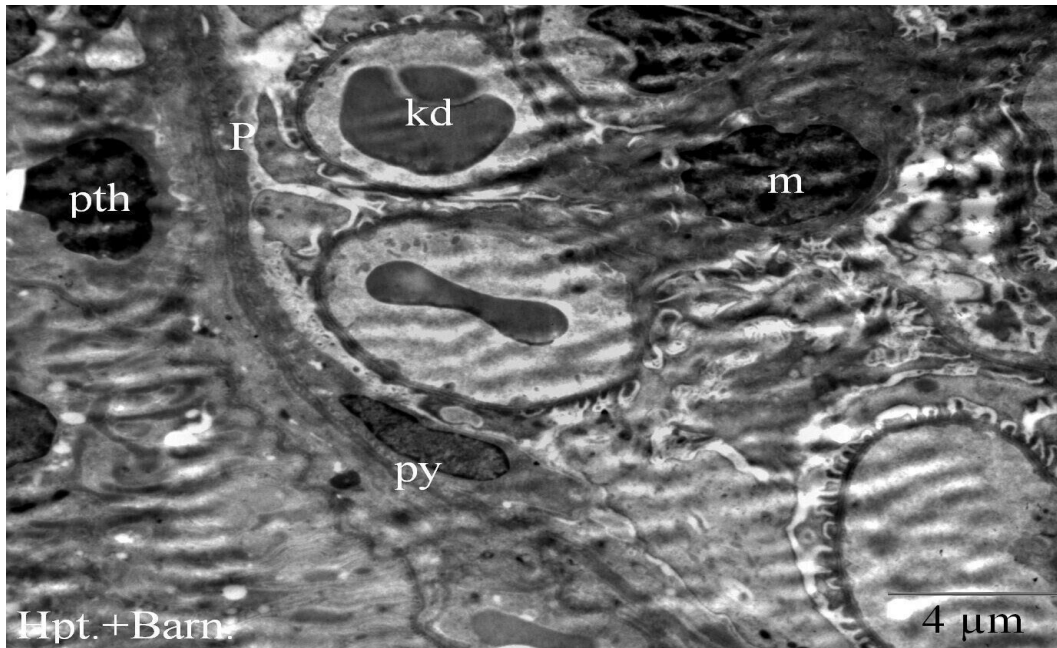
Şekil 4-24: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun elektron mikroskopundaki görünümü

e: endotel hücresi, bm: bazal membran, P: podosit, py: bowman kapsülü pariyetal yaprak, vy: viseral yaprak, m: mezengiyal hücre, pth: proksimal tübül hücresi, kd: kan damarı. n=4-6. Bar=2-4 μm.

A. L-NAME



B. L-NAME+Barnidipin



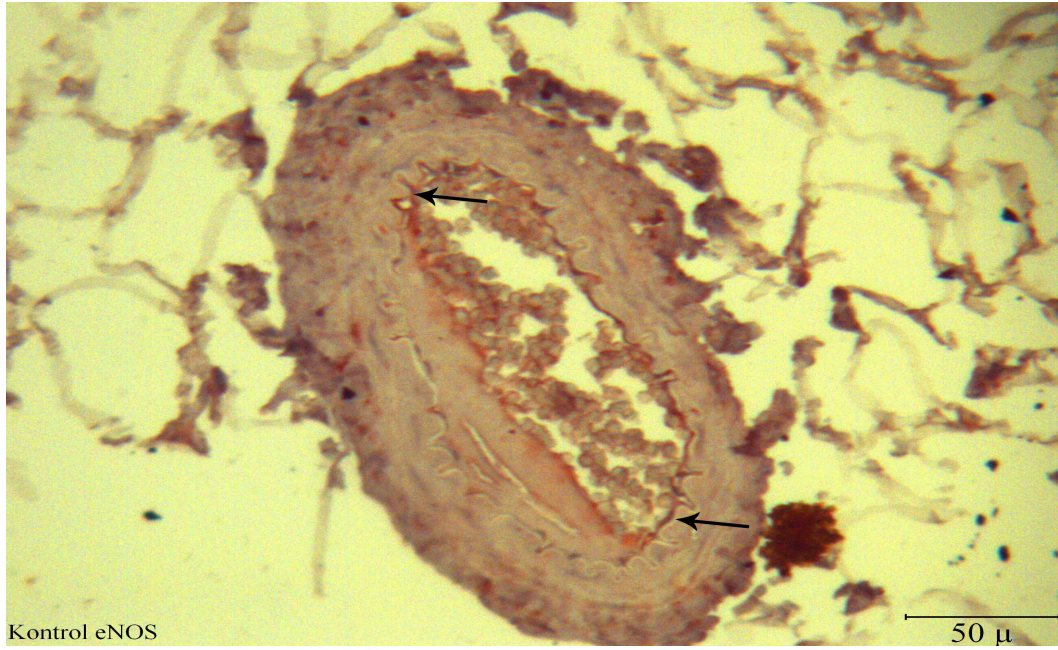
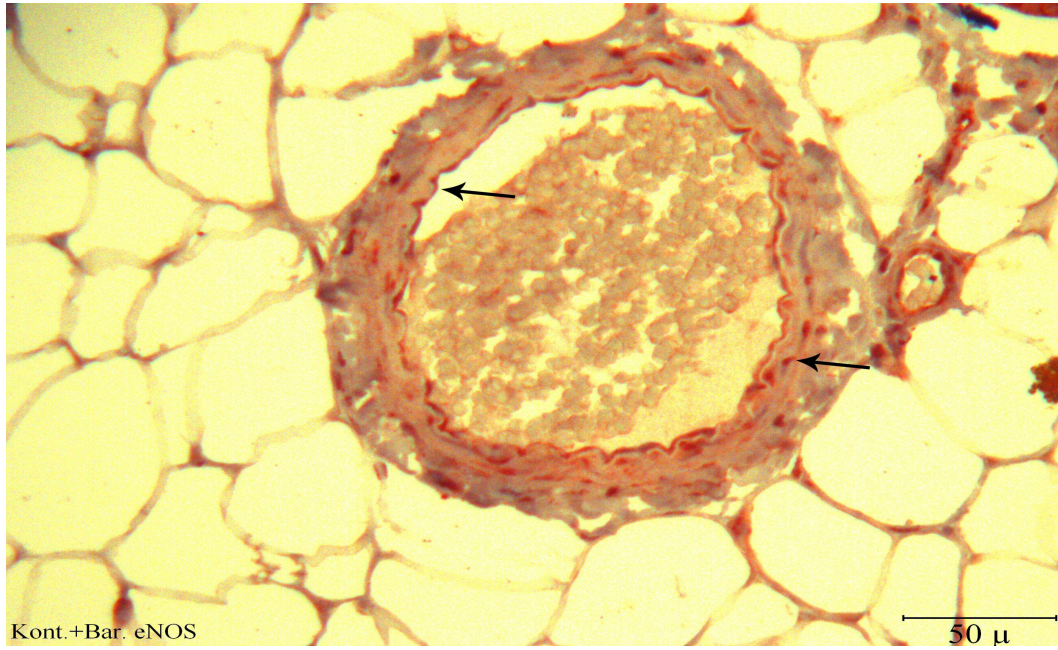
Şekil 4-25: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunun elektron mikroskobundaki görünümü

e: endotel hücresi, P:podosit, py: bowman kapsülü pariyetal yaprak, m: mezengiyal hücre, pth: proksimal tübül hücresi, kd: kan damarı. n=4-6. Bar=4 μ m.

4.2.2. İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları

Kontrol grubu hayvanların renal ve mezenterik arterlerinde özellikle tunika intima tabakasının endotel hücrelerinde belirgin eNOS reaksiyonu ve zayıf iNOS reaksiyonu görülmüştür. Hipertansif grupta ise gerek eNOS gerekse de iNOS immünreaktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Barnidipin uygulanan hipertansif sıçanlarda ise özellikle eNOS aktivitesinin hipertansif gruba kıyasla arttırdığı ve bu reaksiyonun kontrol grubuna benzer olduğu belirlenmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif grupta eNOS ve iNOS immünreaktivitesinin tunika intima ve tunika media'da arttığı görülmüştür. (Şekil 4-20, Şekil 4-21, Şekil 4-22, Şekil 4-23, Şekil 4-24, Şekil 4-25, Şekil 4-26, Şekil 4-27).

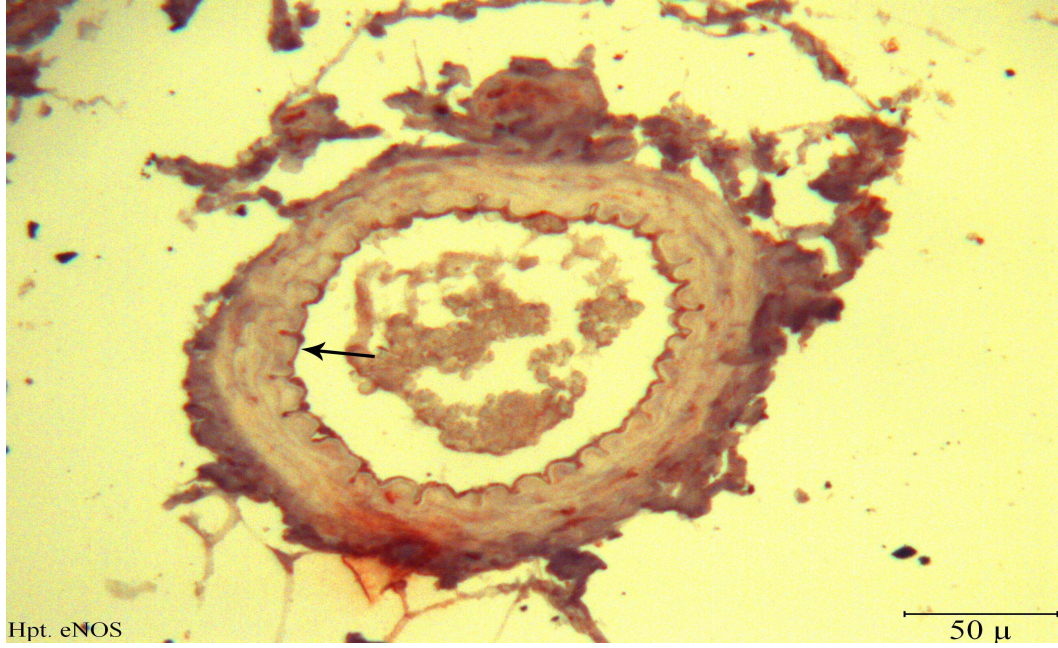
Kontrol grubu böbrek dokusunda eNOS ve iNOS reaksiyonlarının özellikle tübüllerde yoğunlaştığı, glomeruluslarda reaksiyonun yok denecek kadar az olduğu belirlenmiştir. Hipertansif sıçanlarda ise gerek eNOS gerekse de iNOS reaksiyonun kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Barnidipin uygulanan hipertansif sıçanlarda ise Barnidipin uygulamasının hem eNOS reaksiyonunu hem de iNOS reaksiyonunu arttırarak kontrol grubu düzeylerine getirdiği tespit edilmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif sıçanlarda ise her iki reaksiyonun hem tübüllerde hem de glomeruluslarda arttığı görülmüştür. (Şekil 4-28, Şekil 4-29, Şekil 4-30, Şekil 4-31).

A. Kontrol**B. Kontrol+Barnidipin**

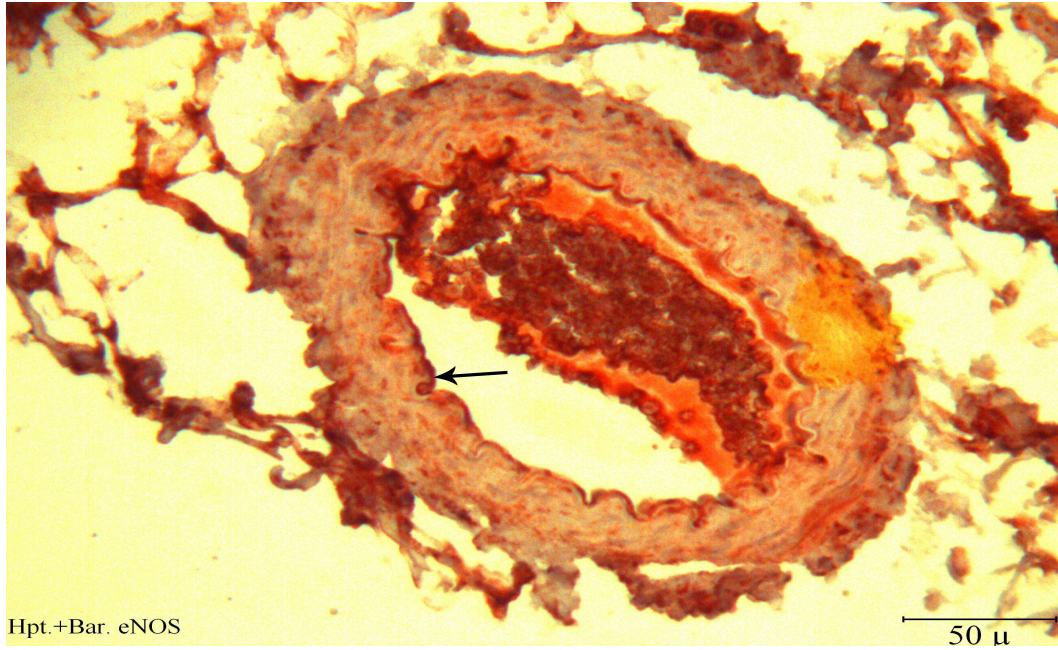
Şekil 4-26 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde eNOS dağılımı

→: eNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50 μ m.

A. L-NAME



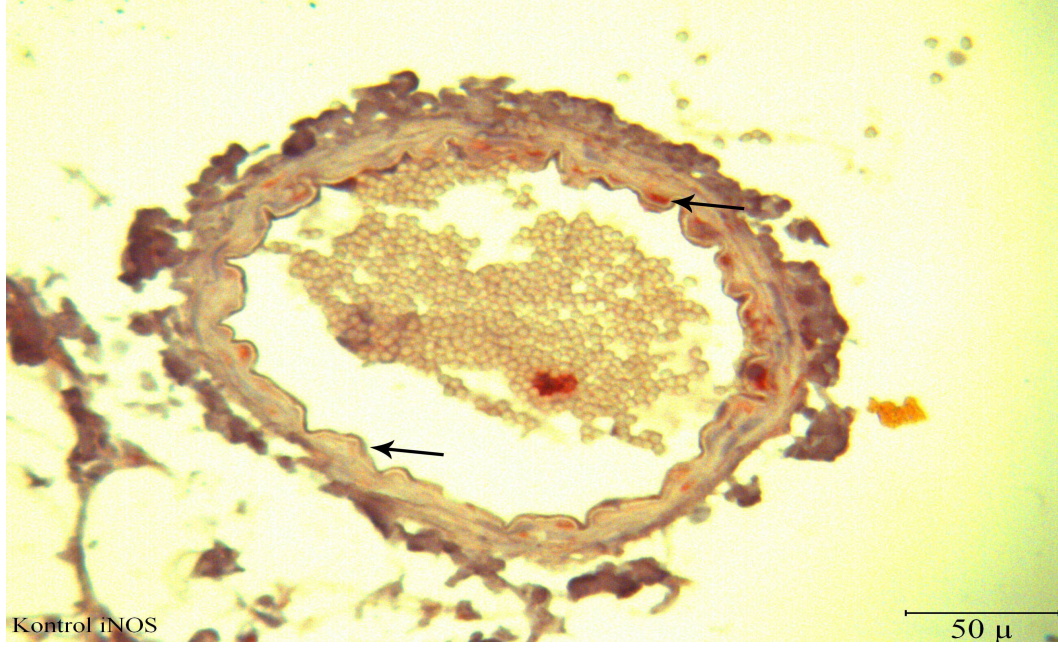
B. L-NAME+Barnidipin



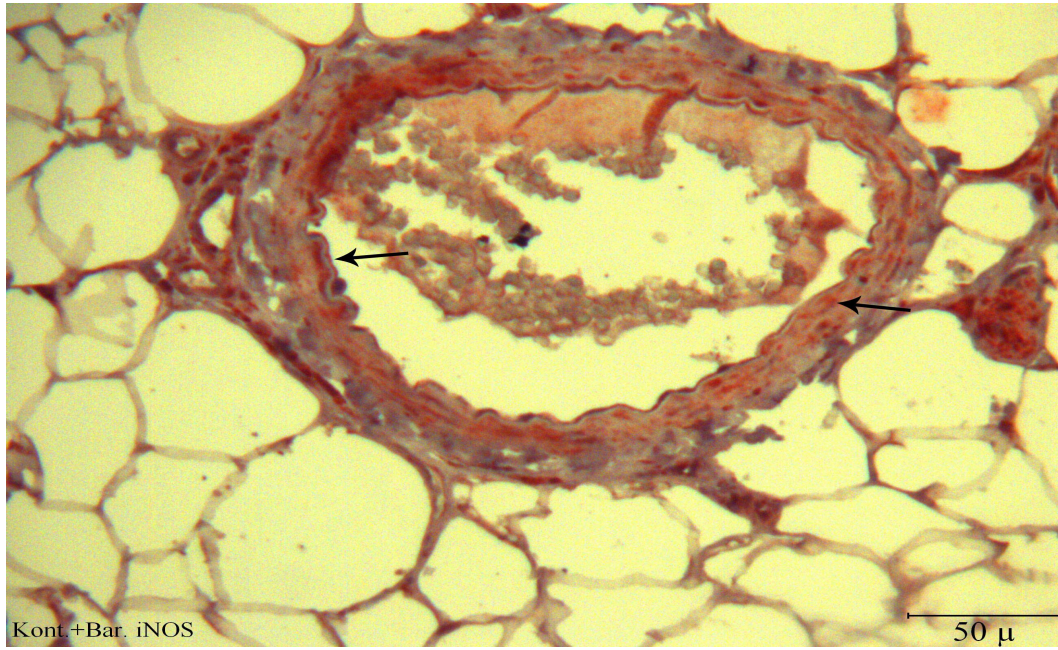
Şekil 4-27: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde eNOS dağılımı

→: eNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50 μ m.

A. Kontrol



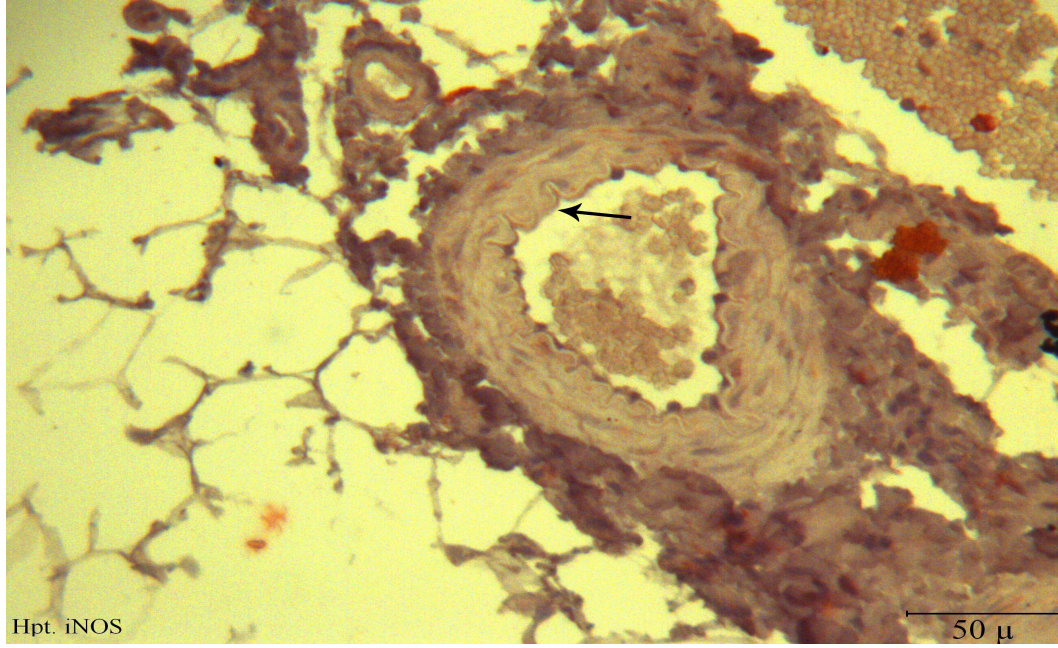
B. Kontrol+Barnidipin



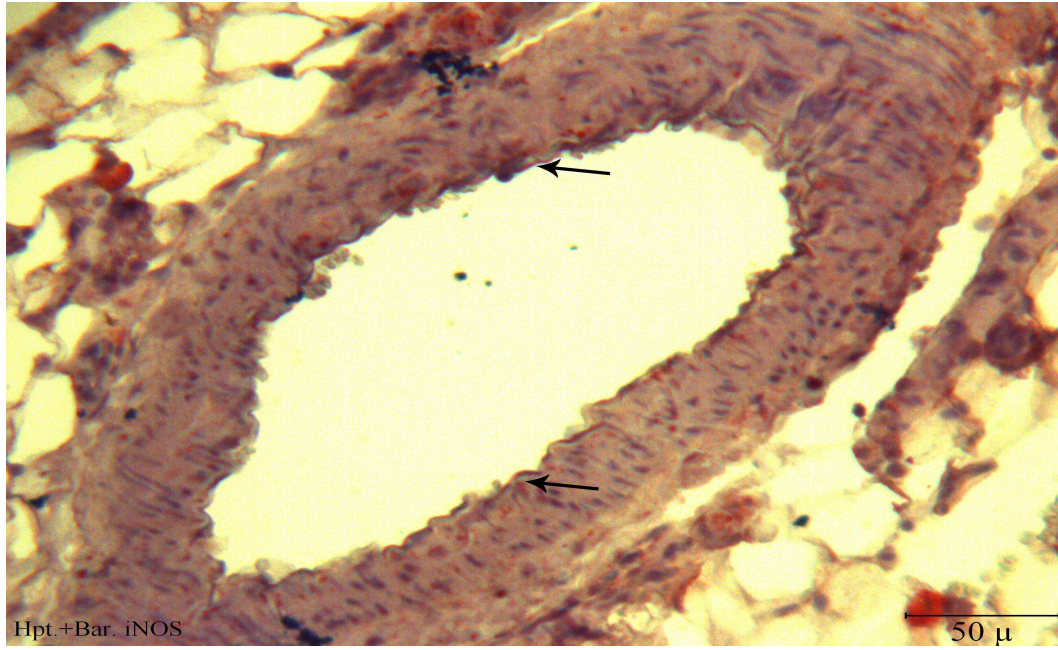
Şekil 4-28: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde iNOS dağılımı

→: iNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

A. L-NAME



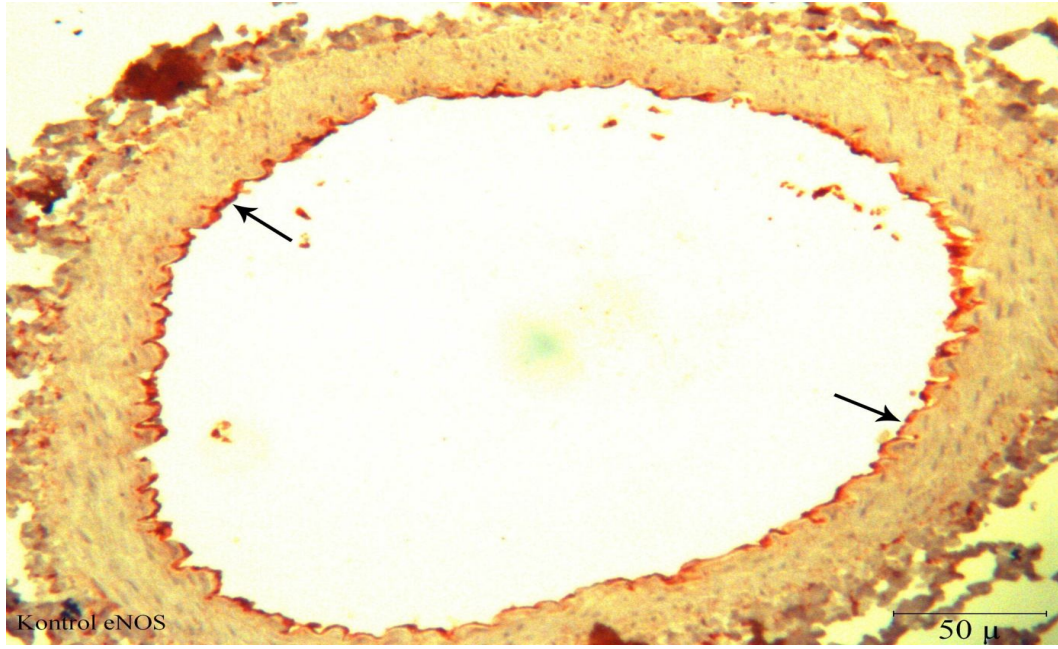
B. L-NAME+Barnidipin



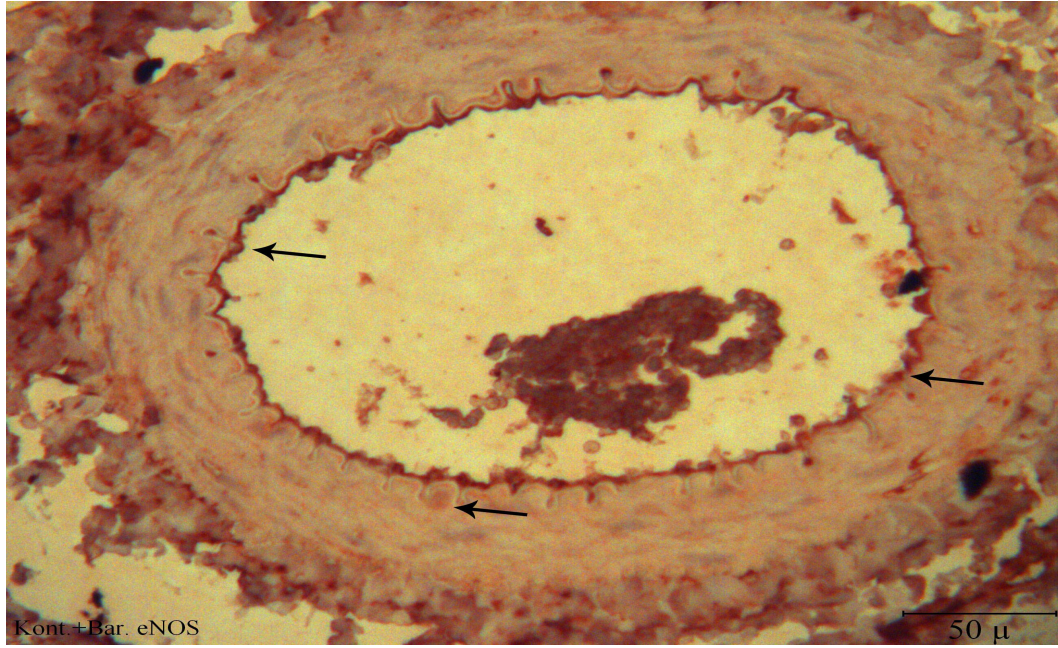
Şekil 4-29: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen mezenterik arterlerde iNOS dağılımı

→: iNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

A. Kontrol



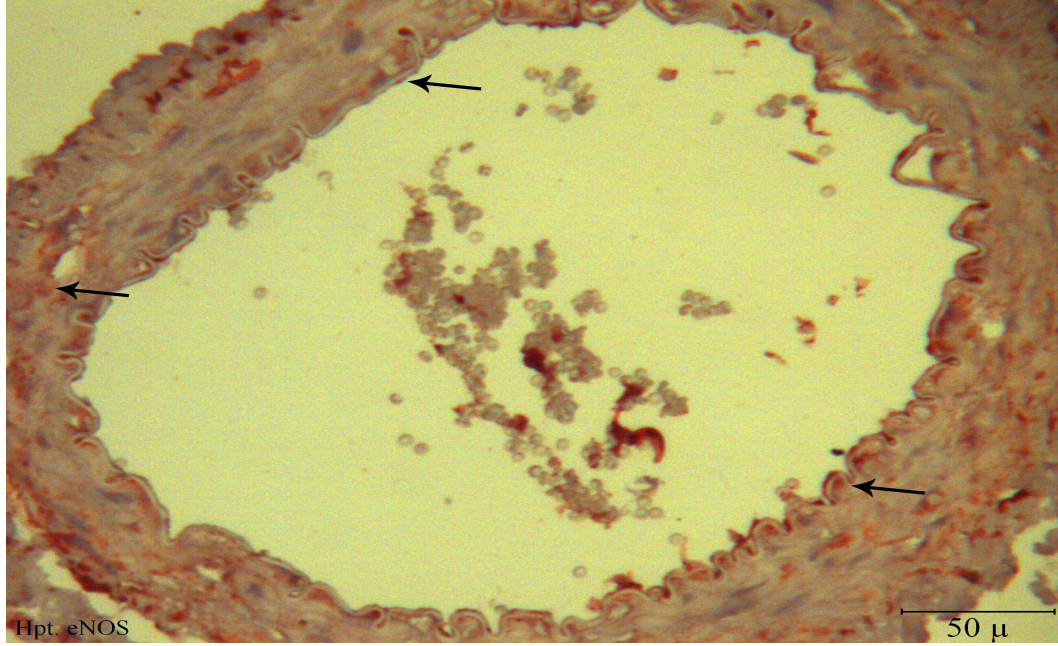
B. Kontrol+Barnidipin



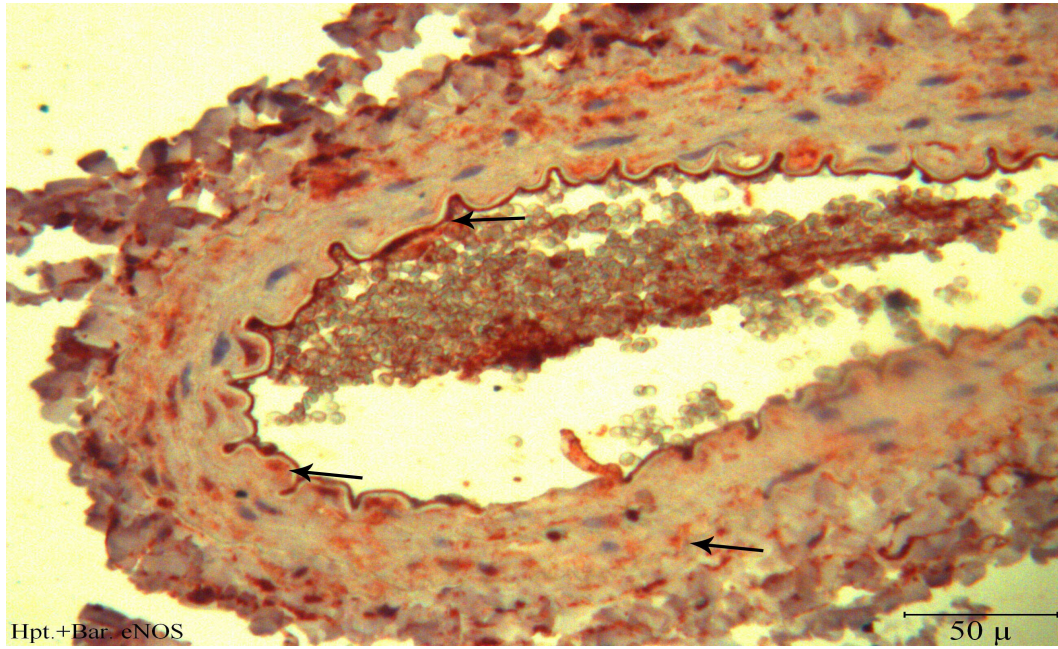
Şekil 4-30 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde eNOS dağılımı

→: eNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

A. L-NAME



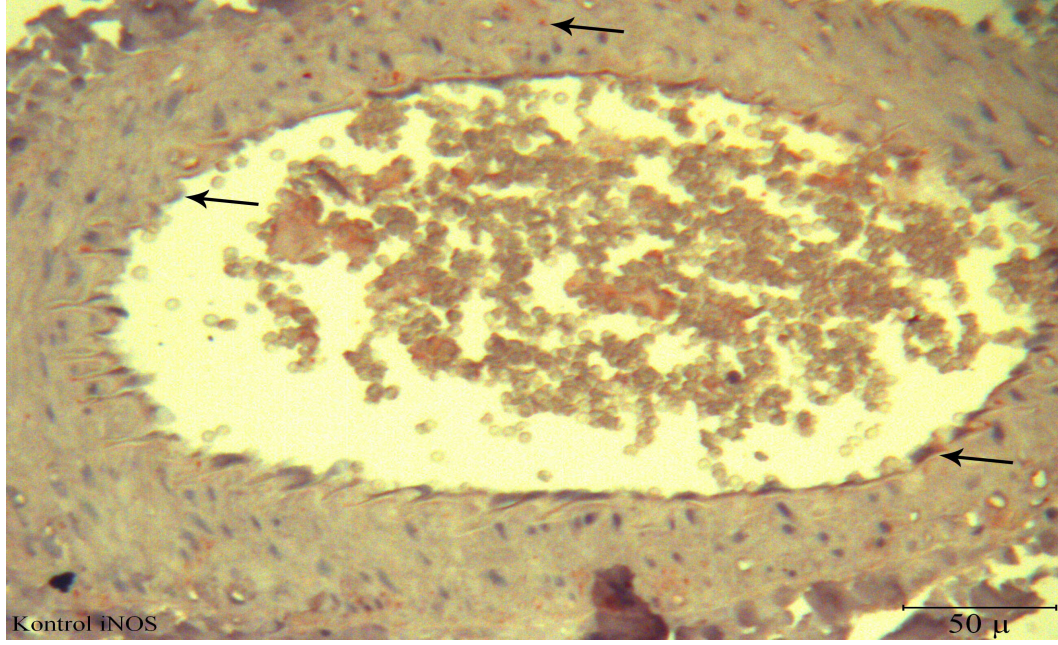
B. L-NAME+Barnidipin



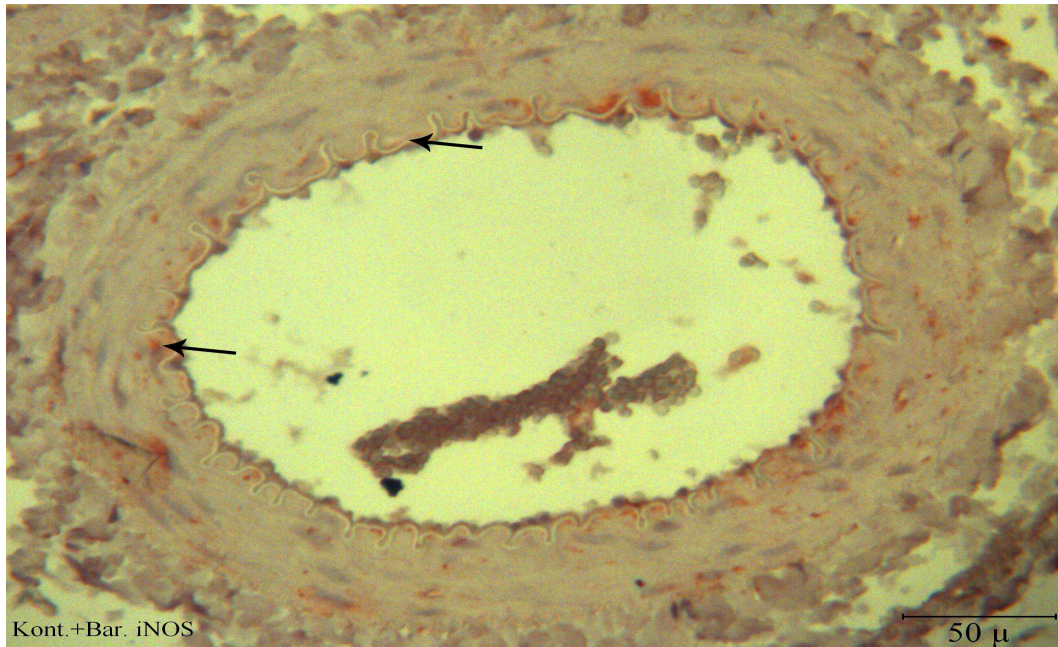
Şekil 4-31: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde eNOS dağılımı

→: eNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

A. Kontrol



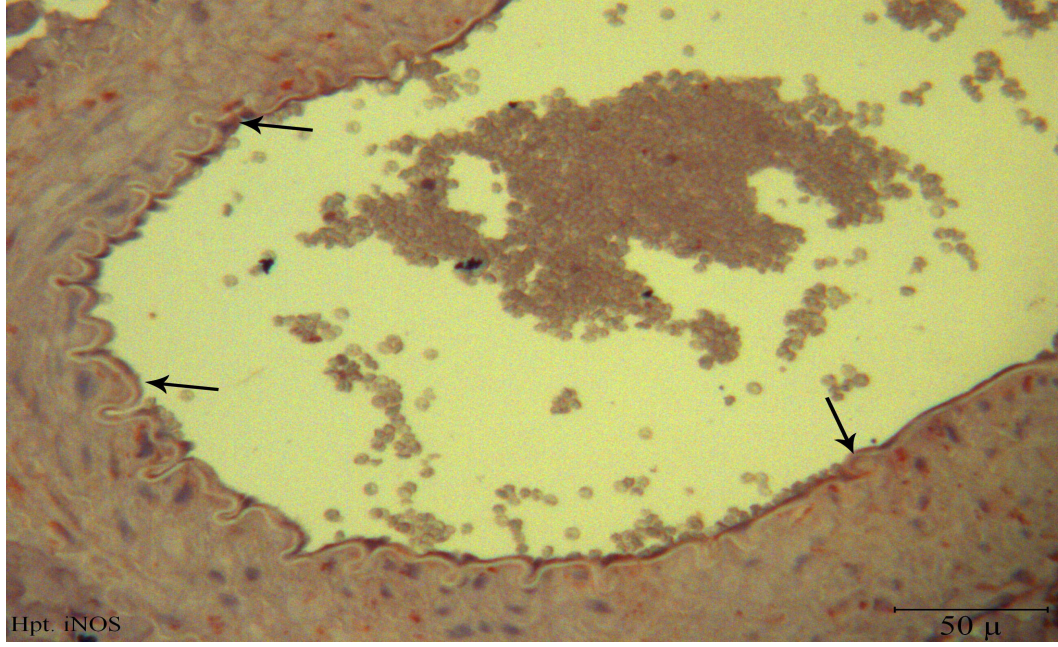
B. Kontrol+Barnidipin



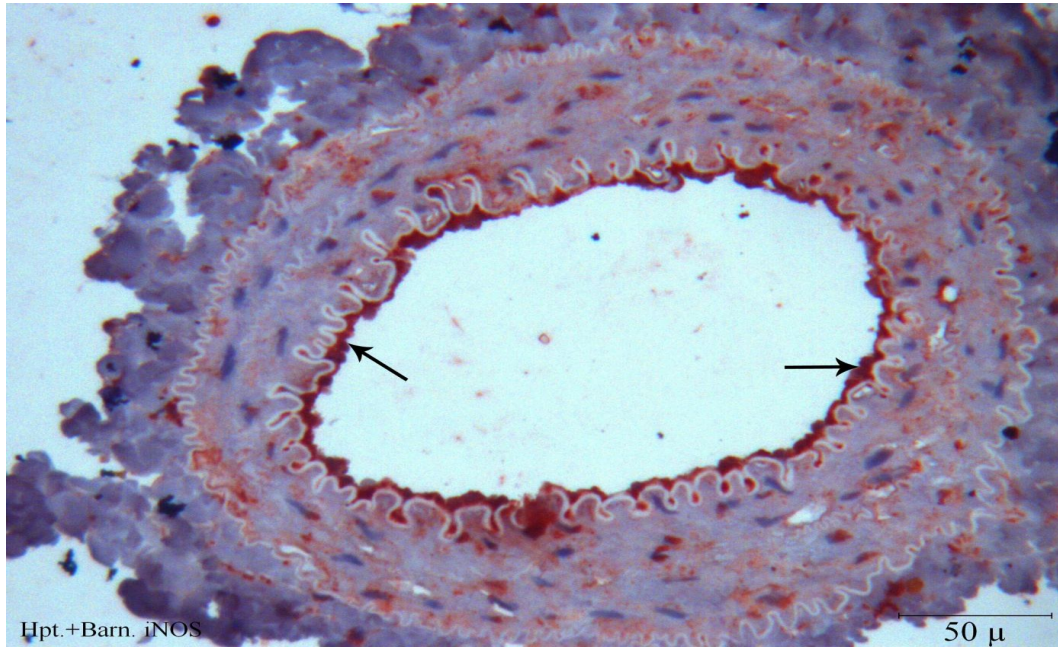
Şekil 4-32: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde iNOS dağılımı

→: iNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

A. L-NAME



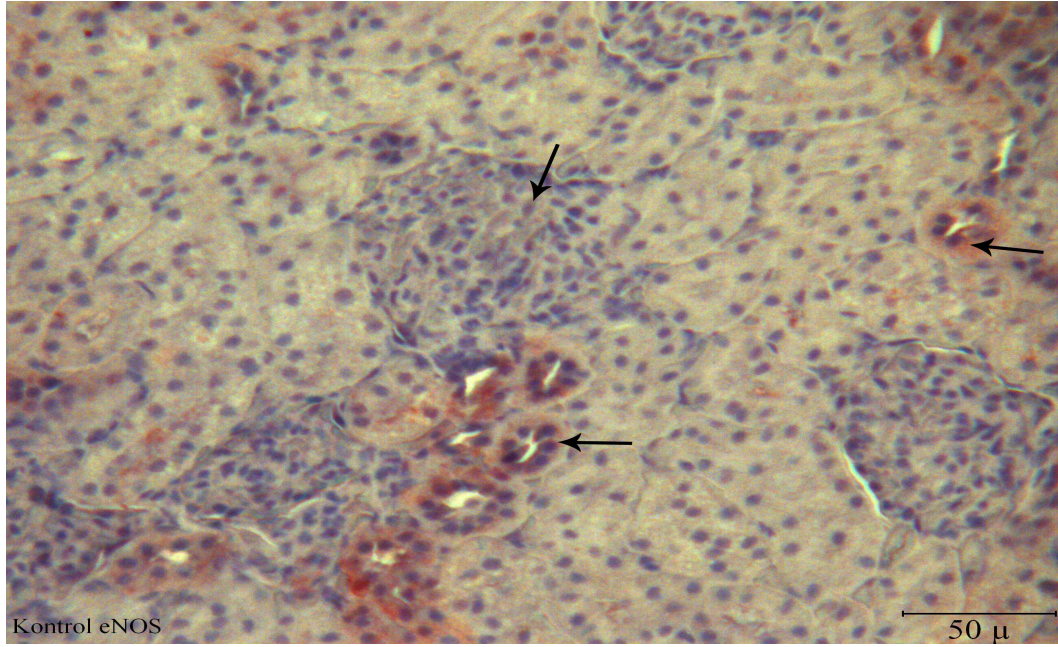
B. L-NAME+Barnidipin



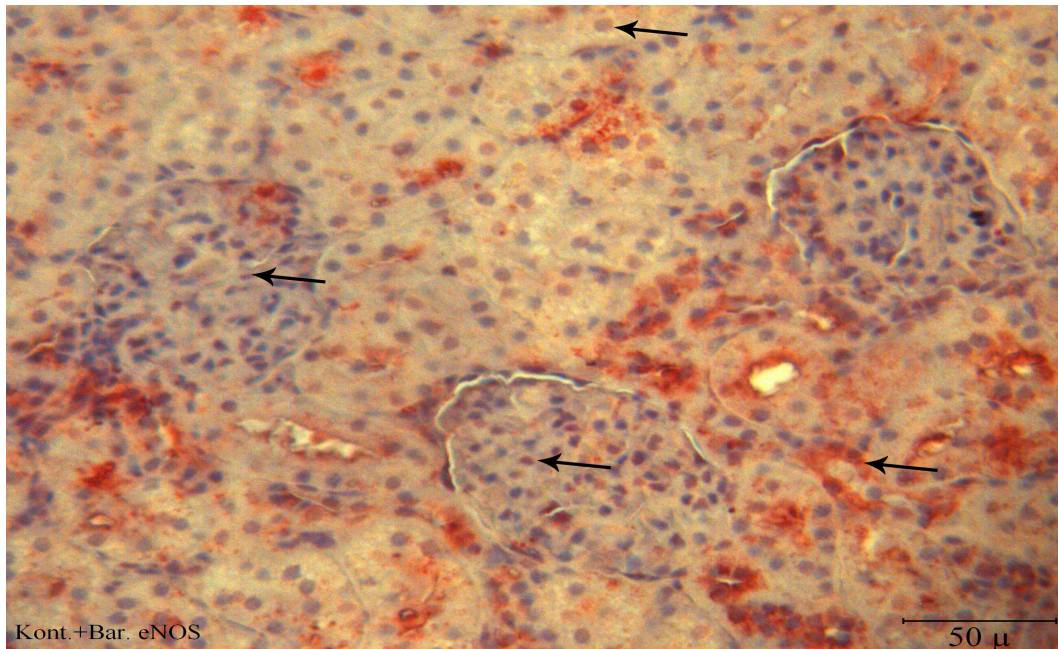
Şekil 4-33 : L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen renal arterlerde iNOS dağılımı

→: iNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

A. Kontrol



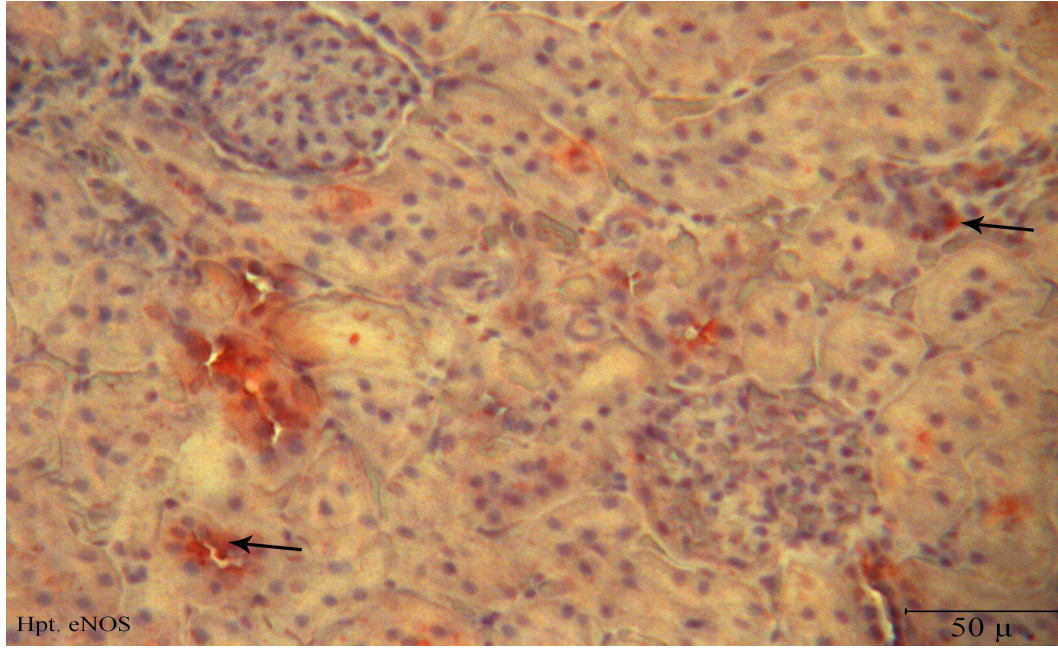
B. Kontrol+Barnidipin



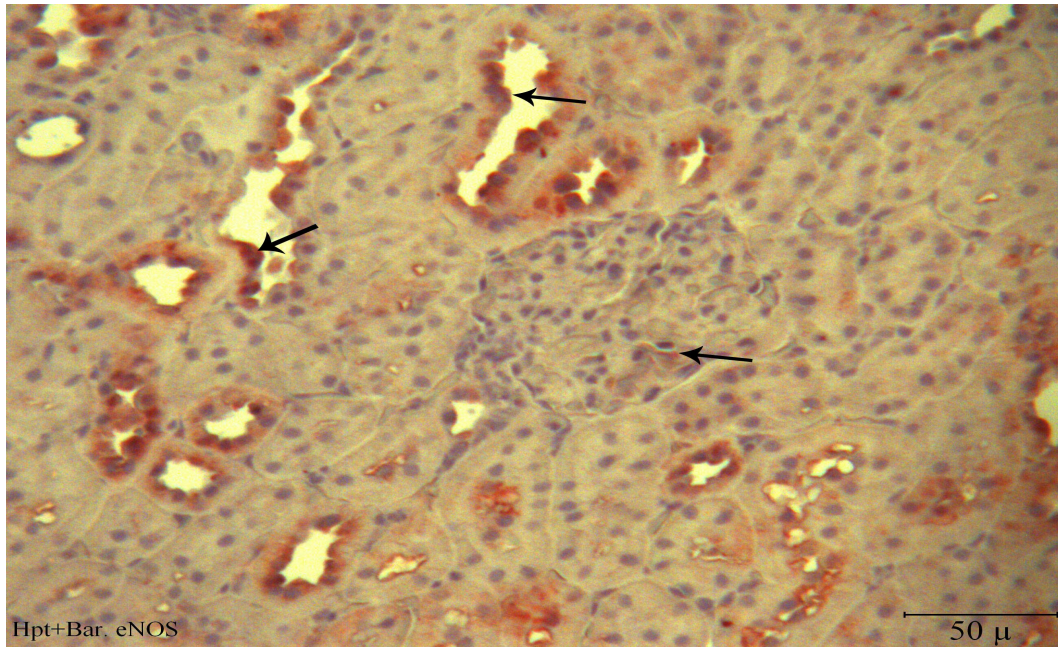
Şekil 4-34: Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda eNOS dağılımı

→: eNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50 μ m.

A. L-NAME



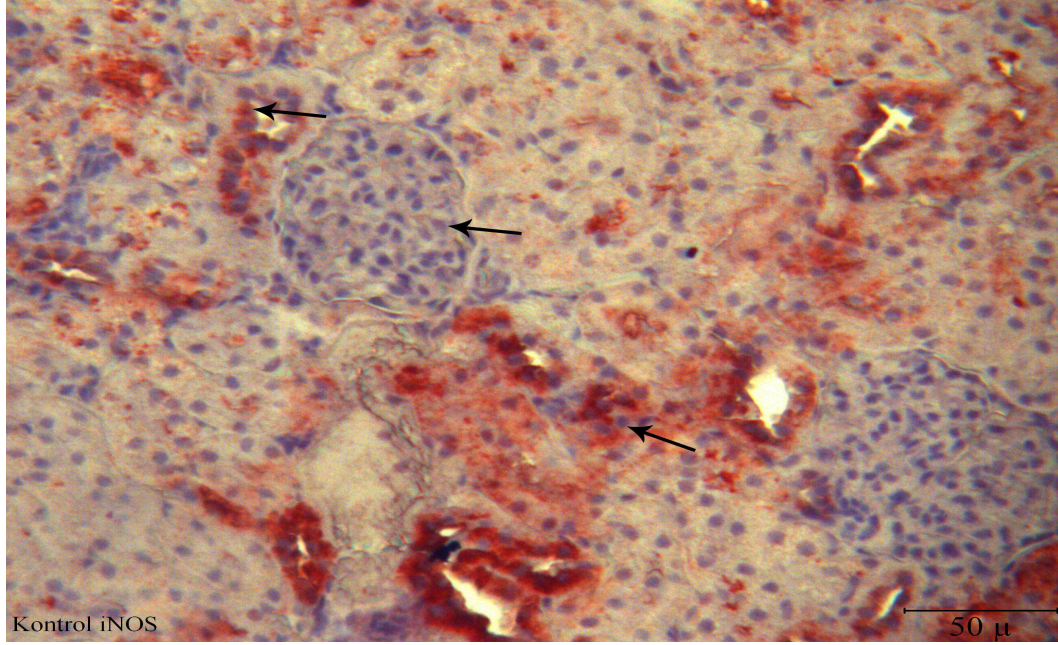
B. L-NAME+Barnidipin



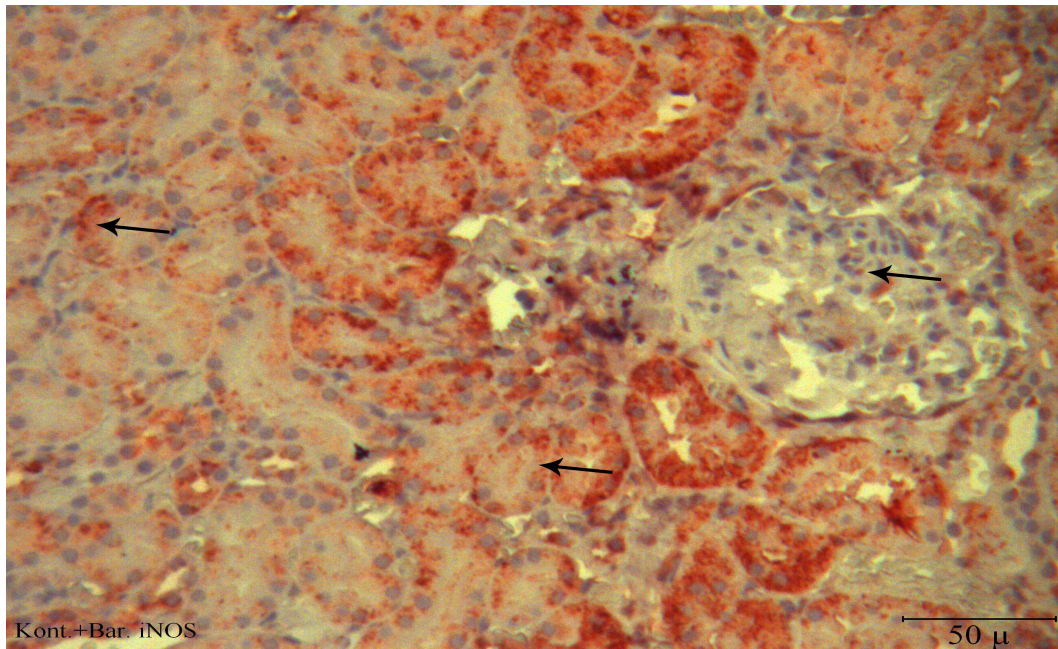
Şekil 4-35: L-NAME (A) ve L-NAME + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda eNOS dağılımı

→: eNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

A. Kontrol



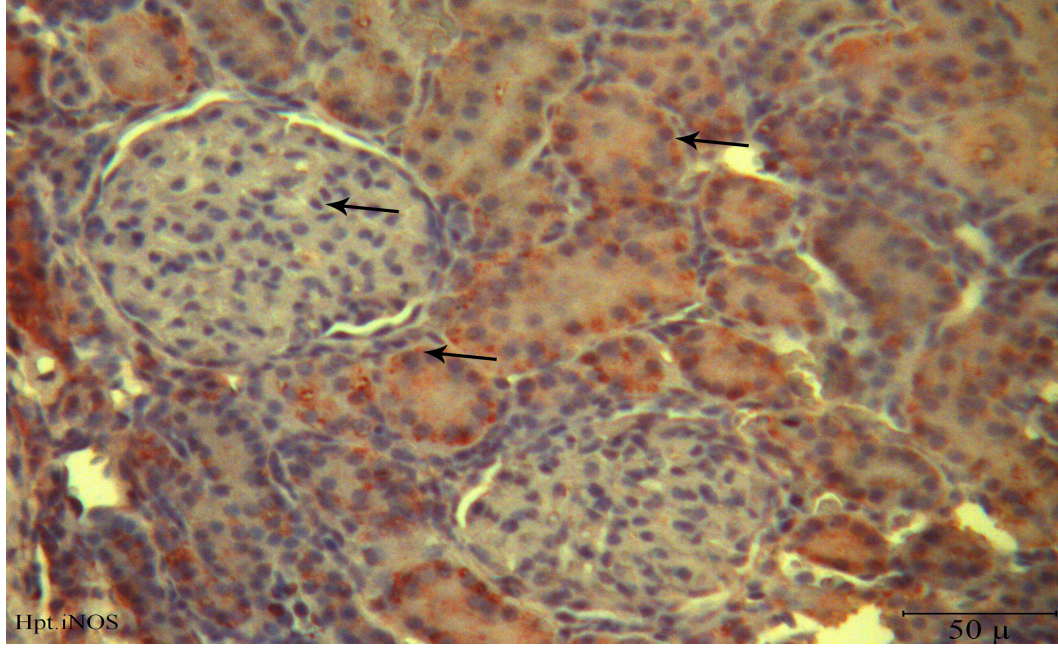
B. Kontrol+Barnidipin



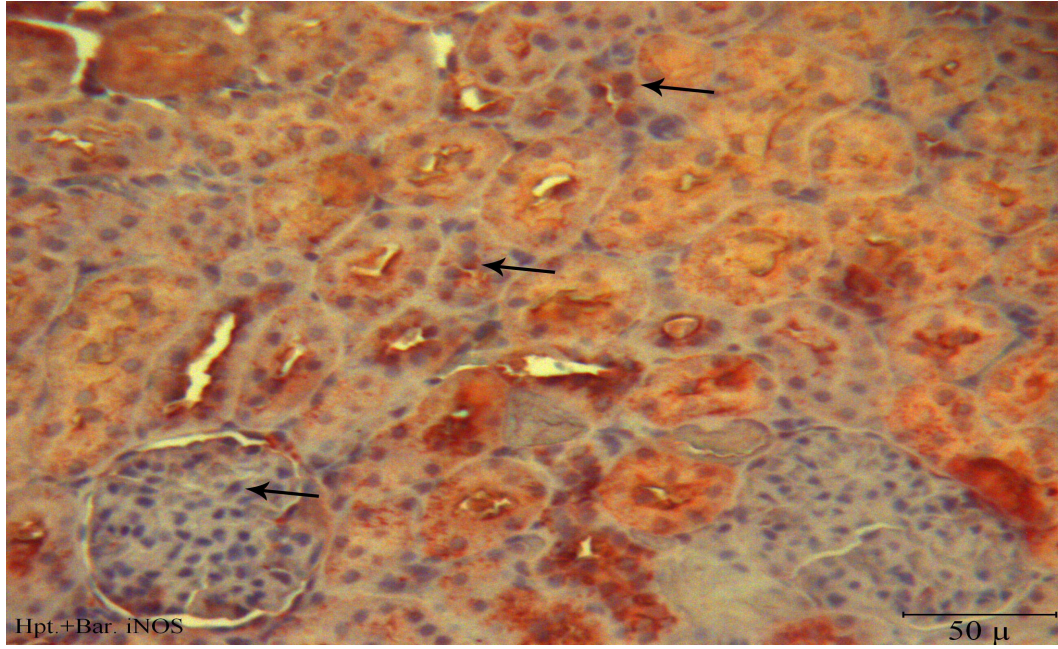
Şekil 4-36 : Kontrol (A) ve Kontrol + Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda iNOS dağılımı

→: iNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50 μ m.

A. L-NAME



B. L-NAME+Barnidipin



Şekil 4-37: L-NAME (A) ve L-NAME+Barnidipin (B) gruplarından izole edilen böbrek dokusunda iNOS dağılımı

→: iNOS reaksiyonu. n=4-6. Bar=50μm.

5. TARTIŞMA

Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının devamlı olarak yüksek olması ile kendini gösteren kronik nitelikte bir kalp-damar sistemi hastalığıdır. Özellikle kalp, damar, beyin ve böbrekleri olumsuz yönde etkileyen makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara yol açması ve toplumda en sık görülen hastalıkların başında gelmesi nedeniyle önemli bir klinik sorun teşkil etmektedir. Barnidipin lipofilik karakterde L-tipi kalsiyum kanallarına yüksek afinite gösteren uzun etki süreli dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokeri antihipertansif bir ilaçtır. Barnidipin'in deneysel hipertansif modellerde majör organlara kan akımını arttırdığı ve diüretik etki gösterdiği, renal hemodinamik parametreler üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ve izole damarlarda direkt gevşetici etkisinin olduğu belirlenmiştir (Nakayama ve ark. 1989, Van-der-Lee ve ark. 1998, Inagaki ve ark. 1999). Esansiyel hipertansiyonlu bireylerde yürütülen bir klinik çalışmada, Barnidipin'in sistolik ve diyastolik kan basıncını etkin bir şekilde kontrol altına aldığı, ayrıca oksidatif stresin önemli göstergelerinden olan isoprostan düzeylerini de düşürdüğü gözlenmiştir (Spirou ve ark. 2006). Diğer bir klinik çalışmanın sonuçları, Barnidipin'in esansiyel hipertansiyonlu hastalarda insüline olan duyarlılığı arttırdığını, bu nedenle diyabetik hipertansif hastalarda ilave olumlu etkiler sağlayabileceğini öne sürmektedir (Kosegawa ve ark. 1998). Her iki çalışmada da Barnidipin'in glukoz ve lipid metabolizmasına ait parametrelerin serum düzeylerinde değişiklik yapmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda, non selektif Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibitörü olan L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda hipertansiyonun erken döneminden başlanarak uzun süreli Barnidipin uygulanmasının periferik damarlar ve hipertansiyona bağlı olarak gelişen renal hasar üzerindeki etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla kontrol grubu, kontrol+Barnidipin, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanan sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerin endotel ve düz kas aracılı gevşeme kapasiteleri ve spazmojen ajanlar karşısındaki reaktiviteleri myograf sisteminde değerlendirilmiştir. Ayrıca hipertansiyon oluşumuna bağlı olarak mezenterik arter, renal arter ve böbrek dokusunda oluşan yapısal değişiklikler, uygun takip ve boyama

işlemlerinden sonra ışık ve elektron mikroskopunda yapılan histopatolojik incelemelerle değerlendirilmiş ve immünohistokimyasal yöntemler ile eNOS ve iNOS dağılımları belirlenmiştir.

Deneyssel hipertansiyon, Wistar albino sıçanlara 5 hafta süre ile NOS inhibitörü L-NAME (60 mg/kg/gün) uygulanması ile oluşturulmuştur. L-NAME uygulanarak hipertansif model oluşturulmaya başlanmış olan sıçanların sistolik kan basınçlarında anlamlı bir değişiklik izlenmeye başlandığı 2. haftadan itibaren gavaj ile oral olarak 3 mg/kg/gün dozunda Barnidipin uygulanmasına başlanmış ve bu uygulamaya 5. haftanın sonuna kadar devam edilmiştir. Kontrol, kontrol+Barnidipin, L-NAME ve L-NAME + Barnidipin uygulanan sıçanların 5 hafta boyunca vücut ağırlıkları ve sistolik kan basınçları takip edilmiştir.

L-NAME uygulanan sıçanların vücut ağırlıklarında 3. haftadan itibaren kontrol grubu sıçanlara kıyasla anlamlı bir azalma görülürken, sistolik kan basınçlarında ise 1. haftadan itibaren anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Ayrıca, bazı hipertansif sıçanlarda artan kan basıncına paralel olarak ekstremitelerde zayıflık, göz, burun ve kulakta kanama, solunum zorluğu, halsizlik gibi semptomlar ve ölüm gözlenmiştir. Hipertansif sıçanlarda ölçülen kan basıncı düzeyi ve gözlenen diğer semptomlar deneyssel hipertansiyon oluşturmak için L-NAME'in kullanıldığı diğer çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir (Ribeiro ve ark. 1992, Zhao ve ark. 1999, Tucker ve ark. 2000, Priviero ve ark. 2007). Öte yandan 2. haftadan itibaren L-NAME ile birlikte Barnidipin uygulanan sıçanlarda L-NAME grubundan farklı olarak sıçanların vücut ağırlığında bir azalma meydana gelmediği, vücut ağırlığındaki değişimlerin kontrol grubu ile benzer olduğu gözlenmiştir. L-NAME+Barnidipin grubunda Barnidipin uygulamasını takip eden 1. haftadan itibaren sistolik kan basıncı düzeylerinin L-NAME grubuna göre kademeli olarak anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür.

5. haftanın sonunda L-NAME uygulanan sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde asetilkolin ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtlarının, kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı, renal arterlerde ise endotel aracılı gevşeme yanıtının değişmediği gözlenmiştir. L-NAME uygulanan sıçanlardan izole edilen mezenterik ve

renal arterlerde sodyum nitroprussiyat ile elde edilen düz kas aracılı gevşeme yanıtları ise gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Elde edilen bu veriler, sıçanlarda L-NAME ile 5 hafta süreyle oluşturulan deneysel hipertansiyon modelinde mezenterik arterlerde endotel disfonksiyonun geliştiği, buna karşılık gerek mezenter gerekse de renal arterlerde endotelden bağımsız düz kas gevşeme yanıtlarının değişmediğini ortaya koymaktadır. Mezenterik arter ile elde edilen sonuçlar, benzer bulguları içeren deneysel çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Kimura ve ark. 1999, Zhao ve ark. 1999, Sekiguchi ve ark. 2001, Liu ve ark. 2002). L-NAME+Barnidipin uygulanan sıçanlardan izole edilen mezenterik arterlerde asetilkolin ile elde edilen maksimum gevşeme yanıtlarının ise L-NAME grubuna kıyasla anlamlı düzeyde geriye döndüğü gözlenmiştir. Endotel tabakasında asetilkolin aracılı gevşeme yanıtlarında NO'nun yanı sıra EDHF ve prostasiklin gibi diğer endotel aracılı faktörlerin de katkısı olduğu bildirilmiştir (Meng ve ark. 1996, Gödecke ve ark. 1998, Brandes ve ark. 2000, Lamping ve ark. 2000). EDHF etkisini kalsiyum ile aktive olan potasyum kanallarıyla (K_{Ca}) göstermektedir (Busse ve ark. 2002). eNOS knock-out farelerden (Sun ve ark. 1999, Brandes ve ark. 2000, Iwakiri ve ark. 2002) ve yüksek tuz ile beslenen sıçanlardan (Katusic 2002, Sofola ve ark. 2002) izole edilen damarlarda asetilkolin aracılı EDHF yanıtının kompenzatuvar bir faktör olarak arttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde hipertansif bireylerde de bozulmuş olan NO salınımını kompanse etmek amacıyla EDHF salınımının arttığı tespit edilmiştir (Taddei ve ark. 1999). Çalışmamızda renal arterlerde endotel aracılı gevşeme yanıtının L-NAME hipertansif grupta kronik NOS inhibisyonuna rağmen kontrol grubundan farklı gözlenmemesi benzer şekilde EDHF aracılı yanıtların kompenzatuvar bir mekanizma olarak artmış olabileceğini düşündürmektedir.

Hipertansiyona bağlı olarak vasküler reaktivitedeki değişimin ve bu hususta Barnidipin uygulamasının etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla kontrol, kontrol+Barnidipin, L-NAME ve L-NAME+Barnidipin uygulanan sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde α_1 - reseptör aracılı kasılma sağlayan noradrenalinin konsantrasyon bağımlı etkileri çalışılmıştır. 5 hafta süreyle L-NAME uygulanan sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde, renal arterlerde daha belirgin olmak üzere, noradrenalinin konsantrasyon bağımlı kastırıcı etkilerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalma olduğu gözlenmiştir. L-NAME uygulamasını

takip eden 2. haftadan itibaren Barnidipin uygulanan sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde, L-NAME grubundan izole edilen arterlerde noradrenaline karşı gözlenen hiporeaktivitenin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde geriye döndüğü gözlenmiştir. Ayrıca mezenterik arterlerde NAK kombinasyonu ile elde edilen kasılma yanıtlarında gruplar arasında farklılık gözlenmezken, renal arterlerde NAK kombinasyonu ile elde edilen kasılma yanıtlarının L-NAME uygulanan hipertansif grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı, Barnidipin uygulaması ile bu azalmanın geriye döndüğü gözlenmiştir.

NOS inhibitörlerinin içme suyuna katılarak 2-8 hafta süresince sıçanlara uygulanması sonucunda NO sentezinin kronik olarak inhibe edildiği çalışmalarda, arteriyel kan basıncında belirgin bir yükselmenin yanı sıra, vasküler sistemde fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin olduğu kaydedilmiştir (Ribeiro ve ark. 1992, Bernatova ve ark. 1999, Zhao ve ark. 1999, Pechanova ve ark. 2004, Thakali ve ark. 2006, Priviero ve ark. 2007, Simko ve ark. 2007). Spontan hipertansif, renal hipertansif, DOCA hipertansif (Marin 1993) ve L-NAME hipertansif (Lopez ve ark. 2004, Thakali ve ark. 2006) hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda, artan sempatik stimülasyona bağlı olarak vasküler düz kas kasılma yanıtlarında artış olduğunu gösteren çalışmaların yanı sıra, spontan hipertansif (Arribas ve ark. 1996, Briones ve ark. 2002) ve L-NAME hipertansif (Lopez ve ark. 2004, Thakali ve ark. 2006) modellerde vasküler düz kas kasılma yanıtlarında azalma olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Tavşan aortik düz kas hücreleri ile yürütülen bir çalışmada, α_1 reseptör agonisti noradrenalin uyarısı ile sağlanan aşırı sempatik stimülasyona karşı vasküler düz kas α_1 adrenerjik reseptörlerin mRNA düzeylerindeki, dolayısıyla reseptör dansitesindeki azalmaya bağlı olarak α_1 reseptör cevaplılığında azalma meydana geldiği gözlenmiştir (Izzo ve ark. 1990). α_1 reseptör cevaplılığındaki azalmanın reseptör dansitesindeki azalmanın yanı sıra, reseptör sentez ve degradasyonu arasındaki dengenin değişmesinden veya reseptörlerin hücre yüzeyi ve yüzey dışındaki alanlar arasındaki döngünün bozulmasından dolayı agonistin reseptörle etkileşememesi sonucunda meydana gelebileceği öne sürülmüştür. Benzer şekilde, L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlardan izole edilen aorta halkalarında uzun süreli NOS inhibisyonuna bağlı olarak fenilefrin kasılma yanıtlarında azalma olduğu gözlenmiştir. α -vazokonstriktör mekanizmalar aracılı yanıtlardaki azalmanın, endotelial nitrovazodilatör olan NO'nun

uzun süreli inhibisyonuna bağı olarak vasküler düz kas tonüsünde oluşan modifikasyonlarına karşı geliştirilmiş bir kompenzatuvar mekanizma olabileceği bildirilmiştir (Aleixandre ve ark. 2001). Söz konusu çalışmada ayrıca, L-NAME uygulaması ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlardan izole edilen aortik halkalarda KCl bağımlı kasılma yanıtlarının da kontrol grubuna göre azaldığı ve NO sentezi inhibisyonunun depolarizasyon aracılı vasküler düz kas yanıtlarını da değiştirebileceği belirtilmiştir. Çalışmamızda L-NAME hipertansif sıçanlardan izole edilen mezenterik ve renal arterlerde α_1 agonist noradrenaline karşı reaktivitede gözlenen azalmanın α_1 reseptör dansitesindeki / duyarlılığındaki azalma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Barnidipin'in direkt bir etkisinin olup olmadığının araştırılması amacıyla yürütülen çalışmalarda, 3 hafta süre ile Barnidipin uygulanan sıçanlarda vücut ağırlıklarının, sistolik kan basınçlarının, izole mezenterik ve renal arterlerinin vasküler düz kas ve endotel aracılı yanıtlarının kontrol grubundan farklı olmadığı gözlenmiştir.

Işık mikroskobu ile kontrol grubu hayvanların mezenterik ve renal arterlerinde yapılan histolojik incelemelerde endotel hücrelerinin bulunduğu tunika intima, düz kas hücrelerinin bulunduğu tunika media ve bağ dokusu elemanlarından oluşan tunika adventisya tabakalarının normal yapı ve morfolojide oldukları belirlenmiştir. Ancak hipertansif grupta tunika media tabakasının oldukça kalınlaştığı, damar lümen çapının azaldığı ve düz kas hücrelerinin nukleuslarının normal yassı şeklini yitirerek oval şekil aldığı görülmüştür. Barnidipin uygulanan hipertansif hayvanların mezenterik ve renal arterlerinde ise damar duvar kalınlığının hipertansif gruba kıyasla azaldığı, düz kas hücrelerinin normal görünümde olduğu ve damar lümeninin genişleyerek normale döndüğü belirlenmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif sıçanlarda (Kontrol+Barnidipin) tunika media tabakasının kalınlığının nispeten kontrole göre azaldığı ve düz kas hücrelerinin nukleus şekillerinin normal olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda elektron mikroskobu ile elde edilen bulgular ışık mikroskobu ile elde edilen verileri desteklemekte ve daha detaylı bir değerlendirmeye olanak sunmaktadır. Kontrol grubu sıçanların mezenterik ve renal arterleri elektron mikroskobu ile incelendiğinde, damar tunika intima ve tunika media tabakalarının normal yapı ve

görünümde olduğu, endotel hücrelerin şeklinin ve bazal membran ile adezyonunun normal olduğu ve düz kas hücrelerinin birbirleri ile olan bağlantısının ve yapılarının normal olduğu görülmüştür. Hipertansif grupların mezenterik ve renal arterleri incelendiğinde özellikle tunika intima tabakasında yer alan endotel hücrelerin yapılarının bozulduğu, bazal membran ile olan adezyonlarının azalarak bağlantıların gevşediği ve özellikle subendoteliyal alanda iç elastik membran kalınlığının oldukça arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca tunika media tabakasında düz kas hücrelerinin oldukça sıkı şekilde paketlenildiği ve hücre içeriğinin yoğunlaştığı görülmüştür. Hipertansif hayvanlara Barnidipin uygulamasının ise mezenterik ve renal arterlerde hipertansiyonun yol açtığı hasarları normale döndürdüğü gözlenmiştir.

Işık mikroskobu incelemeleri, kontrol grubu hayvanların böbrek dokusunda glomerulus, bowman kapsülü ve tübüllerin normal yapı ve morfolojide olduğunu göstermektedir. Buna karşın hipertansif grupta, glomerüler yumağın normal şeklini yitirerek dağınık ve atrofik bir görünümde olduğu, visseral ve pariyetal yaprakların arasındaki alanın genişlediği, ayrıca glomerulusun kan damarları arasında yer yer kanama odaklarının olduğu görülmüştür. Barnidipin uygulanan hipertansif grupta, hipertansiyon sonucu oluşan renal hasarın kısmen geriye döndüğü, böbrek yapı ve morfolojisinin kontrol grubuna benzer şekilde olduğu tespit edilmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif grupta ise renal korpüskül'ün ve çevresindeki yapıların kontrole benzer olduğu görülmüştür. Bu gözlemleri detaylandırmak amacıyla sıçanların böbrek dokularında yapılan elektron mikroskobu incelemeleri sonucunda, kontrol grubunda kapsüller ve glomerüler alan yapısının ve burada yer alan podositlerin, mezengiyal hücrelerin, kan damarlarının ve endotel hücrelerinin yapısının normal olduğu, aynı zamanda endotel hücrelerinin bazal membran ile adezyonunun ve bu membranın kalınlığının normal sınırlarda olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca visseral ve pariyetal yapraklar arasındaki mesafenin normal olduğu görülmüştür. Barnidipin uygulanan kontrol grubunda glomerulus ve çevresindeki yapıların normal olduğu, ancak kapsüller alanın biraz azaldığı gözlenmiştir. Hipertansif grupta ise özellikle glomerulus yapısının bozulduğu mezengiyal hücre, endotel hücresi ve podositlerin şekillerinin bozulduğu ve adezyonlarını kaybettiği, kapsüller alanın kontrol grubuna kıyasla genişlediği tespit edilmiştir. Hipertansif grupta yer alan sıçanlara Barnidipin uygulamasının ise belirtilen hasarları büyük ölçüde geriye döndürdüğü ve normale yaklaştırdığı belirlenmiştir.

Normotansif sıçanlara Barnidipin uygulaması ile gözlenen kısmi değişikliklerin de uzun süreli kalsiyum kanal blokajına bağlı olarak ortaya çıkması muhtemeldir.

Böbrek, renal perfüzyon basıncı ve üriner sodyum atılımı ile ekstraselüler sıvı hacmini regüle ederek kan basıncının dengelenmesine yardımcı olmaktadır. Basınç ve natriürez döngüsünden dolayı, böbrekte artan renal perfüzyon basıncına karşılık üriner sodyum atılımı artmakta ve vasküler hacim azalmakta, arteriyel basınç normal değerlerine dönmektedir. Hipertansiyon, renal sodyum atılım fonksiyonunun azalması ya da basınç-natriürez ilişkisinin bozulması sonucunda gelişebilmektedir. (Guyton 1987, Granger ve Alexander 2000). NO sentezindeki azalma direkt olarak bazal renal vasküler rezistansta ya da tübüler reabsorpsiyonda artışa, dolayısıyla renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu ve vazokonstriktör faktörlere karşı renal vasküler yanıtın artışı ile renal sodyum atılım fonksiyonlarında azalmaya yol açabilmektedir (Granger ve Alexander 2000). Sıçanlar ve köpekler üzerinde yapılmış deneysel çalışmaların sonuçları, uzun süreli NOS inhibisyonu ile renal medüller kan akımında azalma, sodyum ve su tutulumu gibi renal hemodinamik fonksiyonlarda görülen kayıplarla birlikte hipertansiyonun geliştiğini göstermektedir (Baylis ve ark. 1990, Manning ve Hu 1994, Granger ve ark. 1996, Wu ve Mattson 2000). Stroke-prone spontan hipertansif sıçanlar ile yapılmış olan bir çalışmada Barnidipin'in (3mg/kg)'in doz bağımlı olarak diüzeze ve idrardaki Na^+ , K^+ ve Cl^- iyonlarının seviyesinde artışa neden olduğu; renal arter içine yapılan infüzyonu sonrasında ise doz bağımlı olarak idrar akış oranı ve üriner Na^+ miktarında artışa neden olurken, glomerüler filtrasyon oranı ve ortalama renal kan basıncında bir değişiklik meydana getirmediği bildirilmiştir (Kawashima ve ark. 1991). Ayrıca Barnidipin'in hipertansif sıçanlarda afferent ve efferent arteriollerde önemli ölçüde gevşeme yanıtı meydana getirdiği ve glomerüler kan akımını artırdığı (Kimura ve ark. 1998), hipertansif böbrek hasarı oluşumunda etkili bir faktör olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü B-zincirinin mRNA ekspresyonunda ve proteinüri düzeyinde azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (Hashimoto ve ark. 1998). Benzer şekilde, stroke-prone spontan hipertansif sıçanlar ile yapılmış olan bir çalışmada Barnidipin'in, hipertansiyona bağlı gelişen renal hasarı önlediği, renal perfüzyonu artırıcı etkisi ve natriüretik etkisi ile böbrek üzerinde koruyucu bir etki sağladığı bildirilmiştir (Korstanje 2000). Renal parenkimal hipertansiyon hastalarında yürütülen

linik çalışmaların sonuçları da, Barnidipin'in idrar ve sodyum atılım miktarında artış meydana getirdiğini göstermektedir (Park ve ark. 2000, Liau 2005).

NO'nun L-tipi kalsiyum kanallarının aktivitesini modüle ettiği ve bu sayede hücre metabolizması ve özellikle de eksitabl dokular üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla uzun süreli L-NAME uygulaması gibi kronik NOS inhibisyonu hücre içi kalsiyum metabolizması üzerinde bir takım aksaklıklara neden olabilmektedir (Török 2008). Bunu destekliyi olarak, L-NAME hipertansiyon modelinde verapamil ve nifedipin gibi kalsiyum kanal blokerlerinin kronik olarak uygulanması sonucunda hipertansiyonun kontrol altına alındığı ve renal hasarın önlendiği bildirilmiştir (Riberio ve ark. 1995, Takase ve ark. 1996). Bu bulgular çalışmamızda L-NAME hipertansif sıçanlarda gözlenen renal hasarın kalsiyum kanal blokeri Barnidipin uygulaması ile geriye dönmesini destekler nitelikte bulgulardır.

Işık ve elektron mikroskobu ile elde ettiğimiz histopatolojik veriler, hipertansiyona bağlı olarak mezenterik ve renal arterlerde endotel ve düz kas yapısında değişikliklerin oluştuğunu ortaya koymakta ve endotel aracılı gevşeme yanıtları ile kastırıcı ajanlara karşı reaktivitenin değiştiğini gösteren fonksiyonel bulgularımızı desteklemektedir. Bulgularımız, L-NAME ile oluşturulan hipertansiyonda endotel tabakasının normal yapısının bozulduğunu, lökosit infiltrasyonunun geliştiğini ve düz kas yapısının değiştiğini gösteren diğer çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Kubes ve ark. 1993, Rossi ve Colombini-Netto 2001, Kristek ve Gerova 2004).

Çalışmamızda kontrol, kontrol+Barnidipin, L-NAME, L-NAME+Barnidipin gruplarından izole edilen mezenterik arterler, renal arterler ve böbrek dokusu immünohistokimyasal yöntemler ile eNOS ve iNOS dağılımları açısından değerlendirilmiştir. Kontrol grubu hayvanların renal ve mezenterik arterlerinde özellikle tunika intima tabakasının endotel hücrelerinde belirgin eNOS reaksiyonu ve zayıf iNOS reaksiyonu görülmüştür. Hipertansif grupta ise gerek eNOS gerekse de iNOS immünreaktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir. L-NAME uygulaması

ile deneysel hipertansiyonun oluşturulduğu diğer çalışmalarda da eNOS dağılımı ve ekspresyonunun hipertansif arterlerde azaldığı bildirilmektedir (Zhao ve ark. 1999, Husain 2002, De Gennaro Colonna 2005, Hsu ve ark. 2007). Buna göre, çalışmamızda hipertansif sıçanların mezenterik ve renal arterlerinde eNOS dağılımında görülen azalmanın NOS inhibitörü L-NAME etkisine bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Ayrıca L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan diğer çalışmalarda da vasküler iNOS ekspresyonunun L-NAME'in non-selektif etkisine bağlı olarak azaldığı bildirilmektedir (Hussain 2002, Hsu ve ark. 2007). Buna karşın, L-NAME uygulamasının damar duvarında proenflamatuvar mekanizmaları indüklediği ve iNOS ekspresyonunda artışa neden olduğu (Luvara ve ark. 1998) ve spontan hipertansif sıçanlarda iNOS ekspresyonunun artan enflamatuvar yanıtı bağlı olarak kontrole göre arttığı bildirilmektedir (Chou ve ark. 1998, Briones ve ark. 2000, Briones ve ark. 2002). Çalışmamızda, Barnidipin uygulanan hipertansif sıçanlarda ise özellikle eNOS aktivitesinin hipertansif gruba kıyasla arttığı ve bu reaksiyonun kontrol grubu ile benzer olduğu belirlenmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif grupta kontrol grubuna kıyasla eNOS ve iNOS immünreaktivitesinin tunika intima ve tunika media tabakasında arttığı gözlenmiştir. Dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri antihipertansif etkilerini, düz kas L-tipi kalsiyum kanallarından Ca^{+2} iyonlarının girişinin inhibisyonuna bağlı direkt gevşetici etkileri ve vasküler endotel tabakasından NO salınımı aracılığı ile sağladığı indirekt gevşetici etkileri ile göstermektedirler (Dhein ve ark. 1999). Kalsiyum kanal blokerlerinin hipertansiyon, ateroskleroz ve hiperkolesterolemi gibi durumlarda gelişen anormal koroner vazomotor yanıtlar üzerinde olumlu etkileri olduğu, in vitro koşullarda eNOS aktivitesini up-regüle ettikleri ve NO üretimini artırdıkları bildirilmiştir (Zhang ve Hintze 1998, Ding ve Vaziri 2000, Kitakaze ve ark. 2000). Özellikle dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerlerinin sübkütan, epikardiyal, periferik arterler ve önkol gibi çeşitli vasküler yataklarda oluşan endotel disfonksiyonunu geriye döndürdüğü; nitrendipin, nifedipin, nisoldipin ve nimodipinin eNOS'u aktive ettiği dolayısıyla NO salınımını arttırdığı bildirilmiştir (Motro ve ark. 2001, Grossman ve Messerli 2004). Çalışmamızda L-NAME hipertansif sıçanların arterlerinde eNOS düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla gözlenen azalmanın Barnidipin uygulaması ile geriye dönmesi, kalsiyum kanal blokeri ilaçların eNOS ekspresyonu / aktivasyonu üzerindeki olumlu etkileri ile ilişkili görünmektedir.

İmmünohistokimyasal çalışmalar için kontrol grubundan izole edilen böbrek dokusunda eNOS ve iNOS reaksiyonlarının özellikle tübüllerde yoğunlaştığı, glomeruluslarda reaksiyonun yok denecek kadar az olduğu belirlenmiştir. İzole mezenterik ve renal arterlere benzer şekilde hipertansif sıçanlardan izole edilen böbrek dokusunda gerek eNOS gerekse de iNOS reaksiyonunun kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Barnidipin uygulanan hipertansif sıçanlarda ise Barnidipin uygulamasının hem eNOS reaksiyonunu hem de iNOS reaksiyonunu arttırarak kontrol grubu düzeylerine getirdiği tespit edilmiştir. Barnidipin uygulanan normotansif sıçanlarda ise, her iki reaksiyonun hem tübüllerde hem de glomeruluslarda arttığı görülmüştür. Çalışmamızda, L-NAME hipertansif sıçanlarda gözlenen renal hasarın Barnidipin uygulaması ile geriye dönmesi, hipertansif renal hasara karşı koruyucu etkisi olan NO düzeylerinin kalsiyum kanal blokleri ilaçların eNOS ekspresyonunu / aktivasyonunu artırıcı etkilerine paralel olarak yükselmesi ile ilişki olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, non selektif Nitrik Oksit Sentaz inhibitörü L-NAME ile 5 hafta süre ile deneysel hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda hipertansiyonun erken döneminden başlanarak uzun süreli Barnidipin uygulanmasının, hipertansiyona bağlı olarak mezenterik ve renal arterlerin düz kas ve endotel tabakalarında ve böbrek dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri engellediği gözlenmiştir. Ayrıca söz konusu arterlerde hipertansiyona bağlı olarak azalan düz kas α -reseptör cevaplılığının ve endotel aracılı gevşeme yanıtlarının da Barnidipin uygulaması ile geriye döndüğü tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal incelemelerin sonuçları, Barnidipin uygulamasının L-NAME grubunda azalmış olan eNOS dağılımını arttırdığı ve Barnidipin'in renal hasar üzerindeki koruyucu etkisinin özellikle NO düzeylerini arttırıcı etkisi ile ilişkili olabileceğine işaret etmektedir. Günümüzde hipertansiyon epidemi boyutlarında yaygın bir sorun haline gelmiş olup, hipertansiyonun erken tanı ve tedavisinin etkin bir şekilde sağlanması ile hipertansiyonla ilişkili böbrek hasarı ve diğer kardiyovasküler risklerin azaltılması hipertansiyonun topluma getireceği yük açısından üzerinde önemle durulması gereken bir husustur. Barnidipin uzun etki süresi ile sistolik kan basıncını etkin bir şekilde düşürmenin yanı sıra, hipertansiyona bağlı olarak periferik arterler ve özellikle böbrek

dokusu üzerinde gelişen hasarı engellemesi açısından önemli bir antihipertansif ajan olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aleixandre, A., Lopez-Miranda, V., Ortega, A. (2001). Alpha-vascular responses after short-term and long-term inhibition of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol.* **37**(2):133-42.
- Altun, B., Arıcı, M., Nergizoğlu, G., Derici, U., Karatan, O., Turgan, C., Sindel, S., Erbay, B., Hasanoğlu, E., Çağlar, S. (2005). Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Turkey (the Patent study) in 2003. *J Hypertens*, **23** (10): 1817-23.
- Argenziano, L., Izzo, R., Iovino, G., De Luca, N., Parrella, L., Morisco, C., Trimarco, B. (1998). Distinct vasodilation, without reflex neurohormonal activation, induced by barnidipine in hypertensive patients. *Blood Press Suppl.* **1**:9-14.
- Arribas, S.M., Gordon, J.F., Daly, C.J., Dominiczak, A.F., McGrath, J.C. (1996). Confocal microscopic characterization of a lesion in a cerebral vessel of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Stroke.* **27**(6):1118-22; discussion 1122-3.
- Barba, G., Cappuccio, F.P., Russo, L., Stinga, F., Iacone, R., Strazzullo, P. (1996). Renal function and blood pressure response to dietary salt restriction in normotensive men. *Hypertension.* **27**(5):1160-4.
- Baron, A.D., Brechtel-Hook, G., Johnson, A., Hardin, D. (1993). Skeletal muscle blood flow. A possible link between insulin resistance and blood pressure. *Hypertension.* **21**(2):129-35.
- Baylis, C., Harton, P., Engels, K. (1990). Endothelial derived relaxing factor controls renal hemodynamics in the normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol.* **1**:875-881.
- Berkels, R., Egink, G., Marsen, T.A., Bartels, H., Roesen, R., Klaus, W. (2001). Nifedipine increases endothelial nitric oxide bioavailability by antioxidative mechanisms. *Hypertension.* **37**:240-245.

- Bernatova, I., Pechanova, O., Kristek, F. (1999). Mechanism of structural remodelling of the rat aorta during long-term NG-nitro-L-arginine methyl ester treatment. *Jpn J Pharmacol.* **81**(1): 99-106.
- Beudeker, H.J., van der Velden, J.W., van der Aar, E.M. (2000). Interaction profile and tolerability of barnidipine. *Int J Clin Pract*, **Nov**;(114):36-40.
- Bidani, A.K., Griffin, K.A. (2004). Pathophysiology of hypertension renal damage: implications for therapy. *Hypertens.* **44**:595-601.
- Brandes, R.P., Schmitz-Winnenthal, F.H., Félétou, M., Gödecke, A., Huang, P.L., Vanhoutte, P.M., Fleming, I., Busse, R. (2000). An endothelium-derived hyperpolarizing factor distinct from NO and prostacyclin is a major endothelium-dependent vasodilator in resistance vessels of wild-type and endothelial NO synthase knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **97**(17):9747-52.
- Brenner, B.M., Chertow, G.M. (1994). Congenital oligonephropathy and the etiology of adult hypertension and progressive renal injury. *Am J Kidney Dis.* **23**(2):171-5.
- Briones, A.M., Alonso, M.J., Hernanz, R., Miguel, M., Salaices, M. (2002). Alterations of the nitric oxide pathway in cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* **39**(3):378-88.
- Briones, A.M., Alonso, M.J., Marín, J., Balfagón, G., Salaices, M.(2000). Influence of hypertension on nitric oxide synthase expression and vascular effects of lipopolysaccharide in rat mesenteric arteries.*Br J Pharmacol.* **131**(2):185-94.
- Brown, M.A., Whitworth, J.A. (1992). Hypertension in human renal disease. *J Hypertens*, **10**: 701-12.
- Busse, R., Edwards, G., Félétou, M., Fleming, I., Vanhoutte, P.M., Weston, A.H. (2002). EDHF: bringing the concepts together. *Trends Pharmacol Sci.* **23**(8):374-80.
- Chou, T.C., Yen, M.H., Li, C.Y., Ding, Y.A. (1998). Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension.* **31**(2):643-8.
- Cines, D.B., Pollak, E.S., Buck, C.A., Loscalzo, J., Zimmerman, G.A., McEver, R.P., Pober, J.S., Wick, T.M., Konkle, B.A., Schwartz, B.S., Barnathan, E.S., McCrae, K.R., Hug, B.A., Schmidt, A.M., Stern, D.M. (1998). Endothelial cells in

- physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*. **91**(10):3527-3561.
- Cohen, J.D. (2007). Overview of physiology, vascular biology, and mechanisms of hypertension. *J Manag Care Pharm*. **13**(5):6-8.
- Cohuet, G., Struijker-Boudier, H. (2006). Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: Therapeutic potential. *Pharmacol Ther*. **111**(1): 81-98.
- Cox, R.H., Folander, K., Swanson, R. (2001). Differential expression of voltage-gated K⁺ channel genes in arteries from spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Hypertension*. **37**:1315-1322.
- Cox, R.H., Rusch, N.J. (2002). New expression profiles of voltage-gated ion channels in arteries exposed to high blood pressure. *Microcirculation*. **9**:243-257.
- Crippa, G. (2002). Microalbuminuria in essential hypertension. *J Hum Hypertens*. **16**(Suppl 1):74-77.
- Dahl, L.K., Heine, M., Tassinari, L. (1962). Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. *Nature*. **194**: 480-2.
- De Champlain, J., Krakoff, L.R., Axelrod, J. (1967). Catecholamine metabolism in experimental hypertension in the rat. *Circ Res*. **20**:136-145.
- De Gennaro Colonna, V., Rigamonti, A., Fioretti, S., Bonomo, S., Manfredi, B., Ferrario, P., Bianchi, M., Berti, F., Muller, E.E., Rossoni, G.(2005). Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin AT1-receptor antagonism equally improve endothelial vasodilator function in L-NAME-induced hypertensive rats. *Eur J Pharmacol*. **516**(3):253-9.
- Dhein, S., Salameh, A., Berkels, R., Klaus, W. (1999). Dual mode of action of dihydropyridine calcium antagonists: a role for nitric oxide. *Drugs*. **58**(3):397-404.
- Dibona, G.F., Kopp, U.C. (1997). Neural control of renal function. *Physiol Rev*. **77**:76-97.

- Ding, Y., Vaziri, D. (2000). Nifedipine and diltiazem but not verapamil up-regulate endothelial nitric-oxide synthase expression. *J Pharmacol Exp Ther.* **292**:606-609.
- Dluhy, R.G., Lifton, R.P. (1995). Glucocorticoid-remediable aldosteronism (GRA): Diagnosis, variability of phenotype and regulation of potassium homeostasis. *Steroids.* **60**:48-51.
- Doggrell, S.A., Brown, L. (1998). Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res.* **39**:89-105.
- Economy, K.E., Abuhamad, A.Z. (2001). Calcium channel blockers as tocolytics. *Semin Perinatol.* **25**(5):264-271.
- Epstein, B.J., Vogel, K., Palmer, B.F. (2007). Dihydropyridine calcium channel antagonists in the management of hypertension. *Drugs.* **67**(9): 1309-1327.
- Erdine, S. (2010). Compliance with the treatment of hypertension: the potential of combination therapy. *J Clin Hypertens.* **12**:40-46.
- Franco, M., Tapia, E., Santamaria, J., Zafra, I., Garcia-Torres, R., Gordon, K.L., Pons, H., Rodriguez-Iturbe, B., Johnson, R.J., Herrera-Acosta, J. (2001). Renal cortical vasoconstriction contributes to development of salt-sensitive hypertension after angiotensin II exposure. *J Am Soc Nephrol.* **12**:2263-2271.
- Frank, J. (2008). Managing hypertension using combination therapy. *Physician.* **77**(9):1279-1286.
- Futrakul, N., Sridama, V., Futrakul, P. (2009). Microalbuminuria-a biomarker of renal microvascular disease. *Ren Fail.* **31**:140-143.
- Gansevoort, R.T., Navis, G.J., Wapstra, F.H., De Jong, P.E., De Zeeuw, D. (1997). Proteinuria and progression of renal disease: Therapeutic implications. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* **6**:133-140.
- Ganz, P., Vita, J.A. (2003). Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule. *Circulation,* **108**(17):2049-53.

- Germano, G., Sanguigni, V., Pignatelli, P., Caccese, D., Lenti, L., Ragazzo, M., Lauro, R., Violi, F. (2004). Enhanced platelet release of superoxide anion in systemic hypertension: role of AT1 receptors. *J Hypertens*. **22**:1151-1156.
- Germino, F.W. (2009). The management and treatment of hypertension. *Clin Cornerstone*. **9** (Suppl 3):27-33.
- Gkaliagkousi, E., Douma, S., Zamboulis, C., Ferro, A. (2009). Nitric oxide dysfunction in vascular endothelium and platelets: role in essential hypertension. *J Hypertens*, **27**:2310-2320.
- Gödecke, A., Decking, U.K., Ding, Z., Hirchenhain, J., Bidmon, H.J., Gödecke, S., Schrader, J. (1998). Coronary hemodynamics in endothelial NO synthase knockout mice. *Circ Res*. **82**(2):186-94.
- Granger, J.P., Alexander, B.T. (2000). Abnormal pressure-natriuresis in hypertension: role of nitric oxide. *Acta Physiol Scand*. **168**:161-168.
- Granger, J.P., Novak, J., Schnackenberg, C., Williams, S., Reinhart, G. (1996). Role of renal nerves in mediating the hypertensive effects of nitric oxide synthesis inhibition. *Hypertens*. **27**(2):613-618.
- Gross, V., Luft, F.C. (2003). Exercising restraint in measuring blood pressure in conscious mice. *Hypertension*. **41**:879-881.
- Grossman, E., Messerli, F.H. (2004). Calcium antagonists. *Prog Cardiovasc Dis*. **47**(1):34-57.
- Guyton, A.C. (1987). Renal function curve – a key to understanding the pathogenesis hypertension. *Hypertens*. **10**:1-6.
- Haffner, S.M., Ferrannini, E., Hazuda, H.P., Stern, M.P. (1992). Clustering of cardiovascular risk factors in confirmed prehypertensive individuals. *Hypertension*. **20**(1):38-45.
- Hall, J.E., Brands, M.W., Shek, E.W. (1996). Central role of the kidney and abnormal fluid volume control in hypertension. *J Hum Hypertens*. **10**(10):633-9.
- Hanon, O., Seux, M.L., Lenoir, H., Rigaud, A.S., Forette, F. (2003). Hypertension and dementia. *Curr Cardiol Rep*. **5**:435-440.
- Harder, D.R., Smeda, J., Lombard, J. (1985). Enhanced myogenic depolarization in hypertensive cerebral arterial muscle. *Circ Res*. **57**:319-322.
- Hashimoto, M., Yamauchi, T., Ogura, T., Oishi, T., Mimura, Y., Otsuka, F., Kashiwara, N., Makino, H. (1998). Treatment with a Ca⁺² channel blocker, Barnidipine, reduces

- platelet-derived growth factor B-chain mRNA in glomeruli of spontaneously hypertensive rats. *Am J Nephrol*, **19**:615-621.
- Hausberg, M., Hoffman, R.P., Somers, V.K., Sinkey, C.A., Mark, A.L., Anderson, E.A. (1997). Contrasting autonomic and hemodynamic effects of insulin in healthy elderly versus young subjects. *Hypertension*. **29**(3):700-5.
- Henry, J.P., Liu, Y.Y., Nadra, W.E., Qian, C.G., Mormede, P., Lemaire, V., Ely, D., Hendley, E.D. (1993). Psychosocial stress can induce chronic hypertension in normotensive strains of rats. *Hypertension*. **21**:714-723.
- Hernandez, R.H., Armas-Hernandez, M.J., Velasco, M., Israili, Z.H., Armas-Padilla, M.C. (2003). Calcium antagonists and atherosclerosis protection in hypertension. *Am J Ther*. **10**(6):409-414.
- Heusch, G., Schulz, R., Haude, M., Erbel, R. (2004). Coronary microembolization. *J Mol Cell Cardiol*. **37**:23-31.
- Hsu C. (2002). Does non-malignant hypertension cause renal insufficiency? Evidence-based perspective. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. **11**:267-272.
- Hsu, Y.H., Hsu, B.G., Chen, H.I. (2007). Malignant alterations following early blockade of nitric oxide synthase in hypertensive rats. *Chin J Physiol*. **50**(6):283-93.
- Husain, K. (2002). Exercise conditioning attenuates the hypertensive effects of nitric oxide synthase inhibitor in rat. *Mol Cell Biochem*. **231**(1-2):129-37.
- Ikedo, H., Shino, A., Matsuo, T., Iwatsuka, H., Suzuoki, Z. (1981). A new genetically obese-hyperglycemic Wistar fatty rat. *Diabetes*. **30**:1045-1050.
- Inagaki, O., Asano, M., Takenaka, T. (1999). In vitro and in vivo vasodilatory activity of barnidipine and its enantiomers. *Biol Pharm Bull*. **22**(2):151-6.
- Israili, Z.H. (2003). The use of calcium antagonists in the therapy of hypertension in the elderly. *Am J Ther*. **10**(6):383-395.
- Iwakiri, Y., Cadelina, G., Sessa, W.C., Groszmann, R.J. (2002). Mice with targeted deletion of eNOS develop hyperdynamic circulation associated with portal hypertension. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. **283**(5):G1074-81.
- Izzo, N.J., Jr, Seidman, C.E., Collins, S., Colucci, W.S. (1990). Alpha 1-adrenergic receptor mRNA level is regulated by norepinephrine in rabbit aortic smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **87**(16):6268-71.

- JNC 6 (1997). National High Blood Pressure Education Program. The sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Arch Intern Med*; **157**:2413–46. PR.
- JNC 7 (2003). National High Blood Pressure Education Program. Seventh report of the Joint Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*; **42**:1206-52.
- Kaplan, N.M. (1998). *Primer hypertension: Pathogenesis, in clinical hypertension*. 7. baskı, New York, Williams&Wilkins.
- Karagiannis, J., Rand, M., Li, C.G. (2004). Role of gap junctions in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated vasodilatation in rat renal artery. *Acta Pharmacol Sin*. **25**(8):1031-7.
- Katusic, Z.S. (2002). Back to the salt mines-- endothelial dysfunction in hypertension and compensatory role of endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). *J Physiol*. **543**(Pt 1):1.
- Kawashima, K., Toda, H., Oohata, H., Fujimoto, K., Suzuki, T., Inagaki, O. (1991). Antihypertensive and diuretic effects of YM-09730-5, a new calcium antagonist, in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Gen Pharmacol*, **22**, No. 2, pp. 263-266.
- Kayaalp, O. (2000). *Tıbbi Farmakoloji*, 9. baskı. Ankara, Türkiye, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti.
- Kimura, K., Suzuki, N., Mise, N., Oba, S., Miyashita, K., Tojo, A., Hirata, Y., Goto, A., Omata, M. (1998). Effects of Barnidipine hydrochloride, a calcium channel blocker, on renal microcirculation in rats: a pilot study. *Curr Ther Res Clin Exp*, **59**(12): 826-34.
- Kimura, K., Tsuda, K., Sasajima, H., Shiotani, M., Baba, A., Hano, T., Nishio, I. (1999). Arterial relaxation mediated by endothelium-derived hyperpolarizing factor in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Clin Exp Hypertens*. **21**(7): 1203-21.
- Kitakaze, M., Asanuma, H., Takashima, S., Minamino, T., Ueda, Y., Sakata, Y., Asakura, M., Sanada, S., Kuzuya, T., Hori, M. (2000). Nifedipine-induced coronary vasodilation in ischemic hearts is attributable to bradykinin-and NO-dependent mechanism in dogs. *Circulation*. **101**:311-317.

- Koren, M.J., Devereux, R.B., Casale, P.N., Savage, D.D., Laragh, J.H. (1991). Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med.* **114**(5):345-352.
- Korstanje, C. (2000). Barnidipine, a long-acting slow onset calcium antagonist. *Int J Clin Pract*, **Nov**;(114):2-5.
- Kosegawa, I., Inaba, M., Morita, T., Awata, T., Katayama, S. (1998). Effect of the vasodilatory beta-blocker, nipradilol, and Ca-antagonist, barnidipine, on insulin sensitivity in patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens.* **20**(7):751-61.
- Kristek, F., Gerova, M. (2004). Hypotrophy of conduit artery walls of the offspring of nitric oxide-defective rats. *Braz J Med Biol Res.* **37**(4):601-6.
- Kubes, P., Kanwar, S., Niu, X.F., Gaboury, J.P. (1993). Nitric oxide synthesis inhibition induces leukocyte adhesion via superoxide and mast cells. *FASEB J.* **7**(13):1293-9.
- Kurtz, T.W., Griffin, K.A., Bidani, A.K., Davisson, R.L., Hall, J.E. (2005). Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: Part 2 : Blood pressure measurement in experimental animals. A statement for professionals from the subcommittee of professional and public education of the American Heart Association Council on high blood pressure research. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **25**:22-33.
- Lamping, K.G., Nuno, D.W., Shesely, E.G., Maeda, N., Faraci, F.M. (2000). Vasodilator mechanisms in the coronary circulation of endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* **279**(4):H1906-12.
- Landmesser, U., Drexler, H. (2007). Endothelial function and hypertension. *Curr Opin Cardiol.* **22**:316-320.
- Laragh, J.H. (1992). The renin system and four lines fo hypertension research. *Hypertension.* **20**(3):267-79.
- Lassegue, B., Griendling, K.K. (2004). Reactive oxygen species in hypertension. *Am J Hypertens.* **17**:852-860.
- Laurent, S., Briet, M., Boutouyrie, P. (2009). Large and small artery cross-talk and recent morbidity-mortality trials in hypertension. *Hypertension.* **54**:388-392.
- Lawes, C.M.M., Hoorn, S.V., Rodgers, A. (2008). Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet.* **371**: 1513-18.

- Lerman, L.O., Chade, A.R., Sica, V., Napoli, C. (2005). Animal models of hypertension: an overview. *J Lab Clin Med.* **146**:160-173.
- Leung, F.P., Yao, X., Lau, C.W., Ko, W.H., Lu, L., Huang, Y. (2005). Raloxifene relaxes rat intrarenal arteries by inhibiting Ca^{+2} influx. *Am J Physiol Renal Physiol.* **289**(1):137-44.
- Lever, A.F., Harrap, S.B. (1992). Essential hypertension: a disorder of growth with origins in childhood? *J Hypertens.* **10**(2):101-20.
- Liau, C.S. (2005). Barnidipine: a new calcium channel blocker for hypertension treatment. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* **3**(2), 207-213.
- Liu, H., Ledingham, J.M., Mullaney, I., Lavery, R. (2002). Endothelial function in mesenteric resistance arteries from the genetically hypertensive rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **29**(5-6): 405-11.
- Lopez, R.M., Ortiz, C.S., Ruiz, A., Velez, J.M., Castillo, C., Castillo, E.F. (2004). Impairment of smooth muscle function of rat thoracic aorta in an endothelium-independent manner by long-term administration of N(G)-nitro-L-arginine methyl ester. *Fundam Clin Pharmacol.* **18**(6):669-77.
- Lopez-Jaramillo, P., Casas, J.P. (2002). Endothelial dysfunction, angiotensin-converting enzyme inhibitors and calcium antagonists. *J Hum Hypertens.* **16** (Suppl 1):34-37.
- Lozinskaya, I.M., Cox, R.H. (1997). Effects of age on Ca^{+2} currents in small mesenteric artery myocytes from Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* **29**: 1329-1336.
- Luvara, G., Pueyo, M.E., Philippe, M., Mandet, C., Savoie, F., Henrion, D., Michel, J.B. (1998). Chronic blockade of NO synthase activity induces a proinflammatory phenotype in the arterial wall: prevention by angiotensin II antagonism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **18**(9):1408-16.
- MacGregor, G.A., Sever, P.S. (1996). Salt-overwhelming evidence but still no action: can a consensus be reached with the food industry? *Br Med J.* **312**:1287-9
- Maki, D.D., Ma, J.Z., Louis, T.A., Kasiske, B.L. (1995). Long-term effects of antihypertensive agents on proteinuria and renal function. *Arch Intern Med.* **155**: 1073-80.
- Malhotra, H.S., Plosker, G.L. (2001). Barnidipine. *Drugs.* **61**(7): 989-996.
- Manning, R.D., Hu, L. (1994). Nitric oxide regulates renal hemodynamics and urinary sodium excretion in dogs. *Hypertens.* **23**:619-625.

- Marín J. (1993). Mechanisms involved in the increased vascular resistance in hypertension. *J Auton Pharmacol.* **13**(2):127-76.
- Martens, J.R., Gelband, C.H. (1996). Alterations in rat interlobar artery membrane potential and K⁺ channels in genetic and nongenetic hypertension. *Circ Res.* **79**:295-301.
- McNaughton, L., Puttagunta, L., Martinez-Cuesta, M.A., Kneteman, N., Mayers, I., Moqbel, R., Hamid, Q., Radomski, M.W. (2002). Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(26): 17161-6.
- Meka, N., Katragadda, S., Cherian, B., Arora, R.R. (2010). Combination therapy in hypertension: a focus on angiotensin receptor blockers and calcium channel blockers. *Am J Ther.* **17**(1):61-67.
- Meneely, G.R., Ball, C.O. (1958). Experimental epidemiology of chronic sodium chloride toxicity and the protective effect of potassium chloride. *Am J Med*, **25**(5): 713-25.
- Meng, W., Ma, J., Ayata, C., Hara, H., Huang, P.L., Fishman, M.C., Moskowitz, M.A. (1996). ACh dilates pial arterioles in endothelial and neuronal NOS knockout mice by NO-dependent mechanisms. *Am J Physiol.* **271**:H1145-50.
- Messerli, F.H. (2002). Calcium antagonists in hypertension: from hemodynamics to outcomes. *Am J Hypertens.* **15**:94-97.
- Moosmang, S., Schulla, V., Welling, A., Feil, R., Feil, S., Wegener, J.W., Hofmann, F., Klugbauer, N. (2003). Dominant role of smooth muscle L-type calcium channel Ca_v1.2 for blood pressure regulation. *EMBO J.* **22**:6027-6034.
- Motro, M., Shemesh, J., Grossman, E. (2001). Coronary benefits of calcium antagonist therapy for patients with hypertension. *Curr Opin Cardiol.* **16**:349-355.
- Mulvany, M. J., Halpern, W., (1977). Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res*, **41**, 19-26.
- Nakayama, K., Kashiwabara, T., Yamada, S., Tanaka, Y. (1989). Assessment in pig coronary artery of long-lasting and potent calcium antagonistic actions of the novel dihydropyridine derivative mepirodipine hydrochloride. *Arzneimittelforschung.* **39**(1):50-5.
- Napoli, C., Ignarro, L.J. (2009). Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the development of vascular diseases. *Arch Pharm Res.* **32**(8):1103-1108.

- Ohashi, N., Mitamura, H., Ogawa, S. (2009). Development of newer calcium channel antagonists. Therapeutic potential of efonidipine in preventing electrical remodelling during atrial fibrillation. *Drugs*. **69**(1):21-30.
- Palm, F., Teerlink, T., Hansell, P. (2009). Nitric oxide and kidney oxygenation. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. **18**:68-73.
- Park, H.C., Kwon, K.H., Noh, H.J., Lee, I.H., Kang, S.W., Choi, K.H., Ha, S.K., Lee, H.Y., Han, D.S., Yamamoto, M. (2000). Open-label, uncontrolled, clinical trial of barnidipine hydrochloride in Korean patients with renal parenchymal hypertension. *Curr Ther Res*, **61**, 927-937.
- Pechanova, O., Dobesova, Z., Cejka, J., Kunes, J., Zicha, J. (2004). Vasoactive systems in L-NAME hypertension: the role of inducible nitric oxide synthase. *J Hypertens*. **22**(1): 167-73.
- Pesic, A., Madden, J.A., Pesic, M., Rusch, N.J. (2004). High blood pressure upregulates arterial L-type Ca^{+2} channels: is membrane depolarization the signal? *Circ Res*. **94**: 97-104.
- Priviero, F.B., Teixeira, C.E., Claudion, M.A., De Nucci, G., Zanesco, A., Antunes, E. (2007). Vascular effects of long-term propranolol administration after chronic nitric oxide blockade. *Eur J Pharmacol*. **571**(2-3):189-96.
- Quyyumi, A.A., Patel, R.S. (2010). Endothelial dysfunction and hypertension cause or effect? *Hypertension*, **55**:1092-1094.
- Reynolds, E. S., (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*, **17**, 208-12.
- Ribeiro, M.O., Antunes, E., De Nucci, G., Lovisolo, S.M., Zatz, R. (1992). Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. *Hypertension*, **20**(3): 298-303.
- Ribeiro, M.O., Antunes, E., Muscara, M.N., De Nucci, G., Zatz, R. (1995). Nifedipine prevents renal injury in rats with chronic nitric oxide inhibition. *Hypertension*. **26**(1):150-5.
- Richard, S. (2005). Vascular effects of calcium channel antagonists: new evidence.
- Rizzoni, D., Muiesan, M.L., Porteri, E., De Ciuceis, C., Boari, G.E., Salvetti, M., Paimi, A., Rosei, E.A. (2009). Vascular remodelling, macro- and microvessels: therapeutic implications. *Blood Press*. **18**:242-246.

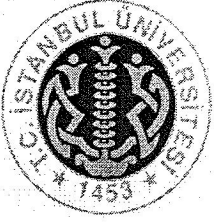
- Rodriguez-Iturbe, B., Pons, H., Quiroz, Y., Gordon, K., Rincon, J., Chavez, M., Parra, G., Herrera-Acosta, J., Gomez-Garre, D., Largo, R., Egido, J., Johnson, R.J. (2001). Mycophenolate mofetil prevents salt-sensitive hypertension resulting from angiotensin II exposure. *Kidney Int.* **59**:2222-2232.
- Romero, M., Sanchez, I., Pujol, M.D. (2003). New advances in the field of calcium channel antagonists: cardiovascular effects and structure-activity relationships. *Curr Med Chem.* **1**:113-141.
- Rossi, M.A., Colombini-Netto M. (2001). Chronic inhibition of NO synthesis per se promotes structural intimal remodeling of the rat aorta. *J Hypertens.* **19**(9):1567-79.
- Safar, M.E. (2001). Systolic blood pressure, pulse pressure and arterial stiffness as cardiovascular risk factors. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* **10**:257-261.
- Sakai, T., Teramura, T., Okamiya, H., Inagaki, O. (1997). A review on Barnidipine: A novel calcium antagonist. *Cardiovascular Drug Reviews*, **15**, No.4, pp. 273-290.
- Saitoh, M., Kasai, C., Ishikawa, J., Masaki, K., Asano, M. (1995). Effect of barnidipine on blood flow to major organs and renal function in anaesthetized dogs and spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **22**(Suppl):S339-40.
- Sanders, P.W. (1996). Salt-sensitive hypertension: lessons from animal models. *Am J Kidney Dis.* **28**(5):775-82.
- Sasaki, S., Zhang, X.H., Kesteloot, H. (1995). Dietary sodium, potassium, saturated fat, alcohol, and stroke mortality. *Stroke.* **26**(5):783-9.
- Schiffirin, E.L. (2004). Vascular stiffening and arterial compliance. Implications for systolic blood pressure. *Am J Hypertens.* **17**:39-48.
- Segura, J., Ruilope, L.M., Rodicio, J.L. (2004). Microalbuminuria. *Clin Exp Hypertens.* **26** (7 & 8):701-707.
- Sekiguchi, F., Miyake, Y., Hirakawa, A., Nakahira, T., Yamaoka, M., Shimamura, K., Yamamoto, K., Sunano, S. (2001). Hypertension and impairment of endothelium-dependent relaxation of arteries from spontaneously hypertensive and L-NAME-treated Wistar rats. *J Smooth Muscle Res.* **37**(2):67-79.
- Simard, J.M., Li, X., Tewari, K. (1998). Increase in functional Ca^{+2} channels in cerebral smooth muscle with renal hypertension. *Circ Res.* **82**:1330-1337.
- Simko, F., Matuskova, J., Luptak, I., Pincikova, T., Krajcirovicova, K., Stvrtina, S., Pomsar, J., Pelouch, V., Paulis, L., Pechanova, O. (2007). Spironolactone differently

- influences remodelling of the left ventricle and aorta in L-NAME-induced hypertension. *Physiol Res.* **56** (Suppl 2): 25-32.
- Sofola, O.A., Knill, A., Hainsworth, R., Drinkhill, M. (2002). Change in endothelial function in mesenteric arteries of Sprague-Dawley rats fed a high salt diet. *J Physiol.* **543**(Pt 1):255-60.
- Sonkusare, S., Palade, P.T., Marsh, J.D., Telemaque, S., Pesic, A., Rusch, N.J. (2006). Vascular calcium channels and high blood pressure: pathophysiology and therapeutic implications. *Vascul Pharmacol.* **44**:131-142.
- Spieker, C. (1998). Efficacy and tolerability of once-daily barnidipine in the clinical management of patients with mild to moderate essential hypertension. *Blood Pressure*, **7** (Suppl 1) , 15-21.
- Spirou, A., Rizos, E., Liberopoulos, E.N., Kolaitis, N., Achimastos, A., Tselepis, A.D., Elisaf, M. (2006). Effect of barnidipine on blood pressure and serum metabolic parameters in patients with essential hypertension: a pilot study. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* **11**(4):256-61.
- Staessen, J.A., Wang, J.G., Thijs, L. (2002). Calcium-channel blockade and cardiovascular prognosis: recent evidence from clinical outcome trials. *Am J Hypertens.* **15**:85-93.
- Steffen, H.M. (2004). Use of calcium channel antagonists for the treatment of hypertension in the elderly. *Drugs Aging.* **21**(9):565-581.
- Stekiel, W.J., Contney, S.J., Lombard, J.H. (1986). Small vessel membrane potential, sympathetic input, and electrogenic pump rate in SHR. *Am J Physiol.* **250**: 547-556.
- Stekiel, W.J., Contney, S.J., Rusch, N.J. (1993). Altered β - receptor control of in situ membrane potential in hypertensive rats. *Hypertension.* **21**:1005-1009.
- Sun, D., Huang, A., Smith, C.J., Stackpole, C.J., Connetta, J.A., Shesely, E.G., Koller, A., Kaley, G. (1999). Enhanced Release of Prostaglandins Contributes to Flow-Induced Arteriolar Dilation in eNOS Knockout Mice. *Circ. Res.* **85**:288-293.
- Taddei, S., Ghiadoni, L., Viridis, A., Buralli, S., Salvetti, A. (1999). Vasodilation to bradykinin is mediated by an ouabain-sensitive pathway as a compensatory mechanism for impaired nitric oxide availability in essential hypertensive patients. *Circulation.* **100**(13):1400-5.
- Taddei, S., Viridis, A., Ghiadoni, L., Sudano, I., Salvetti, A. (2002). Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction. *Drugs.* **62**(2): 265-284.

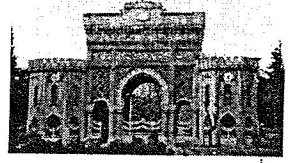
- Takase, H., Moreau, P., Kung, C.F., Nava, E., Luscher, T.F. (1996). Antihypertensive therapy prevents endothelial dysfunction in chronic nitric oxide deficiency: effect of verapamil and trandolapril. *Hypertension*. **27**:25-31.
- Teramura, T., Fukunaga, Y., Van Hoogdalem, E.J., Watanabe, T., Higuchi, S. (1997). Examination of metabolic pathways and identification of human liver cytochrome P450 isozymes responsible for the metabolism of barnidipine, a calcium channel blocker. *Xenobiotica*, **27**(9): 885-900.
- Thakali, K.M., Lau, Y., Fink, G.D., Galligan, J.J., Chen, A.F., Watts, S.W. (2006). Mechanisms of hypertension induced by nitric oxide (NO) deficiency: focus on venous function. *J Cardiovasc Pharmacol*. **47**(6):742-50.
- TKD (2000). Türk Kardiyoloji Derneği Ulusal Hipertansiyon Tedavi ve Takip Kılavuzu. Erişim 12.06.2010, <http://www.tkd.org.tr/kilavuz/k03.htm>
- Tobe, S. (2003). Update on calcium antagonists and the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. **12**:309-315.
- Török, J. (2008). Participation of nitric oxide in different models of experimental hypertension. *Physiol Res*. **57**:813-825.
- Tucker, E.J., Ledingham, J.M., Zheng, Y., Lavery, R. (2000). Effects of chronic inhibition of nitric oxide synthase in the genetically hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. **27**(8):647-9.
- Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği. (2008). Türk Hipertansiyon İnsidans Çalışması. Erişim: http://www.turkhipertansiyon.org/insidans_160608.php 24.06.2010.
- Üstünes, L. (Ed.). (2010). Rx MediaPharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı. İzmir: Gemaş.
- Van-der-Lee, R., Kam, K.L., Pfaffendorf, M., van Zwieten, P.A. (1998). Differential time course of the vasodilator action of various calcium antagonists. *Fundam Clin Pharmacol*, **12**: 607-12.
- van der Velden, J.W., Beudeker, H.J., Nishi, M. (1998). Diversity and intensity of adverse events in the treatment of hypertension with barnidipine. *Blood Press*, **7** (Suppl 1), 27-29.
- van Zwieten, P.A. (1998a). Pharmacological profile of Barnidipine : A single optical isomer dihydropyridine calcium antagonist. *Blood Pressure*, **7** (Suppl 1) , 5-8.

- van Zwieten, P.A. (1998b). The pharmacological properties of lipophilic calcium antagonists. *Blood Pressure*, **7** (Suppl 2) , 5-9.
- Vanhoutte, P.M., Feletou, M., Taddei, S. (2005). Endothelium-dependent contractions in hypertension. *Br J Pharmacol*. **144**:449-458.
- Vasdev, S., Gill, V. D., Parai, S., Gadag, V. (2007). Effect of moderately high dietary salt and lipoic acid on blood pressure in Wistar-Kyoto rats. *Exp Clin Cardiol*. **12**(2): 77-81.
- Versari, D., Daghini, E., Viridis, A., Ghiadoni, L., Taddei, S. (2009). Endothelium-dependent contractions and endothelial dysfunction in human hypertension. *Br J Pharmacol*. **157**: 527-536.
- Wang, J., Juhaszova, M., Rubin, L.J., Yuan, X.J. (1997). Hypoxia inhibits gene expression of voltage-gated K⁺ channel α subunits in pulmonary artery smooth muscle cells. *J Clin Invest*. **100**: 2347-2353.
- Watson, M. L., (1958). Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol*, **4**, 475-8.
- Weinstock, M., Borosh, M. (1993). Low baroreflex sensitivity predisposes to salt-sensitive hypertension in the rabbit. *Am J Physiol*. **264**: 505-511.
- Wenzel, R.R. (2005). Renal protection in hypertensive patients : selection of antihypertensive therapy. *Drugs*. **65**(Suppl 2):29-39.
- Wilde, D.W., Furspan, P.B., Szocik, J.F. (1994). Calcium current in smooth muscle cells from normotensive and genetically hypertensive rats. *Hypertension*. **24**:739-746.
- Williams, G.H., Fisher, N.D., Hunt, S.C., Jeunemaitre, X., Hopkins, P.N., Hollenberg, N.K. (2000). Effects of gender and genotype on the phenotypic expression of nonmodulating essential hypertension. *Kidney Int*. **57**(4):1404-7.
- Wong, T., Mitchell, P. (2007). The eye in hypertension. *Lancet*. **369**:425-35.

- Wu, F., Mattson, D.L. (2000). Control of arterial blood pressure and renal sodium excretion by nitric oxide synthase in the renal medulla. *Acta Physiol Scand.* **168**:149-154.
- Yamakawa, T., Tanaka, S., Tamura, K., Isoda, F., Ukawa, K., Yamakura, Y., Takanashi, Y., Kiuchi, Y., Umemura, S., Ishii, M., Sekihara, H. (1995). Wistar fatty rat is obese and spontaneously hypertensive. *Hypertension.* **25**(1):146-50.
- Yetik-Anacak, G., Catravas, J.D. (2006). Nitric oxide and the endothelium: history and impact on cardiovascular disease. *Vascul Pharmacol.* **45**: 268-276.
- Zatz, R., Baylis, C. (1998). Chronic nitric oxide inhibition model six years on. *Hypertens.* **32**:958-964.
- Zeglin, M.A., Pacos, J., Bisognano, J.D. (2009). Hypertension in the very elderly : brief review of management. *Cardiol J.* **16**(4):379-385.
- Zhang, X., Hintze, T.H. (1998). Amlodipin releases nitric oxide from canine coronary microvessels: an unexpected mechanism of action of a calcium channel-blocking agent. *Circulation.* **97**:576-580.
- Zhao, H., Shimokawa, H., Uragami-Harasawa, L., Igarashi, H., Takeshita, A. (1999). Long-term vascular effects of Nomega-nitro-L-arginine methyl ester are not solely mediated by inhibition of endothelial nitric oxide synthesis in the rat mesenteric artery. *J Cardiovasc Pharmacol*, **33**(4): 554-66.



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 125

24/09/2009

Sn. Yrd. Doç. Dr. İlkay ALP
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Karar No: 113
Başvuru Tarihi: 10/09/2009

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Eczacı Deniz EKER'e ait "L-NAME ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda kronik olarak kalsiyum kanal blokeri Barnidipin uygulamasının vasküler sistem üzerine etkilerinin incelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ
İ. Ü. HADYЕК Başkanı

Prof. Dr. Müjdat UYSAL
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN
Üye

Prof. Dr. Nuriye AKEV
Üye

Doç. Dr. Alper YILMAZ
Üye

Doç. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Safiye ALTUN
Üye

Mak. Müh. Seyfettin AVCI
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Deniz	Soyadı	EKER KIZILAY
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	04.04.1986
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	43681572534
Email	ekerdeniz @gmail.com	Tel	0507 387 98 74

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2008
Lise	Zeytinburnu Adile Mermerci Anadolu Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Yardımcı Eczacı	Alkent 2000 Eczanesi	Temmuz 2009- Ekim 2009
2.	Mesul Müdür	Ocak Eczanesi	Kasım 2008- Nisan 2009
3.			-

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

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	89.706	90.900	91.761
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok iyi

SERTİFİKALAR

- İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Şubat 2009.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

- Fotoğraf çekmek